

*Artículo original de investigación*

## Variación estacional de arsénico total en algas comestibles recolectadas en el Golfo San Jorge (Chubut, Argentina)

Adriana A. Perez<sup>1\*</sup>, Laura B. Perez<sup>1</sup>, Analia M. Strobl<sup>1</sup>, Silvina Camarda<sup>1</sup>, Silvia S. Farias<sup>2</sup>, Clara M. López<sup>3</sup> y María A. Fajardo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Regional de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico (CRIDECIT), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco – Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina.

<sup>2</sup>Comisión Nacional de Energía Atómica, Gerencia de Tecnología y Medio Ambiente (CNEA). Buenos Aires, Argentina.

<sup>3</sup>Cátedra de Toxicología y Química legal. Universidad da Buenos Aires (UBA). Buenos Aires, Argentina. J. M. Rodrigo 527 (9000) Comodoro Rivadavia, Chubut.

\* Autor de correspondencia: aaperez@sinectis.com.ar

### Resumen

En las costas Patagónicas Argentinas las macroalgas marinas son explotadas para la obtención de ficocoloides destinados a la alimentación y asimismo podrían utilizarse como indicadoras de bioacumulación de contaminantes metálicos. El objetivo de este trabajo, fue determinar la variación estacional del arsénico total (As) en *Porphyra columbina* (alga roja) y *Ulva* sp. (alga verde) en tres zonas del Golfo San Jorge (Argentina) y evaluarlas desde el punto de vista de la inocuidad alimentaria. Las zonas de muestreo fueron Bahía Solano (BS) y Punta Maqueda (PM), ambas alejadas de la actividad antropogénica y la desembocadura del Arroyo La Mata (AM), sitio que recibe efluentes de la actividad petrolera e industrial. El As total se cuantificó mediante un espectrómetro de emisión de plasma inductivo (ICP-OES) multielemental simultáneo, axial, con detector de estado sólido. En *Porphyra columbina* las medianas de la concentración de As total, oscilaron entre 21,9 a 39,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  peso seco (p.s.) con variación estacional en AM y PM. En *Ulva* sp. las medianas fluctuaron entre 3,0 a 8,8  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s. y las variaciones estacionales se dieron en BS y PM. La Ingesta Semanal Tolerable Provisional de As (ISTP-OMS) para As inorgánico, que es la especie más tóxica, es de 15  $\mu\text{g}^{-1}\text{kg}$  de peso corporal por semana. Para una persona de 70 kg correspondería un ISTP de 1050  $\mu\text{g}$  As por semana. El consumo de 30 g de *Porphyra columbina* seca por semana, aportaría valores de As cercanos al ISTP si se tratara sólo de As inorgánico, mientras que el consumo de *Ulva* sp. no supondría un riesgo para la salud dado que *Porphyra columbina* bioconcentra más As que *Ulva* sp. Se recomienda llevar a cabo estudios de especiación de As para evaluar el riesgo real asociado a la ingesta de As a partir de macroalgas comestibles recolectadas en el Golfo San Jorge que bioacumulan As.

**Palabras clave:** macroalgas, arsénico total, *Porphyra columbina*, *Ulva* sp., Argentina.

## Abstract

In Argentinean's Patagonian coast, marine seaweeds are exploited to obtain ficocoloids and food, as well as to use them as pollutants biomonitors. The aim of this study was to determine the seasonal variation of total arsenic (As) in *Porphyra columbina* (red seaweed) and *Ulva* sp. (green seaweed) from three places of Gulf San Jorge (Argentina) and to evaluate them from the point of view of food safety. Sampling sites were located at Bay Solano (BS) and Punta Maqueda (PM) (non polluted areas, far from anthropogenic activities) and the mouth of the Arroyo La Mata (AM), area that receives effluents from the oil activity. Total As was quantified by multielemental, simultaneous inductively coupled plasma- optical emission spectrometry (ICP-OES) provided with axial view and of solid state detectors. Arsenic concentration, expressed in  $\mu\text{g g}^{-1}$  dry weight (d.w.), in *Porphyra columbina*, ranged from 21.9 to 39.3; and seasonal variations for the metalloid were observed in AM and PM. For *Ulva* sp., Arsenic levels ranged between 3.0 at  $8.78 \mu\text{g g}^{-1}$  (d.w.); seasonal variations were detected in BS and PM. Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) value of  $15 \mu\text{g As week}^{-1}\text{kg}^{-1}$  corporal weight is referred to inorganic As. For a 70 kg person, a PTWI of  $1,050 \mu\text{g As}$  per week, would be expected. Considering As only present as inorganic As, a 30 g of *Porphyra columbina* (d.w.) intake per week would provide As values near to the As ISTP. In contrast, the intake of *Ulva* sp. would not represent a threat for human health. In conclusion, *Porphyra columbina* bioaccumulate much more As than *Ulva* sp. and represents a higher risk. Authors strongly suggest to carry out speciation studies related to As species present in edible seaweeds from San Jorge Gulf to evaluate the real health risk.

**Keywords:** seaweed; total arsenic, *Porphyra columbina*; *Ulva* sp., Argentina.

## 1. Introducción

El medio ambiente recibe aportes de elementos de origen natural y antropogénico. Los naturales provienen de la formación de menas, meteorización, erosión de rocas, lixiviación y fenómenos asociados al vulcanismo. Los aportes de origen antropogénico son consecuencia de la actividad humana, principalmente procedentes de la actividad industrial (Péres, 1980).

El medio acuático y en especial el marino, es uno de los ambientes más expuestos a los contaminantes debido a que es el receptáculo final de todas las descargas naturales y de la actividad humana. Los océanos cubren alrededor del 71% de la superficie terrestre, aproximadamente 360 millones de  $\text{km}^2$ . Ellos son un espejo de la vida del planeta Tierra (Gerlach, 1981). Esta inmensidad contribuye al mito de que tienen una

capacidad de dilución infinita y que por lo tanto, pueden considerarse como un gigantesco vertedero para todos los desperdicios del hombre.

Los océanos contienen más de 30 elementos, metales o metaloides presentes en cantidades traza en los tres compartimentos: agua, sedimentos y biota marina. Sus concentraciones se ven incrementadas fácilmente con la contaminación generada por la actividad antropogénica. Algunos de esos elementos vertidos, como es el caso del As, pueden llegar a ser tóxicos para el crecimiento y el metabolismo de los vegetales y los animales marinos (Yun *et al.*, 2001).

El arsénico (As), un metaloide de color gris acero y de olor aliáceo, se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza formando diferentes compuestos minerales. En su mayor parte, el arsénico es

transportado en el ambiente por el agua, donde está usualmente en forma inorgánica, como As (V) o As (III). En los organismos marinos, se han detectado especies arsenicales inorgánicas y orgánicas, estas últimas de menor toxicidad como es la arsenobetaína (que se encuentran en concentraciones elevadas en los pescados, moluscos y crustáceos) y los arsenoazúcares presentes en macroalgas marinas y en algunos moluscos (Cullen y Reimer, 1989; Rose *et al.*, 2007).

El As, ingresa al hombre por vía digestiva a través del agua, los alimentos y por malos hábitos higiénicos en el trabajo (Falcó *et al.*, 2006). En sus formas inorgánicas pueden producir intoxicaciones tanto agudas como crónicas, y está considerado como un carcinógeno para el hombre. Es genotóxico y un conocido carcinógeno asociado especialmente con cáncer de hígado, pulmón y piel. El As (III) es capaz de unirse a los grupos sulfhidrilos e inhibir la acción de determinadas enzimas relacionadas con el metabolismo celular y la respiración (Soria *et al.*, 1995) y es generalmente reconocido por ser más tóxico que el As (V) (Rose *et al.*, 2007).

La utilización de las macroalgas como alimento humano es una de las aplicaciones más antiguas y se remonta al año 2.700 a.C. en China. Paralelamente, los griegos y los romanos las empleaban como alimento, como plantas medicinales y en cosmética. Este hábito tan antiguo se observa aún en varios países del sureste de Asia. Además de ser utilizadas para la alimentación, tienen aplicaciones industriales, agropecuarias, médico-farmacológicas, preparados cosméticos y en la restauración ambiental (Mabeau y Fleurence, 1993; Caliceti *et al.*, 2002).

Se conocen unas 25.000 especies de algas, y el hombre utiliza para alimentarse unas 160 (25 verdes, 54 pardas y 81 rojas) (Leister y Morris, 1990). En Europa, desde hace unos

años, se están convirtiendo en una auténtica revolución en materia alimentaria debido a su contenido en nutrientes (Darcy-Vrillon, 1993).

En los países occidentales el uso de algas ha estado relacionado tradicionalmente con la industria farmacéutica y cosmética. En las últimas décadas se ha incrementado el consumo directo de distintas especies de algas por los beneficios nutricionales y terapéuticos ya que constituyen un alimento rico en proteínas, minerales y vitaminas y otros nutrientes específicos como los ácidos grasos poliinsaturados (Mabeau y Fleurence, 1993; Darcy-Vrillon, 1993; Van Netten *et al.*, 2000).

Las algas del litoral marítimo argentino constituyen recursos naturales renovables económicamente importantes (Ferrario *et al.*, 1997). La mayoría de las algas de la costa patagónica argentina son explotadas para la obtención de ficocoloides. Sin embargo, existen especies con posible utilización en alimentación como *Porphyra columbina* y *Ulva* sp. (Fajardo *et al.*, 1998).

La ingesta media de algas marinas en los países occidentales está lejos de ser la de los países orientales. En Japón, las algas llegan a representar hasta un 25% de la dieta diaria, siendo incorporadas directamente en estado fresco o seco. Los japoneses consumen anualmente un promedio de 1,6 kg de algas marinas secas por persona (Fujiwara-Arasaki *et al.*, 1984) por lo que se estima una ingesta de 3,3 g en peso seco por día (Darcy-Vrillon, 1993); asimismo se debe considerar en todos los países, la existencia de consumidores mayores al promedio porque siguen una dieta macrobiótica y no se dispone de antecedentes correspondientes en la Argentina. Solamente se cuenta con datos previos realizados en la zona, los cuales determinaron que el consumo de 30 g de *Porphyra columbina* seca (tres cucharadas de algas seca y molida), contribuirían con una ingesta de 85 a 124 mg de ácido

ascórbico, 400 a 636 mg de potasio, 200 a 272 mg de magnesio, de 6,2 a 9,0 g de proteínas, y 11,6 a 16,3 de fibra dietética, en función de la estación del año en que sean recolectadas (Fajardo, 1998).

Existe otro aspecto a tener en cuenta además de los beneficios nutricionales y es el que las algas presentan una elevada capacidad de bioconcentrar no sólo elementos esenciales, sino también elementos tóxicos del medio ambiente. Por dicha razón, si las algas provienen de áreas contaminadas, su consumo puede representar un peligro para la salud pública, aunque también pueden ser utilizadas como bioindicadoras de contaminación y agentes de remediación del ecosistema marino (Riget *et al.*, 1997; Almela *et al.*, 2002).

En Argentina, las algas y productos derivados, carecen de regulación específica respecto al As. Desde el punto de vista de la evaluación de la seguridad alimentaria de estos productos, la estimación de la ingesta de arsénico inorgánico a través del consumo de algas está siendo estudiada en países europeos, en el Sudeste asiático y China (Yasui *et al.*, 1983; Morita y Shibata, 1990; Almela *et al.*, 2002; Laparra *et al.*, 2003, 2004; FSA, 2004) y en forma más exhaustiva desde que se ha encontrado una elevada concentración de As total (103–149  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) y As inorgánico (32,1– 69,5) en un alga utilizada para la alimentación humana, llamada hiziki (*Hizikia fusiforme*). En tal sentido, en julio del 2004 la British Food Standard Agency advirtió no ingerir esta alga por su elevada concentración de As inorgánico (Besada *et al.*, 2009).

El objetivo de este trabajo fue determinar la variación estacional del As total en *Porphyra columbina* (alga roja) y *Ulva* sp. (alga verde) del Golfo San Jorge (Argentina) y evaluar su seguridad como alimento.

## 2. Materiales y Métodos

### 2.1 Zona de Muestreo

El Golfo San Jorge está situado en la costa de las provincias del Chubut y de Santa Cruz, entre el Cabo Dos Bahías y el Cabo Tres Puntas. De toda la costa Argentina es el golfo más pronunciado, con acantilados activos que poseen una altura promedio de 2,50 m. La costa es muy irregular, con un régimen macromareal alto, posee accidentes menores y plataformas de abrasión (localmente llamadas restingas) que quedan expuestas en bajamar.

Las puntas de este golfo encierran una cuenca sedimentaria rica en hidrocarburos, denominada Cuenca del Golfo San Jorge (Sciutto, 1995). Considerando estas características, las zonas de muestreo elegidas de Norte a Sur fueron:

1) Bahía Solano (BS): a 20 km al norte Comodoro Rivadavia Provincia de Chubut (45° 38' L.S., 67° 21' L.O.). Se caracteriza por estar alejada de la actividad antropogénica.

2) Desembocadura del Arroyo La Mata (AM): se ubica a 10 km al Sur de Comodoro Rivadavia, Provincia de Chubut (45° 52' L.S., 67° 30' L.O.). Recibe efluentes de la actividad industrial y petrolera.

3) Punta Maqueda (PM): se ubica a 30 km. al Sur de Comodoro Rivadavia, en la Provincia de Santa Cruz (46° 01', L.S., 67° 34' L.O.). Se caracteriza por estar alejada de la actividad antropogénica y por poseer una restinga rocosa con piletas de marea de poca extensión y profundidad. Los tres lugares de muestreo se observan en la Figura 1.

En las zonas de muestreo se colectaron las especies de interés: *Porphyra columbina* y *Ulva* sp. estacionalmente (verano, otoño, invierno y primavera) durante el año 2002.

Al realizar la colecta se lavaron las algas *in situ* con abundante agua de mar para liberarlas de cuerpos extraños y de otras clases de algas (epífitas). Se guardaron en bolsas de polietileno y se transportaron refrigeradas a 5 °C al laboratorio.

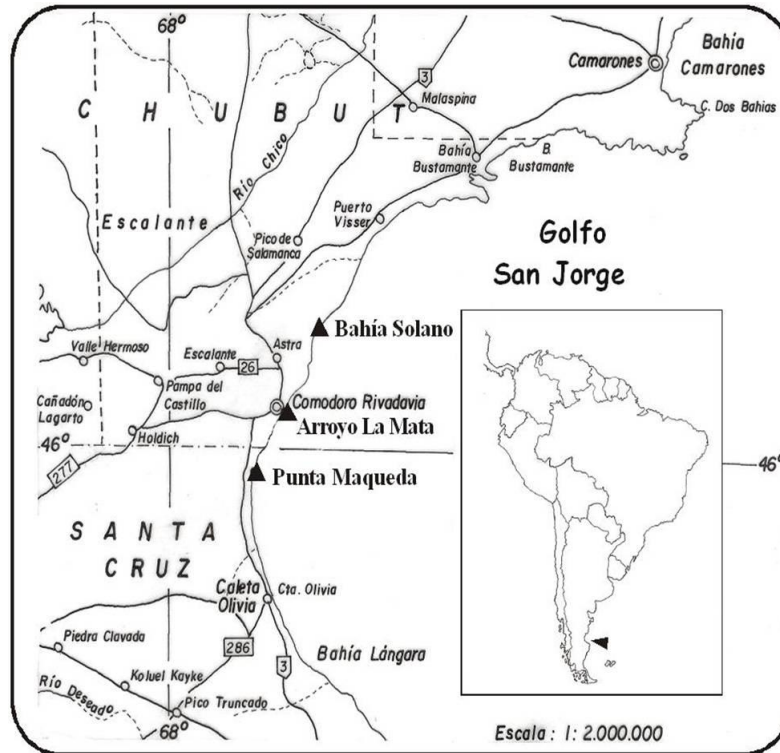


Figura 1. Golfo San Jorge sitios de muestreo: Bahía Solano, Arroyo La Mata y Punta Maqueda

En el laboratorio se lavaron con agua ultra pura y se secaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Finalmente el material se guardó en envases plásticos, a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su procesamiento.

Se conservaron réplicas en congelación y se apartó material algal para ser herborizado.

## 2.2 Lavado del material

El material utilizado en la recolección, pretratamiento y mineralización de las especies estudiadas fue lavado con detergente neutro, enjuagado con agua, sumergido en  $\text{HNO}_3$  al 50% v/v durante 24 h y enjuagado 6 veces con agua ultra pura.

El agua ultra pura fue obtenida por bidestilación en destilador de vidrio convenientemente tratado con ácido nítrico y luego enjuagado con agua ultra pura.

## 2.3 Control de calidad del método analítico

La exactitud de la metodología se evaluó de acuerdo a requerimientos de la Norma IRAM 301:2005 (equivalente a ISO/IEC 17025:05) y la guía EURACHEM-CITAC, 2000, empleando un material de referencia certificado (CRM) BCR 279 Sea lettuce, *Ulva lactuca* (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM, Bruselas, Bélgica).

El material de referencia certificado ( $0,100 \pm 0,001\text{ g}$ ) y un blanco de reactivos, fueron tratados y mineralizados en las mismas condiciones que las muestras para ser analizados cada 25 determinaciones. Los resultados no mostraron diferencias significativas con los valores certificados. La precisión evaluada como repetibilidad fue del orden del 5% para los ámbitos de concentraciones evaluadas en este trabajo (Tabla 1).

**Tabla 1.** Concentración promedio  $\pm$  DE en material certificado de referencia BCR 279 (Sea lettuce) año 2002, (n=10)

Elemento	Certificado	Encontrado	Recuperado
	$\mu\text{g g}^{-1}$ p.s.	$\mu\text{g g}^{-1}$ p.s.	%
As	$3,09 \pm 0,20$	$2,87 \pm 0,17$	$93,3 \pm 4,8$

p.s.: peso seco

#### 2.4 Determinación de humedad y molienda

De todas las algas recolectadas se eligieron al azar siete organismos de cada especie (siete muestras) los cuales fueron procesados individualmente. Se descongelaron, se llevaron a peso constante mediante el método indirecto por desecación en estufa a  $100 \pm 5^\circ \text{C}$  (AOAC, 2006) y se molieron en morteros de porcelana.

#### 2.5 Mineralización

Se pesaron  $0,100 \pm 0,001$  g ó  $0,200 \pm 0,001$  g de la muestra seca y molida de cada unidad muestral; se colocaron en vasos de Teflón® (Parr Instrument Company, Illinois, USA) y se le agregaron 2 o 4 ml de  $\text{HNO}_3$  (J.T. Baker ACS, EEUU), respectivamente. Se colocaron en bombas de digestión, que fueron llevadas a un digestor de microondas para su puesta en solución, a una potencia de 1200 watts (Sapp, 1991). Todos los mineralizados fueron guardados en recipiente de polipropileno a  $-20^\circ \text{C}$ , hasta el momento de su cuantificación.

#### 2.6 Análisis elemental cuantitativo

Las determinaciones de As se realizaron mediante un espectrómetro de plasma inductivo de argón (ICP OES), axial, multielemental simultáneo, provisto de detector de estado sólido y automuestreador marca Perkin Elmer Optima 3100 XL (Perkin Elmer, Ma. USA), cuyo software operativo es el ICP- OPTIMA (Winlab 32 Versión 2.4).

El argón fue de calidad soldadura para alimentación de la descarga. Se emplearon argón y nitrógeno calidad ultrapuro para el enfriamiento de los detectores y para el sistema óptico, respectivamente, provistos

por Indura S.A. (Argentina) en ambos casos. Las líneas analíticas fueron elegidas a partir de la biblioteca del equipo. Las curvas de calibración se realizaron por sucesivas diluciones de un estándar comercial de As de concentración  $1000 \mu\text{g As/ml}$  (CertiPUR® Merck, Darmstadt, Alemania) en  $\text{HNO}_3$  1,5 M. Las muestras se analizaron por duplicado, previa dilución 1/10, para ajustar los valores de acidez a los de las respectivas curvas de calibración. Las concentraciones halladas en solución en las muestras analizadas se obtuvieron por interpolación en las respectivas curvas de calibración. Los valores de concentración de As (p/p) se obtuvieron corrigiendo esos valores por las pesadas y diluciones correspondientes.

#### 2.7 Análisis estadístico

Los resultados descriptivos se expresaron como promedio con su desviación estándar y mínimo-máximo (Min-Max) para poder comparar con los datos de bibliografía y como mediana y quartilo ( $Q_{25}$  -  $Q_{75}$ ) por tener una distribución no paramétrica.

Para evaluar la asociación entre variables se utilizó el método de las diferencias aplicando la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney y Kruskal-Wallis empleando el test de Student-Newman-Keuls como prueba *post-hoc*. Los cálculos estadísticos se realizaron con el paquete informático INSTAT 2.02 y se consideró como estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$  y altamente significativo un  $p < 0,01$  (Dawson y Trapp, 1994).

### 3. Resultados

En las Tablas 2 y 3 se observan las concentraciones de As en *Porphyra columbina* y en *Ulva* sp., respectivamente, recolectadas en Bahía Solano, Arroyo La

Mata y Punta Maqueda durante el año 2002. En las Figuras 2 y 3 se observan las variaciones estacionales de las concentraciones de As en *Porphyra columbina*, y en *Ulva* sp.

**Tabla 2.** Concentraciones de As en *Porphyra columbina* ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en Bahía Solano, Arroyo La Mata y Punta Maqueda (n=7)

Estación del año		Bahía Solano	Arroyo La Mata	Punta Maqueda
Verano	$\bar{x} \pm \text{DE}$	28,6 $\pm$ 5,1	33,8 $\pm$ 4,5	22,9 $\pm$ 4,4
	(Min-Max)	(18,8-34,3)	(27,5-39,3)	(18,1-31,5)
	Mediana	29,1 <sup>a</sup>	34,0 <sup>a</sup>	21,9 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )	(27,3-31,7)	(30,9-37,1)	(20,7-39,9)
Otoño	$\bar{x} \pm \text{DE}$	35,2 $\pm$ 4,5	37,2 $\pm$ 4,4	34,71 $\pm$ 6,8
	(Min-Max)	(27,7-42,3)	(31,6-44,3)	(26,9-44,9)
	Mediana	35,2 <sup>a</sup>	37,7 <sup>a</sup>	34,9 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )	(33,8-36,7)	(33,9-39,3)	(29,2-38,8)
Invierno	$\bar{x} \pm \text{DE}$	43,6 $\pm$ 11,1	30,7 $\pm$ 12,3	36,1 $\pm$ 5,1
	(Min-Max)	(37,1-65,8)	(22,8-49,0)	(29,4-43,1)
	Mediana	39,3 <sup>a</sup>	25,5 <sup>a</sup>	36,3 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )	(37,7-41,8)	(24,6-31,6)	(33,7-38,3)
Primavera	$\bar{x} \pm \text{DE}$	Nd	22,3 $\pm$ 8,2	35,6 $\pm$ 6,3
	(Min-Max)		(12,9-28,3)	(27,4-42,7)
	Mediana		25,8 <sup>a</sup>	36,1 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )		(19,4-27,0)	(33,6-38,1)

Superíndices distintos en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Nd: no determinado. DE: desviación estándar. p.s.: peso seco

### 4. Discusión

Del análisis de la Tabla 2 se desprende que las concentraciones de As encontradas en *Porphyra columbina*, oscilaron entre 21,9 a 39,3  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s. y que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los lugares de muestreo ( $p > 0,05$ ) en cada estación del año. Esto indicaría que a pesar de que la desembocadura del Arroyo La Mata es una zona que recibe los efluentes

industriales y petroleros no habría descargas de este elemento. Sin embargo, en *Ulva* sp. las concentraciones de As (que oscilaron entre 3,0 a 8,8  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los lugares de muestro en invierno y verano ( $p < 0,05$ ) siendo la desembocadura del Arroyo La Mata donde el alga exhibió valores mas altos (Tabla 3) .

**Tabla 3.** Concentraciones de As en *Ulva* sp. ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en Bahía Solano, Arroyo La Mata y Punta Maqueda (n=7)

Estación del año		Bahía Solano	Arroyo La Mata	Punta Maqueda
Verano	$\bar{x} \pm \text{DE}$	2,98 $\pm$ 0,54	5,61 $\pm$ 2,42	4,56 $\pm$ 0,97
	(Min-Max)	(2,09-3,45)	(2,08-8,46)	(3,74-6,36)
	Mediana	3,03 <sup>a</sup>	6,47 <sup>b</sup>	4,02 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )	(2,92-3,39)	(3,79-7,35)	(3,86-5,04)
Otoño	$\bar{x} \pm \text{DE}$	7,79 $\pm$ 0,94	9,22 $\pm$ 1,67	6,64 $\pm$ 1,3
	(Min-Max)	(6,20-8,88)	(7,13-11,7)	(4,11-8,10)
	Mediana	8,10 <sup>a</sup>	8,78 <sup>a</sup>	7,00 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )	(7,42-8,23)	(8,2-10,2)	(6,39-7,25)
Invierno	$\bar{x} \pm \text{DE}$	7,21 $\pm$ 0,71	8,15 $\pm$ 0,79	6,31 $\pm$ 1,51
	(Min-Max)	(6,27-7,98)	(6,95-9,14)	(4,90-9,46)
	Mediana	7,44 <sup>a</sup>	8,16 <sup>a</sup>	6,12 <sup>b</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )	(6,62-7,69)	(7,75-8,69)	(5,45-6,39)
Primavera	$\bar{x} \pm \text{DE}$	Nd	7,73 $\pm$ 1,01	6,76 $\pm$ 2,93
	(Min-Max)		(6,7-9,04)	(3,61-10,53)
	Mediana		7,59 <sup>a</sup>	7,80 <sup>a</sup>
	(Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> )		(7,09-8,23)	(3,94-7,92)

Superíndices distintos en la misma filas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

DE: desviación estándar. Nd: no determinado. p.s.: peso seco

Este comportamiento podría sugerir que aunque en ésta alga verde se hayan registrado las concentraciones mas bajas de As, esta especie es sensible a pequeños cambios de concentración de As y debería tenerse en cuenta durante el proceso de selección de una especie bioindicadora de contaminación de As, como lo han referido varios autores en estudios similares realizados sobre la bio concentración de metales pesados en *Ulva* sp. (Haritonidis y Malea, 1995, Caliceti *et al.*, 2002, Castellanos *et al.*, 2005).

En las Figuras 2 y 3 se observa que existió variación estacional estadísticamente significativa en ambas especies ( $p < 0,05$ ). En *Porphyra columbina* hay disminución de las concentraciones en verano en PM y BS mientras que en la desembocadura del arroyo La Mata las concentraciones disminuyen en los meses de invierno y primavera y en *Ulva* sp. se observa un comportamiento similar

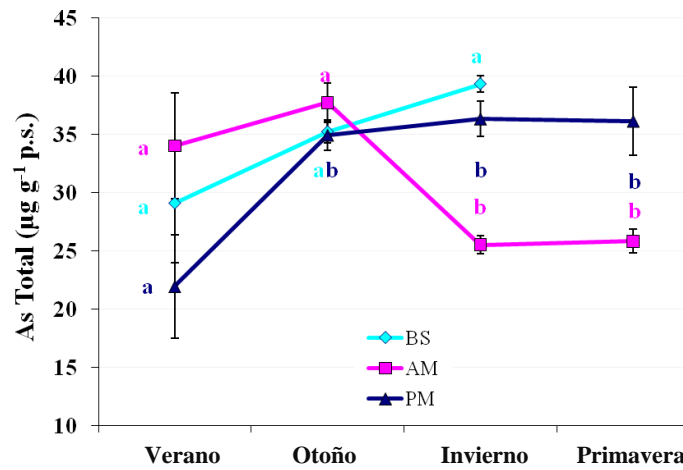
excepto en AM donde no existió variación estacional. Existen distintos factores que pueden explicar las variaciones estacionales. Entre ellos se describen los medioambientales (variaciones en las concentraciones de metal en solución, interacciones entre metales y otros elementos, salinidad, pH), los metabólicos (dilución de volúmenes de metal debido al crecimiento), o pueden ser debidas a las interacciones entre todos estos factores. La idea de que las concentraciones de metal disminuyen en la macroalga durante los periodos de crecimiento y aumentan durante el periodo inactivo en invierno ha sido considerada desde hace mucho tiempo (Fuge y James, 1974). Riget *et al.* (1995) observó la variación estacional en las concentraciones de metal en *Fucus vesiculosus*. Este estudio se llevó a cabo en Groenlandia en una área alejada de fuentes antropogénicas de metales y así las



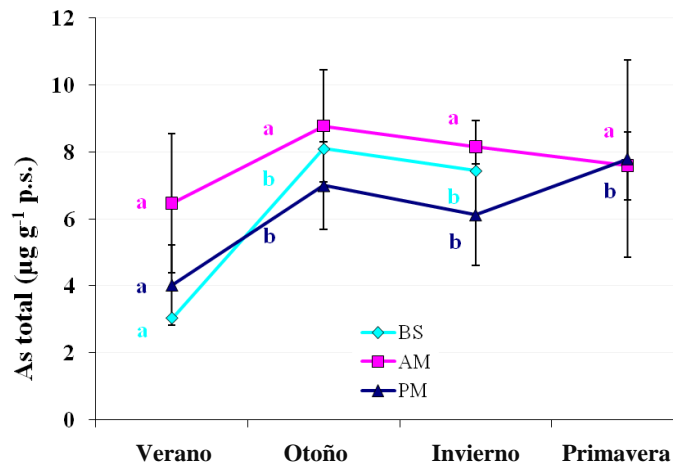
fluctuaciones encontradas deberían reflejar las variaciones naturales; en este estudio se describió que la variación estacional podría ser atribuible al crecimiento, por lo tanto, en invierno fue cuando las concentraciones eran más altas ya que el crecimiento era mínimo y estas disminuyeron en verano cuando el crecimiento era máximo; sin embargo, en todos los casos la variación no podría explicarse por este fenómeno. Haritonidis y Malea (1995, 1999) atribuyeron el modelo de variación estacional de las

concentraciones de varios metales en *Ulva rigida* y *Enteromorpha* al crecimiento y a los factores como la edad del tejido examinada, y a factores abióticos como la salinidad y temperatura (Villares et al., 2002).

Si se considera que *Porphyra columbina* tiene un máximo de crecimiento al fin del invierno y a los comienzos de la primavera (Boraso de Zaixso, 1998), se puede presumir que las concentraciones más altas de As en dicha estación se deberían a su crecimiento.



**Figura 2.** Variación estacional de la concentración de As total en *Porphyra columbina* (medianas ± DE); superíndices distintos en la misma zona y lugar indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,001).



**Figura 3.** Variación estacional de la concentración de As total en *Ulva sp.* (medianas ± DE); superíndices distintos en la misma zona y lugar indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,001).

No está estudiado el comportamiento ecológico de *Ulva* sp. en el Golfo San Jorge como para establecer patrones de comparación.

En general, los niveles de As tanto para *Porphyra columbina* como para *Ulva* sp.

descritos en este estudio son del mismo orden que los documentados por varios autores (Tabla 4).

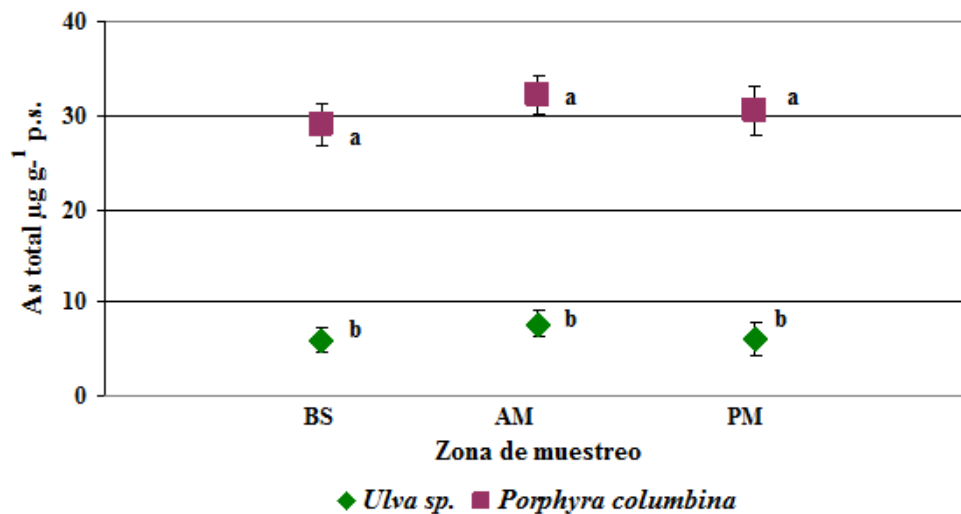
**Tabla 4.** Concentraciones de As ( $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) en especies de *Ulva* sp. y *Porphyra* sp. de distintas áreas geográficas del mundo (promedios o rangos)

Especies	Área	As	Referencias
<i>Ulva lactuca</i>	Golfo de Thermaikos (Grecia)	4,5-11,1	Djingova <i>et al.</i> , (1987)
<i>Ulva</i> sp.	Chile	4,07	Vasquez, (1996)
<i>Ulva</i> sp.	Québec (Canadá)	6,0 $\pm$ 2,4	Phaneuf <i>et al.</i> , (1999)
<i>Ulva</i> sp.	Laguna de Venecia Italia	7 $\pm$ 3	Caliceti <i>et al.</i> , (2002)
<i>Ulva</i> sp.	España	5,2 $\pm$ 0,05	Almela <i>et al.</i> , (2002)
<i>Ulva</i> sp.	Sud África	6,2 $\pm$ 0,30	Misheer <i>et al.</i> , (2006)
<i>Ulva</i> sp.	Península de Delmarva EEUU	3,70 $\pm$ 1,15	Chaudhuri <i>et al.</i> , (2007)
<i>Ulva</i> sp.	Bahía de Cienfuegos (Cuba)	1,25	Castellanos <i>et al.</i> , (2005)
<i>Ulva fasciata</i>	Bahía de Cienfuegos (Cuba)	1,10	Castellanos <i>et al.</i> , (2005)
<i>Ulva rigida</i>	España	6,41–7,06	Besada <i>et al.</i> , (2009)
<i>Porphyra</i> sp.	Québec (Canadá)	19 $\pm$ 4,2	Phaneuf <i>et al.</i> , (1999)
<i>Porphyra</i> sp.	Lago de Venecia Italia	13 $\pm$ 13	Caliceti (2002)
<i>Porphyra</i> sp.	Chile	20,00	Vasquez (1996)
<i>Porphyra</i> sp.	España	28,3 $\pm$ 0,5	Almela <i>et al.</i> , (2002)
<i>Porphyra</i> sp.	Inglaterra	18-29	Martín Rose <i>et al.</i> , (2007)
<i>Porphyra</i> sp.	Korea	6,28 $\pm$ 0,19	Ródenas de la Rocha <i>et al.</i> , (2009)
<i>Porphyra</i> sp.	Japón	9,70 $\pm$ 1,20	Ródenas de la Rocha <i>et al.</i> , (2009)
<i>Porphyra</i> sp.	Francia	4,25 $\pm$ 0,13	Ródenas de la Rocha <i>et al.</i> , (2009)
<i>Porphyra umbilicales</i>	España	28,9–49,5	Besada <i>et al.</i> (2009)

Caliceti *et al.*, (2002) en Italia, por Almela *et al.*, (2002) en España, por Misheer *et al.*, (2006) en las costas de Africa y por Wei *et al.*, (2003) en China y mas bajos que los descritos por Sfriso *et al.* (4 a 65  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s., con una media de 30  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s.) (Sfriso *et al.*, 2000) y más altos que los encontrados en Cuba en la Bahía de Cienfuegos (Castellanos *et al.*, 2005). Los valores de As son también del mismo orden que los analizados por Besada *et al.* (2009) en productos comerciales de algas comestibles. Asimismo, un estudio realizado por Farías *et al.* (2002) en la Antártida mostró resultados para algas rojas en los que las concentraciones de As oscilaban entre 5 y 28  $\mu\text{g g}^{-1}$  p.s. Además, los valores reportados en este estudio para las dos especies estudiadas coinciden con los resultados obtenidos por Muse *et al.*, (1989) en

macroalgas de dos localidades de la provincia de Chubut.

Varios autores (Phillips, 1990; Almela *et al.*, 2002), describieron que la acumulación de As total en diferentes algas marinas es función de la especie algal. La secuencia de mayor a menor capacidad de bioacumulación observada por dichos autores es: algas marrones > algas rojas > algas verdes. Esta secuencia se observa en las algas de este estudio, como puede observarse en la Figura 4. En tal sentido, las concentraciones medias anuales de As en *Ulva* sp., fueron significativamente mas bajas que en *Porphyra columbina* ( $p < 0,001$ ). Esto sugiere que la acumulación de As depende de las características particulares de las algas marinas más que de los niveles medioambientales de este elemento (Besada *et al* 2009).



**Figura 4:** Concentraciones de As total en *Ulva* sp. y *Porphyra columbina* (Promedio anual  $\pm$ DE.); superíndices distintos en la misma zona y lugar indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ).

Desde el punto de vista de la evaluación de riesgos, el contenido de As total en alimentos carece de valor toxicológico. Por tal motivo, es necesaria la cuantificación del As inorgánico, término que engloba a las especies arsenicales cancerígenas y de

mayor toxicidad de las cuantificadas hasta ahora en alimentos: As (III) + As (V). La OMS establece el valor de referencia toxicológico para el As como As inorgánico, no como As total y la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP) recomendada

es de  $15 \mu\text{g semana}^{-1} \text{kg}^{-1}$  de peso corporal, lo que para un sujeto de 70 kg correspondería a  $1050 \mu\text{g As semanales}$  (Almela, 2002).

Si se estableciera una legislación específica para los contenidos de As inorgánico en las algas, se conseguiría compatibilizar la comercialización y la protección del consumidor. Sería pues conveniente seguir el ejemplo de legislaciones más avanzadas, que regulan específicamente los niveles de As inorgánico en algas proponiendo concentraciones de  $1 \mu\text{g g}^{-1}$  p.s. como es el caso de Australia y Nueva Zelanda (ANZFA, 1997) y de  $3 \mu\text{g g}^{-1}$  p.s como Francia y USA. (Mabeau y Fleurence, 1993). El primer aporte al respecto, fue el realizado por Norman *et al.* (1987) quien incluyó además del As inorgánico a los ácidos monometilarsónico y dimetilarsínico, sobrestimando probablemente el contenido de As inorgánico (Almela *et al.*, 2006).

Aunque actualmente la concentración de As total no es un parámetro útil, en el estudio de las implicancias toxicológicas derivadas del consumo de algas comestibles, es el parámetro utilizado. Si se supone un consumo de 30 g de *Porphyra columbina* seca por semana (Fajardo, 1998), considerando el máximo valor de As detectado ( $39,3 \mu\text{g g}^{-1}$  en invierno) y en el hipotético caso de que todo el As fuera inorgánico, el ISTP para un sujeto de 70 kg que habita en la zona de estudio sería de  $1179 \mu\text{g}$ , valor que supera el límite establecido por la OMS. Este análisis amerita llevar a cabo estudios de especiación del As, As (III) + As (V), para evaluar el riesgo real que supone el consumo de estas algas. Los niveles de As en *Ulva* sp. menores a los encontrados en la *Porphyra columbina*, hace suponer que su consumo no constituiría un riesgo para la salud.

## 5. Conclusiones

Existió variación estacional de la concentración de As total en *Porphyra columbina*, la cual se observó AM y PM. En *Ulva* sp. las variaciones estacionales se dieron en BS y PM. Estos datos deberán ser considerados en el proceso de su recolección para el consumo humano.

La ingesta de 30 g de *Porphyra columbina* seca por semana aportaría valores de As cercanos al ISTP si se considerara que todo el As estuviese presente como As inorgánico. En el caso de la ingesta de la misma cantidad de *Ulva* sp, ésta no supondría un riesgo para la salud.

Considerando los aspectos toxicológicos y su posibilidad de ser utilizados para la alimentación humana, es de destacar la mayor capacidad de bioacumulación de As que posee *Porphyra columbina* respecto a *Ulva* sp.

Sería prioritario notificar a los consumidores de estos cambios estacionales y establecer vedas de consumo de macroalgas en temporadas de mayor acumulación del As, así como realizar monitoreos periódicos para llevar a cabo estudios de especiación de As y así poder evaluar el riesgo real en las algas comestibles recolectadas en el Golfo San Jorge.

## Agradecimientos

A la Dra. Dinoraz Vélez del Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos, Valencia, España por su valioso aporte para el desarrollo del presente trabajo.

## Referencias

- Almela, C., Algora, S., Benito, V., Clemente, M. J., Devesa, V., Sññer, M. A., 2002. Heavy metals total arsenic and inorganic arsenic contents of algae food products. *J Agric Food Chem* 50: 918–23.
- Almela, C., Clemente, M. J., Vélez, D., Montoro, R. 2006. Total arsenic, inorganic arsenic, lead and cadmium contents in edible seaweed sold in Spain. *Food Chem Toxicol* 44: 1901–1908.
- Anzfa. 1997. Australian New Zealand Food Authority. Food Standards Code. Issue 41.
- AOAC Association of Analytical Communities, Official Methods for Analysis. 2006. Association of Official Agricultural Chemists. The AOAC 18<sup>th</sup>, Washington (DC). Government Printing Office.
- Boraso de Zaixso A. 1998. *Porphyra columbina* (Rhodophyta): II. Estadios de Desarrollo en Punta Maqueda (Provincia de Santa Cruz, Argentina). *Physis* 55:9–15.
- Caliceti, M., Argese, E., Sfriso, A., Pavonim, B. 2002. Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon. *Chemosphere* 47: 443-454.
- Castellanos González M. L., Lázara Sosa P., Angel R. Moreira G., Herminia Maya, Saumel Pérez S., Angel R. León P., Gómez M. B. (2005). Concentración de arsénico en macroalgas marinas de la Bahía de Cienfuegos, Cuba. *Rev Invest Mar* 26 (1):21-26.
- Cullen, W. y Reimer, K.J. 1989. Arsenic Speciation in the Environment. *Chem Rev* 89: 713-764.
- Chaudhuri, A., Mitra, M., Havrilla C., Waguespack, Y., Schwarz, J. 2007. Heavy metals biomonitoring by seaweeds on the Delmarva Peninsula, East Coast of the USA. *Bot Mar* 151-158.
- Darcy-Vrillón, B. 1993. Nutritional aspects of the developing use of marine macroalgae for the human food industry. *Int J Food Sci Nut* 44:23-35.
- Dawson, S.B. y Trapp, R. 1994. Bioestadística médica. 1<sup>ra</sup> ed. México: Editorial El Manual Moderno.
- Djingova, R., Kuleff, I., Arpadjan, S., Alexandrov, S., Voulgaropoulos, A. 1987. Neutron Activation and Atomic Absorption Analysis of *Ulva lactuca* and *Gracilaria verrucosa* from Thermaikos Gulf, Greece. *Toxicol Environ Chem* 15:149-158.
- EURACHEM-CITAC Guide. 2000. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements. Second Edition. S.L.R. Ellison, M. Rosslein, A. Williams Eds.
- Fajardo, M.A., Alvarez, F., Pucci, O.H., Potela, M.L. 1998. Contenido de algunos nutrientes, minerales y variaciones estacionales en *Porphyra columbina*, alga comestible de la costa Patagónica Argentina. *Arch Latinoam Nutr* 48(3):260–264.
- Fajardo, M. A. 1998. Estudio de las algas patagónicas del género *Porphyra* para su aprovechamiento en la alimentación humana. Tesis doctoral. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Chubut, Argentina.
- Falcó, G., Nadal, M., Llobet, J.M., Domingo, J. L. M. 2006. Riesgo tóxico por metales presentes en alimentos. *En: Cameán, A.M., Repetto, M., editores. Toxicología Alimentaria. España: Ediciones Díaz Santos* p. 311-326.
- Farías, S., Pérez, S., Vodopivec, C., Smichowski, P. 2002. Levels of essential and potentially toxic trace metals in Antártic macroalgae. *Spectrochim Acta B* 57: 2133-2140.
- Ferrario, M., Sar, E., Krisler, A., Cerezo, A., Werlinger, C. 1997. Macroalgas de Interés Económico. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata 296.
- FSA, Food Standard Agency. 2004. Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment. United Kingdom. Disponible en URL: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/arsenicseaweed.pdf>

- <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/TOX-2004-35.pdf>
- Fujiwara-Arasaki, T., Mino N., Kuroda, M. 1984. The protein value in human nutrition of edible marine algae in Japan. *Hydrobiol J* 116/117: 513–516.
- Fuge, R., James, K. H. 1974. Trace metal concentrations in *Fucus* from the Bristol Channel. *Mar Pollut Bull* 5, 9–12.
- Gerlach, S.A. 1981. Opportunities and uses of the Ocean. Marine pollution Diagnosis and Therapy. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York p. 158-163.
- Haritonidis, S. y Malea, P. 1995. Seasonal and local variation of Cr, Ni and Co concentration in *Ulva rigida* C. Agarth and *Enteromorpha linza* (Linneus) from Thermaikos Gulf, Greece. *Envir Pollut* 89: 319-327.
- Haritonidis, S., Malea, P. 1999. Biocumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece. *Envir Pollut* 104: 365-372.
- Laparra, J.M., Vélez, D., Montoro, R., Barberá, R., Farré, R. 2003. Estimation of arsenic bioaccessibility in edible seaweed by an in vitro digestion method. *J Agric Food Chem* 51: 6080-6085.
- Laparra, J.M., Vélez, D., Montoro, R., Barberá, R., Farré, R. 2004. Bioaccessibility of total As, inorganic arsenic, As (III) and As (V) in raw and cooked *H. fusiforme* seaweed: Influence of in vitro gastric and intestinal stage. *App Organomet Chem* 18: 662-669.
- Leister, G.L., Morris, J. 1990. Algae in Everyday Life. Carolina Biological Supply Company. U.S.A. 53(9): 33–35.
- Mabeau, S., Fleurence, J. 1993. Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends Food Sci Technol* 4: 103-107.
- Misheer, N., Kindness, A., Jonnalagadda, S. B. 2006. Seaweeds along KwaZulu-Natal Coast of South Africa -3: Elemental Uptake by *Ulva lactuca* (Sea Lettuce) J. Environ. *Science Health Part A* 41:1249–1259.
- Morita, M., Shibata, Y. 1990. Chemical form of arsenic in marine macroalgae. *App Organomet Chem* 4:181-190.
- Muse, J.O., Tudino, M.B., d'Huicque, L., Troccoli, O.E., Carducci, C.N. 1989. Atomic absorption spectrometric determination of inorganic and organic arsenic in some marine benthic algae of the southern Atlantic coast. *Environ Pollut* 58:303–12.
- Norman, J. A., Pickford, C. J., Sanders, T. W., Waller, W. 1987. Human intake of arsenic and iodine from seawater-based food supplements and health foods available in the UK. *Food Add Contam* 5:103-109.
- Pérez, J.M. 1980. Polución por sustancias minerales no nutritivas. En: Pérez, J.M. Bellan, G., Ramade, F., Ancellin, J., Le Lourd, P.M., Gauthier, M., Soudan, F., Bellan, Santini, D. La Polución de las aguas marinas. Barcelona: Ediciones Omega p. 22-33.
- Phillips, D.J.H. 1990. Arsenic in aquatic organisms: a review, emphasizing chemical speciation. *Aquatic Toxicol* 16:161-186.
- Phaneuf, D, Côté, I., Dumas, P., Ferron, L.A. 1999. Evaluation of the Contamination of Marine Algae (Seaweeds) from St Lawrence River and Likely to be Consumed by Humans. *Environ Res S A* (80): S175-S182.
- Riget, F., Johansen, P., Asmund, G. 1997. Baseline levels and naturale variability of elements in three seaweeds species from west Greenland. *Mar Pollut Bull* 34: (3), 171-176.
- Riget, F., Johansen, P., Asmund, G. 1995. Natural seasonal variation of cadmium, copper, lead and zinc in brown seaweed (*Fucus vesiculosus*). *Mar Pollut Bull* 30:(6), 409–413.
- Ródenas de la Rocha S., Sánchez-Muniz F.J., Gómez-Juaristi M., Larrea Marín M.T. 2009. Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS method. *J Food Comp Anal* 22: 330–336.
- Rose, M., Lewis J., Langford N., Baxter M., Origi S., Narber M., MacBain H., Thomas K. 2007. Arsenic in seaweed—Forms,

- concentration and dietary exposure. *Food Chem Toxicol* 45: 1263-1267.
- Sapp, R.E., and Davidson, S.D. 1991. Microwave digestion of multi-component foods for sodium analysis by atomic absorption spectrometry. *J Food Science* 56 (5): 1412-1414.
- Sciutto, J.C. 1995. Orígen y migración de los hidrocarburos en la cuenca del Golfo San Jorge, Argentina. *Naturalia Patagónica. Ciencias de la Tierra* 3: 1-23.
- Sfriso, A., Pavoni, B., Marcomini, A., Orio, A. A. 1992. Department of Environmental Macroalgae, Nutrient Cycles, and Pollutants in the Lagoon of Venice. *Estuaries* 15:517-528.
- Shibata, Y., Jin, K., Morita, M. 1990. Arsenic compounds in edible red alga, *Porphyra tenera*, and in nori and yakinori, fooditems produced from red algae. *App Organomet Chem* 4:255-260.
- Soria, M.L., Repetto, G., Repetto, M. 1995. Revisión general de la Toxicología de los metales. *En: Repetto M. Toxicología Avanzada*. Madrid: Editorial Díaz Santo p. 393-424.
- Van Netten, C., Hoption, Cann S. A., Morley, D.R., and Van Netten, J. P. 2000. Elemental and radioactive analysis of commercially available seaweed. *Sci Total Environ* 255: 169-175.
- Vasquez, J. A, Guerra, N. 1996. The use of seaweeds as bioindicators of natural and anthropogenic contaminants in northern Chile. *Hydrobiol* 326:327-33.
- Villares, R., Puente, X., Caballeira A. 2002. Seasonal Variation and Background levels of heavy metals in two green seaweeds. *Environ Pollut* 119:179-190.
- Wei, C., Weihua, Li., Chao, Zhang, Marijn, Van, Hulle, Rita, C., Xinrong, Zhang. 2003. Safety Evaluation of Organoarsenical Species in Edible *Porphyra* from the China Sea. *J Agric Food Chem* 51: 5176-5182.
- Yasui, A., Tsutsumi, C., Toda, S. 1983. Some characters of water-soluble arsenic compounds in marine brown algae, *Hijikia fusiforme* and *Arame (Eisenia bicyclis)*. *Agric Biol Chem* 47:1349-1351.
- Yun, Y.S., Park D, Park J. M, Volesky B 2001. Biosorption of trivalent chromium on the brown seaweed biomass. *Environ Sci Technol* 35:4353-4358.