



UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS SOCIOSANITARIAS

Los pingüinos: bioindicadores de la contaminación ambiental en la península Antártica e islas asociadas

D^a Silvia Jerez Rodríguez

2012

How can you buy or sell the sky, the warmth of the land?

Chief Seattle, 1854

AGRADECIMIENTOS

Gracias en primer lugar a mis directores. A D. Miguel Motas Guzmán, por su ayuda, sus enseñanzas, su apoyo, su comprensión, por confiar en mí... pero sobretodo porque creo que mi tesis ha estado siempre en un lugar privilegiado en su escala de prioridades. Creo que le habrá hecho tanta ilusión como a mí tenerla entre sus manos. A D. Andrés Barbosa Alcón, también por su ayuda, sus enseñanzas, su apoyo, su confianza... pero sobretodo por haber puesto la Antártida en mi camino. Por esta oportunidad siempre le estaré agradecida.

Gracias a las decenas de personas que han formado parte del Área de Toxicología, en concreto del pequeño grupo de la habitación .., desde el año 2006 hasta hace pocos meses. Ana, Miriam, Pepa, Nuria, Elena, Sonia, Ángeles, Laura, Régulo, Gonzalo, María José, Rocío, Javi, Me han hecho sentir cada vez un poco más mayor, pero de todos he aprendido cosas. Gracias por haber reconocido y valorado siempre mi trabajo.

Gracias a los servicios analíticos que han hecho posible esta tesis. Al Servicio Universitario de Instrumentación Científica (SUIC, del Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Murcia), a todos sus miembros, pero sobretodo a María José Gabaldón y a M^aDolores Pardo, por haberme aguantado tantas horas y haberme tratado tan bien. Al Servicio de Instrumentación Tecnológica (SIT, del Servicio de Apoyo a la Investigación Tecnológica de la Universidad Politécnica de Cartagena), en especial a Magdalena Vázquez, por haberme ayudado tanto con “eso de los pingüinos”. Y al Centro Tecnológico Nacional de la Conserva, por permitirme hablar del mercurio... Gracias también a Antonio Maurandi del Servicio de Apoyo Estadístico de la UMU por sus sabios consejos.

Gracias a todos los miembros del PINGUCLIM, desde el uno hasta el tres... Gracias por haberme permitido formar parte de un gran equipo que ha hecho un gran trabajo en la Antártida en diversas ramas científicas y al que seguro le espera un fructífero futuro. Gracias a los integrantes de la antigua base Jubany (hoy base Carlini) en la campaña antártica 2008-2009, Bruno, Diego, Inés, Eugenia, Hugo, Rubén, Pipi, Gascón, Walter.... A los ocupantes, científicos y tripulación, del BIO “Las Palmas” también durante esa campaña.

Gracias a todos los que hicieron posible mi estancia en la Universidad de Siena, en el Departamento de Ciencias Ambientales “G. Sarfatti”, Constanza, Víctor, Emiliano, Jimena, Felipe, Marco, Karla, Cristiana, Guido... y en especial a Simonetta por su apoyo y su ayuda en todo momento. Thanks a lot!

Por su apoyo logístico y/o económico, gracias al Ministerio de Ciencia e Innovación, European Regional Development Fund, Caja del Mediterráneo, Italian National Program of Research in Antarctica (PNRA), B.I.O. Las Palmas, bases antárticas españolas Juan Carlos I y Gabriel de Castilla, base antártica argentina Carlini, Unidad de Tecnología Marina (CSIC), Instituto Antártico Argentino, Fernando Calvo Garnica y Joaquín González del Castillo. Los permisos para los trabajos de campo fueron concedidos por el Comité Polar Español. Los distintos

capítulos de esta tesis son contribuciones al Año Polar Internacional, proyecto BirdHealth y al proyecto PINGUCLIM.

Gracias a los que formaron parte del Centro de Recuperación de Fauna Silvestre “El Valle” durante los años 2005, 2006, 2007 y 2008. A la gente con la que he podido tratar del Vicerrectorado de Investigación, sobretodo a Delfina, María José y Juani, ¡cuántas aventuras con la exposición!

Gracias a mis amigos, a todos, pero en especial a los que me han mirado con cara rara cuando les explicaba a qué me dedicaba... con ese gesto me ayudaban a poner los pies en el suelo, a dimensionar la importancia de las cosas. Y también a los que me han recordado tantas veces en los malos momentos lo afortunada que soy por haber tenido esta oportunidad de la tesis... a todos... a los del pueblo, a los de Murcia, a los de innumerables sitios, a los que ya no están, a todos, ¡gracias!

A mis padres, por apoyarme siempre, me entendieran o no, por haberme hecho siempre sentir que valgo, que soy especial. A mi hermana, que ha ido siempre abriéndome el camino con unos 13 meses de antelación... también para la tesis. Gracias por escucharme y entenderme. A mis abuelos, que estén donde estén serán los abuelos más orgullosos del mundo. En especial a mi abuelo Andrés, por haber tenido una sensibilidad distinta que a veces creo reconocer en mí. Ojalá lo estés viendo.

A Pepe, muy muy muy en especial a Pepe. Por ser mi complemento perfecto, mi apoyo incondicional, por ser mi otra mitad. Sin ti no habría sido posible.

Índice

| | |
|--|------------|
| ABSTRACT..... | 11 |
| 1 INTRODUCCIÓN | 19 |
| 1.1 LA ANTÁRTIDA: CARACTERÍSTICAS GENERALES..... | 19 |
| 1.2 LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL EN LA ANTÁRTIDA | 26 |
| 1.3 LOS PINGÜINOS COMO BIOINDICADORES DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL ANTÁRTICA | 32 |
| 1.4 OBJETIVOS..... | 35 |
| 1.5 ESTRUCTURA ORGANIZATIVA DE LA TESIS..... | 37 |
| 2 ESPECIES, ÁREA Y CONTAMINANTES OBJETO DE ESTUDIO, TOMA DE MUESTRAS, METODOLOGÍA ANALÍTICA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 41 |
| 2.1 ESPECIES OBJETO DE ESTUDIO: LOS PINGÜINOS PIGOSCÉLIDOS | 41 |
| 2.2 ÁREA DE ESTUDIO Y TOMA DE MUESTRAS..... | 46 |
| 2.3 CONTAMINANTES OBJETO DE ESTUDIO | 53 |
| 2.3.1 Metales pesados y otros elementos inorgánicos..... | 53 |
| 2.3.2 Contaminantes orgánicos..... | 80 |
| 2.4 METODOLOGÍA ANALÍTICA | 92 |
| 2.4.1 Elementos inorgánicos | 92 |
| 2.4.2 Contaminantes orgánicos..... | 98 |
| 2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 103 |
| 3 CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN PLUMAS DE TRES ESPECIES DE PINGÜINOS ANTÁRTICOS. DIFERENCIAS GEOGRÁFICAS E INTERESPECÍFICAS | 107 |
| 3.1 AL, CR, MN, FE, NI, CU, ZN, AS, SE, CD AND Pb IN FEATHERS OF ANTARCTIC PENGUINS..... | 108 |
| 3.1.1 Results | 108 |
| 3.1.2 Discussion..... | 110 |
| 3.2 Hg IN FEATHERS OF ANTARCTIC PENGUINS | 121 |
| 3.2.1 Results | 121 |
| 3.2.2 Discussion..... | 121 |
| 4 ACUMULACIÓN Y DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ELEMENTOS TRAZA EN INDIVIDUOS ADULTOS Y JUVENILES DE TRES ESPECIES DE PINGÜINOS ANTÁRTICOS | 129 |
| 4.1 AL, CR, MN, FE, NI, CU, ZN, AS, SE, CD AND Pb IN JUVENILES AND ADULT SPECIMENS OF ANTARCTIC PENGUINS | 130 |
| 4.1.1 Results | 130 |
| 4.1.2 Discussion..... | 132 |
| 5 ACUMULACIÓN Y DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ELEMENTOS TRAZA EN POLLOS DE TRES ESPECIES DE PINGÜINOS ANTÁRTICOS | 153 |
| 5.1 AL, CR, MN, FE, NI, CU, ZN, AS, SE, CD AND Pb IN CHICKS OF ANTARCTIC PENGUINS | 154 |
| 5.1.1 Results | 154 |
| 5.1.2 Discussion..... | 155 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 6 | PRESENCIA DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS (PCBS, PFCS, PHTHALATES, BPA) EN PINGÜINO BARBIJO DE ISLA DECEPCIÓN | 175 |
| 6.1 | PCBS LEVELS IN <i>PYGOSCELIS ANTARCTICA</i> | 176 |
| 6.2 | PERFLUORINATED COMPOUNDS, PHTHALATES AND BISPHENOL A LEVELS IN <i>PYGOSCELIS ANTARCTICA</i> | 193 |
| 6.3 | RELATIVE CONTRIBUTIONS OF DIFFERENT CONTAMINANT FAMILIES TO Σ POPs IN <i>PYGOSCELIS ANTARCTICA</i> | 194 |
| | GENERAL CONCLUSIONS | 199 |
| | REFERENCES..... | 203 |

ABSTRACT

ABSTRACT (more than 2000 words)

Antarctica is often considered as one of the last pristine regions in the world, a global environmental conservation symbol, but relatively recent studies have highlighted that some Antarctic areas can be affected by anthropogenic pollution. Several persistent pollutants can reach Antarctica by long-term transport by oceanic and atmospheric ways as well as increasing local activities (oil spills, paints, open field garbage burning and fuel combustion, among others) can introduce pollutants into the surrounding environment. In this context, the Protocol on Environmental Protection to the Antarctic Treaty (the Madrid Protocol of 1991) initiated a stage of regulation and control of the Antarctic activities. But before its implementation many human activities were carried out without any consideration for the environmental health in this region. Nowadays human presence and its associated activities increase every year in certain areas such as Antarctic Peninsula, where tourism has grown exponentially during the last two decades. In addition, population growth and industrial development in countries of the Southern Hemisphere can increase the impact of pollutants in Antarctica. Recent studies have shown that environmental pollution levels and their bioavailability are increasing in some Antarctic areas and even compounds never used there have been detected in local biota.

In this context, Antarctic penguins have been proposed as potential sentinels for pollution monitoring. These organisms present several of the characteristics of useful sentinels in other regions. They are top predators and long-lived species, therefore, biomagnification and bioaccumulation phenomena can occur, present wide distribution ranges with abundant populations, have a big body size that makes sampling easy and integrate contamination over time and space. The main disadvantage in Antarctica is the difficulty to get large sample sizes as it is not allowed under the Antarctic Treaty to collect living individuals and only carcasses can be collected. Besides, ethical standards recommend the use of non-invasive methods for sampling as an alternative to capture and sacrifice organisms. Feathers, for example, are non-invasive useful samples for pollution monitoring specially for metals that present high affinity for the sulfhydryl groups of the feather's structural proteins.

According to this background, the aims of this thesis are the following: to analyze the presence of relevant trace elements (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg and Pb) in tissues and stomach contents of three species of Antarctic penguins (gentoo penguin - *Pygoscelis papua*, chinstrap penguin - *Pygoscelis antarctica* and Adélie penguins - *Pygoscelis adeliae*) living in Antarctic Peninsula and its associated islands; to assess the existence of differences among species and within populations of the same species; to analyze the presence of relevant organic pollutants (polychlorinated biphenyls, perfluorinated compounds, phthalates and bisphenol A) in tissues of penguins and krill from Deception Island (South Shetland Islands, Antarctic Peninsula area); to assess accumulation patterns among tissues and accumulation with age of the studied elements and compounds in these species of penguins; to identify target organs for pollutants accumulation and levels potentially toxic for penguins; to identify magnifications of pollutants in Antarctic food web; and to assess the usefulness of penguins as pollution indicator organisms in the study area.

Concentrations of Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg and Pb were determined in tissues and stomach contents of gentoo, chinstrap and Adélie penguins collected in 8 different locations throughout the Antarctic Peninsula during the austral summer seasons from 2006 to 2010. Samples of liver, kidney, muscle, bone, feather and stomach content were taken by necropsies of 32 penguin carcasses (12 adults, 5 juveniles and 15 chicks). Besides, feathers of 207 living specimens were collected and analyzed. Concentrations of the cited elements were determined by ICP-MS after microwave digestion with nitric acid and hydrogen peroxide. The analytical precision was verified by use of blanks, initial calibration standards and certified reference materials (DORM-2 and DOLT-2). The limits of detection ($\mu\text{g g}^{-1}$) were 0.004 (Al), 0.0002 (Cr, As, Hg), 0.0004 (Mn, Ni), 0.002 (Fe), 0.0008 (Cu, Pb), 0.003 (Zn), 0.0007 (Se) and 0.0001 (Cd).

Concentrations of 27 polychlorinated biphenyl congeners (PCBs), mono-2-ethylhexyl and di-2-ethylhexyl phthalates (MEPH and DEPH), perfluorooctanoic and perfluorooctanesulfonic acids (PFOA and PFOS) and bisphenol A (BPA) were determined in tissues of chinstrap penguins and krill from Deception Island (Antarctic Peninsula area) collected in 2009-2010 austral summer season. Samples of liver, kidney, muscle, heart and brain were taken by necropsies of 10 penguin carcasses (4 adults and 6 chicks). Samples were specifically extracted for each family of compounds.

PCB congeners were analyzed by gas chromatography equipped with ^{63}Ni electron capture detector. The limits of detection were between 0.002 and 2.541 $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$. Perfluorinated compounds, phthalates and BPA were analyzed by using high performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. The limits of detection were 0.500 ng g^{-1} for PFOS, PFOA and BPA, 2.000 ng g^{-1} for MEHP and 10.000 ng g^{-1} for DEHP. The analytical precision was verified by use of blanks, calibration standards and matrix spikes.

Statistical analysis was conducted using SPSS version 15.0. Parametric methodologies (one-way ANOVA test with Bonferroni post hoc test and T-Student test) were used when the assumptions of normality and homocedasticity were met. If not, non-parametric analogue test were used (Kruskal-Wallis test with post hoc comparisons and U Mann-Whitney test). Differences in pollutants accumulation in penguin internal tissues, feathers and stomach contents, and differences in metal concentrations between chicks, juveniles and adult individuals were assessed. Inter-specific and geographical differences were also evaluated. Finally, Pearson and Spearman correlation coefficients were calculated between pairs of elements. A p value less than 0.05 was considered to indicate statistical significance.

The analysis of penguin feathers highlighted that trace elements levels we found were not completely in agreement with the idea of an uncontaminated Antarctic ecosystem compared with other regions of the world. Levels of Cr, Mn, Cu, Se or Pb in penguin feathers from the studied islands King George and Deception were similar or even higher than levels of these elements detected in other seabirds from the Northern Hemisphere. Even though these results can be related to natural phenomena (e.g. local volcanism) they can also be related to anthropogenic pollution. Penguin feathers were especially useful for monitoring Pb and Cr levels, since these metals are directly connected with several human contaminant activities. Feathers were also useful for monitoring other elements such as Ni and Cu, whereas other biological samples should be analyzed to evaluate penguin exposure to As or Cd, since these elements tend to accumulate in soft tissues. Most of the studied elements in penguin feathers samples showed the highest levels in locations with major anthropogenic pressure, such as King George and Deception Islands. These results support that anthropogenic influence is the responsible, at least partially, for the concentration of metals. Therefore, the increase of contaminant human activities such as plane and ship trips related to the tourism industry

in the northern area of the Antarctic Peninsula could have a significant effect on the accumulation of metals in Antarctic biota. In addition to local pollution, population growth and industrial development in Southern Hemisphere can increase the impact of persistent contaminant in Antarctica.

Regarding results on Hg concentrations, chinstrap penguin feathers showed a decrease of Hg levels from North to South in the study area. The highest levels were found in samples from King George Island, which could be related to the major proximity of this Island to South America and therefore anthropogenic sources of Hg as well as the concentration of local activities. High Hg levels found in King George Island were similar or even higher than those high Hg levels previously found in Arctic seabirds. Our results on Hg concentrations confirm the existence of bioaccumulation and magnification of this toxic metal in Antarctic penguins, although levels detected in this study are lower than those considered as toxic for seabirds.

According to our results, feathers of Antarctic penguins are useful for long-term monitoring of trace elements in Antarctic marine environment and for a better understanding of spatio-temporal trends. Besides, the study of penguin internal tissues provides additional information regarding accumulation and magnification of pollutants.

The study of penguin carcasses highlighted that specimens from some locations were chronically exposed to high Cd levels. This metal was mainly accumulated in renal tissue reaching levels several orders of magnitude higher than those found in the main penguins' prey, the Antarctic krill. Several specimens of penguins showed Cd levels in kidney even above the toxicity threshold established for seabirds. We also found high Se and Zn levels in penguin tissues which could be playing a protection role against the toxic effects of Cd and Hg. Se even reached toxic concentrations in hepatic tissue. The obtained results indicated that a slight increase in Mn and Cr levels in Antarctica could exist and could be related with a major human presence, use of combustibles and oil contamination. In accordance with results obtained in penguin feathers, the highest levels of Pb and Ni in this study were detected in specimens from areas where a major human presence exists and this fact suggests that these metals, at least partially, came from anthropogenic sources.

Penguin tissues showed a wide number of positive correlations between pairs of elements. These results indicate in general that similar uptake and storage pathways

existed for them, as well as similar internal processes of regulation and/or detoxification. Similar elimination routes could also exist, especially through feathers. Particularly for metals known to be related with anthropogenic contamination (Cr, Ni, Mn, As, Cd or Pb) these results suggest that common anthropogenic sources existed for them in the study area. These sources seem to be increasing the presence of toxic metals in Antarctic penguins. The observed relations among Se-Zn and Cd-Hg are consequent with expected results, since Se and Zn act as an antidote to the toxic effects of high Cd and Hg concentrations. These relations also confirm the exposure to high Hg and Cd levels in penguins from the study area, since these relations tend to disappear at low exposure levels.

When we studied inter-specific differences, we found that chinstrap penguin often shows the highest trace elements levels in sampling sites where two or three species share the same area. These results could be related to ecological or physiological differences among species such as different capacities for detoxification and elimination of trace elements or different absorption-elimination rates. These differences can also be due to variations in penguins' diet.

Penguin tissues also showed concentrations of Cr, Mn, Cu, Se or Pb similar to those found in seabirds from other regions of the world. In the same way we found analysing feathers, penguin carcasses also showed that some areas in Antarctica are not utterly pristine.

Regarding organic pollutants, our analyses revealed the presence of PCBs in chinstrap penguins and krill from Deception Island. However, detected concentrations were lower than those found in other Antarctic areas or in other regions of the world. Anyway, a high biomagnification factor was found for these compounds between chinstrap penguins and krill (BMF = 5.85). Similarities between our results on fingerprints and previous studies highlighted the existence of PCB maternal transfer in this species and a possible decreasing trend on PCB concentrations in the study area like was previously observed in the Arctic.

In the case of PFCs, PFOA was found in almost all samples (91.43%) whereas PFOS was only found in two of them (5.71%). Unlike PCBs, a possible increase of the environmental levels of PFOA in South Shetland Islands can be occurring. Relatively high PFOA levels were found in our samples, whereas PFOS levels were lower than

those found in the Arctic or other regions. Our results confirm the occurrence of PFCs in Antarctica and the widespread distribution of these compounds, although the detected levels were several orders of magnitude lower than those known to cause adverse effects in animals.

MEHP was detected in 25.71% of our penguin samples but not in krill. On the contrary, DEHP showed detectable levels in krill but not in penguin tissues. Finally, BPA were not found in this study. The occurrence of this compound in Antarctic organisms should be tested in future studies since to date there are practically no data available on this issue.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUCCIÓN

1.1 La Antártida: características generales

La Antártida, a pesar de ser el cuarto continente más extenso del mundo, no está habitada por el hombre. Según el Tratado Antártico suscrito por casi 50 países de todo el mundo en la actualidad, esta región del mundo está dedicada a la paz y a la ciencia.

Prácticamente toda su extensión (casi 14 millones de Km²), a excepción de gran parte de la península Antártica, está situada dentro del Círculo Polar Antártico, al que rodea el Océano Glacial Antártico. Durante el invierno la Antártida dobla su tamaño por la gran cantidad de hielo que se forma en su periferia al congelarse el mar (Fig. 1A), mientras que durante el verano austral algunas zonas costeras (aproximadamente el 2% de la superficie total) permanecen libres de hielo (Bargagli, 2008) (Fig. 1B).

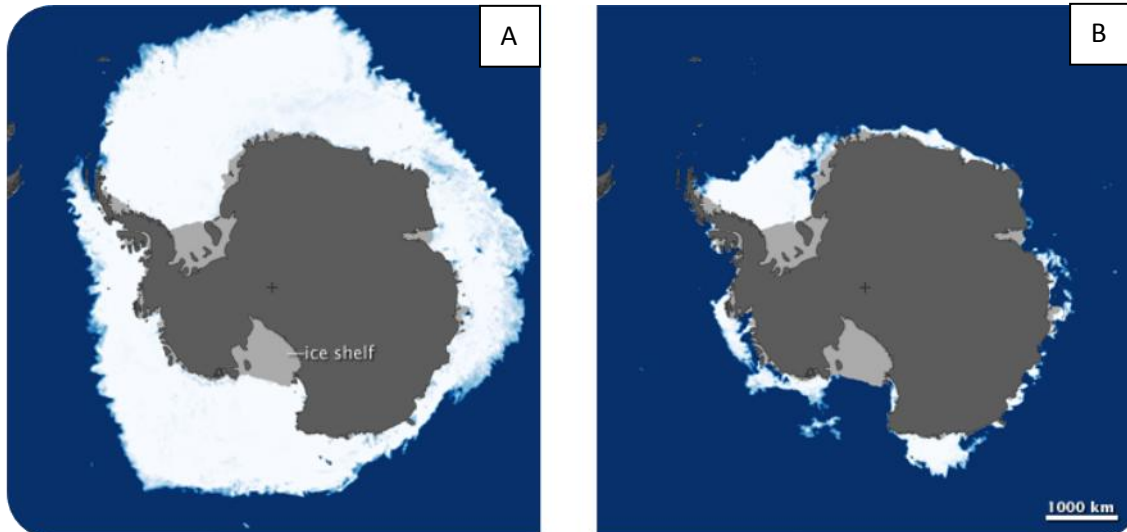


Figura 1. Aumento y disminución de la superficie helada en el Polo Sur durante el invierno (A) y el verano (B). *Fuente: NASA.*

La capa de hielo que cubre el continente antártico tiene un espesor medio de más de 2000 metros, pudiendo alcanzar casi 5000 metros en algunas zonas. Los análisis llevados a cabo a través de satélites sobre la evolución de los hielos antárticos indican

respuestas heterogéneas frente a cambios climáticos recientes. La Antártida Oriental parece experimentar un aumento en el espesor de sus hielos, mientras que en la Antártida Occidental y fundamentalmente en la península Antártica disminuye la cobertura helada, coincidiendo con un aumento de las temperaturas en esta última zona (Fig. 2), que parece ser la más afectada por el cambio global (Davis et al., 2005; Newton, 2008; Steig et al., 2009).

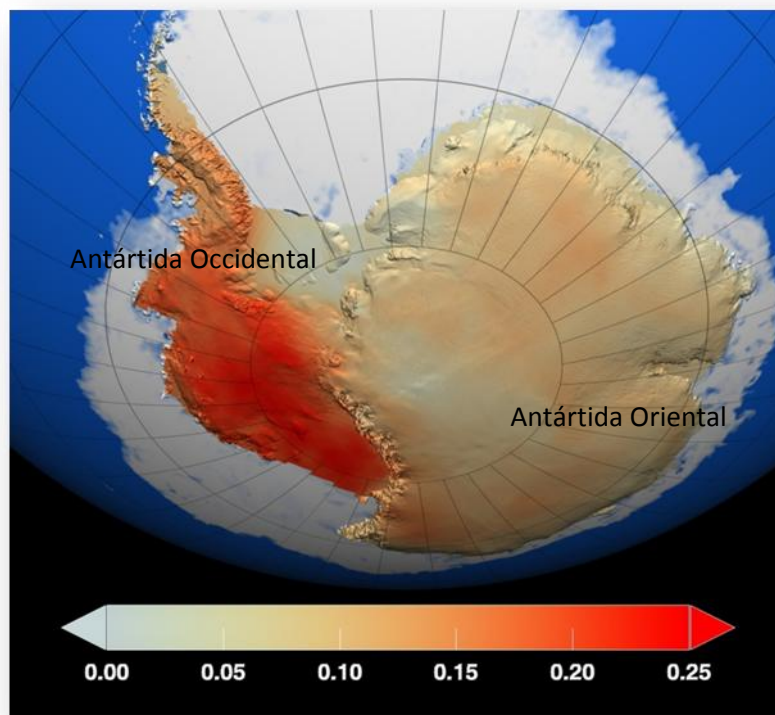


Figura 2. Aumento de la temperatura en la Antártida Occidental en el período 1957-2006. Fuente: NASA

La Antártida es el continente que presenta una mayor altura media (el punto más alto es el Macizo Vinson, 4892 m). Dicha altura, junto con otros factores como la posición geográfica del continente, factores astronómicos y la cubierta de hielo determinan las características del clima antártico (Bargagli, 2005a). Pueden distinguirse dos regiones, la Antártida continental, formada por las zonas interiores del continente, y la Antártida marítima, formada por las zonas costeras. Estas dos zonas son climáticamente muy diferentes, por ejemplo, la Antártida continental puede ser considerada como un “desierto helado” debido a que las precipitaciones son muy

escasas (alrededor de 166 mm anuales; Vaughan et al., 1999), mientras que en la Antártida marítima las precipitaciones pueden ser abundantes. En cuanto a la temperatura, la región continental es la zona más fría de la Tierra con temperaturas que pueden llegar a los -80°C en invierno. En esta zona se midió la temperatura más baja jamás registrada, -89.2°C , en la base rusa Vostok en 1983 (NOAA, 2011). En las zonas costeras sin embargo las temperaturas no son tan rigurosas con una media anual de entre -10°C y -20°C , ascendiendo hasta los 5°C en verano. Los vientos en el exterior del continente son más fuertes que en el interior. Los llamados vientos catabáticos (Parish & Cassano, 2003) son los responsables de las peligrosas ventiscas antárticas, que son capaces de sepultar bajo varios metros de nieve cualquier instalación ubicada en la zona. Además, por su latitud, durante el invierno antártico predominan largos períodos de oscuridad, mientras que los largos períodos de luz marcan la época estival.

Debido a que es el lugar más frío de la Tierra, la Antártida es una pieza fundamental del sistema climático global, en el que actúa como el mayor disipador de calor del hemisferio sur (Bargagli, 2005a). La existencia de la Antártida es crucial para el movimiento de las corrientes de aire a nivel planetario y para el establecimiento de zonas con diferentes gradientes de presión responsables del clima a nivel global. Las características climáticas de la Antártida son también responsables del mantenimiento de las corrientes oceánicas a partir de las diferencias de temperatura y salinidad del agua. La importancia de la preservación de la Antártida, considerada como una gran reserva natural mundial (Bargagli, 2008), radica por tanto en su influencia en el equilibrio global del planeta. Sin embargo y a pesar de su lejanía, los ecosistemas antárticos son especialmente sensibles frente a los cambios globales (Croxall et al., 2002; Smetacek & Nicol, 2005).

En contraposición con su apariencia estéril, el continente antártico y, sobretodo, las aguas que lo rodean están llenos de vida. Los ecosistemas antárticos muestran un gran contraste entre la pobreza y simplicidad de los ecosistemas terrestres y la riqueza y abundante biomasa de los ecosistemas marinos. La escasa biodisponibilidad de agua líquida junto con el aislamiento biogeográfico y las bajas temperaturas, son los principales factores limitantes en el desarrollo de las comunidades bióticas en el medio terrestre antártico (Bargagli, 2008).

Hay por ello pocas especies vegetales que logren sobrevivir en este continente, solamente 300-350 especies aproximadamente de las que únicamente dos son fanerógamas (*Deschampsia antarctica* y *Colobanthus quitensis*). La mayoría son líquenes, musgos y hongos que se extienden en las zonas costeras libres de hielo durante el verano (Alberdi et al., 2002) (Fig. 3).



Figura 3. Vegetación antártica en zonas libres de hielo durante el verano austral

Con respecto a la fauna, la gran mayoría de los animales de la región están relacionados en mayor o menor medida con el medio marino y de ellos, la mayoría se alimentan directa o indirectamente de krill antártico, *Euphausia superba* (Fig. 4) (Corsolini, 2011). Este pequeño crustáceo (de hasta 6 cm de longitud) es la base de toda la cadena trófica antártica (Fig. 5), ya que representa el eslabón de unión entre los productores primarios y los niveles tróficos superiores de dicha cadena (Loeb et al., 1997). En comparación con otros ecosistemas de regiones cálidas, la red trófica antártica es corta y frágil, y las variaciones en la abundancia de krill afectan considerablemente a las especies que de él dependen (Loeb et al., 1997; Moline et al., 2004).



Figura 4. Krill antártico. *Fuente: Alfred Wegener Institute, Alemania*

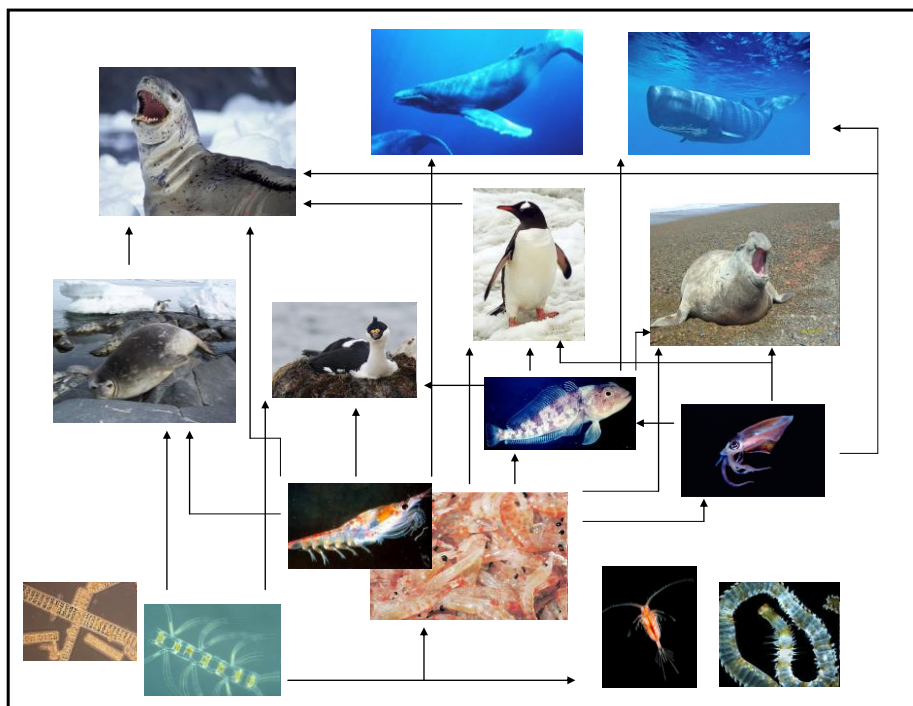


Figura 5. Cadena trófica antártica

Además del krill, una gran diversidad de especies de invertebrados habitan en el medio marino antártico, como distintas especies de moluscos y equinodermos (Fig. 6).

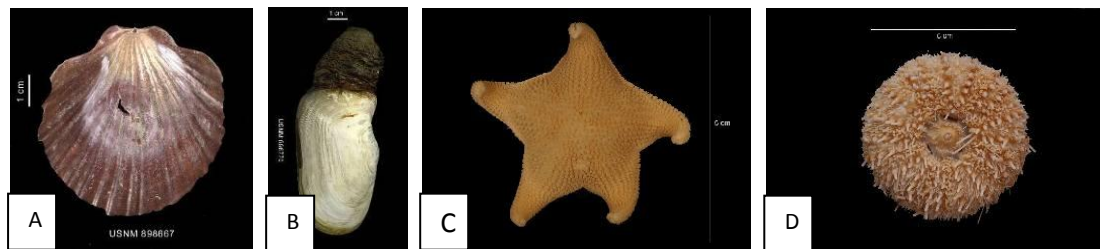


Figura 6. Invertebrados antárticos: (A) *Adamussium colbecki*, (B) *Laternula elliptica*, (C) *Odontaster validus* y (D) *Stereochinus neumayeri*. Fuente: Museo Nacional de Historia Natural, USA

También existen diversas especies de peces adaptadas a vivir en las frías aguas antárticas, como *Trematomus bernacchii* o *Notothenia coriiceps*. El grupo de los cetáceos también es numeroso, estando presentes especies como la ballena azul (*Balaenoptera musculus*), la ballena de aleta (*Balaenoptera physalus*), la ballena boba (*Balaenoptera borealis*), la ballena enana (*Balaenoptera acutorostrata*), la yubarta o ballena jorobada (*Megaptera novaeangliae*, Fig. 7), la ballena franca meridional o austral (*Eubalaena australis*), la orca (*Orcinus orca*), el cachalote (*Physeter macrocephalus*) y el calderón (*Globicephalus melas*).



Figura 7. Ballena jorobada. Fuente: National Scenic Byways Program, USA

Otros mamíferos marinos abundantes en la Antártida son la foca de Weddell (*Leptonychotes weddelli*), la foca cangrejera (*Lobodon carcinophaga*), la foca leopardo (*Hydrurga leptonyx*), el elefante marino (*Mirounga leonina*, Fig. 8A) y el lobo marino (*Arctocephalus gazella*, Fig. 8B).

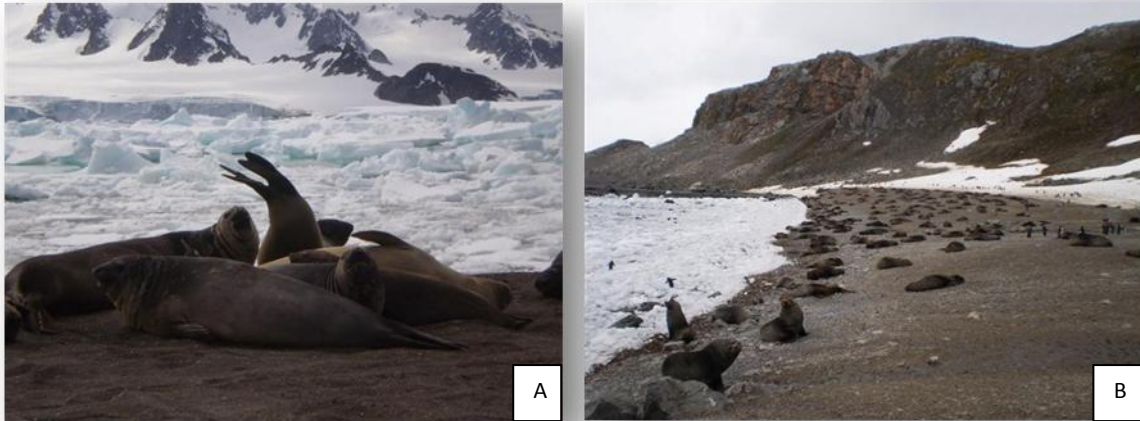


Figura 8. Elefantes (A) y lobos (B) marinos antárticos

La red trófica antártica se completa con la presencia de las aves marinas: albatros, petreles (Fig. 9A), págalos, gaviotas, palomas, charranes o cormoranes (Fig. 9B).



Figura 9. Cormorán antártico (A, *Phalacrocorax bransfieldensis*) y petrel gigante (B, *Macronectes giganteus*)

En el grupo de las aves marinas, las más abundantes de la Antártida son los pingüinos. De las 17 especies de pingüinos que existen, 6 se distribuyen en la Antártida (*Aptenodytes forsteri* o pingüino emperador, *Aptenodytes patagonicus* o pingüino rey, *Pygoscelis antarctica* o pingüino barbijo, *Pygoscelis papua* o pingüino papúa, *Pygoscelis adeliae* o pingüino de Adelia y *Eudyptes chrysolophus* o pingüino macaroni), aunque sólo el pingüino emperador y el pingüino de Adelia presentan una

distribución exclusivamente antártica. La presente tesis doctoral se centra en las tres especies de pingüinos presentes en la península Antártica pertenecientes al género *Pygoscelis*: *P. antarctica*, *P. papua* y *P. adeliae*.

1.2 La contaminación ambiental en la Antártida

El desarrollo económico e industrial sin precedentes ocurrido en el último siglo a nivel global ha conllevado la liberación masiva al ambiente de multitud de contaminantes que han tenido repercusiones inesperadas y, en algunos casos, incontrolables. La persistencia y capacidad de dispersión de determinados compuestos y elementos químicos en el ambiente, así como su capacidad de introducción y acumulación en los sistemas biológicos, ha conllevado la incorporación de nuevos términos a la actualidad científica e incluso social a nivel internacional tales como bioacumulación (bioaccumulation), biomagnificación (biomagnification) o transporte de contaminantes a gran escala (long-term transport of pollutants).

La Antártida ha sido considerada durante décadas como una de las pocas regiones prístinas del planeta, símbolo global de conservación, aislada por barreras naturales de masas de agua y corrientes atmosféricas procedentes de otras zonas. Pero esta idea de región totalmente impoluta empezó a ser cuestionada en la década de los 60, cuando Sladen et al. (1963) detectaron por primera vez el plaguicida DDT (dicloro difenil tricloroetano) y algunos de sus congéneres en muestras biológicas antárticas, aunque evidentemente nunca se habían utilizado plaguicidas en este continente. Desde entonces otros muchos contaminantes de naturaleza persistente han sido detectados en muestras procedentes de la Antártida (UNEP, 2002), evidenciando que ni siquiera la región más aislada del planeta estaba protegida de la contaminación y de su alcance global (Bargagli, 2008). Por ello, en los últimos años las investigaciones sobre la abundancia y comportamiento de los contaminantes ambientales en los ecosistemas antárticos han adquirido un gran interés para la comunidad científica internacional (Bargagli, 2005a; Smichowski et al., 2006).

Por un lado, es importante investigar los niveles basales de elementos traza y otros contaminantes en áreas relativamente no contaminadas, como la Antártida, los cuales puedan ser tomados como valores basales de referencia global (Ancora et al.,

2002) a la hora de evaluar la presencia de contaminación en otros ecosistemas. Por otro, es fundamental tener en cuenta que el transporte de contaminantes persistentes (orgánicos e inorgánicos) emitidos en otras zonas del planeta puede alcanzar y alcanza áreas tan remotas como la Antártida (Bargagli, 2008; Smichowski et al., 2006).

La Antártida no es ajena por tanto a los contaminantes que el hombre ha emitido durante décadas. Pero además en la actualidad otros factores, como el cambio climático o el creciente desarrollo urbanístico e industrial y el aumento poblacional de los países del hemisferio sur, pueden aumentar la deposición e impacto de la contaminación antropogénica en la Antártida (Bargagli, 2008).

Además de un fenómeno global, la contaminación debe también ser considerada en algunas zonas de la Antártida como una problemática local. Diferentes actividades, tales como actividades pesqueras, actividades turísticas, quema de combustibles para transportes y producción de energía, uso de pinturas y baterías, vertido o derrame de residuos sólidos y líquidos o incineración de residuos, entre otras, llevadas a cabo en el pasado y en el presente en el continente antártico y sus islas, pueden contribuir al aumento de la contaminación ambiental.

Tras el Año Geofísico Internacional (1957-58), las actividades humanas en la Antártida han ido considerablemente en aumento causando problemas de contaminación (dos Santos et al., 2005). Como agravante, se debe considerar que los ecosistemas antárticos costeros son especialmente sensibles a las modificaciones antropogénicas, ya que la mayoría de las actividades e impactos humanos se concentran en estas zonas costeras libres de hielo en el verano (aproximadamente un 2% de la superficie total del continente) (dos Santos et al., 2005).

Hace ya más de una década que se empezaron a detectar aumentos en los niveles de contaminantes relacionados con las estaciones científicas y sus actividades asociadas, con accidentes y vertidos aislados (Fig. 10) y con los impactos del creciente turismo (Vodopivec & Curtosi, 1998). Con respecto a este último aspecto, se habla en la actualidad de un aumento exponencial de los viajes aéreos y marítimos de turistas a la Antártida, fundamentalmente concentrados en el extremo norte de la península Antártica y en las islas Shetland del Sur (Fig. 11).

Según datos de la Asociación Internacional de Operadores Turísticos en la Antártida (IAATO, 2011), en la campaña de verano 1992-1993 se contabilizaron 6704 turistas que llegaron a la Antártida en un total de 59 viajes. Según la misma fuente, en la campaña de verano 2009-2010 el número de turistas se elevó a 36875 en un total de 239 viajes.



Figura 10. Naufragio del buque turístico Explorer en 2007 (islas Shetlands del Sur)

Fuente: The New York Times



Figura 11. Localización y detalle de las islas Shetlands del Sur

Algunas de las localizaciones incluidas en el presente estudio (apartado 2.2) han sido señaladas entre las zonas con mayor presión antropogénica de la Antártida. Por ejemplo, solamente isla Decepción (Fig. 11 y 12) recibió 16602 turistas en la campaña 2009-2010 (IAATO, 2011), mientras que en la isla Rey Jorge (Fig. 12 y 13) se encuentra la mayor concentración de estaciones científicas e instalaciones asociadas de la Antártida, además de ser también un sitio con gran afluencia de turistas.

Si bien en los últimos años, con la entrada en vigor del Protocolo de Protección Ambiental para el Tratado Antártico (Protocolo de Madrid, 1991), existe un marco más exigente para la regulación y control de las actividades humanas en la Antártida, durante décadas pasadas la gestión de los residuos (Fig. 14) y otras muchas acciones fueron llevadas a cabo sin ninguna consideración por la salud ambiental de la región (Curtosi et al., 2010).

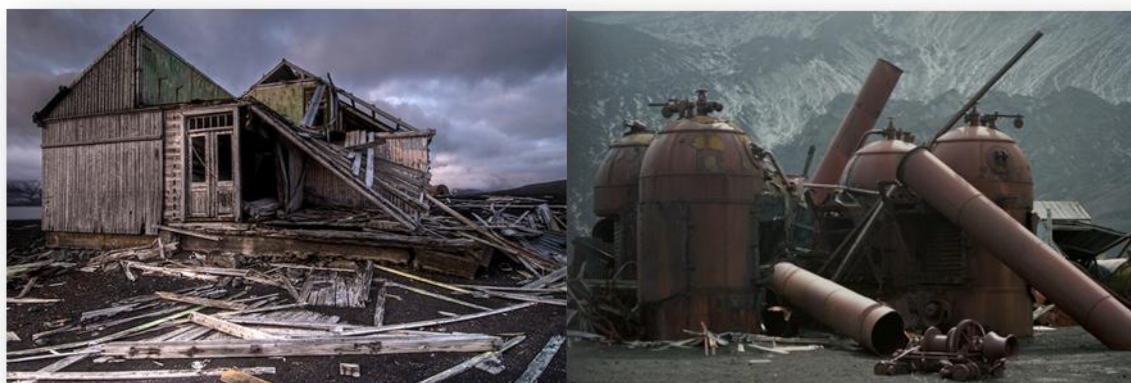


Figura 12. Antiguas instalaciones relacionadas con la caza de focas y ballenas visitadas en la actualidad por los turistas en isla Decepción



Figura 13. Estación científica chilena Frei y detalle de su aeródromo (isla Rey Jorge)



Figura 14. Mala gestión de residuos en isla Rey Jorge

Los contaminantes ambientales que afectan a la Antártida, bien por su emisión a nivel local o bien porque alcanzan la región tras ser transportados a gran escala desde otros continentes, pueden dividirse en dos grandes grupos: los de naturaleza inorgánica (metales pesados – elementos traza) y los de naturaleza orgánica. Los primeros tienen la característica de estar presentes de manera natural en los ecosistemas terrestres y acuáticos, y de ser en algunos casos esenciales en determinadas cantidades para la vida. Sin embargo, diversas actividades antropogénicas pueden emitirlos al ambiente en cantidades “no naturales”, provocando un desequilibrio en sus ciclos y potenciales efectos nocivos en los organismos. Los segundos, los contaminantes de naturaleza orgánica, son en la mayoría de los casos generados por la actividad humana y no estarían presentes en los ecosistemas de manera natural. Por ello su comportamiento en el ambiente y sus efectos sobre los organismos una vez emitidos son más difíciles de predecir y suelen estar íntimamente relacionados, en muchas ocasiones, con su gran persistencia.

La contaminación por metales pesados y otros elementos inorgánicos provoca gran preocupación a escala global, regional y local debido a la influencia que ejercen sobre la integridad funcional y estructural de los ecosistemas (Malik & Zeb, 2009). El estudio sobre su presencia y comportamiento en zonas antárticas con diferente presión antrópica puede contribuir a comprender la influencia real del hombre en la contaminación ambiental de la región. Aunque estos elementos se encuentran de manera natural también en la Antártida por las características geoquímicas de las distintas áreas (Andrade et al. 2001; Sanchez-Hernandez 2000), diversas actividades antropogénicas

desarrolladas in situ pueden emitir/verter estos contaminantes (vertidos accidentales, incineración de residuos, uso de combustibles fósiles, pinturas y barnices, etc.) (Claridge et al. 1995; Curtosi et al. 2010; Poblet et al. 1997; dos Santos et al. 2005; Vodopivec & Curtosi 1998). La contaminación local, junto con el transporte de estos elementos emitidos en Asia, África o el Sudamérica, conlleva un aumento de los niveles ambientales de estos elementos inorgánicos. En este sentido, son especialmente vulnerables las zonas de la Antártida más próximas a otros continentes y con una mayor presión humana (Tin et al., 2009), como el extremo norte de la península Antártica y sus islas asociadas. Además ha sido descrito que algunos de los metales pesados más tóxicos que existen para los organismos, como Cd o Hg, tienden a acumularse y magnificarse en los ecosistemas antárticos (Bargagli, 2008), lo cual puede verse agravado por un aumento “no natural” de estos niveles.

Así mismo, los contaminantes orgánicos persistentes suponen un problema de contaminación a escala global debido a que pueden ser transportados a largas distancias a través principalmente de corrientes atmosféricas. Pueden alcanzar las regiones polares donde, debido a las bajas temperaturas y las largas temporadas de oscuridad, estos contaminantes se degradan muy lentamente y pueden quedar atrapados en el hielo (Corsolini et al., 2006). Con el posterior deshielo son de nuevo liberados al ambiente, pudiendo incorporarse a las cadenas tróficas, acumularse en los tejidos de los organismos y biomagnificarse (Corsolini & Focardi, 2000). Además, el cambio climático y el aumento de las temperaturas en algunas zonas, como la península Antártica, pueden ocasionar una intensificación en los procesos de transporte y deposición de estos contaminantes (Bargagli, 2008). Entre ellos, los bifenilos policlorados (PCBs) y los compuestos perfluorados (PFCs) destacan por su naturaleza persistente y capacidad de acumulación. Se sabe que la mayoría de congéneres de PCBs usados durante décadas han sido transportados a gran escala y han alcanzado la Antártida (Bargagli, 2008). Los PFCs, a pesar de ser un grupo de contaminantes emergentes, también han sido detectados en organismos de diversos mares y océanos, incluso en los océanos Ártico y Antártico (Yamashita et al., 2005). Otros contaminantes orgánicos emergentes, también considerados disruptores endocrinos como los PCBs y PFCs, aunque con menor capacidad de bioacumulación que los anteriores, han sido menos estudiados en la Antártida. Es el caso de los ftalatos o el bisfenol A (BPA). Sin

embargo, debido a su amplio uso y su ubicuidad, su presencia en la biota de la región no debe descartarse y su estudio resulta de gran interés.

1.3 Los pingüinos como bioindicadores de la contaminación ambiental antártica

Debido al crecimiento de la población mundial, la demanda energética, la industrialización y el riesgo de transporte y deposición de contaminantes a gran escala, los gobiernos y la sociedad en general han aumentado su preocupación sobre la salud ambiental y su interés por los programas de monitorización (Burger & Gochfeld, 2004). Estos programas adquieren una significación especial en determinadas regiones, como las regiones polares, que juegan un papel muy relevante en el equilibrio ambiental global. Entre otros aspectos, en los últimos años ha aumentado especialmente el interés por el uso de organismos como testigos de cambios en los niveles de contaminación ambiental (por ejemplo, Burger et al., 2008; Butt et al., 2010; Mochizuki et al., 2008; Yin et al, 2008).

En general, las aves acuáticas son consideradas útiles para la biomonitorización ambiental debido a su amplia distribución, su relativa facilidad de identificación y su papel como componente fundamental de los ecosistemas acuáticos, siendo especialmente sensibles a los cambios que se producen por influencia humana en los hábitats que ocupan (Burger, 1993). A través del estudio de su alimentación, por ejemplo, las aves acuáticas son empleadas para la monitorización y determinación de posibles cambios en la abundancia de sus presas. Dichos cambios permiten observar relaciones con aspectos tan diversos como cambios en las condiciones climáticas, influencia de la explotación humana de determinadas especies, o variaciones en la ingesta como principal vía de entrada de contaminantes al organismo (Carlini et al., 2009; Emslie & McDaniel; 2002; Furness & Camphuysen, 1997).

En concreto en el estudio de la contaminación ambiental, las aves acuáticas pueden acumular las formas biológicamente disponibles de los contaminantes y mostrar niveles varios órdenes de magnitud superiores a los niveles ambientales. Pueden por tanto reflejar fenómenos potenciales de bioconcentración y biomagnificación de

contaminantes persistentes, por estar situadas en niveles altos de las cadenas tróficas y presentar ciclos de vida largos (Burger & Gochfeld, 2004; Roomen et al., 2006).

El seguimiento y control en los ecosistemas de la presencia y abundancia de contaminantes, principalmente los metales pesados y otros elementos con gran potencial tóxico, así como contaminantes orgánicos persistentes, permiten establecer la magnitud y evolución de dicha contaminación a lo largo del tiempo, anticiparse a posibles efectos nocivos, tomar decisiones de gestión, regulación y protección con base científica, así como establecer prioridades para futuras investigaciones (Cid et al., 2009). Por sus características ecológicas anteriormente comentadas, las aves acuáticas son capaces de acumular contaminantes a unos niveles tales que permitan su puesta en evidencia mucho antes que si la medición se realizara directamente sobre muestras abióticas o de organismos inferiores (Walsh, 1990). Diversas especies de aves acuáticas han sido usadas en los últimos años, por ejemplo en España, para el estudio de las consecuencias a largo plazo provocadas por episodios concretos de contaminación relacionados con la actividad humana, como el accidente de Aznalcollar (Taggart et al., 2006) o el vertido del Prestige (Pérez-López et al., 2006).

En la Antártida, las aves acuáticas son además los representantes más numerosos del grupo de los vertebrados. Entre ellas, los pingüinos han sido señalados como indicadores biológicos potenciales para el estudio de la contaminación, además de por sus características comunes a otras aves acuáticas (amplia distribución, poblaciones numerosas, posición alta en la cadena trófica, longevidad, relativa facilidad de muestreo y capacidad para integrar la contaminación a lo largo del tiempo y el espacio; Burger & Gochfeld, 2004; Walsh 1990), por presentar un nicho ecológico permanente, presentar poblaciones de distribución exclusivamente antártica y dominar en términos de biomasa la avifauna de la región (Boersma, 2008; Metcheva et al., 2006; Smichowski et al., 2006). Son así mismo organismos capaces de reflejar fenómenos de magnificación de contaminantes persistentes. Si bien es cierto que la red trófica antártica es relativamente simple y se basa principalmente en el krill (Sánchez-Hernández, 2000), el riesgo de que se produzcan estos fenómenos aumenta en los ecosistemas costeros por el alargamiento de dicha red trófica (Bargagli, 2008). La biomagnificación y concentración de contaminantes como cadmio, mercurio o bifenilos policlorados en las cadenas tróficas acuáticas son procesos bien conocidos que adquieren especial relevancia en la

Antártida, donde la mayor parte de la biomasa está concentrada en el ambiente marino (Bargagli et al., 1996, 1998).

Los niveles de metales pesados y otros contaminantes presentes en los pingüinos estarán directamente relacionados con los niveles presentes en su principal presa, el krill que, como especie clave, determina en gran parte la presencia de contaminantes en el resto de la cadena trófica antártica (Nygard et al., 2001).

Los estudios a gran escala de especies clave, como los pingüinos o el krill, así como la estandarización de métodos de muestreo no invasivos (plumaje, sangre, guano o cadáveres recolectados de manera oportunista), permiten la detección de cambios espacio-temporales en los niveles de contaminación ambiental antártica (Bargagli, 2005a). Las plumas, por ejemplo, son una muestra excelente para la monitorización del estado ambiental de la Antártida, especialmente para la detección de niveles de metales pesados y otros elementos inorgánicos, ya que los enlaces disulfuro presentes en las proteínas estructurales de las plumas se convierten fácilmente en grupos sulfhidrilo, por los cuales los metales tienen una elevada afinidad (Burger, 1993; Metcheva et al., 2006) (ver capítulo tercero). Además, la muda anual del plumaje permite observar con relativa facilidad tendencias temporales en los niveles de exposición (Metcheva et al., 2006). Por otra parte, el análisis de los tejidos internos de pingüinos adultos permite observar niveles de metales y contaminantes orgánicos más elevados, fruto de la acumulación tras exposiciones a medio o largo plazo, en función de la afinidad que cada contaminante presente por un determinado tejido (ver capítulos cuarto y sexto). Y finalmente, el estudio de niveles de elementos inorgánicos y contaminantes orgánicos en tejidos de crías de pingüino permite conocer su biodisponibilidad en un contexto espacio-temporal más acotado (la pingüineras durante el periodo de reproducción) (ver capítulo quinto y sexto).

A pesar de su importancia, actualmente la información disponible sobre niveles de contaminantes en tejidos de pingüinos antárticos es escasa y fragmentada en comparación con otras aves estudiadas en otras regiones del mundo, ya que el acceso a un volumen de muestra representativo en la Antártida es complicado, fundamentalmente debido a que tanto el Tratado Antártico como el SCAR (Scientific Committee for Antarctic Research) recomiendan que no se lleve a cabo la recolección de individuos

vivos. Además, los estándares éticos recomiendan el uso de métodos no-invasivos para el muestreo como alternativa a la captura y sacrificio de ejemplares vivos.

Algunos de los trabajos más relevantes que han estudiado hasta el momento niveles de elementos inorgánicos en plumas y tejidos de pingüinos pigoscélidos antárticos son los siguientes: Honda et al. (1986), que estudiaron niveles de metales en pluma, hígado, riñón, músculo y otros tejidos de pingüino de Adelia (isla Rumpa); Ancora et al. (2002), que estudiaron metales en pluma, así como en contenido estomacal y guano de pingüino de Adelia (bahía Terra Nova); Metcheva et al. (2006), que emplearon la pluma de pingüinos papúa y barbijo para el estudio de un amplio abanico de elementos inorgánicos (isla Livingston); Smichowski et al. (2006), que estudiaron niveles de metales en hígado, riñón y músculo de pollos de pingüino de Adelia (isla Rey Jorge); y por último, Bargagli et al. (1998), De Moreno et al. (1997) y Szefer et al. (1993a,b) también incluyeron ejemplares de estas especies de pingüinos en sus trabajos sobre niveles de metales en la región antártica.

Con respecto a los contaminantes orgánicos, destacan los siguientes trabajos: Corsolini et al. (2002, 2003, 2006, 2007) y Kumar et al. (2002) analizaron policlorodibenzodioxinas (PCDDs), policlorodibenzofuranos (PCDFs), PCBs, polibromodifenil éteres (PBDEs) y plaguicidas organoclorados en organismos polares, entre ellos el pingüino de Adelia, barbijo y papúa, procedentes del Mar de Ross e isla Rey Jorge. Geisz et al. (2008) estudiaron niveles de DDT en tejido adiposo de pingüino de Adelia procedente del archipiélago Palmer, isla Ross e isla Rumpa. Yogui & Sericano (2009) estudiaron niveles de PBDEs en huevos de pingüinos barbijo y papúa, además de otras aves marinas, recolectados en isla Rey Jorge. En esta misma isla, Taniguchi et al. (2009) emplearon tejido adiposo de pingüino de Adelia, barbijo y papúa para medir niveles de PCBs, plaguicidas organoclorados e hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs).....

1.4 Objetivos

Considerando los antecedentes expuestos, el presente trabajo persigue aumentar y complementar la escasa y fragmentada información disponible acerca de la presencia

de contaminantes ambientales en la península Antártica e islas asociadas, mediante la consecución de los objetivos siguientes:

- ✓ Determinar los niveles de elementos inorgánicos de relevancia toxicológica (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg y Pb) en tejidos (hígado, riñón, músculo, hueso y pluma) y contenido estomacal de tres especies de pingüinos antárticos (pingüino papúa, barbijo y de Adelia) procedentes de distintas localizaciones de la península Antártica e islas asociadas.
- ✓ Estudiar diferencias geográficas e inter-específicas entre los niveles de dichos elementos presentes en los tejidos analizados.
- ✓ Determinar los niveles de contaminantes orgánicos de relevancia toxicológica (PCBs, PFCs, ftalatos y BPA) en tejidos (hígado, riñón, músculo, corazón y cerebro) y contenido estomacal de pingüinos barbijo procedentes de isla Decepción.
- ✓ Estudiar los patrones de acumulación de los elementos y compuestos analizados en los diferentes tejidos de pingüinos antárticos, e identificar tejidos diana de acumulación y niveles potencialmente tóxicos para estos organismos.
- ✓ Estudiar fenómenos de acumulación de los elementos y compuestos analizados en tejidos de pingüinos antárticos a lo largo de su ciclo vital, mediante el estudio de individuos de distintas edades (pollos, juveniles y adultos).
- ✓ Estudiar fenómenos de magnificación de los elementos y compuestos analizados en la red trófica antártica, mediante la comparación de sus niveles en contenido estomacal y tejidos de pingüinos antárticos.
- ✓ Valorar en un contexto global la abundancia de los elementos y compuestos analizados en muestras antárticas, mediante la comparación de los niveles detectados con los presentes en ecosistemas acuáticos de otras regiones del mundo.
- ✓ Validar el uso de los pingüinos papúa, barbijo y de Adelia para el estudio de la presencia de contaminantes ambientales en la península Antártica e islas asociadas.

1.5 Estructura organizativa de la tesis

Este trabajo está estructurado en seis capítulos. El **capítulo primero** incluye una introducción general acerca de la Antártida, la problemática de la contaminación ambiental en la zona y el papel de los pingüinos antárticos como bioindicadores de dicha contaminación. Este capítulo incluye también los objetivos de la tesis y este apartado explicativo sobre la organización del trabajo.

En el **capítulo segundo** se describen las especies y área de estudio, el proceso de toma de muestras, los elementos y compuestos analizados, la metodología analítica y el análisis estadístico realizado.

En los capítulos siguientes se exponen y discuten los resultados obtenidos. El **capítulo tercero** incluye los resultados obtenidos en el estudio de metales y otros elementos inorgánicos de relevancia toxicológica en muestras de pluma de pingüinos antárticos procedentes de distintas localizaciones de la península Antártica e islas asociadas. Los resultados de este capítulo, a excepción de los referentes a mercurio, han sido publicados en la revista científica *Environmental Pollution* [Jerez, S., Motas, M., Palacios, M.J., Valera, F., Cuervo, J.J., Barbosa, A., 2011. Concentration of trace elements in feathers of three Antarctic penguins: geographical and interspecific differences. *Environmental Pollution* 159, 2412-2419]. Los **capítulos cuarto y quinto** incluyen, respectivamente, los estudios sobre niveles de metales y otros elementos inorgánicos de relevancia toxicológica en individuos adultos-juveniles y pollos de pingüinos antárticos procedentes de distintas localizaciones de la península Antártica e islas asociadas. El contenido de estos capítulos ha sido enviado para su publicación a las revistas científicas *Environmental Science and Pollution Research* y *Marine Pollution Bulletin*, respectivamente. Por último, el **capítulo sexto** incluye el estudio sobre niveles de contaminantes orgánicos (PCBs, PFCs, ftalatos y BPA) en tejidos y contenido estomacal de pingüinos barbijo de isla Decepción. El trabajo concluye con el **resumen final** y las **conclusiones generales** extraídas de los resultados obtenidos.

CAPÍTULO 2

2 ESPECIES, ÁREA Y CONTAMINANTES OBJETO DE ESTUDIO, TOMA DE MUESTRAS, MEDOTOLOGÍA ANALÍTICA Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.1 Especies objeto de estudio: los pingüinos pigoscélidos

Los pingüinos pigoscélidos pertenecen al Orden *Sphenisciformes*, familia *Pygoscelidae*, género *Pygoscelis*. Actualmente existen tres especies: pingüino papúa (*Pygoscelis papua*, Fig. 15A), barbijo (*Pygoscelis antarctica*, Fig. 15B) y de Adelia (*Pygoscelis adeliae* Fig. 15C).



Figura 15. Pingüinos papúa (A), barbijo (B) y de Adelia (C)

Con respecto a la distribución de los pingüinos en general, estas aves habitan exclusivamente en el Hemisferio Sur. Se encuentran en el continente antártico y en las islas sub-antárticas de los océanos Pacífico, Atlántico e Índico, así como en las costas de Australia, Sudáfrica, Sudamérica e islas Galápagos. En cuanto a los pingüinos pigoscélidos en particular, el pingüino de Adelia presenta una distribución exclusivamente antártica, formando colonias en las zonas costeras de prácticamente

todo el continente e islas asociadas. El pingüino papúa nidifica en el extremo sur de Sudamérica, islas Malvinas, islas Georgia del Sur, islas Sandwich, islas Orcadas del Sur, islas Shetland del Sur y en varios puntos de la península Antártica (hasta los 64° de latitud Sur). El pingüino barbijo se distribuye principalmente en las islas Sandwich del Sur, islas Orcadas del Sur, islas Shetlands del Sur y a lo largo de la parte norte de la península Antártica (Williams, 1995).

El pingüino papúa es fácilmente identificable por presentar un parche blanco en la parte alta de la cabeza y el pico de color rojo. Los individuos adultos de pingüino papúa alcanzan una estatura de 70 a 80 cm. El pingüino barbijo mide unos 74 cm, y su principal rasgo distintivo es una línea negra en la parte inferior de la cabeza. Los pingüinos de Adelia son más pequeños, alcanzan un máximo de 70 cm de estatura, y presentan la cabeza totalmente de color negro y un anillo de color blanco característico alrededor de los ojos.

Los pingüinos son las únicas aves no voladoras adaptadas al buceo propulsado por las alas. Por ello tienen un esqueleto más fuerte y robusto que las aves voladoras, que les proporciona fuerza suficiente y flotabilidad reducida. Para aislarse del frío, tanto en el medio terrestre como en el medio marino, emplean su plumaje, la capa de acúmulos de grasa que tienen bajo la piel y un sistema de circulación sanguínea a contracorriente, que les permite mantener una temperatura de 39 °C en el interior del cuerpo (Bonser & Dawson, 2000; IPCWG, 2011).

Los pingüinos son capaces de bucear hasta profundidades de 170 m. La presión se incrementa 1 atmósfera por cada 10 m de profundidad, y para soportarla necesitan una serie de adaptaciones fisiológicas: la sangre tiene una elevada concentración de hemoglobina que actúa como almacén de oxígeno durante las inmersiones acuáticas; los tejidos musculares tienen así mismo altas concentraciones de mioglobina, que actúan también como almacén de oxígeno; el cuerpo se enfría conforme aumenta la profundidad, se suprime la actividad metabólica de algunos órganos y consiguen disminuir los requerimientos de oxígeno. También están adaptados al aumento de la presencia de dióxido de carbono en sangre, impidiendo que se vuelva excesivamente ácida por la formación de ácido carbónico. Mediante la presencia en los tejidos musculares de altos niveles de la enzima deshidrogenasa láctica, consiguen que los músculos trabajen anaeróbicamente (IPCWG, 2011).

Poseen un pico alargado y puntiagudo que les permite alimentarse principalmente de pescado, cefalópodos y crustáceos. Las proporciones de las diferentes presas varían en el espacio y en el tiempo en función de su disponibilidad y abundancia (Pütz et al., 2001; Rombolá et al., 2004). Así por ejemplo, estudios llevados a cabo en islas sub-antárticas han mostrado que en algunas temporadas los pingüinos papúa se alimentan mayoritariamente de krill, mientras que otros años aumenta la proporción de distintas especies de peces, siendo minoritarios los calamares y los anfípodos (Berón et al., 2002; Croxall et al., 1999; Pütz et al., 2001). En las islas Orcadas del Sur el pingüino barbijo se alimenta principalmente de krill, incluyendo en su dieta también peces y anfípodos (Rombolá et al., 2004), mientras que en las islas Shetlands del Sur el krill supone el 95-100% de su alimentación (Miller et al., 2010; Rombolá et al., 2009). El pingüino papúa también parece alimentarse principalmente de krill en el archipiélago de las Shetlands del Sur (Carlini et al., 2009), aunque su flexibilidad dietética es mayor, pudiendo aumentar las proporciones de calamares y peces cuando escasea el krill (Miller et al., 2009). El pingüino de Adelia, al igual que el pingüino barbijo, se alimenta principalmente de krill en la zona de las islas Shetlands del Sur (Volkman et al., 1980), mientras que en la zona este de la Antártida varía las proporciones de krill y peces según la disponibilidad de las presas (Kent et al., 1998; Tierney et al., 2009).

La reproducción de los pingüinos pigoscélidos tiene lugar durante los meses de octubre a febrero, aprovechando las zonas de costa libres de hielo y la abundancia de recursos marinos. Durante ese periodo establecen las parejas y forman las colonias en zonas costeras (Fig. 16), que abandonarán tras la época de cría. Las colonias pueden estar formadas por varios miles de parejas y distintas especies de pingüinos pueden compartir las zonas de establecimiento de colonias, como ocurre en la isla Rey Jorge, donde existen colonias mixtas, aunque las especies delimitan sus zonas de anidada por separado. Dentro de una misma especie, machos y hembras presentan altas tasas de fidelidad con respecto a los sitios de reproducción y con respecto a la pareja (Dubois et al., 1998; Williams & Rodwell, 1992).

El nido está formado por una pequeña depresión en el suelo que escarban con las patas y que rellenan de piedras pequeñas con lo que consiguen una plataforma que drena el agua procedente de la lluvia o de la nieve al derretirse. Las piedras de los nidos pueden llegar a pesar hasta 6 kg. (Barbosa et al. 1997). El mantenimiento del nido ocupa a las aves durante toda la fase de guarda (ver más adelante) estableciéndose una dura

competencia por las piedras (REFS). La puesta tiene lugar a finales de octubre, aproximadamente. Generalmente ponen dos huevos de manera sincronizada con el resto de la colonia. Ambos progenitores se turnan para incubar los huevos (durante unos 30-40 días) y posteriormente para el cuidado de las crías (los cambios ocurren cada 1-3 días). Durante la incubación y el periodo de guarda, los progenitores transmiten el calor a los huevos y a sus crías a través de la placa incubatriz. Cada pingüino defiende su el territorio inmediatamente alrededor del nido (Fig. 17). Una vez que se produce la eclosión, los adultos buscan alimento para sus crías en el mar. Para alimentarlas, regurgitan el alimento almacenado en su estómago (Fig. 18A). Los pollos permanecen en el nido (fase de guarda) durante 3-4 semanas, hasta que su plumaje mesoptilo crece por completo y les proporciona el aislamiento adecuado. Una vez finalizado este periodo, los pollos de la colonia se agrupan formando guarderías. Ambos adultos tienen así mayor autonomía para ir al mar en busca de alimento y satisfacer la creciente demanda de alimento de sus crías. Al volver del mar, buscan a sus crías para alimentarlas, a las que identifican por el sonido. En temporadas de escasez de alimento, ambas crías compiten por la comida que les proporcionan sus progenitores, y sólo una de ellas sobrevive en la mayoría de los casos. Las guarderías ofrecen protección a los pollos frente a los depredadores y a las agresiones de algunos adultos (REFS). Los pingüinos jóvenes (Fig. 18B) mudan al plumaje de adulto tras 50-60 días. Una vez finalizada la época reproductiva, los adultos acumulan reservas de grasa para hacer frente a la muda anual, que ocurre durante febrero-marzo (IPCWG, 2011; Williams, 1995).



Figura 16. Colonias de pingüinos barbijo en isla Decepción



Figura 17. Defensa del territorio dentro de una colonia de pingüinos de Adelia.

Fuente: antarctica.kulgun.net



Figura 18. (A) Pingüino barbijo alimentando a su cría en el nido y (B) pollo de pingüino de Adelia mudando el plumón

Los pingüinos viven entre 15 y 20 años. Sin embargo, y a pesar del cuidado de sus progenitores, la mortalidad de los pollos es generalmente alta en tierra, debido al frío, aplastamientos, falta de alimento, abandono o ataques de los depredadores. Por el contrario, los pingüinos sanos adultos no están normalmente amenazados por

depredadores naturales en tierra, aunque su mortalidad sí es elevada en el mar donde son atacados por varias especies, como las focas leopardo (Fig. 19), los leones marinos o las orcas (Williams, 1995).



Figura 19. Foca leopardo cazando un pingüino barbijo. *Fuente: National Geographic*

2.2 Área de estudio y toma de muestras

Se han realizado procesos de toma de muestras de las especies estudiadas (*P. papua*, *P. antarctica* y *P. adeliae*) en 6 islas asociadas a la península Antártica y una bahía de la península, abarcando un área de más de 800 Km de largo (Fig. 20). El rango geográfico de estudio se extiende de norte a sur desde la isla Rey Jorge ($62^{\circ}15'S$ $58^{\circ}37'O$) hasta isla Avian ($67^{\circ}46'S$, $68^{\circ}64'O$). Según nuestro conocimiento, ningún estudio de estas características en cuanto a amplitud geográfica se ha llevado a cabo en tierras antárticas hasta la actualidad.

Las especies han sido muestreadas en todas las localizaciones estudiadas en las que presentan colonias (ver Fig. 20 y tabla 1), aunque en el caso de los cadáveres la recolección fue de carácter oportunista y la procedencia de las muestras es heterogénea (tabla 2).



Figura 20. Área de estudio: [A] isla Rey Jorge ($62^{\circ}15'S$ $58^{\circ}37'O$), [B] isla Linvingston ($62^{\circ}39'S$ $60^{\circ}36'O$), [C] isla Decepción ($63^{\circ}00'S$ $60^{\circ}40'O$), [D] isla de Ronge ($64^{\circ}40'S$ $62^{\circ}40'O$), [E] bahía Paraíso ($64^{\circ}53'S$, $62^{\circ}53'O$), [F] isla Yalour ($65^{\circ}15'S$ $64^{\circ}11'O$) e [G] isla Avian ($67^{\circ}46'S$, $68^{\circ}64'O$)

La localización situada más al norte, isla Rey Jorge (A, Fig. 20) forma parte del archipiélago de las islas Shetland del Sur (Fig. 11), junto con isla Livingston (B) e isla Decepción (C). La isla Rey Jorge, también conocida como isla 25 de Mayo, es considerada una de las zonas con mayor presión antropogénica de la Antártida. Las actividades humanas en esta isla, situada a unos 900 Km de Cabo de Hornos, se iniciaron en el siglo XIX, con la llegada de los cazadores de focas y ballenas. Hoy en día es uno de los destinos antárticos preferidos por los turistas y es considerada como una de las zonas con mayor concentración de estaciones científicas internacionales en la Antártida e incluso en el mundo (IAATO, 2011; Kennicutt, 2009). En esta isla existen un total de 9 estaciones de ocupación permanente (de nacionalidad chilena, argentina, polaca, coreana, uruguaya, brasileña, china, peruana y rusa) y numerosas estaciones de ocupación estival, y cuenta incluso con un pequeño aeropuerto (Fig. 13). Diversos estudios han puesto de evidencia en los últimos años que la presencia humana y sus actividades asociadas en la zona pueden ocasionar efectos adversos en el medioambiente local (entre otros, Bicego et al., 2009; Choi et al., 2008; Harris, 1991). Además, esta isla ha sido señalada como un mesocosmos de los cambios que están ocurriendo como respuesta al cambio climático, especialmente acusado en esta zona, (Fig. 2) y como un excepcional banco de pruebas para predecir futuras respuestas a éste (Kennicutt, 2009). En esta isla se han muestreado dos zonas (tabla 1) ambas protegidas como Zonas de Especial Protección Antártica, punta Stranger (ASPA 132, XXXX) y punta Barton (ASPA XXXXX). Esto implica que solamente se puede entrar en estos enclaves para la realización de actividades científicas y siempre con un permiso expedido por la autoridad polar nacional que en el caso de España es el Comité Polar Español. La población de pingüinos en punta Stranger es de 3764 parejas en el caso del pingüino papúa y de 3412 parejas en el caso del pingüino de Adelia (Carlini et al. 2009) y la población de punta Barton es de XXXXX (XXXX).

Tanto punta Hannah en isla Livingston como isla Decepción (B y C, respectivamente, Fig. 12 y 20), son también dos puntos de las islas Shetlands del Sur con gran afluencia turística (IAATO, 2011). En isla Livingston existen en la actualidad cuatro estaciones científicas de ocupación estival, entre ellas la estación científica española Juan Carlos I (Fig. 21A), y varios campamentos temporales. La población de pingüino papúa y barbijo de punta Hannah es de 1885 parejas y 754 parejas respectivamente (Lynch et al. 2008). En isla Decepción en la actualidad existen dos

estaciones científicas de ocupación estival, entre ellas la estación científica española Gabriel de Castilla (Fig. 21B), así como ruinas de otras estaciones que fueron destruidas por la última erupción volcánica en 1967. Esta isla es en realidad el cráter de un volcán con forma de herradura, cuya caldera inundada forma una puerto natural único en la zona (Deheyn et al., 2005). Este refugio natural ha albergado actividades humanas desde principios del siglo pasado (cazadores de ballenas y focas e industrias balleneras, Fig. 12, hasta 1967; Baker et al., 1969) y en la actualidad soporta un fuerte tráfico de buques y cruceros. La pingüinera donde se han realizado los muestreos en isla Decepción es la de Vapour Col que tiene una población estimada de 12000 parejas (Barbosa, datos sin publicar).

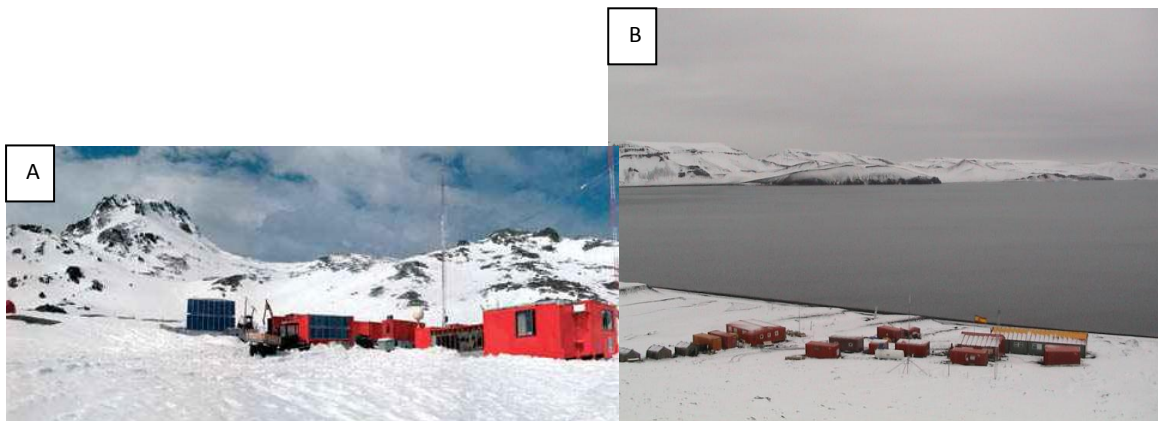


Figura 21. Estaciones científicas españolas Juan Carlos I en isla Livingston (A) y Gabriel de Castilla en isla Decepción (B). *Fuentes: CSIC e histamar.com.ar*

Más al sur las zonas de muestreos incluyen punta George en la isla de Ronge (D, Fig. 20). Situada en el estrecho de Gerlache es una zona donde ha aumentado significativamente el tráfico de cruceros de turistas en los últimos años (Lynch et al., 2010) y es el punto de muestreo más meridional de pingüino barbijo. La población de esta especie en este punto es de 354 parejas (Lynch et al., 2008) y la de pingüino papúa es de 2464 parejas (Lynch et al., 2008). Bahía Paraíso (E, Fig. 20) es un enclave situado en la zona continental de la península Antártica donde se localizan dos bases de investigación, una chilena, González Videla y otra argentina, Almirante Brown. Constituye el punto de muestreo más meridional de pingüino papúa. El muestreo se realizó en la pingüinera de pingüino papúa situada al lado de la base chilena. Su población es de XXXXX. Siguiendo hacia el sur, se sitúa la isla Yalour (F, Fig. 20)

donde ya solo puede encontrarse al pingüino de Adelia. En las cercanías de esta isla se localiza la base ucraniana Vernadsky. La población de pingüino de Adelia en este punto es de 5558 parejas (Lynch et al., 2008). Finalmente, el punto más meridional de muestreo se situó en la isla Avian (G, Fig. 20). Este enclave está protegido como ASPA, designada como la número 117. La población de pingüino de Adelia es de 35600 parejas (Plan de Manejo del ASPA 117).

Con respecto al muestreo de las plumas de pingüino recolectadas de individuos vivos, se tomaron muestras de un total de 207 individuos adultos (59 pingüinos papúa, 80 pingüinos barbijo y 68 pingüinos de Adelia) durante el periodo de muda en las campañas antárticas de 2005/2006 y 2006/2007. Los individuos fueron capturados con una red de mango largo y fueron liberados una vez tomada la muestra de plumas, que fue recogida de manera individual en un tubo de polipropileno con tapón roscado. Las muestras fueron conservadas a temperatura ambiente hasta el momento de su análisis. Las especies estudiadas y el número de individuos a los que se les tomó muestra de plumas en cada localización se detallan en la tabla 1.

Los cadáveres de individuos adultos (12), juveniles (5) y pollos (15) fueron recolectados durante las campañas antárticas desde 2007 hasta 2010 y se conservaron congelados a -20°C en bolsas de plástico de manera individual hasta el momento de su análisis. Durante la realización de las necropsias se tomaron muestras de hígado, riñón, músculo, corazón, cerebro, hueso, pluma y contenido estomacal (compuesto fundamentalmente por krill) cuando fue posible, ya que algunos cadáveres estaban incompletos o no presentaban contenido estomacal suficiente para su análisis. Las muestras fueron guardadas de manera individual en bolsas de plástico con cierre zip. Las especies estudiadas, su localización, su edad, su peso y las muestras disponibles en cada caso se detallan en la tabla 2. El número exacto de muestras analizadas para los distintos contaminantes se detallan en los capítulos correspondientes (capítulos cuarto, quinto y sexto).

Tabla 1. Muestras de plumas recolectadas: especies, localización y tamaño muestral (n: número de individuos muestreados)

| Especies | Localización | n |
|----------------------|---------------------|----------|
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | 20 |
| <i>P. papua</i> | Punta Hannah [B] | 14 |
| <i>P. papua</i> | Punta George [D] | 17 |
| <i>P. papua</i> | Bahía Paraíso [E] | 8 |
| <i>P. antarctica</i> | Punta Barton [A] | 25 |
| <i>P. antarctica</i> | Punta Hannah [B] | 10 |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | 25 |
| <i>P. antarctica</i> | Punta George [D] | 20 |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | 25 |
| <i>P. adeliae</i> | Isla Yalour [F] | 21 |
| <i>P. adeliae</i> | Isla Avian [G] | 22 |

Tabla 2. Cadáveres recolectados: especies, localización, edad, peso y muestras disponibles

| Especie | Localización | Edad | Peso (Kg) | Muestras |
|----------------------|---------------------|-------------|------------------|----------------------------|
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Adulto | 3.15 | Hi, R, M, Hu, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Adulto | 2.48 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Adulto | ND | Hi, R, M, P |
| <i>P. antarctica</i> | Punta Barton [A] | Adulto | 2.05 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Punta Barton [A] | Adulto | 1.40 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Adulto | 1.17 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Adulto | 2.55 | Hi, R, M, C, Hu |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Adulto | ND | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Adulto | 3.50 | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Adulto | ND | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P |

| | | | | |
|----------------------|--------------------|---------|------|----------------------------|
| <i>P. adeliae</i> | Isla Avian [G] | Adulto | 4.14 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Isla Avian [G] | Adulto | 4.04 | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Juvenil | 2.30 | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Juvenil | ND | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Juvenil | 2.42 | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Juvenil | 1.70 | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Juvenil | ND | Hi, R, M, P |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 1.50 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 0.40 | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | ND | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | ND | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. papua</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | ND | Hi, R, M, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 0.62 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 0.70 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 0.77 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 1.02 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. adeliae</i> | Punta Stranger [A] | Pollo | 2.69 | Hi, R, M, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Pollo | 2.65 | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Pollo | 2.15 | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Pollo | ND | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Pollo | 1.85 | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Pollo | 2.00 | Hi, R, M, C, Ce, Hu, P, CO |
| <i>P. antarctica</i> | Vapour Col [C] | Pollo | ND | Hi, R, M, C, Ce |

Hi: hígado; R: riñón; M: músculo; C: corazón; Ce: cerebro; Hu: hueso; P: pluma; CO: contenido estomacal; ND: no disponible

2.3 Contaminantes objeto de estudio

Los compuestos y elementos químicos incluidos en el presente estudio han sido seleccionados por su relevancia en el ámbito de la toxicología ambiental, debido fundamentalmente a su persistencia, su capacidad para ser transportados a largas distancias y por provocar efectos nocivos al incorporarse a las cadenas tróficas y acumularse en los tejidos de los organismos.

2.3.1 Metales pesados y otros elementos inorgánicos

Se han incluido metales pesados (cobre, zinc, cadmio, mercurio y plomo), ligeros (aluminio, cromo, manganeso, hierro y níquel), un semi-metal (selenio) y un elemento no metálico (arsénico). Estos elementos han sido considerados relevantes en el presente estudio por su importancia en el área y ecosistema estudiado, por su relación con la contaminación antropogénica, por su capacidad de provocar efectos adversos en los organismos estudiados o por su interacción con otros elementos. A continuación se describen algunas de sus propiedades, fuentes/usos, toxicocinética, mecanismo de acción y efectos.

Aluminio

El aluminio (Al), con número CAS 7429-90-5, es un **metal ligero** (Repetto & Sanz, 2008) que durante mucho tiempo ha sido considerado inocuo para el hombre. Sin embargo, su impacto sobre los sistemas biológicos ha sido objeto de mucha controversia en las décadas pasadas y una profusa investigación ha demostrado que puede producir efectos adversos en plantas, animales acuáticos y seres humanos (Nesse et al., 2003). Es el tercer elemento más abundante en la corteza terrestre y fue aislado por primera vez en 1827 por Friedrich Wöhler. Es de color blanco plateado, blando, dúctil y maleable.

A pesar de su abundancia, es un **elemento no esencial**. No se conoce ningún papel fisiológico del aluminio que, sin embargo, sí puede producir efectos adversos (Nayak, 2002). Algunas de sus **propiedades físicas y químicas** se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Propiedades del aluminio

| | |
|---------------------------------|-------|
| Número atómico | 13 |
| Peso atómico | 26.98 |
| Densidad (g/ml) | 2.70 |
| Punto de ebullición (°C) | 2450 |
| Punto de fusión (°C) | 660 |

Con respecto a las **fuentes naturales** de este metal, hay que considerar que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y que supone el 8% de la corteza terrestre (Nayak, 2002). El mineral de aluminio más abundante es la bauxita. La erosión de minerales y suelos es la principal fuente natural de emisión de aluminio a la atmósfera, mientras que en los sistemas acuáticos su solubilización está favorecida por la presencia de condiciones ácidas (Nesse et al., 2003).

Ciertas de sus propiedades (ligereza, fortaleza, ductilidad, maleabilidad, conductividad) hacen que sea ampliamente utilizado por el hombre. Entre sus **usos** destacan las aplicaciones aeronáuticas (aerostatos, fuselajes, alas, aviones), la fabricación de conductores eléctricos, la construcción de barcos, trenes, automóviles, silos, electrodomésticos, antenas, radares, radios, materiales de construcción, utensilios de cocina o latas de conserva. También se emplea en la potabilización de aguas (Nesse et al., 2003; Soria et al., 1995). Además de las relacionadas con los usos anteriormente citados, otras **fuentes de emisión antropogénicas** importantes son refinerías, fundiciones, canteras, minas o imprentas. Por otra parte, la lluvia ácida provoca la movilización de depósitos de aluminio insoluble en suelos y sistemas acuáticos (Nesse et al., 2003).

La **absorción** del aluminio por los organismos puede tener lugar por vía inhalatoria, oral o dérmica. Se **distribuye** a través del plasma y unido a proteínas, pudiendo atravesar la barrera hematoencefálica. Se **acumula** en hueso, hígado, cerebro, riñón y corazón (Walker et al., 1994). Se **elimina** principalmente por vía renal (Soria et al., 1995).

Los **mecanismos de toxicidad** del aluminio no han sido totalmente esclarecidos. Se han demostrado acciones perjudiciales del catión en sistemas celulares y sobre distintos órganos tales como cerebro (en individuos jóvenes es el órgano más

susceptible frente a la toxicidad del aluminio; Nayak et al., 2002), hígado, músculos, esqueleto, corazón y médula ósea.

Los **efectos** tóxicos del aluminio tienen lugar fundamentalmente a nivel neurológico, aunque las exposiciones crónicas afectan de manera relevante al sistema óseo (disminución de la tasa de formación ósea, aumento del riesgo de fractura, osteomalacia, dolor, etc.). La exposición crónica también puede provocar disfunciones hepáticas y cardíacas por acumulación del metal en hígado y corazón, respectivamente, así como a nivel renal, endocrino y reproductivo. Las exposiciones por vía respiratoria han sido señaladas como causantes de disminución de la capacidad pulmonar y fibrosis pulmonar (Nayak, 2002).

Cromo

El cromo (Cr), con número CAS 7440-47-3, es un **metal ligero de transición** (Repetto & Sanz, 2008) de aspecto gris acerado y brillante. Se atribuye su descubrimiento a Johann Gottlob Lehmann en los Urales en el año 1761, quien creyó haber encontrado una nueva forma de plomo.

El cromo trivalente (Cr^{3+} , se presenta en forma de sales) es un **elemento esencial**, que participa en la homeostasis de la glucosa como factor de tolerancia. Por el contrario, el cromo hexavalente (Cr^{6+} , se presenta en forma de dicromatos) es la forma de cromo más **tóxica** a nivel ambiental. Esta forma de cromo es emitida por diversas fuentes antropogénicas, y posee un gran potencial de oxidación, penetrando con facilidad en las membranas biológicas (Eisler, 1986; Repetto & Sanz, 2008; Soria et al., 1995).

Algunas de las **propiedades físicas y químicas** del cromo se detallan en la tabla 4.

Tabla 4. Propiedades del cromo

| | |
|---------------------------------|--------|
| Número atómico | 24 |
| Peso atómico | 56.996 |
| Densidad (g/ml) | 7.19 |
| Punto de ebullición (°C) | 2665 |
| Punto de fusión (°C) | 1875 |

El cromo puede ser emitido al ambiente por **fuentes naturales**, como la erosión de rocas y suelos que lo contienen o las erupciones volcánicas. Las incorporaciones naturales a los ambientes acuáticos ocurren fundamentalmente por deposición atmosférica y por aportes de la escorrentía (Kotas & Stasicka, 2000).

Desde el punto de vista de las **fuentes y usos antropogénicos**, el cromo se emplea en la fabricación de pigmentos de cromo, en el curtido del cuero, en la coloración mordiente y conservantes de madera, como anticorrosivo en sistemas de cocina, calderas y lodos de perforación en la industria petrolera, en los fertilizantes, en la industria del acero inoxidable, refinerías, procesamiento de sustancias químicas, galvanoplastia, metalurgia o cementeras; el uso de combustibles fósiles y la incineración de residuos también son fuentes de emisión de cromo (Kotas & Stasicka, 2000). Las emisiones se producen a la atmósfera, suelos y sistemas acuáticos (Elsier, 1986; Kimbrough et al., 1999).

Muchas de las fuentes antropogénicas incorporan al ambiente cromo hexavalente, más tóxico que la forma trivalente. Por ejemplo, la industria metalúrgica, galvanoplastia o aplicación de pigmentos. Otras industrias, como la textil o la del cuero, si bien vierten en mayor medida cromo trivalente, éste reacciona en los vertidos aumentando la concentración de la forma hexavalente (Kotas & Stasicka, 2000).

La entrada de cromo al organismo puede ocurrir por vía respiratoria, oral o dérmica. La **absorción** por vía respiratoria aumenta al disminuir el tamaño de partícula. El Cr^{+6} , debido a su mayor capacidad de penetración en las membranas, se absorbe más fácil y rápidamente a nivel pulmonar con respecto al Cr^{+3} . Esto mismo ocurre por vía oral. La absorción gastrointestinal en humanos se ha estimado por debajo del 10% del cromo ingerido. El cromo también puede ser absorbido por vía dérmica. Dentro del organismo de nuevo el Cr^{6+} se **distribuye** con mayor facilidad. En general, la mayor **acumulación** se va a producir en hígado, riñón y hueso, éste último a largo plazo. La **eliminación** se produce fundamentalmente a nivel renal y biliar (ATSDR 2008a; Soria et al., 1995).

La permeabilidad que presentan las membranas biológicas frente al cromo hexavalente está muy relacionada con su **mecanismo de acción tóxica**. El cromo hexavalente entra en las células, donde se reduce a cromo trivalente, que a su vez se

oxida a cromo divalente. Éste último reacciona con numerosos constituyentes celulares y posee incluso mayor toxicidad que los compuestos de cromo hexavalente que, sin embargo, son carcinógenos. Además, en la reducción de Cr^{6+} a Cr^{3+} , se pasa por la formas de Cr^{5+} y Cr^{4+} , que también son reactivas y originan especies reactivas de oxígeno, muy activas en las moléculas biológicas (Repetto & Sanz, 2008; Soria et al., 1995).

Los **efectos** producidos a nivel local son ulceraciones, dermatitis irritativa y alérgica, y neumoconiosis. A nivel crónico la exposición produce necrosis en los túbulos renales y en el hígado, ulceraciones, gastritis, trombocitopenia, shock cardiovascular y cáncer en el caso de cromo hexavalente (Repetto & Sanz, 2008; Soria et al., 1995).

Manganeso

El manganeso (Mn), con número CAS 7439-96-5, es un **metal ligero de transición** (Repetto & Sanz, 2008) que se encuentra de forma natural en diversos tipos de rocas y suelos, así como en el agua y alimentos. Fue descubierto por Johann Gann en Suecia, en el año 1774. El metal puro es de color plateado y en la naturaleza se encuentra combinado con otras sustancias como oxígeno, azufre o cloro.

El manganeso es un **elemento esencial** que juega un papel importante en la mineralización de huesos, en las proteínas, en el metabolismo energético, en la regulación metabólica, en la protección celular frente al daño provocado por radicales libres y en la formación de glucosaminoglucanos (ATSDR, 2008b). Es así mismo componente de enzimas como superóxido dismutasa, piruvato carboxilasa y glutatamina sintetasa (Michalke et al., 2007). Sin embargo, la exposición a elevados niveles de manganeso puede tener efectos nocivos para la salud (WHO, 1999).

El manganeso presenta distintos estados de oxidación (2, 3, 4, 6, 7), y sus compuestos pueden encontrarse en forma sólida en los suelos y rocas o como solutos o pequeñas partículas en el agua. También puede presentarse como pequeñas partículas de polvo en el aire (WHO 1999). Algunas de sus **propiedades físicas y químicas** se detallan en la tabla 5.

Tabla 5. Propiedades del manganeso

| | |
|---------------------------------|--------|
| Número atómico | 25 |
| Peso atómico | 54.938 |
| Densidad (g/ml) | 7.43 |
| Punto de ebullición (°C) | 2150 |
| Punto de fusión (°C) | 1245 |

Diversos suelos y minerales constituyen **fuentes naturales** de manganeso, ya que este metal es un componente natural de más de 100 minerales, incluyendo óxidos, carbonatos, silicatos o fosfatos. Los más comunes son pirolusita, rodocrosita y rodonita. Se considera que la erosión de rocas y suelos es la principal fuente natural de emisión de manganeso (ATSDR, 2008b; USEPA, 1984; WHO 1999). También las erupciones volcánicas pueden ser fuentes de emisión de manganeso (Schroeder et al., 1987).

Desde el punto de vista de los **usos y fuentes antropogénicas**, el manganeso y sus distintos compuestos pueden emitirse en las extracciones mineras de este metal, en las aleaciones de acero o soldaduras de materiales que contengan manganeso. Se emplea así mismo en la fabricación de baterías y pilas, bobinas eléctricas, cerillas, fuegos artificiales, porcelanas, colorantes, como aditivo en plaguicidas y fertilizantes, abonos o comidas animales, así como agente antioxidante y desinfectante, purificante de agua y para el tratamiento de residuos. Además, el compuesto orgánico manganeso metilciclopentadienilo tricarbonilo (MMT) es usado como componente anti-detonante de las gasolinas, en muchos casos como sustituto del plomo tras la prohibición de las gasolinas plomadas en muchos países desarrollados. Estas fuentes pueden emitir el metal a nivel atmosférico, o incorporarlo al agua y/o a los suelos (ATSDR, 2008b; Michalke et al., 2007; Soria et al., 1995; USEPA 1984, 1985; WHO, 1999).

Las principales vías de **absorción** de manganeso para los organismos son la inhalación (aerosoles, materia particulada suspendida) y la ingestión, mientras que la vía dérmica puede tener importancia para compuestos orgánicos de manganeso como MMT (Michalke et al., 2007; ATSDR, 2008b). Tras la absorción, el manganeso se **distribuye** a través de la sangre unido a transferrina y albúmina en menor medida y se **acumula** en tejidos ricos en mitocondrias, como tejidos hepático y renal, pudiendo atravesar la barrera hematoencefálica (Erikson & Aschner, 2003; Soria et al., 1995). La vía gastrointestinal es la principal vía de **eliminación** (Klaassen, 1996).

El **órgano diana** de la toxicidad del manganeso es principalmente el sistema nervioso central, donde altera el contenido y metabolismo de neurotransmisores como la dopamina, ácido aminobutírico y glutamato, y promueve la formación de radicales libres (ATSDR, 2008b; Soria et al., 1995).

Los **efectos** producidos por exposición aguda a manganeso comprenden acción irritante en el aparato digestivo, seguidos de trastornos respiratorios y cardiovasculares, pudiendo ocasionar colapso y muerte. La exposición crónica, más habitual, produce alteraciones a nivel neurológico (pudiendo provocar la enfermedad del manganismo), también a nivel pulmonar (inflamación, susceptibilidad a infecciones), reproductor (disminución de la fecundidad) e inmunitario. Su potencial cancerígeno no ha sido claramente establecido, debido a la escasa información disponible al respecto (ATSDR, 2008b; Soria et al., 1995).

Hierro

El hierro (Fe), con número CAS 7439-89-6, es un **metal ligero de transición** (Repetto & Sanz, 2008) maleable, de color gris plateado y que presenta propiedades magnéticas. Se tienen indicios de su uso desde 4000 años antes de Cristo.

Es un **elemento esencial** necesario para la vida de los animales y las plantas. Trabaja como transportador de oxígeno en la hemoglobina y mioglobina y está involucrado en numerosas reacciones biológicas de oxidación-reducción. El hierro está presente en el citocromo P450 y es crucial para el metabolismo de muchas sustancias en el hígado, riñón y otros órganos. Mantener un balance de hierro es esencial y necesario para la salud, aunque a dosis elevadas es tóxico en todas sus formas y por todas las vías de exposición (Soria et al., 1995). Algunas de las **propiedades físicas y químicas** del hierro se detallan en la tabla 6.

Tabla 6. Propiedades del hierro

| | |
|---------------------------------|-------|
| Número atómico | 26 |
| Peso atómico (g/mol) | 55.85 |
| Densidad (g/ml) | 7.86 |
| Punto de ebullición (°C) | 3000 |
| Punto de fusión (°C) | 1536 |

Con respecto a las **fuentes naturales** del hierro, hay que señalar que este metal está distribuido por todo el mundo y ocupa el cuarto lugar en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre. El principal mineral de hierro es la hematites. Otros minerales importantes son la goethita, magnetita, siderita, pirita y limonita. Son numerosos los **usos** que el hombre hace del hierro y las **fuentes de emisión de carácter antropogénico**. La mayor parte del hierro se utiliza en formas sometidas a un tratamiento especial, como el hierro forjado, el hierro colado y el acero. Comercialmente, el hierro puro tiene pocas utilidades, aunque se utiliza por ejemplo para obtener láminas metálicas galvanizadas y electroimanes. Distintos compuestos de hierro se usan en medicamentos y fungicidas (Soria et al., 1995).

La **absorción** por los organismos del hierro ingerido se produce a partir del tubo digestivo, entre un 2 y un 15% del total. Por el contrario, sólo se elimina un 0.01% del hierro absorbido. Las necesidades de hierro y su absorción aumentan en organismos jóvenes, con pérdidas de sangre o durante las épocas de cría. La mayor parte del hierro contenido en la dieta está en forma de Fe^{3+} , que se reduce a Fe^{2+} gracias a las secreciones gástricas, facilitando su absorción (Klawe, 2003). Una vez en las células, el Fe^{2+} se **transforma** en Fe^{+3} , que es **transportado** a través de la sangre unido a la transferrina. Cada molécula de transferrina tiene dos receptores capaces de unirse a dos iones de Fe^{3+} . También se transporta a través de la barrera fetoplacentaria, lo cual es necesario para el mantenimiento del feto (Klawe, 2003). **Dentro del organismo**, el hierro se encuentra mayoritariamente unido a hemoglobina, y en menor medida a mioglobina y diversas enzimas que contienen hierro. También se encuentra unido a proteínas de almacenamiento del hierro (ferritina y hemosiderina), existiendo depósitos de hierro en la médula ósea, bazo, tejido muscular y hepático, entre otros (Klaassen et al., 2001). En circunstancias normales, el hierro ingerido en exceso **se elimina** a través de células intestinales desprendidas, bilis y orina, e incluso minoritariamente a través del sudor, uñas, pelo o pluma (Lynch, 2003).

Sus **acciones tóxicas** están relacionadas con la generación de radicales libres, modificando ácidos grasos de membrana y provocando peroxidación lipídica. También inhibe el metabolismo oxidativo (Soria et al., 1995).

Los **efectos** provocados por el exceso de hierro en el organismo son hemosiderosis (un aumento de hierro en el tejido sin alteración de su estructura o función, debido a una ingesta de hierro tan grande que sobrepasa el sistema de regulación de la absorción) o hemocromatosis (en la cual se daña el tejido y tiene lugar cuando existe una anomalía en el mecanismo de control de la absorción intestinal del hierro, absorbiéndose mayor cantidad de la requerida). Una cantidad excesiva de hierro puede dañar el páncreas, los pulmones, se puede desarrollar diabetes y cirrosis (Soria et al., 1995).

Níquel

El níquel (Ni), con número CAS 7440-02-0, es un **metal ligero de transición** (Repetto & Sanz, 2008) que se cree ha sido usado desde el siglo IV antes de Cristo. Fue clasificado como un elemento químico en 1751 por Axel Fredrik Cronstedt. Es de color blanco plateado, con ligeros matices dorados.

Se trata de un **micronutriente esencial** para ciertas especies de plantas, invertebrados, aves y mamíferos (Eisler, 1998). El níquel y sus compuestos se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, incluyendo plantas y animales, aire, ambientes acuáticos y prácticamente en todos los tipos de suelos. Se puede acumular en organismos terrestres y acuáticos (ATSDR, 2005; Eisler, 1998). Algunas de sus **propiedades físicas y químicas** se detallan en la tabla 7.

Tabla 7. Propiedades del níquel

| | |
|---------------------------------|-------|
| Número atómico | 28 |
| Peso molecular (g/mol) | 58.71 |
| Densidad (g/ml) | 8.90 |
| Punto de ebullición (°C) | 2730 |
| Punto de fusión (°C) | 1453 |

Las principales **fuentes naturales** de níquel son la actividad volcánica, los incendios forestales y la erosión de suelos y rocas. Como **fuentes y usos de origen antropogénico** destacan la minería, metalurgia, producción de acero inoxidable, galvanoplastia, industrias cerámicas, químicas, electrónicas y termoeléctricas, se emplea en baterías, pinturas y pigmentos, prótesis o cintas magnéticas. También se emite níquel

mediante la quema de combustibles fósiles o la incineración y tratamiento de residuos urbanos y aguas residuales (ATSDR, 2005; Soria et al., 1995; WHO, 1991).

La **absorción** de níquel en los organismos se produce fundamentalmente a través de la vía respiratoria, de la dieta y de la piel. La cantidad de níquel absorbido está determinada por la dosis y el tipo de compuesto. En general, la absorción de las sales solubles de níquel es rápida, mientras que la absorción de los compuestos insolubles es baja. El níquel absorbido se **transporta** principalmente mediante una proteína plasmática denominada niqueloplasmina, aunque también se transporta unido a la albúmina y a moléculas ultrafiltrables. En animales, el principal órgano de **acumulación** es el riñón, aunque también se acumula en hígado, grasa o cerebro. La principal vía de **eliminación** es la renal (ATSDR, 2005; Repetto, 1995).

Su **mecanismo de acción** lo ejerce sobre los fosfolípidos de membrana e incrementa la peroxidación lipídica. Modifica otras macromoléculas, se une a grupos fosfato y sustituye al Mg^{2+} en la ATPasa, aumentando la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. Se compleja con ADN, ARN y sus enzimas reguladoras (Soria et al., 1995).

Los **efectos** por exposición aguda a níquel son gastroenteritis, parálisis, irritación pulmonar y neumoconiosis (vía respiratoria), dermatitis y sensibilización (vía dérmica). A nivel sistémico produce eritrocitosis, retraso del crecimiento, alteraciones degenerativas cardíacas, cerebrales, pulmonares, hepáticas y renales, y puede provocar cáncer pulmonar y gástrico (Soria et al., 1995).

Cobre

El cobre (Cu), con número CAS 7440-50-8, es un **metal pesado** (su peso molecular se considera el límite a partir del cual los metales son considerados pesados) (Repetto & Sanz, 2008) de uso muy extendido, que ya se conocía y empleaba en tiempos prehistóricos. Es de apariencia metálica, blando, dúctil, maleable y de color pardo-rojizo.

Se trata de un **elemento esencial**, ampliamente distribuido en la naturaleza. Es un componente esencial de múltiples enzimas, como las oxidasas, dentro de las cuales la citocromo c oxidasa desempeña un papel fundamental en el metabolismo energético de

la célula. También forma parte de la enzima superóxido dismutasa, responsable de la reducción del radical superóxido a agua oxigenada, un proceso de detoxificación que protege a la célula de la potente acción oxidante de dicho radical. Es un metal esencial para la utilización del hierro, para el tejido conectivo y la pigmentación (Moreno-Graw, 2003; Soria et al., 1995). Algunas **propiedades físicas y químicas** del cobre se detallan en la tabla 8.

Tabla 8. Propiedades del cobre

| | |
|---------------------------------|-------|
| Número atómico | 29 |
| Peso molecular (g/mol) | 63.55 |
| Densidad (g/ml) | 8.90 |
| Punto de ebullición (°C) | 2567 |
| Punto de fusión (°C) | 1083 |

El cobre frecuentemente se encuentra agregado con otros metales como el oro, plata, bismuto y plomo, apareciendo en pequeñas partículas en rocas, aunque se han hallado grandes masas compactas de cobre (hasta 420 toneladas). Las **fuentes naturales** son diversas (Lewis, 1995). El cobre se encuentra por todo el mundo en la lava basáltica. Los principales minerales que lo contienen son calcopirita y bornita, sulfuros mixtos de hierro y cobre. Otras menas importantes son calcosina, covellina, enargita, azurita, malaquita, tetraedrita, crisocola, cuprita y atacamita.

Los principales **usos y fuentes antropogénicas** del cobre están relacionados con la minería, la fabricación de equipamiento eléctrico, material de construcción (techumbres y tuberías), maquinaria industrial y aleaciones. Aleado con níquel, se utiliza para la fabricación de monedas y como material de construcción resistente a la corrosión en agua de mar, por lo que se emplea en bombas submarinas, hélices de buques, material constructivo de plantas desalinizadoras y preservador de madera. Además en aleación con aluminio, se utiliza como sustituto del oro en aplicaciones decorativas. En todos estos usos, el cobre se encuentra en forma metálica, con estado de oxidación 0. En estado de oxidación +2, se ha utilizado en forma de sales de cobre como plaguicida, fungicida, rodenticida y alguicida (Moreno-Graw, 2003; Soria et al., 1995).

La **absorción** de cobre en el organismo se produce desde el estómago y el intestino delgado (ATSDR, 2004a) en función de las reservas corporales (Klaassen, 1996). Numerosos factores afectan a la absorción del cobre (aporte dietético, competencia con otros metales como zinc o hierro, edad, etc.). Su **transporte** en sangre tiene lugar asociado a proteínas como la albúmina, con la que se enlaza débilmente tras la absorción. A continuación, la albúmina se reemplaza por otras proteínas plasmáticas con las que el cobre establece enlaces más fuertes, como la ceruloplasmina y la trascuprina. Se **acumula** en hígado y médula ósea, principalmente (Klaassen, 1996). Una gran parte del cobre almacenado se encuentra asociado a la metalotioneína, si bien el cobre no posee el fuerte poder inductor de la síntesis de esta proteína característico de otros metales, como el zinc o el cadmio (Moreno-Graw, 2003). La bilis es la vía de **eliminación** normal (Klaassen, 1996), aunque también se elimina a través de la orina (ATSDR, 2004a).

El **exceso de cobre** en el organismo es aislado mediante lisosomas hepáticos donde se compleja con la metalotioneína. Sin embargo, este mecanismo protector es saturable y pueden producirse lesiones en el hígado (ATSDR, 2004a).

Los **efectos** producidos por una exposición aguda debida a una ingesta de cantidades excesivas de sales solubles de cobre, puede producir necrosis hepática e incluso la muerte. La exposición crónica puede provocar irritación respiratoria y alteraciones gastrointestinales. Sistémicamente puede originar anemia hemolítica, degeneración hepática, alteraciones renales, cerebrales y visuales (Repetto, 1995).

Zinc

El zinc (Zn), con número CAS 7440-66-6, es un **metal pesado** (Repetto & Sanz, 2008) que ha sido usado por el hombre al menos desde los años 1000-1500 antes de Cristo. Es de color blanco azulado.

El zinc es un **elemento esencial** que forma parte de más de 200 enzimas entre las que se encuentran oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Es así mismo un componente funcional de las distintas proteínas implicadas en la expresión y la regulación de la actividad genética. Es un elemento esencial para el desarrollo y funcionamiento del sistema nervioso y es también necesario en el metabolismo de la vitamina A. Por otra parte, interacciona con otros metales en el

organismo. Así, los niveles plasmáticos de zinc y cobre presentan comportamientos opuestos. La ingestión de grandes dosis de zinc provoca deficiencia de cobre y viceversa. El zinc influye en el metabolismo del calcio, ya que es necesaria la presencia de zinc para la mineralización normal de los huesos. También se cree que puede estar implicado en mecanismos de protección frente a la toxicidad de metales como cadmio o mercurio (Magos & Webb, 1980; Metcheva et al., 2006; Norheim, 1987; Underwood et al., 1977).

En zinc en el medio ambiente atmosférico está siempre asociado a la forma particulada, por lo que su comportamiento depende fundamentalmente del tamaño y densidad de partícula y de la eficacia de los procesos de deposición. En suelos y ecosistemas acuáticos el zinc tiende a depositarse en la fracción sólida, y también forma complejos con la materia orgánica disuelta, como los ácidos húmicos. La movilidad del zinc aumenta considerablemente al descender el pH, ya que aumenta su solubilidad. Por lo tanto, el zinc puede incorporarse al lixiviado y desplazarse hacia las aguas subterráneas fundamentalmente en medios ácidos. La movilidad del zinc aumenta también en aguas salobres. En medios reductores precipita en forma de sulfuro, muy insoluble, lo que limita drásticamente su movilidad (Moreno-Graw, 2003). Algunas de sus **propiedades físicas y químicas** se detallan en la tabla 9.

Tabla 9. Propiedades del zinc

| | |
|---------------------------------|--------|
| Número atómico | 30 |
| Peso molecular (g/mol) | 65.37 |
| Densidad (g/ml) | 7.14 |
| Punto de ebullición (°C) | 907 |
| Punto de fusión (°C) | 419.73 |

Diversos alimentos son **fuentes naturales** de zinc, como los peces. Con respecto a los minerales, las menas más importantes de zinc son la blenda o esfalerita, esmitsonita y hemimorfita. En todos sus compuestos el zinc presenta estado de oxidación +2.

Las **fuentes antropogénicas** de zinc están directamente relacionadas con los diversos **usos** que el hombre hace de este metal, fundamentalmente en el ámbito industrial. Aproximadamente la mitad del zinc metal se destina a la fabricación de acero

galvanizado, que posee un recubrimiento externo de zinc como protección ante la corrosión. Otra aplicación es la fabricación de ánodos de sacrificio para la protección anticorrosiva de componentes metálicos en múltiples aplicaciones: tuberías y tanques enterrados, buques, plataformas marinas y materiales de construcción. Se utiliza en pilas y baterías eléctricas. A su vez se utiliza en la preparación de aleaciones para el moldeo. En forma de óxido, se utiliza en la industria del caucho y pigmentos. En forma de sulfuro, con trazas de otros metales, se utiliza en aplicaciones electrónicas, entre las que destacan las pantallas de televisión y de rayos X (Callender & Rice, 2000; Soria et al., 1995).

La homeostasis del zinc en el organismo está principalmente regulada a nivel primario por las células epiteliales que cubren la mucosa del tracto gastrointestinal, mediante la **absorción** de zinc exógeno contenido en el alimento y la eliminación del zinc endógeno (Davies, 1980). La absorción de zinc tiene lugar en todos los segmentos del intestino, sobre todo en el duodeno (Methfessel & Spencer, 1973), y va a estar influenciada por factores como la concentración en el alimento o la presencia de promotores (por ejemplo, histidina, metionina, citratos o EDTA) o inhibidores dietéticos (por ejemplo, ácido fítico o fitatos) (Lonnerdal, 2000). La absorción por vía inhalatoria puede existir pero es limitada a nivel ambiental. La **distribución** del zinc ocurre principalmente a través del plasma, unido a la albúmina, aunque también puede formar complejos con la cisteína y la histidina (Faa et al., 2008). Se **acumula** principalmente en músculos y huesos, aunque también en hígado unido a metalotioneína, proteína de la que es inductor (Kohlmeier, 2003; Wastney et al., 2000). La ruta principal de **eliminación** del zinc es la secreción gastrointestinal, vía apoptosis de células epiteliales que recubren la mucosa intestinal o vía glándulas salivales, pancreáticas o por secreción de células biliares. Otras vías de eliminación minoritarias son las heces, orina, descamación de células epiteliales o sudor (Freake, 2005).

Sus **acciones tóxicas** son diversas, ya que está fisiológicamente implicado en todas las rutas metabólicas (Soria et al., 1995). Tiene afinidad por los grupos sulfhidrilo e hidroxilo y gran capacidad complejante de aminoácidos, péptidos, proteínas y ácidos nucleicos. Interacciona con metales esenciales, disminuyendo el contenido celular de hierro y cobre. También inhibe la ATPasa dependiente del magnesio.

Con respecto a los **efectos**, se ha observado que tras una exposición sub-crónica los niveles de zinc aumentan en corazón, bazo, riñones, hígado y fundamentalmente en hueso y en sangre de animales. La exposición aguda por ingesta de zinc es poco común, aunque se pueden dar casos de molestias gastrointestinales y diarrea. Los vapores de óxido de zinc provocan manifestaciones clínicas consistente en fiebre alta, escalofríos, fatiga, dolores musculares y torácicos, entre otras (Moreno-Graw, 2003). El zinc se considera teratógeno (Soria et al., 1995).

Arsénico

El arsénico, con número CAS 7440-38-2, es considerado un **elemento no metálico** (Repetto & Sanz, 2008), cuya toxicidad se conoce desde la antigüedad. El arsénico presenta tres estados alotrópicos: gris o metálico (forma estable en condiciones normales), amarillo y negro.

Aunque el arsénico ha sido considerado un elemento altamente tóxico y **no esencial** (Soria et al., 1995), diversos trabajos han podido evidenciar que a muy bajos niveles es **necesario** desde el punto de vista nutricional para muchos organismos (Jackson & Jackson, 2000). El arsénico se presenta en especies con diferente grado de oxidación, aunque As^{3+} y As^{5+} son las que más nos interesan desde el punto de vista toxicológico (Repetto & Sanz, 2008). Algunas de sus propiedades **físicas y químicas** se detallan en la tabla 10.

Tabla 10. Propiedades del arsénico

| | |
|---------------------------------|-------|
| Número atómico | 33 |
| Peso molecular (g/mol) | 74.92 |
| Densidad (g/ml) | 5.72 |
| Punto de ebullición (°C) | 613 |
| Punto de fusión (°C) | 817 |

Con respecto a las **fuentes naturales** de arsénico, destacan las erupciones volcánicas, la erosión de suelos y rocas o los incendios forestales (Yu, 2001). Las **fuentes y usos antropogénicos** abarcan plaguicidas, rodenticidas, pinturas, preservadores de madera, medicamentos, vinos, cerámica, industria electrónica, fundiciones primarias de cobre, zinc y plomo, fábricas de vidrio donde se añade

arsénico a materias primas y fábricas de diversas sustancias químicas (Klaasen, 2001; Yu, 2001).

La **absorción** de arsénico por vía inhalatoria y vía oral es bastante superior en comparación con la absorción por vía dérmica. La **distribución** en el organismo es rápida, acumulándose inicialmente en hígado, riñón y pulmón, y posteriormente en pelo, plumas y uñas. El As^{3+} es captado a nivel celular en mayor medida que el As^{5+} , el cual además es transformado en As^{3+} una vez en el interior de la célula. Como mecanismo de **biotransformación** y disminución de la toxicidad, se forman el ácido monometilarsénico (MMA) y dimetilarsénico (DMA), dos formas inactivas de arsénico y más fáciles de eliminar. Se **eliminan** principalmente a través de la orina (ATSDR, 2007; Klaasen, 2001; Soria et al., 1995).

Con respecto a su **mecanismo de acción**, el arsénico elemental posee escasa toxicidad debido a su baja solubilidad. El As^{-3} en su forma de arsina (AsH_3) y As^{+3} (arsenitos) son altamente tóxicos por su gran apetencia por los grupos sulfhidrilo. El As^{5+} es menos tóxico, no se une a los grupos sulfhidrilo, aunque sustituye al ión fosfato y desacopla la fosforilación oxidativa. El As^{3+} se intercala entre las bases del ADN, actuando como precursor del cáncer (Repetto & Sanz, 2008).

Los **efectos** provocados por una exposición aguda a este elemento incluyen un cuadro gastrointestinal con vómitos, diarreas, dolores abdominales o anemia, así como alteraciones cardíacas y nerviosas periféricas. A nivel crónico provoca cuadros irritativos cutáneos y mucosos. Provoca alteraciones hepáticas, cardíacas y neuropatías a nivel periférico (Soria et al., 1995). Así mismo, como se ha comentado anteriormente, el arsénico tiene capacidad carcinógena.

Selenio

El selenio (Se), con número CAS 7782-49-2, es un **semi-metal** (Repetto & Sanz, 2008) cuya apariencia varía desde gris metálico hasta rojo cristalino. Fue descubierto por Berzelius y Gahn en Suiza en 1817.

El selenio es un **elemento esencial** que forma parte de distintos sistemas enzimáticos y proteínas, aunque la exposición a niveles elevados resulta tóxica (Burau, 1985; Vance et al., 1998). Su esencialidad fue descubierta en 1975, cuando se estableció

el papel del selenio en la enzima glutatión peroxidasa, responsable de la eliminación de peróxidos en el organismo, que impide la formación de radicales libres y los consecuentes daños tisulares (Burau, 1985; Moreno-Graw, 2003). También se ha señalado que el selenio a bajos niveles actúa como agente protector frente a la toxicidad de metales como cadmio, mercurio o cobre (Magos & Webb, 1980; Metcheva et al., 2006; Norheim, 1987; Underwood et al., 1977). Sin embargo, el rango entre los niveles óptimos y los niveles tóxicos del selenio es relativamente estrecho (Hall, 2007; Klaassen et al., 1996).

El selenio está sometido a fenómenos de bioconcentración y biomagnificación en los seres vivos, al ser transformado por plantas terrestres y acuáticas en formas orgánicas de selenio. Dichas formas, como selenocistina, selenocisteína, o selenometionina, tienen una mayor vida media y se incorporan más eficientemente a los tejidos de los distintos organismos, pudiendo ocasionar episodios de toxicidad en los niveles altos de las cadenas tróficas (Burau, 1985; Moreno-Graw, 2003; Vance et al., 1998).

Las principales vías de exposición son por tanto la dieta y el agua. La inhalación puede ser una vía de exposición, pero a nivel ambiental es minoritaria. Las aves a través de la dieta están principalmente expuestas a selenio en forma de L-selenometionina, si bien las aves acuáticas por su consumo de peces y crustáceos pueden también incorporar ciertas cantidades de L-selenocisteína (Spallholz & Hoffman, 2002).

Algunas de las **propiedades físicas y químicas** del selenio se muestran en la tabla 11.

Tabla 11. Propiedades del selenio

| | |
|---------------------------------|-------|
| Número atómico | 34 |
| Peso molecular (g/mol) | 78.96 |
| Densidad (g/ml) | 4.79 |
| Punto de ebullición (°C) | 685 |
| Punto de fusión (°C) | 221 |

Con respecto a las **fuentes naturales** de selenio, la erosión de rocas y suelos puede ocasionar ligeros aumentos de los niveles de selenio en agua o aire, o la incorporación de éste a las plantas. Se sospecha que las erupciones volcánicas pueden

contribuir a un aumento de los niveles en el aire y suelos de las áreas adyacentes. Con respecto a las **fuentes antropogénicas**, al estar presente en la mayoría de menas de sulfuro, es generalmente un subproducto del tostado de la piritita de cobre. El selenio también se acumula en el sedimento de los fondos de los tanques electrolíticos del refinado hidro-metalúrgico del cobre. También se incorpora al aire como consecuencia de la combustión de carbón o petróleo. El anhídrido de selenio es liberado durante la calefacción de cobre, plomo y minerales de zinc (Burau, 1985; Moreno-Graw, 2003).

El principal **uso** que el hombre hace del selenio es en la industria electrónica, como componente de células fotovoltaicas, células solares y fotocopiadoras. En forma de selenito y seleniato de cadmio se utiliza como pigmento de intenso color rojo, en la fabricación de cristal en color bronce (absorbe la radiación solar), pinturas y esmaltes. Los compuestos de selenio se emplean así mismo en la producción de aditivos alimentarios y champús anticaspa (Moreno-Graw, 2003).

La forma química de selenio afecta enormemente a la **absorción** de éste. El selenio y la mayoría de sus compuestos son insolubles y prácticamente no son absorbidos oralmente, mientras que los compuestos solubles de selenio, como el selenato y el selenito de sodio, son absorbidos con mayor facilidad (Hall, 2007). La forma química también influye en la **distribución** del selenio, cuya concentración en sangre va a depender de la cantidad ingerida. Niveles en sangre de 200-240 mg/ml son compatibles con un control homeostático. El selenio generalmente es utilizado para la síntesis de selenoproteínas, que se incorporan a los tejidos o son eliminadas. El mayor contenido de selenio en el organismo se **concentra** normalmente en riñón e hígado, y en menor cantidad en otros órganos y tejidos como corazón, pulmón o músculo. El selenio se transfiere eficientemente a través de la barrera fetoplacentaria durante la gestación (Hall, 2007). El selenio se **elimina** principalmente por vía urinaria (Klaassen, 1996; Whanger, 2002).

Se han descrito tres **mecanismos principales de acción tóxica** para el selenio: por un lado la formación del radical CH_3Se^- , el cual o bien forma iones superóxido y provoca estrés oxidativo, o bien forma radicales libres que inhiben importantes enzimas y proteínas. Por otro lado, el exceso de selenocisteína inhibe el metabolismo de metilación del selenio, aumentando la concentración de metabolitos intermedios con efectos hepatotóxicos. Por último, también es posible que el exceso de selenio juegue un

papel teratógeno en aves, a través de su interacción con la actividad de enzimas con grupos sulfhidrilo y proteínas estructurales (Spallholz & Hoffman, 2002).

Los **efectos** producidos por una exposición aguda a selenio afectarán en primer lugar a nivel pulmonar (congestión, disneas), tanto por vía oral como respiratoria, seguidos de efectos a nivel cardiovascular (hemorragias, edemas), hepático y renal. También puede afectar al SNC. Los síntomas por intoxicación crónica de selenio son la pérdida de vitalidad, decoloración en la piel, erupciones cutáneas y lesiones. Los órganos diana son el tracto respiratorio, hígado, riñones, sangre, piel y ojos (Soria et al., 1995; Spallholz & Hoffman, 2002).

Cadmio

El cadmio (Cd), con número CAS 7440-43-9, es un **metal pesado** (Repetto & Sanz, 2008) que, según la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades de Estados Unidos (Agency for Toxic substances and Disease Registry), se encuentra entre los metales con mayor incidencia sobre la salud. Fue descubierto por Friedrich Stromeyer en 1817. Es de color plateado, brillante, maleable y muy dúctil.

Es un **elemento no esencial** para los sistemas biológicos, que se encuentra presente como contaminante en los alimentos, agua o aire, siendo la ingestión y la inhalación las principales vías de exposición a cadmio (López-Artíguez & Repetto, 1995). Aunque existe controversia al respecto, diversos estudios han puesto de manifiesto que el cadmio experimenta fenómenos de bioacumulación y biomagnificación en las cadenas tróficas de diversos ecosistemas marinos, como los ecosistemas antárticos, acumulándose principalmente en peces, moluscos y crustáceos (Bargagli et al., 1996; Bustamante et al., 2003; Croteau et al., 2005; Sánchez-Hernández, 2000). En medios ácidos aumenta su solubilidad y biodisponibilidad (Moreno-Graw, 2003). Algunas de las **propiedades físicas y químicas** del cadmio se detallan en la tabla 12.

Tabla 12. Propiedades del cadmio

| | |
|---------------------------------|--------|
| Número atómico | 48 |
| Peso molecular (g/mol) | 112.40 |
| Densidad (g/ml) | 8.64 |
| Punto de ebullición (°C) | 765 |
| Punto de fusión (°C) | 321.80 |

Con respecto a las **fuentes naturales** de cadmio, se debe tener en cuenta que es un elemento escaso en la corteza terrestre. Las menas de cadmio son difíciles de encontrar y suelen estar en pequeñas cantidades. Suele sustituir al zinc en sus minerales debido a su parecido químico, generalmente como sulfuros. Las **fuentes antropogénicas** que producen una mayor liberación de cadmio son las combustiones de aceites y carbones, así como las plantas incineradoras. Otras fuentes importantes de emisión relacionadas con los **usos** específicos que se hacen del cadmio son los fertilizantes obtenidos a partir de sedimentos o rocas ricas en cadmio, baterías y pilas eléctricas, revestimientos electrolíticos y pigmentos (ATSDR, 2008c; López-Artíguez & Repetto, 1995; Moreno-Graw, 2003). Se ha estimado que las fuentes antropogénicas de cadmio emiten a la atmósfera entre 3 y 10 veces más cantidad de este metal que las fuentes naturales (Waisberg et al., 2003).

El cadmio puede **absorberse** por vía respiratoria y digestiva. Por vía respiratoria va a depender de la solubilidad y tamaño de las partículas (López-Artíguez & Repetto, 1995). Por ejemplo, tras la inhalación de partículas de óxido o sulfuro de cadmio, ambas insolubles en agua, las primeras son solubilizadas en el pulmón, mientras que las segundas son eliminadas por los macrófagos alveolares (Oberdörster, 1988). Los nitratos y cloruros tienen una mayor solubilidad (Moreno-Graw, 2003). Por vía oral también va a influir la solubilidad de los compuestos (López-Artíguez & Repetto, 1995). La absorción del cadmio tras la ingesta varía entre 1 y 7%, si bien dietas pobres en calcio, hierro y proteínas aumentan la absorción de cadmio (Klasing, 2005; López-Artíguez & Repetto, 1995). Tras la absorción, el cadmio es **distribuido** a través de la sangre unido a los eritrocitos, y se fija a la hemoglobina y metalotioneína. La metalotioneína ejerce una acción protectora frente a la toxicidad del cadmio, el cual induce su producción. Al formarse el complejo cadmio-metalotioneína disminuye la toxicidad del metal. El cadmio es distribuido al hígado y posteriormente a otros

órganos, entre los que destaca la **acumulación** en el riñón (30-60% de la carga corporal), donde tiene una vida media muy larga. La **eliminación** del cadmio ocurre principalmente por vía urinaria (López-Artíguez & Repetto, 1995; Vera-Sempere & Climent-Díaz, 2004).

El cadmio es tóxico para un gran número de órganos y tejidos. Sin embargo, el principal **órgano diana** de la toxicidad del cadmio es el riñón (ATSDR, 2008c).

Los **efectos** ocasionados por una exposición aguda a cadmio son efectos locales: irritación en el tracto gastrointestinal, náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y sensación de ahogo. La inhalación de humos que contengan cadmio producen así mismo efectos locales de irritación a nivel pulmonar, pudiendo incluso ocasionar la muerte. La exposición crónica a cadmio por cualquier ruta da lugar a efectos adversos en el corazón, pulmones, huesos, gónadas y especialmente, en los riñones. A largo plazo, los principales efectos de la exposición a bajos niveles de cadmio se manifiestan en enfermedades obstructivas pulmonares crónicas, enfisema, degeneración de los túbulos renales y pérdida de funcionalidad de los riñones, hipertensión y alteraciones óseas. Éstas últimas están ocasionadas por la inhibición de la vitamina D que provoca el cadmio, que a su vez provoca un descenso en la absorción de calcio y en la mineralización ósea. Ésta fue la causa de uno de los casos más llamativos de intoxicación crónica por cadmio, que se produjo en Japón a mediados del siglo pasado, la denominada enfermedad “itai-itai” (López-Artíguez & Repetto, 1995; Moreno-Graw, 2003). El cadmio es también un potente carcinógeno (Waisberg et al., 2003).

Mercurio

El mercurio (Hg), con número CAS 7439-97-6, es un **metal pesado** que ha sido usado durante siglos en la dualidad medicina-veneno y que, en la actualidad, se emplea con diversidad de propósitos comerciales e industriales (Broussard et al., 2002). Durante los últimos años ha crecido enormemente la preocupación por las problemáticas de exposición ambiental que ocasiona por su gran persistencia en el ambiente. El mercurio es uno de los dos elementos que se encuentra líquido a temperatura ambiente y presenta un color blanco-plateado.

El mercurio es un **elemento no esencial** que puede encontrarse en tres estados de oxidación con características diferentes: Hg^0 o elemental, Hg^{+1} o mercurioso y Hg^{+2}

o mercuríco. La mayor parte del mercurio presente en el medio ambiente, exceptuando la atmósfera, se encuentra en forma de sales mercurícas inorgánicas y compuestos organomercurícos. Éstos últimos son los más relevantes a nivel ambiental por su capacidad de bioacumulación y su gran potencial de biomagnificación en las cadenas tróficas, fundamentalmente en ambientes acuáticos (Hintelmann, 2010). Algunas de las **propiedades físicas y químicas** del mercurio se detallan en la tabla 13.

Tabla 13. Propiedades del mercurio

| | |
|---------------------------------|--------|
| Número atómico | 80 |
| Peso molecular (g/mol) | 200.59 |
| Densidad (g/ml) | 13.60 |
| Punto de ebullición (°C) | 356.58 |
| Punto de fusión (°C) | -38.87 |

El flujo entre las reservas naturales de mercurio (atmósfera, tierra, agua y biosfera) conforma el denominado ciclo global del mercurio, que desde la era industrial está claramente influenciado por la actividad antropogénica (Fig. 22). Los océanos son las mayores reservas de mercurio (10^{17} g) seguidos de suelos y sedimentos (10^{13} g). La biota supone alrededor de 10^{11} g, la atmósfera 10^8 g y las aguas continentales 10^7 g. Las **fuentes naturales** de mercurio provienen fundamentalmente de la evaporación del elemento desde la superficie de los océanos, superficie terrestre y aguas continentales, así como de las emisiones desde la biosfera y las emisiones volcánicas. Las **fuentes antropogénicas** por su parte supusieron en el año 2005 una emisión a nivel atmosférico de alrededor de 1930 toneladas, principalmente emitidas en el continente asiático (67%) (AMAP/UNEP, 2008; Pacyna et al., 2010). Las fuentes antropogénicas son de tipo primario (el mercurio de origen geológico se moviliza e introduce en el ambiente de manera no intencionada como subproducto) y secundario (uso intencionado de mercurio). Entre las primarias destacan la minería y producción de hierro, acero o minerales no ferrosos (cromo, plomo y zinc), la extracción y quema de combustibles fósiles (carbón y gasolinas) y la producción cementera. Entre las secundarias destacan procesos industriales (producción del monómero de cloruro de vinilo o industrias de cloro-álcali), fabricación de determinados productos (baterías, termómetros, barómetros, manómetros, tubos fluorescentes, iluminación de descarga de alta intensidad,

plaguicidas, fungicidas, pinturas, etc.), aplicaciones dentales, minería artesanal del oro (artisanal and small-scale gold mining, ASGM) o la generación de residuos que contengan mercurio (Pacyna et al., 2010).

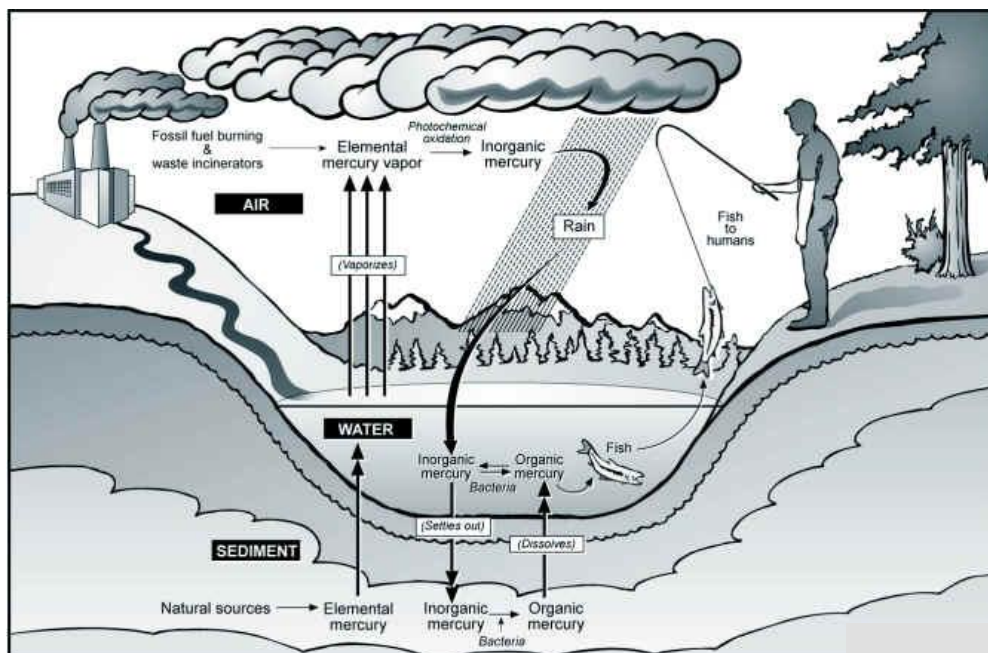


Figura 22. Ciclo del mercurio. Fuente: Mercury Working Group, Utah, U.S.

Por su persistencia en el ambiente y acumulación/magnificación en las cadenas tróficas acuáticas, el mercurio crea problemas de contaminación incluso en las zonas más remotas y alejadas de las fuentes antropogénicas, como las regiones polares, a las que el metal llega fundamentalmente a través de corrientes atmosféricas. Esto es debido a que el mercurio en el ambiente tiene un comportamiento muy parecido al de los compuestos orgánicos persistentes (Bargagli, 2008). El mercurio elemental tiene una vida media larga en la atmósfera y puede transportarse a largas distancias antes de formar especies reactivas (reactive gaseous mercury, RGM) y depositarse en la superficie a través de procesos húmedos y secos, desde donde podrá re-emitirse a la atmósfera o formar compuestos más tóxicos y persistentes, como el metilmercurio. La deposición de RGM en las regiones polares se ve favorecida por las condiciones climáticas de las épocas primaverales originando el fenómeno conocido como evento de deposición de mercurio atmosférico (atmospheric mercury depletion events, AMDEs). Debido a la existencia de estos eventos y a la magnificación de mercurio orgánico en las

cadena trófica polares, estas regiones frías y remotas han sido señaladas como potenciales sumideros naturales de este metal tóxico (Bargagli, 2005a; UNEP, 2008).

En los organismos, el mercurio es **absorbido** principalmente a través de la dieta o por vía inhalatoria (vapor de mercurio elemental). Tras la ingesta de alimento que contiene mercurio, en forma metálica apenas se absorbe (<0.10%), aunque sí en forma de compuestos inorgánicos (15%) y fundamentalmente en formas orgánicas (metilmercurio, 90%) debido a su mayor liposolubilidad y su afinidad por los grupos sulfhidrilo. Es frecuente la formación de complejos entre los compuestos orgánicos de mercurio y L-cisteína, así como el transporte a través de las membranas celulares por el sistema de transporte de aminoácidos neutros. Los compuestos de mercurio se **distribuyen** a los tejidos a través de la sangre. Dentro de los compuestos orgánicos de mercurio, los compuestos arílicos (fenilmercurio) y alquílicos de cadena larga se **metabolizan** y se convierten en cationes divalentes, mientras que los compuestos alquílicos de cadena corta son más estables. Los compuestos alquílicos de mercurio (metilmercurio, etilmercurio) son los más liposolubles y se **acumulan** principalmente en cerebro, riñón, hígado, pelo/pluma y piel. Las formas inorgánicas parecen acumularse en riñón en mayor medida por presentar mayor afinidad por la metalotioneína en las células renales. Las formas orgánicas tienen capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y la placentaria, en su caso. La **eliminación** es lenta y ocurre principalmente a través de las heces (Broussard et al., 2002).

El **mecanismo de acción** del metilmercurio está relacionado con su afinidad por los grupos sulfhidrilo lo que provoca disfunciones enzimáticas y en la síntesis proteica, así como la interferencia con la función y estructura de las membranas. Desacopla la fosforilación oxidativa y debido a esta interacción con los grupos sulfhidrilo, así como con los grupos amino, carboxilo y fosforilo, la inhibición enzimática es inespecífica. A su vez se relaciona con la producción de radicales libres (Repetto, 1995).

La inhalación de vapores de mercurio puede provocar **efectos** nocivos como dificultad de respiración, hemoptisis o neumonitis intersticial, si bien el órgano diana principal de estos vapores es el sistema nervioso central. La ingestión de sales de mercurio provoca efectos irritantes a nivel gastrointestinal e incluso necrosis tubular a nivel renal, ya que el riñón es el órgano diana de estos compuestos. El sistema nervioso central también es el principal afectado por los compuestos orgánicos de mercurio, que

afectan a la coordinación, provocan parestesia y malestar, entre otros. A su vez se produce reducción del campo visual y de la audición y pérdidas en la memoria. Estos compuestos también pueden afectar al sistema nervioso periférico provocando debilidad muscular. Estos efectos son irreversibles debido a la destrucción de células neuronales y los sistemas nerviosos en estado de desarrollo son mucho más susceptibles que los de individuos adultos, lo que unido a su facilidad para atravesar la barrera fetoplacentaria, le dotan de un alto poder teratogénico (Repetto, 1995). Según la IARC (International Agency for Research on Cancer), el metilmercurio es posiblemente un carcinógeno en humanos.

Plomo

El plomo (Pb), con número CAS 7439-92-1, es el **metal pesado** (Repetto & Sanz, 2008) que, según la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades de Estados Unidos (Agency for Toxic substances and Disease Registry), mayor incidencia tiene sobre la salud. Es de color gris, blando, dúctil y maleable, y ha sido usado desde tiempos prehistóricos.

El plomo es el tóxico más ubicuo y es detectable en prácticamente todas las fases del ambiente. Sin embargo, es un **elemento no esencial** que puede acumularse y alcanzar altas concentraciones en una gran variedad de organismos como moluscos, crustáceos, peces, aves, mamíferos y plantas. Se han medido valores elevados del factor de bioconcentración en diversos organismos acuáticos (Moreno-Graw, 2003). Algunas de las **propiedades físicas y químicas** del plomo se detallan en la tabla 14.

Tabla 14. Propiedades del plomo

| | |
|---------------------------------|--------|
| Número atómico | 82 |
| Peso molecular (g/mol) | 207.19 |
| Densidad (g/ml) | 11.40 |
| Punto de ebullición (°C) | 1725 |
| Punto de fusión (°C) | 32.40 |

La principal **fente natural** de plomo es la propia corteza terrestre donde, sin embargo, no es normal encontrarlo como metal. Es más común encontrarlo combinado con dos o más elementos para formar compuestos plomados. Las **fuentes**

antropogénicas están directamente relacionadas con los **usos** que se realizan o se han realizado en el pasado del plomo. Durante años, la principal fuente de emisión de plomo a la atmósfera fue la combustión de gasolinas plomadas (compuestos orgánicos de plomo, como tetraetilo y tetrametilo de plomo), provocando diversidad de intoxicaciones sub-agudas en todo el mundo (Repetto & Sanz, 2008). Desde su prohibición como aditivo en las gasolinas, su emisión ha disminuido en los países desarrollados, aunque esta tendencia no ha sido observada en la mayoría de países en desarrollo (Yu, 2001). Otra importante fuente de exposición fue durante años el uso de plomo en tuberías y tanques de agua, aunque en la actualidad se tiende a sustituirlo. Sin embargo, y debido a su persistencia, el plomo que se emitió por estos usos y se encuentra en los suelos, polvo o sistemas acuáticos, continúa siendo una importante fuente de exposición en la actualidad (Ahamed & Siddiqui, 2007). Además de como aditivo en las gasolinas y en las tuberías, el plomo también se emplea en baterías para automóviles, revestimiento de cables, cisternas, protección de materiales expuestos a la intemperie, materiales de construcción, fabricación de municiones, pigmentos para pinturas y barnices, fabricación de cristales, esmaltado de cerámica, soldadura de latas o antisépticos. Diversos procesos industriales también son potenciales fuentes de emisión de plomo, como la fundición, refinamiento, incineración, producción de energía, etc. (Yu, 2001). Todas estas emisiones de origen humano, que aumentaron fundamentalmente a partir de la Revolución Industrial, han provocado un aumento de la contaminación por plomo en diversos ecosistemas, incluyendo las remotas regiones polares (Sun & Xie, 2001; Yu, 2001).

El plomo es **absorbido** por los organismos por inhalación, ingestión y a través de la piel. Por vía respiratoria la absorción dependerá fundamentalmente del tamaño de las partículas y de la solubilidad del compuesto inhalado. Del mismo modo, la absorción por vía oral estará influenciada por la forma química del compuesto de plomo. Algunas sales, como el cloruro de Pb^{2+} o el sulfato, son extraordinariamente insolubles tanto en agua como en lípidos, por lo que presentan escaso riesgo tóxico. Sin embargo, otros compuestos, tanto inorgánicos (nitratos) como orgánicos (acetatos) resultan muy tóxicos. Dietas pobres en calcio, hierro o proteínas pueden aumentar la absorción de plomo. Por vía dérmica puede absorberse principalmente plomo en formas orgánicas (Moreno-Graw, 2003; Repetto & Sanz, 2008; Valdivia-Infantas, 2005). Los iones de plomo se **transportan** en la sangre dentro de los hematíes, unidos a los grupos

aniónicos de la hemoglobina y de las proteínas del estroma. Luego se distribuyen a los tejidos blandos como hígado, riñón, médula ósea y SNC, que son los órganos diana de toxicidad. Posteriormente el plomo alcanza los huesos donde se **almacena** durante años, aunque no permanece irreversiblemente secuestrado. También presenta afinidad por otras formaciones cálcicas, como cabello, plumas o uñas (Lucky & Venugopal, 1977; O'Flaherty, 1998). A este modelo de distribución se le denomina modelo tri-compartimental del plomo. El plomo es capaz de atravesar las barreras fetoplacentaria y hematoencefálica (Ellenhorn & Barceloux, 1988; Repetto, 1995). La **eliminación** del plomo absorbido por el organismo se hace principalmente a través de la orina (Ellenhorn & Barceloux, 1988).

Los **mecanismos de toxicidad** de este elemento son dos. Por un lado, la sustitución de metales esenciales, como calcio, hierro, zinc o cobre. Por ejemplo, en el caso del calcio, por poseer un radio atómico similar, penetra por los canales de este elemento en las membranas celulares, principalmente del sistema nervioso, originando distintos síndromes. También desplaza al calcio en las mitocondrias, produciendo déficit de ATP. Por otro lado, provoca la inhibición de numerosas enzimas, lo que da lugar a distintos trastornos según la enzima y su localización. Por ejemplo, por la inhibición de ATPasa, acetilcolinesterasa, adenilciclase, etc., disminuye la conductividad del impulso nervioso; o la inhibición de las enzimas implicadas en la síntesis del grupo hemo, que conduce a la acumulación de metabolitos intermedios tóxicos (Repetto & Sanz, 2008; Yu, 2001).

Los **efectos** producidos por una exposición aguda a plomo son vómitos, anorexia, debilidad, incoordinación, convulsiones y estupor, pudiendo provocar coma y muerte. La exposición crónica provoca efectos neurotóxicos y alteración en diversos órganos. Puede provocar anemia microcítica hipocrómica, neuropatía, hipertensión, alteraciones hepáticas o aumentar la predisposición a infecciones, entre otros (Soria et al., 1995).

2.3.2 Contaminantes orgánicos

Los compuestos siguientes han sido seleccionados por su conocida relevancia en el ámbito de la toxicología ambiental, por su conocida incidencia en la zona de estudio (como en el caso de los bifenilos policlorados) o por ser compuestos emergentes cuyo comportamiento y acumulación en los ecosistemas y zonas remotas, como las polares, no son del todo conocidos hasta el momento. A continuación se describen algunas de sus propiedades, usos, toxicocinética, mecanismo de acción y efectos.

Bifenilos policlorados

Los compuestos bifenilos policlorados (PCBs) son **compuestos orgánicos persistentes clorados** con fórmula general $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$ (Fig. 23), en la que n puede tomar valores desde 1 hasta 10, lo que teóricamente genera hasta 209 compuestos individuales o congéneres, de los cuales alrededor de 130 están presentes en productos comerciales. Se sintetizaron por primera vez en 1881, pero no fueron producidos comercialmente hasta 1929 (Schulz et al., 1989).

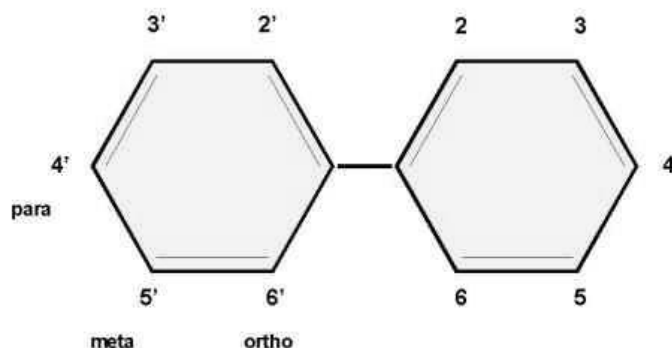


Figura 23. Estructura general de la molécula de PCB

Las principales **características físico-químicas** de estos compuestos se describen en la tabla 15.

Tabla 15. Características físico-químicas de los PCBs

| | PCBs |
|---------------------------------|--|
| Peso molecular | 189-499 |
| Aspecto | Desde aceitoso hasta resinas duras y transparentes o cristales blancos |
| Punto de fusión (°C) | Líquidos a temperatura ambiente |
| Punto de ebullición (°C) | 320-420 |
| Solubilidad en agua | Ligeramente solubles en agua, muy liposolubles |

En general, el punto de fusión y el carácter lipofílico aumentan con el grado de cloración de cada compuesto (tabla 16). Además, son compuestos de baja volatilidad, alta viscosidad, baja conductividad eléctrica, alta conductividad térmica, no inflamabilidad y estabilidad biológica, química y térmica extremadamente alta. Estas características hicieron de los PCBs compuestos idóneos para una amplia diversidad de **usos**: fluidos eléctricos en transformadores y condensadores, extensores para plaguicidas, adhesivos, agentes de extracción de polvo, aceites de corte, retardantes de llama, fluidos de transferencia de calor, lubricantes hidráulicos, selladores, pinturas, barnices, tintas para impresión, papel autocopiativo, ceras o plastificantes, entre otros (Fiedler, 1997; ATSDR, 2004b).

Tabla 16. Clasificación de los PCBs en función del grado de cloración

| Fórmula | Nombre (-clorobifenilo) | Número de isómeros | Numeración IUPAC | Peso molecular | %Cl |
|-----------------|--------------------------------|---------------------------|-------------------------|-----------------------|------------|
| $C_{12}H_9Cl$ | Mono | 3 | 1-3 | 188.65 | 18.79 |
| $C_{12}H_8Cl_2$ | Di | 12 | 4-15 | 233.10 | 31.77 |
| $C_{12}H_7Cl_3$ | Tri | 24 | 16-39 | 257.54 | 41.30 |
| $C_{12}H_6Cl_4$ | Tetra | 42 | 40-81 | 291.99 | 48.65 |
| $C_{12}H_5Cl_5$ | Penta | 46 | 82-127 | 326.43 | 54.30 |
| $C_{12}H_4Cl_6$ | Hexa | 42 | 128-169 | 360.88 | 58.93 |
| $C_{12}H_3Cl_7$ | Hepta | 24 | 170-193 | 395.32 | 62.77 |
| $C_{12}H_2Cl_8$ | Octa | 12 | 194-205 | 429.77 | 65.98 |
| $C_{12}HCl_9$ | Nona | 3 | 206-208 | 464.21 | 68.73 |
| $C_{12}Cl_{10}$ | Deca | 1 | 209 | 498.66 | 71.10 |

Durante décadas, su extenso uso y manejo ocasionaron su liberación en grandes cantidades al medio ambiente donde, debido a su gran capacidad de distribución y transporte en los distintos compartimentos ambientales (agua, aire o sedimentos), se extendieron ampliamente y han sido detectados en prácticamente cualquier matriz en complejas mezclas de distintos congéneres (Fiedler, 1997). Esta liberación fue en parte debida a una inadecuada gestión de residuos y vertidos, accidentes o fugas industriales. Por su gran persistencia (tienen una vida media biológica de entre 10 y 15 años; Crinnion, 2011) y naturaleza lipofílica, una vez liberados estos compuestos tienden a **bioacumularse y biomagnificarse** en las cadenas tróficas acuáticas y terrestres, fundamentalmente en los tejidos grasos de los organismos (ATSDR, 2004b). Por primera vez en el año 1966 se detectó la presencia de PCBs en peces, moluscos, focas y aves marinas, y el año siguiente estos compuestos se detectaron en tejido adiposo humano. En 1968 una fuga de PCBs en una fábrica de alimentos japonesa provocó la contaminación de aceite de arroz y, como consecuencia de su consumo, alrededor de 1000 personas padecieron la enfermedad de Yusho (Fiedler, 1997).

Los humanos y los animales, por tanto, **absorben** principalmente estos compuestos orgánicos persistentes a través de la dieta, a través de la madre durante su desarrollo embrionario y a través del aire contaminado. Una vez en el organismo, los PCBs experimentan una **distribución** bifásica (en primer lugar se distribuyen en hígado y músculos, produciéndose después una recirculación a tejido adiposo y piel). Finalmente se **acumulan** en tejidos ricos en lípidos como tejido adiposo, cerebro o hígado. Se **metabolizan** en el hígado originando compuestos más polares (compuestos fenólicos hidroxilados y posterior conjugación con tioles y glucurónidos). La **eliminación** es muy baja a nivel urinario, eliminándose lentamente por otras vías como bilis y heces, o leche materna en mamíferos.

Pueden provocar fundamentalmente cuatro tipos de **efectos tóxicos a largo plazo**: inmunológicos, neurológicos, endocrinológicos y reproductivos, además de poseer un demostrado carácter carcinógeno en animales (USEPA, 2012; Crinnion, 2011). Entre estos efectos destacan la disminución del tamaño de la glándula del timo, la reducción de la respuesta inmune o la disminución de la resistencia a diversos virus e infecciones. También provocan una disminución del peso al nacer de individuos expuestos a través de la madre, disminución de las tasas de concepción y de supervivencia al nacer, así como déficit en el desarrollo neurológico. A nivel endocrino,

afectan a los niveles de las hormonas tiroideas provocando hipotiroidismo. Finalmente, también han sido descritos efectos tóxicos a nivel hepático, elevación de la presión sanguínea, triglicéridos y colesterol.

Debido a los efectos nocivos que provocan en los organismos y por su persistencia en el ambiente, **el uso de los PCBs fue prohibido** en Estados Unidos en 1979. Esta prohibición se generalizó a nivel internacional en el año 2001 a través de la Convención de Estocolmo sobre Compuestos Orgánicos Persistentes. A pesar de ello, siguen siendo contaminantes ubicuos a los que los organismos están expuestos en la actualidad, incluso a largas distancias de sus zonas originales de emisión. Esto es debido principalmente a que pueden estar presentes en productos fabricados previamente a su prohibición o como consecuencia de su liberación al ambiente en grandes cantidades en el pasado (Crinnion, 2011).

Compuestos perfluorados

Los compuestos perfluorados están formados por una cadena de átomos de carbono de longitud variable (de 4 a 14) lineal o ramificada. Los enlaces C-F hacen que estas moléculas sean particularmente resistentes a procesos de hidrólisis, fotólisis o degradación microbiana (Giesy & Kannan, 2001; Prevedouros et al., 2006).

El **sulfonato de perfluorooctano** (PFOS) es el compuesto más importante del grupo de las sustancias perfluoroalquiladas (PFAS), mientras el **ácido perfluorooctanoico** (PFOA) forma parte del grupo de los ácidos perfluorocarboxílicos (PFCA) (Fig. 24).

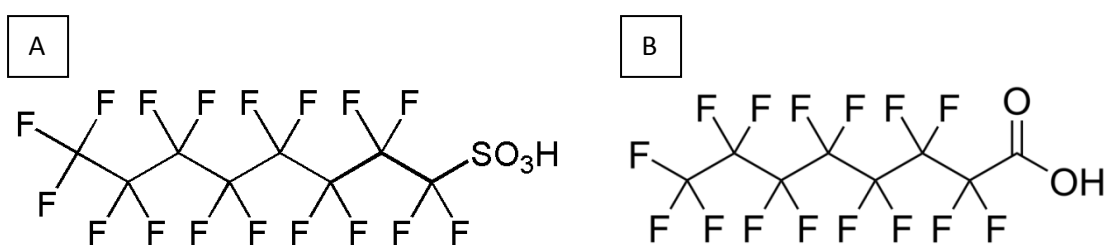


Figura 24. Estructura química de PFOS (A) y el PFOA (B).

Las principales **características físico-químicas** de estos dos compuestos se describen en la tabla 17.

Tabla 17. Características físico-químicas de PFOS y PFOA

| | PFOS | PFOA |
|-----------------------------|---|---|
| Nombre IUPAC | 1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-heptadecafluorooctane-1-sulfonyl fluoride | pentadecafluorooctanoic acid |
| Fórmula | C ₈ F ₁₇ SO ₃ | C ₈ F ₁₅ O ₂ |
| Peso molecular | 500.12 | 414.10 |
| Aspecto | Polvo blanco | Polvo blanco, olor picante |
| Punto de fusión (°C) | > 400 | 52-54 |
| Solubilidad en agua | 570 mg/L | Insoluble e hidrofóbico |

Por su estructura química, los compuestos perfluorados poseen una particular resistencia térmica y química y una excepcional naturaleza hidro- y lipofóbica. Estas características son las responsables de su amplio uso en el ámbito industrial y doméstico que se extendió a partir de los años 50 (polímeros plásticos, papel, fibras textiles y cuero, espumas anti-incendios, cosméticos, champús, dentífricos, fitofármacos, productos de limpieza, recipientes de uso alimentario, películas fotográficas, etc.) (Calafat et al., 2006). Por ejemplo, PFOA ha sido utilizado para la producción de materiales de amplio uso como el Teflón y el Gore-Tex (Prevedouros et al., 2006; Davis, 2007). Pero hoy en día estas sustancias son más conocidas por la problemática de contaminación ambiental que han producido que por sus usos normales. En particular los compuestos PFOS y PFOA, por su estabilidad térmica y química, son muy resistentes a los procesos naturales de degradación (fotolíticos, hidrolíticos, bióticos aeróbicos y anaeróbicos) y resultan altamente persistentes en el ambiente con una elevada tendencia a la **bioacumulación** (Moody et al., 2002).

Por otro lado, la fácil unión de PFOS y PFOA con el agua y su baja volatilidad hacen que su transporte a larga distancia y su dispersión en el ambiente sea más difícil que en el caso de otros compuestos orgánicos como los denominados POPs (compuestos orgánicos persistentes). Por ello resulta desconcertante su hallazgo en el aire y organismos de zonas remotas como por ejemplo el Ártico (e.g. Tomy et al, 2004a). Se cree que son transportados a largas distancias formando una cadena más larga y más volátil que, una vez alcanzadas esas zonas remotas, se degrada dando lugar a compuestos más estables como PFOS y PFOA (Danish Environmental Protection Agency, 2005).

La amplia difusión de PFOS en el ambiente, incluso como hemos visto a largas distancias de sus fuentes originales de emisión (Giesy & Kannan, 2001), ha despertado una creciente atención con respecto a este compuesto por parte de la Unión Europea, desde donde **se ha limitado su producción y utilización** (únicamente se permite en las espumas anti-incendios, en la industria del cromado y en el sector aeronáutico) con el fin de reducir drásticamente su emisión (Directiva 2006/122/CEE). Esta misma Directiva indica que PFOA supone un riesgo similar a PFOS y que por tanto deberán estudiarse qué tipo de medidas de reducción del riesgo se aplicarán en el futuro en el ámbito de la Unión, si bien éstas no han sido establecidas en la actualidad. Por su parte en el año 2006 la Agencia para la Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA) estableció que las emisiones industriales de PFOA debían reducirse un 95% en cuatro años, y que se eliminarían completamente en el año 2015.

Con respecto a su interacción con los organismos, estos compuestos pueden **absorberse** por distintas vías: vía inhalatoria, por ingestión de polvo presente en el ambiente o por consumo de agua y de alimentos. También es importante considerar que pueden inhalarse compuestos precursores de compuestos perfluorados que pueden metabolizarse en el organismo originando, por ejemplo, PFOS (Xun et al., 2004; Tomy et al., 2004b). Así mismo, PFOA puede aparecer como fruto de procesos de degradación ambientales a partir de la emisión de otras sustancias como fluorotelomer alcohol (FTOH) (Wang et al., 2005). En los organismos estos compuestos se **distribuyen** a través de la sangre unidos a proteínas como la albúmina y se **acumulan** principalmente a nivel sanguíneo y hepático. Se cree que PFOS y PFOA no son metabolizados, al menos en mamíferos, y que se **eliminan** lentamente a través de orina y heces (Stahl et al., 2011).

Con respecto al **mecanismo de acción y efectos** del PFOA, se ha observado a nivel molecular que en roedores se comporta como agonista de los receptores activados por proliferadores peroxisómicos tipo alfa (PPAR α), induciendo la transcripción de genes implicados en el metabolismo lipídico, incrementando la oxidación de ácidos grasos y una consiguiente disminución del peso corporal. Provoca una reducción de los niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol e interfiere con la biosíntesis de esteroides y ácidos biliares. Entre las alteraciones del sistema endocrino que provoca, también se han descrito alteraciones en las hormonas sexuales tras la exposición a PFOA, se correlaciona con el comienzo del desarrollo de hiperplasia y adenomas de células de

Leydig (Biegel et al., 1995, 2001). Estas evidencias se han relacionado con dos posibles mecanismos de acción. Por un lado, la activación del receptor PPAR α y el incremento de la actividad de la aromatasas hepática con el consiguiente aumento de los niveles de estradiol y TGF α (factor de crecimiento de la célula de Leydig). Por otro, disminución de la concentración de testosterona que puede provocar un aumento de LH (hormona luteinizante), un posible mitógeno de las células intersticiales. Esto podría explicar la citada hiperplasia de las células de Leydig, que además es una alteración común en individuos de género masculino con problemas de fertilidad y bajos niveles de testosterona (Svechnikov et al, 2010). En el año 2000 la EPA (US) clasificó PFOA como carcinógeno para animales tras correlacionar la aparición de adenomas de la célula de Leydig con la exposición a la sustancia. Con respecto a PFOS, en ratas también se ha observado que, tras una exposición a este compuesto, disminuyen los niveles de las hormonas tiroideas T3 y T4 (Lau et al., 2003; Luebker et al., 2005). También se ha descrito que PFOS favorece la transformación neoplásica mediante la formación de adenomas hepáticos en roedores de sexo femenino y adenomas de células foliculares tiroideas en roedores de sexo masculino (Thomford, 2002). Con respecto a la toxicidad y carcinogenicidad a nivel hepático, la activación del receptor PPAR α en el modelo animal por parte de PFOS indica que puede provocar alteraciones en la expresión de genes involucrados en la proliferación de peroxisomas, en el control del ciclo celular y de la apoptosis (Tien et al., 2006). El uso del modelo en roedores ha sido fundamental para entender la actividad de PFOS en sus diferentes vías. Seacat et al. (2003) han demostrado que este compuesto favorece la β -oxidación de ácidos grasos, responsables de la disminución de los niveles en suero de glucosa y colesterol. Además, posteriores estudios han evidenciado que los enlaces de este compuesto con proteínas de la membrana celular provocan alteraciones en la transmisión de señales por los receptores superficiales (Hu et al., 2003).

Ftalatos

Los ftalatos son una familia de compuestos químicos **usados** en la industria de materiales plásticos como agentes plastificantes o como aditivos de los polímeros para mejorar su flexibilidad y maleabilidad. El PVC es el principal material plástico en el que se emplean los ftalatos, en términos de volumen de producción. Al añadirlos, estos compuestos permiten que las moléculas del polímero se deslicen unas sobre otras

haciendo el material blando y maleable incluso a bajas temperaturas. Pero estos plastificantes no se unen químicamente a los productos plásticos, por lo que con el paso del tiempo y con el uso se liberan al ambiente. Por ello los ftalatos son considerados contaminantes ambientales ubicuos. Entre ellos, el **di(2-etilhexil) ftalato** (DEHP) es el compuesto más abundante en el ambiente y su metabolito primario es el **mono(2-etilhexil) ftalato** (MEHP) (Fig. 25) (Tickner et al., 2001).

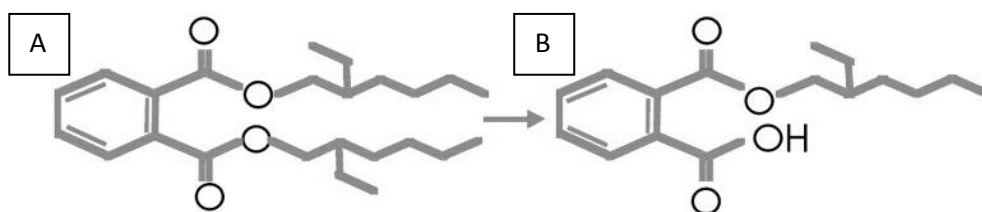


Figura 25. Estructura química de DEHP (A) y el MEHP (B).

Las principales **características físico-químicas** de DEHP se describen en la tabla 18.

Tabla 18. Características físico-químicas de DEHP

| | DEHP |
|-----------------------------|---------------------------|
| Nombre IUPAC | Di-2-ethylhexyl phthalate |
| Fórmula | $C_{24}H_{38}O_4$ |
| Peso molecular | 390.57 |
| Aspecto | Líquido incoloro |
| Punto de fusión (°C) | -50 |
| Solubilidad en agua | <0.1 g/l a 20°C |

La Comisión Europea **ha prohibido su uso** en juguetes y productos destinados a emplearse en interiores, mientras la estadounidense FDA (Food and Drug Administration) solo permite su uso en contenedores alimentarios cuando los alimentos son de base principalmente acuosa y no grasa. Estas prohibiciones son debidas a que ha sido observado que DEHP se libera gradualmente de los plásticos, por evaporación o extracción, en éste último caso facilitada por el contacto con sustancias grasas.

En la actualidad, a pesar de su creciente y generalizado uso, la información toxicológica sobre DEHP y sus metabolitos es aún limitada. Sin embargo, este conocimiento es fundamental para evaluar su toxicidad y efectos sobre la salud. Con respecto a su toxicocinética, DEHP no se **absorbe** fácilmente a través de la piel, pero el contacto con productos que lo contengan se considera peligroso, particularmente en el caso de contenedores alimentarios, juguetes, productos en contacto con mucosas bucales o respiratorias o dispositivos médicos para diálisis, bolsas de sangre o jeringuillas que vayan a entrar en contacto con el flujo sanguíneo. La absorción gastrointestinal parece ser rápida, si bien se ha observado que es muy dependiente de la especie que se estudie, la dosis y el tiempo de exposición; la absorción por vía inhalatoria ha sido pobremente estudiada hasta el momento (United States Consumer Product Safety Commission, 2010). Una vez en el organismo, tanto DEHP como MEHP se **distribuyen** a sus órganos diana (hígado, riñón o tejido adiposo) a través de la sangre, unidos a proteínas plasmáticas; parece que tanto DEHP como sus metabolitos tienen una vida corta en los tejidos y no tienden a **acumularse**. De hecho, los ftalatos son rápidamente **metabolizados** en el organismo (biotransformación de fase I) originando sus respectivos monoésteres. Los compuestos lipofílicos de la cadena lateral alifática van siendo oxidados sucesivamente, y los monoésteres y metabolitos oxidados pueden conjugarse con ácido glucurónico (biotransformación de fase II), pudiendo ser **eliminados** a través de la orina y las heces principalmente. En concreto DEHP es convertido en su metabolito primario MEHP, que tras un proceso de oxidación-reducción de su cadena lateral alifática es metabolizado como 5OHMEHP, después como 5oxo-MEHP, 5cx-MEPP y 2cx-MMHP, el cual puede ser eliminado tras su conjugación con glucurónidos (Koch et al., 2003, 2005; Silva et al., 2003). Se estima que menos del 10% de las dosis de DEHP absorbida se elimina como MEHP, mientras el resto se elimina como metabolito secundario conjugado con ácido glucurónico.

La información sobre su **mecanismo de acción** es también limitada en la actualidad. Existen datos experimentales que indican que los ovarios son órganos diana para estos compuestos en ratas, en las que disminuyen la biosíntesis de estradiol a través de un mecanismo que suprime la actividad enzimática de la aromatasasa (Davis et al., 1994). Tanto en los individuos del género masculino como femenino se cree que los ftalatos activan los receptores PPARs, de manera que en los machos pueden alterar la expresión de los genes de las enzimas implicadas en la biosíntesis de testosterona e

interactuar con otros receptores nucleares que desempeñan un papel importante en el desarrollo testicular; en las hembras estos receptores pueden alterar la producción de estradiol (Latini et al., 2008; Meeker et al., 2008).

Una elevada exposición a DEHP puede causar **efectos** adversos como daños en órganos reproductivos, hígado, riñón y glándula tiroidea, además de ser considerado carcinógeno en animales y tóxico para el desarrollo del feto a dosis no-tóxicas para los progenitores, ya que en mamíferos puede atravesar la barrera placentaria y también transmitirse a través de la leche materna (Swan et al., 2010; United States Consumer Product Safety Commission, 2011).

Bisfenol A

El bisfenol A (BPA, Fig. 26) es un compuesto orgánico con dos grupos funcionales fenol que se **usa** principalmente asociado con otras sustancias para producir plásticos y resinas. Este compuesto y sus derivados se encuentran en el mercado desde hace más de 50 años. La producción mundial en 2003 se estimó en 2 millones de toneladas, de las cuales 856000 fueron producidas en Estados Unidos (el 72% para la producción de policarbonato y el 21% para la producción de resinas epoxi). Se emplea en la síntesis de poliésteres, polisulfonatos y poliéter-cetonas, como antioxidante en algunos plastificantes y como inhibidor de la polimerización del PVC. Es también usado como precursor de los retardantes de llama y como fungicida.

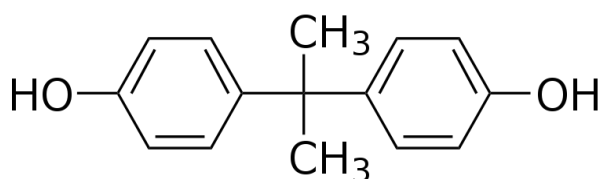


Figura 26. Estructura química de BPA.

Las principales **características físico-químicas** de BPA se describen en la tabla 19.

Tabla 19. Características físico-químicas de BPA

| | BPA |
|-----------------------------|--|
| Nombre IUPAC | 4,4'-(propano-2,2-diil)difenol |
| Fórmula | C ₁₅ H ₁₆ O ₂ |
| Peso molecular | 228,30 |
| Aspecto | Polvo cristalino blanco |
| Punto de fusión (°C) | 158 |
| Solubilidad en agua | 120-300 ppm (a 21.5 °C) |

La exposición de los organismos a BPA se produce principalmente a través de los alimentos y debido a su uso en plásticos y otros materiales, como el policarbonato, un tipo de plástico rígido, resistente y transparente usado en botellas de bebida, utensilios de cocina y recipientes, equipamiento deportivo, dispositivos médicos y dentales, empastes dentales, lentes oculares, electrodomésticos o cascos de protección. También se encuentran residuos de BPA en resinas epoxi usadas para producir películas y revestimientos protectores en latas y tinajas. Este compuesto puede migrar a los alimentos y bebidas en contacto con dichos materiales (European Food Safety Authority, 2007; Cao et al., 2009; Mariscal-Arcas et al., 2009; LaKind & Naiman, 2011). De hecho, estudios en hombres en la última década han evidenciado que este contaminante está ampliamente extendido en el ambiente de zonas urbanas y rurales, mostrando niveles detectables en la orina de más del 90% de los 2517 individuos incluidos en el estudio realizado por Calafat et al. (2008).

A pesar de ello, la utilización de BPA en materiales en contacto con alimentos está **autorizada** en la Unión Europea (Directiva 2002/72/CEE), excepto en biberones por considerar que puede alterar el desarrollo cerebral de los niños. También se autoriza su uso en otros países como Estados Unidos y Japón. Otros por el contrario han **prohibido** su utilización dentro de su territorio, como Dinamarca y Francia. Esta heterogeneidad en la legislación al respecto puede ser debida a que, a pesar de que el nivel sin efectos negativos observados (NSENO) global para el BPA ha sido establecido en 5 mg/kg de peso corporal/día (500 veces superior a los cálculos prudentes relativos a la exposición humana), existen varias esferas de incertidumbre. Por ejemplo, se han descrito efectos neurológicos en animales a dosis inferiores a este nivel de seguridad, y

la discrepancia en los resultados de distintas investigaciones es elevada (FAO-WHO, 2009).

En el organismo el BPA se **absorbe** de manera rápida tras una exposición oral y se **distribuye** hacia el hígado desapareciendo rápidamente de la sangre. Se **metaboliza** por vía hepática (glucurónido de BPA y conjugado de sulfato en menor medida). Se cree que en humanos y primates el 80% del BPA absorbido se **elimina** por vía urinaria en 5-6 horas aproximadamente tras la exposición (FAO-WHO, 2009; Volkel et al., 2002). Sin embargo, los roedores eliminan principalmente este compuesto o sus metabolitos a través de las heces (70-80% en 72 horas). Estas diferencias pueden deberse a diferencias en el umbral de la eliminación biliar (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2011). Además en roedores el BPA excretado por la bilis puede reabsorberse a nivel intestinal, produciéndose un recirculación enterohepática que conlleva una exposición más prolongada a este compuesto (FAO-WHO, 2009). A pesar de que la eliminación de una gran proporción del compuesto absorbido suele ser rápida, se ha demostrado que a través del estudio de muestras biológicas se puede estimar la concentración y exposición a este compuesto correspondiente a semanas o meses, así como que sus niveles biológicos son altamente dependientes de la especie estudiada, edad de los individuos, el sexo, la dosis y la vía de exposición/administración (FAO-WHO, 2009; Mielke & Gundert-Remy, 2009). Si bien parte de la toxicocinética, mecanismo de acción y efectos del BPA no son del todo bien entendidos en la actualidad, estudios recientes en roedores han evidenciado que una exposición continua a través de la dieta puede ocasionar que el BPA en su forma activa se retenga en el organismo por periodos más largos de los que se creía con anterioridad (Siele et al., 2011). Estos aspectos deberán ser estudiados en el futuro en mayor medida para entender cómo este compuesto se **acumula** en el organismo y se libera nuevamente al torrente sanguíneo para ser distribuido a sus zonas de acción.

Acerca de su **mecanismo de acción**, se sabe que el BPA se une a los receptores esteroideos afectando a las actividades estrogénica y tiroidea, así como a los niveles de testosterona (Sielle et al., 2011). Se considera que el BPA tiene una afinidad con los receptores estrogénicos (ER α y ER β) menor que el estrógeno endógeno, mientras que el glucurónido de BPA no es hormonalmente activo. También se ha puesto de manifiesto que el BPA se enlaza con gran afinidad al receptor asociado a estrógenos (ERR- γ), lo que puede guardar relación con su conocida capacidad para funcionar como disruptor

endocrino (FAO-WHO, 2009). En fases tempranas del desarrollo del organismo se ha observado que el BPA puede actuar como antagonista de los receptores nucleares para las hormonas tiroideas (Zoeller et al., 2005).

Se han descrito diversidad de **efectos** en relación con este compuesto, como los siguientes: crecimiento a destiempo de la descendencia, alteraciones neurológicas y del metabolismo, reducción o anulación de la diferenciación sexual en la descendencia y efectos a largo plazo a nivel de comportamiento y sistema nervioso central en individuos adultos (Kobayashi et al., 2010). Se han descrito así mismo efectos cardiovasculares, renales, anormalidades hepáticas y diabetes (Lang et al., 2008). Con respecto a su posible carcinogenicidad, no existen evidencias contundentes al respecto aunque parece que podría aumentar los casos de leucemia y tumores de células intersticiales testiculares en roedores (FAO-WHO, 2009).

2.4 Metodología analítica

El procesado de las muestras para el análisis de elementos inorgánicos así como dichos análisis se han realizado en los laboratorios del Área de Toxicología de la Universidad de Murcia, en el Servicio Universitario de Instrumentación Científica de la Universidad de Murcia, en el Servicio de Instrumentación Tecnológica de la Universidad Politécnica de Cartagena y en el Centro Tecnológico Nacional de la Conserva. El procesado de las muestras para el análisis de contaminantes orgánicos así como dichos análisis se han realizado en los laboratorios del Dipartimento di Scienze Ambientali 'G. Sarfatti' de la Università degli Studi di Siena (Italia).

2.4.1 Elementos inorgánicos

El **procesado de las muestras y el método analítico** empleados se corresponden con una adaptación del procesado y método descritos por Jerez et al. (2010). Por su importancia en la toxicocinética de los elementos inorgánicos objeto de estudio, los tejidos seleccionados para su análisis fueron: hígado, riñón, músculo, hueso y pluma, así como contenido estomacal.

Las muestras de pluma fueron sometidas a 3 lavados con agua bidestilada y desionizada, para eliminar posibles restos de contaminación externa (Burger, 1993). A

continuación, las muestras de plumas y el resto de muestras fueron desecadas en estufa (Fig. 27) a 75-80°C hasta peso constante (24-48 horas), para eliminar posibles errores debidos a distintos contenidos de humedad de las muestras. Dicho contenido de humedad fue calculado mediante pesado previo y posterior al desecado. Entre 0.0017 y 0.4314 g de cada muestra, según disponibilidad, fueron triturados, introducidos en vasos cerrados de teflón y sometidos a un proceso de digestión húmeda asistida por microondas (Fig. 28, tabla 20), empleando el programa de digestión “organic up 0.4”. Para este proceso se empleó una mezcla de HNO₃ (65%), H₂O₂ (30%) y agua bidestilada y desionizada, en proporción 5:2:3. El resultante de la digestión fue enrasado hasta un volumen final de 25 ml con agua bidestilada y desionizada. Las muestras fueron guardadas en refrigeración (4°C) hasta el momento de su análisis.



Figura 27. Secado de muestras



Figura 28. Proceso de digestión en microondas

Tabla 20. Características del Microondas Mileston (Modelo Ethos Sel.) y programa “organic up 0.4”

| MICROONDAS MILESTONE: Modelo Ethos Sel. | | | |
|--|----------------------------------|---------------------|--------------|
| Características | Programa “organic up 0.4” | | |
| | Tiempo (min) | T ^a (°C) | Potencia (W) |
| Sistema cerrado | | | |
| Capacidad para 6 muestras | 0 | 20 | - |
| Rotor de alta presión | 5 | 85 | 700 |
| HPR 1000/6M | 3 | 145 | 500 |
| Sensor de T ^a automático ATC-400 | 30 | 210 | 1.000 |

Una vez realizada la digestión, se procedió al análisis de las muestras mediante la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), que permitió la identificación (análisis cualitativo) y cuantificación de los siguientes elementos seleccionados: aluminio, cromo, manganeso, hierro, níquel, cobre, zinc, arsénico, selenio, cadmio, mercurio y plomo.

El equipo está aislado en una sala de características especiales (sala limpia) y sus prestaciones pueden observarse en la figura 29 y tabla 21.



Figura 29. ICP-MS Agilent 7500ce

Tabla 21. Características del equipo ICP-MS Agilent 7500 ce

| ICP-MS Agilent 7500 ce | |
|--|--|
| Características | Sensibilidad |
| Automuestreador CETAC ASX-510 | Li (7) ≥ 8 Mcps/ppm |
| Cámara de nebulización tipo Scott refrigerada con Peltier | Y (89) ≥ 20 Mcps/ppm |
| Nebulizador concéntrico MicroMist | Tl (205) ≥ 12 Mcps/ppm |
| Conos de níquel | Fondo (para 5 uma) ≤ 5 cps |
| Generador de radiofrecuencia de 27,12 MHz y 1600 W | Óxidos (en CeO+) $\leq 1,0\%$ |
| Antorcha de cuarzo tipo Fassell | Cationes divalentes (en Ce2+) $\leq 3,0\%$ |
| Control del flujo másico de argón en el plasma, línea auxiliar, línea de ajuste y gas portador | Límites de detección |
| Filtro de masas cuadrupolar hiperbólico (3 MHz y 2-260 uma) | Be (9) ≤ 2 ppt |
| Detector simultáneo digital/analógico con 9 órdenes de | In (115) ≤ 1 ppt |

Los isotopos seleccionados para el análisis de los elementos fueron: ^{27}Al , ^{52}Cr , ^{55}Mn , ^{56}Fe , ^{60}Ni , ^{63}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{78}Se , ^{111}Cd , ^{202}Hg y ^{208}Pb .

Los límites de detección ($\mu\text{g g}^{-1}$) para los elementos estudiados fueron: 0.004 (Al), 0.0002 (Cr, As, Hg), 0.0004 (Mn, Ni), 0.002 (Fe), 0.0008 (Cu, Pb), 0.003 (Zn), 0.0007 (Se) y 0.0001 (Cd).

Durante el proceso de digestión y análisis se siguió un estricto **control de calidad**. Así, la fiabilidad y reproducibilidad de los resultados se garantizó mediante los siguientes procedimientos:

- Introducción de muestras por duplicado de manera aleatoria.
- Introducción de blancos al principio y cada 5 muestras.
- Análisis inicial y periódico de patrones de calibración. Se prepararon 7 patrones de cada uno de los elementos a analizar a partir soluciones madre comerciales (Merck®), que fueron estabilizados con 20 μL de HNO_3 . Las concentraciones de los patrones fueron: 1, 5, 10, 25, 50, 100 y 200 ppb. Cuando el límite superior de la recta de calibrado fue insuficiente por detectarse niveles superiores a éste en las muestras problema, se procedió a la preparación de patrones de mayor concentración o a la dilución de la muestra en cuestión. El índice de correlación de las rectas de calibrado fue igual o superior 0.999.
- Adición de estándares internos (Galio y Rhodio).
- Análisis de material de referencia certificado (DORM-2 y DOLT-2). Los porcentajes de recuperación pueden consultarse en la tabla 22.

Los **reactivos y material empleados** se detallan a continuación. El ácido nítrico y peróxido de hidrógeno utilizados para el procesado y análisis de las muestras fueron de calidad Suprapur (Merck®), en sus diluciones originarias de fabricación: HNO_3 65%, H_2O_2 30%. El agua utilizada en todo el procedimiento fue agua bidestilada y desionizada obtenida mediante purificador de agua Milli-Q Plus Millipore (Fig. 30).

Tabla 22. Reference material values ($\mu\text{g g}^{-1}$) and percentages of recovery

| Element | DORM-2 / Percentage of recovery | DOLT-2 / Percentage of recovery |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|
| Al | $10.90 \pm 1.70 / 80.20$ | $25.20 \pm 2.40 / 97.43$ |
| As | $18.00 \pm 1.10 / 93.44$ | $16.60 \pm 1.10 / 95.39$ |
| Cd | $0.043 \pm 0.008 / 93.02$ | $20.80 \pm 0.50 / 97.34$ |
| Cr | $34.70 \pm 5.50 / 85.63$ | $0.37 \pm 0.08 / 90.81$ |
| Cu | $2.34 \pm 0.16 / 94.36$ | $25.80 \pm 1.10 / 102.13$ |
| Fe | $142.00 \pm 10.00 / 97.84$ | $1103.00 \pm 47.00 / 89.97$ |
| Pb | $0.065 \pm 0.007 / 110.7$ | $0.22 \pm 0.02 / 89.15$ |
| Mn | $3.66 \pm 0.34 / 103.93$ | $6.88 \pm 0.56 / 86.44$ |
| Ni | $4.64 \pm 0.26 / 84.87$ | $2.14 \pm 0.28 / 107.00$ |
| Se | $19.40 \pm 3.10 / 93.36$ | $0.20 \pm 0.02 / 94.54$ |
| Zn | $1.40 \pm 0.09 / 85.414$ | $6.06 \pm 0.49 / 94.89$ |

Además del equipamiento anteriormente descrito, se emplearon:

- Balanza analítica AS 110/X (Fig. 31).
- Estufa D 6450 Heraeus Holding GMBH (Fig. 27).
- Micropipetas Finnpiptette regulables (Termo Electrón Corporation, USA) y puntas de plástico desechables.
- Material de disección: tijeras, pinzas, bisturí.
- Contenedores de tapón roscado y bolsas de plástico con cierre zip desechables.
- Bandejas de pesado de plástico desechables.
- Bandejas se desecado.
- Morteros de porcelana.
- Pipetas Pasteur de plástico desechables.
- Vasos de precipitado.
- Matraces aforados de 25 ml.
- Tubos de plástico desechables de 15 ml, con tapón a presión.



Figura 30. Purificador de agua Milli-Q



Figura 31. Balanza analítica AS 110/X

Todo el material empleado en contacto con las muestras fue sometido a un proceso exhaustivo de **limpieza** para evitar posibles riesgos de contaminación. El material desechable fue lavado, antes de su uso, con una disolución al 2% de HNO₃ calidad Suprapur (Merck®) y agua Milli-Q. El material reutilizable, previo lavado con agua corriente y jabón, fue igualmente sometido a un proceso de lavado con una disolución al 2% de HNO₃ calidad Suprapur (Merck®) y agua Milli-Q. Los vasos de teflón empleados para la digestión de las muestras fueron además mantenidos en la citada disolución ácida durante 24 h y sometidos a un baño de ultrasonidos con calor (70°C) durante 1-2 horas.

2.4.2 Contaminantes orgánicos

Por su importancia en la toxicocinética de los compuestos orgánicos estudiados, los tejidos seleccionados para su análisis fueron: hígado, riñón, músculo, corazón y cerebro, así como contenido estomacal. Debido al escaso peso de algunos de los tejidos analizados, en algunos casos los tejidos de varios ejemplares se unieron y homogeneizaron formando un “pool” que conformara una cantidad de muestra suficiente para ser analizada. Para la preparación del “pool” se emplearon en todos los casos el mismo tipo de tejido perteneciente a individuos de la misma especie, procedentes de la misma localización y del mismo tramo de edad.

Las muestras seleccionadas fueron sometidas a **procesos de extracción** y posterior **determinación analítica** de 27 congéneres de bifenilos policlorados (PCBs), sulfonato de perfluorooctano (PFOS), ácido perfluorooctanoico (PFOA), di(2-etilhexil) ftalato (DEHP), mono(2-etilhexil) ftalato (MEHP) y bisfenol A (BPA).

El método de extracción de los PCBs está basado en el descrito previamente por Kannan et al. (2001) y Corsolini et al. (2005). Se tomaron 5 gramos de cada muestra que fueron homogeneizados con sulfato sódico. La extracción se realizó mediante sistema Soxhlet (12 horas, Fig. 32) y el extracto fue evaporado en rotavapor (Fig. 33). A continuación se tomó una alícuota de cada extracto para la determinación del contenido graso de cada tejido por gravimetría. Las posibles interferencias existentes fueron eliminadas mediante purificación con sistema Power-Prep (Fig. 34). Las muestras fueron analizadas mediante cromatografía de gases (Perkin Elmer mod. Autosystem) equipado con un detector de captura de electrones ^{63}Ni (HRGC-ECD; columna capilar DB-5, Supelco Inc.) (CG-MS). Las condiciones cromatográficas pueden ser consultadas en el trabajo de Corsolini et al. (2005). Los límites de detección (LOD) fueron calculados como el valor medio de cada compuesto en los blancos + 3SD y fueron, en μl^{-1} : 1.907 (PCB 28), 0.199 (PCB 52), 1.842 (PCB 37), 0.012 (PCB 95), 1.426 (PCB 101), 0.002 (PCB 99), 0.012 (PCB 110), 0.520 (PCB 151), 0.011 (PCB 149), 1.066 (PCB 123), 0.427 (PCB 118), 0.003 (PCB 114), 0.011 (PCB 146), 0.462 (PCB 153), 2.541 (PCB 105), 0.010 (PCB 138), 0.430 (PCB 187), 0.003 (PCB 183), 1.093 (PCB 128), 0.010 (PCB 167), 0.003 (PCB 177), 1.845 (PCB 156), 0.010 (PCB 157), 0.003 (PCB 180), 0.003 (PCB 170), 0.007 (PCB 189) y 0.007 (PCB 209).

El método de extracción para los compuestos perfluorados está basado en el descrito previamente por Corsolini et al. (2008). Se tomó un gramo de cada muestra que fue homogeneizado con agua Milli-Q. Se tomó 1 ml de muestra homogeneizada y se añadieron 1 ml de disolución 0.50 M de tetrabutilamonio (TBA) hidrógeno sulfato y 2 ml de tampón carbonato sódico 0.25 M. Se agitó la mezcla y se añadieron 5 ml de éter metil tert-butílico (MTBE). Se agitó nuevamente y se centrifugó. A continuación se eliminó un volumen exacto de 4 ml de MTBE. La mezcla acuosa fue de nuevo lavada con MTBE y separada dos veces. El resultante de ese lavado fue trasvasado a un segundo tubo. El solvente fue evaporado bajo atmósfera de nitrógeno hasta una alícuota que fue resuspendida en un volumen exacto de metanol. El extracto fue filtrado a través de un filtro de nylon ($0.20\ \mu\text{m}$) y se pasó a un vial de cromatografía. Las muestras

fueron analizadas mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a un espectrómetro de masas con ionización por electrospray (ESI-MS). La separación de los analitos fue llevada a cabo con un sistema Finnigan Surveyor Plus HPLC consistente en una bomba cuaternaria, una bomba de vacío y un automuestreador. La separación cromatográfica fue realizada con una columna Betasil C18 (50×2.10 mmI.D., $5 \mu\text{m}$). El espectrómetro de masas de trampa lineal de iones (Finnigan LTQ, Thermo Electron Corporation, San Jose, CA) fue operado en modo electrospray negativo. Los parámetros instrumentales fueron optimizados para transmitir el ión $[M-H]^-$ para todos los analitos (PFOS y PFOA). Los iones monitorizados para la determinación de PFOS y PFOA fueron $412.8 > 168.8$, 218.8 , y $498.8 > 368.9$, respectivamente. Los límites de detección (LOD) fueron determinados como tres veces la relación señal/ruido (S/N) y fueron 0.50 ng g^{-1} para ambos compuestos.

El método para la extracción de ftalatos está basado en uno previamente descrito por Takatori et al. (2004). DEHP y MEHP fueron analizados mediante cromatografía líquida de emparejamiento de iones acoplada a un espectrómetro de masas, a su vez equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI-MS). El equipo empleado fue el mismo que el descrito para el análisis de compuestos perfluorados. Se tomó 1 gramo de cada muestra al que se añadieron 4 ml de acetona. Se procedió al sonicado, agitado y centrifugado. Se tomó la fase orgánica y se trasvasó a un tubo de polipropileno. Se procedió a una segunda extracción de la fase acuosa con acetona, agitación y posterior centrifugado. El sobrenadante se recuperó y unió al resultante de la primera extracción. Ambos sobrenadantes fueron evaporados en un evaporador centrífugo y el extracto fue resuspendido en agua Milli-Q y ácido acético. El proceso fue repetido 4 veces con hexano. La muestra fue mezclada y pasada a través de 1 filtro de nylon ($0.20 \mu\text{m}$). El volumen final fue ajustado a 0.50 ml para su análisis mediante el sistema LC-ESI-MS. Se usó una columna de fase reversa (Wakosil 3C18, 2.00×100 mm, $3 \mu\text{m}$). MEHP fue detectado en modo negativo y DEHP en modo positivo. Los iones usados para la identificación fueron (ión padre/ ión hijo) $277/134$ y $391/149$ para MEHP y DEHP, respectivamente. Los límites de detección (LOD) fueron determinados como el valor medio del compuestos en los blancos + $3SD$ y fueron 2.00 ng g^{-1} para MEHP y 10.00 ng g^{-1} para DEHP.

El método para la extracción de BPA está basado en el descrito previamente por Prins et al. (2011). Se tomaron 0.50 gramos de muestra que se homogeneizó y a la que

se añadieron 3 ml de etil éter. Se procedió a agitar y centrifugar. El sobrenadante se trasvasó a un tubo de polipropileno y el proceso se repitió tres veces. El disolvente se evaporó bajo atmósfera de nitrógeno hasta una alícuota que fue resuspendida en un volumen exacto de acetonitrilo. Finalmente la muestra fue filtrada en un filtro de nylon (0.20 μm). La determinación analítica se realizó de acuerdo a lo descrito por Coughlin et al. (2011). Se empleó la técnica de cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas con fuente de ionización por electrospray. El equipo empleado fue el mismo que el descrito para el análisis de compuestos perfluorados. El sistema ESI-MS fue operado en modo negativo y se empleó una columna C18 Betasil 50 x 2.10 mm I.D., 5 μm . El límite de detección (LOD) se tomó como el valor medio del compuesto en los blancos + 3SD y fue de 0.50 ng g^{-1} .

Todos los procesos fueron acompañados de un estricto **control de calidad**. Así, la fiabilidad y reproducibilidad de los resultados se garantizó mediante los siguientes procedimientos:

- Introducción de muestras por duplicado de manera aleatoria.
- Introducción de blancos al principio y cada 5 muestras.
- Análisis inicial y periódico de patrones de calibración. Se prepararon soluciones estándar de los compuestos a 4 concentraciones distintas. Cuando el límite superior de una recta de calibrado fue insuficiente por detectarse niveles superiores a éste en las muestras problema, se procedió a la preparación de patrones de mayor concentración o a la dilución de la muestra en cuestión. El índice de correlación de las rectas de calibrado fue igual o superior 0.999.
- Adición de estándares internos para el análisis de PCBs (50 ng de PCB 30 y PCB 209, respectivamente, por muestra).
- Análisis de matrices adicionadas con cantidades conocidas de los compuestos estudiados. Se emplearon matrices adicionadas para cada tipo de muestra analizada. Los porcentajes de recuperación fueron 86-97% para PCBs, 87-92 % para PFOS, 85-91% para PFOA y 85-90% para ftalatos y BPA.

Todos los **reactivos** utilizados para el procesado y análisis de las muestras fueron de calidad ultra pura y el agua bidestilada y desionizada obtenida mediante purificador de agua Milli-Q Plus Millipore.

Además del anteriormente descrito, se empleó el siguiente **equipamiento y material** de laboratorio:

- Balanza analítica.
- Sistema de extracción Soxhlet (Fig. 32).
- Rotavapor (Fig. 33).
- Sistema de purificación Power-Prep (Fig. 34).
- Centrífuga.
- Evaporador centrífugo.
- Sonicador.
- Evaporador de nitrógeno.
- Agitador vórtex.
- Micropipetas Finnpiptette regulables (Termo Electrón Corporation, USA) y puntas de plástico desechables.
- Material de disección: tijeras, pinzas, bisturí.
- Bolsas de plástico con cierre zip desechables.
- Bandejas de pesado de plástico desechables.
- Morteros de porcelana.
- Vasos de precipitado.
- Matraces de fondo redondo de 500 y 250 ml.
- Tubos de polipropileno (desechables) y de vidrio 15 ml.
- Pipetas Pasteur de vidrio.
- Filtros de nylon (0.20 μm).
- Columnas desechables (Power-Prep) de sílice, albúmina y carbón.
- Viales de cromatografía de 2 ml con tapón roscado.



Figura 32. Rotavapor



Figura 33. Sistema de extracción Shoxlet



Figura 34. Sistema Power-Prep

Todo el material empleado que entró en contacto con las muestras fue sometido a un exhaustivo proceso de **limpieza**, para el que se emplearon hexano y acetona. Posteriormente se procedió a su secado en estufa. El material no desechable fue además lavado previamente con agua y jabón.

2.5 Análisis estadístico

El conjunto de muestras analizadas fueron agrupadas en función del tipo de muestra, especie, localización y edad, en su caso, para el tratamiento estadístico de los resultados. Para dicho tratamiento estadístico se emplearon los programas Microsoft Excel 2007 y SPSS 15.0. Un valor de p inferior a 0.05 se consideró indicativo de significación estadística. Los test aplicados en cada caso se explican de manera detallada en los capítulos correspondientes (tercero, cuarto, quinto y sexto).

CAPÍTULO 3

3 CONCENTRACIÓN DE ELEMENTOS TRAZA EN PLUMAS DE TRES ESPECIES DE PINGÜINOS ANTÁRTICOS. DIFERENCIAS GEOGRÁFICAS E INTERESPECÍFICAS

Como hemos visto en el capítulo primero (apartado 1.3), los pingüinos antárticos han sido señalados como potenciales indicadores biológicos para la monitorización de contaminantes ambientales en los ecosistemas costeros de la región, debido fundamentalmente a que ocupan nichos ecológicos permanentes y representan una parte muy importante de la avifauna de la zona en términos de biomasa. Además sus plumas son excelentes herramientas para tal fin por ser muestras abundantes y de fácil recolección en comparación con otros tejidos y por recolectarse a través de métodos no invasivos. La muda anual del plumaje permite así mismo definir con precisión la cantidad de cada contaminante acumulada cada año. Como también veíamos en el capítulo primero (apartado 1.3), el uso de la pluma resulta especialmente apropiado para el estudio de metales y elementos traza, ya que éstos presentan una elevada afinidad por los grupos sulfhidrilo presentes en las proteínas estructurales de las plumas.

En este capítulo se estudia la concentración de doce elementos traza de relevancia toxicológica (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Hg y Pb) en plumas de pingüinos papúa (*Pygoscelis papua*), barbijo (*P. antarctica*) y de Adelia (*P. adeliae*) procedentes de siete localizaciones distintas a lo largo de la península Antártica (ver apartado 2.2, tabla 1 y Fig. 20). Se persigue así ampliar la escasa y fragmentada información disponible en este ámbito a través de un estudio de amplitud geográfica sin precedentes en la zona, según la literatura especializada consultada.

El tratamiento estadístico aplicado a los resultados obtenidos en este capítulo fue el siguiente: el test one-way ANOVA y su análogo no paramétrico (Kruskal-Wallis), con sus correspondientes pruebas post-hoc (pruebas post hoc de Bonferroni y “least significant difference between mean ranks”, respectivamente), fueron usados para identificar diferencias en los niveles de elementos traza entre las poblaciones estudiadas. Estos mismos test, junto con la prueba T de Student y su análoga no paramétrica (U de Mann-Whitney), fueron usados para identificar diferencias entre especies en las zonas donde cohabitan 2 o más de ellas: isla Rey Jorge, donde están presentes las tres especies estudiadas, e islas Livingston y Ronge, donde cohabitan pingüinos papúa y barbijo. Se

calcularon así mismo el coeficiente de correlación de Pearson y su análogo no paramétrico (coeficiente de correlación de Spearman) para estudiar la existencia de correlaciones descritas previamente en aves marinas de las regiones polares (Norheim, 1987), entre los siguientes elementos: Zn-Cd, Se-Cd, Zn/Se-Cd, Zn-Hg, Se-Hg y Zn/Se-Hg. Para el análisis de los datos, los valores que se encontraron por debajo de los límites de detección fueron calculados a partir de los valores normales esperados (expected normal scores) cuando más del 50% de todas las muestras dentro de cada conjunto de datos mostraron niveles detectables, de acuerdo con Smith et al. (2007). Cuando no se cumplió esta última premisa, el valor del límite de detección fue asignado a las muestras que no mostraron niveles detectables de contaminantes.

Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar sobre peso seco (dry weight, d.w.). Los valores publicados por otros autores sobre peso húmedo han sido convertidos a peso seco para facilitar su comparación, para lo cual se ha usado el contenido medio de humedad (11.12%) correspondiente a las plumas de pingüino analizadas en el presente estudio.

3.1 Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd and Pb in feathers of Antarctic penguins

3.1.1 Results

Concentrations of Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd and Pb in feathers of gentoo, chinstrap and Adélie penguins are shown in table 22.

Geographical differences

Feathers of *P. papua*, *P. antarctica* and *P. adeliae* showed significant differences among the different locations for several trace elements (table 23).

With respect to Al and Mn, *P. papua* feathers showed that the levels in Stranger Point (King George Island) were significantly higher than in George Point (Ronge Island). Levels of Ni, Zn and Se in feathers of this species were significantly higher in Stranger Point in comparison to Paradise Bay, whereas there was significantly more Pb

in Stranger Point than in Hannah (Livingston Island) and George Point. Levels of Cr, Fe, Cu, As and Cd in *P. papua* feathers did not show significant differences among the studied locations.

P. antarctica feathers showed the highest levels of Al and Fe in Vapour Col (Deception Island), which were significantly higher than in Hannah and George Point. Al levels were also significantly higher in Barton Point (King George Island) than in George Point, whereas Fe levels were significantly higher in Barton Point than in Hannah and George Point. *P. antarctica* feathers showed that Mn levels were higher in Vapour Col than in George and Hanna Point, and Cr levels were higher in Barton and George Point than in Hannah Point. In the case of Ni, Zn and Se, the highest levels in feathers of this species were found in George Point, which were significantly higher than in Hannah Point, than in Barton and Hannah Point and than in Vapour Col, respectively. *P. antarctica* feathers also showed that the levels of Cd were significantly higher in Vapour Col and George Point than in Hannah Point, whereas the levels of Pb were significantly higher in Barton Point than in Vapour Col, Hannah and George Point. Levels of As and Cu in feathers of *P. antarctica* were similar in all the studied locations.

P. adeliae feathers showed that Al and Fe levels were significantly higher in Stranger Point than in Yalour and Avian Island, and Cr and Pb levels were higher in Stranger Point than in Avian Island. On the contrary, Ni and Zn levels in *P. adeliae* feathers were significantly higher in Yalour Island in comparison to Stranger Point, and Zn levels were also higher in Avian Island in comparison to Stranger Point. Levels of Mn, Cu, As, Se and Cd in feathers of *P. adeliae* did not show significant differences among the studied locations.

Inter-specific differences

In King George Island, feathers of *P. papua*, *P. antarctica* and *P. adeliae* showed significant differences for several trace elements. The highest levels of Al, Cr, Fe, Ni, Cu and Pb were detected in feathers of *P. antarctica*, whereas feathers of *P. papua* and *P. adeliae* showed the highest levels of Zn and Se, respectively (table 24).

In Livingston Island, feathers of *P. papua* and *P. antarctica* only showed significant differences for Se (table 24). The highest Se levels were found in feathers of *P. antarctica*.

In Ronge Island, feathers of *P. antarctica* showed significantly higher levels of Cr, Ni, Cu, Zn, Se and Cd in comparison to feathers of *P. papua* (table 24).

Correlations between elements

Several significant positive correlations were observed between Zn and Cd, Se and Cd, and Zn/Se and Cd levels in penguin feathers (table 25).

3.1.2 Discussion

Several researches have suggested a natural enrichment of Cd in polar food chains (Bustamante et al., 2003; Sanchez-Hernandez, 2000), which could be favored by different factors in Antarctica, for example, upwelling of Cd-rich waters, algal bloom (Bargagli, 1996) or local volcanism (Deheyn et al., 2005). In fact, Cd accumulation in Antarctic biota is well-documented and indicates its high bioavailability in the marine environment (Grotti et al., 2008). Several studies have detected relatively high Cd levels in different samples of Antarctic organisms such as plankton, marine benthic invertebrates (Ahn et al., 1996; Bargagli, 1996; Dalla Riva et al., 2004; Lohan et al., 2001; Mauri et al., 1990; Minganti et al., 1998; Negri et al., 2006; Nigro et al., 1997; Petri & Zauke, 1993) and different vertebrates, including fishes, seabirds and marine mammals (De Moreno et al., 1997; Grotti et al., 2008; Nygard et al., 2001; Szefer et al., 1993a, 1994). Different samples of pygoscelid penguins (liver, kidney, pancreas, excreta or stomach content) have also shown relatively high Cd levels (2.80-236.22 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) (Ancora et al., 2002; De Moreno et al., 1997; Honda et al., 1986; Szefer et al., 1993a). As krill-eating species, these penguin tissues reflect the naturally high Cd concentration found in the Antarctic krill (Barbante et al., 2000; Nygard et al., 2001; Petri & Zauke, 1993). However, Cd levels detected in penguin feathers in this study were relatively low compared to other penguin tissues, and were in agreement with relatively low Cd levels measured by Ancora et al. (2002), Honda et al. (1986) and Metcheva et al. (2006) in penguin feathers from different Antarctic areas (range from undetectable levels to 0.30 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). Similar Cd levels have been measured in

seabird feathers from other regions of the world (0.01-0.40 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) (Burger, et al., 2008; Liu et al., 2006; Lucia et al., 2010; Ribero et al., 2009). These results suggest that feathers do not reflect the actual level of Cd exposure in penguins since feathers represent a minor site of Cd accumulation (Lucia et al., 2010). More research on alternative tissues such as liver or kidney is needed to evaluate a likely Cd bioaccumulation and its effects in these Antarctic penguins (see chapters 4 and 5).

The average levels of Pb detected in penguin feathers in the present study were higher than those found for Cd, and the ratio Pb/Cd in gentoo, chinstrap and Adélie penguins was 10.67, 8.75 and 6.75, respectively. These results are similar to those reported by Ancora et al. (2002) and Metcheva et al. (2006) in penguin feathers. Pb is known as a calcium-formations-seeking element (Lucky & Venugopal, 1977; O'Flaherty, 1998) and, unlike Cd, shows great accumulation in bird feathers. This non-essential element (Smichowski et al., 2006) is not metabolically regulated (Gochfeld et al., 1996) and is one of the most suitable metals for monitoring of anthropogenic pollution (Metcheva et al., 2006). Our results showed the highest Pb concentrations in feathers from King George Island for the three studied species, being comparable with Pb levels measured in feathers of other seabirds from Alaska (0.71-1.42 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) (Burger et al., 2008). Different human activities are known as Pb sources, for example fuel combustion, waste incineration, sewage disposal, paint or accidental oil spills (Bargagli, 2008; dos Santos et al., 2005). In our study, high Pb levels in King George Island seem to be related to the great concentration of human activities in this location, where most Antarctic scientific bases in the region are concentrated, including a small airport, and where there is heavy traffic of vessels, planes, and helicopters to transport tourists, scientists and support personnel (Tin et al., 2009).

Feathers of Adélie penguins, which have been collected along a wide geographic area of study (from 62°15'S 58°37'W to 67°46'S 68°64'W, see Fig. 20), showed a decrease of Pb abundance along the latitudinal gradient of the Antarctic Peninsula (table 22). This decrease can be related to the decrease of human presence and activities from North to South. Feathers of gentoo and chinstrap penguins also showed the highest Pb concentration in the most northern location, King George Island, although a decrease of Pb abundance along the latitudinal gradient from North to South was not clearly observed due to some exceptions (table 22): on one hand, relatively high Pb levels were found in feathers of gentoo penguins from Paradise Bay (see Fig. 20) which can be

related to the location of research bases just beside the studied penguin rookery; on the other hand and as we expected, feathers of chinstrap penguins showed higher Pb levels in Deception Island in comparison to other locations further North, such as Livingston Island (see Fig. 20), since in Deception Island there has been a greater human presence from the beginning of the last century until now, and it is one of the most visited areas by tourist cruises nowadays. All these activities can contribute to increase Pb levels in these southern latitudes.

With respect to the rest of evaluated elements, we observe that the most of them decrease along the latitudinal gradient from North to South, with the exception of levels detected in Deception Island (table 22). However, in some cases the differences among the studied locations were not statistically significant (table 23).

Considering all the sampling sites together, the following relations were observed (in descending order):

Zn > Fe > Al > Cu > Se > Cr > Mn > Ni > Pb > As > Cd for *P. papua* and *P. adelia*.

Al > Fe > Zn > Cu > Se > Cr > Mn > Ni > Pb > Cd > As for *P. antarctica*.

These relations are similar to those reported by Honda et al. (1986) in Adélie penguins from Rumpa Island and by Metcheva et al. (2006) in gentoo penguins from Livingston Island. It is important to point out that, unlike other vertebrates, feathers of penguins showed Zn levels higher than Fe levels in almost all sampling sites (table 22). These high Zn levels can be related to an adaptive reaction of these Antarctic birds to elevated Cd and Hg levels (Metcheva et al, 2006), since increases of Zn levels are known to reduce the toxic effect of these toxic metals (Norheim, 1987; Underwood et al., 1977). In agreement with that we observed a significant positive correlation between Zn and Cd levels in feathers of chinstrap penguin (table 25) as well as between Zn and Hg (see section 3.2.1 and table 26). On the contrary, we found a different proportion Fe-Zn in feathers of chinstrap and Adélie penguins from King George and Deception Island, where Fe levels were higher than Zn levels (table 22). In Deception Island, these high Fe levels (and also high Al levels) could be due to the volcanic character of the Island, where geochemical analyses showed that Fe and Al are dominant elements in seafloor sediments (Almendros et al., 1997; Rey et al., 1995) and are available for the organisms (Deheyn et al., 2005). In King George Island, high levels of Fe and Al are

present in sediments and soils too, which might be related to the abundance of pyrite/chalcopyrite in the volcanic rocks of the area (Deheyn et al., 2005; dos Santos et al., 2005).

We found the highest concentration of Mn in feathers of chinstrap penguins from Deception Island, with levels 4.18 times higher than those reported by Honda et al. (1986) in feathers of penguins near Syowa Station (Northeast of Antarctica). As in the case of Al and Fe, the abundance of Mn in seafloor sediment from Deception Island (Deheyn et al., 2005) would explain these results. If we compare Mn levels in penguin feathers with Mn levels measured in other regions, we observe that Mn range measured in the present study is similar to levels detected in feathers of other seabirds from the Northern Hemisphere ($0.75\text{-}2.84 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) (Burger et al., 2008; Ribeiro et al., 2009). This comparison between metal levels in penguin feathers and metal levels in feathers of seabirds from other regions of the world can be indicative of the degree of pollution present in Antarctica. But it is important to point out that this comparison and the following ones can also be influenced by differences in diet composition of each species.

The highest Cr concentrations were detected in King George Island and Deception Island (see table 22), which could be related to the major human presence and contaminant activities in these locations. In fact, Cr is associated with oil contamination (Alam & Sadiq, 1993; Caccia et al., 2003) and our results were similar or even higher (1.06-5.25 times) than those found in seabirds from the Northern Hemisphere (Burger et al., 2008; Ribeiro et al., 2009). Our results contrast with those of Szefer et al. (1993a) which found Cr levels below detection limits in soft tissues of *Pygoscelis penguins*, or those of Curtosi et al. (2010) which found undetectable Cr levels in different marine organisms near Stranger Point (King George Island); penguin feather appears to be a more useful sample for monitoring Cr levels in this region.

Currently, the information about Ni concentration in feathers of seabirds is very scarce. Honda et al. (1986) reported similar Ni levels in feathers of Adélie penguins ($0.44 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) near Syowa Station (Northeast of Antarctica) two decades ago to the ones we found in this study. Other penguin tissues analysed by different authors in this region showed levels below detection limits (Honda et al., 1986; Szefer et al., 1993a), therefore feathers seem to be a better sample for Ni biomonitoring. Lucia et al. (2010)

reported Ni levels in feathers of several seabirds from French coast to be similar to or higher than our results (0.90-14.10 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). More research is needed for a better comprehension of the Ni presence in penguins.

Our results on Cu concentrations were similar to those found two decades ago in feathers of Adélie penguins from the Northeast of Antarctica (14.49 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., Honda et al., 1986). Our results were also similar to Cu levels found in feathers of gentoo and chinstrap penguin from Livingston Island (16.00-19.00 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., Metcheva et al., 2006) or in liver of chick individuals of Adélie penguin from King George Island (18.00 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., Smichowski et al., 2006). However, the same chick individuals of Adélie penguin showed Cu levels in kidney and muscle lower than our results (1.60-6.40 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., Smichowski et al., 2006), since Cu is mainly retained in penguin feathers and liver. With respect to other regions of the world, our results were comparable to Cu levels found in feathers of seabirds from the French coast (19.10-35.70 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., Lucia et al., 2010). Besides, we found higher Cu concentrations in feathers of penguins than other authors have found in feathers of seabird species from China and Portugal (1.65-3.97 times higher) (Liu et al., 2006; Ribeiro et al., 2009). The higher Cu levels in penguins could be related to the high Cu levels present in Antarctic krill (Nygard et al., 2001). In spite of this, seabird feathers seem to be reflecting variations in Cu levels in the different regions. Although Cu is an essential element and it is important for the formation of feathers (Nygard et al., 2001), human activities such as oil spills, sewage, or solid waste among others could contribute to increase Cu levels in coastal marine birds (Eiser, 1981). In this way penguin feathers could be a reliable indicator of a possible Cu increase in Antarctic environments.

We found As levels 2.80-250.00 times lower than those measured in seabird feathers from other regions of the world (Burger et al., 2008; Lucia et al., 2010; Ribeiro et al., 2009). Smichowski et al. (2006) detected As concentrations one order of magnitude higher than our results in soft tissues of Adélie penguin chicks in Stranger Point. Volcanic activity constitutes an important natural input of elements such as As, but we found lower As levels than expected in volcanic areas. These results seem to point out that feathers do not reflect the actual exposure of penguins to As.

Se levels in our samples were similar to those detected by Metcheva et al. (2006) in feathers of gentoo penguin (1.80-2.00 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.), but higher than those detected by

the same study in feathers of chinstrap penguin ($<0.80 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). A major exposure to Cd and Hg could explain the increase in Se levels, as is the case of Zn, since Se is also known to have a detoxifying effect on these metals (e.g. Smichowski et al., 2006). In agreement with this idea and with data reported by Norheim (1987), who observed significant correlations between Se/Zn and Hg/Cd levels in seabirds from the Arctic and the Antarctic, we found significant positive correlations between Se and Cd levels (table 25), as well as between Se and Hg (see section 3.2.1 and table 26), in feathers of *Pygoscelis* penguins. Besides, our results were similar to Se levels recently detected in different seabirds from the Northern Hemisphere ($0.40\text{--}8.70 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) (Burger et al., 2008; Lucia et al., 2010; Ribeiro et al., 2009).

Finally, we observe inter-specific differences in the presence of trace elements in penguin feathers (see table 24), which could be due to ecological or physiological differences among the species. We found that most of the elements showed the highest levels in feathers of chinstrap penguin in comparison to the other studied species from King George Island (Al, Cr, Fe, Ni, Cu and Pb), Livingston Island (Se) and Ronge Island (Cr, Ni, Cu, Zn, Se and Cd). Ecological differences in penguin species living in the same place are usually expressed in terms of diet. In the case of the chinstrap penguin, the diet consists almost exclusively of Antarctic krill (Williams 1995). Gentoo penguin diet consists of about 60–85% krill and different crustaceans, but they also prey upon fish and cephalopods (Williams 1995). However, in Stranger Point (King George Island) krill was predominant in the summer diet for both gentoo (Carlini et al., 2009) and Adélie penguins (Volkman et al. 1980). Also inter-annual changes in the penguin diet can exist (Ropert-Coudert et al., 2002). But the three species of penguins have a similar diet and probably the small differences in diet are not enough to explain the differences found in the concentration of metals in their feathers. The incorporation of metals in the feathers occurs during moulting and, thus, the presence of metals should reflect the diet during the pre-moulting period. Unfortunately, as far as we know, there is no information about diet during this particular period in any of the three species. Therefore, we cannot exclude diet as the responsible of interspecies differences in metal concentrations. Alternatively, differences in metal levels could be due to intrinsic differences in the absorption-elimination rate among the three species. This possibility remains to be tested.

In conclusion, our results are not completely in agreement with the idea of an uncontaminated Antarctic ecosystem compared with other regions of the world. Levels of Cr, Mn, Cu, Se or Pb in penguin feathers from several studied areas, such as King George or Deception Islands, are similar or even higher than levels of these elements detected in feathers of other seabirds from the Northern Hemisphere. Even though these results can be related to natural phenomena (e.g. local volcanism) they can also be related to anthropogenic pollution. Penguin feathers are especially useful for monitoring Pb and Cr levels, since these metals are directly connected with several human contaminant activities. Penguin feathers showed that these elements are more abundant in areas with major human presence such as King George and Deception Islands. Feathers are also useful for monitoring other elements such as Ni and Cu, which previously showed lower or non-detectable levels in other penguin tissues. However, other biological samples should be analyzed to evaluate penguin exposure to As or Cd, since these elements tend to accumulate in soft tissues. Probably, penguins in this region are exposed to greater Cd levels than we detected in feathers and these high levels can be causing increases of Se and Zn levels.

So different activities carried out locally may contribute to increase metal levels in the Antarctic environment. Most of the studied elements in our penguin samples showed the highest levels in locations with major human activities, thus, supporting the anthropogenic influence as responsible, at least partially, for the concentration of metals. Therefore, the increase of contaminant human activities such as plane and ship trips related to the tourism industry in the northern area of the Antarctic Peninsula (6704 tourists and 59 voyages in 1992-1993, and 36875 tourists and 239 voyages in 2009-2010, IAATO, 2010) could have a significant effect on the accumulation of metals in Antarctic biota. In addition to local pollution, elements such as Cr, Ni, Cu, Zn or Pb can be transported to Antarctica from other continents in the Southern Hemisphere (Bargagli, 2008). Therefore, population growth and industrial development in those continents and global change can increase the impact of persistent contaminant in Antarctica.

Feathers of Antarctic penguins, together with other penguin tissues, are useful for long-term monitoring of trace elements in Antarctic marine environment and for a better understanding of spatio-temporal trends.

Table 22. Concentrations of trace elements (average \pm SD in $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; n: number of detectable levels) in feathers of adult penguins from different locations.

| Species | Al | | Cr | | Mn | | Fe | | Ni | | Cu | | Zn | |
|------------------------------|---------------------|--------|-----------------|--------|-----------------|--------|---------------------|--------|-----------------|--------|------------------|--------|-------------------|--------|
| <i>Pygoscelis papua</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| King George Island | 39.76 \pm 24.74 | (n=20) | 1.87 \pm 1.56 | (n=20) | 1.80 \pm 1.28 | (n=20) | 77.60 \pm 134.55 | (n=20) | 0.57 \pm 0.35 | (n=20) | 16.44 \pm 3.16 | (n=20) | 85.12 \pm 14.84 | (n=20) |
| Livingston Island | 40.17 \pm 42.37 | (n=14) | 2.71 \pm 3.13 | (n=14) | 1.17 \pm 1.05 | (n=14) | 35.13 \pm 37.91 | (n=14) | 0.49 \pm 0.37 | (n=14) | 13.88 \pm 2.89 | (n=14) | 75.41 \pm 15.85 | (n=14) |
| Rongel Island | 22.92 \pm 27.87 | (n=17) | 1.71 \pm 1.17 | (n=17) | 0.46 \pm 0.58 | (n=17) | 69.45 \pm 109.94 | (n=17) | 0.42 \pm 0.27 | (n=17) | 16.02 \pm 2.09 | (n=17) | 72.89 \pm 7.46 | (n=17) |
| Paradise Bay | 17.19 \pm 11.90 | (n=8) | 1.15 \pm 0.89 | (n=8) | 0.68 \pm 0.66 | (n=4) | 39.09 \pm 24.33 | (n=8) | 0.24 \pm 0.08 | (n=8) | 13.42 \pm 5.09 | (n=8) | 61.71 \pm 18.01 | (n=8) |
| <i>Pygoscelis antarctica</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| King George Island | 132.38 \pm 198.09 | (n=25) | 8.08 \pm 9.10 | (n=25) | 1.66 \pm 0.98 | (n=6) | 126.28 \pm 103.63 | (n=25) | 0.97 \pm 1.00 | (n=25) | 20.29 \pm 8.30 | (n=25) | 77.12 \pm 45.15 | (n=25) |
| Livingston Island | 26.07 \pm 9.97 | (n=10) | 1.15 \pm 1.08 | (n=10) | 0.92 \pm 0.59 | (n=10) | 32.06 \pm 13.80 | (n=10) | 0.52 \pm 0.48 | (n=10) | 14.93 \pm 6.10 | (n=10) | 72.21 \pm 28.96 | (n=10) |
| Deception Island | 203.13 \pm 194.65 | (n=25) | 3.73 \pm 4.19 | (n=25) | 3.26 \pm 2.68 | (n=25) | 164.26 \pm 149.75 | (n=25) | 0.91 \pm 0.90 | (n=25) | 16.39 \pm 3.44 | (n=25) | 82.40 \pm 15.64 | (n=25) |
| Rongel Island | 14.26 \pm 9.72 | (n=20) | 2.81 \pm 1.28 | (n=20) | 0.29 \pm 0.39 | (n=3) | 22.47 \pm 11.63 | (n=20) | 1.18 \pm 1.10 | (n=20) | 19.23 \pm 3.65 | (n=20) | 97.27 \pm 21.35 | (n=20) |
| <i>Pygoscelis adeliae</i> | | | | | | | | | | | | | | |
| King George Island | 43.36 \pm 69.03 | (n=25) | 6.37 \pm 5.60 | (n=25) | 1.30 \pm 1.16 | (n=3) | 59.74 \pm 45.26 | (n=25) | 0.55 \pm 0.55 | (n=25) | 12.68 \pm 7.09 | (n=25) | 50.84 \pm 17.38 | (n=25) |
| Yalour Island | 8.62 \pm 6.41 | (n=21) | 2.88 \pm 1.95 | (n=21) | 1.16 \pm 1.26 | (n=3) | 23.37 \pm 11.25 | (n=21) | 0.90 \pm 0.48 | (n=21) | 13.41 \pm 2.60 | (n=21) | 82.45 \pm 13.10 | (n=21) |
| Avian Island | 5.08 \pm 3.03 | (n=22) | 1.68 \pm 0.78 | (n=22) | 0.34 \pm 0.49 | (n=5) | 27.98 \pm 41.20 | (n=22) | 0.68 \pm 0.25 | (n=22) | 13.16 \pm 3.04 | (n=22) | 77.69 \pm 15.17 | (n=22) |

Table 22 (continued)

| As | | Se | | Cd | | Pb | |
|---------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|
| 0.05 ± 0.04 | (n=20) | 2.46 ± 0.70 | (n=20) | 0.03 ± 0.03 | (n=7) | 0.51 ± 0.46 | (n=20) |
| 0.02 ± 0.02 | (n=3) | 2.25 ± 0.59 | (n=14) | 0.02 ± 0.01 | (n=14) | 0.17 ± 0.23 | (n=14) |
| 0.04 ± 0.02 | (n=8) | 2.15 ± 0.80 | (n=17) | 0.03 ± 0.01 | (n=8) | 0.25 ± 0.44 | (n=17) |
| 0.07 | (n=1) | 1.51 ± 0.65 | (n=8) | 0.03 ± 0.04 | (n=2) | 0.31 ± 0.09 | (n=8) |
| 0.10 | (n=1) | 4.44 ± 1.71 | (n=25) | BDL | (n=0) | 1.76 ± 1.74 | (n=25) |
| 0.01 ± 0.0001 | (n=2) | 5.01 ± 2.26 | (n=10) | 0.04 ± 0.03 | (n=10) | 0.15 ± 0.12 | (n=10) |
| 0.10 ± 0.10 | (n=8) | 4.58 ± 2.27 | (n=25) | 0.08 ± 0.04 | (n=25) | 0.32 ± 0.22 | (n=25) |
| 0.05 ± 0.03 | (n=7) | 6.77 ± 3.23 | (n=20) | 0.10 ± 0.05 | (n=20) | 0.14 ± 0.09 | (n=20) |
| BDL | (n=0) | 6.37 ± 2.52 | (n=25) | BDL | (n=0) | 0.64 ± 1.09 | (n=5) |
| 0.07 ± 0.04 | (n=21) | 6.00 ± 2.30 | (n=21) | 0.04 ± 0.05 | (n=6) | 0.32 ± 0.36 | (n=21) |
| 0.07 ± 0.03 | (n=3) | 6.06 ± 3.05 | (n=22) | 0.04 ± 0.02 | (n=22) | 0.14 ± 0.21 | (n=22) |

BDL = below detection limit

Table 23. Significant differences in metal and trace element concentrations between the studied locations.

| <i>Pygoscelis papua</i> | King George I. | Livingston I. | Ronge I. | Paradise Bay |
|------------------------------|----------------|--|--|--|
| King George I. | | Pb ^a ($H_{3,55} = 15.48$) | Al ^a ($F_{3,55} = 3.74$) Mn ^a ($H_{3,51} = 16.58$) Pb ^a ($H_{3,55} = 15.48$) | Ni ^a ($H_{3,55} = 9.53$) Zn ^b ($F_{3,55} = 5.99$) Se ^a ($F_{3,55} = 3.57$) |
| Livingston I. | | | | |
| Ronge I. | | | | |
| Paradise Bay | | | | |
| <i>Pygoscelis antarctica</i> | King George I. | Livingston I. | Deception I. | Ronge I. |
| King George I. | | Cr ^a ($H_{3,76} = 21.28$) Fe ^c ($F_{3,76} = 30.14$) Pb ^a ($H_{3,76} = 38.49$) | Pb ^a ($H_{3,76} = 38.49$) | Al ^a ($H_{3,76} = 43.30$) Fe ^c ($F_{3,76} = 30.14$) Zn ^a ($H_{3,76} = 20.13$) Pb ^a ($H_{3,76} = 38.49$) |
| Livingston I. | | | Al ^a ($H_{3,76} = 43.30$) Mn ^c ($F_{3,40} = 10.17$) Fe ^c ($F_{3,76} = 30.14$) Cd ^a ($H_{2,52} = 11.66$) | Cr ^a ($H_{3,76} = 21.28$) Ni ^a ($H_{3,76} = 8.45$) Zn ^a ($H_{3,76} = 20.13$) Cd ^a ($H_{2,52} = 11.66$) |
| Deception I. | | | | Al ^a ($H_{3,76} = 43.30$) Mn ^b ($F_{3,40} = 10.17$) Fe ^c ($F_{3,76} = 30.14$) Se ^a ($F_{3,76} = 3.14$) |
| Ronge I. | | | | |
| <i>Pygoscelis adeliae</i> | King George I. | Yalour I. | Avian I. | |
| King George I. | | Al ^a ($H_{2,65} = 29.06$) Fe ^a ($F_{2,65} = 8.90$) Ni ^b ($F_{2,65} = 4.95$) Zn ^c ($F_{2,65} = 28.69$) | Al ^a ($H_{2,65} = 29.06$) Cr ^a ($H_{2,65} = 10.03$) Fe ^c ($F_{2,65} = 8.90$) Zn ^c ($F_{2,65} = 28.69$) | |
| Yalour I. | | | Pb ^a ($H_{2,45} = 7.64$) | |
| Avian I. | | | | |

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.0001$

Table 24. Significant differences in metal and trace element concentrations between species from the same location.

| King George I. | <i>P. papua</i> | <i>P. antarctica</i> | <i>P. adeliae</i> |
|-----------------------|-----------------|---|--|
| <i>P. papua</i> | | Cr ^a ($H_{2,67} = 15.87$) Fe ^a ($F_{2,67} = 5.00$) Zn ^a ($H_{2,67} = 32.08$) Se ^c ($F_{2,67} = 22.26$) Pb ^a ($H_{2,47} = 10.40$) | Cr ^a ($H_{2,67} = 15.87$) Zn ^a ($H_{2,67} = 32.08$) Se ^c ($F_{2,67} = 22.26$) |
| <i>P. antarctica</i> | | | Al ^b ($F_{2,67} = 5.08$) Fe ^a ($F_{2,67} = 5.00$) Ni ^a ($H_{2,67} = 8.44$) Cu ^b ($F_{2,67} = 7.94$) Zn ^a ($H_{2,67} = 32.08$) Se ^a ($F_{2,67} = 22.26$) |
| <i>P. adeliae</i> | | | |
| Livingston I. | <i>P. papua</i> | <i>P. antarctica</i> | |
| <i>P. papua</i> | | Se ^b ($t = 3.42$) | |
| <i>P. antarctica</i> | | | |
| Rongé I. | <i>P. papua</i> | <i>P. antarctica</i> | |
| <i>P. papua</i> | | Cr ^a ($t = 2.70$) Ni ^c ($U = 40.00$) Cu ^b ($t = 3.34$) Zn ^c ($t = 4.78$) Se ^c ($U = 14.00$) Cd ^b ($U = 20.00$) | |
| <i>P. antarctica</i> | | | |

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.0001$

Table 25. Significant correlations between Cd, Zn and Se levels in penguin feathers.

| <i>Pygoscelis papua</i> | | |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Cd - Zn | Cd - Se | Cd - Zn/Se |
| - | Pearson $r = 0.40^a$ | - |
| <i>Pygoscelis antarctica</i> | | |
| Cd - Zn | Cd - Se | Cd - Zn/Se |
| Spearman $\rho = 0.43^b$ | Spearman $\rho = 0.33^a$ | Spearman $\rho = 0.44^b$ |
| <i>Pygoscelis adeliae</i> | | |
| Cd - Zn | Cd - Se | Cd - Zn/Se |
| - | Spearman $\rho = 0.43^a$ | - |

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.0001$

3.2 Hg in feathers of Antarctic penguins

3.2.1 Results

Concentrations of Hg in feathers of *P. papua*, *P. antarctica* and *P. adeliae* are shown in Fig. 35, 36 and 37, respectively. We found detectable Hg levels in all the samples of feathers of *P. papua* and *P. adeliae* and in the 82% of samples of *P. antarctica*.

Geographical differences

Differences among Hg concentrations in the different sampling sites were studied for each species and these results are shown in Fig. 35, 36 and 37.

Inter-specific differences

As we can observe in Fig. 38, feathers of *P. antarctica* showed the highest Hg levels in locations where this species cohabits with the others.

Correlations between elements

Several significant positive correlations were observed between Zn and Hg, Se and Hg, and Zn/Se and Hg levels in penguin feathers (table 26).

3.2.2 Discussion

As we saw at the beginning of this chapter, feathers present several advantages for metal monitoring. In the case of Hg, feathers present an extra advantage since these samples accumulate mainly the most toxic and persistent Hg form, methyl mercury (percentages higher than 80% in aquatic bird feathers; Bond & Diamond, 2009). So, Hg levels detected in this study were actually methyl mercury to a large extent.

Regarding geographical differences, feathers of chinstrap penguin showed the highest Hg levels in samples from King George Island, and levels showed an important decrease as we go to the South (Fig. 36). The major proximity of King George Island to South America and therefore anthropogenic sources of Hg as well as the concentration

of local activities in this location can explain these results. This trend was also observed in samples of Adélie penguin, the highest levels were found in King George Island although only residual differences were observed respect the other sampling sites (Fig. 37). On the contrary, feathers of gentoo penguin did not show this trend and geographical differences were not found for this species (Fig. 35).

When we studied inter-specific differences, we found that chinstrap penguin showed the highest Hg levels in all the locations where two or three species share rookery (Fig. 38). These results can be related to ecological or physiological differences among species such as different capacities for detoxification and elimination of Hg or different absorption-elimination rates. These differences can also be due to variations in penguins' diet although it is difficult to prove because there is no a clear information about diet of these species during the pre-molting period, when metals are incorporated to feathers. It is important to highlight that the same results were found for other metals such as Al, Cr, Fe, Ni, Cu, Pb, Se, Zn and Cd (see section 3.1.1). Therefore, the diet of chinstrap penguin and a probable specific adaptive capacity for elimination of toxic metals through feathers could be the responsible of these differences. These options should be tested in future studies.

Like in the case of Cd, we observed positive relations between Se and Hg and Zn and Hg in feathers of Antarctic penguins (table 26). These results support the hypothesis that these elements act as an antidote to the toxic effects of high Hg concentrations (e.g. Dietz et al., 2000; Kim et al., 1996; Koeman et al., 1973; Norheim, 1987) and that it is possible to observe these relations in easily accessible feather samples and not only in internal organs such as liver or kidney. This find also confirms the exposure to high Hg and Cd levels in penguins from the study area, since these relations tend to disappear at low exposure levels (Bargagli, 2005a).

Hg concentrations in feather of penguins in this study were 4-6 orders of magnitude higher than those found in inorganic samples such as snow from different Antarctic areas (e.g. 0.10-67.00 pg g^{-1} ; Brooks et al., 2008; Sheppard et al., 1991; Vandal et al., 1993). Besides, Hg levels in our samples were 1-3 orders of magnitude higher than those found in Antarctic krill or fish ($<0.10\text{-}34.60 \text{ ng g}^{-1}$; Bargagli, 2005a; dos Santos et al., 2006). These results confirm the existence of bioaccumulation and magnification of Hg in Antarctic top predators, although levels detected in this study are

lower than those considered as toxic for seabirds (around 15000 ng g⁻¹) (Burger et al., 2009).

Regarding Hg levels found in feathers of other seabirds from different regions, we observe that feathers of chinstrap penguin from King George Island showed high levels similar to those found in Arctic seabirds (average levels between 891.00 and 4855.00 ng g⁻¹; Bond & Diamond, 2008, 2009; Burger et al., 2008, 2009). Chinstrap penguin's feathers even showed individual levels extremely high (maximum level of 12529.83 ng g⁻¹) although we observed great inter-individual differences. The other species of penguins, gentoo and Adélie, also showed high individual levels but average levels were lower than those found in chinstrap penguin and similar to those found in other oceans and seas such as Atlantic Ocean, Indian Ocean and Mediterranean Sea (BDL-1911 ng g⁻¹; e.g. Frias et al., 2012; Goutner et al., 2011; Kojadinovic et al., 2007).

High Hg levels found in penguin feathers confirm the idea that, during spring and summer, coastal Antarctic ecosystems can be affected by similar or higher Hg deposition rates than many other regions in the world. Although this phenomenon has been studied in the Arctic in a greater extent, some studies have also confirmed the existence of mercury depletion events in Antarctica (e.g. Ebinghaus & Kock, 2002; Pfaffhuber et al., 2011) as well as methyl mercury bioaccumulation and magnification in the Antarctic food webs (e.g. Bargagli et al., 1998, 2005b). Concentrations of reactive gaseous mercury as high as those found in some industrial environments have been detected in Antarctica during the period following polar sunrise (Bargagli, 2005a). However, re-emission is probably lower during the dark and cold Antarctic winter since it depends especially on temperature and microbial activity. It has been estimated that only 10-20 % of deposited mercury is re-emitted (Bargagli, 2005a). For this reason Antarctic organisms are especially susceptible to Hg accumulation.

Nowadays these processes achieve special relevance in Antarctica because of the use of Hg, among other pollutants, is increasing in the Southern Hemisphere unlike in North America or Europe. This increase, particularly in Asia, seems to affect to Antarctica where atmospheric Hg levels have been growing during the last two decades. In addition, the percentage of bioavailable Hg in Antarctica increases in spring when organisms resume their metabolic and reproductive activity, including penguins (Bargagli, 2005a).

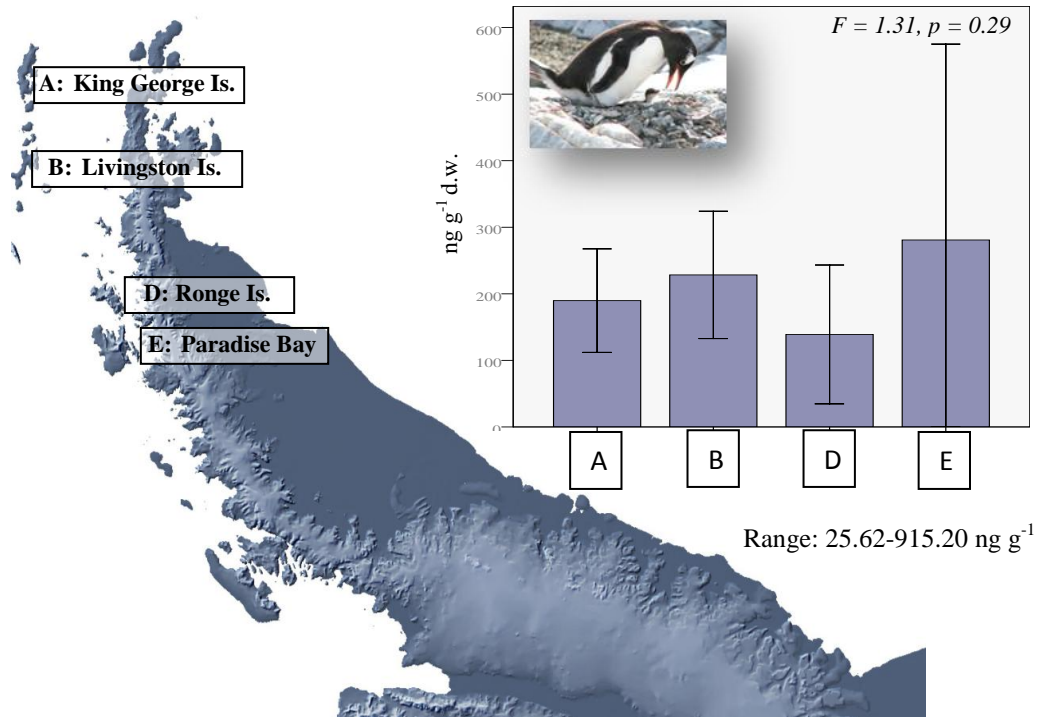


Figure 35. Levels of Hg in feathers of *P. papua* and geographical differences

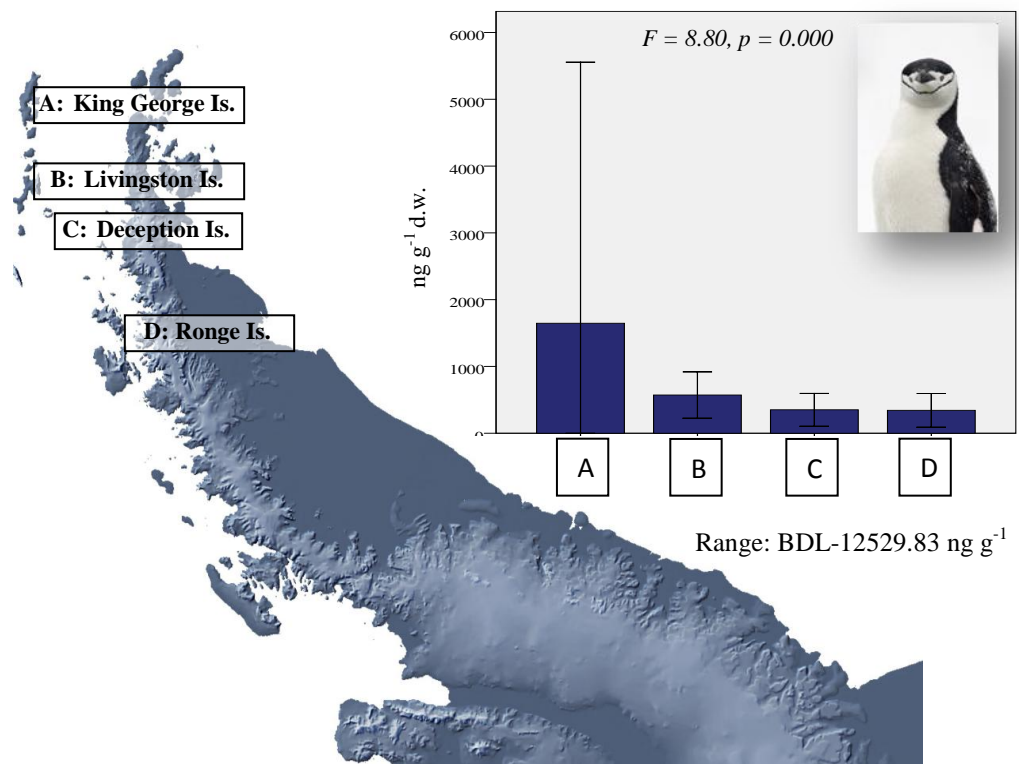


Figure 36. Levels of Hg in feathers of *P. antarctica* and geographical differences

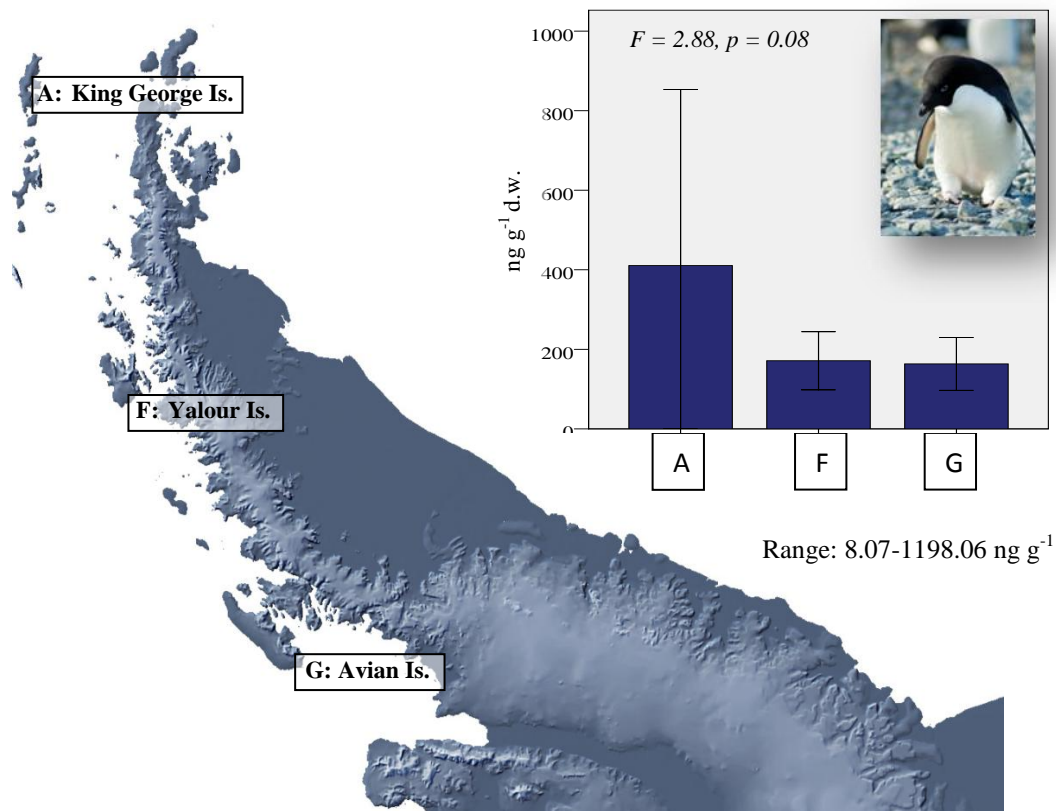


Figure 37. Levels of Hg in feathers of *P. adeliae* and geographical differences

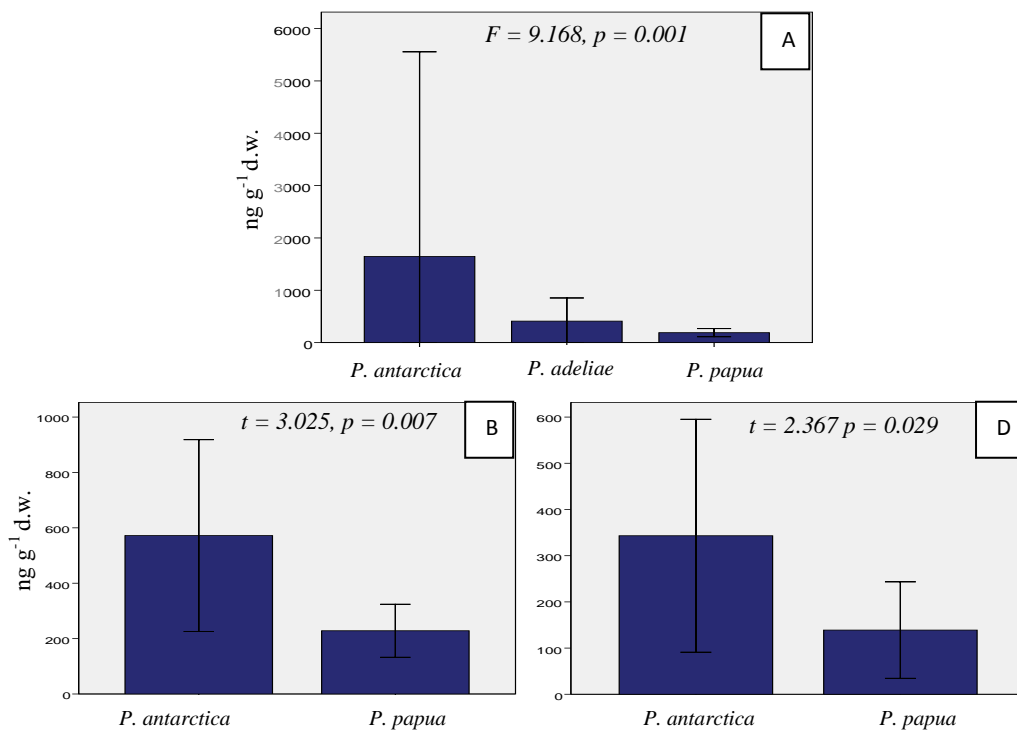


Figure 38. Inter-specific differences in levels of Hg detected in feathers of *Pygoscelis* penguins from (A) King George Island, (B) Livingston Island and (D) Ronge Island

Table 26. Significant correlations between Hg, Zn and Se levels in penguin feathers.

| <i>Pygoscelis papua</i> | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Hg - Zn | Hg - Se | Hg - Zn/Se |
| - | - | - |
| <i>Pygoscelis antarctica</i> | | |
| Hg - Zn | Hg - Se | Cd - Zn/Se |
| <i>Pearson r = 0.82^c</i> | <i>Pearson r = 0.41^a</i> | <i>Pearson r = 0.82^c</i> |
| <i>Pygoscelis adeliae</i> | | |
| Hg - Zn | Hg - Se | Hg - Zn/Se |
| - | - | - |

^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.0001$

CAPÍTULO 4

4 ACUMULACIÓN Y DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ELEMENTOS TRAZA EN INDIVIDUOS ADULTOS Y JUVENILES DE TRES ESPECIES DE PINGÜINOS ANTÁRTICOS

Como hemos visto en el capítulo anterior, los niveles de algunos elementos potencialmente tóxicos pueden aumentar en determinadas zonas de la Antártida donde existe una mayor presión antropogénica. Si bien las plumas de pingüino pueden ser herramientas útiles para el estudio de estos cambios, el análisis de otros tejidos nos puede aportar información adicional al respecto. Por ejemplo, el análisis de los tejidos internos de individuos adultos de pingüino nos permite observar niveles de algunos elementos más elevados que los observados en plumas. Estos niveles reflejan procesos de bioacumulación a medio-largo plazo que están determinados por los niveles de exposición ambiental y por la afinidad que cada contaminante presente por un determinado tejido, entre otros factores. Estos niveles pueden incluso superar en algunas ocasiones los límites de toxicidad. El estudio de distintos tejidos de importancia toxicocinética nos permite así mismo conocer la distribución tisular de cada elemento dentro del organismo del pingüino.

En este capítulo se estudia la concentración de once elementos traza de relevancia toxicológica (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd y Pb) en tejidos internos de 12 ejemplares adultos y 5 juveniles de pingüinos papúa (*Pygoscelis papua*), barbijo (*P. antarctica*) y de Adelia (*P. adeliae*) procedentes de las islas Rey Jorge, Decepción y Avian (ver tabla 2 y Fig. 20). Se analizaron muestras de hígado (12 de ejemplares adultos y 5 de ejemplares juveniles), riñón (12 y 5), músculo (12 y 5) y hueso (10 de ejemplares adultos). Se estudiaron también muestras de pluma (10 de ejemplares adultos y 5 de ejemplares juveniles) y de contenido estomacal (8 y 4) cuando dichas muestras estuvieron disponibles. Los contenidos estomacales estudiados estaban compuestos prácticamente en su totalidad por la principal presa de los pingüinos pigoscélidos, krill antártico, lo cual nos permitió estudiar la posible existencia de fenómenos de magnificación para los elementos estudiados.

El tratamiento estadístico aplicado a los resultados obtenidos en este capítulo fue el siguiente: los test no paramétricos Kruskal-Wallis, con sus correspondientes pruebas post-hoc (“least significant difference between mean ranks”), y U de Mann-Whitney

fueron usados para identificar diferencias en la acumulación de elementos entre los distintos tejidos internos estudiados, plumas y contenidos estomacales, así como diferencias entre individuos juveniles y adultos. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para estudiar la existencia de correlaciones entre pares de elementos. La heterogeneidad de las muestras impidió la aplicación de análisis estadísticos para estudiar diferencias entre especies o entre poblaciones en este capítulo.

Para el análisis de los datos, los valores que se encontraron por debajo de los límites de detección fueron calculados a partir de los valores normales esperados (expected normal scores) cuando más del 50% de todas las muestras dentro de cada conjunto de datos mostraron niveles detectables, de acuerdo con Smith et al. (2007). Cuando no se cumplió esta última premisa, el valor del límite de detección fue asignado a las muestras que no mostraron niveles detectables de contaminantes.

Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar sobre peso seco (dry weight, d.w.). Los valores publicados por otros autores sobre peso húmedo han sido convertidos a peso seco para facilitar su comparación, para lo cual se ha usado el contenido medio de humedad correspondiente a cada tipo de tejido de pingüino analizado en el presente estudio (hígado 71.24%, riñón 76.29%, músculo 73.40%, hueso 19.16% y pluma 11.12%).

4.1 Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd and Pb in juveniles and adult specimens of Antarctic penguins

4.1.1 Results

Trace element accumulation in penguin organs and tissues

Different accumulation patterns were observed in penguin organs and tissues (tables 27 and 28). The highest levels of Mn were detected in liver, kidney and bone, whereas muscle and feather levels were significantly lower ($H_{4,71} = 58.77$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). Ni concentrations in penguin bones were significantly higher than those detected in soft tissues and feathers ($H_{4,71} = 37.09$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). The highest levels of Cu were found in liver, kidney and feather, and the lowest

ones in muscle and bone ($H_{4,71} = 52.04$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). The levels of Zn found in liver, kidney and bone were significantly higher than those detected in feathers ($H_{4,71} = 20.73$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). Soft tissues showed higher As and Fe levels in comparison to bone and feather samples ($H_{4,71} = 44.56$ and $H_{4,71} = 67.22$, respectively, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). Se and Cd levels found in kidney and liver were significantly higher than those detected in the rest of the studied tissues ($H_{4,71} = 54.16$ and $H_{4,71} = 38.55$, respectively, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). Cr, Pb and Al concentrations did not show significant differences among the studied tissues.

Biomagnification phenomena

No significant differences were observed between the levels of Al, Cr, Mn, Cu, As and Pb in the stomach contents and the tissues of penguins that would indicate biomagnification phenomena. However, we observed that some penguin tissues had metal concentrations levels significantly higher than those detected in their stomach contents. In this way, Ni levels in penguin bones were higher than Ni levels detected in penguin stomach contents ($U = 9.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 10$, $n_2 = 12$). All the internal tissues and feathers of penguins also showed higher Zn levels than stomach contents (liver: $U = 4.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; kidney: $U = 1.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; muscle: $U = 17.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; bone: $U = 0.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 10$, $n_2 = 12$; feather: $U = 7.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 15$, $n_2 = 12$). Finally, we observed that Fe levels in liver and Se and Cd levels in kidney and liver were significantly higher than levels detected for these elements in stomach contents (Fe in liver: $U = 57.00$, $p = 0.048$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; Se in liver: $U = 29.00$, $p = 0.001$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; Se in kidney: $U = 13.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; Cd in liver: $U = 48.00$, $p = 0.02$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$; Cd in kidney: $U = 11.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 17$, $n_2 = 12$).

Metal accumulation with age

Mn and As between juvenile and adult penguins. However, Se and Cd concentrations were higher in kidney, muscle and feather of adult penguins in comparison to juvenile individuals (Se in kidney: $U = 8.00$, $p = 0.02$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Se in muscle: $U = 3.00$, $p = 0.002$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Se in feather: $U = 8.00$, $p = 0.04$, $n_1 = 5$, $n_2 = 10$; Cd in kidney: $U = 11.00$, $p = 0.048$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Cd in muscle: $U = 10.00$, $p = 0.04$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Cd in feather: $U = 6.50$, $p = 0.02$, $n_1 = 5$, $n_2 = 10$). We also

found higher levels of Fe, Ni and Pb in some samples of adult individuals in comparison to juveniles (Fe in muscle: $U = 8.00$, $p = 0.02$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Ni in muscle: $U = 11.00$, $p = 0.048$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Pb in liver: $U = 0.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Pb in kidney: $U = 0.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Pb in muscle: $U = 0.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Pb in feather: $U = 4.00$, $p = 0.01$, $n_1 = 5$, $n_2 = 10$; Pb in stomach content: $U = 1.00$, $p = 0.01$, $n_1 = 4$, $n_2 = 8$). Several essential elements showed a different tendency in some tissues: Fe and Cu concentrations in penguin liver were higher in juvenile than in adult individuals (Fe: $U = 6.00$, $p = 0.009$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; Cu: $U = 3.00$, $p = 0.002$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$), as well as Zn in liver and feathers ($U = 6.00$, $p = 0.009$, $n_1 = 5$, $n_2 = 12$; $U = 5.00$, $p = 0.01$, $n_1 = 5$, $n_2 = 10$).

Correlations among elements

The detected concentrations showed significant correlations among several studied elements (table 29). Fig. 39 illustrates the relationships between Cd-Se and Cd-Zn.

4.1.2 Discussion

Our results on Cd levels in penguin tissues showed that this toxic metal was mainly accumulated in kidney and in liver to a lesser degree. Cd accumulation in kidney is a common pattern that has been previously described for several organisms (e.g. Burger, 2008; Koizumi, et al. 2008; Włostowski, et al. 2010) but we observed that it is severely marked in Antarctic penguins. The high Cd levels detected in renal tissues and the low ratio of Cd concentration between hepatic and renal tissues observed in this study (ratio $Cd_{liver/kidney} = 0.08$) is indicative of a chronic exposure to relatively high levels of this metal. This exposure gave rise to elevated Cd levels in penguin kidneys, especially in adult specimens, even above the tentative toxicity thresholds described for seabirds (Furness, 1996; Larison, et al. 2000; Rodrigue, et al. 2007; Stout, et al. 2002) (see Fig. 39). In addition to this Cd accumulation, our results also showed a clear biomagnification phenomenon: Cd concentration in penguin kidneys were 314.43 times higher than the concentration detected in their stomach contents.

The accumulation of toxic concentrations of Cd can cause several adverse effects on bird health: renal tubular and testicular damage, disorder in calcium balance

and skeletal integrity, reduction of food intake and growth rate, diminution in egg-laying, egg shell thinning or behavior alterations, among others (Burger, 2008; Furness, 1996; Larison, et al. 2000; Rodrigue, et al. 2007). However, marine birds seem to be less vulnerable to exposure to high Cd levels than other wild organisms and birds (Burger, 2008; Furness, 1996).

Local volcanism is important in the study area (Thomson et al., 2001) and it can be an important natural source of metals such as Cd for organisms (Burger & Gochfeld, 2004). This volcanic activity could be the responsible, at least partially, of the observed great differences on Cd concentration among the studied rookeries (see tables 27 and 28). Other natural phenomena have been proposed as important Cd sources in polar regions, for example, upwelling of Cd-rich waters and algal bloom (Bargagli, 1996). But also anthropogenic sources at local and global scale (smelters, batteries, paints, corrosive coatings, plastic stabilizers, fertilizers, etc.) can bring about the increase of Cd levels in Antarctic penguins since this metal can be long-range transported atmospherically bound to fine particles (Burger, 2008; Furness, 1996; McLaughlin et al., 1996).

Se was mainly accumulated in liver and kidney, whereas Zn was mainly accumulated in liver, kidney and bone as occurs in other seabirds (Kim et al., 2009; Ribeiro et al., 2009). As in the case of Cd, Se and Zn levels found in several penguin internal tissues in this study were higher than those detected in their stomach contents (4.99 and 3.97 times higher in kidney, respectively). These high Se and Zn levels and the observed positive correlations between Se-Cd and Zn-Cd levels in penguin tissues (see table 29 and Fig. 39) can be related to the detoxifying role that these essential elements play against Cd toxicity (Jerez et al., 2011, see section 3; Norheim, 1987): high Se and Zn levels can be protecting penguins, at least partially, against the toxic effects prompted by the exposure to elevated Cd levels.

Besides the described Se biomagnification, we also observed differences among adult and juvenile specimens that point out that Se was accumulated with age in penguins. Although Se is an essential element and can play a protection role against Cd toxicity, Se accumulation can also be causing adverse effects on penguin health, such as behavioral abnormalities or reproductive deficits (Eisler, 1985; Heinz, 1996; Ohlendorf, 1989). We observed that 47.06% of the studied specimens showed higher Se levels in

liver than the toxicity threshold established by Lemly (1993) for aquatic birds ($10 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.), although the interaction of Se with other trace elements may modify its toxicity (Heinz, 1996). These high Se levels detected in penguins could be related to the high Se levels detected in their prey, as the 58.33% of the analyzed stomach contents in our samples showed a Se concentration above the level considered as potentially toxic for aquatic birds (more than $3 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Lemly, 1993).

On the contrary, we observed that Zn levels were higher in tissues of juveniles than in tissues of adult penguins, which can be related to the major requirements of this metal in young organisms (Mas, 1993).

We found the highest Mn levels in liver, kidney and bone although we did not observe biomagnification for this metal. Our results suggest that Mn does not increase with age in penguins as occurs in other seabirds (Barbieri et al., 2010) since we did not observe differences in Mn levels among adult and juvenile penguins, and our results were also similar to those previously detected in tissues of chick penguins (10.00 , 9.40 and $1.50 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle, respectively) by Smichowski et al. (2006). In the last years a potential increase of the environmental levels of Mn has been suggested to be due to the use of this metal as additive to combustibles (Burger & Gochfeld, 2000). In this way we found Mn levels in our samples slightly higher (between 0.87 and 2.13 times in hepatic tissue) than those detected by Honda et al. (1986) and Szefer et al. (1993b) two decades ago in tissues of adult Antarctic penguins and similar to those detected more recently in penguin chicks ($10.00 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver by Smichowski et al., 2006). Mn levels detected in our samples of Antarctic penguins were similar or slightly lower than those detected in liver, muscle or feather samples of Arctic seabirds (Mn levels in samples of Arctic seabirds ranging from 7.13 to $15.00 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, from 1.84 to $2.56 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in muscle and from 0.75 to $1.10 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in feather, see Burger et al., 2008 and Campbell et al., 2005) but sharply lower than Mn levels recently detected in feathers of adult seabirds coming from more industrialized and populated areas (Mn level in seabird feathers from Brazilian coasts: $11.36 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Barbieri et al., 2010). Although the comparison of metal levels among different species of seabirds must be taken with caution (Jerez et al., 2011, see section 3), our results seem to point out a certain increase of Mn pollution in Antarctica. However, this slight increase in Mn levels observed in Antarctic penguins should be

studied to a greater extent since data on penguin tissues are still scarce and come from different Antarctic areas.

Our results did not show differences in the Pb concentration among different tissues and stomach contents in contrast to that observed in other seabirds (Kim et al., 2009). On the contrary, we observed differences in Pb concentrations in soft tissues and feathers between juvenile and adult penguins, which show that penguins accumulated Pb with age. This accumulation phenomenon existed despite Pb can be partially eliminated during the process of feather growth (Jerez et al., 2011, see section 3). The affinity of Pb to calcium-formations such as feathers brings about the accumulation of this toxic and non-essential metal in feathers during their growth and allows the elimination of an important proportion of Pb from the bird body. In accordance with this, in juvenile specimens of penguins we found levels of Pb above the analytical detection limit only in feather samples, whereas internal tissues showed non-detectable levels of Pb. With respect to adult specimens, we also found the maximum level of Pb in feather samples ($1.74 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). In this way, penguin feathers can be useful samples for the study of Pb exposure in these organisms, as well as for monitoring the presence of this metal in the Antarctic environment.

Pb monitoring is often used to evaluate the presence of anthropogenic pollution in the environment, since this metal is not metabolically regulated for organisms (Gochfeld et al., 1996) and is emitted by several human activities. Some of these activities are currently carried out in Antarctica or have been carried out in the past (fuel combustion, waste incineration, sewage disposal, paint or accidental oil spills, among others, see Bargagli, 2008 and Santos et al., 2005) and can cause an increase in Pb levels in the Antarctic ecological system. Besides local activities, global environmental pollution can also increase Pb concentrations in penguins (Sun & Xie, 2001). We detected the maximum Pb levels in penguin feathers from King George and Deception Islands (0.55 and $1.74 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w., respectively) where a relevant human presence exists. These results were consistent with those previously found (Jerez et al., 2011, see section 3). These relatively high Pb levels detected in King George and Deception Islands were even comparable with Pb levels detected in seabirds from Northern Hemisphere (Burger et al., 2008; Ribeiro et al., 2009) and seem to be influenced by anthropogenic sources of pollution. However, these results should be taken with caution due to the limited availability of samples.

Ni tended to accumulate mainly in penguin bones where this metal reached levels significantly higher than those detected in penguin stomach contents. Therefore, Ni bioaccumulation and biomagnification phenomena occurred in penguins. Our results on Ni levels showed that Ni tends to accumulate in penguin bodies with age as the concentration is higher in adults than in juveniles. Ni is an essential metal that is naturally distributed in the environment (Eisler, 1998), although anthropogenic sources can increase natural Ni levels (e.g. mining, chemical industry, fuel combustion, waste incineration, sewage disposal, paint or accidental oil spills; ATSDR, 2005). The limited availability of samples did not allow analyzing geographical differences in Ni concentrations in this study but, as in the case of Pb, we found the highest Ni concentrations in samples from King George and Deception Island (bones: 4.40 and 3.82 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., respectively). These results suggest that anthropogenic sources could be responsible, at least partially, of Ni accumulation in penguins. Ni showed a high affinity to bone samples and this kind of samples can be easily collected for Ni monitoring in the Antarctic environment since penguin bones are really abundant in rookery areas.

The highest Fe levels were found in soft tissues, mainly in liver which has been described as storing tissue of Fe inside the organisms (Mas, 1993). This accumulation was higher in hepatic tissues of penguins than in their stomach contents. Regarding Fe accumulation with age there was not a clear pattern as Fe levels in muscle were higher in adult individuals than in juveniles whereas Fe levels in liver were higher in juveniles than in adult individuals. Higher Fe levels in liver in juveniles in comparison to adults were probably related to the major requirements of this metal in young organisms (Mas, 1993) as occur with other essential elements like Cu and Zn.

No significant differences were found neither between the different tissues and stomach contents nor between ages in Al. Therefore, this element did not show phenomena of bioaccumulation or biomagnification. Regarding differences among populations, Al and Fe levels seemed to be higher in stomach contents and feathers of penguins from King George and Deception Island in comparison to penguins from Avian Island (see table 27) (Al in feathers: between 5.01 and 12.66 times higher; Fe in feathers: between 3.56 and 6.93 times higher; Al in stomach contents: between 4.14 and 55.44 times higher; Fe in stomach contents: between 4.61 and 40.19 times higher), although these differences were not statistically checked due to sample shortage. The

abundance of Al and Fe in samples from King George and Deception Islands could be related to the abundance of these metals in bioavailable forms in the sediments of these areas (Almendros et al., 1997; Deheyn et al., 2005; Santos et al., 2005; Rey et al., 1995).

The highest Cu levels were found in liver, kidney and feathers. No differences were found between stomach contents and the tissues which show that there is not biomagnification for this metal. In the same way, the comparison between adults and juveniles did not show bioaccumulation for this metal in penguins. Antarctic seabirds usually present high Cu levels in liver because Antarctic krill contains high amounts of Cu (Nygard et al., 2001). According to this, we observed high Cu levels in the penguin soft tissues and the stomach contents which were mainly composed of krill (maximum level: $90.76 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). Cu levels in soft tissues of penguins were similar to those detected in other seabirds from other regions of the Northern Hemisphere (Cu levels in liver samples of seabirds from Northern Hemisphere ranging from 19.10 to $92.50 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w., see Lucia et al., 2010 and Ribeiro et al., 2009). Penguin feathers showed Cu levels even higher than seabird feathers from China ($4 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w., see Liu et al., 2006). Although these high Cu levels detected in penguins seem to be directly connected with high Cu amounts in Antarctic krill, temporal trends on Cu levels should be checked since human activities (oil spills, sewage or solid waste) can contribute to increase Cu levels in coastal marine ecosystems (Eisler, 1981).

As and Cr did not show either bioaccumulation or biomagnification phenomena in the studied specimens since they did not show differences neither between the concentration in tissues and the stomach contents nor between ages. The highest levels of As were found in soft tissues where this metal is rapidly distributed and retained when goes into the body (ATSDR, 2007). Our results on As levels in soft tissues were similar to those detected in chick penguins from King George Island (0.50 , 0.55 and $0.82 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle, respectively, see Smichowski et al., 2006) and to those detected in Arctic seabirds (from 0.17 to $0.32 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in feather samples, see Burger et al., 2008). Seabirds from other regions of the world showed a wide range of As levels (from 0.22 to $5.62 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver; Lucia et al., 2010; Ribeiro et al., 2009) which could be related to differences in their diets (Kubota et al., 2001). In accordance with Braune & Noble (2009) As levels in our samples were lower than $3 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. (see table 27), which are usual levels in living organisms. The As

values reported in this study were very low in comparison to values known to produce toxic effects, such as endocrine disruption, in seabirds ($>50 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Neff, 1997).

Cr did not show a clear pattern of accumulation in any specific tissue, although we found the highest Cr levels in muscle tissue of specimens from King George and Deception Islands (maximum levels: 2.10 and $5.52 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w., respectively). Unlike Szefer et al. (1993a) that found non-detectable Cr levels ($<0.03 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) in the majority of the analyzed tissues of Antarctic penguins, we found detectable levels in the 95.45% of the studied samples. These results seem to indicate that an increase in Cr levels can be occurring in Antarctica, although this result should be taken with caution since data on levels of this metal in penguin tissues are still scarce and could be influenced by diet differences among populations. This possible increase could be related with the increase of human presence in some Antarctic areas such as King George or Deception islands since Cr is associated with several human activities and oil contamination (Alam & Sadiq, 1993; Caccia et al., 2003). The majority of the studied specimens of penguins showed Cr levels one order of magnitude lower than those detected in soft tissues of seabirds from the Northern Hemisphere, although feathers of penguins from King George and Deception Islands showed Cr levels close to those detected in feathers of Arctic seabirds (Cr levels in soft tissues and feathers of seabirds from the Northern Hemisphere ranging from 1.81 to 8.22 and 0.95 to $2.03 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w., respectively, see Burger et al., 2008 and Ribeiro et al., 2009).

The 72.97% of the observed correlations between pairs of elements (table 29) were positive. The predominance of this kind of correlations among the studied elements may suggest common uptake and storage pathways or similar regulation and detoxification processes in penguins as occur in other seabirds (Mendes et al., 2008; Nam et al., 2005; Perez-Lopez et al., 2006; Ribeiro et al., 2009).

Specifically in feathers, we found six different positive correlations between pairs of elements (table 29), suggesting that feathers accumulate metals during their growth due to the existence of a high blood flow. This accumulation in feathers allows the elimination of partial contents of toxic metals from the organism.

In soft tissues, we also found several positive correlations between essential elements such as Fe-Zn, Fe-Se, Fe-Cu, Fe-Ni and Cu-Zn (table 29) that can indicate the existence of similar metabolic regulations for these pairs of elements (Ribeiro et al.

2009). We found other positive correlations between pairs of toxic elements known to be related with the presence of contaminant activities (Cr-Mn, Cr-Pb, Mn-As, Mn-Pb and Cd-Pb, see table 29) such as fuel combustion, waste incineration, sewage disposal, paint, batteries or accidental oil spills, suggesting the existence of common anthropogenic sources of these metals in the study area.

We also found negative correlations such as the observed between Pb-Zn, Pb-Cu and Pb-Fe in liver (table 29). These results may be related to the ability of Pb to supplant polyvalent cations and use their transport mechanisms (Ballatori, 2002), hindering the transport and accumulation of essential elements in the studied specimens.

In conclusion, the studied penguins, especially those specimens collected in Deception and Avian Island, were chronically exposed to high Cd levels and this metal was mainly accumulated in renal tissue. The study of Cd levels in penguin tissues and their stomach contents showed that a biomagnification phenomenon existed for this metal in the Antarctic food web. Several specimens of penguins showed elevated Cd levels in kidney, even above the toxicity threshold established for seabirds. We also found high Se and Zn levels in penguin tissues which could be playing a protection role against the toxic effects of Cd exposure. Se even reached toxic concentrations in hepatic tissue.

The obtained results indicated that a slight increase in Mn and Cr levels in Antarctica could exist and could be related with a major human presence, use of combustibles and oil contamination.

Feathers seem to be an important elimination way of absorbed Pb in penguins. In spite of that, Pb was accumulated with age in penguins. Ni was also accumulated with age in penguins, mainly in bones. Feathers and bones could be useful samples non-invasively and easily collected for monitoring Pb and Ni, respectively, in the Antarctic ecosystem. The highest levels of Pb and Ni in this study were detected in specimens from areas where a major human presence exists and this fact suggests that these metals, at least partially, came from anthropogenic sources.

High Cu levels were detected in penguins probably related to high Cu levels present in their main prey, Antarctic krill. Bioaccumulation or biomagnification

phenomena were not observed for Cu and neither for Al, Cr, Mn and As in the studied specimens, whereas Fe did not show a clear tendency.

Finally, we found a wide number of positive correlations between pairs of elements. These results indicate in general that similar uptake and storage pathways existed for them, as well as similar internal processes of regulation and/or detoxification. And particularly for metals known to be related with anthropogenic contamination (Cr, Mn, As, Cd, Pb) these results suggest that common anthropogenic sources existed for them in the study area. These sources seem to be increasing the presence of toxic metals in Antarctic penguins.

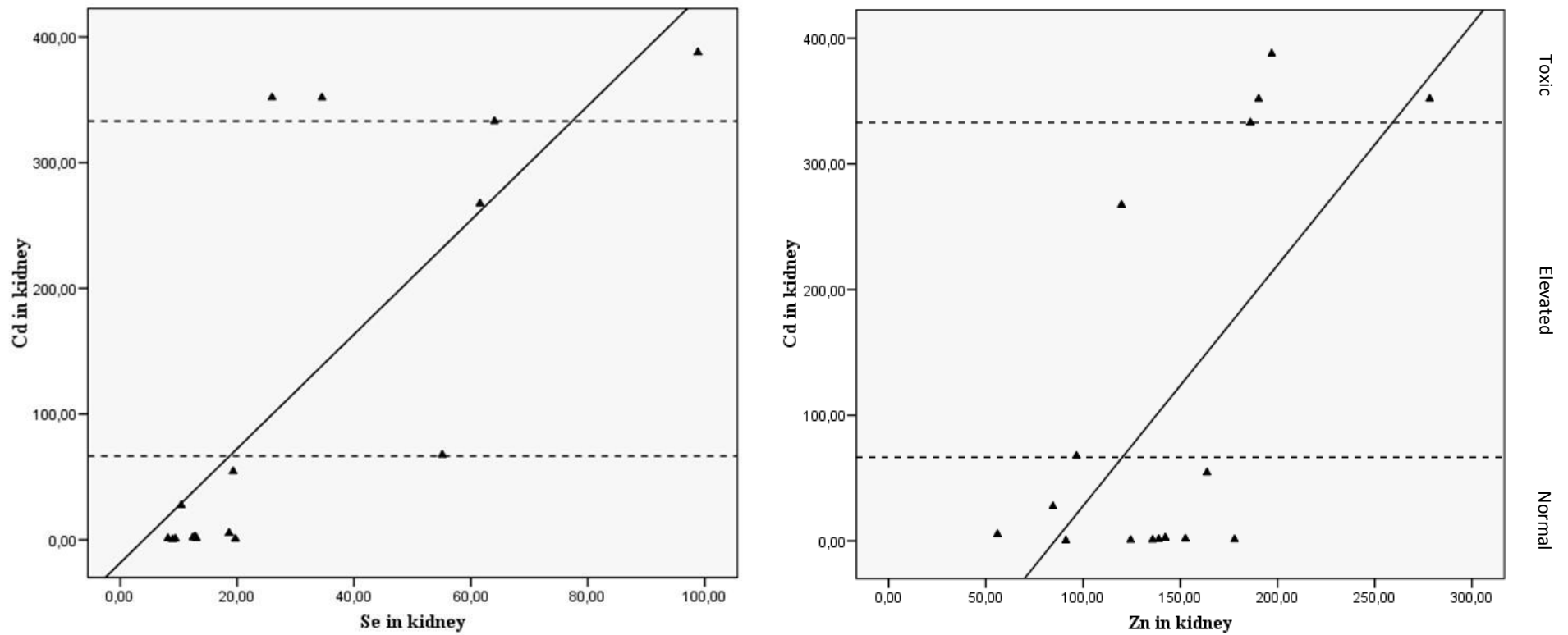


Figura 39. Normal, elevated and toxic Cd levels in penguin renal tissues and correlations with Se and Zn levels. Data are shown as $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.. Toxic thresholds taken from Furness et al. (1996)

Table 27. Concentrations of trace elements ($\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) in adult Antarctic penguins. Data shown are mean \pm standard deviation (n: number of non-detectable levels)

| Samples | Specie (Location) | Al | n | Cr | n | Mn | n | Fe | n | Ni | n | Cu | n |
|---------|---------------------------------------|-------------------|---|------------------|---|------------------|---|-----------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|
| Liver | <i>P. papua</i> (King George I.) | 2.19 \pm 0.52 | 0 | 0.19 \pm 0.13 | 0 | 7.71 \pm 6.34 | 0 | 2869.46 \pm 3051.88 | 0 | 0.01 \pm 0.004 | 1 | 102.57 \pm 155.93 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 1.00 \pm 0.14 | 0 | 0.26 \pm 0.02 | 0 | 14.76 \pm 4.17 | 0 | 4002.21 \pm 2744.67 | 0 | 0.02 \pm 0.02 | 0 | 24.26 \pm 11.18 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 4.19 | 0 | 0.76 | 0 | 8.58 | 0 | 2040.44 | 0 | 0.01 | 0 | 10.91 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 2.02 \pm 1.47 | 0 | 0.35 \pm 0.11 | 0 | 9.30 \pm 2.06 | 0 | 1820.42 \pm 352.46 | 0 | 0.24 \pm 0.47 | 2 | 14.95 \pm 0.67 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 0.55 \pm 0.11 | 0 | 0.19 \pm .021 | 0 | 11.55 \pm 4.55 | 0 | 1405.87 \pm 822.80 | 0 | 0.0004 ^a | 2 | 15.34 \pm 1.87 | 0 |
| Kidney | <i>P. papua</i> (King George I.) | 2.13 \pm 0.62 | 0 | 0.24 \pm 0.003 | 0 | 6.40 \pm 3.07 | 0 | 824.59 \pm 275.66 | 0 | 0.002 \pm 0.003 | 2 | 13.99 \pm 2.91 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 0.69 \pm 0.38 | 0 | 0.24 \pm 0.12 | 0 | 10.13 \pm 2.37 | 0 | 362.83 \pm 75.61 | 0 | 0.0004 ^a | 2 | 17.13 \pm 2.63 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 0.74 | 0 | 0.21 | 0 | 3.78 | 0 | 531.94 | 0 | 0.0004 ^a | 1 | 10.74 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 0.75 \pm 0.76 | 0 | 0.33 \pm 0.37 | 0 | 5.35 \pm 0.75 | 0 | 669.58 \pm 224.13 | 0 | 0.09 \pm 0.17 | 3 | 15.33 \pm 4.67 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 14.12 \pm 3.86 | 0 | 0.18 \pm 0.09 | 0 | 5.77 \pm 1.36 | 0 | 652.69 \pm 6.36 | 0 | 0.0004 ^a | 2 | 14.78 \pm 3.04 | 0 |
| Muscle | <i>P. papua</i> (King George I.) | 1.39 \pm 0.95 | 0 | 0.29 \pm 0.26 | 0 | 0.85 \pm 0.39 | 0 | 486.14 \pm 209.63 | 0 | 0.0004 ^a | 3 | 7.97 \pm 1.15 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 1.07 \pm 0.36 | 0 | 2.09 \pm 0.02 | 0 | 0.87 \pm 0.28 | 0 | 220.16 \pm 62.04 | 0 | 0.02 \pm 0.01 | 0 | 8.07 \pm 1.28 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 3.27 | 0 | 0.38 | 0 | 0.63 | 0 | 423.43 | 0 | 0.02 | 0 | 7.43 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 12.32 \pm 10.04 | 0 | 1.86 \pm 2.46 | 0 | 1.17 \pm 0.68 | 0 | 480.71 \pm 112.70 | 0 | 1.17 \pm 2.29 | 0 | 6.69 \pm 1.73 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 1.78 \pm 1.91 | 0 | 0.46 \pm 0.22 | 0 | 1.11 \pm 0.39 | 0 | 595.83 \pm 264.46 | 0 | 0.0004 ^a | 2 | 8.53 \pm 2.41 | 0 |
| Bone | <i>P. papua</i> (King George I.) | 7.59 \pm 0.20 | 0 | 0.13 \pm 0.11 | 0 | 8.27 \pm 1.78 | 0 | 70.03 \pm 39.96 | 0 | 3.54 \pm 1.21 | 0 | 0.20 \pm 0.11 | 0 |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|---------------------------------------|-------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|-------------------|---|-------------|---|---------------|---|
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 4.16 ± 1.02 | 0 | 0.16 ± 0.07 | 0 | 6.66 ± 0.57 | 0 | 44.08 ± 33.04 | 0 | 0.25 ± 0.01 | 0 | 0.17 ± 0.22 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 8.49 | 0 | 0.10 | 0 | 7.44 | 0 | 44.12 | 0 | 3.18 | 0 | 0.06 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 7.30 ± 6.09 | 0 | 0.24 ± 0.48 | 3 | 8.40 ± 1.25 | 0 | 56.06 ± 28.85 | 0 | 2.90 ± 1.02 | 0 | 0.19 ± 0.10 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 5.61 | 0 | 0.0002 ^a | 1 | 7.56 | 0 | 12.58 | 0 | 0.75 | 0 | 0.17 | 0 |
| Feather | <i>P. papua</i> (King George I.) | 6.71 ± 5.15 | 0 | 0.68 ± 0.03 | 0 | 0.06 ± 0.09 | 1 | 16.61 ± 0.05 | 0 | 0.17 ± 0.14 | 0 | 19.26 ± 0.94 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 7.99 ± 10.02 | 0 | 0.09 ± 0.05 | 0 | 0.21 ± 0.30 | 1 | 29.74 ± 29.14 | 0 | 0.05 ± 0.01 | 0 | 15.29 ± 0.34 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 3.56 | 0 | 0.97 | 0 | 0.21 | 0 | 15.28 | 0 | 0.05 | 0 | 16.21 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 8.99 ± 7.86 | 0 | 0.60 ± 0.15 | 0 | 0.05 ± 0.03 | 0 | 20.22 ± 12.75 | 0 | 0.06 ± 0.03 | 0 | 19.60 ± 1.70 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 0.71 ± 0.43 | 0 | 0.31 ± 0.05 | 0 | 0.0004 ^a | 2 | 4.29 ± 0.47 | 0 | 0.02 ± 0.03 | 1 | 16.22 ± 0.51 | 0 |
| Stomach cont. | <i>P. papua</i> (King George I.) | 2594.61 ± 1306.72 | 0 | 1.41 ± 1.36 | 0 | 82.43 ± 27.49 | 0 | 3245.77 ± 2415.55 | 0 | 0.38 ± 0.20 | 0 | 30.51 ± 35.73 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 641.07 ± 255.18 | 0 | 1.93 ± 1.06 | 0 | 9.33 ± 4.97 | 0 | 1032.65 ± 665.79 | 0 | 0.16 ± 0.04 | 0 | 51.07 ± 49.14 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 349.72 | 0 | 0.17 | 0 | 6.64 | 0 | 372.12 | 0 | 0.02 | 0 | 4.85 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 193.52 | 0 | 1.74 | 0 | 5.99 | 0 | 934.01 | 0 | 0.31 | 0 | 54.86 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 46.80 ± 54.31 | 0 | 0.06 ± 0.01 | 0 | 2.20 ± 0.11 | 0 | 80.77 ± 81.01 | 0 | 0.14 ± 0.19 | 0 | 66.42 ± 34.43 | 0 |

^a Detection Limit Value

Table 27 (continued)

| Samples | Specie / Location | Zn | n | As | n | Se | n | Cd | n | Pb | n |
|---------|---------------------------------------|-----------------|---|-------------|---|---------------|---|-----------------|---|---------------------|---|
| Liver | <i>P. papua</i> (King George I.) | 112.56 ± 72.69 | 0 | 1.01 ± 0.90 | 0 | 6.47 ± 0.82 | 0 | 1.05 ± 1.43 | 0 | 0.10 ± 0.07 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 330.34 ± 293.26 | 0 | 0.37 ± 0.36 | 0 | 7.18 ± 0.38 | 0 | 0.16 ± 0.08 | 0 | 0.05 ± 0.01 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 136.30 | 0 | 1.20 | 0 | 8.61 | 0 | 4.41 | 0 | 0.05 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 126.05 ± 25.18 | 0 | 0.67 ± 0.15 | 0 | 30.61 ± 2.42 | 0 | 27.54 ± 14.47 | 0 | 0.15 ± 0.06 | 1 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 141.75 ± 4.21 | 0 | 0.33 ± 0.04 | 0 | 8.29 ± 1.00 | 0 | 22.03 ± 10.47 | 0 | 0.06 ± 0.03 | 0 |
| Kidney | <i>P. papua</i> (King George I.) | 93.14 ± 42.13 | 0 | 0.67 ± 0.41 | 0 | 14.01 ± 4.19 | 0 | 11.37 ± 14.10 | 0 | 0.07 ± 0.03 | 1 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 107.79 ± 23.57 | 0 | 0.52 ± 0.60 | 0 | 14.32 ± 7.58 | 0 | 0.49 ± 0.32 | 0 | 0.0008 ^a | 2 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 163.71 | 0 | 1.07 | 0 | 19.30 | 0 | 54.41 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 149.85 ± 49.23 | 0 | 0.58 ± 0.12 | 0 | 69.88 ± 19.66 | 0 | 263.93 ± 139.77 | 0 | 0.18 ± 0.01 | 1 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 234.30 ± 62.24 | 0 | 0.38 ± 0.12 | 0 | 30.23 ± 6.03 | 0 | 351.84 ± 0.08 | 0 | 0.21 ± 0.17 | 0 |
| Muscle | <i>P. papua</i> (King George I.) | 103.07 ± 60.55 | 0 | 0.63 ± 0.53 | 0 | 3.17 ± 0.53 | 0 | 0.11 ± 0.18 | 0 | 0.18 ± 0.05 | 1 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 139.91 ± 40.94 | 0 | 0.57 ± 0.62 | 0 | 3.57 ± 0.17 | 0 | 0.01 ± 0.001 | 0 | 0.0008 ^a | 2 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 149.95 | 0 | 0.37 | 0 | 12.65 | 0 | 1.09 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 118.78 ± 40.73 | 0 | 1.04 ± 0.27 | 0 | 10.32 ± 3.04 | 0 | 1.83 ± 0.63 | 0 | 0.17 ± 0.08 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 66.26 ± 57.77 | 0 | 0.30 ± 0.16 | 0 | 4.62 ± 0.13 | 0 | 2.63 ± 2.09 | 0 | 0.15 ± 0.11 | 0 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------|---------------------------------------|----------------|---|--------------|---|-------------|---|---------------------|---|---------------------|---|
| Bone | <i>P. papua</i> (King George I.) | 180.05 ± 29.40 | 0 | 0.06 ± 0.01 | 0 | 0.38 ± 0.04 | 0 | 0.002 ± 0.002 | 1 | 0.15 ± 0.19 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 221.29 ± 9.19 | 0 | 0.08 ± 0.07 | 0 | 0.73 ± 0.29 | 0 | 0.0001 ^a | 2 | 0.0008 ^a | 2 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 138.38 | 0 | 0.07 | 0 | 0.41 | 0 | 0.03 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 138.77 ± 20.63 | 0 | 0.04 ± 0.01 | 0 | 1.13 ± 0.69 | 0 | 0.07 ± 0.03 | 0 | 0.21 ± 0.12 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 106.15 | 0 | 0.12 | 0 | 0.24 | 0 | 0.17 | 0 | 0.10 | 0 |
| Feather | <i>P. papua</i> (King George I.) | 69.49 ± 6.32 | 0 | 0.10 ± 0.05 | 0 | 2.41 ± 0.41 | 0 | 0.02 ± 0.004 | 0 | 0.33 ± 0.31 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 94.75 ± 2.37 | 0 | 0.31 ± 0.21 | 0 | 4.33 ± 0.01 | 0 | 0.01 ± 0.01 | 1 | 0.02 ± 0.03 | 1 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 70.41 | 0 | 0.04 | 0 | 6.05 | 0 | 0.12 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 62.29 ± 20.01 | 0 | 0.07 ± 0.01 | 0 | 7.97 ± 0.85 | 0 | 0.31 ± 0.22 | 0 | 0.81 ± 0.84 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 60.59 ± 2.02 | 0 | 0.06 ± 0.001 | 0 | 4.68 ± 1.71 | 0 | 0.08 ± 0.01 | 0 | 0.06 ± 0.09 | 1 |
| Stomach content | <i>P. papua</i> (King George I.) | 19.84 ± 4.63 | 0 | 2.00 ± 0.09 | 0 | 2.42 ± 2.49 | 0 | 0.09 ± 0.11 | 0 | 0.71 ± 0.42 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (King George I.) | 49.39 ± 8.30 | 0 | 1.44 ± 1.83 | 0 | 3.87 ± 1.40 | 0 | 0.17 ± 0.06 | 0 | 0.03 ± 0.04 | 1 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 26.57 | 0 | 0.47 | 0 | 4.09 | 0 | 0.45 | 0 | 0.07 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 46.67 | 0 | 1.77 | 0 | 23.22 | 0 | 0.71 | 0 | 0.12 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (Avian I.) | 38.99 ± 14.05 | 0 | 3.22 ± 0.06 | 0 | 8.78 ± 0.22 | 0 | 1.10 ± 0.80 | 0 | 0.28 ± 0.19 | 0 |

^a Detection Limit Value

Table 28. Concentrations of trace elements ($\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) in juvenile Antarctic penguins. Data shown are mean \pm standard deviation (n: number of non-detectable levels)

| Samples | Specie (Location) | Al | n | Cr | n | Mn | n | Fe | n | Ni | n | Cu | n |
|-----------------|------------------------------------|----------------------|---|-----------------|---|-------------------|---|-----------------------|---|---------------------|---|---------------------|---|
| Liver | <i>P. papua</i> (King George I.) | 1.62 \pm 1.00 | 0 | 0.49 \pm 0.45 | 0 | 8.30 \pm 0.57 | 0 | 6246.20 \pm 2941.77 | 0 | 0.19 \pm 0.04 | 1 | 386.13 \pm 174.48 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 1.93 | 0 | 0.08 | 0 | 15.83 | 0 | 3432.88 | 0 | 0.004 | 0 | 22.89 | 0 |
| Kidney | <i>P. papua</i> (King George I.) | 4.80 \pm 4.24 | 0 | 0.59 \pm 0.52 | 0 | 7.33 \pm 3.38 | 0 | 575.27 \pm 127.82 | 0 | 0.02 \pm 0.02 | 0 | 19.99 \pm 6.83 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 3.48 | 0 | 0.29 | 0 | 7.79 | 0 | 573.02 | 0 | 0.01 | 0 | 12.66 | 0 |
| Muscle | <i>P. papua</i> (King George I.) | 2.01 \pm 1.96 | 0 | 0.50 \pm 0.03 | 0 | 0.52 \pm 0.06 | 0 | 271.74 \pm 75.67 | 0 | 0.01 \pm 0.004 | 1 | 9.95 \pm 2.08 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 3.41 | 0 | 0.20 | 0 | 0.91 | 0 | 156.63 | 0 | 0.0004 ^a | 1 | 6.97 | 0 |
| Feather | <i>P. papua</i> (King George I.) | 15.72 \pm 19.24 | 0 | 0.50 \pm 0.16 | 0 | 0.27 \pm 0.35 | 0 | 24.95 \pm 16.54 | 0 | 0.07 \pm 0.07 | 0 | 16.02 \pm 5.40 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 52.44 | 0 | 0.11 | 0 | 1.15 | 0 | 21.92 | 0 | 0.0004 ^a | 1 | 19.29 | 0 |
| Stomach content | <i>P. papua</i> (King George I.) | 854.88 \pm 1000.14 | 0 | 3.03 \pm 4.89 | 0 | 16.27 \pm 15.69 | 0 | 2884.27 \pm 1466.78 | 0 | 0.30 \pm 0.30 | 0 | 7.33 \pm 1.13 | 0 |

^a Detection Limit Value

Table 28 (continued)

| Samples | Specie / Location | Zn | n | As | | Se | n | Cd | n | Pb | n |
|-----------------|------------------------------------|----------------|---|-------------|---|--------------|---|---------------------|---|---------------------|---|
| Liver | <i>P. papua</i> (King George I.) | 237.19 ± 22.38 | 0 | 0.79 ± 0.63 | 0 | 10.69 ± 0.76 | 0 | 0.40 ± 0.18 | 0 | 0.0008 ^a | 4 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 182.58 | 0 | 0.30 | 0 | 8.19 | 0 | 0.18 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| Kidney | <i>P. papua</i> (King George I.) | 152.14 ± 18.51 | 0 | 0.43 ± 0.17 | 0 | 10.69 ± 2.27 | 0 | 1.54 ± 0.71 | 0 | 0.0008 ^a | 4 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 119.90 | 0 | 0.45 | 0 | 15.09 | 0 | 0.68 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| Muscle | <i>P. papua</i> (King George I.) | 139.39 ± 46.68 | 0 | 0.36 ± 0.21 | 0 | 2.61 ± 0.31 | 0 | 0.01 ± 0.01 | 0 | 0.0008 ^a | 4 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 163.75 | 0 | 0.18 | 0 | 1.79 | 0 | 0.0001 ^a | 1 | 0.0008 ^a | 1 |
| Feather | <i>P. papua</i> (King George I.) | 119.72 ± 21.81 | 0 | 0.09 ± 0.07 | 0 | 2.77 ± 0.55 | 0 | 0.02 ± 0.01 | 0 | 0.07 ± 0.13 | 3 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 83.90 | 0 | 0.08 | 0 | 3.32 | 0 | 0.01 | 0 | 0.0008 ^a | 1 |
| Stomach content | <i>P. papua</i> (King George I.) | 41.09 ± 16.40 | 0 | 0.28 ± 0.07 | 0 | 2.86 ± 0.84 | 0 | 0.12 ± 0.07 | 0 | 0.05 ± 0.02 | 1 |

^a Detection Limit Value

Table 29. Correlations among elements in the studied organs and tissues of Antarctic penguins

| Elements | Al | Cr | Mn | Fe | Ni | Cu |
|----------|----|----|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Al | | | F* (<i>Rho</i> = 0.63) | F** (<i>Rho</i> = 0.73) | | |
| Cr | | | B* (<i>Rho</i> = 0.73) | | K** (<i>Rho</i> = 0.62) | |
| Mn | | | | K* (<i>Rho</i> = -0.53) | | |
| Fe | | | | | M* (<i>Rho</i> = 0.57) | L** (<i>Rho</i> = 0.68) |
| | | | | | B** (<i>Rho</i> = 0.78) | |
| Ni | | | | | | |
| Cu | | | | | | |
| Zn | | | | | | |
| As | | | | | | |
| Se | | | | | | |
| Cd | | | | | | |
| Pb | | | | | | |

L = liver; K = kidney; M = muscle; B = bone; F = feather; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.0001$

Table 29 (continued)

| Elements | Zn | As | Se | Cd | Pb |
|----------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---|--|
| Al | | | | | |
| Cr | | | K* (<i>Rho</i> = -0.54) | | B** (<i>Rho</i> = 0.87) |
| Mn | M* (<i>Rho</i> = -0.54) | F** (<i>Rho</i> = 0.67) | | K* (<i>Rho</i> = -0.55) | M** (<i>Rho</i> = 0.69) |
| Fe | L** (<i>Rho</i> = 0.72) | F* (<i>Rho</i> = 0.54) | M** (<i>Rho</i> = 0.65) | M** (<i>Rho</i> = 0.62) | L** (<i>Rho</i> = -0.65) M** (<i>Rho</i> = 0.74) |
| Ni | | | | | K* (<i>Rho</i> = -0.55) M** (<i>Rho</i> = 0.61) |
| Cu | L*** (<i>Rho</i> = 0.76) | | | | L*** (<i>Rho</i> = -0.75) |
| Zn | | | | K* (<i>Rho</i> = 0.51) F* (<i>Rho</i> = -0.59) | L** (<i>Rho</i> = -0.67) F** (<i>Rho</i> = -0.74) |
| As | | | | | |
| Se | | | | L* (<i>Rho</i> = 0.59) K*** (<i>Rho</i> = 0.76) M*** (<i>Rho</i> = 0.81) F** (<i>Rho</i> = 0.75) | K** (<i>Rho</i> = 0.75) M** (<i>Rho</i> = 0.72) |
| Cd | | | | | K* (<i>Rho</i> = 0.59) M* (<i>Rho</i> = 0.55) F** (<i>Rho</i> = 0.65) |
| Pb | | | | | |

L = liver; K = kidney; M = muscle; B = bone; F = feather; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.000$

CAPÍTULO 5

5 ACUMULACIÓN Y DISTRIBUCIÓN TISULAR DE ELEMENTOS TRAZA EN POLLOS DE TRES ESPECIES DE PINGÜINOS ANTÁRTICOS

Como vimos en el capítulo 1 (apartado 1.3), el estudio de niveles de elementos traza en tejidos de crías de pingüino nos aporta información complementaria a la que se desprende de su estudio en ejemplares adultos. El análisis de los tejidos de pollos nos permite conocer la biodisponibilidad de estos elementos traza en un contexto espacio-temporal más acotado, la pingüineras durante el periodo reproductivo.

En este capítulo se estudia la concentración de once elementos traza de relevancia toxicológica (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd y Pb) en tejidos internos de 5 pollos de pingüinos papúa (*Pygoscelis papua*), 5 pollos de pingüino barbijo (*P. antarctica*) y 5 pollos de pingüino de Adélia (*P. adeliae*) procedentes de las islas Rey Jorge y Decepción (ver tabla 2 y Fig. 20). Las edades de los pollos estaban comprendidas entre 4 y 8 semanas. Se analizaron 15 muestras de hígado, 15 de riñón, 15 de músculo, 11 de hueso, 15 de pluma y 15 de contenido estomacal. Los contenidos estomacales estudiados estaban compuestos prácticamente en su totalidad por la principal presa de los pingüinos pigoscélidos, krill antártico, lo cual nos permitió estudiar la posible existencia de fenómenos de magnificación para los elementos estudiados.

El tratamiento estadístico aplicado a los resultados obtenidos en este capítulo fue el siguiente: el test one-way ANOVA y su análogo no paramétrico (Kruskal-Wallis), con sus correspondientes pruebas post-hoc (Bonferroni y “least significant difference between mean ranks”, respectivamente), así como la prueba T de Student y su análoga no paramétrica (U de Mann-Whitney), fueron usados para identificar diferencias en la acumulación de elementos entre los distintos tejidos internos estudiados, plumas y contenidos estomacales, así como diferencias entre especies. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para estudiar la existencia de correlaciones entre pares de elementos.

Para el análisis de los datos, los valores que se encontraron por debajo de los límites de detección fueron calculados a partir de los valores normales esperados

(expected normal scores) cuando más del 50% de todas las muestras dentro de cada conjunto de datos mostraron niveles detectables, de acuerdo con Smith et al. (2007). Cuando no se cumplió esta última premisa, el valor del límite de detección fue asignado a las muestras que no mostraron niveles detectables de contaminantes.

Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar sobre peso seco (dry weight, d.w.). Los valores publicados por otros autores sobre peso húmedo han sido convertidos a peso seco para facilitar su comparación, para lo cual se ha usado el contenido medio de humedad correspondiente a cada tipo de tejido de pingüino analizado en el presente estudio (hígado 74.26%, riñón 78.61%, músculo 78.22%, hueso 51.12% y pluma 11.12%).

5.1 Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd and Pb in chicks of Antarctic penguins

5.1.1 Results

The levels of trace elements detected in chick penguin tissues are shown in table 30.

Trace element accumulation in penguin organs and tissues

Our results showed different accumulation patterns in penguin organs and tissues. We found Al levels in muscle and feather significantly higher than levels detected in liver and kidney ($H_{4,66} = 28.69$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). We found Cr levels in muscle tissue significantly higher than those detected in liver, kidney, bone and feather ($H_{4,66} = 16.62$, $p = 0.002$, post-hoc test $p < 0.05$). Mn levels detected in liver, kidney and bone were significantly higher than those detected in muscle and feather ($H_{4,66} = 48.30$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). Fe, Se and Cd levels detected in liver and kidney were significantly higher in comparison to the other studied tissues (Fe: $H_{4,66} = 53.85$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$; Se: $F_{4,66} = 37.55$, $p = 0.000$, post-hoc test $p = 0.000$; Cd: $H_{4,66} = 46.59$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). We found Ni and Zn levels in bone significantly higher than those detected in the other studied tissues (Ni: $H_{4,66} = 32.11$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$; Zn: $F_{4,66} = 22.42$, $p = 0.000$, post-hoc test $p = 0.000$). Cu levels detected in liver were significantly higher than those detected

in the other studied tissues ($F_{4,66} = 27.92$, $p = 0.000$, post-hoc test $p = 0.000$). We found As levels in soft tissues significantly higher than those detected in bone and feather ($H_{4,66} = 26.10$, $p = 0.000$, post-hoc test $p < 0.05$). Pb concentrations did not show significant differences among the studied tissues.

Biomagnification phenomena

We did not observe significant differences between the levels detected in the stomach contents and the tissues of chick penguins that could indicate biomagnification phenomena for Al, Cr, Mn, As, Cd and Pb. However, for the other studied metals we observed that some tissues of chick penguins concentrated levels significantly higher than those detected in their stomach contents. In this way, Fe and Cu levels in liver were significantly higher than levels detected in stomach content (Fe: $U = 47.00$, $p = 0.01$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$; Cu: $t = 2.74$, $p = 0.01$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$). Ni levels in bone were significantly higher than levels detected in stomach content ($U = 14.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 11$, $n_2 = 15$). Zn levels in all the studied tissues were higher than levels detected in stomach content (liver: $U = 16.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$; kidney: $U = 22.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$; muscle: $U = 24.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$; bone: $U = 3.00$, $p = 0.000$, $n_1 = 11$, $n_2 = 15$; feather: $U = 34.00$, $p = 0.001$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$). Se levels in liver and kidney were higher than levels detected in stomach content (liver: $t = 2.26$, $p = 0.03$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$; kidney: $t = 2.17$, $p = 0.04$, $n_1 = 15$, $n_2 = 15$).

Inter-specific differences

Inter-specific differences can be observed in table 30.

Correlations among elements

Correlations between pairs of elements can be observed in table 31.

5.1.2 Discussion

The highest levels of Cd in this study were detected in hepatic and renal tissues, which is a normal pattern of Cd accumulation in chick seabirds (e.g. Smichowski et al., 2006; Wenzel & Grabielsen, 1995). We observed a ratio liver/kidney for Cd concentrations lower than 1 (ratio = 0.26) that showed a higher Cd affinity for renal

tissue. Despite the short life of the studied specimens, this low ratio used to indicate a long exposure to Cd (chronic or sub-chronic exposure) that could have begun during egg development by maternal transfer of little Cd inputs as occurs in other seabirds (Agusa et al., 2005) and other oviparous organisms (Guirlet et al., 2008; Nagle et al., 2001). Our results are similar to those previously described by Smichowski et al. (2006) in soft tissues of chick penguins (*P. adeliae*) from King George Island. However, we found strongly lower Cd levels than those described in renal tissues of adult penguins and other adult seabirds from Antarctic (Honda et al., 1986; Jerez et al., unpublished results, see section 4; Nygard et al., 2001; Szefer et al., 1993a) which is explained due to the accumulation along their life cycle giving rise to levels higher than $300 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.. These great differences among chicks and adult specimens point out that there exists an accumulation of Cd with age in Antarctic penguins.

Despite their short life, feathers of some penguin chicks showed Cd levels (maximum level: $0.23 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) similar to those considered toxic for other seabirds (0.10 - $2.00 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Burger & Gochfeld, 2000) and seem to be reflecting a high exposure to this toxic metal during the period of feather growth. In comparison to other studies that recently analyzed Cd levels in chicks or young specimens of seabirds from other regions of the world, we did not observed a clear pattern. We found similar Cd levels or even higher in feathers ($0.02 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. by Barbieri et al., 2010; $0.03 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. by Burger et al., 2008) and similar or lower in soft tissues (0.28 , 0.90 and $0.41 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle, respectively, by Malinga et al., 2010; 0.21 - $0.53 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver by Hegseth et al., 2011a).

We found the highest Cu levels in liver in accordance to previous studies in penguin chicks and other Antarctic seabirds (e.g. Scheneider et al., 1985; Smichowski et al., 2006). In comparison to other seabird chicks from other regions of the world, we found similar levels in feathers of chick penguins from King George Island to those detected in feathers of seabird chicks from Brazilian coasts ($13.76 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. by Barbieri et al., 2010) and even higher in chick penguins from Deception Island (see table 30). We also found similar Cu levels in kidney and muscle of chick penguins to those detected in chicks of Arctic seabirds (12.80 and $4.30 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in kidney and muscle, respectively, by Malinga et al., 2010) but we found Cu levels in liver one order of magnitude higher than those ($11.50 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. by Malinga et al., 2010). In this way, Nygard et al. (2001) suggested that Antarctic seabirds usually present high Cu levels in

liver because Antarctic krill contains high amounts of this metal. But these high Cu levels in liver of penguin chicks can also be related with anthropogenic sources of pollution, since it was proved that human activities can contribute to increase Cu concentrations in coastal marine birds (Eiser, 1981).

The highest levels of Mn were found in liver, kidney and bone of penguin chicks in accordance with previous studies (Honda et al., 1986; Smichowski et al., 2006). We found Mn levels in soft tissues similar to those detected by Smichowski et al. (2006) in penguin chicks from King George Island (10.00, 9.40 and 1.50 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle, respectively). On the contrary, we found levels of Mn slightly higher than those detected two decades ago by Honda et al. (1986) in adult Antarctic penguins from Rumpa Island (1.48, 1.43, 1.51, 1.51 and 2.22 times higher in liver, kidney, muscle, bone and feather, respectively) and by Szefer et al. (1993a) in adult Antarctic penguins from the Antarctic Peninsula area (1.19-1.77 and 5.54-1.49 times higher in liver and muscle, respectively). Although these comparisons must be cautiously considered due to data are still scarce and come from different Antarctic areas, an increase in Mn environmental levels can be occurring in Antarctica. Similar results have been found in samples from adult penguins (Jerez et al., unpublished results, see section 4). This increase on Mn levels in other regions of the world has been related to the use of Mn as additive in combustibles (Burger & Gochfeld, 2000) and a similar tendency could exist in the study area. In comparison to levels detected in other regions, we found similar or even higher levels of Mn in penguin chicks than those detected in feathers of seabird chicks from Alaska or Brazilian coasts (1.18 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. by Barbieri et al., 2010; 0.96 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. by Burger et al., 2008) and soft tissues of Arctic seabird chicks (7.97, 4.20 and 1.03 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle, respectively, by Malinga et al., 2010).

We did not find a clear pattern of Pb accumulation among the analyzed tissues of penguin chicks. Pb is a non-essential element that in seabirds exhibits generally levels lower than 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Norheim, 1987) as occurs in the present study. If we compare our results with those obtained in other regions, we found that internal tissues of penguin chicks showed Pb levels similar to those detected in young specimens of seabirds from the Northern Hemisphere (ranging from non-detectable levels to 0.70 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Hegseth et al., 2011a; Ribeiro et al., 2009). Regarding feathers, we found lower levels in chicks of *P. adeliae* and *P. antarctica* than those detected in young specimens

from the Northern Hemisphere and South Atlantic Ocean (ranging from 0.64 to 1.47 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Barbieri et al., 2010; Burger et al., 2008; Burger & Gochfeld, 2000; Ribeiro et al., 2009), whereas *P.papua* feathers in this study showed similar levels to those (maximum level detected in this study: 2.27 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). This toxic metal is usually analyzed for studying the presence of anthropogenic pollution in the environment since several human activities contribute to increase natural Pb levels (e.g. Schwarz et al., 2012; Sun & Xie, 2001). The obtained results suggest that anthropogenic activities can be increasing Pb environmental levels in the study area since Pb levels detected in penguin chicks were comparable to those detected in seabirds coming from “a priori” more polluted regions (Northern Hemisphere and South Atlantic Ocean). However, levels found in Antarctic penguin chicks in this study were below the levels known to cause adverse effects in seabirds (4 $\mu\text{g g}^{-1}$ in feathers by Burger & Gochfeld, 2000).

Burger et al. (2008) suggested that bird feathers can play an important role in Pb elimination from the organism due to its high affinity to calcified tissues. For this reason Pb levels used to be higher in feather and bone than in other bird internal tissues (e.g. Castro et al., 2011; Ribeiro et al., 2009; Thomas et al., 2009). According to this, our samples of *P. papua* chicks showed detectable Pb levels only in feathers and bones whereas soft tissues showed non-detectable amounts. On the contrary, this pattern was not clearly observed in *P.adeliae* and *P. antarctica* chicks.

The highest As levels in this study were found in soft tissues which is indicative of recent exposure as this metal is rapidly distributed and retained in these tissues when goes into the organisms (ATSDR, 2007). We found similar As levels to those described by Smichowski et al. (2006) in penguin chicks (0.50-0.81 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in soft tissues) which are usual levels and non-toxic for seabirds (usual levels lower than 3 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. and toxic levels higher than 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Braune & Noble, 2009; Neff, 1997). The diet seems to be an important source of As for penguin chicks as relatively high As levels were detected in their stomach contents (ranging from 0.25 to 4.02 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). High As levels in krill can be caused by the the presence of volcanic activity and volcanic rocks in the study area (Baker et al., 1969; Baker & McReath, 1971; Thomson et al., 2001; Vodopidez et al., 2001) which constitutes an important natural input of elements such as As (Smichowski et al., 2006).

The highest Se levels were found in liver and kidney in accordance with previous studies in Antarctic seabirds (Nygard et al., 2001; Smichowski et al., 2006). We observed Se concentrations similar to those described by Smichowski et al. (2006) in penguin chicks but lower than concentrations detected in adult Antarctic penguins in the same study area (ranging from 3.17 to 69.88 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in soft tissues; Jerez et al., unpublished results, see section 4) and adult specimens of other Antarctic seabirds (ranging from 10.20 to 136.00 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in soft tissues; Nygard et al., 2001). These results suggest that penguins can accumulate Se during their life cycle. In comparison to other seabird chicks studied in other regions of the world, we found similar or higher Se levels in feathers of penguin chicks than those detected in feathers of seabird chicks from the Arctic Ocean or the Mediterranean Sea (0.85-3.62 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Abdennadher et al., 2010; Burger et al., 2008; Burger & Gochfeld, 2009). We also found higher Se levels in liver of penguin chicks than those detected in liver of Arctic seabird chicks (1.40-4.40 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Hegseth et al., 2011b). These high Se levels detected in the studied specimens can be related with relatively high Se amount of krill (Se levels in stomach contents ranging from 1.66 to 8.26 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.). The 93.33% of the analyzed stomach contents showed Se concentrations above the level considered as potentially toxic for aquatic birds (more than 3 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Lemly, 1993).

The highest levels of Ni were found in bones which is a common accumulation pattern for this metal in other birds and mammals (Outridge & Scheuhammer, 1993a). Data on nickel levels in seabirds are still scarce. Barbieri et al. (2010) analyzed Ni levels in feathers of juvenile seabirds from the Brazilian coasts and found levels 1 or 2 orders of magnitude higher than ours (2.23 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w.; Barbieri et al., 2010). It has been proposed that tissues of wild birds from uncontaminated environments generally contain between 0.1 and 5 $\mu\text{g Ni g}^{-1}$ d.w. (Outridge & Scheuhammer, 1993a). In accordance with this, our results suggest that penguin chicks were exposed to relatively low Ni environmental levels.

The highest Cr levels were found in muscle tissue which is indicative of recent exposure whereas Cr tends to accumulate in bones of animals chronically exposed (Outridge & Scheuhammer, 1993b). Regarding seabird chicks from other regions of the world, we did not find clear differences among Cr concentrations. On the one hand we observed Cr levels in liver of penguin chicks similar or higher (0.80-22.20 times higher) than those detected in liver of Arctic seabird chicks (Hegseth et al., 2011a). On the

other hand, feathers of penguin chicks showed Cr levels lower (1.49-12.46 times lower) than those detected in feathers of chicks and juvenile specimens of other seabirds from the Arctic and South Atlantic Ocean (Barbieri et al., 2010; Burger et al., 2008; Burger & Gochfeld, 2009). Regarding Cr levels previously detected in Antarctic penguins, as in the case of Ni, data are still scarce. Szefer et al. (1993a) found Cr levels in soft tissues of penguins from the Antarctic Peninsula (ranging from non-detectable to $0.09 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) lower than levels we found. These results suggest that Cr levels could have increased in this area during the last two decades coinciding with an increase of the human presence. Similar results have been found considering samples from adult penguins in the study areas (Jerez et al., unpublished results, see section 4). Human presence and its associated activities (traffic of vessels, aircrafts and road vehicles, accidental oil spills, fuel combustion, waste incineration, etc.) could be responsible, at least partially, of the increase in Cr environmental levels as occurs in other areas (Alam & Sadiq, 1993; Caccia et al., 2003).

We found the highest Zn levels in bones as occurs in other seabirds (Nam et al., 2005). Zn levels in muscle and bone of penguin chicks were similar or higher than levels detected in these tissues of adult specimens (35.70 - $80.46 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in muscle and 198.40 in bone by Honda et al., 1986; Szefer et al., 1993a). This high Zn levels can be related with large requirements of this metal in bird chicks that require higher Zn amounts than adult specimens (Mas, 1993). Despite this large requirement, penguin chicks showed higher Zn levels than other seabird chicks from the Arctic (64.70 , 73.70 and $53.30 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle by Malinga et al., 2010) and South Atlantic Ocean ($60.85 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in feather by Barbieri et al., 2010), which is indicative of a higher Zn presence in the study area.

The highest Fe levels were found in liver and kidney in accordance with previous studies (Honda et al., 1986; Szefer et al., 1993a). In comparison to other regions, lower levels of Fe levels were found in soft tissues of Arctic seabird chicks (98.70 - 700.70 , 254.00 and $9.60 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w. in liver, kidney and muscle, respectively; Hegseth et al., 2011a; Maling et al., 2010). These results indicate that Fe levels are higher in the study area in comparison to the Arctic, which can be related to the high availability of this metal in the sediments of King George and Deception Islands (Almendros et al., 1997; Deheyn et al., 2005; Rey et al., 1995; Santos et al., 2005).

We found the highest Al levels in muscle and feather of penguin chicks. This metal seems to have a high affinity to feathers as other seabirds exhibited the highest Al levels in these samples (Lucia et al., 2010). Data on Al levels in seabird or bird tissues from anywhere in the world are scarce despite this metal can cause them important adverse effects, for example, disruptive effects on calcium homeostasis and phosphorus metabolism, metabolic diseases in bone, muscle weakness, decreased growth rates, defective eggshell formation, impaired breeding or intrauterine bleeding (Capdevielle et al., 1998; Nyholm, 1981; Scheuhammer, 1987). We found similar Al levels to those described in liver, kidney and feather of seabirds from French Atlantic coasts, but higher in muscle (3.20-11.80, 6.10-8.90, 96.00-226.00, 2.50-17.20 $\mu\text{g g}^{-1}$ d.w., respectively, by Lucia et al., 2010). High Al concentrations detected in muscle of penguin chicks can be related to recent exposure to high levels through diet (their stomach contents also showed elevated Al concentrations), in accordance with previous studies that pointed out the abundance and bioavailability of Al in the study area (Deheyn et al., 2005; Santos et al., 2005). Our results suggest that feather and muscle can be more useful samples for Al monitoring than liver or kidney that often show low Al accumulation and do not reflect exposures to high environmental levels (Lucia et al., 2010; Scheuhammer, 1987).

In general, our results in feathers of penguin chicks are in accordance to those previously detected in feathers of adult specimens from the same islands (Jerez et al., 2011, see section 3), although we found lower levels for Cr (5.48-35.39 times lower) and Ni (7.00-57.00 times lower) in chicks. Higher levels of Cr and Ni in adults can be related to a longer exposition to these metals during their life cycle, so higher internal levels in adults can cause a higher elimination of Cr and Ni through feathers.

Comparisons among levels detected in stomach contents of penguin chicks and their tissues did not indicate biomagnification for Al, Cr, Mn, As, Cd and Pb. On the contrary, biomagnification phenomena in the Antarctic food web could be occurring for Fe, Ni, Cu, Zn and Se as levels in some internal tissues of penguins were higher than those detected in penguins' preys (stomach contents). In fact, it has been proposed that metals can be magnified along the Antarctic food web due to slow-growth and long-life of organisms so higher concentrations than that of comparable species from temperate ecosystems can be reached (Clason et al., 2003; Kahle & Zauke, 2003). Moreover, high levels of Fe, Cu and Zn in tissues of penguin chicks can also be due to young specimens

used to present high requirements of these essential metals (Mas, 1993) that can be metabolically regulated in seabird tissues (Smichowski et al., 2006).

Most of the observed inter-specific differences showed higher concentrations of metals in tissues of chinstrap than in gentoo and Adélie penguins except for Cd and Pb levels in feathers (see table 30). These results can be due to ecological or physiological differences among species such as different species-specific capacity for detoxification and elimination of metals, different absorption-elimination rates or variations in their diet. In fact, diet of penguins varies spatially and makes it difficult to compare concentrations of individuals from different colonies (Bargagli, 2005). It could be the main reason of the observed differences in this study since tissues of penguins from the same colony (gentoo and Adélie penguins from King George Island) did not show inter-specific differences. However, when feathers of these three species were collected in the same location, this pattern was also found: most of the inter-specific differences showed higher concentrations of metals and other trace elements in chinstrap penguins in comparison to gentoo and Adélie penguins (Jerez et al., 2011, see section 3), although diet differences were not excluded as responsible of that.

A large number of positive correlations were observed between pairs of elements in penguin chick tissues (54 positive correlations, 85.71% of all of them, see table 31) in accordance with previous studies of seabirds (e.g. Jerez et al., unpublished results, see section 4; Mendes et al., 2008; Nam et al., 2005; Pérez-López et al., 2006; Ribeiro et al., 2009). These correlations may suggest common sources of exposure, storage pathways or detoxification processes for these elements (Ribeiro et al., 2009). In addition, similar or parallel metabolic processes could exist for essential elements known to be internally regulated in birds (e.g. Cu, Zn Mn, Se or Fe), which are reflected in positive relations in soft tissues such as liver and kidney (34.92% of all detected correlations). Some of them were previously reported in seabirds (e.g. Cu-Zn by Kim et al. 1998; Pérez-López et al. 2006; Ribeiro et al., 2009) confirming the close metabolic regulation for these metals in these animals.

A relevant number of positive correlations (17.46% of all detected correlations) were particularly observed in muscle that is a short-term accumulation tissue and those could be reflecting a recent exposure to the involved metals (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Se, Cd and Pb).

In the case of feathers, these samples showed the 30.16% of all detected correlations and the 31.48% of all positive ones involving ten different elements (Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Se and Cd). So many positive correlations seem to indicate that certain amount of metals migrated to feathers through blood flow during feathers' growth and were retained there (Metcheva et al., 2006), in accordance with previous results (Jerez et al., unpublished results, see section 4). It could be a common pattern of toxic metal elimination from the penguin's organism.

It is important to highlight that some pairs of elements showed simultaneously positive relations in three or four tissues (Al-Fe, Al-Pb, Fe-Pb, Cr-Ni, Mn-Se, Mn-Cd and Se-Cd). It would confirm the existence of common inputs, regulation-storage pathways and/or detoxification-elimination processes for them.

Previous studies detected positive relations between Se-Cd and Zn-Cd in tissues of penguins and other polar seabirds (Jerez et al., 2011; Jerez et al., unpublished results, see section 3 and 4; Norheim, 1987;) and the existence of a protective role of Se and Zn against exposure to elevated Cd levels in polar regions was proposed. In accordance with this, we observed a strong positive relation between Se and Cd in kidney where this metal tends to accumulate and cause adverse effects. We also observed slighter positive relations Se-Cd in liver, muscle and feather as well as Zn-Cd in liver supporting this hypothesis. Ribeiro et al. (2009) also suggested that Se may be involved in As storage-detoxification processes in seabirds and in accordance with them we observed significant Se-As relationships in penguins' liver and feather.

We also observed positive relations among metals known to be directly related with anthropogenic activities that take place in Antarctica (see section "1. Introduction") such as Cr-Ni, Cr-As, Cr-Pb, Mn-Cd, Ni-As and Ni-Pb. These relations support the idea that common anthropogenic sources existed for these metals.

In conclusion, metals known to be emitted from anthropogenic activities such as Cr, Ni, Pb, Mn, Cd or As showed positive relations in penguin tissues reflecting that common sources of pollution could exist. Other positive relations among elements suggested similar regulation processes for essential element such as Cu, Zn, Mn, Se or Fe. Similar elimination routes could also exist, especially trough feathers. In general, non-toxic levels were observed for the studied elements except for Cd. The detected high Se and Zn levels could have played a protective role against the adverse effects

produced by exposure to high Cd levels. These results should be considered in future monitoring studies as well as the increase of Cr and Mn levels in the study area during the last years and the existence of biomagnification phenomena for metals such as Fe, Ni, Cu, Zn or Se.

Concentrations of trace elements in our samples were not as low as it could be expected and reflected that study sites exposition to trace elements is in general as high as in other places outside Antarctica such as the Arctic.

Table 30. Concentrations of trace elements (means \pm standard deviation in $\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight; n: number of non-detectable levels) in chick penguins from Antarctica and inter-specific differences.

| Tissues | Specie (Location) | Al | n | Cr | n | Mn | n | Fe | n | Ni | n | Cu | n |
|---------|-------------------------------------|----------------------------------|---|------------------------------|---|------------------|---|-----------------------|---|------------------------------|---|--------------------|---|
| Liver | <i>P. papua</i> (King George I.) | 2.12 \pm 2.05 | 0 | 0.18 \pm 0.08 | 0 | 10.51 \pm 3.74 | 0 | 854.55 \pm 136.61 | 0 | 0.01 \pm 0.01 | 0 | 142.40 \pm 63.85 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 6.81 \pm 11.91 | 0 | 0.12 \pm 0.06 ^a | 0 | 12.01 \pm 5.80 | 0 | 1364.01 \pm 351.09 | 0 | 0.01 \pm 0.01 ^a | 4 | 92.06 \pm 74.53 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 15.52 \pm 15.55 | 0 | 1.11 \pm 0.95 ^b | 0 | 11.42 \pm 3.24 | 0 | 2075.44 \pm 1745.28 | 0 | 0.07 \pm 0.07 ^b | 0 | 95.10 \pm 48.67 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | $H_{2,12} = 7.22$ (0.03) | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 7.76$ (0.02) | | NS | |
| Kidney | <i>P. papua</i> (King George I.) | 6.91 \pm 3.95 | 0 | 0.21 \pm 0.14 | 0 | 7.54 \pm 3.47 | 0 | 302.35 \pm 103.68 | 0 | 0.06 \pm 0.05 | 0 | 14.26 \pm 4.33 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 4.09 \pm 7.05 | 0 | 0.21 \pm 0.13 ^a | 0 | 11.18 \pm 6.12 | 0 | 327.03 \pm 112.89 | 0 | 0.01 \pm 0.01 ^a | 0 | 11.85 \pm 3.69 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 10.93 \pm 10.57 | 0 | 0.75 \pm 0.54 ^b | 0 | 10.19 \pm 2.63 | 0 | 397.49 \pm 82.35 | 0 | 0.08 \pm 0.06 ^b | 0 | 13.64 \pm 2.28 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | $H_{2,12} = 7.76$ (0.02) | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 6.96$ (0.03) | | NS | |
| Muscle | <i>P. papua</i> (King George I.) | 43.71 \pm 21.93 | 0 | 0.94 \pm 0.56 | 0 | 1.46 \pm 0.43 | 0 | 180.07 \pm 81.65 | 0 | 0.04 \pm 0.01 ^a | 0 | 4.43 \pm 1.46 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 6.14 \pm 6.72 ^a | 0 | 0.46 \pm 0.23 | 0 | 1.13 \pm 0.40 | 0 | 154.97 \pm 66.71 | 0 | 0.04 \pm 0.03 ^a | 0 | 5.52 \pm 1.97 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 114.88 \pm 125.59 ^b | 0 | 1.49 \pm 0.55 | 0 | 2.55 \pm 1.53 | 0 | 328.59 \pm 102.73 | 0 | 1.83 \pm 2.67 ^b | 0 | 6.82 \pm 1.20 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | $H_{2,12} = 9.98$ (0.01) | | NS | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 9.39$ (0.01) | | NS | |
| Bone | <i>P. papua</i> (King George I.) | 69.95 | 0 | 0.57 | 0 | 11.01 | 0 | 154.13 | 0 | 3.37 | 0 | 0.79 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 11.89 \pm 3.69 | 0 | 0.14 \pm 0.08 | 0 | 8.31 \pm 3.11 | 0 | 78.67 \pm 33.16 | 0 | 1.02 \pm 0.37 | 0 | 0.96 \pm 0.53 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 7.38 \pm 2.93 | 0 | 0.20 \pm 0.12 | 0 | 12.50 \pm 2.13 | 0 | 117.49 \pm 40.10 | 0 | 3.82 \pm 2.52 | 0 | 0.71 \pm 0.36 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | NS | | NS | | NS | |

| | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|--|-------------------|---|--------------------------|---|---------------|---|-------------------|---|----------------------------|---|---------------------------|---|
| Feather | <i>P. papua</i> (King George I.) | 68.55 ± 76.39 | 0 | 0.13 ± 0.06 ^a | 0 | 0.95 ± 0.69 | 0 | 42.85 ± 37.05 | 0 | 0.01 ± 0.01 ^a | 3 | 6.87 ± 1.54 ^a | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 64.30 ± 61.75 | 0 | 0.18 ± 0.12 | 0 | 2.01 ± 0.52 | 0 | 79.80 ± 62.22 | 0 | 0.05 ± 0.03 | 0 | 13.32 ± 8.22 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 142.00 ± 206.33 | 0 | 0.68 ± 0.49 ^b | 0 | 2.25 ± 3.17 | 0 | 173.86 ± 173.09 | 0 | 0.13 ± 0.10 ^b | 0 | 18.57 ± 2.78 ^b | 0 |
| | K-W Chi Square and F-ANOVA values (<i>p</i>) | NS | | $H_{2,12} = 8.34 (0.02)$ | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 10.21 (0.000)$ | | $F_{2,12} = 6.63 (0.01)$ | |
| Stomach cont. | <i>P. papua</i> (King George I.) | 2010.15 ± 3231.82 | 0 | 1.15 ± 1.27 | 0 | 36.89 ± 66.39 | 0 | 2595.45 ± 5015.93 | 0 | 0.50 ± 0.56 | 0 | 58.69 ± 28.48 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 282.01 ± 235.63 | 0 | 1.06 ± 0.77 | 0 | 10.57 ± 8.76 | 0 | 277.18 ± 135.74 | 0 | 0.41 ± 0.41 | 0 | 57.81 ± 35.82 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 477.85 ± 192.75 | 0 | 5.77 ± 7.14 | 0 | 12.40 ± 6.46 | 0 | 1051.56 ± 819.46 | 0 | 0.57 ± 0.12 | 0 | 65.67 ± 50.01 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | NS | | NS | | NS | |

^{a,b}Concentrations marked with different letters were significantly different among species; NS: $p > 0.05$

Table 30 (continued)

| Organs and tissues | Specie / Location | Zn | n | As | n | Se | n | Cd | n | Pb | n |
|--------------------|-------------------------------------|-----------------|---|-------------|---|--------------|---|--------------------------|---|---------------------------|---|
| Liver | <i>P. papua</i> (King George I.) | 152.91 ± 45.53 | 0 | 0.45 ± 0.18 | 0 | 6.00 ± 0.96 | 0 | 0.08 ± 0.04 | 0 | 0.0008* ^a | 5 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 133.88 ± 71.42 | 0 | 0.60 ± 0.40 | 0 | 7.65 ± 2.95 | 0 | 0.06 ± 0.05 | 0 | 0.04 ± 0.07 | 3 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 132.20 ± 64.40 | 0 | 0.47 ± 0.14 | 0 | 8.25 ± 2.33 | 0 | 0.11 ± 0.08 | 0 | 0.18 ± 0.02 ^b | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 10.18 (0.01)$ | |
| Kidney | <i>P. papua</i> (King George I.) | 125.43 ± 12.60 | 0 | 0.40 ± 0.23 | 0 | 5.57 ± 0.33 | 0 | 0.20 ± 0.05 ^a | 0 | 0.0008* ^a | 5 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 85.74 ± 19.49 | 0 | 0.44 ± 0.24 | 0 | 6.62 ± 2.82 | 0 | 0.20 ± 0.15 ^a | 0 | 0.05 ± 0.12 | 4 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 92.83 ± 32.19 | 0 | 0.50 ± 0.09 | 0 | 11.20 ± 4.03 | 0 | 0.54 ± 0.29 ^b | 0 | 0.14 ± 0.02 ^b | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 7.98 (0.02)$ | | $H_{2,12} = 8.27 (0.02)$ | |
| Muscle | <i>P. papua</i> (King George I.) | 106.60 ± 37.42 | 0 | 0.40 ± 0.23 | 0 | 2.04 ± 0.35 | 0 | 0.01 ± 0.01 | 0 | 0.0008* ^a | 5 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 104.34 ± 49.70 | 0 | 0.39 ± 0.25 | 0 | 2.37 ± 0.51 | 0 | 0.01 ± 0.02 | 0 | 0.04 ± 0.10 ^a | 4 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 105.08 ± 55.41 | 0 | 0.59 ± 0.30 | 0 | 2.67 ± 0.57 | 0 | 0.01 ± 0.01 | 0 | 0.20 ± 0.06 ^b | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | NS | | $H_{2,12} = 10.41 (0.01)$ | |
| Bone | <i>P. papua</i> (King George I.) | 184.11 | 0 | 0.13 | 0 | 0.82 | 0 | 0.001 | 0 | 0.19 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 227.01 ± 121.11 | 0 | 0.13 ± 0.08 | 0 | 1.15 ± 0.33 | 0 | 0.01 ± 0.004 | 0 | 0.04 ± 0.10 | 4 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 235.01 ± 40.62 | 0 | 0.14 ± 0.13 | 0 | 1.03 ± 0.30 | 0 | 0.004 ± 0.001 | 0 | 0.14 ± 0.02 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | NS | | NS | |

| | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-------------------------------------|----------------------------|---|--------------------------|---|-------------|---|--------------------------|---|--------------------------|---|
| Feather | <i>P. papua</i> (King George I.) | 80.59 ± 10.85 | 0 | 0.12 ± 0.05 ^a | 0 | 2.61 ± 0.80 | 0 | 0.06 ± 0.04 | 0 | 0.87 ± 0.86 ^a | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 61.11 ± 20.30 ^a | 0 | 0.17 ± 0.11 | 0 | 5.71 ± 3.62 | 0 | 0.13 ± 0.08 ^a | 0 | 0.24 ± 0.38 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 94.99 ± 5.29 ^b | 0 | 0.48 ± 0.30 ^b | 0 | 3.67 ± 0.71 | 0 | 0.02 ± 0.03 ^b | 0 | 0.06 ± 0.04 ^b | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | $H_{2,12} = 11.18 (0.004)$ | | $H_{2,12} = 8.54 (0.01)$ | | NS | | $H_{2,12} = 6.14 (0.04)$ | | $H_{2,12} = 6.74 (0.03)$ | |
| Stomach content | <i>P. papua</i> (King George I.) | 31.46 ± 12.52 | 0 | 2.04 ± 2.92 | 0 | 4.08 ± 1.69 | 0 | 0.24 ± 0.15 | 0 | 0.17 ± 0.14 | 0 |
| | <i>P. adeliae</i> (King George I.) | 71.16 ± 48.82 | 0 | 2.00 ± 1.58 | 0 | 5.97 ± 1.40 | 0 | 0.23 ± 0.17 | 0 | 0.40 ± 0.26 | 0 |
| | <i>P. antarctica</i> (Deception I.) | 31.04 ± 10.02 | 0 | 1.92 ± 1.11 | 0 | 6.13 ± 1.96 | 0 | 0.32 ± 0.34 | 0 | 0.33 ± 0.11 | 0 |
| | K-W Chi Square values (<i>p</i>) | NS | | NS | | NS | | NS | | NS | |

*Detection Limit Value; ^{a,b}Concentrations marked with different letters were significantly different among species; NS: *p* > 0.05

Table 31. Correlations among elements in tissues of penguin chicks

| Elements | Al | Cr | Mn | Fe | Ni | Cu | Zn | As |
|----------|----|---|--|---|---|--|---|--------------------------|
| Al | - | L* (<i>Rho</i> = 0.63) M (<i>Rho</i> = 0.53) | M*** (<i>Rho</i> = 0.70) B* (<i>Rho</i> = -0.65) F*** (<i>Rho</i> = 0.84) | K* (<i>Rho</i> = 0.53) M* (<i>Rho</i> = 0.63) F*** (<i>Rho</i> = 0.89) | | M* (<i>Rho</i> = 0.54) B* (<i>Rho</i> = 0.61) | | |
| Cr | - | - | | K* (<i>Rho</i> = 0.59) | L** (<i>Rho</i> = 0.69) M* (<i>Rho</i> = 0.62) F** (<i>Rho</i> = 0.70) | B* (<i>Rho</i> = 0.66) | B*** (<i>Rho</i> = -0.91) F* (<i>Rho</i> = 0.59) | F* (<i>Rho</i> = 0.58) |
| Mn | - | - | - | M* (<i>Rho</i> = 0.63) F*** (<i>Rho</i> = 0.80) | | | L*** (<i>Rho</i> = 0.85) | |
| Fe | - | - | - | - | | | | F** (<i>Rho</i> = 0.67) |
| Ni | - | - | - | - | - | F* (<i>Rho</i> = 0.56) | | F** (<i>Rho</i> = 0.78) |
| Cu | - | - | - | - | - | - | L* (<i>Rho</i> = 0.63) B** (<i>Rho</i> = -0.80) | F** (<i>Rho</i> = 0.68) |
| Zn | - | - | - | - | - | - | - | F* (<i>Rho</i> = 0.59) |
| As | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Se | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cd | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Pb | - | - | - | - | - | - | - | - |

L = liver; K = kidney; M = muscle; B = bone; F = feather; **p* < 0.05; ***p* < 0.01; ****p* < 0.0001

Table 31 (continued)

| Elements | Se | Cd | Pb |
|----------|--|--|---|
| Al | | | L*** ($Rho = 0.84$) K* ($Rho = 0.56$) M* ($Rho = 0.58$) |
| Cr | | B* ($Rho = -0.70$) | L** ($Rho = 0.75$) K** ($Rho = 0.59$) |
| Mn | L* ($Rho = 0.64$) K** ($Rho = 0.68$) M* ($Rho = 0.60$) F** ($Rho = 0.68$) | L* ($Rho = 0.64$) K* ($Rho = 0.61$) F** ($Rho = 0.76$) | |
| Fe | L* ($Rho = 0.57$) F* ($Rho = 0.55$) | B** ($Rho = -0.85$) | K* ($Rho = 0.53$) M* ($Rho = 0.59$) B* ($Rho = 0.74$) |
| Ni | | B** ($Rho = -0.81$) | M*** ($Rho = 0.81$) B* ($Rho = 0.67$) |
| Cu | F** ($Rho = 0.67$) | L* ($Rho = 0.54$) | F** ($Rho = -0.79$) |
| Zn | L* ($Rho = 0.59$) | L*** ($Rho = 0.82$) | |
| As | L** ($Rho = 0.66$) F* ($Rho = 0.58$) | | |
| Se | - | L* ($Rho = 0.59$) K*** ($Rho = 0.89$) M** ($Rho = 0.74$) | F* ($Rho = -0.55$) |

| | | | | |
|----|---|---|-------------------------|----------------------------|
| | | | F* (<i>Rho</i> = 0.58) | |
| Cd | - | - | | B*** (<i>Rho</i> = -0.80) |
| Pb | - | - | | - |

L = liver; K = kidney; M = muscle; B = bone; F = feather; **p* < 0.05; ***p* < 0.01; ****p* < 0.0001

CAPÍTULO 6

6 PRESENCIA DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS (PCBs, PFCs, PHTHALATES, BPA) EN PINGÜINO BARBIJO DE ISLA DECEPCIÓN

En este capítulo se estudia la presencia y distribución tisular de compuestos orgánicos persistentes (bifenilos policlorados) y contaminantes emergentes (compuestos perfluorados, ftalatos y bisfenol A) en pingüinos barbijo (*Pygoscelis antarctica*) procedentes de isla Decepción (archipiélago de las Shetland del Sur, Antártida).

Se han estudiado un total de 35 muestras correspondientes a 4 ejemplares adultos y 6 pollos (ver apartado 2.2). Por su relevancia en la cinética de los compuestos analizados, se seleccionaron los siguientes tejidos: hígado (4 de adultos y 3 de pollos), riñón (4 y 3), músculo (4 y 5), corazón (4 y 2) y cerebro (3 y 2). Así mismo se estudió la presencia de estos contaminantes orgánicos en una muestra de krill, principal presa de los pingüinos pigoscélidos en la zona de estudio, procedente del contenido estomacal de los ejemplares de pingüino estudiados.

El tratamiento estadístico aplicado a los resultados obtenidos en este capítulo fue el siguiente: la prueba T de Student y su análoga no paramétrica (U de Mann-Whitney) fueron usadas para identificar diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de contaminantes entre adultos-pollos y predador-presa; el test one-way ANOVA y su análogo no paramétrico (Kruskal-Wallis), con sus correspondientes pruebas post-hoc (Bonferroni y “least significant difference between mean ranks”, respectivamente), fueron usados para identificar diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de contaminantes en los distintos tejidos internos de pingüinos analizados. Para el análisis de los datos, la mitad del valor del límite de detección (LOD/2) fue asignado a las muestras que no mostraron niveles detectables de contaminantes. Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar y mínimo-máximo sobre peso húmedo (wet weight, w.w.).

6.1 PCBs levels in *Pygoscelis antarctica*

Analyses revealed the presence of PCBs in chinstrap penguins and krill from Deception Island. These results are consistent with those expected since several studies have reported the existence of atmospheric transport of PCBs from South America to the Antarctic Peninsula area (e.g. Montone et al., 2003). Besides, these compounds were already detected at the end of the 1960s in egg samples of Antarctic penguins from Ross Sea region (Risebrough et al., 1968). Since then more than forty articles have studied the abundance of POP's in *Pygoscelis* penguins although data are still scarce and heterogeneous in some Antarctic sectors and species. In fact, chinstrap penguin is the species less studied in this issue (Corsolini, 2011). PCBs' levels detected in our samples are shown in table 32.

Comparisons among the concentrations of sumPCBs in adults, chicks and krill can be observed in Fig. 40, 41, 42, 43 and 44. Non-significant differences were found in these comparisons ($p > 0.05$) probably due to the limited sample size. However, regarding age differences we can see a similar pattern in liver, muscle and heart. In these tissues sumPCBs were between 25 and 52% lower in chicks than in adult specimens. On the contrary, in kidney and brain sumPCBs were between 18 and 47% higher in chicks than in adults. SumPCBs' level in krill was between 14 and 83% lower than levels detected in penguin tissues and these results are indicative of biomagnification processes previously reported for PCBs in other locations in Antarctica (e.g. Cipro et al., 2010; Corsolini & Focardi, 2000). The krill sample analysis allowed estimating the biomagnification factor which resulted in a maximum level of 5.85 ($BMF = \text{PCBs in penguins' brain} / \text{PCB in krill}$). This BMF was slightly higher than those found by Cipro et al. (2010) between *Pygoscelis* penguins and krill from King George Island (2.10-3.02).

In Fig. 45 we can see PCBs' distribution in penguin tissues. Non-significant differences among tissues were found ($p > 0.05$) probably due again to the limited sample size. However, these results show that adult specimens accumulated PCBs mainly in liver (33%) and muscle (25%) whereas brain showed the highest levels in chicks (36%). These three tissues showed sumPCBs' levels lower but in the same order of magnitude than those detected by Corsolini et al. (2007, 2009) in blood and eggs of chinstrap penguins from King George Island (mean level: 4500 and 6000 pg g^{-1} ,

respectively). On the contrary, rest of tissues analyzed in the present study showed levels of PCBs one order of magnitude lower. Our results also showed PCBs' levels one or two orders of magnitude lower than those found by Cipro et al. (2010) in eggs of *Pygoscelis* penguins from King George Island (26000-37300 pg g⁻¹). Our samples of liver, muscle, heart and brain also contained 4-53 times lower levels of PCBs than tissues of chinstrap penguins from King George Island (7150 pg g⁻¹, 20498 pg g⁻¹, 2474 pg g⁻¹ and 23074 pg g⁻¹ in liver, muscle, heart and brain, respectively; Gesi, 2009). Ecological niche population differentiation could be a hypothesis to explain these results. In regard to that, there are evidences that even little spatial variation can lead to significant variation inter or intra-specifically (Cipro et al., 2010).

Liver of chinstrap penguins in our study also showed levels around one order of magnitude lower than those detected in liver and blood of other Antarctic seabirds such as south polar skuas (11150 pg g⁻¹ in liver by Corsolini et al., 2002; 9000 pg g⁻¹ in blood by Bustnes et al., 2010). These differences among seabirds are consistent with those expected since flying seabird species that overwinter north of the Southern Ocean often accumulate higher contaminant levels than penguins that overwinter in the Antarctic seawaters (Corsolini, 2009).

Regarding krill, our results were 5-8 times lower than levels found in krill from King George Island by Maisano (2009) and from Ross Sea by Corsolini et al. (2002) (1129 and 1900 pg g⁻¹, respectively).

Next, we can see differences among PCB congeners (fingerprints) in adults, chicks and krill (Fig. 46, 47, 48, 49, 50 and 51). As we saw in Fig. 45, liver was the main organ for PCBs' accumulation in adult penguins. In this organ PCB 37 made up 24% of the residue in adult penguins (Fig. 46A). In chicks, brain was the main organ for PCB's accumulation (Fig. 45). In this tissue PCB 37, PCB 110 and PCB 114 made up 18%, 18% and 15% of the residue, respectively (Fig. 50B). Three congeners identified as predominant in our samples showed also high percentages in the total residue of chinstrap penguins from King George Island (PCB 110 and PCB 153 in liver and PCB 52 and in heart; Gesi, 2009). Corsolini et al. (2007) identified PCB 95 as one of the predominant congeners in blood of chinstrap penguins from King George Island and this congener was also relevant in our results, especially in krill (PCB 95 made up 63% of the residue). Regarding samples of krill coming from King George Island and

analyzed by Maisano (2009), PCB 99 was identified as a predominant congener in accordance with our results, but not PCB 95 and PCB 187 which were not found and <2% of the total residue, respectively.

Unlike the results obtained in blood of chinstrap penguins from King George Island (Corsolini et al., 2007), PCB 138 and PCB 153 were abundant congeners in some of our samples (see Fig. 46A, 47A, 48A, 48B, 49B and 50B). These congeners were also identified as abundant compounds in other studies in seabirds from Antarctica, including eggs of chinstrap penguins from King George Island (Focardi et al., 1995; Schiavone et al., 2009a) and other regions of the world (Kannan et al., 2001; Pastor et al., 1995).

Besides these congeners, others were identified as abundant in our samples (more than 4% of total residue) in accordance with fingerprints found in eggs of chinstrap penguins from King George Island (PCB 114, PCB 123, PCB 118, PCB 187, PCB 128, PCB 167, PCB 180) (Schiavone et al., 2009a). These coincidences among fingerprints of adults, chicks and eggs reflect the existence of PCBs' maternal transfer in Antarctic chinstrap penguins just like was reported by Corsolini et al. (2002) for other Antarctic seabirds.

As we can see in Fig. 52, tri-CBs, tetra-CBs and penta-CBs together accounted for more than 60% of the PCB residue in all adults' tissues except for muscle. In muscle tissue hexa-CBs were the most abundant congeners (Fig. 52A). In chicks, hexa-CBs accounted for more than 60% of PCB residue in brain, whereas penta-CBs were predominant in the rest of tissues (Fig. 52B). Penta-CBs also were the most abundant class of isomers in krill (more than 80% of PCB residue, Fig. 52C). On the contrary, Cipro et al. (2010) pointed out that tetra-CBs and tri-CBs were predominant in eggs of chinstrap penguin and krill from King George Island, respectively.

Regarding coplanar PCBs and toxic equivalents (TEQs), the non-ortho PCB congeners (PCB 77, PCB 81, PCB 126 and PCB 169) were not analyzed in the present study. TEQ values of mono-ortho PCB congeners were calculated for tissues showing the highest PCBs' accumulation, liver of adult penguins and brain of chicks. Toxic equivalency factors (TEFs) proposed by the World Health Organization (Van den Berg et al., 1998) were used with this aim. Seven mono-ortho PCB congeners were below

the limit of detection in liver of adult chinstrap penguins and only PCB 105 was detected (TEQ = 0.004 pg g⁻¹). In brain of chicks five mono-ortho PCB congeners were found (PCB 105, PCB 114, PCB 118, PCB 157 and PCB 167) and TEQ value was 0.167 pg g⁻¹. This TEQ value in chicks' brain was one order of magnitude higher than the TEQ value calculated for mono-ortho PCB congeners in blood of chinstrap penguins from King George Island (Corsolini et al., 2007).

It is difficult to establish temporal trends of PCBs' concentration in the study area because of no previous data are available in Deception Island in this issue. Corsolini (2011) described an increasing trend of PCBs' concentration in eggs of chinstrap penguin from the nearby island King George since 1993 to 2005 (from 830 to 37300 pg g⁻¹). Despite governments of several countries started to ban the use and production of PCBs more than two decades ago, this increase can be related to legal or illegal stocks or equipments containing PCBs after their ban as well as the releases from the PCB sinks such as deep oceanic sediments or waters. Although our samples are different (no eggs were included in this study) and this comparison should be cautiously considered, our results on PCBs' concentration were one-two orders of magnitude lower than those measured in 2004-2005 in eggs of chinstrap penguin from King George Island and similar to those found in 1993 (Cipro et al., 2010; Schiavone et al., 2009a...). Therefore, these results are showing a contrary trend of PCBs' concentration in this Antarctic area. This decreasing trend was earlier observed in Arctic seabirds (e.g. Braune et al., 2007), whereas in Antarctica can exist a delay in the transport, accumulation and decrease of POPs' levels related to geographical factors and transport pathways (Corsolini, 2011).

Anyway, PCBs' level detected in Arctic seabirds are two-three orders of magnitude higher than those found in the present study (e.g. 124700-448700 pg g⁻¹ in blood of great black-backed and glaucous gulls; Bustnes et al., 2006). These relevant differences between the Polar Regions were previously described by Bustnes et al. (2006) and are probably a result of the different distances to the pollution sources.

Table 32. Concentrations of PCBs (average \pm SD and min-max in pg g^{-1} w.w.; N: number of analyzed samples; n: number of non-detectable levels) in tissues of chinstrap penguins and krill from Deception Island.

| Samples | 28 | | 52 | | 37 | | 95 | | 101 | |
|--------------------|-----------------------|---------|----------------------|---------|-----------------------|---------|-----------------------|---------|----------------------|---------|
| Liver (A) | 87.174 \pm 172.442 | (n = 3) | 100.788 \pm 58.821 | (n = 0) | 322.266 \pm 403.934 | (n = 2) | 112.249 \pm 49.122 | (n = 0) | 73.673 \pm 87.445 | (n = 2) |
| N = 4 | <1.907 – 345.837 | | 31.620 – 153.568 | | <1.842 – 839.107 | | 70.281 – 183.022 | | <1.426 – 175.328 | |
| Liver (C) | 71.101 \pm 121.499 | (n = 2) | 41.617 \pm 14.519 | (n = 0) | 126.986 \pm 218.352 | (n = 2) | 180.245 \pm 96.753 | (n = 0) | 39.956 \pm 67.972 | (n = 2) |
| N = 3 | <1.907 – 211.395 | | 27.044 – 56.081 | | <1.842 – 379.118 | | 111.150 – 290.822 | | <1.426 – 118.444 | |
| Kidney (A) | 126.191 \pm 250.475 | (n = 3) | 52.545 \pm 54.678 | (n = 1) | <1.842 | (n = 4) | 139.039 \pm 51.894 | (n = 0) | 32.616 \pm 63.806 | (n = 3) |
| N = 4 | <1.907 – 501.903 | | <0.199 – 119.486 | | | | 85.189 – 209.574 | | <1.426 – 128.325 | |
| Kidney (C) | 125.103 \pm 107.873 | (n = 1) | <0.199 | (n = 3) | 135.592 \pm 233.257 | (n = 2) | 118.081 \pm 204.511 | (n = 2) | 59.088 \pm 101.109 | (n = 2) |
| N = 3 | <1.907 – 195.941 | | | | <1.842 – 404.934 | | <0.012 – 354.230 | | <1.426 – 175.839 | |
| Muscle (A) | 64.199 \pm 126.490 | (n = 3) | <0.199 | (n = 4) | 151.035 \pm 300.228 | (n = 3) | 74.574 \pm 55.421 | (n = 1) | 45.247 \pm 89.068 | (n = 3) |
| N = 4 | <1.907 – 253.934 | | | | <1.842 – 601.376 | | <0.012 – 126.569 | | <1.426 – 178.849 | |
| Muscle (C) | 80.776 \pm 109.644 | (n = 3) | 46.299 \pm 103.306 | (n = 4) | <1.842 | (n = 5) | 92.548 \pm 131.903 | (n = 2) | <1.426 | (n = 5) |
| N = 5 | <1.907 – 212.753 | | <0.199 – 231.100 | | | | <0.012 – 319.631 | | | |
| Heart (A) | 245.137 \pm 217.542 | (n = 1) | 51.394 \pm 44.296 | (n = 1) | <1.842 | (n = 4) | 28.185 \pm 56.358 | (n = 3) | <1.426 | (n = 4) |
| N = 4 | <1.907 – 530.572 | | <0.199 – 107.512 | | | | <0.012 – 112.722 | | | |
| Heart (C) | <1.907 | (n = 2) | 74.645 \pm 54.542 | (n = 0) | <1.842 | (n = 2) | <0.012 | (n = 2) | <1.426 | (n = 2) |
| N = 2 | | | 36.078 – 113.212 | | | | | | | |
| Brain (A) | <1.907 | (n = 3) | 35.404 \pm 61.149 | (n = 2) | 80.086 \pm 137.119 | (n = 2) | <0.012 | (n = 3) | <1.426 | (n = 3) |
| N = 3 | | | <0.199 – 106.012 | | <1.842 – 238.417 | | | | | |
| Brain (C) | <1.907 | (n = 2) | 31.903 \pm 44.977 | (n = 1) | 151.702 \pm 213.237 | (n = 1) | 112.971 \pm 66.868 | (n = 0) | 52.025 \pm 72.566 | (n = 1) |
| N = 2 | | | <0.199 – 63.706 | | <1.842 – 302.483 | | 65.689 – 160.254 | | <1.426 – 103.337 | |
| Krill N = 1 | <1.907 | (n = 1) | <0.199 | (n = 1) | <1.842 | (n = 1) | 144.233 | (n = 0) | <1.426 | (n = 1) |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD (limit of detection).

Table 32 (continued)

| Samples | 99 | | 110 | | 151 | | 149 | | 123 | |
|----------------------------|---------------------------------------|---------|--------------------------------------|---------|-------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|--------|---------|
| Liver (A) N = 4 | 110.939 ± 101.227 <0.002 – 219.834 | (n = 1) | 131.032 ± 41.309 89.957 – 167.070 | (n = 0) | 22.350 ± 31.892 <0.520 – 67.885 | (n = 2) | 14.481 ± 21.750 <0.011 – 46.002 | (n = 2) | <1.066 | (n = 4) |
| Liver (C) N = 3 | <0.002 | (n = 3) | 70.280 ± 67.952 <0.012 – 135.644 | (n = 1) | <0.520 | (n = 3) | 40.684 ± 49.534 <0.011 – 95.846 | (n = 1) | <1.066 | (n = 3) |
| Kidney (A) N = 4 | 27.264 ± 35.091 <0.002 – 73.516 | (n = 2) | 59.897 ± 61.867 <0.012 – 146.243 | (n = 1) | 11.936 ± 23.352 <0.520 – 46.963 | (n = 3) | 5.994 ± 11.977 <0.011 – 23.959 | (n = 3) | <1.066 | (n = 4) |
| Kidney (C) N = 3 | 26.720 ± 46.278 <0.002 – 80.158 | (n = 2) | 29.988 ± 40.883 <0.012 – 76.558 | (n = 1) | 12.628 ± 12.960 <0.520 – 26.109 | (n = 1) | 6.142 ± 10.628 <0.011 – 18.414 | (n = 2) | <1.066 | (n = 3) |
| Muscle (A) N = 4 | 43.910 ± 50.718 <0.002 – 89.369 | (n = 2) | 5.700 ± 11.389 <0.012 – 22.783 | (n = 3) | 33.475 ± 47.326 <0.520 – 100.647 | (n = 2) | 29.331 ± 46.861 <0.011 – 99.239 | (n = 1) | <1.066 | (n = 4) |
| Muscle (C) N = 5 | 28.604 ± 39.747 <0.002 – 95.664 | (n = 2) | <0.012 | (n = 5) | <0.520 | (n = 5) | <0.011 | (n = 5) | <1.066 | (n = 5) |
| Heart (A) N = 4 | 42.504 ± 85.006 <0.002 – 170.013 | (n = 3) | <0.012 | (n = 4) | <0.520 | (n = 4) | 6.336 ± 12.660 <0.011 – 25.325 | (n = 3) | <1.066 | (n = 4) |
| Heart (C) N = 2 | 30.040 ± 42.481 <0.002 – 60.079 | (n = 1) | 43.637 ± 61.703 <0.012 – 87.268 | (n = 1) | <0.520 | (n = 2) | <0.011 | (n = 2) | <1.066 | (n = 2) |
| Brain (A) N = 3 | 35.045 ± 34.218 <0.002 – 68.373 | (n = 1) | 78.745 ± 136.379 <0.012 – 236.222 | (n = 2) | <0.520 | (n = 3) | 21.785 ± 37.723 <0.011 – 65.343 | (n = 2) | <1.066 | (n = 3) |
| Brain (C) N = 2 | <0.002 | (n = 2) | <0.012 | (n = 2) | 37.468 ± 52.621 <0.520 – 74.677 | (n = 1) | <0.011 | (n = 2) | <1.066 | (n = 2) |
| Krill N = 1 | 35.551 | (n = 0) | <0.012 | (n = 1) | <0.520 | (n = 1) | <0.011 | (n = 1) | <1.066 | (n = 1) |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD.

Table 32 (continued)

| Samples | 118 | | 114 | | 146 | | 153 | | 105 | |
|----------------------------|------------------|---------|------------------|---------|-----------------|---------|-------------------|---------|-----------------|---------|
| Liver (A) N = 4 | <0.427 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | <0.011 | (n = 4) | 91.611 ± 69.333 | (n = 0) | 34.656 ± 30.576 | (n = 1) |
| | | | | | | | 41.784 – 193.596 | | <0.462 – 61.992 | |
| Liver (C) N = 3 | 33.953 ± 29.246 | (n = 1) | <0.003 | (n = 3) | 22.491 ± 38.945 | (n = 2) | 37,787 ± 33,551 | (n = 1) | 6.870 ± 11.500 | (n = 2) |
| | <0.427 – 52.067 | | | | <0.011 – 67.461 | | <2.541 – 67.251 | | <0.462 – 20.149 | |
| Kidney (A) N = 4 | 91.532 ± 39.741 | (n = 0) | <0.003 | (n = 4) | 9.152 ± 18.292 | (n = 3) | <2.541 | (n = 4) | <0.462 | (n = 4) |
| | 50.726 – 146.019 | | | | <0.011 – 36.590 | | | | | |
| Kidney (C) N = 3 | 56.284 ± 52.180 | (n = 1) | 88.570 ± 153.405 | (n = 2) | <0.011 | (n = 3) | 16.739 ± 26.792 | (n = 2) | 16.005 ± 27.322 | (n = 2) |
| | <0.427 – 103.418 | | <0.003 – 265.706 | | | | <2.541 – 47.676 | | <0.462 – 47.555 | |
| Muscle (A) N = 4 | <0.427 | (n = 4) | 46.914 ± 93.825 | (n = 3) | 20.994 ± 26.923 | (n = 2) | 197.599 ± 392.657 | (n = 3) | 14.972 ± 29.483 | (n = 3) |
| | | | <0.003 – 187.652 | | <0.011 – 56.344 | | <2.541 – 786.585 | | <0.462 – 59.197 | |
| Muscle (C) N = 5 | 62.375 ± 116.234 | (n = 3) | 16.715 ± 37.373 | (n = 4) | <0.011 | (n = 5) | 41.148 ± 43.891 | (n = 2) | <0.462 | (n = 5) |
| | <0.427 – 267.556 | | <0.003 – 83.569 | | | | <2.541 – 100.448 | | | |
| Heart (A) N = 4 | 9.168 ± 17.908 | (n = 3) | 29.691 ± 43.883 | (n = 2) | <0.011 | (n = 4) | 14.235 ± 25.928 | (n = 3) | <0.462 | (n = 4) |
| | <0.427 – 36.030 | | <0.003 – 92.931 | | | | <2.541 – 53.127 | | | |
| Heart (C) N = 2 | <0.427 | (n = 2) | 47.115 ± 66.629 | (n = 1) | <0.011 | (n = 2) | 64.045 ± 18.763 | (n = 0) | <0.462 | (n = 2) |
| | | | <0.003 – 94.230 | | | | 50.778 – 77.312 | | | |
| Brain (A) N = 3 | <0.427 | (n = 3) | 65.531 ± 57.007 | (n = 1) | <0.011 | (n = 3) | <2.541 | (n = 3) | <0.462 | (n = 3) |
| | | | <0.003 – 103.699 | | | | | | | |
| Brain (C) N = 2 | 7.027 ± 9.636 | (n = 1) | 51.881 ± 73.369 | (n = 1) | <0.011 | (n = 2) | 320.642 ± 451.660 | (n = 1) | 25.028 ± 35.068 | (n = 1) |
| | <0.427 – 13.841 | | <0.003 – 103.761 | | | | <2.541 – 640.014 | | <0.462 – 49.825 | |
| Krill N = 1 | <0.427 | (n = 1) | <0.003 | (n = 1) | <0.011 | (n = 1) | <2.541 | (n = 1) | <0.462 | (n = 1) |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD.

Table 32 (continued)

| Samples | 138 | | 187 | | 183 | | 128 | | 167 | |
|----------------------------|---------------------------------------|---------|------------------------------------|---------|--------|---------|------------------------------------|---------|---------------------------------------|---------|
| Liver (A) N = 4 | 79.363 ± 86.872 <0.010 – 194.561 | (n = 1) | <0.430 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | 2.563 ± 4.032 <1.093 – 8.610 | (n = 3) | <0.010 | (n = 4) |
| Liver (C) N = 3 | <0.010 | (n = 3) | <0.430 | (n = 3) | <0.003 | (n = 3) | <1.093 | (n = 3) | <0.010 | (n = 3) |
| Kidney (A) N = 4 | 62.475 ± 77.945 <0.010 – 161.112 | (n = 2) | 21.867 ± 33.130 <0.430 – 70.142 | (n = 2) | <0.003 | (n = 4) | <1.093 | (n = 4) | <0.010 | (n = 4) |
| Kidney (C) N = 3 | 13.123 ± 22.722 <0.010 – 39.360 | (n = 2) | <0.430 | (n = 3) | <0.003 | (n = 3) | <1.093 | (n = 3) | <0.010 | (n = 3) |
| Muscle (A) N = 4 | 118.561 ± 150.871 <0.010 – 333.966 | (n = 1) | <0.430 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | <1.093 | (n = 4) | <0.010 | (n = 4) |
| Muscle (C) N = 5 | 12.591 ± 28.144 <0.010 – 62.937 | (n = 4) | 11.839 ± 25.991 <0.430 – 58.332 | (n = 4) | <0.003 | (n = 5) | <1.093 | (n = 5) | <0.010 | (n = 5) |
| Heart (A) N = 4 | <0.010 | (n = 4) | <0.430 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | <1.093 | (n = 4) | <0.010 | (n = 4) |
| Heart (C) N = 2 | <0.010 | (n = 2) | <0.430 | (n = 2) | <0.003 | (n = 2) | <1.093 | (n = 2) | <0.010 | (n = 2) |
| Brain (A) N = 3 | <0.010 | (n = 3) | <0.430 | (n = 3) | <0.003 | (n = 3) | 28.442 ± 48.316 <1.093 – 84.233 | (n = 2) | 50.116 ± 86.795 <0.010 – 150.339 | (n = 2) |
| Brain (C) N = 2 | <0.010 | (n = 2) | <0.430 | (n = 2) | <0.003 | (n = 2) | <1.093 | (n = 2) | 150.220 ± 212.436 <0.010 – 300.435 | (n = 1) |
| Krill N = 1 | <0.010 | (n = 1) | 40.891 | (n = 0) | <0.003 | (n = 1) | <1.093 | (n = 1) | <0.010 | (n = 1) |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD.

Table 32 (continued)

| Samples | 177 | | 156 | | 157 | | 180 | | 170 | |
|----------------------------|-------------------|---------|------------------|---------|-------------------|---------|-------------------|---------|-------------------|---------|
| Liver (A) N = 4 | <0.003 | (n = 4) | <1.845 | (n = 4) | <0.010 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | 145.761 ± 291.519 | (n = 3) |
| | | | | | | | | | <0.003 – 583.039 | |
| Liver (C) N = 3 | <0.003 | (n = 3) | <1.845 | (n = 3) | <0.010 | (n = 3) | <0.003 | (n = 3) | <0.003 | (n = 3) |
| Kidney (A) N = 4 | <0.003 | (n = 4) | <1.845 | (n = 4) | <0.010 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | 35.611 ± 71.219 | (n = 3) |
| | | | | | | | | | <0.003 – 142.440 | |
| Kidney (C) N = 3 | <0.003 | (n = 3) | <1.845 | (n = 3) | <0.010 | (n = 3) | 108.207 ± 127.177 | (n = 1) | <0.003 | (n = 3) |
| | | | | | | | <0.003 – 248.291 | | | |
| Muscle (A) N = 4 | 180.663 ± 361.323 | (n = 3) | <1.845 | (n = 4) | <0.010 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) |
| | <0.003 – 722.648 | | | | | | | | | |
| Muscle (C) N = 5 | <0.003 | (n = 5) | <1.845 | (n = 5) | <0.010 | (n = 5) | 19.159 ± 42.836 | (n = 4) | <0.003 | (n = 5) |
| | | | | | | | <0.003 – 95.787 | | | |
| Heart (A) N = 4 | 52.975 ± 105.948 | (n = 3) | 43.606 ± 85.368 | (n = 3) | <0.010 | (n = 4) | <0.003 | (n = 4) | 60.454 ± 120.905 | (n = 3) |
| | <0.003 – 211.897 | | <1.845 – 171.658 | | | | | | <0.003 – 241.812 | |
| Heart (C) N = 2 | <0.003 | (n = 2) | <1.845 | (n = 2) | <0.010 | (n = 2) | <0.003 | (n = 2) | <0.003 | (n = 2) |
| Brain (A) N = 3 | <0.003 | (n = 3) | <1.845 | (n = 3) | <0.010 | (n = 3) | <0.003 | (n = 3) | 35.756 ± 61.929 | (n = 2) |
| | | | | | | | | | <0.003 – 107.265 | |
| Brain (C) N = 2 | <0.003 | (n = 2) | <1.845 | (n = 2) | 271.753 ± 384.310 | (n = 1) | <0.003 | (n = 2) | <0.003 | (n = 2) |
| | | | | | <0.010 – 543.501 | | | | | |
| Krill N = 1 | <0.003 | (n = 1) | <1.845 | (n = 1) | <0.010 | (n = 1) | <0.003 | (n = 1) | <0.003 | (n = 1) |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD.

Table 32 (continued)

| Samples | 189 | | 209 | | ΣPCBs |
|----------------------------|------------|---------|------------|---------|--|
| Liver (A) N = 4 | <0.007 | (n = 4) | <0.007 | (n = 4) | 1330.819 ± 733.689 730.216 – 2252.976 |
| Liver (C) N = 3 | <0.007 | (n = 3) | <0.007 | (n = 3) | 674.478 ± 177.533 476.717 – 820.113 |
| Kidney (A) N = 4 | <0.007 | (n = 4) | <0.007 | (n = 4) | 680.565 ± 191.311 491.279 – 914.887 |
| Kidney (C) N = 3 | <0.007 | (n = 3) | <0.007 | (n = 3) | 814.613 ± 383.012 421.575 – 1186.743 |
| Muscle (A) N = 4 | <0.007 | (n = 4) | <0.007 | (n = 4) | 1029.727 ± 823.394 285.248 – 2150.527 |
| Muscle (C) N = 5 | <0.007 | (n = 5) | <0.007 | (n = 5) | 416.220 ± 252.869 144.322 – 762.238 |
| Heart (A) N = 4 | <0.007 | (n = 4) | <0.007 | (n = 4) | 587.141 ± 407.879 140.375 – 1056.493 |
| Heart (C) N = 2 | <0.007 | (n = 2) | <0.007 | (n = 2) | 265.036 ± 121.631 179.030 – 351.042 |
| Brain (A) N = 3 | <0.007 | (n = 3) | <0.007 | (n = 3) | 436.254 ± 234.244 290.773 – 706.470 |
| Brain (C) N = 2 | <0.007 | (n = 2) | <0.007 | (n = 2) | 1215.829 ± 955.189 540.408 – 1891.249 |
| Krill N = 1 | <0.007 | (n = 1) | <0.007 | (n = 1) | 227.384 |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD

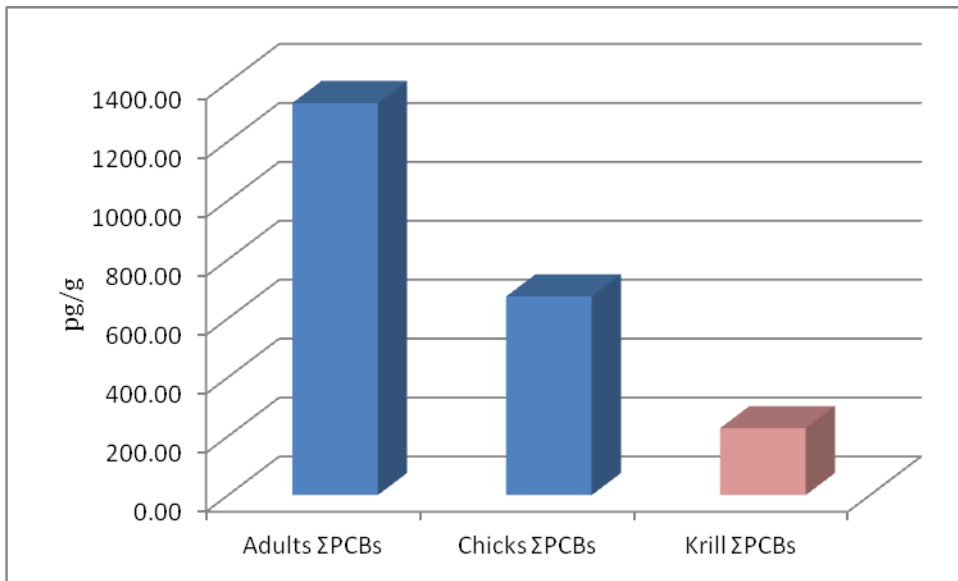


Figure 40. SumPCBs' levels in liver of chinstrap penguins and krill

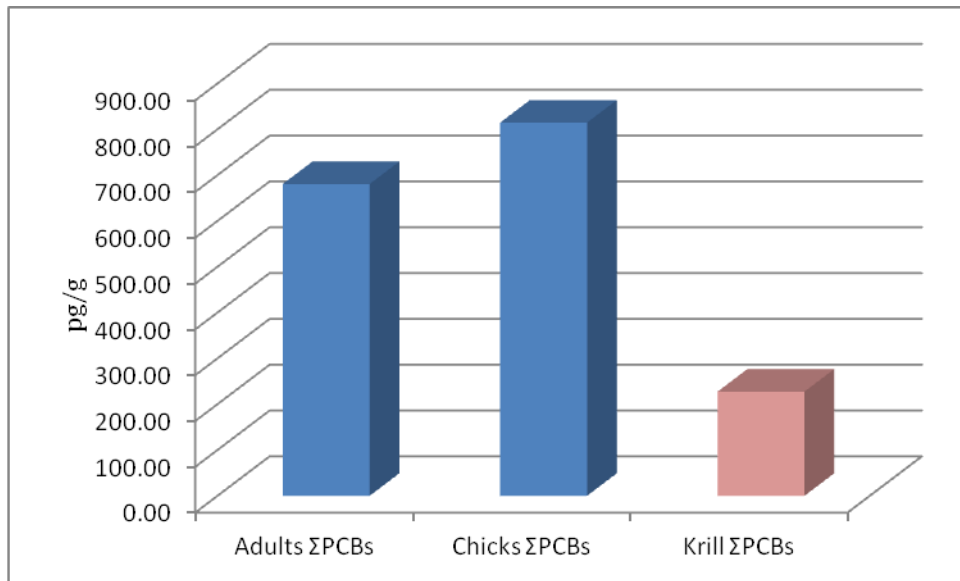


Figure 41. SumPCBs' levels in kidney of chinstrap penguins and krill

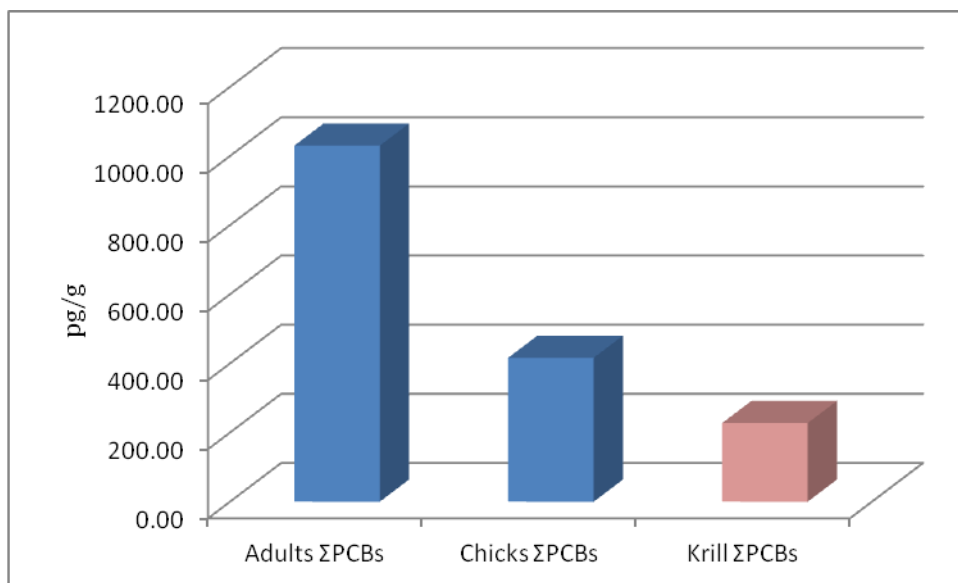


Figure 42. SumPCBs' levels in muscle of chinstrap penguins and krill

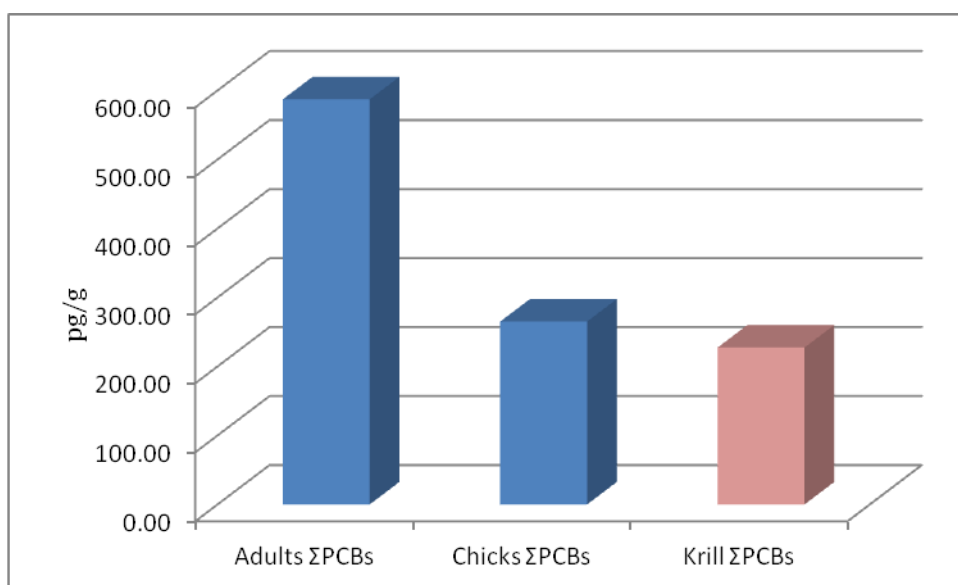


Figure 43. SumPCBs' levels in heart of chinstrap penguins and krill

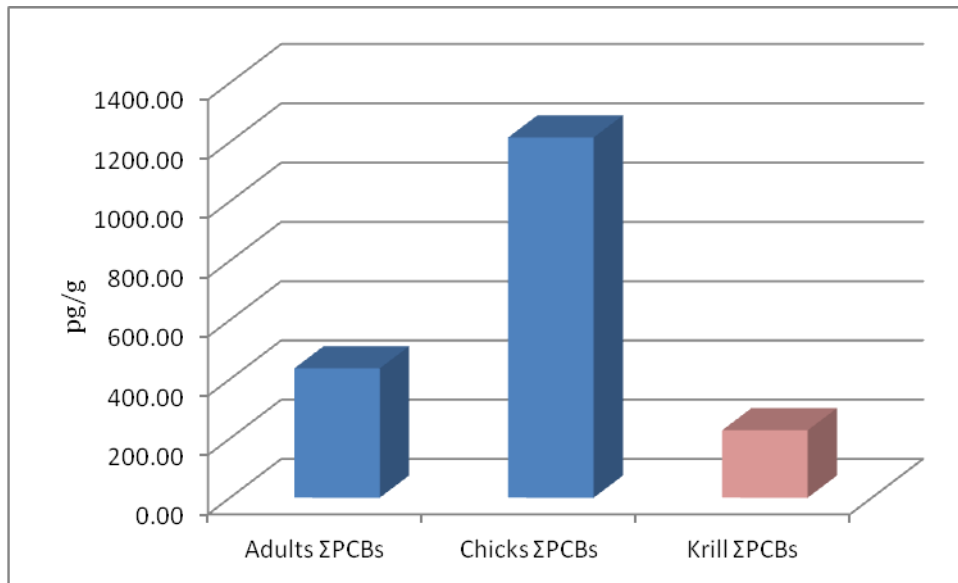


Figure 44. SumPCBs' levels in brain of chinstrap penguins and krill

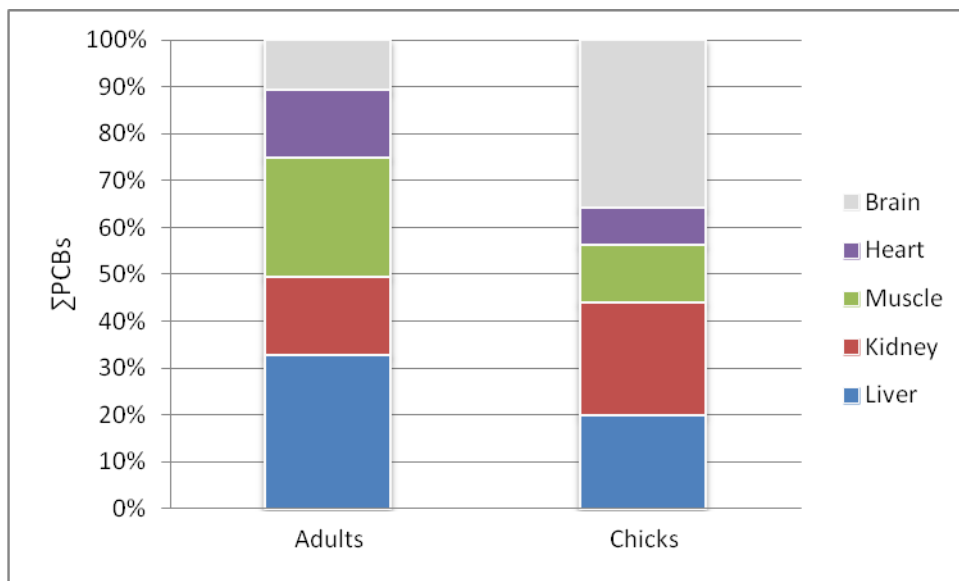


Figure 45. PCBs' distribution in tissues of chinstrap penguins

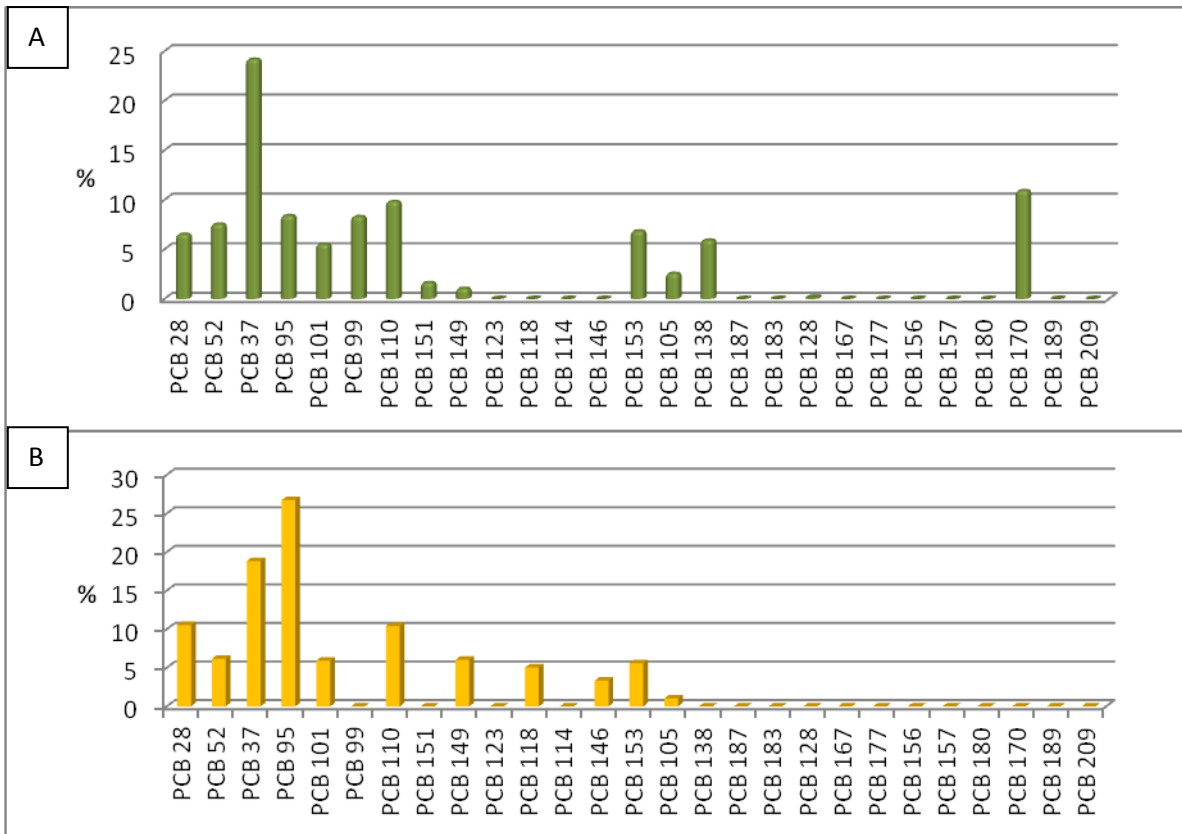


Figure 46. Fingerprints in liver of (A) adults and (B) chicks

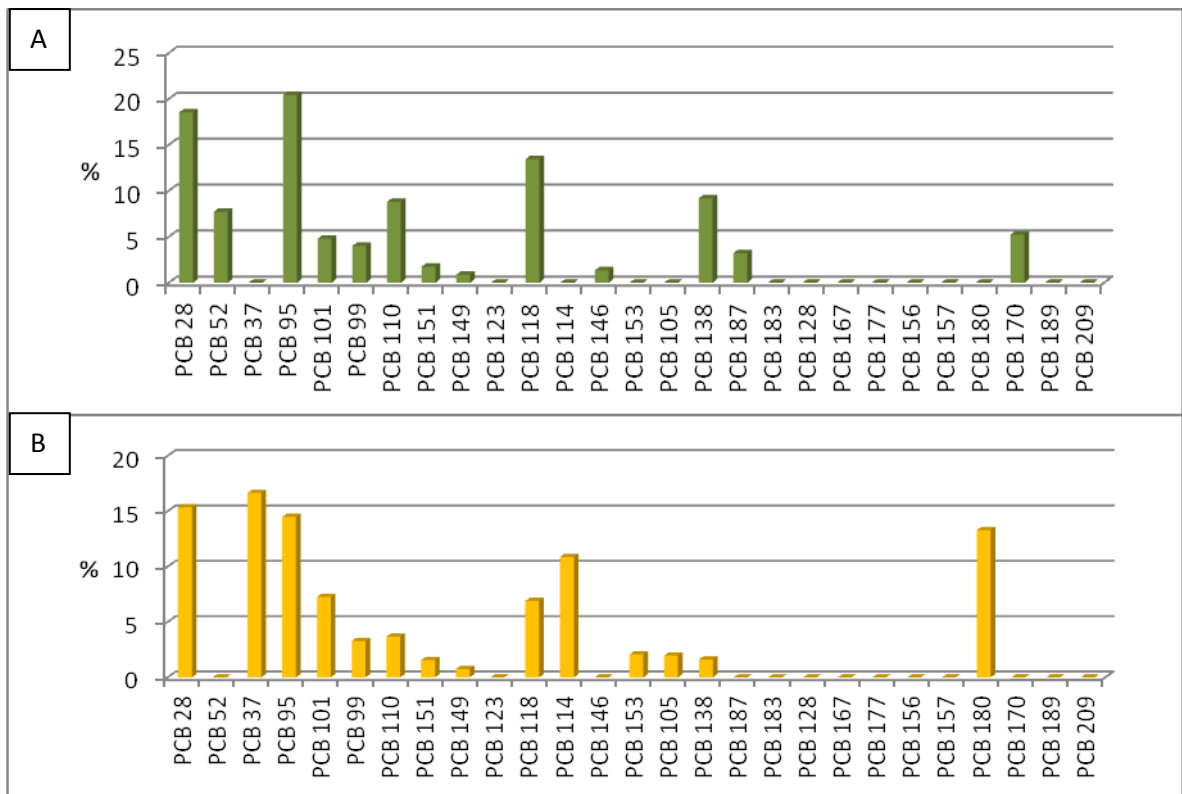


Figure 47. Fingerprints in kidney of (A) adults and (B) chicks

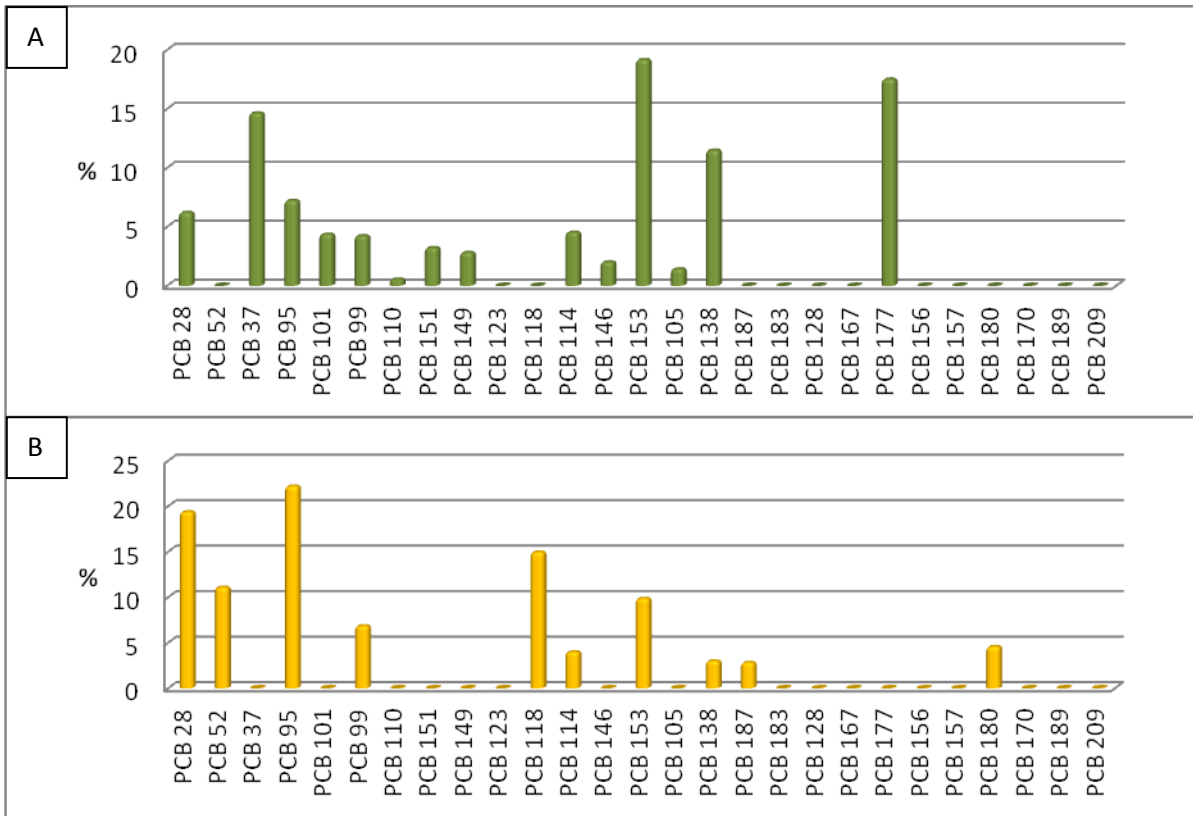


Figure 48. Fingerprints in muscle of (A) adults and (B) chicks

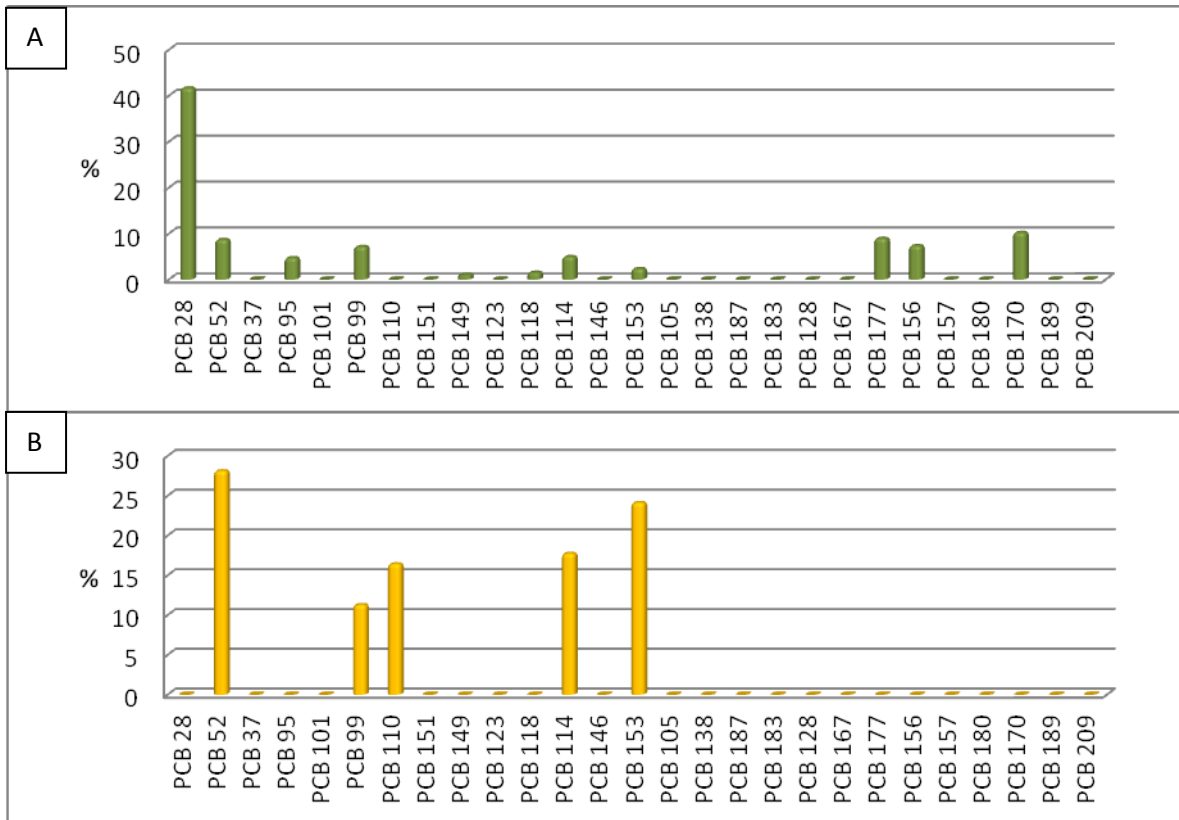


Figure 49. Fingerprints in heart of (A) adults and (B) chicks

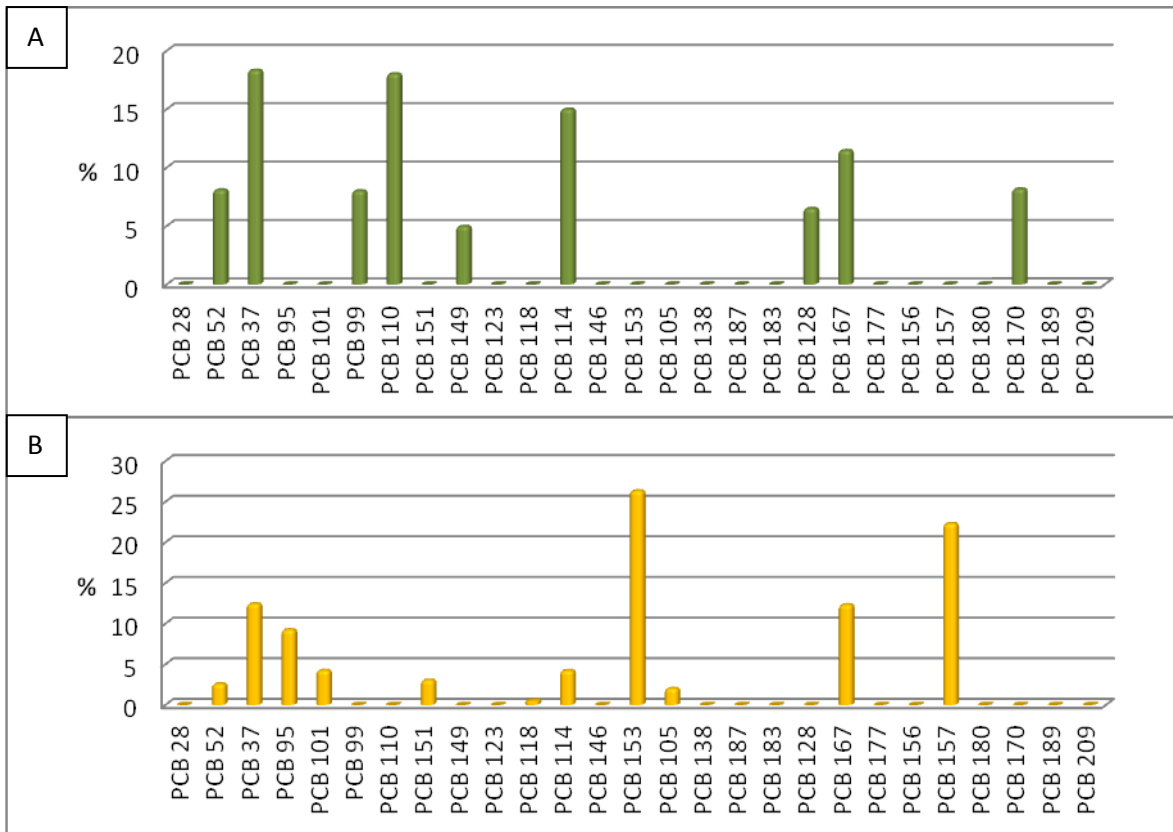


Figure 50. Fingerprints in brain of (A) adults and (B) chicks

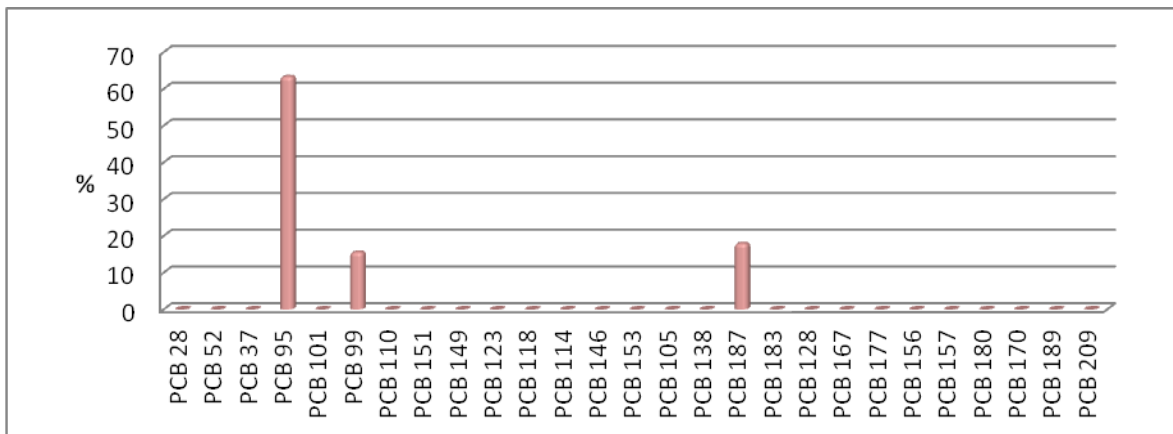


Figure 51. Fingerprints in krill

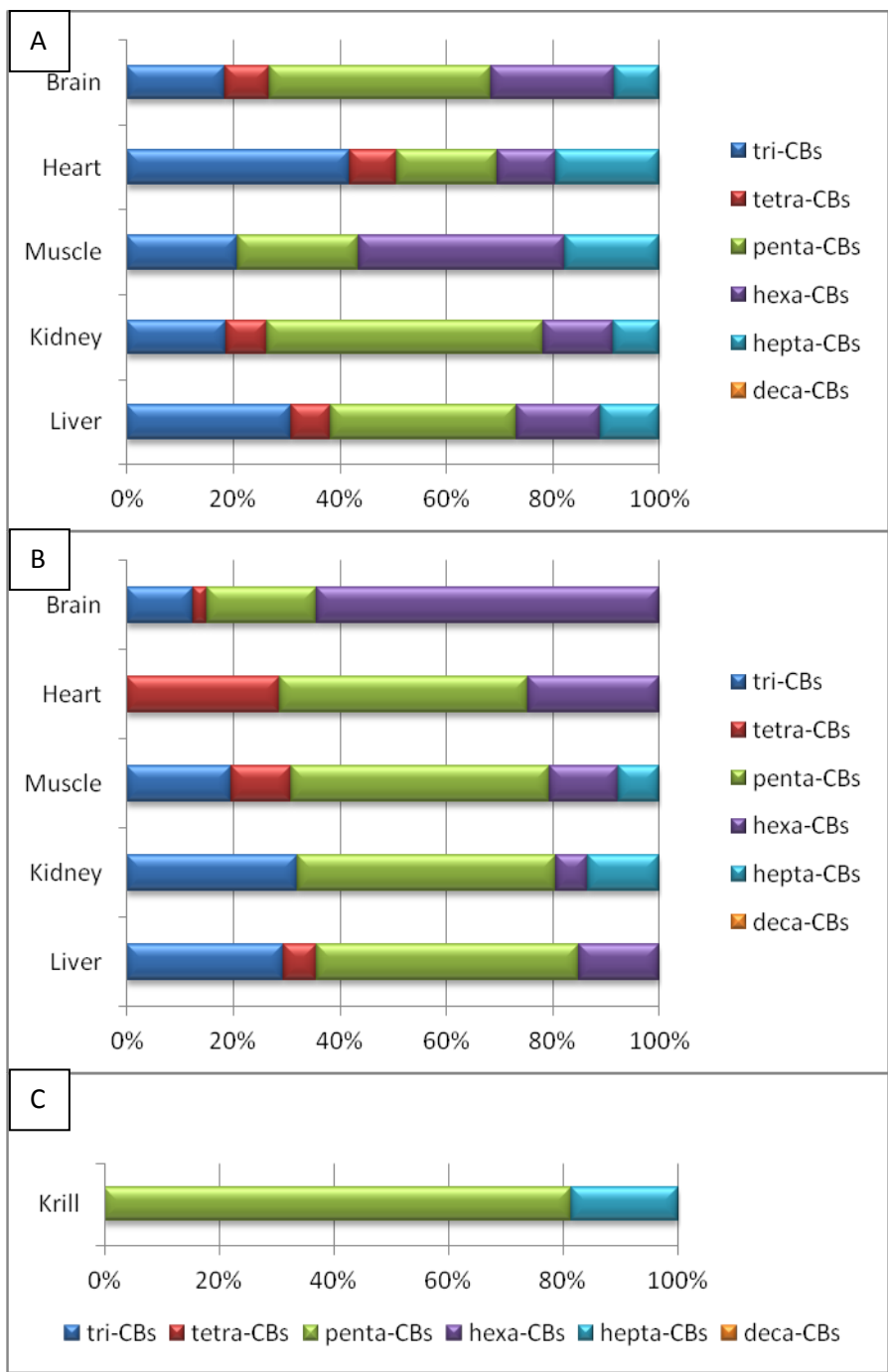


Figure 52. Classes of isomers in (A) adults, (B) chicks and (C) krill.

6.2 Perfluorinated compounds, phthalates and bisphenol A levels in *Pygoscelis antarctica*

Levels of PFOA, PFOS, MEHP, DEHP and BPA detected in our samples are shown in table 33. PFOA was found in almost all samples (91.43%) whereas PFOS was only found in two of them (5.71%). MEHP was detected in 25.71% of our penguin samples but not in krill. On the contrary, DEHP showed detectable levels in krill but not in penguin tissues. Finally, BPA were not found in this study.

These contaminants have been very less studied in Antarctic organisms than others such as PCBs or metals. So it is difficult to establish temporal trends or look for geographical differences.

Regarding perfluorinated compounds, our results on PFOS levels were in accordance with those found in plasma of polar skuas from Terra Nova Bay (Antarctica) by Giesy & Kannan (2001), ranging from non detectable levels to 1.4 ng g^{-1} . Our results on PFOS' levels were also similar to those found in eggs of gentoo and Adélie penguins from King George Island by Schiavone et al. (2009b), 0.3 and 0.4 ng g^{-1} , respectively. However, Schiavone et al. (2009b) found detectable levels of PFOS in all their samples whereas we only detected this compound in the 5.71% of ours. On the contrary, the same study found PFOA levels one order of magnitude lower than those we found in chinstrap penguins' tissues ($<0.2 \text{ ng g}^{-1}$ in eggs of gentoo and Adélie penguins from King George Island; Schiavone et al., 2009b). These results could be due to the different collection period, 2004 and 2009 respectively, suggesting an increase in the environmental levels of PFOA in South Shetland Islands. Inter-specific differences could also be related to these results and it should be tested in subsequent studies.

More data are available in Arctic organisms. Recent researches showed different temporal trends for PFOS and PFOA in the Arctic. PFOS seems to decline whereas PFOA and its precursors do not decline or are increasing (Muir & de Wit, 2010). These trends in the Arctic can be consistent with our results in Antarctica since PFOA was found in most of our samples and PFOS was undetectable in most of them.

If we compare PFOA levels detected in this study with those found in Arctic seabirds by different authors we find a remarkable result: PFOA levels in Antarctic penguins' tissues were higher than those found in liver or eggs of Arctic seabirds ($<1 \text{ ng g}^{-1}$; Bossi et al., 2005; Butt et al., 2007; Löfstrand et al., 2008; Tomy et al., 2004a; Verreault et al., 2005, 2007). On

the contrary, PFOS levels in Arctic seabirds (liver, eggs or plasma: from not found to 134 ng g⁻¹; Bossi et al., 2005; Butt et al., 2007; Haukås et al., 2007; Löfstrand et al., 2008; Martin et al., 2004; Tomy et al., 2004a; Verreault et al., 2005, 2007) and in aquatic birds from more populated and industrialized regions such as Great Lakes, North Pacific or Mediterranean Sea (liver, eggs or plasma: from not found to 460 ng g⁻¹; Giesy & Kannan, 2001) were markedly higher than those found in our samples. Despite these great differences, comparisons should be interpreted with caution due to interspecies differences in feeding ecology.

In accordance with Schiavone et al. (2009b), our results confirm the occurrence of PFCs in Antarctica and the widespread distribution of these compounds. Although the detected levels in this study are several orders of magnitude lower than those known to cause adverse effects in animals (few tens to hundreds of µg g⁻¹; Kennedy et al., 2004; Newsted et al., 2006), Antarctic organisms should continue to be monitored in future due to the global trend of increasing PFC use.

Regarding BPA, although this compound has been detected in atmospheric samples from Polar Regions (Fu & Kawamura, 2010), detectable BPA levels were not found in our samples of Antarctic penguins. This fact can be due to the observed decrease of BPA levels from Asian continent to remote sites such as Antarctica (Fu & Kawamura, 2010). However, the occurrence of this compound and phthalates in Antarctic organisms should be tested in future studies since to date there are practically no data available on this issue.

6.3 Relative contributions of different contaminant families to ΣPOPs in *Pygoscelis antarctica*

As we can see in Fig. 53, phthalates made up 70 and 90% of the studied contaminants in liver of adult penguins and krill. On the contrary, perfluorinated compounds were clearly predominant in muscle of adults and in liver and muscle of chicks.

Table 33. Concentrations of perfluorinated compounds, phthalates and bisphenol A (average \pm SD and min-max in ng g⁻¹ w.w.; N: number of analyzed samples; n: number of non-detectable levels) in tissues of chinstrap penguins and krill from Deception Island.

| Samples | PFOA | | PFOS | | MEHP | | DEHP | | BPA | |
|----------------------------|-------------------------------------|---------|-------------------------------------|---------|--|---------|-------------|---------|------------|---------|
| Liver (A) N = 4 | 2.463 \pm 1.344 1.099 – 4.311 | (n = 0) | <0.500 | (n = 4) | 10.981 \pm 19.963 <2.000 – 40.926 | (n = 3) | <10.000 | (n = 4) | <0.500 | (n = 4) |
| Liver (C) N = 3 | 2.238 \pm 1.582 <0.500 – 3.593 | (n = 1) | <0.500 | (n = 3) | <2.000 | (n = 3) | <10.000 | (n = 3) | <0.500 | (n = 3) |
| Kidney (A) N = 4 | 3.218 \pm 1.411 1.785 – 5.163 | (n = 0) | 0.829 \pm 0.657 <0.500 – 1.815 | (n = 3) | 4.859 \pm 7.719 <2.000 – 16.438 | (n = 3) | <10.000 | (n = 4) | <0.500 | (n = 4) |
| Kidney (C) N = 3 | 3.386 \pm 1.020 2.508 – 4.505 | (n = 0) | <0.500 | (n = 3) | 50.643 \pm 29.101 18.768 – 75.791 | (n = 0) | <10.000 | (n = 3) | <0.500 | (n = 3) |
| Muscle (A) N = 4 | 3.453 \pm 1.742 2.082 – 5.993 | (n = 0) | <0.500 | (n = 4) | <2.000 | (n = 4) | <10.000 | (n = 4) | <0.500 | (n = 4) |
| Muscle (C) N = 5 | 2.329 \pm 1.442 <0.500 – 4.311 | (n = 1) | 1.697 \pm 2.676 <0.500 – 6.484 | (n = 4) | <2.000 | (n = 5) | <10.000 | (n = 5) | <0.500 | (n = 5) |
| Heart (A) N = 4 | 2.118 \pm 1.489 <0.500 – 4.103 | (n = 1) | <0.500 | (n = 4) | <2.000 | (n = 4) | <10.000 | (n = 4) | <0.500 | (n = 4) |
| Heart (C) N = 2 | 2.834 \pm 0.419 2.538 – 3.130 | (n = 0) | <0.500 | (n = 2) | 45.344 \pm 24.118 28.290 – 62.398 | (n = 0) | <10.000 | (n = 2) | <0.500 | (n = 2) |
| Brain (A) N = 3 | 1.822 \pm 0.531 1.242 – 2.283 | (n = 0) | <0.500 | (n = 4) | 25.925 \pm 23.434 <2.000 – 47.510 | (n = 1) | <10.000 | (n = 3) | <0.500 | (n = 3) |
| Brain (C) N = 2 | 1.407 \pm 0.901 0.770 – 2.044 | (n = 0) | <0.500 | (n = 2) | <2.000 | (n = 2) | <10.000 | (n = 2) | <0.500 | (n = 2) |
| Krill N = 1 | 1.347 | (n = 0) | <0.500 | (n = 1) | <2.000 | (n = 1) | 28.777 | (n = 0) | <0.500 | (n = 1) |

A: adult; C: chick; non-detectable levels were shown as <LOD.

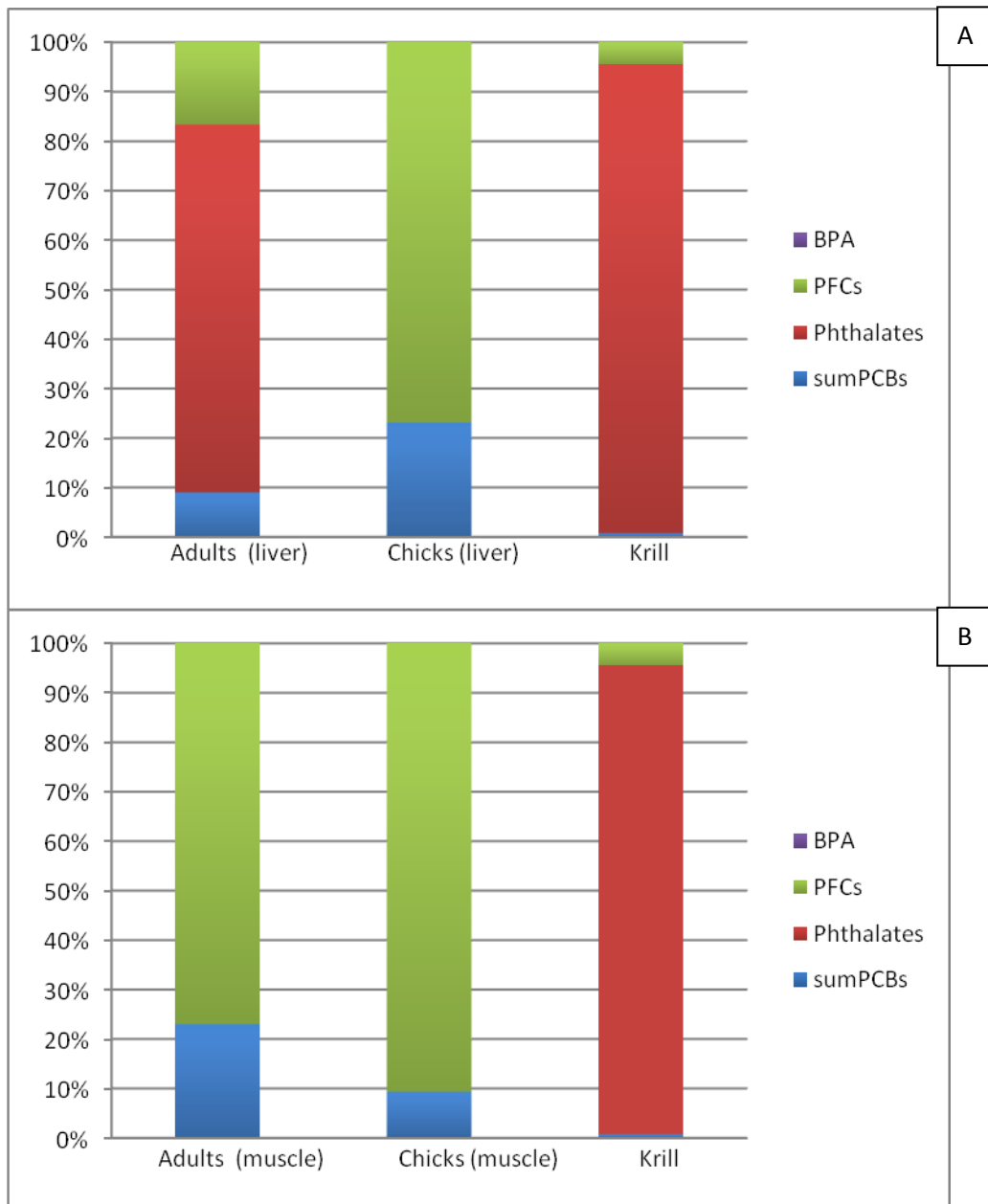


Figure 53. Relative contributions of PCBs, PFCs, phthalates and BPA to Σ POPs in krill and tissues of chinstrap penguins, liver (A) and muscle (B)

GENERAL CONCLUSIONES

GENERAL CONCLUSIONS

FIRST. Levels of Cr, Mn, Cu, Se or Pb in penguin feathers from some sampling sites, such as King George or Deception Islands, are similar or even higher than levels of these elements detected in the Northern Hemisphere.

SECOND. Penguin feathers are especially useful for monitoring levels of Pb, Cr, Ni and Cu.

THIRD. Most of the studied elements in penguin feather samples showed the highest levels in locations where a major anthropogenic pressure exists, thus, supporting the anthropogenic influence as responsible, at least partially, for the concentration of metals. In addition to local pollution, trace elements such as Cr, Ni, Cu, Zn or Pb can be transported to Antarctica from other continents in the Southern Hemisphere.

FOURTH. Hg bioaccumulation and magnification occurred in Antarctic penguins. Hg levels found in King George Island were as high as Hg levels in the Arctic, in agreement with the idea that Polar Regions can act as “sink” of this toxic metal.

FIFTH. Penguins from some sampling sites were chronically exposed to high Cd levels and some specimens showed concentrations above the toxicity threshold established for seabirds.

SIXTH. High Cd and Hg concentrations in penguins can be causing an increase in Se and Zn levels since these elements can be playing a protection role against the toxic effects of Cd and Hg. Se even reached potential toxic concentrations in hepatic tissue.

SEVENTH. Comparisons with previous studies showed an increasing trend of Mn and Cr levels in Antarctica which could be related with the increase of human presence, use of combustibles and oil contamination.

EIGHTH. A wide number of positive correlations between pairs of elements were observed in penguin tissues. These results indicate that similar uptake and storage pathways existed for them, as well as similar internal processes of regulation and/or detoxification. And particularly for metals known to be related with anthropogenic

contamination (Cr, Ni, Mn, As, Cd, Pb) these results suggest that common anthropogenic sources existed for them.

NINTH. Inter-specific differences existed. Chinstrap penguins showed the highest trace elements levels in sampling sites where two or three species share the same area. Ecological or physiological differences among species such as different capacities for detoxification and elimination of trace elements or different absorption-elimination rates could exist. These differences can also be due to variations in penguins' diet.

TENTH. Concentrations of trace elements in Antarctic penguins were not as low as it could be expected and reflected that exposition to trace elements can be as high as in other places outside Antarctica such as the Arctic.

ELEVENTH. Tissues of Antarctic penguins are useful for long-term monitoring of trace elements in Antarctic marine environment and for a better understanding of spatio-temporal trends.

TWELFTH. Polychlorinated biphenyls, perfluorinated compounds and phthalates were detectable in penguin tissues and/or krill samples in agreement with the idea that these compounds are wide distributed. On the contrary, residues of bisphenol A were not found. A decreasing trend of PCBs levels can be occurring in Antarctica whereas PFOA levels seem to be increasing.

REFERENCES

REFERENCES

- Abdennadher, A., Ramírez, F., Romdhane, M.S., Ruiz, X., Jover, L., Sanpera, C., 2010. Biomonitoring of coastal areas in Tunisia: stable isotope and trace element analysis in the Yellow-legged Gull. *Marine Pollution Bulletin* 60, 440-447.
- Agusa, T., Matsumoto, T., Ikemoto, T., Anan, Y., Kubota, R., Yasunaga, G., Kunito, T., Tanabe, S., Ogi, H., Shibata, Y., 2005. Body distribution of trace elements in black-tailed gulls from Rishiri Island, Japan: age-dependent accumulation and transfer to feathers and eggs. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 2107-2120.
- Ahamed, M., Siddiqui, M.K.J., 2007. Environmental lead toxicity and nutritional factors. *Clinical Nutrition* 26, 400-408.
- Ahn, I.Y., Lee, S.H., Kim, K.T., Shim, J.H., Kim, D.Y., 1996. Baseline heavy metal concentrations in the Antarctic clam, *Laternula elliptica*, in Maxwell Bay, King George Island, Antarctic. *Marine Pollution Bulletin* 32, 592-598.
- Alam, I.A., Sadiq, M., 1993. Metal concentrations in antarctic sediments samples collected during the Trans-Antarctica 1990 expedition. *Marine Pollution Bulletin* 26, 523-527.
- Alberdi, M., Bravo, L.A., Gutiérrez, A., Gidekel, M., Corcuera, L.J., 2002. Ecophysiology of Antarctic vascular plants. *Physiologia Plantarum* 115, 479-486.
- Almendros, J., Ibáñez, J.M., Alguacil, G., Del Pezzo, E., Ortiz, R., 1997. Array tracking of the volcanic tremor source at Deception Island, Antarctica. *Geophysical Research Letters* 24, 3069-3072.
- AMAP/UNEP, 2008. Technical background report to the global atmospheric mercury assessment, Technical report. Arctic Monitoring and Assessment Programme / UNEP Chemicals Branch. Disponible en: http://www.chem.unep.ch/mercury/Atmospheric_Emissions/Technical_background_report.pdf (último acceso: enero 2012).
- Amatriain, M., 2000. Efectos del exceso de hierro en la salud. *Medicina Naturista* 2, 92-95.
- Ancora, S., Volpi, V., Olmastroni, S., Focardi, S., Leonzio, C., 2002. Assumption and elimination of trace elements in Adélie penguins from Antarctica: a preliminary study. *Marine Environmental Research* 54, 341-344.
- Andrade, S., Poblet, A., Scagliola, M., Vodopivec, C., Curtosi, A., Pucci, A., Marcovecchio, J., 2001. Distribution of heavy metals in surface sediments from an Antarctic marine ecosystem. *Environmental Monitoring and Assessment* 66, 147-158.

- ATSDR, 2004a. Toxicological profile for copper. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- ATSDR, 2004b. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls. Agency for Toxic Substances and Diseases Registry. US Public Health Service. Atlanta, GA.
- ATSDR, 2005. Toxicological profile for Nickel. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- ATSDR, 2007. Toxicological profile for Arsenic. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- ATSDR, 2008a. Toxicological profile for chromium . Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. Atlanta, GA.
- ATSDR, 2008b. Toxicological profile for manganese. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- ATSDR, 2008c. Toxicological Profile for cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- Baker, P.E., Davies, T.G., Roobol, M.J., 1969. Volcanic activity at Deception Island in 1967 and 1969. *Nature* 224, 553-560.
- Baker, P.E., McReath, I., 1971. 1970 Volcanic eruption at Deception Island. *Nature Physical Science* 231, 5-9.
- Ballatori, N., 2002. Transport of toxic metals by molecular mimicry. *Environmental Health and Perspectives* 110, 689-694.
- Barbante, C., Cozzi, G., Capodaglio, G., Cescon, P., 2000. Trace element determination in a candidate reference material (Antarctic krill) by ICP-sector field MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 15, 377-382.
- Barbieri, E., Passos, E., Filippini, A., dos Santos, I.S., Garcia, C.A.B., 2010. Assessment of trace metal concentration in feathers of seabird (*Larus dominicanus*) sampled in the Florianópolis, SC, Brazilian coast. *Environmental Monitoring and Assessment* 169, 631-638.

- Barbosa, A., Moreno, J., Potti, J., Merino, S., 1997. Breeding group size, nest position and breeding success in the chinstrap penguin. *Polar Biology* 18, 410-414.
- Bargagli, R., Nelli, L., Ancora, S., Focardi, S., 1996. Elevated cadmium accumulation in marine organisms from Terra Nova Bay (Antarctica). *Polar Biology* 16, 513-520.
- Bargagli, R., Monaci, F., Sánchez-Fernández, J.C., Cateni, D., 1998. Biomagnification of mercury in an Antarctic marine coastal food web. *Marine Ecology Progress Series* 169, 65-76.
- Bargagli, R., 2005a. *Antarctic Ecosystems: Environmental Contamination, Climate Change, and Human Impact*. Springer-Verlag, Berlin.
- Bargagli, R., Agnorelli, C., Borghini, F., Monaci, F., 2005b. Enhanced deposition and bioaccumulation of mercury in Antarctic terrestrial ecosystems facing a coastal polynya. *Environmental Science and Technology* 39, 8150-8155.
- Bargagli, R., 2008. Environmental contamination in Antarctic ecosystems. *Science of the Total Environment* 400, 212-226.
- Berón, M.P., Coria, N.R., Favero, M., 2002. Monitoreo de la dieta post-reproductiva del pingüino papúa (*Pygoscelis papua*) en la isla Laurie (Orcadas del Sur, Antártida). *Ornitología Neotropical* 13, 413-422.
- Bícego, M.C., Zanardi-Lamardo, E., Taniguchi, S., Martins, C.C., da Silva, D.A.M., Sasaki, S.T., Albergaria-Barbosa, A.C.R., Paolo, F.S., Weber, R.R., Montone, R.C., 2009. Results from a 15-year study on hydrocarbon concentrations in water and sediment from Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Antarctic Science* 21, 209-220.
- Biegel, L.B., Liu, R.C., Hurtt, M.E., Cook, J.C., 1995. Effects of ammonium perfluorooctanoate on Leydig cell function: in vitro, in vivo and ex vivo studies. *Toxicology and Applied Pharmacology* 134, 18-25.
- Biegel, L.B., Hurtt, M.E., Frame, S.R., O'Connor, J.C., Cook, J.C., 2001. Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicology Science* 60, 44-55.
- Boersma, P.D., 2008. Penguins as marine sentinels. *Bioscience* 58, 597-607.
- Bond, A.L., Diamond, A.W., 2008. High within-individual variation in total mercury concentration in seabird feathers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 2375-2377.
- Bond, A.L., Diamond, A.W., 2009. Total and methyl mercury concentrations in seabird feathers and eggs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 286-291.

- Bonser, R., Dawson, C., 2000. The mechanical properties of down feathers from gentoo penguins. *Journal of Zoology* 251, 545-547.
- Bossi, R., Riget, F.F., Dietz, R., Sonne, C., Fauser, P., Dam, M., Vorkamp, K., 2005. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. *Environmental Pollution* 136, 323-329.
- Braune, B.M., Mallory, M.L., Gilchrist, H.G., Letcher, R.J., Drouillard, K.G., 2007. Levels and trends of organochlorines and brominated flame retardants in ivory gull eggs from the Canadian Arctic, 1976 to 2004. *Science of the Total Environment* 378, 403-417.
- Braune, B., Noble, D., 2009. Environmental contaminants in Canadian shorebirds. *Environmental Monitoring and Assessment* 148, 185-204.
- Brooks, S., Lindberg, S., Southworth, G., Arimoto, R., 2008. Springtime atmospheric mercury speciation in the McMurdo, Antarctica coastal region. *Atmospheric Environment* 42, 2885-2893.
- Broussard, L., Hammett-Stabler, C., Winecker, R., Roper-Miller, J., 2002. The toxicology of mercury. *Laboratory Medicine* 33, 614-625.
- Bureau, R.G., 1985. Environmental chemistry of selenium. *California Agriculture* 39, 16-18.
- Burger, J., 1993. Metals in avian feathers: bioindicators of environmental pollution. *Reviews in Environmental Toxicology* 5, 203-311.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2000. Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *Science of the Total Environment* 257, 37-52.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2004. Marine birds as sentinels of environmental pollution. *EcoHealth* 1, 263-274.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2009. Comparison of arsenic, cadmium, chromium, lead, manganese, mercury and selenium in feathers in bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*), and comparison with common eider (*Somateria mollissima*), glaucous-winged gull (*Larus glaucescens*), pigeon guillemot (*Cepphus columba*), and tufted puffin (*Fratercula cirrhata*) from the Aleutian Chain of Alaska. *Environmental Monitoring and Assessment* 152, 357-367.
- Burger, J., Gochfeld, M., Jeitner, C., Burke, S., Volz, C.D., Snigaroff, R., Snigaroff, D., Shukla, T., Shukla, S., 2009. Mercury and other metals in eggs and feathers of glaucous-winged gulls (*Larus glaucescens*) in the Aleutians. *Environmental Monitoring and Assessment* 152, 179-194.

- Burger, J., Gochfeld, M., Sullivan, K., Irons, D., McKnight, A., 2008. Arsenic, cadmium, chromium, lead, manganese, mercury, and selenium in feathers of Black-legged Kittiwake (*Rissa tridactyla*) and Black Oystercatcher (*Haematopus bachmani*) from Prince William Sound, Alaska. *Science of Total Environment* 398, 20-25.
- Burger, J., 2008. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Science of the Total Environment* 389, 37-45.
- Bustamante, P., Bocher, P., Cherel, Y., Miramand, P., Caurant, F., 2003. Distribution of trace elements in the tissues of benthic and pelagic fish from the Kerguelen Islands. *Science of the Total Environment* 313, 25-39.
- Bustnes, J.O., Tveraa, T., Henden, J.A., Varpe, Ø., Janssen, K., Skaare, J.U., 2006. Organochlorines in Antarctic and Arctic avian top predators: a comparison between the south polar skua and two species of northern hemisphere gulls. *Environmental Science and Technology* 40, 2826-2831.
- Butt, C.M., Mabury, S.A., Muir, D.C.G., Braune, B.M., 2007. Prevalence of long-chained perfluorinated carboxylates in seabirds from the Canadian Arctic between 1975 and 2004. *Environmental Science and Technology* 41, 3521-3528.
- Butt, C.M., Berger, U., Bossi, R., Tomy, G.T., 2010. Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Science of the Total Environment* 408, 2936-2965.
- Caccia, V.G., Millero, F.J., Palanques, A., 2003. The distribution of trace metals in Florida Bay sediments. *Marine Pollution Bulletin* 46, 1420-1433.
- Calafat, A.M., Needham, L.L., Kuklennyik, Z., Reidy, J.A., Tully, J.S., Aguilar-Villalobos, M., Naeher, L.P., 2006. Perfluorinated chemicals in selected residents of the American continent. *Chemosphere* 63, 490-496.
- Calafat, A.M., Ye, X., Wong, L.Y., Reidy, J.A., Needham, L.L., 2008. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environmental Health Perspectives* 116, 39-44.
- Callender, A., Rice, K.C., 2000. The Urban Environmental Gradient: Anthropogenic Influences on the Spatial and Temporal Distributions of Lead and Zinc in Sediments. *Environmental Science and Technology* 34, 232-238.
- Campbell, L., Norstrom, R., Hobson, K., Muir, D., Backus, S., Fisk, A., 2005. Mercury and other trace elements in a pelagic Arctic marine food web (Northwater Polynya, Baffin Bay). *Science of the Total Environment* 351-352:247-263.

- Cao, X.L., Corriveau, J., Popovic, S., 2009. Levels of bisphenol A in canned soft drink products in Canadian markets. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 57, 1307-1311.
- Capdevielle, M.C., Hart, L.E., Goff, J., Scanes, C.G., 1998. Aluminum and acid effects on calcium and phosphorus metabolism in young growing chickens (*Gallus gallus domesticus*) and mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35, 82-88.
- Carlini, A.R., Coria, N.R., Santos, M.M., Negrete, J., Juarez, M.A., Daneri, G.A., 2009. Responses of *Pygoscelis adeliae* and *P. papua* populations to environmental changes at Isla 25 de Mayo (King George Island). *Polar Biology* 32, 1427-1433.
- Castro, I., Aboal, J.R., Fernández, J.A., Carballeira, A., 2011. Use of raptors for biomonitoring of heavy metals: gender, age and tissue selection. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 86, 347-351.
- Choi, S.D., Baek, S.Y., Chang, Y.S., Wania, F., Ikonomou, M.G., Yoon, Y.J., Park, B.K., Hong, S., 2008. Passive air sampling of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides at the Korean Arctic and Antarctic research stations: implications for long-range transport and local pollution. *Environmental Science and Technology* 42, 7125-7131.
- Cid, F.D., Gatica-Sosa, C., Antón, R.I., Caviedes-Vidal, E., 2009. Contamination of heavy metals in birds from Embalse La Florida (San Luis, Argentina). *Journal of Environmental Monitoring* 11, 2044-2051.
- Cipro, C.V.Z., Taniguchi, S., Montone, R.C., 2010. Occurrence of organochlorine compounds in *Euphausia superba* and unhatched eggs of *Pygoscelis* genus penguins from Admiralty Bay (King George Island, Antarctica) and estimation of biomagnification factors. *Chemosphere* 78, 767-771.
- Claridge, G.G.C., Campbell, I.B., Powell, H.K.J., Amin, Z.H., Balks, M., 1995. Heavy metal contamination in some soils of the McMurdo Sound region, Antarctica. *Antarctic Science* 7, 9-14.
- Clason, B., Duquesne, S., Liess, M., Schulz, R., Zauke, G.P., 2003. Bioaccumulation of trace metals in the Antarctic amphipod *Paramoera walkeri* (Stebbing, 1906): comparison of two-compartment and hyperbolic toxicokinetic models. *Aquatic Toxicology* 65, 117-140.
- Corsolini, S., Focardi, S., 2000. Bioconcentration of polychlorinated biphenyls in the pelagic food chain of the Ross Sea, en: Faranda, F., Guglielmo, L., Ianora, A. (Eds.). *Ross Sea Ecology*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 575-584.

- Corsolini, S., Kannan, K., Imagawa, T., Focardi, S., Giesy, J.P., 2002. Polychloronaphthalenes and other dioxin-like compounds in Arctic and Antarctic marine food webs. *Environmental Science and Technology* 36, 3490-3496.
- Corsolini, S., Ademollo, N., Romeo, T., Olmastroni, S., Focardi, S., 2003. Persistent organic pollutants in some species of a Ross Sea pelagic trophic web. *Antarctic Science* 15, 95-104.
- Corsolini, S., Ademollo, N., Romeo, T., Greco, S., Focardi, S., 2005. Persistent organic pollutants in edible fish: a human and environmental health problem. *Microchemical Journal* 79, 115-123.
- Corsolini, S., Covaci, A., Ademollo, N., Focardi, S., Schepens, P., 2006. Occurrence of organochlorine pesticides (OCPs) and their enantiometric signature, and concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the Adélie penguin food web, Antarctica. *Environmental Pollution* 140, 371-382.
- Corsolini, S., Borghesi, N., Schiamone, A., Focardi, S., 2007. Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated dibenzo-dioxins, -furans and -biphenyls in three species of Antarctic penguins. *Environmental Science and Pollution Research* 14, 421-429.
- Corsolini, S., Guerranti, C., Perra, G., Focardi, S., 2008. Polybrominated diphenyl ethers, perfluorinated compounds and chlorinated pesticides in swordfish (*Xiphias gladius*) from the Mediterranean Sea. *Environmental Science & Technology* 42, 4344-4349.
- Corsolini, S., 2009. Review: Industrial contaminants in Antarctic biota. *Journal of Chromatography A* 1216, 598-612.
- Corsolini, S., 2011. Contamination profile and temporal trend of POPs in Antarctic biota, en: Loganathan. B.G., Lam, P.K-S. (Eds.). *Global Contamination Trends of Persistent Organic Chemicals*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 571-591.
- Coughlin, J.L., Winnik, B., Buckley, B., 2011. Measurement of bisphenol A, bisphenol A β -D-glucuronide, genistein, and genistein 4'- β -D-glucuronide via SPE and HPLC-MS/MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 401, 995-1002.
- Crinnion, W.J., 2011. Polychlorinated biphenyls: persistent pollutants with immunological, neurological and endocrinological consequences. *Alternative Medicine Review* 16, 5-13.
- Croteau, M.N., Luoma, S.N, Stewart, A.R., 2005. Trophic transfer of metals along freshwater food webs: Evidence of cadmium biomagnification in nature. *Limnology and Oceanography* 50, 1511-1519.

- Croxall, J.P., Reid, K., Prince, P.A., 1999. Diet, provisioning and productivity responses of marine predators to differences in availability of Antarctic krill. *Marine Ecology Progress Series* 177, 115-131.
- Croxall, J.P., Trathan, P.N., Murphy, E.J., 2002. Environmental change and Antarctic seabird populations. *Science* 297, 1510-1514.
- Cummins, L.M., Kimura, E.T., 1971. Safety evaluation of selenium sulfide antidandruff shampoos. *Toxicology and Applied Pharmacology* 20, 89-96.
- Curtosi, A., Pelletier, E., Vodopivec, C., St Louis, R., Mac Cormack, W.P., 2010. Presence and distribution of persistent toxic substances in sediments and marine organisms of Potter Cove, Antarctica. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 59, 582-592.
- Dalla Riva, S., Abelloschi, M.L., Magi, E., Soggia, F., 2004. The utilization of the Antarctic environmental bank (BCAA) in monitoring Cd and Hg in an Antarctic coastal area in Terra Nova Bay (Ross Sea, northern Victoria Land). *Chemosphere* 56, 59-69.
- Danish Environmental Protection Agency, 2005. More environmentally friendly alternatives to PFOS compounds and PFOA. Environmental Project No. 1013.
- Davies, N.T., 1980. Studies on the absorption of zinc by rat intestine. *British Journal of Nutrition* 43, 189-203.
- Davis, B.J., Maronpot, R.R., Heindel, J.J., 1994. Di-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* 128, 216-23.
- Davis, C.H., Li, Y., McConnell, J.R., Frey, M.M., Hanna, E., 2005. Snowfall-driven growth in East Antarctic ice sheet mitigates recent sea-level rise. *Science* 308; 1898-1901.
- Davis, K.L., 2007. Transport of ammonium perfluorooctanoate in environmental media near a fluoropolymer manufacturing facility. *Chemosphere* 67, 2011-2019.
- De Moreno, J.E.A., Gerpe, M.S., Moreno, V.J., 1997. Heavy metals in Antarctic organisms. *Polar Biology* 17, 131-140.
- Deheyn, D.D., Gendreau, P., Baldwin, R.J., Latz, M.I., 2005. Evidence for enhanced bioavailability of trace elements in the marine ecosystem of Deception Island, a volcano in Antarctica. *Marine Environmental Research* 60, 1-33.
- Dietz, R., Riget, F., Born, E.W., 2000. An assessment of selenium to mercury ration in Greenland marine animals. *Science of the Total Environment* 245, 15-24.
- Directiva 2002/72/CEE de la Comisión de 6 de agosto de 2002 relativa a los materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con productos alimenticios. *Diario Oficial de la Comunidad Europea* L220, 18.

- Directiva 2006/122/CEE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de diciembre de 2006 por la que se modifica por trigésima vez la Directiva 76/769/CEE del Consejo, relativa a la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros que limitan la comercialización y el uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos (sulfonatos de perfluorooctano). Diario Oficial de la Comunidad Europea L372, 32-34.
- Dos Santos, I.R., Silva-Filho, E.V., Schaefer, C.E., Albuquerque-Filho, M.R., Campos, L.S., 2005. Heavy metal contamination in coastal sediments and soils near the Brazilian Antarctic Station, King George Island. *Marine Pollution Bulletin* 50, 185-194.
- Dos Santos, I.R., Silva-Filho, E.V., Schaefer, C., Maria Sella, S., Silva, C.A., Gomes, V., Passos, M.J., Van Ngan, P., 2006. Baseline mercury and zinc concentrations in terrestrial and coastal organisms of Admiralty Bay, Antarctica. *Environmental Pollution* 140, 304-311.
- Dubois, F., Cézilly, F., Pagel, M., 1998. Mate fidelity and coloniality in waterbirds: a comparative analysis. *Oecologia* 116, 433-440.
- Ebinghaus, R., Kock, H.H., 2002. Antarctic springtime depletion of atmospheric mercury. *Environmental Science and Technology* 36, 1238-1244.
- Eiser, R., 1981. Trace Metal Concentrations in Marine Organisms. Pergamon Press, New York.
- Eisler R (1985) Selenium hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service, Biological Report 85 (1.5), Washington DC.
- Eisler, R., 1986. Chromium hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85, Washington, DC.
- Eisler, R., 1998. Nickel hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Geological Survey, Biological Resources Division, Biological Science Report, Washington, DC.
- Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G., 1988. Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Elsevier, New York.
- Emslie, S.D., McDaniel, J.D., 2002. Adélie penguin diet and climate change during the middle to late Holocene in northern Marguerite Bay, Antarctic Peninsula. *Polar Biology* 25, 222-229.
- Erikson, K.M., Aschner, M., 2003. Manganese neurotoxicity and glutamate-GABA interaction. *Neurochemistry International* 43, 475-480.

- European Food Safety Authority, 2007. Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane. Disponible en: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620772817.htm (último acceso: mayo 2012).
- Faa, G., Nurchi, V.M., Ravarino, A., Fanni, D., Nemolato, S., Gerosa, C., Eyken, P.V., Geboes, K., 2008. Zinc in gastrointestinal and liver disease. *Coordination Chemistry Reviews* 252, 1257-1269.
- Falandysz, J., Taniyasu, S., Gulkowska, A., Yamashita, N., Schulte-Oehlmann, U., 2006. Is fish a major source of fluorinated surfactants and repellents in humans living on the Baltic Coast? *Environmental Science and Technology* 40, 748-751.
- FAO-WHO, 2009. Bisphenol A (BPA) - Current state of knowledge and future actions by WHO and FAO. *INFOSAN Information Note No. 5/2009*.
- Fiedler, H., 1997. Polychlorinated biphenyls (PCBs): uses and environmental releases. *Proceedings of the Subregional Awareness Raising Workshop on Persistent Organic Pollutants (POPs), St. Petersburg, Russia*.
- Focardi, S., Corsolini, S., Bargagli, R., 1995. Isomer-specific analysis and toxic evaluation of polychlorinated biphenyls in Antarctic fish, seabirds and Weddell seal from Terra Nova Bay (Ross Sea). *Antarctic Science* 7, 31-35.
- Freake, H.C., 2005. Zinc, en: Caballero, B., Allen, L., Prentice, A. (Eds.). *Encyclopedia of Human Nutrition*. Elsevier, Amsterdam, pp. 447-454.
- Frias, J.E., Gil, M.N., Esteves, J.L., García Borboroglu, P., Kane, O.J., Smith, J.R., Boersma, P.D., 2012. Mercury levels in feathers of Magellanic penguins. *Marine Pollution Bulletin* 64, 1265-1269.
- Fu, P., Kawamura, K., 2010. Ubiquity of bisphenol A in the atmosphere. *Environmental Pollution* 158, 3138-3143.
- Furness, R.W., 1996. Cadmium in birds, en: Beyer, W.N., Heinz, G.H., Redmon-Norwood, A.W. (Eds.). *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Lewis Pub, Boca Raton, pp 389-404.
- Furness, R.W., Camphuysen, C.J., 1997. Seabirds as monitors of the marine environment. *ICES Journal of Marine Science* 54, 726-737.
- Geisz, H., Dickhut, R., Cochran, M., Fraser, W., Ducklow, H., 2008. Melting glaciers: a probable source of DDT to the Antarctic marine ecosystem. *Environmental Science and Technology* 42, 3958-3962.

- Gesi, M., 2009. Distribuzione di PCB e pesticidi clorurati in tessuti del pinguino di Adèlia (*Pygoscelis adeliae*), del pinguino antartico (*Pygoscelis antarctica*) e del pinguino papua (*Pygoscelis papua*). Bachelor degree in Environmental Science, University of Siena, Siena, Italy. Tutor: Simonetta Corsolini.
- Giesy, J.P., Kannan, K., 2001. Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environmental Science and Technology* 35, 1339-1342.
- Gochfeld, M., Belant, J.L., Shukla, T., Benson, T., Burger, J., 1996. Heavy metals in Laughing gulls: gender, age and tissue differences. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, 2275-2283.
- Goutner, V., Becker, P.H., Liordos, V., Tsachalidis, E.P., 2011. Mercury in white stork (*Ciconia ciconia*) chick feathers from Northeastern Mediterranean areas in relation to age, brood size, and hatching order. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 61, 327-336.
- Grotti, M., Soggia, F., Lagomarsino, C., Dalla Riva, S., Goessler, W., Francesconi, K.A., 2008. Natural variability and distribution of trace elements in marine organisms from Antarctic coastal environments. *Antarctic Science* 20, 39-51.
- Guirlet, E., Das, K., Girondot, M., 2008. Maternal transfer of trace elements in leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) of French Guiana. *Aquatic Toxicology* 88, 267-276.
- Hall, J.O., 2007. Selenium, en: Gupta, R.C. (Ed.). *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*. Academic Press, Elsevier, Amsterdam.
- Harris, C.M., 1991. Environmental effects of human activities on King George Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Polar Record* 27, 193-204.
- Haukås, M., Berger, U., Hop, H., Gulliksen, B., Gabrielsen, G.W., 2007. Bioaccumulation of per- and polyfluorinated alkyl substances (PFAS) in selected species from the Barents Sea food web. *Environmental Pollution* 148, 360-371.
- Hegseth, M.N., Regoli, F., Gorbi, S., Bocchetti, R., Gabrielsen, G.W., Camus, L., 2011a. Lysosomal and lipid-associated parameters in the livers of three species of arctic seabird chicks: species differences and relationships with contaminant levels. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1652-1660.
- Hegseth, M.N., Camus, L., Helgason, L.B., Bocchetti, R., Gabrielsen, G.W., Regoli, F., 2011b. Hepatic antioxidant responses related to levels of PCBs and metals in chicks of three Arctic seabird species. *Comp. Biochem. Physiol.* 154, 28-35.

- Heinz, G.H., 1996. Selenium in birds, en: Beyer, W.N., Heinz, G.H., Redmon-Norwood, A.W. (Eds.). *Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations*. Lewis Pub, Boca Raton, pp 447-458.
- Hintelmann, H., 2010. Organomercurials. Their formation and pathways in the environment. *Metal Ions in Life Sciences* 7, 365-401.
- Honda, K., Yamamoto, Y., Hidaka, H., Tatsukawa, R., 1986. Heavy metal accumulations in Adélie penguin, *Pygoscelis adeliae*, and their variations with the reproductive processes. *Memoirs of National Institute of Polar Research* 40, 443-453.
- Hopper, S.H., Adams, H.S., 1958. Copper poisoning from vending machines. *Public Health Reports* 73, 910-914.
- Hu, W., Jones, P.D., DeCoen, W., King, L., Fraker, P., Newsted, J., Giesy, J.P., 2003. Alterations in cell membrane properties caused by perfluorinated compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology C* 135, 77-88.
- IAATO, 2011. International Association of Antarctica Tour Operators. 2009-2010 Tourism Summary. Disponible en: http://www.iaato.org/tourism_stats.html (último acceso: enero 2011).
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2011. Bisfenol A – Documentación toxicológica para el establecimiento del límite de exposición profesional de bisfenol A. Disponible en: [http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/LEP%20 VALORES%20LIMITE/Doc_Toxicologica/Ficheros%202011/DLEP%2060%20Bisfenol%20A.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/LEP%20%20VALORES%20LIMITE/Doc_Toxicologica/Ficheros%202011/DLEP%2060%20Bisfenol%20A.pdf) (último acceso: junio 2012).
- IPCS, 1994. Lead, organic. International Programme on Chemical Safety Database. Disponible en: <http://www.inchem.org/> (último acceso: enero 2011).
- IPCWG, 2011. International Penguins Conservation Work Group. Disponible en: <http://www.penguins.cl/> (último acceso: enero 2011).
- Jackson, A.R.W., Jackson, J.M., 2000. *Environmental Science: The Natural Environment and Human Impact*. Pearson Education, Harlow.
- Jerez, S., Motas, M., Cánovas, R.A., Talavera, J., Almela, R.M., Bayón, A., 2010. Accumulation and tissue distribution of heavy metals and essential elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Spanish Mediterranean coastline of Murcia. *Chemosphere* 78, 256-264.

- Jerez, S., Motas, M., Palacios, M.J., Valera, F., Cuervo, J.J., Barbosa, A., 2011. Concentration of trace elements in feathers of three Antarctic penguins: geographical and interspecific differences. *Environmental Pollution* 159, 2412-2419.
- Kahle, J., Zauke, G.P., 2003. Bioaccumulation of trace metals in the Antarctic amphipod *Orchomene plebs*: evaluation of toxicokinetic models. *Marine Environmental Research* 55, 359-384.
- Kannan, K., Hilscherova, K., Imagawa, T., Yamashita, N., Williams, L.L., Giesy, J.P., 2001. Polychlorinated naphthalenes, -biphenyls, -dibenzo-p-dioxins and -dibenzofurans in double crested cormorants and herring gulls from Michigan waters of the Great Lakes. *Environmental Science and Technology* 35, 441-447.
- Kennedy, G.L., Butenhoff, J.L., Olsen, G.W., O'Connor, J.C., Seacat, A.M., Perkins, R.G., Biegel, L.B., Murphy, S.R., Farrar, D.G., 2004. The toxicology of perfluorooctanoate. *Critical Reviews in Toxicology* 34, 351-384.
- Kennicutt, M.C., 2009. King George Island and SCAR science. Invited paper for COMNAP meeting, Punta Arenas, Chile.
- Kent, S., Seddon, J., Robertson, G., Wienecke, B.C., 1998. Diet of Adélie penguins *Pygoscelis adeliae* at Shirley Island, East Antarctica, January 1992. *Marine Ornithology* 26, 7-10.
- Kim, E.Y., Saeki, K., Tanabe, S., Tanaka, H., Tatsukawa, R., 1996. Specific accumulation of mercury and selenium in seabirds. *Environmental Pollution* 94, 261-265.
- Kim, E.Y., Goto, R., Tanabe, S., Tanaka, H., Tatsukawa, R., 1998. Distribution of 14 trace elements in tissues and organs of oceanic seabirds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 35, 638-645.
- Kim, J., Shin, J.R., Koo, T.H., 2009. Heavy metal distribution in some wild birds from Korea. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 317-324.
- Kimbrough, D.E., Cohen, Y., Winer, A.M., 1999. A critical assessment of chromium in the environment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 29, 1-46.
- Klaassen, C.D., 1996. The basic science of poisons, en: Casarett and Doull's (Eds.). *Toxicology*. McGraw-Hill, New York, pp. 969-986.
- Klaassen, E.D., 2001. Heavy metal and heavy metal antagonists, en: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Gilman (Eds.). *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw Hill, New York, pp. 1851-1875.
- Klasing, K.C., 2005. Cadmium, en: National Research Council (Ed.). *Mineral Tolerances of Animals*. The National Academies Press, Washington, pp.

- Klawe, J.J., 2003. Biosynthesis and significance of Heme (Haem). *Encyclopedia of food sciences and nutrition*. Academic Press, San Diego, pp. 3379-3381.
- Kobayashi, K., Ohtani, K., Kubota, H., Miyagawa, M., 2010. Dietary exposure to low doses of bisphenol A: Effects on reproduction and development in two generations of C57BL/6J mice. *Congenital Anomalies (Kyoto)* 50, 159-170.
- Koch, H.M., Rossbach, B., Drexler, H., Angerer, J., 2003. Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates-determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environmental Research* 93, 177-185.
- Koch, H.M., Bolt, H.M., Preuss, R., Angerer, J., 2005. New metabolites of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP. *Archives of Toxicology* 79, 367-376.
- Koeman, J.H., Peters, W.H.M., Koudstaal-Hol, C.H.M., Tjioe, P.S., de Goeij, J.J.M., 1973. Mercury-selenium correlations in marine mammals. *Nature* 245, 385-386.
- Kohlmeier, M., 2003. Zinc, en: Kohlmeier, M. (Eds.). *Nutrient Metabolism*. Academic Press, New York, pp. 685-693.
- Koizumi, N., Murata, K., Hayashi, C., Nishio, H., Goji, J., 2008. High cadmium accumulation among humans and primates: comparison across various mammalian species - a study from Japan. *Biological Trace Element Research* 121, 205-214.
- Kojadinovic, J., Bustamante, P., Churlaud, C., Cosson, R.P., Le Corre, M., 2007. Mercury in seabird feathers: insight on dietary habits and evidence for exposure levels in the western Indian Ocean. *Science of the Total Environment* 384, 194-204.
- Kotas, J., Stasicka, Z., 2000. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. *Environmental Pollution* 107, 263-283.
- Kubota, R., Kunito, T., Tanabe, S., 2001. Arsenic accumulation in the liver tissue of marine mammals. *Environmental Pollution* 115, 303-312.
- Kumar, K.S., Kannan, K., Corsolini, S., Evans, T., Giesy, J.P., Nakanishi, J., Masunaga, S., 2002. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and polychlorinated biphenyls in polar bear, penguin and south polar skua. *Environmental Pollution* 119, 151-161.
- LaKind, J., Naiman, D., 2011. Daily intake of bisphenol A and potential sources of exposure: 2005–2006 National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology* 21, 272-279.
- Lang, I.A., Galloway, T.S., Scarlett, A., Henley, W.E., Depledge, M., Wallace, R.B., Melzer, D., 2008. Association of urinary bisphenol A concentration with medical disorders and

- laboratory abnormalities in adults. *The Journal of the American Medical Association* 300, 1303-1310.
- Larison, J.R., Likens, G.E., Fitzpatrick, J.W., Crock, J.G., 2000. Cadmium toxicity among wildlife in the Colorado Rocky Mountains. *Nature* 406, 181-183.
- Latini, G., Scoditti, E., Verrotti, A., De Felice, C., Massaro, M., 2008. Peroxisome proliferator-activated receptors as mediators of phthalate-induced effects in the male and female reproductive tract: epidemiological and experimental evidence. *PPAR Research* 2008, ID 359267.
- Lau, C., Thibodeaux, J.R., Hanson, R.G., Rogers, J.M., Grey, B.E., Stanton, M.E., Butenhoff, J.L., Stevenson, L.A., 2003. Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluation. *Toxicological Sciences* 74, 382-392.
- Lemley, A.D., 1993. Guidelines for evaluating selenium data from aquatic monitoring and assessment studies. *Environmental Monitoring and Assessment* 28, 83-100.
- Levengood, J.M., Sanderson, G.C., Anderson, W.L., Foley, G.L., Brown, P.W., Seets, J.W., 2000. Influence of diet on the hematology and serum biochemistry of zinc-intoxicated mallards. *Journal of Wildlife Diseases* 36, 111-123.
- Lewis, A., 1995. *Copper in Water and Aquatic Environments*. International Copper Association, LTD, New York.
- Liu, X., Zhao, S., Sun, L., Yin, X., Xie, Z., Honghao, L., Wang, Y., 2006. P and trace metal contents in biomaterials, soils, sediments and plants in colony of red-footed booby (*Sula sula*) in the Dongdao Island of South China Sea. *Chemosphere* 65, 707-715.
- Lock, J.W., Thompson, D.R., Furness, R.W., Bartle, J.A., 1992. Metal concentrations in seabirds of the New Zealand region. *Environmental Pollution* 75, 289-300.
- Loeb, V., Siegel, V., Holm-Hansen, O., Hewitt, R., Fraserk, W., Trivelpiecek, W., Trivelpiecek, S., 1997. Effects of sea-ice extent and krill or salp dominance on the Antarctic food web. *Nature* 387, 897-900.
- Löfstrand, K., Jörundsdóttir, H., Tomy, G., Svavarsson, J., Weihe, P., Nygård, T., Bergman, K., 2008. Spatial trends of polyfluorinated compounds in guillemot (*Uria aalge*) eggs from North-Western Europe. *Chemosphere* 72, 1475-1480.
- Lohan, M.C., Statham, P.J., Peck, L., 2001. Trace metals in the Antarctic soft-shelled clam *Laternula elliptica*: implications for metal pollution from Antarctic research stations. *Polar Biology* 24, 808-817.

- Lonnerdal, B., 2000. Dietary factors influencing zinc absorption. *Journal of Nutrition* 130, 1378-1383.
- López-Artíguez, M., Repetto, M., 1995. Estado actual de la toxicología del cadmio, en: Repetto, M. (Ed.). *Toxicología Avanzada*. Díaz de Santos, Madrid, pp. 393-424.
- Lucia, M., André, J.M., Gontier, K., Diot, N., Veiga, J., Davail, S., 2010. Trace element concentrations (mercury, cadmium, copper, zinc, lead, aluminium, nickel, arsenic, and selenium) in some aquatic birds of the Southwest Atlantic Coast of France. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 58, 844-853.
- Lucky, T.D., Venugopal, B., 1977. *Metal Toxicity in Mammals, Vol. I, Physiological and Chemical Basis for Metal Toxicity*. Plenum Press, New York.
- Luebker, D., York, R., Hansen, K., Moore, J., Butenhoff, J., 2005. Neonatal mortality from in utero exposure to perfluorooctanesulfonate (PFOS) in Sprague–Dawley rats: dose-response, and biochemical and pharmacokinetic parameters. *Toxicology* 215, 149-169.
- Lynch, S.R., 2003. *Iron / Physiology*. Eastern Virginia Medical School. Elsevier Science Ltd., Norfolk, Virginia, VA.
- Lynch, H.J., Fagan, W.F., Naveen, R. 2008. Population trends and reproductive success at a frequently visited penguin colony on the western Antarctic Peninsula. *Polar Biology* 33, 493-503.
- Lynch, H. J., Crosbie, K., Fagan, W. F., Naveen, R. 2010. Spatial patterns of tour ship traffic in the Antarctic Peninsula region. *Antarctic Science* 22, 123-130.
- Magos, L., Webb, M., 1980. The interactions of selenium with cadmium and mercury. *CRC Critical Reviews in Toxicology* 8, 1-42.
- Maisano, F., 2009. PCB e pesticidi clorurati in uova e tessuti di pinguino di Adelia (*Pygoscelis adeliae*), di pinguino papua (*Pygoscelis papua*) e krill (*Euphasia superba*) provenienti dallo Stretto di Bransfield. Bachelor degree in Environmental Science, University of Siena, Siena, Italy. Tutor: Simonetta Corsolini.
- Malik, R.N., Zeb, N., 2009. Assessment of environmental pollution using feathers of *Bulbucus ibis L.*, as biomonitor of heavy metals pollution, Pakistan. *Ecotoxicology* 18, 522-536.
- Malinga, M., Szefer, P., Gabrielsen, G.W., 2010. Age, sex and spatial dependent variations in heavy metals levels in the Glaucous Gulls (*Larus hyperboreus*) from the Bjørnøya and Jan Mayen, Arctic. *Environmental Monitoring and Assessment* 169, 407-416.

- Mariscal-Arcas, M., Rivas, A., Granada, A., Monteagudo, C., Murcia, M.A., Olea-Serrano F., 2009. Dietary exposure assessment of pregnant women to bisphenol-A from cans and microwave containers in Southern Spain. *Food Chemistry and Toxicology* 47, 506-510.
- Martin, J.W., Smithwick, M.M., Braune, B.M., Hoekstra, P.F., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., 2004. Identification of long-chain perfluorinated acids in biota from the Canadian Arctic. *Environmental Science and Technology* 38, 373-380.
- Mas, A., 1993. Elementos esenciales, in: Mas, A., Azcue, J.M. (Eds.), *Metales en Sistemas Biológicos*. Promociones y Publicaciones Universitarias, Barcelona, pp. 105-142.
- Mas, A., Azcue, J.M., 1993. *Metales en Sistemas Biológicos*. PPU Eds., Barcelona.
- Mauri, M., Orlando, E., Nigro, M., Regoli, F., 1990. Heavy metals in the Antarctic scallop *Adamussium colbecki*. *Marine Ecology Progress Series* 67, 27-33.
- McLaughlin, M.J., Tiler, K.G., Naidu, R., Stevens, D.P., 1996. Review: the behaviour and environmental impact of contaminants in fertilizers. *Australian Journal of Soil Research* 34:1-54.
- Meeker, J., Calafat, A., Hauser, R., 2008. Urinary metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate are associated with decreased steroid hormone levels in adult men. *Journal of Andrology* 30, 287-297.
- Mendes, P., Eira, C., Torres, J., Soares, A.M.V.M., Melo, P., Vingada, J., 2008. Toxic element concentration in the Atlantic gannet *Morus bassanus* (Pelecaniformes, Sulidae) in Portugal. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55, 503-509.
- Metcheva, R., Yurukova, L., Teodorova, S., Nikolova, E., 2006. The penguin feathers as bioindicator of Antarctica environmental state. *Science of the Total Environment* 362, 259-265.
- Methfessel, A.H., Spencer, H., 1973. Zinc metabolism in the rat: I. Intestinal absorption of zinc. *Journal of Applied Physiology* 34, 58-62.
- Michalke, B., Halbach, S., Nischwitz, V., 2007. Speciation and toxicological relevance of manganese in humans. *Journal of Environmental Monitoring* 9, 650-656.
- Mielke, H., Gundert-Remy, U., 2009. Bisphenol A levels in blood depend on age and exposure. *Toxicology Letters* 190, 32-40.
- Miller, A.K., Karnovsky, N.J., Trivelpiece, W.Z., 2009. Flexible foraging strategies of gentoo penguins *Pygoscelis papua* over 5 years in the South Shetland Islands, Antarctica. *Marine Biology* 156, 2527-2537.

- Miller, A.K., Kappes, M.A., Trivelpiece, S.G., Trivelpiece, W.Z., 2010. Foraging-niche separation of breeding gentoo and chinstrap penguins, South Shetland Islands, Antarctica. *The Condor* 112, 683-695.
- Minganti, V., Capelli, R., De Pellegrini, R., 1998. The concentrations of Pb, Cd, Cu, Zn, and V in *Adamussium colbecki* from Terra Nova Bay (Antarctica). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 71, 257-263.
- Mochizuki, M., Mori, M., Hondo, R., Ueda, F., 2008. A new index for evaluation of cadmium pollution in birds and mammals. *Environmental Monitoring and Assessment* 137, 35-49.
- Moline, M.A., Claustre, H., Frazer, T.K., Schofield, O., Vernet, M., 2004. Alteration of the food web along the Antarctic Peninsula in response to a regional warming trend. *Global Change Biology* 10, 1973-1980.
- Montone, R.C., Taniguchi, S., Weber, R.R., 2003. PCBs in the atmosphere of King George Island, Antarctica. *Science of the Total Environment* 308, 167-173.
- Moody, C., Martin, J., Kwan, W.C., Muir, D., Mabury, S., 2002. Monitoring perfluorinated surfactants in biota and surface water samples following an accidental release of fire-fighting foam into Etobicoke Creek. *Environmental Science and Technology* 36, 545-551.
- Moreno-Graw, M.D., 2003. *Toxicología Ambiental. Evaluación del Riesgo para la Salud Humana*. Mc Graw Hill, Madrid.
- Muir, D., de Wit, C., 2010. Trends of legacy and new persistent organic pollutants in the circumpolar Arctic: overview, conclusions, and recommendations. *Science of the Total Environment* 408, 3044-3051.
- Muñoz, J., Becker, P.H., Sommer, U., Pacheco, P., Schlatter, R., 2003. Seabird eggs as bioindicators of chemical contamination in Chile. *Environmental Pollution* 126, 123-137.
- Nagle, R.D., Rowe, L., Congdon, J.D., 2001. Accumulation and selective maternal transfer of contaminants in the turtle *Trachemys scripta* associated with coal ash deposition. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 40, 531-536.
- Nam, D.H., Anan, Y., Ikemoto, T., Okabe, Y., Kim, E.Y., Subramanian, A., Saeki, K., Tanabe, S., 2005. Specific accumulation of 20 trace elements in great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environmental Pollution* 134, 503-514.
- Nayak, P., 2002. Aluminum: impacts and disease. *Environmental Research* 89, 101-115.
- Neff, J.M., 1997. Ecotoxicology of arsenic in the marine environment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 917-927.

- Negri, A., Burns, K., Boyle, S., Brinkman, D., Webster, N., 2006. Contamination in sediments, bivalves and sponges of McMurdo Sound, Antarctica. *Environmental Pollution* 143, 456-467.
- Nesse, A., Garbossa, G., Pérez, G., Vittori, D., Pregi., N., 2003. Aluminio: ¿culpable o inocente? *Química Viva* 2, 9-16.
- Newsted, J.L., Beach, S.A., Gallagher, S.P., Giesy, J.P., 2006. Pharmacokinetics and acute lethality of perfluorooctane sulfonated (PFOS) to juvenile mallard and northern bobwhite. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 50, 411-420.
- Newton, A., 2008. Overheating Antarctica. *Geophysical Research Letters* 35, L07502.
- Nigro, M., Regoli, F., Rocchi, L., Orlando, E., 1997. Heavy metals in Antarctic molluscs, en: Battaglia, B., Valencia, J., Walton, D.W.H. (Eds.). *Antarctic Communities: Species, Structure and Survival*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 409-412.
- NOAA, 2011. Global Measured Extremes of Temperature and Precipitation. National Oceanic and Atmospheric Administration, USA. Disponible en: <http://www.ncdc.noaa.gov/oa/climate/globalextremes.html> (último acceso: enero 2011).
- Norheim, G., 1987. Levels and interactions of heavy metals in sea birds from Svalbard and the Antarctic. *Environmental Pollution* 47, 83-94.
- Nygaard, T., Lie, E., Rov, N., Steinnes, E., 2001. Metal dynamics in an Antarctic food chain. *Marine Pollution Bulletin* 42, 598-602.
- Nygaard, T., Lie, E., Rov, N., Steinnes, E., 2001. Metal dynamics in an Antarctic food chain. *Marine Pollution Bulletin* 42, 598-602.
- Nyholm, N.E.I., 1981. Evidence of involvement of aluminum in causation of defective formation of eggshells and of impaired breeding in wild passerine birds. *Environmental Research* 26, 363-371.
- O'Flaherty, E.J., 1998. Physiologically based models of metal kinetics. *Critical Reviews in Toxicology* 28, 271-317.
- Oberdörster, G., 1988. Lung clearance of inhaled insoluble and soluble particles. *Journal of Aerosol Medicine* 1, 289-330.
- Ohlendorf, H.M., 1989. Bioaccumulation and effects of selenium in wildlife, en: Jacobs, L.W. (Ed.). *Selenium in Agriculture and the Environment*. SSSA Special Publication No. 23. American Society of Agronomy and Soil Science Society of America, Madison WI, pp 133-177.

- Outridge, P.M., Scheuhammer, A.M., 1993a. Bioaccumulation and toxicology of nickel: implications for wild mammals and birds. *Environmental Reviews* 1, 172-197.
- Outridge, P.M., Scheuhammer, A.M., 1993b. Bioaccumulation and toxicology of chromium: implications for wildlife. *Reviews in Environmental Contamination and Toxicology* 130, 31-77.
- Pacyna, E.G., Pacyna, J.M., Sundseth, K., Munthe, J., Kindbom, K., Wilson, S., Steenhuisen, F., Maxson, P., 2010. Global emission of mercury to the atmosphere from anthropogenic sources in 2005 and projections to 2020. *Atmospheric Environment* 44, 2487-2499.
- Padula, V., Burger, J., Newman, S.H., Elbin, S., Jeitner, C., 2009. Metals in feathers of black-crowned night-heron (*Nycticorax nycticorax*) chicks from New York Harbor Estuary. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 59, 157-165.
- Parish, T.R., Cassano, J.J., 2003. The role of katabatic winds on the Antarctic surface wind regime. *Monthly Weather Review* 131, 317-333.
- Pastor, D., Ruiz, I., Barcelò, D., Albaigés, J., 1995. Dioxins, furans and AHH-active PCB congeners in eggs of two gull species From the Western Mediterranean. *Chemosphere* 31, 3397-3411.
- Pérez-López, M., Cid, F., Oropesa, A.L., Fidalgo, L.E., Beceiro, A.L., Solera, F., 2006. Heavy metal and arsenic content in seabirds affected by the Prestige oil spill on the Galician coast (NW Spain). *Science of the Total Environment* 359, 209-220.
- Petri, G., Zauke, G.P., 1993. Trace metals in crustaceans in the Antarctic Ocean. *Ambio* 22, 529-536.
- Petri, G., Zauke, G.P., 1996. Trace metals in crustaceans in the Antarctic Ocean. *Ambio* 22, 529-536.
- Pfaffhuber, K.A., Berg, T., Hirdman, D., Stohl, A., 2011. Atmospheric mercury observations from Antarctica: seasonal variation and source and sink region calculations. *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions* 11, 29117-29139.
- Poblet, A., Andrade, S., Scagliola, M., Vodopivec, C., Curtosi, A., Pucci, A., Marcovecchio, J., 1997. The use of epilithic Antarctic lichens (*Usnea aurantiacoatra* and *U. antarctica*) to determine deposition patterns of heavy metals in the Shetland Islands, Antarctica. *Science of the Total Environment* 207, 187-194.
- Prevedouros, K., Cousins, I.T., Buck, R.C., Korzeniowski, S.H., 2006. Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental Science and Technology* 40, 32-44.

- Prins, G.S., Ye, S.H., Birch, L., Ho, S., Kannan, K., 2011. Serum bisphenolA pharmacokinetics and prostate neoplastic responses following oral and subcutaneous exposures in neonatal Sprague–Dawley rats. *Reproductive Toxicology* 31, 1-9.
- Pütz, K., Ingham, R.J., Smith, J.G., Croxall, J.P., 2001. Population trends, breeding success and diet composition of gentoo *Pygoscelis papua*, magellanic *Spheniscus magellanicus* and rockhopper *Eudyptes chrysocome* penguins in the Falkland Islands. A review. *Polar Biology* 24, 793-807.
- Repetto, M., 1995. *Toxicología Avanzada*. Díaz Santos, Madrid.
- Repetto, M., Sanz, P., 2008. *Toxicología de los metales*, en: Repetto, M. (Ed.). *Postgrado en Toxicología*. Ilustre Colegio Oficial de Químicos, Sevilla.
- Rey, J., Somoza, L., Martínez-Frías, J., 1995. Tectonic, volcanic and hydrothermal event sequence on Deception Island (Antarctica). *Geo-Marine Letters* 15, 1-8.
- Ribeiro, A.R., Eira, C., Torres, J., Mendes, P., Miquel, J., Soares, A.M., Vingada, J., 2009. Toxic element concentrations in the razorbill Alca torda (*Charadriiformes, Alcidae*) in Portugal. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 588-595.
- Risebrough, R.W., Rieche, P., Peakall, D.B., Herman, S.G., Kirven., M.N., 1968. Polychlorinated biphenyls in the global ecosystem. *Nature* 220, 1098-1102.
- Rodgers, G.P., Kolins, D.E., Finger, D., 1987. Unusual case of iron intoxication. *Journal of Toxicology Clinical Toxicology* 25, 251-253.
- Rodrigue, J., Champoux, L., Leclair, D., Duchesne, J.F., 2007. Cadmium concentrations in tissues of willow ptarmigan (*Lagopus lagopus*) and rock ptarmigan (*Lagopus muta*) in Nunavik, Northern Québec. *Environmental Pollution* 147, 642-647.
- Rombolá, E., Marschoff, E., Coria, N., 2004. Comparación de la dieta y éxito reproductivo del pingüino barbijo (*Pygoscelis antarctica*) durante dos temporadas reproductivas consecutivas en la isla Laurie, Orcadas del Sur. *Actas del V Simposio Argentino y I Latinoamericano sobre Investigaciones Antárticas*, Buenos Aires.
- Rombolá, E.F., Marschoff, E., Coria, N., 2009. Inter-annual variability in chinstrap penguin diet at South Shetland and South Orkneys Islands. *Polar Biology* 33, 799-806.
- Roomen, M., van Koffijberg, K., Noordhuis, R., Soldaat, L., 2006. Long-term waterbird monitoring in The Netherlands: a tool for policy and management, en: Boere, G.C., Galbraith, C.A., Stroud, D.A. (Eds.). *Waterbirds Around the World*. The Stationery Office, Edinburgh, pp. 463-470.

- Ropert-Coudert, Y., Kato, A., Bost, C.A., Rodary, D., Sato, K., Le Maho, Y., Naito, Y., 2002. Do Adélie penguins modify their foraging behaviour in pursuit of different prey? *Marine Biology* 140, 647-652.
- Sanchez-Hernandez, J.C., 2000. Trace element contamination in Antarctic ecosystems. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 166, 82-127.
- Savinov, V.M., Gabrielsen, G.W., Savinova, T.N., 2003. Cadmium, zinc, copper, arsenic, selenium and mercury in seabirds from the Barents Sea: levels, inter-specific and geographical differences. *Science of the Total Environment* 306, 133-158.
- Scheuhammer, A.M., 1987. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: a review. *Environmental Pollution* 46, 263-295.
- Schiavone, A., Corsolini, S., Borghesi, N., Focardi, S., 2009a. Contamination profiles of selected PCB congeners, chlorinated pesticides, PCDD/Fs in Antarctic fur seal pups and penguin eggs. *Chemosphere* 76, 264-269.
- Schiavone, A., Corsolini, S., Kannan, K., Tao, L., Trivelpiece, W., Torres Jr., D., Focardi, S., 2009b. Perfluorinated contaminants in fur seal pups and penguin eggs from South Shetland, Antarctica. *Science of the Total Environment* 407, 3899-3904.
- Schneider, R., Steinhagen-Schneider, G., Drescher, H.E., 1985. Organic chlorines and heavy metals in seals and birds from Weddell Sea, in: Siegfried, W.R., Condy, P.R., Laws, R.M. (Eds.), *Antarctic Nutrient Cycles and Food Webs. Proceedings 4th SCAR Symposium Antarctic Biology*, Springer, Berlin, pp. 652-655.
- Schroeder, T., Avery, D.D., Cross, H.A., 1972. Tetraethyl lead dose response curve for mortality in laboratory rats. *Experientia* 15, 923-924.
- Schroeder, W.H., Dobson, M., Kane, D.M., 1987. Toxic trace elements associated with airborne particulate matter: a review. *Journal of the Air Pollution Control Association* 37, 1267-1285.
- Schulz, D.E., Petrick, G., Duinker, J.C., 1989. Complete characterization of polychlorinated biphenyl congeners in commercial Aroclor and Clophen mixtures by multidimensional gas chromatography-electron capture detection. *Environmental Science and Technology* 23, 852-859.
- Schwarz, K., Pickett, S., Lathrop, R., Weathers, K., Pouyat, R., Cadenasso, M., 2012. The effects of the urban built environment on the spatial distribution of lead in residential soils. *Environmental Pollution* 163, 32-39.

- Seacat, A.M., Thomford, P.J., Hansen, K.J., Clemen, L.A., Eldridge, S.R., Elcombe, C.R., Butenhoff, J.L., 2003. Sub-chronic dietary toxicity of potassium perfluorooctanesulfonate in rats. *Toxicology* 183, 117-131.
- Sheppard, D.S., Patterson, J.E., McAdam, M.K., 1991. Mercury content of Antarctic ice and snow: further results. *Atmospheric Environment* 25, 1657-1660.
- Sieli, P.T., Jašarević, E., Warzak, D.A., Mao, J., Ellersieck, M.R., Liao, C., Kannan, K., Collet, S., Toutain, P.L., vom Saal, F., Rosenfeld, C., 2011. Comparison of serum bisphenol A concentrations in mice exposed to bisphenol A through the diet versus oral bolus exposure. *Environmental Health Perspectives* 119, 1260-1265.
- Silva, M.J., Malek, N.A., Hodge, C.C., Reidy, J.A., Kato, K., Barr, D.B., Needham, L.L., Brock, J.W., 2003. Improved quantitative detection of 11 urinary phthalate metabolites in humans using liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 789, 393-404.
- Sladen, W.J.L., Menzie, C.M., Reichel, W.L., 1963. DDT residues in Adelie penguins and a crabeater seal from Antarctica. *Nature* 210, 670-673.
- Smetacek, V., Nicol, S., 2005. Polar ocean ecosystems in a changing world. *Nature* 437, 362-368.
- Smichowski, P., Vodopivec, C., Muñoz-Olivas, R., Gutierrez, A.M., 2006. Monitoring trace elements in selected organs of Antarctic penguin (*Pygoscelis adeliae*) by plasma-based techniques. *Microchemical Journal* 82, 1-7.
- Smith, P., Cobb, G., Godard-Coding, C., Hoff, D., McMurry, S., Rainwater, T., Reynolds, K., 2007. Contaminant exposure in terrestrial vertebrates. *Environmental Pollution* 150, 41-64.
- Soria, M.L., Repetto, G., Repetto, M., 1995. Revisión general de la toxicología de los metales, en: Repetto, M. (Ed.). *Toxicología Avanzada*. Díaz de Santos, Madrid, pp. 293-358.
- Spallholz, J.E., Hoffman, D.J., 2002. Selenium toxicity: cause and effects in aquatic birds. *Aquatic Toxicology* 57, 27-37.
- Steig, E.J., Schneider, D.P., Rutherford, S.D., Mann, M.E., Comiso, J.C., Shindell, D.T., 2009. Warming of the Antarctic ice-sheet surface since the 1957 International Geophysical Year. *Nature* 457, 459-462.
- Sthal, T., Mattern, D., Brunn, H., 2011. Review: Toxicology of perfluorinated compounds. *Environmental Sciences Europe* 23, 38.

- Stout, J.H., Trust, K.A., Cochrane, J.K., Suydam, R.S., Quakenbush, L.T., 2002. Environmental contaminants in four eider species from Alaska and arctic Russia. *Environmental Pollution* 119, 215-226.
- Sun, L., Xie, Z., 2001. Changes in lead concentration in Antarctic penguin droppings during the past 3,000 years. *Environmental Geology* 40, 1205-1208.
- Svechnikov, K., Izzo, G., Landreh, L., Weisser, J., Söder, O., 2010. Endocrine disruptors and Leydig cell function. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010, ID 684504.
- Swan, S.H., Liu, F., Hines, M., Kruse, R.L., Wang, C., Redmon, J.B., Sparks, A., Weiss, B., 2010. Prenatal phthalate exposure and reduced masculine play in boys. *International Journal of Andrology* 33, 259-269.
- Szefer, P., Pempkowiak, J., Skwarzee, B., Bojanowski, R., Holm, E., 1993a. Concentration of selected metals in penguins and other representative fauna in the Antarctica. *Science of the Total Environment* 138, 281-288.
- Szefer, P., Czarnowski, W., Pempkowiak, J., Holm, E., 1993b. Mercury and major essential elements in seals, penguins, and other representative fauna of Antarctica. *Environmental Contamination and Toxicology* 25, 422-427.
- Szefer, P., Szefer, K., Pempkowiak, J., Skwarzec, B., Bojanowski, R., Holm, E., 1994. Distribution and coassociations of selected metals in seals of the Antarctic. *Environmental Pollution* 83, 341-349.
- Taggart, M.A., Figuerola, J., Green, A.J., Mateo, R., Deacon, C., Osborn, D., Meharg, A.A., 2006. After the Aznalcóllar mine spill: arsenic, zinc, selenium, lead and copper levels in the livers and bones of five waterfowl species. *Environmental Research* 100, 349-361.
- Takatori, S., Kitagawa, Y., Kitagawa, M., Nakazawa, H., Hori, S., 2004. Determination of di(2-ethylhexyl)phthalate and mono(2-ethylhexyl)phthalate in human serum using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 804, 397-401.
- Taniguchi, S., Montone, R.C., Bicego, M.C., Colabuono, F.I., Weber, R.R., Sericano, J.L., 2009. Chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in the fat tissue of seabirds from King George Island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin* 58, 129-133.
- Thomas, V.G., Scheuhammer, A.M., Bond, D.E., 2009. Bone lead levels and lead isotope ratios in red grouse from Scottish and Yorkshire moors. *Science of the Total Environment* 407, 3494-3502.

- Thomford, P.J., 2002. Final report: 104-week dietary chronic toxicity and carcinogenicity with perfluorooctanesulfonic acid potassium salt (PFOS; T-6295) in rats. Covance Laboratory Inc., Madison, WI.
- Thomson, M.R.A., Pankhurst, R.J., Clarkson, P.D., 2001. The Antarctic Peninsula - a late Mesozoic-Cenozoic arc (review), en: Oliver, R.L., James, P.R., Jago, J.B. (Eds.). Antarctic Earth Science. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 289-294.
- Tickner, J.A., Schettler, T., Guidotti, T., McCally, M., Rossi, M., 2001. Health risks posed by use of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review. American Journal of Industrial Medicine 39, 100-111.
- Tien, E.S., Hannon, D.B., Thompson J.T., Vanden Heuvel, J.P., 2006. Examination of ligand-dependent coactivator recruitment by peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPARalpha). PPAR Research 2006, ID 69612.
- Tierney, M., Emmerson, L., Hindell, M., 2009. Temporal variation in Adélie penguin diet at Béchervaise Island, East Antarctica, and its relationship to reproductive performance. Marine Biology 156, 1633-1645.
- Tin, T., Fleming, Z.L., Hughes, K.A., Ainley, D.G, Convey, P., Moreno, C.A., Pfeiffer, S., Scott, J., Snape, I., 2009. Impacts of local human activities on the Antarctic environment. Antarctic Science 21, 3-33.
- Tomy, G.T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Freisen, K., Pepper, K., Tittlemier, S.A., Fisk, A.T., 2004a. Fluorinated organic compounds in an eastern Arctic marine food web. Environmental Science and Technology 38, 6475-6481.
- Tomy, G.T., Tittlemier, S.A., Palace, V.P., Budakowski, W.R., Braekevelt, E., Brinkworth, L., Friesen, K., 2004b. Biotransformation of n-ethyl perfluorooctanesulfonamide by rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) liver microsomes. Environmental Science and Technology 38, 758-762.
- Underwood, E.J., Patty, P.C., Robertson, W.B., 1977. Evidence of heavy metal accumulation in sooty terns. Science of the Total Environment 14, 147-152.
- UNEP, 2002. Regionally based assessment of persistent toxic substances - Antarctica regional report. UNEP Chemicals, Geneva.
- UNEP, 2008. The global atmospheric mercury assessment: sources, emissions and transport. UNEP Chemicals Branch, Geneva.
- United States Consumer Product Safety Commission, 2010. Toxicity review of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). U.S. Consumer Product Safety Commission, Bethesda, MD.

- USEPA, 1984. Health assessment document for manganese. Final draft. Office of Research and Development, Environmental Protection Agency, (EPA-600/8-83-013F), Cincinnati, OH.
- USEPA, 1985. Locating and emitting air emissions from sources of manganese. Environmental Protection Agency, Office of Air Quality Planning and Standards (EPA-450/4-84-007h). Research Triangle Park, NC.
- USEPA, 2012. Health effects of PCBs. Disponible en: <http://www.epa.gov/osw/hazard/tsd/pcbs/pubs/effects.htm> (último acceso: junio 2012).
- Valdivia-Infantas, M.M., 2005. Intoxicación por plomo. Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna 18, 22-27.
- Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A.T.C., Brunstrom, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J.P., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S.W., Kubiak, T., Larsen, J.C., van Leeuwen, F.X.R., Djen Liem, A.K., Nolt, C., Peterson, R.E., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillit, D., Tysklind, M., Younes, M., Waern, F., Zacharewski, T., 1998. Toxic equivalents factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. Environmental Health Perspectives 106, 775-788.
- Vance, G.F., See, R.B., Reddy, K.J., 1998. Environmental Chemistry of Selenium. Marcel Dekker, New York.
- Vandal, G.M., Fitzgerald, W.F., Boutron, C.F., Candelone, J.P., 1993. Variations in mercury deposition to Antarctica over the past 34000 years. Nature 362, 621-623.
- Vaughan, D.G., Bamber, J.L., Giovinetto, M., Russell, J., Cooper, A.P.R., 1999. Reassessment of net surface mass balance in Antarctica. Journal of Climate 12, 933-946.
- Vega, C.M., Siciliano, S., Barrocas, P.R.G., Hacon, S.S., Campos, R.C., Jacob, S.C., Ott, P.H., 2009. Levels of cadmium, mercury, and lead in Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) stranded on the Brazilian coast. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 58, 460-468.
- Vera-Sempere, G., Climent-Díaz, B., 2004. Intoxicaciones por metales pesados, en: Bataller, R., Balaguer-Martínez, J.V. (Eds.). Toxicología clínica. Universitat de Valencia, Valencia, pp. 171-192.
- Verreault, J., Houde, M., Gabrielsen, G.W., Berger, U., Haukås, M., Letcher, R.J., Muir, D., 2005. Perfluorinated alkyl substances in plasma, liver, brain, and eggs of glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) from the Norwegian Arctic. Environmental Science and Technology 39, 7439-7445.

- Verreault, J., Berger, U., Gabrielsen, G.W., 2007. Trends of perfluorinated alkyl substances in herring gull eggs from two coastal colonies in northern Norway: 1983–2003. *Environmental Science and Technology* 41, 6671-6677.
- Vodopivec, C., Curtosi, A., 1998. Trace metals in some invertebrates, fishes and birds from Potter Cove, en: Wiencke, C., Ferreyra, G., Arntz, W., Rinaldi, C. (Eds.). *The Potter Cove Coastal Ecosystem, Antarctica*. Ber Polarforsch, Bremerhaven, pp. 296-303.
- Völkel, W., Colnot, T., Csanady, G.A., Filser, J.G., Dekant, W., 2002. Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology* 15, 1281-1287.
- Volkman, N.J., Presler, P., Trivelpiece, W., 1980. Diets of pygoscelid penguins at King George Island, Antarctica. *The Condor* 82, 373-378.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B., Beyersmann, D., 2003. Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis. *Toxicology* 192, 95-117.
- Walker, V. R., Sutton, R. A. L., Meirav, O., Sossi, V., Johnson, R., Klein, J., Flink, D., Middleton, R., 1994. Tissue disposition of ²⁶Al in rats measured by accelerator mass spectrometry. *Clinical and Investigative Medicine* 17, 420-425.
- Walsh, P., 1990. The use of seabirds as monitors of heavy metals in the marine environment, en: Furness, R., Rainbow, P. (Eds.). *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 183-204.
- Wang, N., Szostek, B., Buck, R.C., Folsom, P.W., Sulecki, L.M., Capka, V., Berti, W.R., Gannon, J.T., 2005. Fluorotelomer alcohol biodegradation-direct evidence that perfluorinated carbon chains breakdown. *Environmental Science and Technology* 39, 7516-7528.
- Wastney, M.E., House, W.A., Barnes, R.M., Subramanian, K.N., 2000. Kinetics of zinc metabolism: variation with diet, genetics and disease. *Journal of Nutrition* 130, 1355-1359.
- Wenzel, C., Gabrielsen, G.W., 1995. Trace element accumulation in three seabird species from Hornøya, Norway. *Arch. Environmental Contamination and Toxicology* 29, 198-206.
- Whanger, P.D., 2002. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *Journal of the American College of Nutrition* 21, 223-232.
- WHO, 1991. Environmental health criteria 108: nickel. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva.

- WHO, 1999. Concise international chemical assessment document 12: manganese and its compounds. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva.
- Williams, T.D., Rodwell, S., 1992. Annual Variation in return rate, mate and nest-site fidelity in breeding gentoo and macaroni penguins. *The Condor* 92, 636-645.
- Williams, T., 1995. *The Penguins*. Oxford University Press, Oxford.
- Włostowski, T., Dmowski, K., Bonda-Ostaszewska, E., 2010. Cadmium accumulation, metallothionein and glutathione levels, and histopathological changes in the kidneys and liver of magpie (*Pica pica*) from a zinc smelter area. *Ecotoxicology* 19, 1066-1073.
- Xu, L., Krenitsky, D., Seacat, A., Butenhoff, J., Anders, M.W., 2004. Biotransformation of n-ethyl-n-(2-hydroxyethyl)perfluorooctanesulfonamide by rat liver microsomes, cytosol and slices and by expressed rat and human cytochromes P450. *Chemical Research in Toxicology* 17, 767-775.
- Yamashita, N., Kannan, K., Taniyasu, S., Horii, Y., Petrick, G., Gamo, T., 2005. A global survey of perfluorinated acids in oceans. *Marine Pollution Bulletin* 51, 658-668.
- Yin, X., Xia, L., Sun, L., Luo, H., Wang, Y., 2008. Animal excrement: a potential biomonitor of heavy metal contamination in the marine environment. *Science of the Total Environment* 399, 179-185.
- Yogui, G.T., Sericano, J.L., 2009. Levels and pattern of polybrominated diphenyl ethers in eggs of Antarctic seabirds: endemic versus migratory species. *Environmental Pollution* 157, 975-980.
- Yu, M.H., 2001. *Environmental Toxicology: Impacts of Environmental Toxicants on Living Systems*. Lewis Publishers, Washington.
- Zoeller, R.T., Bansal, R., Parris, C., 2005. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *Endocrinology* 146, 607-612.