

**Programa de Doctorat en Enginyeria Ambiental**  
Universitat Politècnica de Catalunya

**Tesi Doctoral**

**Contaminants orgànics persistents  
i pseudopersistents en medi marí.  
Estudi en biota i en consum humà**

Autor:

**Òscar Aznar Alemany**

Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA)  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Directors:

**Dra. Ethel Eljarrat Esebag**

Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA)  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

i

**Dr. Damià Barceló Cullerès**

Institut de Diagnosi Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA)  
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

Tutor:

**Dr. Alejandro Josa Garcia-Tornel**

Departament d'Enginyeria Civil i Ambiental  
Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)

La feina d'aquesta tesi s'ha dut a terme amb el suport econòmic del projecte europeu Real time monitoring of SEA contaminants by an autonomous lab-on-a-chip biosensor (SEA-on-a-CHIP; núm. 614168), del 7<sup>th</sup> Framework Programme (FP7/2007-2013) dins del projecte Priority environmental contaminants in seafood: safety assessment, impact and public perception (ECsafeSEAFOOD; núm. 311820) i de la Generalitat de Catalunya (grup de recerca 2014 SGR 418 – Unitat de Qualitat de l'Aigua i Sòls).

«Bo i reconeixent el caràcter universal de la ciència, si mitjançant la llengua pròpia de cada país hom expressa qualsevol realitat del món sensible, també és lògic que hi expressi les realitats del món científic.»

Carles Riera, *El llenguatge científic català*, 1994





## Resum / Abstract

Durant l'últim parell de dècades, ha incrementat la demanda d'aigua de bona qualitat en quantitats suficients. Ha crescut la consciència que l'aigua no és un producte comercial, que cal implementar una gestió hidrològica que respecti el medi ambient i que promogui un ús sostenible d'aquest recurs natural. Conseqüentment s'han desenvolupat directives per assegurar el bon estat de l'aigua pel que fa a qualitat i quantitat.

La Directiva marc de l'aigua (Directiva 2000/60/CE) i la Directiva marc sobre l'estratègia marina (Directiva 2008/56/CE) estableixen marcs per protegir l'aigua i els ecosistemes que hi estan connectats. Aquestes posen requisits per evitar noves emissions de contaminants i reduir la contaminació actual.

Els contaminants orgànics inclouen una àmplia gamma de famílies. Alguns d'ells estan agrupats sota el nom de **contaminants orgànics persistents** (COP). El Conveni d'Estocolm estableix que els COP persisteixen en el medi, es bioacumulen, es transporten a llargues distàncies i tenen efectes adversos en la salut humana o en el medi ambient. Originalment, el Conveni d'Estocolm va incloure dotze COP: pesticides com el diclorodifeniltricloroetà (DDT), compostos industrials com els bifenils policlorats (PCB) i subproductes no intencionats com les dioxines. Alguns d'aquests compostos es consideraven segurs quan van entrar al

*During the last couple of decades the demand for good quality **water** in sufficient quantity has increased. The administration is now aware that water is not a commercial product; that hydrological management needs to be implemented to promote respect for the environment and a sustainable use of this natural resource. Consequently, directives have been developed to ensure the good status of water regarding quality and quantity.*

*The Water Framework Directive (Directive 2000/60/CE) and the Marine Strategy Framework Directive (Directive 2008/56/CE) set frameworks to protect water and the environments connected to it. They establish requirements for avoiding new emissions of pollutants, reducing the current pollution.*

*Organic contaminants include a wide range of families. Some are grouped under the name **persistent organic pollutants** (POPs). Stockholm Convention describes POPs as persistent in the environment, bioaccumulable, with potential for long-range transport and with adverse effects on human health and the environment. Originally, the Stockholm Convention included twelve POPs: pesticides like dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT), industrial compounds like polychlorinated biphenyls (PCBs) and unintentional subproducts like dioxins. Some of these compounds were considered safe when they were first placed in the market, but long-term*

mercat, però es van detectar efectes sobre el medi ambient i la salut a llarg termini. A mitjan 2017, el Conveni d'Estocolm ja incloïa setze compostos més, com els èters difenílics polibromats (PBDE) i l'hexabromociclododecà (HBCD). El Conveni d'Estocolm divideix els compostos en tres annexos segons si se n'elimina o se'n restringeix la producció i l'ús.

Dins dels compostos orgànics, encara hi ha compostos emergents com ara els productes farmacèutics i d'higiene personal (PPCP). Tot i que no són persistents, els PPCP es consideren **contaminants pseudopersistents** perquè s'utilitzen en grans quantitats i tenen un efecte biològic. Això fa que siguin sempre presents al medi i que suposin un risc. D'altra banda, hi ha altres contaminants que atrauen l'interès de la comunitat científica per les seves propietats, de vegades similars als COP, com els hidrocarburs aromàtics policíclics (PAH). També hi ha els pesticides, alguns ja inclosos al Conveni d'Estocolm i d'altres considerats pseudopersistents, com els piretroides.

Els contaminants arriben al mar a partir dels efluent d'aigües residuals, vessaments, aigües d'escorriments o transportats per rius o a través de la deposició atmosfèrica. Tot i que les estacions depuradores d'aigües residuals tracten les aigües per descompondre la matèria orgànica, part dels contaminants —sobretot els persistents— s'afegeixen a les xarxes tròfiques a través de les descàrregues d'aigües residuals o dels llots que s'utilitzen en l'agricultura. D'altra banda, cal tenir present que alguns productes es

*effects on the environment and health were later detected. By mid 2017, the Stockholm Convention already included sixteen other compounds, such as polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclododecane (HBCD). The Stockholm Convention divides the compounds in three annexes depending on whether their production and use are ceased or restricted.*

*There are still emerging organic compounds like the pharmaceutical and personal care products (PPCPs). Even though they are not persistent, PPCPs are considered **pseudo-persistent contaminants** as they are used in big quantities and they have a biological effect. That makes them always present in the environment and a possible threat. Other contaminants also caught the interest of the scientific community due to their properties, sometimes similar to POPs', like polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). There are pesticides too; some of which are already listed in the Stockholm Convention and some are considered pseudo-persistent, like pyrethroids.*

*Contaminants reach the sea from wastewater effluents, spills or runoff water, transported in rivers or through atmospheric deposition. Although wastewater treatment plants treat water to remove organic matter, part of the contaminants —especially persistent ones— are added to food webs through wastewater discharges or in sludge used in agriculture. On the other hand, some other products are applied directly on one's body, like PPCPs, or are deliberately*

poden aplicar directament sobre el cos, com els PPCP, o s'alliberen deliberadament al medi, com els pesticides. Els plàstics també són una important via d'accés de contaminants al medi, ja que aporten la contaminació pròpia dels compostos plastificants, com els retardants de flama organofosforats (OPFR), i també acumulen contaminants del seu entorn i els transporten com mostrejadors passius. Hi ha un altre sistema de transport a llargues distàncies per als COP, que es poden transportar a llargues distàncies en l'aire cap a àrees fredes o amb períodes freds com ara l'Àrtic.

**La present tesi** se centrarà en els punts de la Directiva marc sobre l'estratègia marina (Directiva 2008/56/CE) segons els quals les concentracions de contaminants han de ser prou baixes per no causar efectes de contaminació i els contaminants presents en peix i marisc de consum humà no poden superar els límits regulats.

Dins de la gran varietat de contaminants, s'analitzaran la presència i el comportament de COP ja ben coneguts i caracteritzats, retardants de flama clàssics (PBDE i HBCD), junt amb uns contaminants orgànics emergents, retardants de flama nous (dechlorans i tres retardants de flama bromats) i insecticides piretroides pseudopersistents. Els retardants de flama s'afegeixen als materials per incrementar-ne la resistència al foc. Els més coneguts són persistents, s'alliberen al medi amb facilitat i es troben en tot tipus de matrius ambientals. Els piretroides semblen ideals perquè, a priori, es

*introduced in the environment, like pesticides. Plastics are also an important access route of pollutants to the environment as they add their own contaminants from plasticisers, like organophosphorus flame retardants (OPFRs), and accumulate and transport other compounds as passive samples. There is still a long-range transport for POPs, which can be transported long distances in the air to colder areas or areas with cold periods, like the Arctic.*

**The present thesis** will focus on the descriptors of the Marine Strategy Framework Directive (Directive 2008/56/EC) saying that concentrations of contaminants should be low enough not to produce pollution effects and contaminants in seafood cannot exceed the regulatory limits.

*Within the wide range of contaminants, the following were selected to analyse their occurrence and behaviour: well known and studied POPs, legacy flame retardants (PBDEs and HBCD); emerging organic contaminants, new flame retardants (dechloranes and three brominated flame retardants), and pseudo-persistent pyrethroid insecticides. Flame retardants are applied to material to increase their fire resistance. The classic ones are persistent, they are easily released to the environment and can be found in all kind of environmental matrices. Pyrethroids seem ideal because, at first, they were believed not to bioaccumulate. However, they have toxic effects and are used in big quantities.*

*The aim of this thesis is to compare the behaviour in the marine environment of*

creia que no es bioacumulaven. Això no obstant, presenten efectes tòxics i se'n fa un ús abundant.

En aquesta tesi es buscarà comparar el comportament dels retardants de flama ja coneguts amb els emergents i amb els piretroides estudiant-los en el medi marí. Les matrius analitzades seran d'una banda mamífers marins i de l'altra peixos i marisc de consum humà. Així s'estudiarà l'**impacte tant en biota com en humans**.

Per complir aquests objectius s'han dut a terme diferents estudis:

- Primer estudi existent sobre retardants de flama en dofins de la regió de Sud-àfrica, a l'oceà Índic (estudi 1).

- Tendències temporals dels retardants de flama en dofins del Mediterrani mostrejats entre el 1990 i el 2016 (estudi 2).

- Efecte de les condicions ambientals en la bioacumulació de contaminants (estudi 3).

- Primer estudi existent sobre piretroides en dofins de l'hemisferi nord (article 1).

- Potencial de transport a llarga distància dels retardants de flama emergents amb foques de l'Antàrtida (article 2).

- Impacte de la contaminació ambiental de retardants de flama en piscifactories de tot Europa (article 3).

- Impacte de l'ús de piretroides com a antiparasitaris en la producció de salmó (article 4).

- Avaluació de riscos per retardants de flama en peix i marisc d'Europa i l'efecte de cuinar-los en la contaminació (article 5)

- Bioaccessibilitat dels retardants de flama

*classic flame retardants with emerging flame retardants and with pyrethroids. The matrices used in the analyses will be marine mammals on one side and seafood on the other. With these **impact on both biota and humans** will be assessed.*

*To achieve these objectives, different studies were performed:*

- *First existing study on flame retardants in dolphins from South Africa, in the Indian Ocean (study 1).*

- *Temporal trends of flame retardants in Mediterranean dolphins sampled between 1990 and 2016 (study 2).*

- *Effect of environmental conditions on bioaccumulation of contaminants (study 3).*

- *First existing study on pyrethroids in dolphins from the northern hemisphere (article 1).*

- *Long-range transport potential of emerging flame retardants with Antarctic seals (article 2).*

- *Impact of flame retardants environmental contamination on fish farms from around Europe (article 3).*

- *Impact of the anti-parasite treatment with pyrethroids in the production of salmon (article 4).*

- *Risk assessment for flame retardants in seafood from European markets and the effect on contaminants of cooking seafood (article 5).*

- *Bioavailability of flame retardants ingested through seafood consumption (article 6).*

*These studies were used to assess if emerging flame retardants are a good*

ingerits en el consum de peix (article 6)

A partir d'aquests estudis s'ha pogut jutjar els retardants de flama emergents com a alternativa als COP clàssics. Els **dechlorans** han destacat amb presències similars als PBDE o a l'HBCD, amb potencial de transport a llarga distància i concentracions creixents amb el temps. Podrien ser un candidat a afegir al Conveni d'Estocolm. Els retardants de flama emergents bromats en general no s'han detectat o no s'han pogut quantificar. Caldrà seguir estudiant-los per veure si es mantenen en aquest nivell. Caldrà també estar a l'aguait dels efectes del **canvi climàtic** en els contaminants en els organismes marins. Finalment, ha semblat que la presència de piretroides, contaminants pseudopersistents, està relacionada amb l'ús que se'n fa, però un **ús abundant** els podria arribar a fer tan perillosos com els COP. Pel que fa al risc del consum de peix i marisc, un congènere dels PBDE podria suposar un risc, però s'han d'estudiar **nous factors**, com ara els efectes de cuinar el peix i la bioaccessibilitat dels contaminants ingerits, per millorar les avaluacions de riscos.

*alternative to the legacy POPs. **Dechloranes** outstood with occurrences similar to PBDEs' and HBCD's, with potential for long-range transport and increasing levels through time. They could be a candidate to be listed in the Stockholm Convention. Brominated emerging flame retardants in general were not detected or non-quantifiable. They must be monitored to see if they remain like this. Attention should be paid to the effects of **climate change** on contaminants in sea life. Finally, the occurrence of pyrethroids, pseudo-persistent contaminants, seemed to be linked to their use. An **excessive use** might make them as dangerous as POPs. Regarding seafood safety, a PBDE congener might pose a threat, but **new factors** need to be studied to make better risk assessments. These factors are the effects of cooking and the bioaccessibility of ingested contaminants.*



## Agraïments *et al.*

*I'll make an English version first so as to tell all friends anywhere that no matter if you were there for me or not. In the end, what matters is that you care somehow.*

*I think not only lab mates are crucial. I want to acknowledge whoever knows what makes me laugh and keeps me put. I blame you for ensuring my sanity and really turning these four years into a really exciting experience. You know I want to enjoy myself in the lab and out.*

*If during these four years of my PhD you shared a nice time with me, then I want to let you know that you'll stay in my heart. At least for the immediate future. I mean, you know me. I may still forget some of you. It's not like you are my world just because we stayed in a bar past midnight once or twice or thrice.*

*If you think I'm missing the point here, you are probably right. Because what I wanna do now is not to thank you, but get to add some lyrics by the Spice Girls with no scientific content in this. Read me, but just the first word of each line better. So go back to the top and it will make sense. Come on, you didn't expect it to be an ordinary text, did you? Now, fast, read just the first words.*

Els treballs de recerca sens dubte tenen un volgut to de serietat científica. És una cosa intrínseca. Però hi ha uns mala peça al meu entorn que m'ofereixen tots els mitjans necessaris per mostrar als homes que els científics tenim molt més a sota de la bata que números. No, no. Ja sé el que esteu pensant. No vull dir el melic (una de les poques parts que encara no he ensenyat a la SETAC). La gent que ve als *science slam* m'entén. Parlo d'un encant, de l'humor, del pim pam!

I no hauria pogut muntar espectacles si no tingués projectes finançant-me. Està molt bé poder exposar, vestit de fresca, el cabaret picant de l'ECsafeSEAFOOD. I no ens oblidem de l'adaptació eixerida del salmó Disney per al SEA-on-a-CHIP. Sí que n'hi haurà més, no patiu. Encara ve nou material gràcies als resultats d'un munt de col·laboracions. Obriu un pam de boca: EBD (CSIC), MOE (Toronto), i si voleu més, Biologia (UB) i encara es poden afegir els dofins de l'Índic. Porta un micro i ho faré bé (o pengim-penjam).

Aquest cop heu de llegir una a una l'última paraula. Havia de ser diferent de l'altre per agafar-vos per sorpresa. La idea és nova de trinca.





# Índex

<b>Resum / Abstract</b> .....	5
<b>Agraïments et al.</b> .....	11
<b>Índex de taules i figures</b> .....	15
<b>Abreviacions</b> .....	19
<b>1 La contaminació al medi marí</b> .....	23
1.1 Vies d'accés al medi marí .....	26
<b>2 Objectius / Objectives</b> .....	29
<b>3 Retardants de flama</b> .....	31
3.1 Història i impacte .....	31
3.2 Els compostos .....	32
3.2.1 Els èters difenílics polibromats i l'hexabromociclododecà .....	32
3.2.2 Els retardants de flama emergents .....	33
3.2.3 Els èters difenílics polibromats metoxilats .....	34
3.3 Propietats .....	35
3.4 Bioacumulació i biomagnificació .....	37
3.5 Toxicitat .....	41
3.6 Legislació .....	42
<b>4 Piretroides</b> .....	45
4.1 Història i impacte .....	45
4.2 Els compostos .....	46
4.3 Propietats .....	48
4.4 Metabolització .....	49
4.5 Toxicitat .....	50
4.6 Legislació .....	52
<b>5 Mètodes d'anàlisi</b> .....	55
5.1 Material .....	55
5.2 Mètodes per als retardants de flama .....	56
5.2 Mètode per als piretroides .....	57
<b>6 Estudi en biota marina</b> .....	59

6.1 Presència en mamífers marins.....	59
6.1.1 Retardants de flama.....	59
Estudi 1. Halogenated and organophosphorus flame retardants on cetaceans from the Indian Ocean.....	65
Estudi 2. Temporal trends of flame retardants and non-targeted halogenated contaminants in striped dolphins from the Mediterranean Sea.....	73
Estudi 3. Assessing the effects of seawater temperature and pH on the bioaccumulation of dechloranes: a pilot study using marine bivalves.....	83
6.1.2 Piretroides.....	90
Article 1. Insecticide pyrethroids in liver of striped dolphin from the Mediterranean Sea.....	91
6.2 Transport a llarga distància.....	99
Article 2. Flame retardants in marine organisms of Antarctica: long-range transport of these pollutants.....	100
6.3 Discussió biota.....	114
<i>Abstract</i> .....	114
<b>7 Estudi en consum humà.....</b>	<b>127</b>
7.1 Aqüicultura.....	127
Article 3. Halogenated and organophosphorus flame retardants in European aquaculture samples.....	129
Article 4. Effect of pyrethroid treatment against sea lice in salmon farming regarding consumers' health.....	138
7.2 Avaluació de riscos.....	146
Article 5. Occurrence of halogenated flame retardants in commercial seafood species available in European markets.....	148
Article 6. Preliminary assessment on the bioaccessibility of contaminants of emerging concern in raw and cooked seafood.....	164
7.3 Discussió consum humà.....	174
<i>Abstract</i> .....	174
<b>8 Conclusions / Conclusions.....</b>	<b>179</b>
8.1 Biota / <i>Biota</i> .....	179
8.2 Consum humà / <i>Seafood</i> .....	182
<b>Bibliografia.....</b>	<b>185</b>

## Índex de taules i figures

Figura 1. Estructura general dels PBDE.....	32
Figura 2. Estructures d'alguns isòmers de l'HBCD .....	33
Figura 3. Estructures dels EFR bromats .....	33
Figura 4. Estructures dels declorans .....	34
Figura 5. Estructura general dels MeO-PBDE .....	35
Taula 1. Característiques dels FR i els MeO-PBDE .....	36
Taula 2. Temps de semidesintegració en aire, aigua i sòl per a alguns FR .....	36
Taula 3. BAF i BMF dels PBDE en organismes marins .....	38
Taula 4. Concentracions màximes ( $\text{pg g}^{-1}$ dw) de FR i MeO-PBDE en sediments del mar del Nord .....	39
Taula 5. Valors de BSAF per a alguns FR .....	40
Taula 6. BMF dels PBDE, l'HBCD i el DBDPE en organismes del llac Winnipeg (Canadà).....	40
Taula 7. Toxicitat de les mescleres comercials de PBDE en organismes marins .....	42
Figura 6. Tipus de piretroides segons l'estructura general.....	46
Figura 7. Piretroides de tipus I.....	46
Figura 8. Piretroides de tipus II.....	47
Taula 8. Usos dels piretroides .....	48
Taula 9. Propietats dels piretroides .....	49
Figura 9. Metabolització del permetrín .....	50
Taula 10. Límits màxims de residu per als piretroides en diferents productes .....	53
Taula 11. Reglaments i entrada en vigor dels límits màxims de residu .....	53
Taula 12. Valors de IDA i NOAEL per a diferents piretroides.....	54
Taula 13. Rang de concentracions ( $\text{pg g}^{-1}$ ) de retardants de flama en biota (lw) i en sediments (dw) d'Alemanya .....	60
Taula 14. Concentracions mitjanes o rangs de PBDE en mamífers marins.....	62
Taula 15. Concentracions mitjanes de FR (exclusos els PBDE) i MeO-PBDE en dofins .....	63
Taula 16. Concentracions ( $\text{ng g}^{-1}$ lw) de contaminants per als dofins d'aquesta tesi comparades amb dades publicades recentment per a dofins ratllats del Mediterrani .....	116
Figura 10. Concentracions mitjanes i rangs ( $\text{ng g}^{-1}$ lw) de contaminants per als dofins d'aquesta tesi comparades amb dades publicades recentment per a dofins ratllats del Mediterrani. MA = mar d'Alborán, C = Catalunya, GIF = Gibraltar, Itàlia i França, OI = oceà Índic .....	117
Figura 11. Comparació amb diagrames de caixes dels nivells de PBDE, declorans, HBCD, OPFR i MeO-PBDE entre dofins del mar Mediterrani i dofins de l'oceà Índic.....	119
Figura 12. Comparació amb diagrames de caixes entre els nivells de PBDE, declorans, HBCD, OPFR i MeO-PBDE en dofins de cada zona .....	121

<b>Estudi 1.</b> Halogenated and organophosphorus flame retardants on cetaceans from the Indian Ocean.....	65
Table 1 Sampling information and contaminant concentrations ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ ).....	66
Figure 1 Box plots of MeO-PBDEs and TBOEP concentrations for all maturity stages. Juveniles and adults include only males. Outliers marked (x) .....	70
<b>Estudi 2.</b> Temporal trends of flame retardants and non-targeted halogenated contaminants in striped dolphins from the Mediterranean Sea .....	73
Table 1 Sampling information and contaminant concentrations ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ ).....	75
Figure 1 GC×GC-HRMS chromatograms: (a) total ion chromatogram (TIC) and (b) selected ion	76
Figure 2 Box plots of concentrations for contaminants in dolphin muscle from all periods .....	78
Figure 3 H/Cl mass defect plot of a sample. A, B, C are unknown compounds .....	79
Table 2 Sampling information and contaminant concentrations ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ ).....	80
<b>Estudi 3.</b> Assessing the effects of seawater temperature and pH on the bioaccumulation of dechloranes: a pilot study using marine bivalves.....	83
Table1 Concentrations in contaminated feed .....	84
Figure 1 Experimental setup. R = replicate, CTR = control, CONT = contaminated, CA = contaminated and acid, CW = contaminated and warm, CAW = contaminated and acid and warm .....	85
Table 2 Average net accumulation rates (NAR, $\text{ng g}^{-1} \text{dw day}^{-1}$ ) after 20 days of exposure and elimination factors (EF, %) after 20 days of depuration .....	86
Figure 2 Concentrations in bivalves samples from each contaminated treatment during the 40 days.....	86
<b>Article 1.</b> Insecticide pyrethroids in liver of striped dolphin from the Mediterranean Sea .	91
Table 1. Sample data including sex, maturity stage and length of the striped dolphins from the Alboran Sea .....	93
Fig. 1. Percentage of contribution of each pyrethroid in the total pyrethroid content in dolphin liver from the Mediterranean Sea (this study) and Braizlian coast (Alonso <i>et al.</i> , 2012) and human breast milk (Corcellas <i>et al.</i> , 2012) .....	94
Fig. 2. Box plots for total pyrethroid concentrations for livers according to (a) age group, males only, and (b) collection period, all samples (o outlier). Whiskers are set at $Q3 + 1.5IQR$ and $Q1 - 1.5IQR$ ( $Q3$ = third quartile, $IQR$ = interquartile range, $Q1$ = first quartile) .....	95
Fig. 3. Comparison of levels (mean, range and frequency of detection) of several contaminants in striped dolphin from the Mediterranean Sea. Location codes: AS – Alboran Sea; MS – Strait	

of Gibraltar, France and Italy; NES – north-eastern Spain; F – France. Data from Corcellas *et al.* (2010), Wafo *et al.* (2012), Fossi *et al.* (2013), Barón *et al.* (2015) and the present study..... 96

Fig. 4. Enantiomeric factors and *cis/trans* diastereoisomeric ratio for tetramethrin and permethrin in commercial formulations (Corcellas *et al.*, 2015) and dolphin liver samples..... 97

**Article 2.** Flame retardants in marine organisms of Antarctica: long-range transport of these pollutants..... 100

Table 1. PBDEs levels reported in biota from the Antarctica..... 102

Table 2. Species sampled, location and lipid content (%) of the samples ..... 104

Figure 1. Location of the samples ..... 104

Table 3. Average contamination for the detected compounds in each tissue ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ ) ..... 105

Figure 2. PBDE homologue groups in tissues of seals..... 106

Figure 3. Average total concentration ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ ) of PBDEs and dechloranes in tissues of seals 109

**Article 3.** Halogenated and organophosphorus flame retardants in European aquaculture samples..... 129

Table 1. Sampling data..... 131

Fig. 1. Sampling locations with codes: F = fish farm, S = shellfish farm, AL = Albania, GR = Greece, IT = Italy, NO = Norway, PT = Portugal, SP = Spain, UK = United Kingdom ..... 131

Table 2. Results for sediments ( $\text{ng g}^{-1} \text{dw}$ ) and mussels ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ )..... 133

Fig. 2. Total OPFRs concentrations in the water samples..... 134

Fig. 3. Concentrations of FRs in sediments and mussels. Outliers shown (x)..... 135

**Article 4.** Effect of pyrethroid treatment against sea lice in salmon farming regarding consumers' health ..... 138

Table 1. Samples information ..... 140

Table 2. Mean pyrethroids concentration ( $\text{ng/g}$  wet weight), range and frequency of detection for farmed salmon, according to farming location, and wild salmon ..... 141

Fig. 1. (a) Mean pyrethroids concentration ( $\text{ng/g}$  ww) of farmed and wild salmon according to place of origin. (b) Enlarged wild salmon box plots. Outliers (x) are shown ..... 142

Fig. 2. Mean pyrethroids concentration ( $\text{ng/g}$ ) in (a) ww and (b) lw of farmed salmon according to processing. Outliers (x) are shown ..... 142

Fig. 3. Enantiomeric factors (EF) and diastereoisomeric ratios (*R*) obtained for farmed salmon according to two species (*Ss* = *Salmo salar*, *Om* = *Oncorhynchus mykiss*). Outliers (x) are shown ..... 143

**Article 5.** Occurrence of halogenated flame retardants in commercial seafood species available in European markets ..... 148

Table 1. Comercial seafood from Europe sampling data ..... 151

Table 2. Contaminant levels for the raw samples (ng/g lw) ..... 154

Fig. 1. Box plots for concentrations in raw samples from different locations (ng/g lw)..... 155

Table 3. Exposure assessment (value of the country with the highest exposure, UB scenario) compared to the reference values..... 156

Fig. 2. Total PBDE and HBB concentrations in the raw and cooked sample (ng/g ww) ..... 157

Table S1. Quality parameters of the analytical methods..... 160

Table S2. All results (ng/g lw) (1/4)..... 160

Table S2. All results (ng/g lw) (2/4)..... 161

Table S2. All results (ng/g lw) (3/4)..... 161

Table S2. All results (ng/g lw) (4/4)..... 162

Table S3. Exposure assessment via seafood only ( $\mu\text{g}/(\text{kg bw})/\text{day}$ ) for each country..... 162

Table S4. Results of the risk assessment in the five countries – MOE approach..... 163

**Article 6.** Preliminary assessment on the bioaccessibility of contaminants of emerging concern in raw and cooked seafood..... 164

Table 1. Seafood species used for assessment of contaminants of emerging concern bioaccessibility ..... 166

Table 2. Contaminants limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) for samples before *in vitro* digestion (BD) and bioaccessible (BIO) and non bioaccessible (NBIO) fractions after *in vitro* digestion ..... 167

Table 3. Concentrations of contaminants of emerging concern (perfluorinated compounds, brominated flame retardants, pharmaceuticals and personal care products) in raw and steamed samples prior to *in vitro* difestion (average  $\pm$  standard deviation) ..... 168

Fig. 1. Effects of steaming on the bioaccessibility (%) of contaminants of emerging concern: perfluorinated compounds – PFCs (PFUnA), brominated flame retardants – BFRs (BDE47, BDE100,  $\alpha$ -HBCD), pharmaceuticals and personal care products – PPCPs (venlafaxine and methylparaben) in seafood samples. \* represent differences between raw and steamed for each seafood sample ( $p < 0.05$ ) ..... 170

## Abreviacions



No totes les abreviacions són acrònims. <https://goo.gl/Q6y63T>  
Not all abbreviations are acronyms. <https://goo.gl/hUQuuc>

	<b>català</b>	<b>English</b>
2,4,6-TBP	2,4,6-tribromofenol	<i>2,4,6-tribromophenol</i>
ADI	→ IDA	
ASE	extracció amb dissolvent accelerada	<i>accelerated solvent extraction</i>
BAF	factor de bioacumulació	<i>bioaccumulation factor</i>
BBB	barrera hematoencefàlica	<i>blood-brain barrier</i>
BCF	factor de bioconcentració	<i>bioconcentration factor</i>
BFR	retardant de flama bromat	<i>brominated flame retardant</i>
BMD	dosi de cota	<i>benchmark dose</i>
BMDL	límit de dosi de cota	<i>benchmark dose limit</i>
BMF	factor de biomagnificació	<i>biomagnification factor</i>
BSAF	factor d'acumulació biota-sediment	<i>biota-sediment accumulation factor</i>
EC <sub>50</sub>	concentració efectiva 50	<i>effective concentration 50</i>
COP	contaminant orgànic persistent	<i>persistent organic pollutant (POP)</i>
DBDPE	decabromodifenil età	<i>decabromodiphenyl ethane</i>
DCM	diclorometà	<i>dichloromethane</i>
DCP	difenil cresil fosfat	<i>diphenyl cresyl phosphate</i>
DDE	diclorodifenildicloroetilè	<i>dichlorodiphenyldichloroethylene</i>
DDT	diclorodifeniltricloroetà	<i>dichlorodiphenyltrichloroethane</i>
Dec 602	decloran 602	<i>dechloran 602</i>
Dec 603	decloran 603	<i>dechloran 603</i>
Dec 604	decloran 604	<i>dechloran 604</i>
decaBDE	èter difenilic decabromat	<i>decabrominated diphenyl ether</i>
df	graus de llibertat	<i>degrees of freedom</i>
DP	decloran plus	<i>dechloran plus</i>
DT <sub>50</sub>	temps de degradació del 50 % de la substància	<i>degradation time for 50 % of the substance</i>
dw	pes sec	<i>dry weight</i>
ECHA	Agència Europea de Substàncies Químiques	<i>European Chemicals Agency</i>
EDI	→ IDE	
EFR	retardant de flama emergent	<i>emerging flame retardant</i>
EFSA	Autoritat Europea de Seguretat Alimentària	<i>European Food Safety Authority</i>
EHDP	2-etilhexil difenil fosfat	<i>2-ethylhexyl diphenyl phosphate</i>
EI	ionització electrònica	<i>electronic ionization</i>
EPA	Agència de Protecció Ambiental dels Estats Units	<i>Environmental Protection Agency</i>
EQS	estàndard de qualitat ambiental	<i>environmental quality standard</i>
ESI	ionització per electroesprai	<i>electrospray ionization</i>
FR	retardant de flama	<i>flame retardant</i>

	<b>català</b>	<b>English</b>
GC	cromatografia de gasos	<i>gas chromatography</i>
GC×GC	cromatografia de gasos bidimensional	<i>two-dimensional gas chromatography</i>
HBB	hexabromobenzè	<i>hexabromobenzene</i>
HBCD	hexabromociclododecà	<i>hexabromocyclododecane</i>
HCB	hexaclorobenzè	<i>hexachlorobenzene</i>
heptaBDE	èter difenilic heptabromat	<i>heptabrominated diphenyl ether</i>
hexaBDE	èter difenilic hexabromat	<i>hexabrominated diphenyl ether</i>
HFR	retardant de flama halogenat	<i>halogenated flame retardant</i>
HN	norbornè halogenat	<i>halogenated norbornene</i>
HNP	productes naturals halogenats	<i>halogenated natural products</i>
HRMS	espectrometria de masses d'alta resolució	<i>high resolution mass spectrometry</i>
IC <sub>50</sub>	concentració inhibidora del 50 %	<i>half-maximal inhibitory concentration</i>
IDA	ingesta diària admissible	<i>acceptable daily intake (ADI)</i>
IDDP	isodecil difenil fosfat	<i>isodecyl diphenyl phosphate</i>
IDE	ingesta diària estimada	<i>estimated daily intake (EDI)</i>
IDT	ingesta diària tolerable	<i>tolerable daily intake (TDI)</i>
IPPP	isopropil fenil fosfat	<i>isopropyl phenyl phosphate</i>
K <sub>ow</sub>	coeficient de partició octanol-aigua	<i>octanol-water partition coefficient</i>
LC	cromatografia de líquids	<i>liquid chromatography</i>
LC <sub>50</sub>	concentració letal 50	<i>lethal concentration 50</i>
L <sub>D</sub>	límit de detecció	<i>limit of detection (LOD)</i>
LOD	→ L <sub>D</sub>	
LOEC	concentració mínima amb efecte observat	<i>lowest observed effect concentration</i>
LOQ	→ L <sub>Q</sub>	
L <sub>Q</sub>	límit de quantificació	<i>limit of quantification (LOQ)</i>
lw	pes lipídic	<i>lipid weight</i>
MDL	límit de detecció del mètode	<i>method detection limit</i>
MeO-PBDE	èter difenilic polibromat metoxilat	<i>methoxylated polybrominated diphenyl ether</i>
MOE	marge d'exposició	<i>margin of exposure</i>
MQL	límit de quantificació del mètode	<i>method quantification limit</i>
MRL	límit màxim de residu	<i>maximum residue level</i>
MS	espectrometria de masses	<i>mass spectrometry</i>
MS/MS	espectrometria de masses en tàndem	<i>tandem mass spectrometry</i>
n. d.	no detectat	<i>not detected</i>
n. q.	no quantificable	<i>non-quantifiable</i>
NICI	ionització química d'ió negatiu	<i>negative ion chemical ionization</i>
NOAEL	dosi sense afecte advers observat	<i>no observed adverse effect level</i>
NOEC	concentració sense efecte observat	<i>no observed effect concentration</i>
nonaBDE	èter difenilic nonabromat	<i>nonabrominated diphenyl ether</i>
octaBDE	èter difenilic octabromat	<i>octabrominated diphenyl ether</i>
PAH	hidrocarbur aromàtic policíclic	<i>polycyclic aromatic hydrocarbon</i>
PBDE	èter difenilic polibromat	<i>polybrominated diphenyl ether</i>



	<b>català</b>	<b>English</b>
PBEB	pentabromoetilbenzè	<i>pentabromoethylbenzene</i>
PCB	bifenil policlorat	<i>polychlorinated biphenyl</i>
PCDD	dibenzodioxina policlorada (o <i>dioxina</i> )	<i>polychlorinated dibenzodioxin</i> (or dioxin)
PCDE	èter difenilic policlorat	<i>polychlorinated diphenyl ethers</i>
PCDF	dibenzofuran policlorat (o <i>furan</i> )	<i>polychlorinated dibenzofuran</i> (or furan)
PCT	terfenil policlorat	<i>polychlorinated terphenyl</i>
PFC	compost perfluorat	<i>perfluorinated compound</i>
POP	→ COP	
PPCP	productes farmacèutics i d'higiene personal	<i>pharmaceuticals and personal care products</i>
pentaBDE	èter difenilic pentabromat	<i>pentabrominated diphenyl ether</i>
PFOA	àcid pentadecafluorooctanoic (o <i>àcid perfluorooctanoic</i> )	<i>pentadecafluorooctanoic acid</i> (or perfluorooctanoic acid)
PLE	extracció amb líquid pressuritzat	<i>pressured liquid extraction</i>
PNUMA	Programa de les Nacions Unides per al Medi Ambient	United Nation Environmental Program (UNEP)
PTS	substància tòxica persistent	<i>persistent toxic substance</i>
QqLIT	híbrid triple quadrupol – trampa d'ions lineal	<i>hybrid triple quadrupole – linear ion trap</i>
R	coeficient diastereoisomèric	<i>diastereoisomeric ratio</i>
REACH	registre, avaluació, autorització i restricció de substàncies químiques	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
RSD	desviació estàndard relativa	<i>relative standard deviation</i>
OPFR	retardants de flama organofosforats	<i>organophosphorus flame retardants</i>
SD	desviació estàndard	<i>standard deviation</i>
SIM	monitoratge d'ions seleccionats	<i>selected ion monitoring</i>
SPE	extracció en fase sòlida	<i>solid phase extraction</i>
SRM	monitoratge de reaccions seleccionades	<i>selected reaction monitoring</i>
SVHC	substàncies altament preocupants	<i>substance of very high concern</i>
$t_{1/2}$	temps de semidesintegració	<i>half life</i>
TBBPA	tetrabromobisfenol A	<i>tetrabromobisphenol A</i>
TBOEP	tris(2-butoxietil) fosfat	<i>tris(2-butoxyethyl) phosphate</i>
TBP	tributil fosfat	<i>tributyl phosphate</i>
TCEP	tris(cloroetil) fosfat	<i>tris(chloroethyl) phosphate</i>
TCIPP	tris(cloroisopropil) fosfat	<i>tris(chloroisopropyl) phosphate</i>
TDCPP	tris(1,3-dicloro-2-propil) fosfat	<i>tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate</i>
TDI	→ IDT	
TEHP	tris(2-etilhexil) fosfat	<i>tris(2-ethylhexyl) phosphate</i>
tetraBDE	èter difenilic tetrabromat	<i>tetrabrominated diphenyl ether</i>
TFC	cromatografia de flux turbulent	<i>turbulent flow chromatography</i>
THP	trihexil fosfat	<i>trihexyl phosphate</i>
TMCP	triclesil fosfat	<i>triclesyl phosphate</i>

	<b>català</b>	<b>English</b>
TPHP	trifenil fosfat	<i>triphenyl phosphate</i>
TPPO	òxid de trifenilfosfà	<i>triphenylphosphane oxide</i>
triBDE	èter difenílic tribromat	<i>tribrominated diphenyl ether</i>
Tris	fosfat de tris(2,3-dibromopropil)	<i>tris(2,3-dibromopropyl)phosphate</i>
UNEP	→ PNUMA	
ww	pes humit	<i>wet weight</i>

# 1 La contaminació al medi marí

Durant l'últim parell de dècades, ha incrementat la demanda d'aigua de bona qualitat en quantitats suficients. Ha crescut la consciència que l'aigua no és un producte comercial, que cal implementar una gestió hidrològica que respecti el medi ambient i que promogui un ús sostenible d'aquest recurs natural. Conseqüentment s'han desenvolupat directives per assegurar el bon estat de l'aigua pel que fa a qualitat i quantitat.

La Directiva marc de l'aigua (Directiva 2000/60/CE) estableix un marc de protecció de les aigües continentals, subterrànies, marines i de transició i dels ecosistemes terrestres que en depenen directament. La directiva busca garantir el subministrament d'aigua en bon estat de manera sostenible, evitar les noves emissions de contaminants, reduir la contaminació ja present i pal·liar els efectes d'inundacions i sequeres. Per a la caracterització de l'estat ecològic i químic de l'aigua, la Directiva marc de l'aigua observa la fauna i la flora, la hidromorfologia, els paràmetres fisicoquímics i els contaminants.

D'altra banda, la Directiva marc sobre l'estratègia marina (Directiva 2008/56/CE) estableix un marc per a la prevenció, la protecció i la conservació del medi marí enfront dels danys provocats per l'activitat humana. Ho fa amb uns requisits mínims perquè els països de la Unió Europea elaborin estratègies que protegeixin l'ecosistema marí i garanteixi la sostenibilitat de les activitats econòmiques que s'hi vinculen. A més, la directiva contribueix a crear una xarxa mundial de zones marines protegides i obre un diàleg amb països de fora de la Unió Europea.

Aquesta directiva garanteix la cooperació entre les regions marines d'Europa amb programes transfronterers. S'hi inclouen el mar Bàltic, el mar Mediterrani i el mar Negre, el nord-oest de l'oceà Atlàntic i les aigües de les Açores, Madeira i les Canàries. Aquests programes preveuen assolir un bon estat ambiental del medi marí amb l'any 2020 com a data límit.

Es considera un bon estat ambiental quan un ecosistema marí pot funcionar correctament i mantenir la biodiversitat i la capacitat de recuperació enfront dels canvis introduïts pels humans i quan l'aportament antropogènic de substàncies i energia —inclòs el soroll— no genera efectes de contaminació.

La Directiva marc sobre l'estratègia marina inclou onze descriptors qualitius per determinar el bon estat ambiental. Els punts rellevants per a aquesta tesi són el 8 i el 9, segons els quals les concentracions de contaminants han de ser prou baixes per no causar efectes de contaminació i els contaminants presents en productes de pesca de consum humà no poden superar els límits de les regulacions pertinents.

Els contaminants presents al medi marí es poden dividir entre inorgànics i orgànics. Els contaminants inorgànics més importants són els metalls. Tot i que alguns metalls traça són necessaris per a la vida, poden perjudicar el medi marí per sobre dels límits que els fan tòxics (Sunda, 1989; Stevenson i Cole, 1999).

A tall d'exemple, la malaltia de Minamata dels anys 50 i 60 va causar centenars de morts (Wong, 2017). Va ser conseqüència d'una intoxicació aguda amb mercuri dels habitants de la badia de Minamata —una població pesquera—, al Japó, a través del consum de peix i marisc de la badia. Una descàrrega industrial de mercuri en condicions anaeròbiques va facilitar que els bacteris reductors de sulfat transformessin el mercuri inorgànic en metilmercuri, l'espècie més tòxica de mercuri, que el peix i el marisc van absorbir.

La biodisponibilitat, la concentració, la toxicitat i les propietats químiques de cada metall són diferents, però els metalls acostumen a acumular-se en els organismes i poden esdevenir un problema per a l'ecosistema marí (Ikem i Egiebor, 2005).


Un informe del projecte Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances (Whyllie, 2003), organitzat pel Programa de les Nacions Unides per al Medi Ambient (PNUMA), inclou compostos organometàl·lics de l'estany, del mercuri i del plom. Aquests compostos comparteixen les característiques dels contaminants orgànics persistents (COP) que es mencionaran tot seguit. Alguns metalls pesants com el cadmi, el coure, el plom i el zinc i semimetalls com l'arsènic també són molt persistents i el projecte els considera substàncies tòxiques persistents (PTS).

Els contaminants orgànics inclouen una àmplia gamma de famílies. Alguns d'ells estan agrupats sota el nom de COP. El Conveni d'Estocolm estableix quatre característiques que fan els COP perillosos i que són els requisits per ser afegits a la llista (SC, 2008):

- a) persisteixen en el medi – temps de semidesintegració superior a dos mesos en aigua o a sis mesos en sòl o en sediments o altres semivides justificades
- b) es bioacumulen – factor de bioconcentració (BCF) o factor de bioacumulació (BAF) en espècies aquàtiques superior a 5.000 o, si no es coneix, logaritme del coeficient de partició octanol-aigua ( $K_{ow}$ ) superior a 5 o altres factors justificats
- c) es transporten a llargues distàncies – concentracions preocupants lluny de la font d'emissió o dades que demostrin que el transport a llarga distància s'ha fet per l'aire, l'aigua o espècies migratòries o potencial de transferència a un medi receptor distant on arribi —si el transport és per l'aire, el temps de semidesintegració en aire ha de ser superior a dos dies
- d) tenen efectes adversos – en la salut humana o en el medi ambient

Originalment, el Conveni d'Estocolm (SC, 2008) va incloure dotze COP. D'aquests dotze, vuit eren pesticides organoclorats (aldrín, endrina, dieldrina, clordà, diclorodifeniltricloroetà (DDT), heptaclor, mirex i toxafè), dos compostos industrials (hexaclorobenzè (HCB) i bifenils policlorats (PCB)) i dos subproductes no intencionats (dibenzodioxines policlorades o *dioxines* (PCDD) i dibenzofurans policlorats o *furans* (PCDF)). Alguns d'aquests compostos es consideraven segurs quan van entrar al mercat, però es van detectar efectes sobre el medi ambient i la salut a llarg termini.

A mitjan 2017, el Conveni d'Estocolm inclou setze compostos més a la llista de COP, com el pesticida lindà, els compostos industrials èters difenílics polibromats (PBDE) i hexabromociclododecà (HBCD) i el subproducte pentaclorobenzè.

 Hi ha cap diferència entre *pesticida* i *plaguicida*?  
<https://goo.gl/mSxsBq>

I altres compostos estan proposats per afegir-los-hi, com el dicofol, l'àcid pentadecafluorooctanoic o *àcid perfluorooctanoic* (PFOA) i l'àcid perfluorohexanoic.

El Conveni d'Estocolm divideix els compostos en tres annexos. L'annex A inclou la majoria de substàncies i dicta que se n'eliminin la producció i l'ús. Tot i així, admet excepcions específiques mentre apareguin substituïts per a alguns compostos. L'annex B dicta restringir la producció i l'ús dels compostos a unes aplicacions concretes. L'annex B inclou el DDT com a control de vectors de malalties, com el mosquit de la malària. L'annex C dicta reduir l'alliberament no intencionat dels compostos per minimitzar-ne la presència i, si es pot, eliminar-la.

Dins dels compostos orgànics, encara hi ha altres compostos emergents que s'inclouen en el projecte Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances com a PTS, com ara els productes farmacèutics i d'higiene personal (PPCP) (Whyllie, 2003). Tot i que no són persistents, els PPCP es consideren contaminants pseudopersistents (Barceló i Petrovic, 2007). D'una banda, la seva eliminació o degradació pot ser ràpida, però s'utilitzen en grans quantitats i estan dissenyats per introduir-se en els organismes i produir un efecte biològic. Això fa que siguin sempre presents al medi i que suposin un risc, i per això se'ls considera pseudopersistents.

Molts estudis destaquen els efectes ecotoxicològics dels productes farmacèutics i de les substàncies recreatives en organismes aquàtics i terrestres (Cleuvers, 2003; Fatta-Kassinos, 2011). Aquests compostos estan dissenyats per causar efectes específics a baixes concentracions i els organismes marins hi són especialment vulnerables perquè hi estan exposats constantment a través de les aigües residuals (Kostich i Lazorchak, 2008).

Dins dels productes d'higiene personal s'hi inclouen un ampli ventall de compostos orgànics d'ús diari, com la pasta de dents, el xampú o els cosmètics. Aquests compostos es poden absorbir, excretar o rentar després d'utilitzar-los. Segons la funció dels productes d'higiene personal, els seus ingredients poden ser filtres ultraviolats, biocides, preservatius, fragàncies, repel·lents d'insectes, siloxans i detergents. Tot i que se solen detectar a baixes concentracions en la majoria de matrius, l'exposició continuada a aquests compostos fa témer possibles efectes crònics (Molins-Delgado, 2014). Principalment es creu que poden actuar com a disruptors endocrins i, per tant, podrien alterar el sistema reproductiu i el desenvolupament dels organismes.

D'altra banda, hi ha contaminants que no s'inclouen en els llistats de COP ni de PTS, però que atrauen l'interès de la comunitat científica per les seves propietats, de vegades similars a aquests grups.

Els hidrocarburs aromàtics policíclics (PAH) són un exemple d'aquests compostos. Es generen en la combustió industrial i en la combustió incompleta de carburants, escombraries i altres substàncies orgàniques (Wong, 2017).

D'altra banda, també hi ha els pesticides. Tot i els beneficis que aporten, l'ús constant de pesticides, que implica que s'alliberen constantment al medi, ha esdevingut un assumpte d'interès ambiental. La Directiva marc de l'aigua (Directiva 2000/60/CE) destaca un grup de pesticides que poden ser tòxics, persistents i es poden bioacumular. Alguns d'ells ja s'inclouen al Conveni d'Estocolm en el grup de pesticides organoclorats, però d'altres no, com clorpirifós o el cipermetrín, un membre de la família dels piretroides. A causa del gran volum de producció i ús, molts pesticides, com els piretroides, són sempre presents al medi i també es consideren contaminants pseudopersistents. A més, exerceixen uns efectes en els organismes per disseny.

### 1.1 Vies d'accés al medi marí

L'activitat humana, tant industrial, en l'agricultura o domèstica, és una font important de contaminants que arriben al mar a partir dels efluent d'aigües residuals, vessaments, aigües d'escorriments o transportats per rius o a través de la deposició atmosfèrica (Oursel, 2014). Com que l'origen d'aquests contaminants és l'activitat humana, en el medi aquàtic les llacunes costaneres, les badies poc obertes, els estuaris i els cossos d'aigua amb accés limitat a un mar o un oceà solen tenir concentracions més elevades dels contaminants (Yamamuro i Kanai, 2005; Uluturhan, 2011).

L'impacte de la indústria en el medi aquàtic és important per als COP, com els PBDE. Diferents estudis sobre PBDE i HBCD en peixos i sediments de riu abans i després de punts industrials han demostrat que les concentracions de PBDE augmenten després dels punts industrials i en els sediments eren encara més elevades just després del parc que riu avall (Sellström, 1998; Eljarrat, 2007).

Tot i que les estacions depuradores d'aigües residuals tracten les aigües per descompondre la matèria orgànica, part dels contaminants —sobretot els persistents— s'afegeixen a les xarxes tròfiques a través de les descàrregues d'aigües residuals o els llots que s'utilitzen en l'agricultura (Wong, 2017).

Diferents estudis han analitzat l'eficàcia de l'eliminació dels contaminants en les estacions depuradores d'aigües residuals. Malauradament, s'ha demostrat que un cop els contaminants s'han alliberat al medi, segueixen circulant per l'ecosistema, de vegades com a productes derivats, que en ocasions poden ser fins i tot més tòxics, i que acaben trobant una via cap als cossos humans (Man, 2015; Wong, 2017).

Cal tenir present que alguns productes es poden aplicar directament sobre el cos, com els PPCP o els pesticides (contra els polls o la sarna), o s'alliberen deliberadament al medi, com els


pesticides en l'agricultura, en la ramaderia i en l'aqüicultura. Un estudi sobre pesticides en sediments del riu Sacramento de Califòrnia va reflectir el patró de l'ús dels pesticides en el terreny de cada punt (Hwang, 2009). Es van analitzar piretroides, DDT, clordans i organofosforats i es van trobar en concentracions elevades, especialment després dels períodes d'aplicació dels pesticides.

Els plàstics també són una important via d'accés de contaminants al medi, ja que aporten la contaminació pròpia dels compostos plastificants, com els retardants de flama organofosforats (OPFR), i també acumulen contaminants del seu entorn i els transporten com a mostrejadors passius. S'estima que cada any arriben 6,4 milions de tones de deixalles als oceans (Pham, 2014) i que hi ha quasi 270.000 tones de plàstic flotant a la superfície del mar (Eriksen, 2014). Els plàstics, suposen un 50-80% dels residus que es troben en platges i tant a la superfície com al fons de l'oceà (Zarfl i Matthies, 2010). S'estima que cada any els plàstics transporten com a mínim entre 25 g i 5,9 kg de PBDE fins a l'oceà Àrtic (Zarfl i Matthies, 2010). De la mateixa manera que s'alliberen dels plàstics i dels materials en general, els contaminants adherits als sediments també poden tornar a l'aigua per resuspensió (Salvadó, 2012; Yang, 2016).

Hi ha un altre sistema de transport a llargues distàncies per als COP, que en les zones d'activitat urbana o industrial importants també s'emeten a l'atmosfera. Aquests compostos es poden transportar a llargues distàncies cap a àrees fredes o amb períodes freds com ara l'Àrtic. El transport atmosfèric, la deposició atmosfèrica —ja sigui seca o humida— i la transferència aire-aigua són mecanismes importants d'introducció dels COP tant a llacs i ecosistemes costaners com a mar obert (Castro-Jiménez, 2015).

La deposició atmosfèrica anual dels PBDE BDE-47, BDE-99 i BDE-100 vinculats a partícules és d'aproximadament 1 tona a l'oceà Atlàntic (d'uns  $75 \times 10^6 \text{ km}^2$ ) i unes 7,5 tones per al BDE-209; i la deposició total provinent de la fase gasosa pot voltar les 40 tones (Lohmann, 2013). Pel que fa a la transferència aire-aigua, s'estimen uns fluxos d'aportació neta per al BDE-47 ( $3\text{-}875 \text{ pg m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ ), el BDE-100 ( $2\text{-}50 \text{ pg m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ ), el BDE-99 ( $3\text{-}170 \text{ pg m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ ) i l'HBB ( $96\text{-}4.870 \text{ pg m}^{-2} \text{ dia}^{-1}$ ), amb els màxims entre les latituds  $0^\circ$  i  $20^\circ$  nord i els mínims en les més allunyades (Xie, 2011; Lohmann, 2013).

Aquest transport a llargues distàncies combinat amb la deposició atmosfèrica i la transferència aire-aigua suposen un aportament net i constant de COP al medi marí de tot el món. Seguint amb l'exemple dels PBDE, vegem algunes dades. Entre el 1970 i el 2001 es van utilitzar 100.000 tones d'una de les mescles comercials de PBDE (POPRC, 2007). D'altra banda, aquesta quantitat és petita comparada amb la de la mescla comercial més utilitzada, que suposava un 75% de la producció mundial de PBDE en la dècada del 2000 (POPRC, 2014). La Xina és el principal productor actual d'aquesta mescla —perquè no la tenen restringida— amb

 La mida importa: l'espai entre xifres i unitats.

<https://goo.gl/wXapNp>

*Size matters: the space between numbers and units.*

<https://goo.gl/kEuUu8>

una producció anual propera a les 20.000 tones (Ni, 2013). S'estima una deposició anual de 40 tones de PBDE a l'Atlàntic des de la fase gasosa i 10 tones provinents de les partícules (Lohmann, 2013). Per tant, és d'esperar que durant molts anys encara els PBDE i els altres COP segueixin desprenent-se dels materials en què ara es troben i s'introdueixin al medi ambient.



## 2 Objectius / Objectives

La present tesi se centrarà en els punts de la Directiva marc sobre l'estratègia marina (Directiva 2008/56/CE) segons els quals les concentracions de contaminants han de ser prou baixes per no causar efectes de contaminació i els contaminants presents en peix i marisc de consum humà no poden superar els límits regulats.

Dins de la gran varietat de contaminants, s'analitzaran la presència i el comportament de contaminants orgànics persistents ja ben coneguts i caracteritzats, retardants de flama clàssics, junt amb uns contaminants orgànics emergents, retardants de flama nous i insecticides piretroides.

Els retardants de flama són un grup de compostos que s'afegeixen als materials per incrementar-ne la resistència al foc. Els més coneguts són COP i com que s'alliberen al medi amb facilitat, es troben en tot tipus de matrius ambientals. Els insecticides piretroides semblen ideals perquè, a priori, es creia que no eren persistents i que no es bioacumulaven. Això no obstant, presenten efectes tòxics sobre el sistema nerviós i se'n fa un ús abundant. Per aquest ús, tot i que no siguin persistents, sí que estan sempre presents i es consideren pseudopersistents.

En aquesta tesi es buscarà comparar el comportament dels retardants de flama ja coneguts amb els emergents i amb els piretroides estudiant-los en el medi marí. Les matrius analitzades seran d'una banda mamífers marins i de l'altra peixos i marisc de

*The present thesis will focus on the descriptors of the Marine Strategy Framework Directive (Directive 2008/56/CE) that require that concentrations of contaminants be low enough in order not to cause pollution effects and that contaminants in seafood for human consumption not exceed the levels established by the existing regulations.*

*From the wide variety of contaminants, the ones selected to study their presence and behaviour are some well-known persistent organic pollutants, namely classic flame retardants, as well as some emerging organic contaminants, that is new flame retardants and pyrethroid insecticides.*

*Flame retardants are a group of compounds that are applied to materials to increase their fire resistance. The better known are POPs and are found in all kind of environmental matrices as they are easily released to the environment. Pyrethroid insecticides seem ideal because, at first, they were believed not to be persistent or bioaccumulate. They do have toxic effects on the nervous system and are overused, though. This use is what makes them always present, despite not being persistent, and they are considered pseudo-persistent contaminants.*

*The aim of this thesis is to compare the behaviour of old flame retardants with the emerging ones and with pyrethroids by studying them in the marine environment. The study will be performed on marine mammals on one side and on seafood on the other.*

consum humà. Així s'estudiarà l'impacte tant en biota com en humans.

Dins del grup dels retardants de flama, es veurà si els compostos emergents són una bona alternativa o mostren un comportament similar als seus predecessors. Això és rellevant per saber si presenten les característiques establertes al Conveni d'Estocolm. En aquest cas caldria incloure'ls-hi i buscar nous compostos que respectin el medi ambient i la salut humana.

Pel que fa als piretroides, tot i suposar un risc menor que els retardants de flama, les seves propietats presumptament ideals han provocat que s'utilitzin en abundància. Un seguiment de les quantitats que es troben al medi ambient i en el menjar i en quina freqüència s'hi troben permetrà argumentar si l'ús que se'n fa no sobrepassa els límits que les seves propietats permeten.

Els objectius de la tesi es poden resumir esquemàticament així:

- a) Avaluar la presència en biota marina d'un grup de COP i un altre de compostos orgànics pseudopersistentes.
- b) Avaluar el seu impacte en la dieta humana pel consum de productes marins segons la ingesta diària admissible (IDA).
- c) Comparar el comportament dels retardants de flama emergents amb els COP coneguts i prohibits per veure si són una bona alternativa.
- d) Comparar els resultats dels COP amb els dels compostos pseudopersistentes.

*Thus, the impact of these contaminants on both sea life and humans will be assessed.*

*Regarding flame retardants, the aim is to know whether the emerging compounds are good alternatives or show behaviours similar to their predecessors. This is relevant to see if they show the properties established in the Stockholm Convention. In that case, they should be listed in the Convention and new safer replacements should be found.*

*As for pyrethroids, although they pose a smaller threat than flame retardants, their supposedly ideal properties have caused them to be massively used. Monitoring their occurrence in the environment and in seafood regarding quantity and frequency of detection will allow discussing if pyrethroids are used more than the limits of their properties allow.*

*The objectives of this thesis can be summarised as follows:*

- a) *Assess the occurrence in marine biota of a group of POPs and a group of pseudo-persistent organic compounds.*
- b) *Assess the impact of these contaminants on the human diet through seafood consumption according to the accepted daily intake (ADI).*
- c) *Compare the behaviour of emerging flame retardants with the known and banned POPs to see if they are a good alternative.*
- d) *Compare the results of the POPs with the results of the pseudo-persistent compounds.*

## 3 Retardants de flama

### 3.1 Història i impacte

Tenint en compte el tipus de materials que s'utilitzen actualment, els retardants de flama (FR) són imprescindibles. Amb el temps, l'estudi de diferents possibilitats va portar als retardants de flama halogenats (HFR), principalment clorats i bromats. Els HFR actuen en fase gas capturant els radicals hidroxil i de l'hidrogen que es produeixen en les primeres etapes de la combustió i que propaguen la cadena de la reacció (Lyons, 1970).

A causa de la necessitat de la indústria elèctrica d'un aïllant dielèctric que fos alhora retardant de flama, la producció PCB va començar el 1929 als Estats Units, més tard a Europa i el 1954 al Japó. El 1966 un biòleg suec en va detectar en peixos (Jensen, 1970). Dos anys després, el 1968, un miler de japonesos es van intoxicar amb oli d'arròs contaminat amb PCB i els PCB es van prohibir al Japó el 1972 i es van deixar de produir als Estats Units el 1976 (Hussain, 1987).

L'hexaciclopentadiè es va descriure per primer cop el 1930 (Strauss, 1930) i dues dècades després es va considerar com a insecticida i retardant de flama. Hooker Electrochemical va comercialitzar-ne el dímer —conegut com a mirex— com a retardant de flama per a polipropilè a principis de la dècada dels 60 amb el nom de Dechlorane. Però a mitjan anys 70 es va veure que el mirex es degradava i formava un compost cancerigen i el 1977 es va prohibir (Hussain, 1987). Això no obstant, el 1964 Hooker Electrochemical —actualment Occidental Chemical (OxyChem)— ja havia començat a oferir un altre derivat de l'hexaciclopentadiè amb el nom comercial de Dechlorane Plus, que s'utilitzava en niló, poliolefines, resines i cables.

Alguns dels retardants de flama bromats (BFR) ja disponibles als anys 50 eren l'èter difenílic pentabromat (pentaBDE), el fosfat de tris(2,3-dibromopropil) (Tris) i el tetrabromobisfenol A (TBBPA). Tot i la popularitat dels compostos clorats, aquests es van fer un lloc al mercat en pocs anys. El Tris es va prohibir el 1977 per qüestions de toxicitat i el pentaBDE presentava problemes d'elevada volatilitat (Hussain, 1987).

Com que els compostos bromats eren més efectius que els clorats, els BFR permetien afegir menors quantitats de producte als materials i així es comprometien menys altres propietats físiques, com ara la resistència a l'impacte, per la presència d'additius. Per això, a partir dels 70 van adquirir popularitat, però sempre amb dificultats i descartant nous productes per raons de toxicitat.

Els HFR s'utilitzen molt i durant anys fins que la comunitat científica reuneix dades suficients que permetin prohibir-los. Per això i com que són persistents, el seu impacte sobre el medi ambient durarà anys després de la prohibició. D'altra banda, els substituïts són compostos diferents però d'estructures similars, i cal tornar a recollir les dades pertinents al llarg dels anys per aconseguir una nova prohibició.

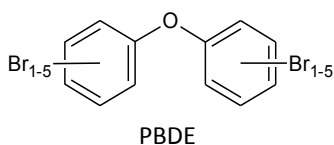
## 3.2 Els compostos

Els retardants de flama són un grup de compostos que s'afegeixen als materials per incrementar-ne la resistència al foc. Cada any es produeixen uns 5.000.000 tones de brom a tot el món i des del 2000 els BFR suposen el 38 % de la demanda de brom, un gran augment des del 8 % del 1975 (Birnbau i Staskal, 2004).

### 3.2.1 Els èters difenílics polibromats i l'hexabromociclododecà

Els PBDE i l'HBCD són dels retardants de flama més populars. Es poden trobar en un ampli ventall d'elements com ara plàstics, mobles, vehicles i aparells electrònics (Alaee, 2003).

Hi ha 209 congèneres de PBDE segons el grau de bromació i la posició dels àtoms de brom (figura 1). Com que les estructures són anàlogues a les dels PCB però amb brom en lloc de clor, s'utilitza la mateixa nomenclatura proposada per Ballschmiter i Zell (Ballschmiter i Zell, 1980).

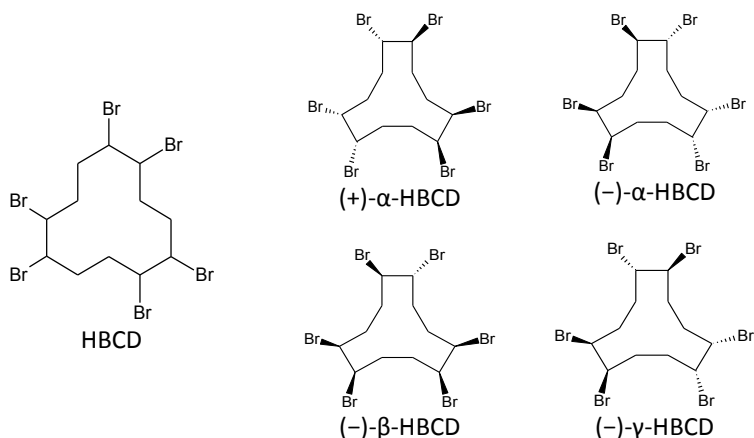


**Figura 1. Estructura general dels PBDE**

Les tres mesclades comercials són el PentaBDE (0-1 % triBDE, 24-37 % tetraBDE, 50-60 % pentaBDE i 4-8 % hexaBDE), l'OctaBDE (10-12 % hexaBDE, 43-44 % heptaBDE, 31-35 % octaBDE, 10-11 % nonaBDE i 0-1 % decaBDE) i el DecaBDE (0,3-3 % nonaBDE i 97-98 % decaBDE) (OMS, 1994).

Pel que fa a l'HBCD —més concretament 1,2,5,6,9,10-hexabromociclododecà—, en són possibles fins a 16 isòmers. Els més comuns i que es troben a les mesclades comercials són els diastereoisòmers  $\alpha$ -HBCD,  $\beta$ -HBCD i  $\gamma$ -HBCD (figura 2) en proporcions aproximades de 1-12 %, 10-13 % i 75-89 %, respectivament (Koch, 2015). Cada diastereoisòmer presenta a la vegada una parella d'enantiòmers; per exemple, el (+)- $\alpha$ -HBCD i el (-)- $\alpha$ -HBCD. En mostres biològiques també s'ha trobat el  $\delta$ -HBCD (Janák, 2005; Harrad, 2009; Abdallah, 2014), però de moment no hi ha dades de l' $\epsilon$ -HBCD en el medi ambient.

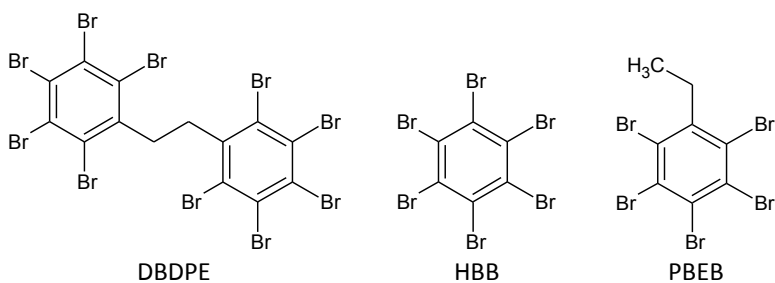
Com que els PBDE i l'HBCD s'incorporen als materials sense enllaçar-s'hi químicament, s'alliberen al medi amb facilitat (Alaee, 2003; de Wit, 2006). Per això i tenint en compte les seves propietats fisicoquímiques i toxicològiques, s'han prohibit i s'han buscat alternatives a aquests retardants de flama.



**Figura 2. Estructures d'alguns isòmers de l'HBCD**

### 3.2.2 Els retardants de flama emergents

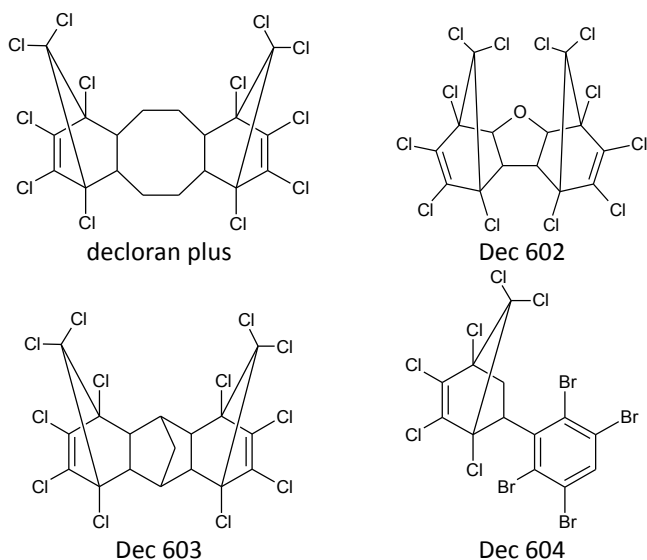
Els nous retardants de flama que s'utilitzen com a substituïts s'anomenen retardants de flama emergents (EFR), ja que són molt nous o no s'han estudiat prou i se'n desconeixen molts detalls. Alguns, igual que els PBDE i l'HBCD, són BFR. En són exemples l'hexabromobenzè (HBB), el pentabromoetilbenzè (PBEB) i el decabromodifenil età (DBDPE) (figura 3). La producció d'aquests EFR ha augmentat en les últimes tres dècades i s'han inclòs en programes de seguiment (Covaci, 2011).



**Figura 3. Estructures dels EFR bromats**

El DBDPE s'utilitza com a substitut del BDE-209. A diferència del BDE-209, el DBDPE no genera furans ni dioxines quan s'exposa a la llum del Sol (Kajiwara, 2008). El PBEB s'usava en resines de polièster termostables i en resines termoplàstiques i es produïa als Estats Units durant els anys 70 i 80, però ara es un compost de volum de producció baix a França (Hoh, 2005). Finalment, l'HBB es produeix principalment al Japó i a la Xina (Watanabe i Sakai, 2003), mentre que no hi ha dades que es produeixi a Europa (Covaci, 2011).

Els declorans o *norbornens halogenats* (HN) inclouen el decloran plus (DP) i els declorans 602, 603 i 604 (Dec 602, Dec 603 i Dec 604) (figura 4). Tot i que s'utilitzen des de fa molts anys, no hi ha estudis publicats del DP ni dels altres declorans al medi ambient fins al 2006 i el 2010, respectivament (Hoh, 2006; Sverko, 2010). Per això es consideren també EFR, però no contenen brom, sinó clor.



**Figura 4. Estructures dels declorans**

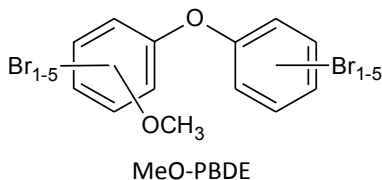
Només es coneixen dos productors de DP, OxyChem (Nova York, Estats Units) i Anpon Electrochemical (Huai'an, Xina) (Wang, 2010). El DP té els isòmers *sin*-DP i *anti*-DP, que en les mescles comercials presenten una relació aproximada d'1:2 (Tomy, 2007) i pot arribar a constituir fins a un 35 % del pes dels plàstics en què s'utilitza (Tomy, 2008). A la Unió Europea el DP es considera un compost de volum de producció baix, però l'Agència de Protecció Ambiental dels Estats Units (EPA) l'identifica com a compost de volum de producció alt, que implica una producció o importació major que 450.000 kg per any (Sverko, 2011).

OxyChem va patentar els declorans 602, 603 i 604 a mitjan anys 60 per millorar l'estructura dels polímers i fer-los menys inflamables. Estan menys restringits que el DP i de vegades s'utilitzen on el DP no compleix els requisits legals (Krackeler i Biddell, 1975).

### 3.2.3 Els èters difenílics polibromats metoxilats

D'altra banda, hi ha uns compostos bromats naturals generats per esponges, coralls, algues o fongs marins que s'han detectat a concentracions similars a les dels PBDE o fins i tot majors

(Gribble, 2000; Vetter, 2002). Es tracta dels èters difenílics polibromats metoxilats (MeO-PBDE) (figura 5). Aquests compostos es bioacumulen i biomagnifiquen en les cadenes tròfiques com els PBDE (Weijs, 2009). A causa del seu origen, es consideren un problema només en el medi marí. De fet, s'han detectat en alta mar en concentracions majors que a la costa (Vetter, 2002).



**Figura 5. Estructura general dels MeO-PBDE**

Tot i que existeix el dubte de si els MeO-PBDE podrien derivar dels PBDE antropogènics (Wan, 2009), s'ha demostrat que com a mínim el 6-MBDE-47 i el 2-MBDE-68 són compostos exclusivament d'origen natural (Teuten, 2005; Vetter, 2006; Wiseman, 2011). En qualsevol cas, és una família de compostos a tenir en compte en l'estudi de l'impacte de compostos perjudicials per als organismes que habiten al medi marí.

### 3.3 Propietats

Els retardants de flama, inclosos els MeO-PBDE, tenen unes característiques fisicoquímiques més o menys comunes (Alaee, 2003; Covaci, 2007; Covaci, 2011; Sverko, 2011) (taula 1). Tots aquests compostos tenen una massa molecular relativa bastant alta que pot arribar fins als 972 g mol<sup>-1</sup>. Presenten hidrofobicitats molt elevades, amb logaritmes del  $K_{ow}$  entre 5,6 i 13,5. Pel que fa a la solubilitat en aigua hi ha més divergència, tot i que sempre és molt baixa, entre 16.8 pg l<sup>-1</sup> i 210 µg l<sup>-1</sup>.

La biodegradació en condicions aeròbiques de PBDE en llocs d'estacions depuradores d'aigües residuals pot arribar a reduir la quantitat d'aquests contaminants fins a un 62-78 % de la inicial en 11 mesos (Stiborova, 2015). El temps de semidesintegració ( $t_{1/2}$ ) del BDE-209 en aquestes condicions està entre 6,0 i 8,2 mesos. D'altra banda, en condicions anaeròbiques la quantitat de BDE-209 pot disminuir fins al 70 % (Gerecke, 2005).

Pel que fa a l'HBCD, en condicions anaeròbiques se li atribueixen semivides de 0,66 dies (Gerecke, 2006) i de 5 dies (Hunziker, 2004), que augmenten a més de 35 dies per a llocs esterilitzats (Davis, 2003; Gerecke, 2006). A més, la digestió de l' $\alpha$ -HBCD triga quasi el doble que la del  $\beta$ -HBCD i el  $\gamma$ -HBCD, fet que provocaria que en les mostres ambientals hi hagués una proporció més elevada de l'isòmer  $\alpha$  que en el producte comercial.

**Taula 1. Característiques dels FR i els MeO-PBDE**

compost	fórmula	massa molecular relativa (g mol <sup>-1</sup> )	log <i>K</i> <sub>ow</sub>	solubilitat en aigua (25 °C, mg l <sup>-1</sup> )
PBDE	C <sub>12</sub> H <sub>x</sub> OBr <sub>y</sub>	248-950	5,88-12,1	4,4 × 10 <sup>-3</sup> – 14 × 10 <sup>-3</sup>
MeO-PBDE	C <sub>13</sub> H <sub>x</sub> O <sub>2</sub> Br <sub>y</sub>	278-902	10,1-13,5	–
HBCD	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> Br <sub>6</sub>	642	5,6	2,1 × 10 <sup>-3</sup> – 49 × 10 <sup>-3</sup>
DBDPE	C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>10</sub>	972	11,1	–
HBB	C <sub>6</sub> Br <sub>6</sub>	552	6,11	1,6 × 10 <sup>-2</sup>
PBEB	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> Br <sub>5</sub>	501	6,76	21 × 10 <sup>-2</sup>
Dec 602	C <sub>14</sub> H <sub>4</sub> Cl <sub>18</sub> O	614	8,05	1,75 × 10 <sup>-5</sup>
Dec 603	C <sub>17</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>12</sub>	638	11,2	2,45 × 10 <sup>-8</sup>
Dec 604	C <sub>13</sub> H <sub>4</sub> Br <sub>4</sub> Cl <sub>16</sub>	693	11,5	3,75 × 10 <sup>-8</sup>
DP	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>12</sub>	654	11,3	1,68 × 10 <sup>-8</sup>

(Alaee, 2003; Covaci, 2007; Covaci, 2011; Sverko, 2011)

Pel que fa als EFR, encara no hi ha prou estudis per determinar-ne bé totes les propietats fisicoquímiques ni l'estabilitat. Certs models prediuen persistències de més de 16 mesos per a molts EFR, inclosos l'HBB i el PBEB (EFSA, 2012b). Una altra estimació calcula els temps de semidesintegració en aire, aigua i sòl per a BFR que no siguin PBDE (Kuramochi, 2014) (taula 3). Cal notar que en els tres casos l'estimació compleix el criteri de persistència de  $t_{1/2,aire} > 2$  dies per als COP del Conveni d'Estocolm.

**Taula 2. Temps de semidesintegració en aire, aigua i sòl per a alguns FR**

compostos	<i>t</i> <sub>1/2,aire</sub>	<i>t</i> <sub>1/2,aigua</sub>	<i>t</i> <sub>1/2,sòl</sub>
PentaBDE	1 mes		
OctaBDE	4,7 mesos		
DecaBDE	15,9 mesos		6-50 anys
DBDPE	2,23 dies	2 anys	4 anys
PBEB	4,65 dies	8 mesos	16 mesos
HBB	15,6 mesos	2 anys	4 anys
Dec 602			8 anys
Dec 603			11 anys

(Meylan i Howard, 1993; Tokarz, 2008; Shen, 2011; Kuramochi, 2014)



### 3.4 Bioacumulació i biomagnificació

Els PBDE es van detectar al medi ambient per primer cop el 1970 (DeCarlo, 1979). Malgrat això van caldre dues o tres dècades perquè la comunitat científica els parés atenció quan es van detectar en concentracions cada cop més grans en llet materna humana (Norén i Meironyté, 2000).

Pel que fa a les mostres ambientals, la informació disponible sobre PBDE en medi marí és més limitada que en aigua dolça. Sediments del 2002 de les costes de Tarragona i d'Almeria tenien una mitjana de  $9,0 \text{ ng g}^{-1}$  en pes sec (dw) de PBDEs (Eljarrat, 2005). Sediments de la costa adriàtica d'Itàlia estaven al mateix nivell, amb  $9,7 \text{ ng g}^{-1}$  dw (Guerra, 2014). Altres estudis en sediments d'Europa, com de Bèlgica o Holanda, mostren resultats similars (Voorspoels, 2004; Klamer, 2005). Pel que fa a l'oceà Pacífic, sediments de l'Índia del 2011 mostraven una mitjana de  $0,15 \text{ ng g}^{-1}$  dw, mentre que les mitjanes a la Xina poden anar des de  $0,20$  fins a  $26 \text{ ng g}^{-1}$  dw i a Corea van des de  $1,30$  fins a  $77 \text{ ng g}^{-1}$  dw (Bixian, 2005; Ramu, 2010; Zhao, 2011; Cheng, 2015). D'altra banda, als sediments de les costes d'Austràlia i de Colòmbia no s'han detectat, però a Xile arriben a una mitjana de  $2,4 \text{ ng g}^{-1}$  dw (deBruyn, 2009; Barón, 2013).

Els sediments actuen com a font de contaminació per als organismes marins i els compostos es bioacumulen en els organismes a causa del seu caràcter lipòfil. El congènere predominant en sediments és el BDE-209, per sobre d'un 75 % de la contaminació total de PBDE, mentre que els perfils en biota estan dominats per als congèneres menys bromats, el BDE-47, el BDE-99 i el BDE-100 representen un 80 % del total (Zhang, 2016). Les espècies marines que pertanyen a un baix nivell tròfic solen tenir més BDE-99 que BDE-100 i el contrari per a les de nivells superiors (Zhang, 2016). Els invertebrats bentònics poden mostrar perfils de contaminació similars als sediments (Voorspoels, 2004).

Les concentracions de PBDE en mamífers marins poden ser un o més ordres de magnitud més grans que les dels organismes invertebrats o dels peixos de la mateixa zona. Un estudi en organismes marins de Florida va trobar concentracions mitjanes de fins a  $88 \text{ ng g}^{-1}$  en pes lipídic (lw) en peixos teleostis, de  $1190 \pm 1580 \text{ ng g}^{-1}$  lw en dofí mular, de  $660 \text{ ng g}^{-1}$  lw en dofí ratllat i de  $1630 \text{ ng g}^{-1}$  lw en tauró camús, a un nivell tròfic similar als dofins (Johnson-Restrepo, 2005).

Hi ha dos termes clau amb relació a les concentracions elevades en nivells tròfics més alts, la bioacumulació i la biomagnificació (Macdonald i Bewers, 1996). La bioacumulació és la incorporació de contaminants en un organisme a través de la dieta, les brànquies o la pell. La biomagnificació és l'increment de la concentració de contaminants en els teixits a mesura que els contaminants es traspassen de nivells tròfics més baixos a nivells més alts.

La diferència entre els congèneres de PBDE principals en sediments i en biota es justifica perquè els PBDE menys bromats tenen potencials de bioacumulació i de biomagnificació elevats, mentre que els del BDE-209 són menors (Lee i Kim, 2015). A la taula 3 es poden veure

estimacions del factor de bioacumulació (BAF) i del factor de biomagnificació (BMF) d'alguns PBDE. El BAF és la relació entre la concentració en el teixit de l'organisme i la concentració en l'aigua. El BMF és la relació entre la concentració en el predador i la concentració en la presa.

**Taula 3. BAF i BMF dels PBDE en organismes marins**

PBDE	espècie	log BAF	referència
BDE-28	<i>Salvelinus namaycush</i> <sup>a</sup>	7,6	(Tomy, 2004)
BDE-47	<i>Salvelinus namaycush</i>	7,3	(Streets, 2006)
	<i>Mytilus edulis</i> <sup>b</sup>	6,1	(Gustafsson, 1999)
BDE-99	<i>Salvelinus namaycush</i>	6,7	(Streets, 2006)
	<i>Mytilus edulis</i>	6,1	(Gustafsson, 1999)
BDE-100	<i>Salvelinus namaycush</i>	7,5	(Streets, 2006)
PBDE	espècie	BMF	referència
BDE-28	marsopa sense aleta <sup>c</sup>	1.6-2.4	(Ramu, 2006)
	foca comuna	1.4-4.5	(Shaw i Kannan, 2009)
BDE-47	<i>Salvelinus namaycush</i>	2,1	(Tomy, 2004)
	marsopa sense aleta	1,5	(Ramu, 2006)
	foca comuna	21,4-109	(Shaw i Kannan, 2009)
BDE-99	<i>Salvelinus namaycush</i>	6,6	(Tomy, 2004)
	marsopa sense aleta	1,8-2,4	(Ramu, 2006)
	foca comuna	17,9-213	(Shaw i Kannan, 2009)
BDE-100	<i>Salvelinus namaycush</i>	6,5	(Tomy, 2004)
	marsopa sense aleta	1,7-2,4	(Ramu, 2006)
	foca comuna	6,9-29,8	(Shaw i Kannan, 2009)
BDE-153	<i>Salvelinus namaycush</i>	9,4	(Tomy, 2004)
	marsopa sense aleta	1,6-2,2	(Ramu, 2006)
	foca comuna	148-700	(Shaw i Kannan, 2009)
BDE-154	<i>Salvelinus namaycush</i>	13,3	(Tomy, 2004)
	marsopa sense aleta	1,4-2,2	(Ramu, 2006)
	foca comuna	11,3-447	(Shaw i Kannan, 2009)
BDE-183	<i>Salvelinus namaycush</i>	3,9	(Tomy, 2004)
	foca comuna	0,8-2,2	(Ramu, 2006)
BDE-209	<i>Salvelinus namaycush</i>	0,3	(Tomy, 2004)
	foca comuna	≤ 1,3	(Shaw i Kannan, 2009)

<sup>a</sup>Salmònid - <sup>b</sup>Musclo comestible - <sup>c</sup>*Neophocaena phocaenoides* - <sup>d</sup>*Phoca vitulina*

La mateixa argumentació és vàlida per als altres retardants de flama i per als MeO-PBDE, tot i que, com sempre, encara hi ha menys informació que per als PBDE. L' Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA) va publicar estimacions de valors del BAF en espècies aquàtiques per a l'HBB d'entre 3,3 i 5,5 (EFSA, 2012b). Aquests valors no són negligibles comparats amb els dels PBDE. A més, certs models prediuen un potencial de bioacumulació elevat també per al PBEB i altres EFR.

A la taula 4 es poden veure les concentracions màximes de tots aquests compostos obtingudes en un estudi en sediments de les costes del mar del Nord mostrejats entre els agostos de 2012 i 2013 (Sühring, 2015). Es pot veure que els PBDE estan en el rang descrit prèviament per a altres sediments d'Europa. Els isòmers  $\alpha$  i  $\beta$  de l'HBCD se situen en el mateix rang. De fet, com es veu a la taula, en sediments sol predominar l'isòmer  $\gamma$ , mentre que en biota predomina l'isòmer  $\alpha$ . L'isòmer  $\beta$ , el PBEB i el DP estarien un ordre de magnitud per sota i l'HBB i els MeO-PBDE encara un menys, fins a quedar per sota dels límits detectables. D'altra banda, cal recordar que, malgrat les concentracions menors, els BAF d'alguns HFR poden o podrien acostar-se als dels PBDE.

**Taula 4. Concentracions màximes ( $\mu\text{g g}^{-1}$  dw) de FR i MeO-PBDE en sediments del mar del Nord**

compost	Regne Unit	Països Baixos	Alemanya	enmig del mar
BDE47	290	6,5	370	1,2
BDE85	n. d. <sup>a</sup>	25	n. d.	14
BDE99	151	13	462	33
BDE100	1315	3,4	77	24
BDE154	321	n. d.	n. d.	6,2
BDE209	7211	n. d.	2427	5092
$\alpha$ -HBCD	1474	36	1799	n. d.
$\beta$ -HBCD	86	16	321	n. d.
$\gamma$ -HBCD	431	155	2109	n. d.
HBB	n. d.	6,6	11	6
PBEB	258	48	55	509
<i>anti</i> -DP	172	25	240	39
<i>sin</i> -DP	330	15	21	21
MeO-PBDE	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.

<sup>a</sup>n. d. = no detectat

(Sühring, 2015)

Un altre valor que pot indicar el potencial de bioacumulació és el factor d'acumulació biota-sediment (BSAF). El BSAF és la relació entre la concentració del contaminant en un organisme expressada respecte al greix (lw) i la concentració en el sediment corresponent expressada en pes sec (dw) i corregida pel contingut de matèria orgànica en el sediment. Per als compostos hidròfobs pot tenir més sentit que el BAF, ja que utilitza la contaminació en sediment i no en l'aigua. La taula 5 presenta alguns valors del BSAF estimats per als retardants de flama.

Cal destacar que aquestes estimacions s'han fet amb animals de diferents espècies del bentos i amb cloïsses i musclos d'aqüicultura. D'altra banda, serveix com a indicació de la similitud que els diferents retardants de flama emergents poden tenir, especialment si es comparen els valors dins d'un mateix estudi.

**Taula 5. Valors de BSAF per a alguns FR**

Compost	BSAF	referència
BDE-28	0,05	(Sühring, 2016)
	5,89	(Tian, 2012)
BDE-47	3,4	(Sühring, 2016)
	5	(Sellström, 2005)
	10,0	(Gu, 2017)
	31,8	(Gu, 2017)
BDE-100	3,3	(Sühring, 2016)
	4,74	(Tian, 2012)
$\alpha$ -HBCD	0,10	(Gu, 2017)
	0,15	(Gu, 2017)
$\beta$ -HBCD	0,01	(Gu, 2017)
	0,01	(Gu, 2017)
$\gamma$ -HBCD	0,01	(Gu, 2017)
	0,02	(Gu, 2017)
HBB	0,4	(Sühring, 2016)
	2,3-6,1	(Nyholm, 2010)
<i>anti</i> -DP	0,3	(Shen, 2011)
<i>sin</i> -DP	0,2	(Sühring, 2016)
	0,8	(Shen, 2011)

Finalment, a la taula 6 es mostren els BMF calculats per a alguns PBDE, els isòmers  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  de l'HBCD i el DBDPE en una cadena tròfica del llac Winnipeg (Canadà) que incloïa sis espècies de peix, un bivalve i plàncton (Law, 2006).

Com alinear números en taules.

<https://goo.gl/k2PYYu>

How to align numbers in tables.

<https://goo.gl/a1w491>

**Taula 6. BMF dels PBDE, l'HBCD i el DBDPE en organismes del llac Winnipeg (Canadà)**

compost	BMF	compost	BMF
BDE-47	0,1-8,9	$\alpha$ -HBCD	0,1-8,2
BDE-99	0,1-9,5	$\beta$ -HBCD	0,3-5
BDE-100	0,1-4,9	$\gamma$ -HBCD	0,1-6,3
BDE-153	0,1-5,5		
BDE-209	0,1-34	DBDPE	0,2-9,2

(Law, 2006)

Tot i que no es tracti de mamífers ni d'organismes marins, es pot veure que els rangs són similars als de la taula 3 i que els isòmers de l'HBCD i el DBDPE tenen un potencial de biomagnificació comparable al dels PBDE.

### 3.5 Toxicitat

Els PBDE persisteixen en el medi ambient, s'acumulen en les cadenes alimentàries i afecten la regulació hormonal i l'activitat neuronal, tiroïdal i del fetge (Branchi, 2003; Mikula i Svobodova, 2006; Costa i Giordano, 2011).

Els PBDE poden afectar la regulació hormonal i per tant es consideren disruptors endocrins (Mikula i Svobodova, 2006). S'ha demostrat *in vitro* amb diferents dosis de PBDE, que aquests retardants de flama alteren l'homeòstasi tiroïdal. L'administració oral de les mescles PentaBDE i OctaBDE durant 4 dies provoca en rates femella un descens de la tiroxina ( $T_4$ ) en sèrum (amb dosis de cota (BMD) de  $12,7 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  i  $9,25 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  per a les respectives mescles) (Zhou, 2001). Amb l'exposició a la mescla DecaBDE i a altres mescles no es van observar aquests efectes.

Alguns congèneres dels PBDE s'enllacen amb els receptors d'estrogen amb un paper agonista, especialment els BDE-100, BDE-75 i BDE-51 (Meerts, 2001). És important destacar que el BDE-100, el lligand més potent en aquest cas, és també un dels PBDE més abundants al medi ambient. Aquest paper agonista s'ha confirmat *in vitro* en cèl·lules hepàtiques de truita arc iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Nakari i Pessala, 2005). El mateix estudi atribueix propietats citotòxiques als PBDE. D'altra banda, s'han demostrat els efectes antiandrogènics de la mescla PentaBDE en rates mascle *in vivo* i *in vitro* (Stoker, 2005).

També s'ha observat que l'exposició neonatal de ratolins als PBDE els perjudica l'espontaneïtat, l'aprenentatge i la memòria (Eriksson, 2002; Viberg, 2002, 2003a; Viberg, 2003b). Aquests efectes neurotòxics es detectaven a partir de l'edat adulta i es feien més pronunciats a mesura que els ratolins es feien grans. El BDE-99 també afecta l'espermatogènesi en rates (Kuriyama, 2005). Cal destacar que els efectes tòxics es van observar a dosis molt baixes.

Un estudi en foques del nord-est d'Anglaterra troba una correlació directament proporcional entre la concentració total de PBDE en greix i la quantitat d'hormones tiroïdals en sang, especialment durant el primer any de vida (Hall, 2003).

Quant a les dosis i els efectes, un estudi calcula que la dosi sense afecte advers observat (NOAEL) en rates per al DecaBDE és major que  $1.000 \text{ mg kg}^{-1}$  (mg de DecaBDE per kg de pes corporal), mentre que l'OctaBDE ja mostra efectes a  $100 \text{ mg kg}^{-1}$  en un estudi de 90 dies i el PentaBDE té una concentració sense efecte observat (NOEC) d' $1 \text{ mg kg}^{-1}$  en un estudi de 30 dies (Hardy, 2002). El mateix estudi, a més, estableix un factor de bioconcentració (BCF) en peix per al DecaBDE menor a 5 o 50 per a dosis de 60 i  $6 \text{ mg l}^{-1}$ , respectivament, i encara menor per a l'OctaBDE, però de 49.000 per al 2,2',4,4'-tetraBDE (taula 7).

**Taula 7. Toxicitat de les mescles comercials de PBDE en organismes marins**

paràmetre <sup>a</sup>	OctaBDE	PentaBDE	DecaBDE
LC <sub>50</sub> (48 h), peix	> 500 mg l <sup>-1</sup>	> 500 mg l <sup>-1</sup> ( <i>Oryzias latipes</i> )	> 500 mg l <sup>-1</sup>
LC <sub>50</sub> (96 h), peix		> solubilitat en aigua ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	
NOEC, mortalitat ous		≥ 12 µg ou <sup>-1</sup> (BDE-99 i BDE-47) ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	
BCF, peix	< 4 en 8 setmanes	14.350 (mescla) 72 (BDE-99) 49.000 (BDE-47)	< 5 (60 µg l <sup>-1</sup> ) < 50 (6 µg l <sup>-1</sup> ) en 6 setmanes
EC <sub>50</sub> (96 h), algues		NOEC > solubilitat en aigua	> 1 mg l <sup>-1</sup>
EC <sub>50</sub> (48 h), dàfnia	> solubilitat en aigua	14 µg l <sup>-1</sup>	

<sup>a</sup>LC<sub>50</sub> = concentració letal 50, letal per al 50 % dels individus; EC<sub>50</sub> = concentració efectiva 50, que fa la meitat de l'efecte màxim (Hardy, 2002)

Pel que fa a l'HBCD, afecta el fetge, l'homeòstasi tiroïdal i els sistemes reproductor, nerviós i immunitari (EFSA, 2011a). D'altra banda, els estudis indiquen que no és genotòxic.

Tot i que hi ha models experimentals que atribueixen propietats cancerígenes i genotòxiques a alguns EFR, encara no hi ha dades suficients per als inclosos en aquest treball, tot i que últimament està augmentant el nombre d'estudis al respecte (Sverko, 2011; EFSA, 2012b). Podem citar alguns efectes tòxics publicats recentment per a aquests compostos.

L'HBB va causar danys per estrès oxidatiu al fetge de carpí daurat (*Carassius auratus*) i la inhibició dels canals de sodi i de potassi (Feng, 2014) i podria inhibir processos enzimàtics en fetge de rates (Frydrych, 2005). El DBDPE també pot causar danys en fetge de carpí daurat i de rates i alterar-hi alguns processos enzimàtics (Feng, 2013; Sun, 2014). Els declorans mostren efectes tòxics similars. Poden afectar el fetge de rates i peixos, en interferir en rutes d'expressió de proteïnes i en els canals de calci (Wu, 2013; Liang, 2014). Aquests estudis se solen centrar en el DP i li atribueixen propietats toxicològiques similars a les dels PBDE i l'HBCD.

Finalment, se suposa que els MeO-PBDE tenen un potencial tòxic no massa diferent del dels PBDE per la similitud de les seves estructures.

### 3.6 Legislació

A causa de les propietats que els classifiquen com a COP, el 2004 el PentaBDE i l'OctaBDE es van prohibir a Europa i es van retirar del mercat nordamericà (Betts, 2008).

El desembre del 2006 el Consell de la Unió Europea va adoptar el Reglament (CE) nº 1907/2006 que regula el registre, l'avaluació, l'autorització i la restricció de les substàncies químiques (REACH) (REACH, 2006). L'Agència Europea de Substàncies Químiques (ECHA) fundada el 2007 és l'actual responsable de la gestió del Reglament REACH.

Aquest reglament pretén millorar la protecció de la salut pública i el medi ambient sense perdre la competitivitat ni la capacitat innovadora de la indústria. Amb aquest fi estableix que no es pot comercialitzar cap substància o article amb un contingut de PentaBDE o d'OctaBDE major a 0,1 % en massa.

A més, imposa unes responsabilitats als productors, importadors i usuaris de substàncies químiques a Europa. Les tres responsabilitats són registrar les substàncies produïdes o importades en quantitats majors a una tona a l'any, analitzar-ne l'impacte ambiental i en la salut pública i informar de la composició dels seus productes.

El 2010 el DecaBDE, l'HBCD i el TBBPA es van incloure en el reglament REACH. El DecaBDE i l'HBCD es consideren substàncies altament preocupants (SVHC) des del 2010 i el 2008, respectivament. L'agost del 2014 es va presentar una proposta de restricció encara pendent per al DecaBDE. L'HBCD, en canvi, ja és a l'annex XIV del Reglament REACH —o *Llista d'Autorització*— des del febrer del mateix any i a partir d'aquest agost del 2015 cal una autorització especial per utilitzar-lo a Europa.

El Conveni d'Estocolm (SC, 2008), en vigor des del 2004, busca protegir la salut humana i el medi ambient dels COP (vegeu 3.3 Propietats). En aquest camp, el Conveni d'Estocolm és més important que el reglament REACH. Va estipular la prohibició de producció de la majoria dels PBDE el 2009 i del DecaBDE el 2017 i la limitació de la producció d'HBCD per a poliestirè expandit i poliestirè extruït en construcció el 2013. Així mateix, permet el reciclatge d'articles amb contingut de PBDE dins dels límits pertinents fins al 2030.

D'altra banda, el DBDPE està registrat en el reglament REACH i l'HBB i el PBEB estan preregistrats, i els tres estan inclosos en programes de seguiment (Covaci, 2011).

Existeix altra legislació que, com el Conveni d'Estocolm i el reglament REACH, no especifiquen concentracions límit en el medi ambient, sinó que estableix criteris per a l'eliminació dels retardants de flama durant la següent dècada. D'altra banda, per la importància d'aquests compostos, no seria estrany que en aquest temps es creessin normes amb valors més precisos. Aquestes són quatre directives actuals rellevants per als BFR:

- a) Directiva 2000/60/EC – Directiva marc de l'aigua que estableix un marc de protecció de les aigües continentals, subterrànies, marines i de transició i dels ecosistemes terrestres que en depenen directament. Busca garantir el subministrament d'aigua en bon estat de manera sostenible, evitar les noves emissions de contaminants, reduir la contaminació ja present i pal·liar els efectes d'inundacions i sequeres. Defineix uns controls periòdics cada 3 mesos

per a la biota i els contaminants en general, 6 per al fitoplàncton i 1 per a les substàncies prioritàries. No estableix límits de contaminació concrets.

b) Directiva 2008/56/EC – Directiva marc sobre l’estratègia marina que estableix un marc per a la prevenció, la protecció i la conservació del medi marí enfront dels danys provocats per l’activitat humana. Ho fa amb uns requisits mínims perquè els països de la Unió Europea elaborin estratègies que protegeixin l’ecosistema marí i garanteixi la sostenibilitat de les activitats econòmiques que s’hi vinculen. Dos dels onze descriptors qualitius per determinar el bon estat ambiental de l’aigua duen que les concentracions de contaminants han de ser prou baixes per no causar efectes de contaminació i els contaminants presents en productes de pesca de consum humà no poden superar els límits de les regulacions pertinents.

c) Directiva 2011/65/EU – Restricció de substàncies perilloses en equipament elèctric i electrònic que permet un contingut màxim de PBDE de 0,1% en pes dels materials homogenis. La resta de materials s’han de substituir per altres que compleixin aquest límit.

d) Directiva 2012/19/EU – Gestió de residus d’equipament elèctric i electrònic que obliga a eliminar els components amb BFR.

De moment no existeix cap legislació respecte als declorans, però el govern de Canadà inclou el DP —i el DBDPE— en el Chemicals Management Plan, que hauria de publicar un informe el 2018 sobre les decisions finals.



## 4 Piretroides

### 4.1 Història i impacte

Durant els anys 20 del segle XX, es van estudiar les piretrines —que s'extreien del piretre, una planta de la família dels crisantems— i la recerca d'insecticides orgànics sintètics es va impulsar els anys 30 (Casida i Quistad, 1998). El 1939 es va sintetitzar el DDT, que va resultar ser efectiu per a moltes plagues. Semblava la solució definitiva per als cultius, les malalties transmèses per mosquits i les pestes. El DDT era tan bo que es van estudiar altres compostos organoclorats a la recerca d'insecticides barats i persistents.

En un principi no es considerava que els insecticides poguessin afectar la salut o el medi, però el 1962 Rachel Carson va publicar *Primavera Silenciosa*, en què alertava dels efectes dels pesticides en el medi ambient amb la imatge d'ocells morts al seu jardí.

L'observació de camp superficial va donar lloc, llavors, a estudis de models d'ecosistema i de mesocosmos, impulsats per a l'avaluació de piretroides i d'altres pesticides (Casida i Quistad, 1998). Van començar a sorgir agències reguladores. El 1970 es va crear l'EPA. A partir de llavors es va començar a restringir o prohibir l'ús dels organoclorats, considerats tòxics i contaminants (Rabbito, 2011; Hellou, 2013). Tot i així, encara s'utilitzen per combatre la malària (Richardson, 1998; Roberts, 2000; Resnik, 2009).

Durant els anys 40 es va veure que molts compostos organofosforats tenien propietats úniques per a la protecció de plantes —i que els més volàtils i tòxics servien com a armes químiques. Això no obstant, no va ser fins als anys 60 que es van popularitzar. També a finals d'aquesta dècada va proliferar la fama dels insecticides carbamats.

Els organofosforats i els carbamats tenien estructures simples i era fàcil sintetitzar-ne derivats anàlegs. Alguns factors els afavorien enfront dels organoclorats (Casida i Quistad, 1998). Tenien toxicitat selectiva amb efectes diferents en cada espècie; afectaven més els insectes que els mamífers (Narahashi, 1998); els efectes en mamífers es devien principalment a exposicions intenses i no tant a l'acumulació; eren més biodegradables i, per tant, menys persistents, i es podien preparar compostos que es moguessin per la planta durant unes setmanes i la protegissin. Tot i així, el coneixement sobre el veritable grau de toxicitat d'aquests compostos ha repercutit en regulacions i prohibicions d'ús (Kozawa, 2009).

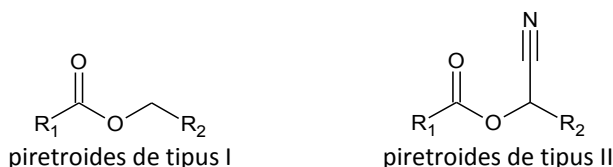
Al llarg dels anys 70 els piretroides van passar de productes de simple ús domèstic a agents de control de pestes en l'agricultura. A més, en els últims 20 anys han substituït la majoria dels usos dels compostos organofosforats, així com aquests havien substituït els organoclorats (Amweg, 2006; Zhan i Zhang, 2014). Els piretroides eren molt efectius. Durant dècades es va treballar en l'optimització d'aquests derivats de les piretrines. Se'n va millorar la fotoestabilitat sense comprometre'n la biodegradabilitat; es van dotar de toxicitat selectiva i de vies de

degradació metabòlica —diferent per a isòmers *cis* i *trans*—; es van crear tant fumigants com insecticides de sòl, i se'n va augmentar la potència per minimitzar la contaminació del medi (Casida i Quistad, 1998).

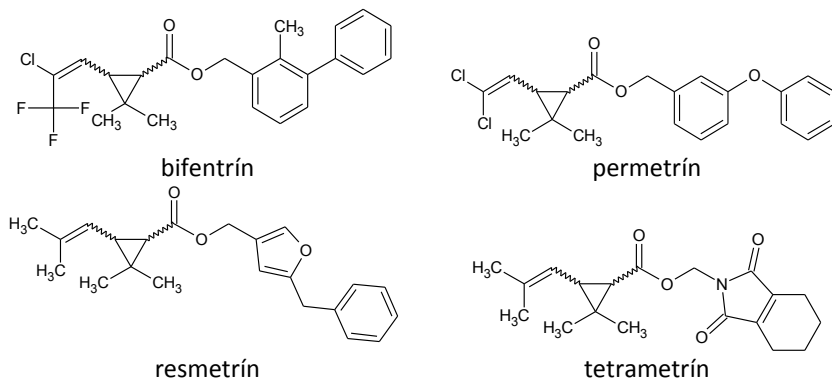
Actualment, els estudis de toxicologia són una part molt important del desenvolupament de nous insecticides. De tot això se'n deriven quatre fets que han reduït l'impacte dels insecticides en el medi ambient: la disminució de l'ús a causa de l'increment de potència, la toxicitat selectiva dels nous compostos, els estudis de la presència dels compostos en el medi ambient i el canvi de compostos persistents a degradables (Casida i Quistad, 1998).

## 4.2 Els compostos

El primer insecticida piretroide, l'al·letrín, es va identificar el 1949 (Bradberry, 2005). Pertany al tipus I de piretroides perquè conté un èster carboxílic del ciclopropà a l'estructura. El poder insecticida d'aquests compostos es va amplificar amb l'addició d'un grup ciano en posició  $\alpha$ , característica que identifica el tipus II (figures 6, 7 i 8).

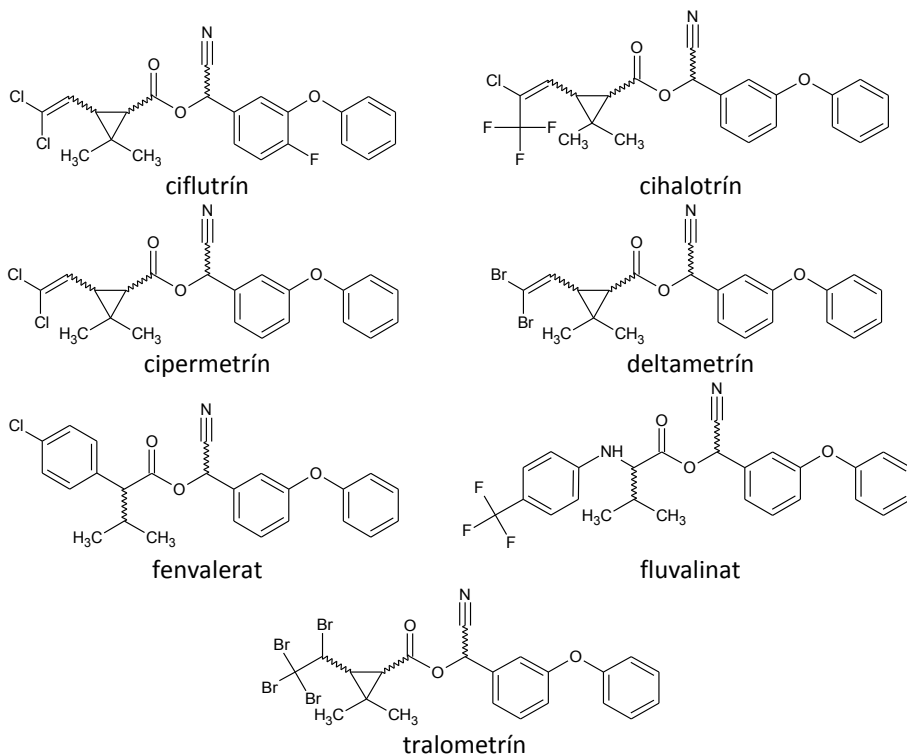


**Figura 6. Tipus de piretroides segons l'estructura general**



**Figura 7. Piretroides de tipus I**

D'altra banda es va detectar activitat insecticida en uns èsters del tipus fenilacètic 3-fenoxibenil, que no contenen el ciclopropà, però sí el grup ciano (Bradberry, 2005). Per això es consideren piretroides del tipus II i van originar compostos com el fenvalerat i d'altres similars.



**Figura 8. Piretroides de tipus II**

A causa del ciclopropà i del grup ciano, la gran majoria de piretroides presenten isòmers, cada un amb activitat biològica i, per tant, toxicitat diferents. Els piretroides de tipus I tenen dos centres quirals i presenten dos diastereoisòmers, o parells enantiomèrics. Els piretroides de tipus II tenen tres centres quirals i presenten quatre diastereoisòmers. Els enllaços que generen parells enantiomèrics es marquen serpentejant a les figures 7 i 8.

Aquests diastereoisòmers són els que presenten propietats diferents (Jin, 2012).

Els piretroides representen un 25 % dels insecticides utilitzats actualment (Casida i Quistad, 1998; Shafer, 2005). Semblava que eren els insecticides ideals perquè no són persistents i es creia que es metabolitzen i no es bioacumulen (Casida, 1975; Leng, 1997), i van substituir la resta de pesticides prohibits. La producció total de pesticides orgànics als Estats Units va passar de poc més de 15 tones per any el 1945 a més de 630 tones el 1976 (Ridgway, 1978). A escala mundial, el 2006 se'n van utilitzar més de 433 tones i unes 400 tones el 2007 (Grube, 2011) Si

El gènere dels piretroides és variable en català.

<https://goo.gl/BtzGqf>

*The gender of pyrethroids can fluctuate in Catalan.*

<https://goo.gl/YWJqRZ>

els piretroides representen un 25 % de l'ús d'insecticides, actualment s'utilitzen unes 100 tones de piretroides cada any.

Els piretroides s'utilitzen arreu com a insecticides en els àmbits domèstic i comercial i en medicina per al tractament de la ronya i els polls (taula 8). En països tropicals, les mosquiteres s'impregnen de solucions de deltametrín, cihalotrín o cipermetrín per controlar la malària (Bradberry, 2005).

**Taula 8. Usos dels piretroides**

<b>insectes</b>	<b>cultius</b>	<b>altres</b>
àcar, arna, cigala, eruga, escarabat, formiga, llagosta, mosca blanca, mosca, mosquit, panerola, poll, pugó, tèrmit, vespa, xinxa	alfals, arròs, blat, cacauet, cafè, canya de sucre, ceba, cereal, cítrics, cotó, enciam, figa, gira- sol, llavors, meló, mongeta verda, mongeta, nou, oliva, patata, pera, pèsol, poma, préssec, raïm, remolatxa, síndria, soja, tabac, te, tomàquet	boscós, comerços, domèstic, fusta, gespa, herba, hivernacles, indústria, jardins, magatzems, mascotes, ornaments, salut pública, xampú

(Metcalf, 1995; HSDB, 2001; NAWQA, 2001)

### 4.3 Propietats

Els piretroides tenen unes característiques fisicoquímiques més o menys comunes (taula 9). Són compostos d'una massa molecular relativa bastant alta, per sobre dels  $300 \text{ g mol}^{-1}$ . Presenten hidrofobicitats elevades, amb logaritmes del  $K_{ow}$  entre 4 i 7, i una solubilitat en aigua molt baixa, de pocs  $\mu\text{g l}^{-1}$ . Són fotosensibles i s'hidrolitzen fàcilment, per això tenen temps de degradació del 50% de la substància ( $DT_{50}$ ) i, per tant, persistència molt baixos, menors de 60 dies (AERU, 2007).

Els piretroides no s'inclouen en el Conveni d'Estocolm, i és que no compleixen la definició dels COP. Tenen logaritmes de  $K_{ow}$  al límit del criteri per als COP, presenten toxicitat (vegeu l'apartat 3.5) i, tot i els mamífers els poden metabolitzar (Abernath, 1973; Casida, 1975), s'ha demostrat que es bioacumulen en mamífers marins i en humans (Alonso, 2012b; Corcellas, 2012). Això no obstant, tenen temps de semidesintegració molt breus que fa que no siguin persistents i que es degradin abans de poder ser transportats a llargues distàncies. Aquesta facilitat de degradació fa que no se'ls pugui considerar COP. Malgrat tot, sempre són presents al medi ambient perquè s'hi alliberen constantment i això fa que se'ls consideri contaminants orgànics pseudopersistentes (Daughton, 2004).

**Taula 9. Propietats dels piretroides**

piretroide	tipus	fórmula molecular	massa molecular (g mol <sup>-1</sup> )	log K <sub>ow</sub>	solubilitat en aigua a 20 °C (µg l <sup>-1</sup> )	DT <sub>50</sub> * (dies)
bifentrín	I	C <sub>23</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> ClF <sub>3</sub>	422,9	6,6	1	26
permetrín	I	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub>	391,3	6,1	200	13
resmetrín	I	C <sub>22</sub> H <sub>26</sub> O <sub>3</sub>	338,5	5,43	10	30
tetrametrín	I	C <sub>19</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>4</sub>	331,4	4,6	1.830	3
ciflutrín	II	C <sub>22</sub> H <sub>18</sub> NO <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub> F	434,3	6	6,6	33
cihalotrín	II	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> ClF <sub>3</sub>	449,9	6,9	4	57
cipermetrín	II	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> Cl <sub>2</sub>	416,3	5,3	9	60
deltametrín	II	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> Br <sub>2</sub>	505,2	4,6	0,2	13
fenvalerat	II	C <sub>25</sub> H <sub>22</sub> NO <sub>3</sub> Cl	419,9	5,01	1	40
fluvalinat	II	C <sub>26</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ClF <sub>3</sub>	502,9	3,85	2	7
tralometrín	II	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub> Br <sub>4</sub>	665,0	5	80	3

(AERU, 2007)

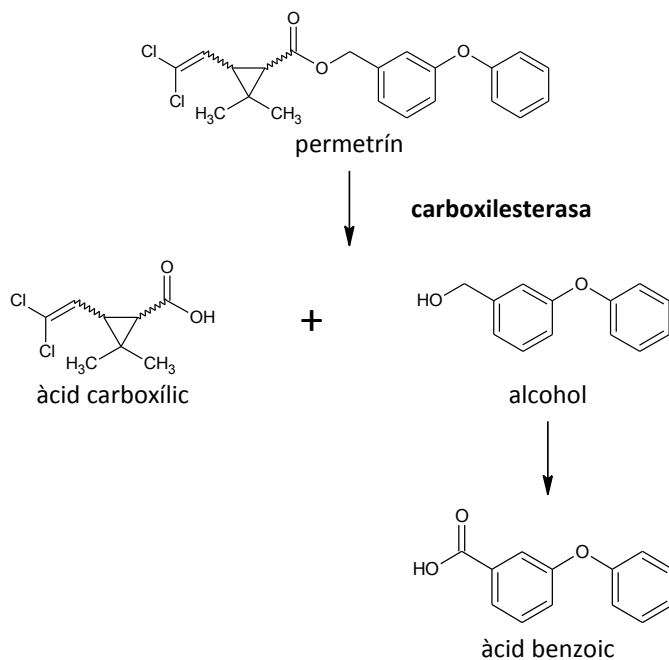
#### 4.4 Metabolització

Una de les característiques dels piretroides valorades positivament és la capacitat dels mamífers de metabolitzar-los. Hi ha rutes molt variades segons els organismes. Aquí es presentarà el mecanisme de metabolització en humans, ja que per a molts mamífers les rutes són equivalents.

El fetge és l'òrgan encarregat de la desintoxicació en humans, tot i que altres òrgans i teixits tenen enzims necessaris per tractar xenobiòtics. Aquesta desintoxicació sol produir-se en dues fases (Corcellas, 2017). La primera fase consisteix a augmentar la polaritat de la molècula xenobiòtica mitjançant processos com la hidroxilació, la desaminació o la N-oxidació. En la segona fase, el metabòlit —més polar que la molècula original— es combina amb productes endògens de la cèl·lula, com ara grups metil o acetil, monosacàrids o aminoàcids; fet que li augmenta la solubilitat i facilita que s'excreti en l'orina. Per això l'exposició dels humans als piretroides s'estudia a través de l'anàlisi dels metabòlits en l'orina (Heudorf, 2004).

La primera fase pot tenir dues vies en la metabolització dels piretroides en humans. Una es tracta de la ruptura de l'èster per produir l'àcid carboxílic i l'alcohol corresponent mitjançant carboxilesterases (Satoh i Hosokawa, 1998). Després, l'alcohol es pot oxidar a un àcid benzoic (figura 9).

Les carboxilesterases necessàries per a aquesta metabolització es troben en el plasma de mamífers en concentracions més elevades que en el de peixos o aus (Hosokawa, 1990). Això podria ser un dels diferents factors que expliquin la menor toxicitat dels piretroides en mamífers.



**Figura 9. Metabolització del permetrín**

D'altra banda, les carboxilesterases presenten diferents isoenzims que poden ser presents en major o menor proporció en cada individu segons factors com l'espècie, l'edat o el sexe (Hosokawa, 1990). Cada isoenzim pot tenir una activitat diferent envers dels diferents isòmers dels piretroides i això pot fer que la capacitat de metabolització d'aquests compostos variï no només entre espècies, sinó també entre individus de diferent sexe o edat (Huang, 2005).

La segona via per a la primera fase de la metabolització és la hidroxilació mitjançant monooxigenases. Sovint les dues vies es donen alhora i es produeixen productes secundaris com el 4-hidroxi-3-fenoxibenzol i el 4-hidroxi-3-fenoxibenzaldehyd en el cas del permetrín, que poden ser disruptors endocrins més potents que els compostos no hidroxilats (Tange, 2014).

Ara bé, tot i que els mamífers puguin metabolitzar els piretroides, alguns estudis han demostrat que també els poden bioacumular (Zehringer i Herrmann, 2001; Corcellas, 2012).

## 4.5 Toxicitat

A causa de la seva toxicitat, l'exposició dels organismes aquàtics als piretroides és preocupant (Mauck i Olson, 1976). Estudis recents en mamífers els atribueixen propietats carcinògenes, neurotòxiques, immunosupressives i una potencial toxicitat reproductiva (OMS, 2005; Shafer, 2008; Jin, 2012). Els piretroides del tipus I produeixen hiperexcitabilitat neuronal i tremolors; mentre que els del tipus II produeixen salivació, hiperexcitabilitat, coreoatetosi (espasmes

involuntaris junt amb moviments lents i postures retorçades sobretot de les extremitats) i atacs (Ray i Forshaw, 2000).

L'acció principal dels piretroides és sobre els canals de sodi i els de clor, que condueixen els ions a través de la membrana cel·lular (Casida i Quistad, 1998; Bradberry, 2005; Shafer, 2005). Els piretroides redueixen el lliandar del potencial d'acció de les neurones i de les cèl·lules musculars i provoquen estimulació repetida (Narahashi, 1998; Pollack, 1999). A concentracions elevades, l'entrada de sodi pot ser prou gran per impedir la generació del potencial d'acció, bloquejar la conducció i provocar paràlisi. Petites quantitats són suficients per afectar la sensibilitat de les neurones.

Els piretroides del tipus II també disminueixen el flux de clorur a través dels canals de clorur dependents del voltatge. Les concentracions relativament elevades poden, a més, afectar els receptors d'àcid  $\gamma$ -aminobutíric i causar atacs catalèptics documentats en intoxicacions greus per piretroides del tipus II en humans (Ray i Forshaw, 2000; Bradberry, 2005).

Els piretroides són unes 2.250 vegades més tòxics per als insectes que per als mamífers perquè els insectes tenen canals de sodi més sensibles, cossos molt més petits i temperatures corporals baixes. A més, els mamífers els absorbeixen poc a través de la pell i els metabolitzen ràpidament a compostos no tòxics (Bradberry, 2005).

Professionalment, la principal via d'absorció és a través de la pell. El major efecte de l'exposició dèrmica és la parestèsia (percepció de sensacions sense un estímul previ), segurament per la hiperactivitat dels nervis cutanis, especialment a la cara, i que augmenta amb estímuls com la calor, la llum solar, la suor o el contacte amb l'aigua (Bradberry, 2005). La parestèsia desapareix en 12 o 24 hores i no cal un tractament especial, tot i que l'administració tòpica de vitamina E la pot reduir.

La ingesta de piretroides provoca irritació de gola, nàusees, vòmits i dolor abdominal en pocs minuts. Poden aparèixer úlceres bucals, un augment de secreció o disfàgia (Bradberry, 2005). La inhalació és molt menys important, però augmenta quan s'utilitzen en espais tancats. Els efectes sistèmics es mostren entre 4 i 48 hores després de l'exposició; habitualment són mareig, mal de cap i cansament, i menys freqüentment, palpitations, opressió al pit i vista borrosa.

Pel que fa a l'exposició continuada a baixes concentracions de piretroides, un estudi en humans exposats a piretroides va concloure que no es poden distingir símptomes específics provocats per la toxicitat crònica perquè no en provoca cap de concret. Més aviat es tracta de combinacions i correlacions de símptomes causats per l'efecte acumulatiu dels piretroides en el teixit nerviós com ara disfunció cerebral, problemes motors deguts a l'esclerosi múltiple o a la malaltia de Parkinson, polineuropatia o immunosupressió (Muller-Mohnssen i Hahn, 1995; Kolaczinski i Curtis, 2004). El mateix estudi suggeria la possibilitat que la toxicitat crònica dels piretroides afecti negativament la fertilitat, hipòtesi que es va confirmar per a rates a les que s'administraven petites dosis de permetrín durant un màxim de dos mesos (Issam, 2011).

Això no obstant, diferents científics van criticar aquests resultats (Moshammer, 1996), ja sigui pel disseny de l'experiment (Nasterlack i Chr Dietz, 1996) o perquè es creia que els piretroides no causaven efectes irreversibles segons els estudis dels canals de sodi (Narahashi, 1992) o que els mamífers no els bioacumulaven (Woollen, 1992).

Més recentment s'ha avaluat la toxicitat crònica del *cis*-bifentrín en dàfnia o puça d'aigua (*Daphnia magna*) i la citotoxicitat en cèl·lules d'ovari d'hàmsster xinès (*Cricetulus griseus*) i cèl·lules de carcinoma cervical d'humans (Wang, 2009). La concentració mínima amb efecte observat (LOEC) i la NOEC per a dàfnies van ser 0,02 i 0,01  $\mu\text{g l}^{-1}$ , respectivament, i el valor crònic, 0,014  $\mu\text{g l}^{-1}$ . La concentració inhibidòria del 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) per a les cèl·lules d'ovari d'hàmsster i de carcinoma d'humans van ser  $3,2 \times 10^{-5}$  i  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ , respectivament. Amb això es demostrava la toxicitat crònica del *cis*-bifentrín tant en invertebrats com en mamífers.

Un paràmetre toxicològic important per als piretroides és la composició enantiomèrica, ja que els diferents isòmers poden presentar diferent toxicitat (Zhao, 2010; Sun, 2016; Wang, 2016).

### 4.6 Legislació

No es pot utilitzar cap pesticida a la Unió Europea si no s'ha demostrat científicament que no és perjudicial per a la salut humana, que no té efectes no desitjats en el medi ambient i que és efectiu contra les plagues.

La Unió Europea regula l'ús sostenible dels pesticides per regular-ne els riscos i els impactes en la salut humana i en el medi ambient (Directiva 2009/128/EC) (EC, 2012). La directiva inclou uns punts clau sobre plans d'acció nacional, formació per als usuaris professionals i distribuïdors de pesticides, informació i conscienciació del públic, regulació d'aerosols, minimització d'ús o prohibició de pesticides, revisió dels equips i gestió integral de plagues amb limitació de productes químics.

Els pesticides deixen residus en els productes tractats. El límit màxim de residu (MRL) és la concentració més elevada d'un pesticida tolerada legalment. La Comissió Europea estableix els MRL en quantitats que són segures per als consumidors i tan baixes com és possible. Els MRL es poden consultar a la base de dades de pesticides de la Unió Europea (UE Pesticides data base) (DG-SANCO, 2008) (taules 10 i 11).

S'han definit els MRL per a uns 1.100 compostos en 315 productes frescos i per als mateixos productes processats per tenir en compte efectes de dilució o de concentració. Quan un pesticida no es menciona, s'adopta un valor per defecte de  $0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ ; valor que sol coincidir amb el límit de detecció ( $L_D$ ) (EC, 2012). L'EFSA avalua la seguretat per a tots els grups de consumidors —adults, nens, vegetarians...— basant-se en la toxicitat i les concentracions màximes de pesticides típiques en menjar de les diferents dietes europees.



**Taula 10. Límits màxims de residu per als piretroides en diferents productes**

producte	límits ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	producte	límits ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
1. fruita fresca i fruits secs	0,01-0,5	c) ovella	0,01-3
2. vegetals	0,01-2	greix	0,05-3
3. llegums	0,01-1	fetge	0,01-0,5
4. fruits i llavors oleaginosos	0,01-1	d) cabra	0,01-3
5. cereals	0,02-2	greix	0,05-3
6. te, cafè, infusions i cacau	0,01-5	fetge	0,01-0,5
7. llúpols	0,1-30	e) cavall, ase, mula	0,01-3
8. espècies	0,01-1	greix	0,05-3
9. plantes sucreres	0,01-0,5	fetge	0,01-0,5
10. productes d'animals terrestres	0,01-3	f) ocells	0,01-0,2
teixit	0,02-3	g) altres	0,01-3
a) porc	0,01-3	greix	0,01-3
greix	0,05-3	fetge	0,01-0,5
fetge	0,01-0,5	llet	0,02-0,2
b) vaca	0,01-3	ous d'ocell	0,01-0,1
greix	0,05-3	mel	0,01-0,05
fetge	0,01-0,2	amfibis i rèptils	0,01-0,05
		l·limacs	0,01-0,05
		altres	0,01-0,05

(DG-SANCO, 2008)

**Taula 11. Reglaments i entrada en vigor dels límits màxims de residu**

producte	Reglament (EU) No.	entrada en vigor
bifentrín	441/2012	14/06/2012
ciflutrín	893/2010	10/10/2010
$\lambda$ -cihalotrín	834/2013	01/09/2013
cipermetrín	520/2011	28/05/2011
cis-deltametrín	441/2012	14/06/2012
fenvalerat i esfenvalerat	839/2008	01/09/2008
fenvalerat i esfenvalerat	149/2008	01/09/2008
$\tau$ -fluvalinat	149/2008	01/09/2008
permetrín	839/2008	01/09/2008
resmetrín	149/2008	01/09/2008

(DG-SANCO, 2008)

D'altra banda, s'han establert un valors de ingesta diària admissible (IDA) i de NOAEL. Els valors d'IDA per a piretroides solen estar entre 0,02 i 0,07 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> (mg de piretroide per kg de pes del consumidor per dia) i els de NOAEL se situen entre 1 i 7 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> (OMS, 2005) (taula 12).

**Taula 12. Valors de IDA i NOAEL per a diferents piretroides**

<b>producte</b>	<b>IDA (mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>)</b>	<b>NOAEL (mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>)</b>
bifentrín	0,02	1,5
ciflutrín	0,02	2
cihalotrín	0,002	
cipermetrín	0,05	1,5
deltametrín	0,01	1
etofenprox	0,03	3,1
permetrín	0,05	5
D-fenotrín	0,07	7

(OMS, 2005)

Actualment, la legislació rellevant per als piretroides és:

- a) Reglament 283/2013/EU – Dades de les substàncies actives que s'han d'obtenir i aportar i com.
- b) Reglament 284/2013/EU – Dades dels productes fitosanitaris que s'han d'obtenir i aportar i com.
- c) Reglament 1107/2009/EC – Comercialització dels productes fitosanitaris i pel que es deroguen les directives 79/117/CEE (prohibició d'algunes substàncies actives) i 91/414/CEE (comercialització dels productes fitosanitaris).
- d) Directiva 2009/128/EC – Marc de l'actuació comunitària per a l'ús sostenible dels pesticides.

## 5 Mètodes d'anàlisi

L'anàlisi dels compostos d'aquesta tesi és complex perquè s'han de determinar a nivell de traces. La preparació de la mostra inclou patrons marcats isotòpicament i etapes per a eliminar matèria orgànica o separar les impureses. S'utilitza espectrometria de masses i es treballa en mode de monitoratge de reaccions seleccionades (SRM) amb dues transicions per compost. La més intensa s'utilitza per a quantificar i l'altra serveix de confirmació comparant la relació d'intensitats entre transicions de les mostres amb la dels patrons. Per al BDE-209 i el DBDPE es treballa en mode de monitoratge d'ions seleccionats (SIM) amb un ió per a cada compost.

### 5.1 Material

Els PBDE nadius, els HBCD ( $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ) i els  $d_{18}$ -HBCD ( $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$ ), el *sin*-DP, l'*anti*-DP i el  $^{13}\text{C}$ -*sin*-DP es compren a Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, MA, EUA). El Dec 602 (95 %), el Dec 603 (98 %) i el Dec 604 (98 %) es compren a Toronto Research Chemical Inc. (Toronto, ON, Canadà). Els patrons dels EFR (HBB, DBDPE, PBEB), els dels MeO-PBDE (5-MeO-BDE-47, 6-MeO-BDE-47, 4'-MeO-BDE-49, 2'-MeO-BDE-68, 5'-MeO-BDE-99, 5'-MeO-BDE-100, 4'-MeO-BDe-101 and 4'-MeO-BDE-103) i els  $^{13}\text{C}$ -PBDE (BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183 and BDE-209) es compren a Wellington Laboratories Inc. (Guelph, ON, Canadà).

Els patrons de piretroides (bifentrín, ciflutrín, cihalotrín, cipermetrín, deltametrín, fenvalerat, fluvalinat, permetrín, resmetrín, tetrametrín, tralometrín,  $d_6$ -*trans*-permetrín,  $d_6$ -*trans*-cipermetrín) es compren a Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemanya).

Els dissolvents (acetat d'etil, acetonitril, diclorometà i hexà) són de Sigma-Aldrich i Merck.

El material i els equips necessaris per a l'anàlisi són els següents:

- terra de diatomees d'Agilent Technologies
- cartutxos d'extracció en fase sòlida (SPE): alumina bàsica (5 g en 25 ml, d'Interchim) i C18 (2 g en 15 ml, d'Isolute)
- liofilitzadora: LyoAlfa 6-50 de Telstar
- agitador d'ultrasons
- ASE 300 Accelerated Solvent Extraction System de Dionex
- centrifugadora Centrifuge 5810 R d'Eppendorf
- evaporadors de nitrogen: TurboVap LV de Caliper i Reacti-Vap III de Pierce
- cromatògraf de gasos 7890A d'Agilent Technologies
- columna capil·lar DB-5ms (15 m  $\times$  0,25 mm, 0,1  $\mu\text{m}$  de gruix de pel·lícula) amb 5 % de poli(fenilmetilsiloxà)
- espectròmetre de masses 7000A GC/MS Triple Quad d'Agilent Technologies
- espectròmetre de masses 5975C d'Agilent Technologies

- cromatògraf de líquids: HP 1100 amb bomba binària d'Agilent Technologies
- columna Symmetry C18 (2,1 × 150 mm, 5 µm de mida de partícula) amb precolumna C18 (2,1 × 10 mm)
- espectròmetre de masses: híbrid triple quadrupol – trampa d'ions lineal (QqLIT) MSD Sciex 4000QTRAPTM d'Applied Biosystems amb ionització per electrospai (ESI)

## 5.2 Mètodes per als retardants de flama

Per a la preparació de mostres biològiques s'utilitza l'extracció optimitzada en treballs anteriors (de la Cal, 2003; Labandeira, 2007). La mostra liofilitzada (1,5 g) es dopa amb patrons interns marcats isotòpicament: 3 ng dels <sup>13</sup>C-PBDE i 3,2 ng de <sup>13</sup>C-*sin*-DP. Per al blanc es pesen 1,5 g de terra de diatomees en lloc de mostra. Després d'un dia a la nevera, es fa una extracció amb líquid pressuritzat (PLE). Per a la PLE s'utilitza una cel·la d'11 ml i s'utilitza terra de diatomees per a omplir el volum mort. S'utilitza una mescla d'hexà:diclorometà (1:1) i 2 cicles estàtics de 10 min a 100 °C i 1500 psi amb un volum de neteja de 8 ml i una purga de 90 s. Després de l'extracció es determina el contingut lipídic gravimètricament. Tot seguit es redissol l'extracte en hexà i es tracta amb àcid sulfúric concentrat per eliminar-ne la matèria orgànica. La fase orgànica restant es purifica per SPE amb un cartutx d'alúmina neutra condicionat amb 20 ml d'hexà i s'elueix amb 20 ml d'hexà:diclorometà (1:2). L'extracte s'evapora a sequedat i es reconstitueix amb 40 µl de toluè per a l'anàlisi instrumental.

Tots els compostos, excepte l'HBCD, s'analitzen per cromatografia de gasos acoblada a espectrometria de masses en tàndem (GC-MS/MS) amb l'espectròmetre de masses 7000A. El mateix extracte serveix per a totes les anàlisis. L'anàlisi de l'HBCD es fa al final i prèviament es dopa l'extracte amb 10 ng dels tres isòmers del d<sub>18</sub>-HBCD i es reconstitueix amb 40 µl de metanol.

Els PBDE, els MeO-PBDE i els EFR bromats s'analitzen alhora per ionització electrònica (EI). Les condicions instrumentals i el programa d'elució es basen en treballs anteriors (Eljarrat, 2002; Eljarrat, 2007; Barón, 2014):

- volum d'injecció: 1 µl
- temperatura de l'injector: 280 °C
- columna: columna capil·lar DB-5ms amb 5 % de poli(fenilmetilsiloxà)
- gas portador: heli a 1 ml min<sup>-1</sup>
- gradient de temperatura: 0-2 min a 140 °C, 2-19 min 140-310 °C, 19-29 min a 310 °C
- temperatura de la font d'ionització: 300 °C

El BDE-209 i el DBDPE s'analitzen amb l'espectròmetre de masses 5975C per ionització química d'ió negatiu (NICI) amb les mateixes condicions cromatogràfiques les següents condicions espectroscòpiques (Eljarrat, 2002):

- temperatura de la font d'ionització: 250 °C
- gas reactiu: amoni a  $2 \times 10^{-4}$  torr

Per als diferents PBDE en mostres biològiques, els mètodes tenen recuperacions de 57-87 %, l'interval dels  $L_D$  és 0,01-10,6 ng g<sup>-1</sup> lw i l'interval dels límits de quantificació ( $L_Q$ ) és 0,04-35,4 ng g<sup>-1</sup> lw. Per als MeO-PBDE, el mètode té recuperacions de 51-77 %, l'interval dels  $L_D$  és 0,06-3,75 ng g<sup>-1</sup> lw i l'interval dels  $L_Q$  és 0,19-12,5 ng g<sup>-1</sup> lw. Per als EFR bromats, els mètodes tenen recuperacions de 68-80 %, l'interval dels  $L_D$  és 0,18-9,66 ng g<sup>-1</sup> lw i l'interval dels  $L_Q$  és 0,19-32,2 ng g<sup>-1</sup> lw.

Per a l'anàlisi dels declarans, que s'analitzen per NICI, les condicions instrumentals i el programa d'elució es basen en treballs anteriors (Barón, 2012):

- volum d'injecció: 2 µl
- temperatura de l'injector: 300 °C
- columna: columna capil·lar DB-5ms amb 5 % de poli(fenilmetilsiloxà)
- gas portador: heli a 1 ml min<sup>-1</sup>
- gradient de temperatura: 0-2 min a 80 °C, 2-24 min 80-300 °C, 24-34 min a 300 °C
- temperatura de la font d'ionització: 175 °C
- gas reactiu: metà a  $2 \times 10^{-4}$  torr

Per als declarans en matrius biològiques, el mètode té recuperacions de 82-99 % i l'interval dels  $L_D$  és 2,3-21,1 pg g<sup>-1</sup> lw i dels  $L_Q$  és 7,7-70,0 pg g<sup>-1</sup> lw.

L'HBCD, s'analitza per cromatografia de líquids acoblada a espectrometria de masses en tàndem (LC-MS/MS). Les condicions instrumentals i el programa d'elució es basen en treballs anteriors (Guerra, 2008):

- volum d'injecció: 4 µl
- columna: Symmetry C18 amb precolumna
- eluents: aigua:metanol (3:1 v/v) (A) i metanol (B) a 0,25 ml min<sup>-1</sup>
- gradient d'elució: 0-17 min 100-10 % A, 17-20 min 10-100 % A, 20-35 min a 100 % A
- temperatura de la font d'ionització: 350 °C

Per als tres isòmeres de l'HBCD, l'interval dels  $L_D$  és 0,2-2,0 ng g<sup>-1</sup> lw i l'interval dels  $L_Q$  és 0,4-4,4 ng g<sup>-1</sup> lw.

## 5.2 Mètode per als piretroides

Se segueix la preparació de mostra d'un treball anterior (Feo, 2012). La mostra liofilitzada (0,1 g) es dopa amb 2 ng de d<sub>6</sub>-*trans*-permetrín i 1 ng de d<sub>6</sub>-*trans*-cipermetrín. Per al blanc es pesen 0,1 g de terra de diatomees en lloc de mostra. Després d'un dia a la nevera, es fa una extracció amb 20 ml d'hexà:diclorometà (2:1) mitjançant agitació per ultrasons durant 15 min i centrifugació a 3500 rpm i a temperatura ambient durant 6 min. Es retira l'extracte i es repeteix

l'extracció amb el sòlid. S'ajunten els extractes, s'evaporen a sequedat i es reconstitueixen en 30 ml d'acetonitril. Aquesta fase orgànica es purifica per SPE amb cartutxos en tàndem d'alúmina bàsica i de C18 condicionats amb 25 ml d'acetonitril i s'elueix amb 25 ml d'acetonitril. L'extracte s'evapora a sequedat i es reconstitueix amb 100 µl d'acetat d'etil per a l'anàlisi instrumental. El contingut lipídic es determina gravimètricament repetint l'extracció amb 1 g de mostra.

Les condicions per a la cromatografia de gasos i l'espectrometria de masses per NICI (Alonso, 2012b) són:

- volum d'injecció: 3 µl
- temperatura de l'injector: 270 °C
- columna: columna capil·lar DB-5ms amb 5 % de poli(fenilmetilsiloxà)
- gas portador: heli a 1 ml min<sup>-1</sup>
- gradient de temperatura: 0-1 min a 100 °C, 1-9 min 100-230 °C, 9-17 min 230-310 °C, 17-19 min a 310 °C
- temperatura de la font d'ionització: 250 °C
- gas reactiu: amoni a  $2 \times 10^{-4}$  torr

Per a mostres biològiques, el mètode té recuperacions d'entre el 53 i el 116 % per als diferents piretroides i els intervals dels  $L_D$  i els  $L_Q$  són 0,02-0,46 ng g<sup>-1</sup> lw i 0,08-1,54 ng g<sup>-1</sup> lw, respectivament.

## 6 Estudi en biota marina

### 6.1 Presència en mamífers marins

#### 6.1.1 Retardants de flama

Que els PBDE siguin persistents i que es transportin a llargues distàncies, junt amb el fet que s'alliberin al medi amb facilitat, fa que es trobin en tot tipus de matrius ambientals. Hi ha molts estudis en aquestes matrius com ara aire (Harner, 2006), sediments (Guerra, 2010b), aigua (Sánchez-Avila, 2011) i llots (Gorga, 2013). També es troben en matrius biològiques com són peixos (Eljarrat, 2004; Lacorte, 2010), ous d'ocells (Guerra, 2012) i en llet humana (Meironyté, 1999). Fins i tot s'han trobat en mostres ambientals i biota d'indrets remots com l'Àrtic, fet que en demostra el transport a llargues distàncies (de Wit, 2006). Allà són presents en el medi marí en sediments (Stern i Evans, 2003), peixos i musclos (Christensen, 2002), foques i ocells o balenes (Vorkamp, 2004; Wolkers, 2004).

A part dels PBDE, l'HBCD també s'ha detectat en llots (Gorga, 2013) en llots i en sediments (Eljarrat, 2004; Guerra, 2010a), en peixos (Eljarrat, 2004), en ous d'ocells (Guerra, 2012) i en llet humana (Eljarrat, 2009).

D'altra banda, els EFR s'han inclòs en programes de seguiment en l'última dècada i les dades més disponibles fan referència sobretot a mostres ambientals i a aigua dolça i menys a biota marina. A Irlanda i el Regne Unit es van detectar en mostres d'aliments dels anys 2006-2008 per sota del  $L_Q$  (EFSA, 2012b). En sediments del riu Llobregat del 2005 i el 2006, es van detectar el PBEB, l'HBB i el DBDPE en concentracions molt més baixes que els PBDE (Guerra, 2010b). En llots de depuradores catalanes del 2009, es va observar la mateixa tendència (Gorga, 2013).

El DBDPE, substituït del BDE-209 —o de la mescla DecaBDE—, i el mateix BDE-209 es van detectar el 2007 en aire de Suècia en el mateix rang de concentracions (Egebäck, 2012). El DBDPE i el DP també es van detectar en concentracions similars entre ells en aire dels anys 2005 i 2006 dels Grans Llacs de l'Amèrica del Nord (Venier i Hites, 2008). Finalment, un estudi en ous d'ocells del Canadà i d'Espanya dels anys 2007-2009 hi va detectar el DBDPE en els del Canadà i HBB en els dos grups (Guerra, 2012).

Tot i que s'utilitzen des dels anys seixanta, no es van publicar estudis del DP ni dels altres declorans al medi ambient fins al 2006 i el 2010, respectivament (Hoh, 2006; Sverko, 2010). El DP es va detectar en aire dels Grans Llacs. En un d'ells la concentració mitjana va ser de  $34 \pm 24 \text{ pg m}^{-3}$ , un segon llac no mostrava diferències significatives i els altres quatre tenien mitjanes per sota dels  $4 \text{ pg m}^{-3}$  (Hoh, 2006). Les concentracions de DP més elevades eren similars a les del BDE-209 per als llacs més contaminats, mentre que la resta eren inferiors (Strandberg, 2001). Els llacs amb més contaminació atmosfèrica eren els de l'est, i a l'est dels

Grans Llacs hi ha precisament la localització de la fàbrica de DP d'OxyChem. Els sediments de diferents anys de dos dels Grans Llacs mostren l'aparició del DP els anys setanta amb un pic entre el 1976 i el 1981 a  $40 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  per a un i inferior a  $7 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  per a l'altre (Hoh, 2006). Les concentracions de BDE-209 en els mateixos llacs eren de 48 i  $22 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ , respectivament (Zhu i Hites, 2005). Finalment, es va detectar el DP en peixos dels Grans Llacs en el rang de 0,14-0,91  $\text{ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Hoh, 2006).

El DP s'ha detectat també en aigua i sediments d'un riu Xinès (Hong, 2010) i en sediments de dos dels Grans Llacs (Sverko, 2007). En aire d'Espanya, a part del DP, s'han detectat Dec 602 i Dec 603 (Torre, 2010a). El Dec 602 i el Dec 603 també s'han trobat en llots de depuradores (Torre, 2010b). Pel que fa a la biota, en peixos s'hi ha vist el *sin*-DP i l'*anti*-DP, el Dec 602 i el Dec 604 (Houde, 2014). En el mateixos peixos s'hi van detectar PBDE a concentracions uns ordres de magnitud majors i els EFR bromats a concentracions similars als de clorans. En ous d'ocells de Canadà (2007-2009) i d'Espanya (2003-2006), s'hi van trobar el DP, el Dec 602, el Dec 603 i el Dec 604 (Guerra, 2011). En llet d'humans també s'hi ha detectat el DP (Siddique, 2012).

A la taula 13 es mostren les dades d'un estudi recent de retardants de flama en sediments, limandes i anguiles del mar del Nord i del riu alemany Elba que va analitzar molts dels retardants de flama inclosos en aquesta tesi, entre d'altres (Sühring, 2016). Es van observar composicions similars a les dels productes comercials en els sediments, però diferents en els peixos, com és habitual. Els EFR estaven un o dos ordres de magnitud per sota dels PBDE en biota marina, però van mostrar valors similars als PBDE, o fins i tot més elevats, en sediments.

**Taula 13. Rang de concentracions ( $\text{pg g}^{-1}$ ) de retardants de flama en biota (lw) i en sediments (dw) d'Alemanya**

compost	limanda riu Elba (n = 24)	sediment riu Elba (n = 6)	anguila mar del Nord (n = 20)	sediment mar del Nord (n = 4)
BDE28	5,4-9,4	n. d.-29	n. d.	n. d.
BDE47	45-150	n. d.-78	3480-8900	n. d.-33
BDE85	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.-205
BDE99	n. d.	n. d.	130-450	n. d.-44
BDE100	7,5-51	n. d.-26	1220-2220	n. d.
BDE153	n. d.	n. d.	180-730	n. d.
BDE154	n. d.-5,9	n. d.	260-480	n. d.
BDE-183	n. d.	n. d.	n. d.-540	n. d.
HBB	n. d.-7,5	n. d.-33	n. d.	3,4-31
PBEB	n. d.	n. d.	n. d.-29	n. d.-17
<i>sin</i> -DP	9-15	27-61	16-39	3,4-31
<i>anti</i> -DP	n. d.	n. d.-166	n. d.-20	4,7-54

(Sühring, 2016)



L'HBB es va detectar en limandes ( $0,4-15 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ) i sediments ( $24-33 \text{ pg g}^{-1} \text{ dw}$ ) del mar del Nord i el PBEB es va detectar en anguiles del riu Elba (fins a  $0,11 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ) (Sühring, 2016). En ambdues espècies el *sin*-DP era majoritari, tot i que la mescla comercial del DP conté un 65-75 % d'*anti*-DP. Això indica una ingesta o acumulació selectiva de l'isòmer *sin* ja detectada el 2011 (Sverko, 2011).

Finalment, cal recordar que en alguns casos els MeO-PBDE es detecten a concentracions similars o superiors als PBDE, per exemple en peixos d'origen marí (Losada, 2009) o cetacis (Alonso, 2014) —que estan ben amunt de la cadena alimentària— de tot el món. Tot i que també es poden trobar en concentracions uns ordres de magnitud menors que els compostos antropogènics (Lacorte, 2010). És lògic que amb el MeO-PBDE es pugui parlar ja de dades en medi marí, ja que els organismes que els produeixen viuen als mars i oceans.

Aquests compostos naturals es van detectar en bacallà de l'Àrtic i en salmó i en l'au marina somorgollaire del Bàltic i l'Atlàntic (Sinkkonen, 2004). Les concentracions totals dels MeO-triBDE i les dels els MeO-pentaBDE van ser menors de  $0,5 \text{ pg g}^{-1} \text{ lw}$ . I mentre que un isòmer MeO-tetraBDE estava per sota del  $L_D$  ( $0,2 \text{ pg g}^{-1} \text{ lw}$ ), dos altres isòmers mostraven rangs de  $14-1.210 \text{ pg g}^{-1} \text{ lw}$  i  $311-16.390 \text{ pg g}^{-1} \text{ lw}$ . Les concentracions del Bàltic i de l'Atlàntic eren similars, fet que apunta a un origen natural dels compostos, i no es van detectar en peixos de riu del sud de Finlàndia. Aquest resultat és coherent amb què els MeO-PBDE són compostos naturals produïts en medi marí que es troben en major quantitat a mesura que augmenta la distància a la costa, al contrari que passa per als PBDE antropogènics.

En les mostres de somorgollaire i salmó, les concentracions individuals de PBDE oscil·laven entre  $0,1$  i  $25 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , excepte per al BDE-47, que eren de  $7,3-275 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Sinkkonen, 2004). La contaminació pels compostos antropogènics era 3 o 4 ordres de magnitud major que la dels compostos naturals. Però també s'han detectat els MeO-PBDE en areng, foca ocel·lada, foca grisa i salmó del Bàltic en quantitats similars a les mencionats per als PBDE (Haglund, 1997; Asplund, 1999).

En aquesta tesi s'han estudiat dofins i foques, mamífers marins que ocupen posicions elevades en les cadenes tròfiques i que, per tant, haurien de presentar concentracions més grans que altres animals a causa de la bioacumulació i la biomagnificació i permetre estudiar millor la presència de COP als mars i oceans. Els individus utilitzats provenen del mar Mediterrani, de l'oceà Índic i de l'Antàrtida. La taula 14 inclou algunes dades publicades sobre PBDE en cetacis i foques principalment d'Europa, de l'oceà Índic i de l'Antàrtida.

En greix de foques del nord-est d'Anglaterra del 1998-1999, es van detectar concentracions totals de PBDE de  $223 \pm 150 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  en cadells deslletats i  $515 \pm 268 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  en adolescents (Hall, 2003).

**Taula 14. Concentracions mitjanes o rangs de PBDE en mamífers marins**

any	lloc	mamífer	mostra	concentració (ng g <sup>-1</sup> lw) <sup>a</sup>	referència
-	Països Baixos, oceà Atlàntic	dofí i foca  catxalot, rorqual, dofí i foca	greix  fetge	BDE-47 ≤ 5.556 BDE-99 ≤ 1.010 pentaBDE ≤ 1.212 BDE-47 < 815 BDE-99 < 215 pentaBDE < 164	(de Boer, 1998)
1994- 1996	Fèroe (illes)	dofí jove  dofí femella adulta dofí mascle adult	mostra composta	3.038 i 3.160  843 i 1.048  1.610	(Lindström, 1999)
1996- 2000	Regne Unit	marsopa	greix	79-7.667	(Law, 2002)
1998- 1999	Regne Unit	foca cadell foca adolescent	greix	223 ± 150 515 ± 268	(Hall, 2003)
1995- 2001	Regne Unit	dofí  zifid foca, orca, balena	greix	1.100-15.600 (100 %) (850-11.600 ww) 110-850 ww (100 %) ≤ 500 ww (100 %)	(Law, 2005)
1996- 2003	São Paulo	dofí	greix	475	(Yogui, 2011)
2000- 2001	Xina	marsopa	greix	566	(Ramu, 2005)
2002	Antàrtida	foca	fetge	1,56 ww i 14 ww	(Corsolini, 2017)
2001- 2003	Irlanda França Espanya	dofí	greix	758 615 422	(Pierce, 2008)
2003- 2008	Corea	marsopa	greix	510-890	(Park, 2010)
1994- 2009	Brasil	dofí	fetge	166 ± 298 (100 %) (6-1.797)	(Alonso, 2012a)
2004- 2006	Antàrtida	foca	greix pell fetge múscul	2,04 n. d. n. d. n. d.	(Cipro, 2012)
2006	Antàrtida	foca	greix	BDE-47 1,2 i 1,8	(Trumble, 2012)
2004- 2011	Espanya	dofí	greix	874 (100 %) (93-2.250)	(Barón, 2015b)
2012	Espanya	dofí	greix	≤ 2.338 (92 %)	(Barón, 2015a)

<sup>a</sup>S'indica amb ww quan el resultat està expressat en pes humit. S'inclou la freqüència de detecció entre parèntesis quan es possible

A Anglaterra, però, hi ha dades més elevades per a altres casos de mostres dels anys 1996-2000. En greix de marsopa d'individus trobats morts a tota la costa anglesa, el rang va ser de 79-7.667 ng g<sup>-1</sup> lw (amb una única mostra entre 60 sense contaminació detectada) (Law, 2002). En fetge de corb marí, el mateix estudi va trobar concentracions de 150-4.375 ng g<sup>-1</sup> lw (47 individus). Tot i que s'analitzaven 14 PBDE, els BDE-47, BDE-99, BDE-100 i BDE-153 eren els majoritaris i junts suposaven entre el 72 i el 100 % del sumatori de PBDE.

En marsopes canadenques, les concentracions totals de PBDE en greix se situaven entre 300 i 2.300 ng g<sup>-1</sup> lw (Ikonomou, 2000).

Un estudi holandès va analitzar animals marins trobat a la costa dels Països Baixos i a l'oceà Atlàntic. Les espècies incloses van ser catxalots, rorquals d'aleta blanca, dofins de morro blanc i foques comunes. En aquell cas, el BDE-47, el BDE-99 i altres pentaBDE en greix de dofí i de foca van arribar fins a 5.556, 1.010 i 1.212 ng g<sup>-1</sup> lw (de Boer, 1998). En tots els fetges i en el greix de les altres espècies, els valors estaven per sota de 815, 215 i 164 ng g<sup>-1</sup> lw.

En mostres compostes de caps d'olla de les illes Fèroe (entre Islàndia, Escòcia i Noruega) dels anys 1994 i 1996, els valors estaven en el mateix rang que totes les anteriors, 3.160 i 3.038 ng g<sup>-1</sup> lw per a mascles i femelles joves, 843 i 1.048 ng g<sup>-1</sup> lw per a femelles adultes i 1.610 ng g<sup>-1</sup> lw per a mascles adults (Lindström, 1999). Altra vegada, el BDE-47 i el BDE-99 suposaven aproximadament el 70 % del sumatori dels 19 PBDE analitzats.

La taula 15 mostra dades publicades de HFR i de MeO-PBDE en dofins. La informació disponible sobre retardants de flama emergents i els compostos naturals en aquests mamífers és més limitada que la dels PBDE.

**Taula 15. Concentracions mitjanes de FR (exclosos els PBDE) i MeO-PBDE en dofins**

any	lloc	teixit	compost	concentració (ng g <sup>-1</sup> lw) <sup>a</sup>	referència
1994- 2009	Brasil	fetge	DBDPE	≤ 352 (21 %)	(Alonso, 2012a)
			HBB	≤ 43 (25 %)	
			PBEB	< L <sub>Q</sub> (8 %)	
			∑MeO-PBDE	≤ 14.000 (100 %)	
2004- 2011	mar d'Alboran	greix	declorans	118 (3,9-560) (100 %)	(Barón, 2015b)
			HBB	6,4 (n. d.-8,20)	
			∑MeO-PBDE	727 (n. d.-2510)	
2012	estret de Gibraltar	greix	declorans	≤ 59 (92 %)	(Barón, 2015a)
			α-HBCD	≤ 641 (50 %)	
			∑MeO-PBDE	≤ 1966 (82 %)	

<sup>a</sup>S'inclouen el rang o la freqüència de detecció entre parèntesis quan es possible

En aquesta tesi, s'ha contribuït a ampliar les dades disponibles per a dofins. En primer lloc, es mostra un estudi en dofins de tres espècies de la regió de Sud-àfrica, a l'oceà Índic (estudi 1).

Les mostres es van obtenir gràcies al South African Institute for Aquatic Biodiversity (SAIAB) i a la Research Unit: Environmental Sciences and Management de la North-West University de Sud-àfrica. Cal destacar que és una zona on els cetacis no s'han estudiat mai i per a la que les dades de retardants de flama en general són limitades. També és el primer cop que s'analitzen els OPFR en dofins de tot el món, tot i que no són part del pla inicial d'aquesta tesi. Era una molt bona oportunitat per incloure'ls per interès científic al marge de les particularitats del present treball. L'article d'aquest estudi està en procés de redacció.

En segon lloc, es mostra un estudi en dofins ratllats del Mediterrani (estudi 2). Les mostres es van obtenir gràcies al Departament de Biologia Animal de la Universitat de Barcelona. Ells fan un seguiment de les tendències temporals de les concentracions de PCB en aquesta espècie i disposen de mostres de diferents períodes. Ens van oferir mostres recollides entre el 1990 i el 2016 i vam poder fer un estudi temporal per als retardants de flama. Els OPFR també s'hi van incloure pel mateix motiu. Les mateixes mostres es van utilitzar en la meua estada predoctoral al Ministry of the Environment (MOE) de Toronto (Canadà) de febrer a maig del 2017. Allà es va utilitzar la cromatografia de gasos bidimensional (GC×GC) i l'espectrometria de masses d'alta resolució (HRMS) per detectar compostos diferents dels que analitzem rutinàriament. Aquesta tesi s'ha centrat en uns contaminants concrets i s'ha aplicat sistemàticament la metodologia analítica corresponent. Ara bé, no se sap mai si els contaminants que es controlen són els més importants realment o n'hi ha d'altres amb presència o efectes tòxics superiors. Per això és interessant i cada cop més popular utilitzar tècniques com la GC×GC, que permet detectar nous compostos o compostos coneguts que no s'hagin tingut en compte.

Finalment, es mostra un estudi sobre l'efecte de les condicions ambientals en la bioacumulació i depuració de contaminants per part dels organismes marins (estudi 3). Aquest estudi es va fer en el marc del projecte europeu ECSafeSeaFOOD (Priority environmental contaminants in seafood: safety assessment, impact and public perception) amb la col·laboració de companys portuguesos de la Divisão de Aquacultura e Valorização (DivAV) del Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA), també del Centro Interdisciplinar De Investigação Marinha E Ambiental (CIIMAR) de la Universitat de Porto i del Centro de Ciências do Mar e do Ambiente (MARE) de la Universitat de Lisboa. Els companys de Portugal van realitzar els experiments d'exposició i depuració i el nostre grup de recerca es va encarregar de l'anàlisi de les mostres. L'estudi demostra els efectes de l'augment de temperatura i la disminució del pH, dues possibles conseqüències del canvi climàtic. Aquest estudi és només una fracció d'un altre més gran que incloïa diferents contaminants i que l'IPMA ha enviat en forma d'article a la revista *Environmental Research*.

## Halogenated and organophosphorus flame retardants on cetaceans from the Indian Ocean

Òscar Aznar-Alemany<sup>a</sup>, Berta Sala<sup>a</sup>, Stephanie Plön<sup>b</sup>, Hindrik Bouwman<sup>c</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a</sup>,  
Damià Barceló<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup>Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC); Barcelona (Spain)

<sup>b</sup>South African Institute for Aquatic Biodiversity (SAIAB); Grahamstown (South Africa)

<sup>c</sup>Research Unit: Environmental Sciences and Management, North-West University; Potchefstroom (South Africa)

<sup>d</sup>Catalan Institute for Water Research (ICRA); Girona (Spain)

### Abstract

PBDEs, HBCD, novel DBDPE, PBEB and HBB, dechloranes and OPFRs, as well as natural MeO-PBDEs were monitored in muscle of three dolphin species from the Indian Ocean (*Delphinus capensis*, *Sousa plumbea* and *Tursiops aduncus*) collected between 2012 and 2015. Mean PBDEs concentration was  $416 \pm 333 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . BDE-47 was found in all samples and was almost half the total PBDEs contamination. BDE-209, BDE-100 and BDE-99 were present in  $\geq 85\%$  of the samples. PBEB and HBB were not detected, while DBDPE was in all samples but always below its limit of quantification. Dec 602 was the only quantifiable dechlorane at  $232 \pm 549 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Mean OPFRs concentration was  $526 \pm 565 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . TBOEP was found in all samples making most of the total OPFRs contamination. MeO-PBDEs were detected in all samples at  $114 \pm 137 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  and HBCD was detected in just two samples at 20 and  $330 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ .

### 1. Introduction

Flame retardants (FRs) have been thoroughly introduced in the present thesis (chapter 3).

FRs effects on human health and the environment have been a growing concern through time. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclododecane (HBCD) are included in the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) (SC, 2008). POPs are often halogenated and have high lipid solubility, leading to their bioaccumulation in fatty tissues. The use of PBDEs and HBCD has also been restricted or banned by several European directives and regulations (REACH, 2006; HSEEE, 2011; PSWP, 2013).

New FRs act as substitutes for the banned compounds due to their health and environmental concerns (Betts, 2008). Some of them are decabromodiphenyl ethane (DBDPE), pentabromoethylbenzene (PBEB) and hexabromobenzene (HBB). DBDPE is the marketed alternative to Deca-BDE as their structures are similar; therefore their properties are also expected to be (Hardy *et al.*, 2002).

Additionally, Dechlorane Plus (DP) and dechloranes 602, 603 and 604 (Dec 602, Dec 603, Dec 604) are chlorinated alternatives to mirex, which was banned in the United States of America due to its toxicity. Research groups around the world are currently studying emerging FRs to assess their behaviour and occurrence in the environment. (Houde *et al.*, 2014; Barón *et al.*, 2015b).

A growing alternative to halogenated flame retardants (HFRs), are organophosphorus flame retardants (OPFRs). They were 20% of the amount of FRs used in 2006 in Europe — doubling brominated FRs— and the ban on PBDEs increased their popularity (Van der Veen and de Boer, 2012). OPFRs are also released from materials and access environmental matrices through washout, infiltration, deposition, etc. (Andresen *et al.*, 2004, Schreder and La Guardia, 2014). Moreover, OPFRs are used as plasticisers; so they leak from the tones of plastic that reach seas and oceans. Their presence has been reported in sediments, water and fish (Chung and Ding, 2009, Gao *et al.*,

2014, Giulivo *et al.*, 2016). OPFRs show toxic effects on the reproductive and endocrine systems, as well as systemic and carcinogenic effects (Van der Veen and de Boer, 2012, Hou *et al.*, 2016)

Finally, methoxylated PBDEs (MeO-PBDEs) are natural analogues to PBDEs that are synthesized by some marine sponges, algae and their associated cyanobacteria. They have been found in cetaceans and seafood and can be detected in marine mammals at similar levels to manufactured halogenated organic compounds (Vetter, 2006; Losada *et al.*, 2009, Alonso *et al.*, 2014).

The present study assesses the occurrence of the aforementioned compounds in three species of dolphin from the Indian Ocean, including long-beaked common dolphin (*Delphinus capensis*), Indo-Pacific humpback dolphin (*Sousa plumbea*) and Indo-Pacific bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*). It is also the first study to analyse OPFRs in dolphins.

## 2.1. Sampling

A total of 13 muscle samples of three species of dolphin were collected from individuals incidentally caught in shark nets of KwaZulu-Natal (east South Africa), in the Indian Ocean, between 2012 and 2015. The samples included two individuals of long-beaked common dolphin (*Delphinus capensis*), five individuals of Indo-Pacific humpback dolphin (*Sousa plumbea*) and six individuals of Indo-Pacific bottlenose dolphin or Indian Ocean bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*). For brevity purposes, in this article the species are going to be referred to as simply common dolphin, humpback dolphin and bottlenose dolphin. The samples contained individuals of different age groups. Age groups were assigned according to the size of the dolphins (Cockcroft and Ross, 1990; Best, 2007; Plön *et al.*, 2015). See Table 1 for details. Samples were freeze-dried prior to shipping to the analytical laboratory. Lipid content referenced to dry weight (dw) was between 0.65-11.7%.

## 2. Materials and methods

**Table 1** Sampling information and contaminant concentrations (ng g<sup>-1</sup> lw)

species	sex	maturity stage	size (cm)	ΣPBDEs	Dec 602 <sup>a</sup>	ΣMeO-PBDEs	ΣOPFRs	
common dolphin	female	adult	222	97.7	150	52.4	102	
	male	adult	239	165	n. d.	112	107	
humpback dolphin	female	calf	125	494	58.0	37.6	85.9	
		juvenile	183	244	127	64.0	202	
	male	juvenile	214	573	321	220	1266	
		adult	245	667	n. d.	132	714	
			249	33.3	49.1	23.1	176	
bottlenose dolphin	female	calf	146	563	81.8	76.8	193	
		juvenile	154	382	132	529	156	
	male	juvenile	205	264	n. d.	65.3	1597	
		juvenile	180	1309	2034	1.5	1531	
			224	189	n. d.	51.3	401	
			adult	248	424	59.5	123	310
frequency of detection (%)				100	69.2	100	100	
				$L_D^b$	0.04	0.02	0.43	0.19
				$L_Q$	0.12	0.07	1.42	1.03

<sup>a</sup>Dec 603 and *anti*-DP were detected in three samples below their  $L_Q$  (0.02 and 0.01 ng g<sup>-1</sup> lw).

<sup>b</sup> $L_D$  and  $L_Q$  of the compound with the lowest values of the group for PBDEs, MeO-PBDEs and OPFRs.

## 2.2. Standards and reagents

Native and  $^{13}\text{C}$ -labelled standards mixtures of PBDEs (BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183 and BDE-209), *syn*-DP and *anti*-DP and  $^{13}\text{C}$ - *syn*-DP were purchased from Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, MA, USA). Dec 602 (95%), Dec 603 (98%) and Dec 604 (98%) were purchased from Toronto Research Chemical Inc. (Toronto, ON, Canada). HBB, DBDPE, PBEB and the standard mixture of MeO-PBDEs (5-MeO-BDE-47, 6-MeO-BDE-47, 4'-MeO-BDE-49, 2'-MeO-BDE-68, 5'-MeO-BDE-99, 5'-MeO-BDE-100, 4'-MeO-BDE-101 and 4'-MeO-BDE-103) were bought from Wellington Laboratories Inc. (Guelph, ON, Canada). Tris(2-butoxyethyl) phosphate (TBOEP), tris(chloroethyl) phosphate (TCEP), tris(chloroisopropyl) phosphate (TCIPP), trihexyl phosphate (THP) and tris(2-ethylhexyl) phosphate (TEHP) were purchased from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA). Isodecyldiphenyl phosphate (IDPP) and 2-ethylhexyldiphenyl phosphate (EHDP) were purchased from AccuStandard (New Haven, CT, USA). Diphenylcresyl phosphate (DCP), tributyl phosphate (TBP), triphenyl phosphate (TPHP), triphenylphosphine oxide (TPPO) and tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Tricresyl phosphate (TMCP) was purchased from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Isopropyl phenyl phosphate (IPPP) was purchased from Chiron (Trondheim, Norway). Labelled  $\text{d}_{15}$ -TDCPP,  $\text{d}_{27}$ -TBP,  $\text{d}_{12}$ -TCEP and  $^{13}\text{C}_2$ -TBOEP were purchased from Wellington Laboratories Inc. (Guelph, ON, Canada). Labelled  $\text{d}_{15}$ -TPHP was obtained from Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, MA, USA). Dichloromethane (DCM), methanol and sulphuric acid were purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Acetone and hexane for organic trace analysis were purchased from J.T. Baker (Center Valley, PA, USA).

## 2.3. Sample preparation

The extraction of OPFRs from mussels was carried out by ultrasound assisted extraction according to an existing method (Giulivo *et al.*, 2016). Freeze-dried mussel (0.5 g) was extracted by sonication with hexane:acetone (1:1) twice. The combined extract was reconstituted in 5 ml of hexane:methanol (1:3). The solution was centrifuged and an aliquot of 200  $\mu\text{l}$  was used for the instrumental analysis. Purification was performed on-line at the beginning of the instrumental analysis. Labelled OPFRs standards were added prior to analysis by turbulent flow chromatography coupled to LC-MS/MS (TFC-LC-MS/MS), correcting the possible fluctuations of the analytical instrument.

For all the other compounds, sample extraction was carried out as explained in section 5.2 of the present thesis.

## 2.4. Instrumental analysis

For OPFRs, online sample purification and analysis was performed with a Thermo Scientific TurboFlow™ system (Giulivo *et al.*, 2016). Cyclone™-P (0.5  $\times$  50 mm) and C18-XL (0.5  $\times$  50 mm) columns were used in combination for purification. Chromatographic separation was achieved with an analytical column Purosphere Star RP-18 (125 mm  $\times$  0.2 mm). Mobile phase was a gradient of water (0.1% formic acid) and methanol (0.1% formic acid) at 0.75  $\text{ml min}^{-1}$ . Spectrometric analysis was performed with a triple quadrupole with a heated-electrospray ionization source. LC flow rate was 5  $\mu\text{l min}^{-1}$ , ion transfer tube temperature was 320 °C and vaporizer temperature was 50 °C. For all compounds selective reaction monitoring (SRM) mode was used with two transitions monitored for each one. Recoveries for individual compounds ranged 47-98% and RSDs were 2.4-16%.  $L_Q$  and  $L_D$  were, respectively, 0.97-24.8  $\text{ng g}^{-1}$  lipid weight (lw) and 0.19-19.3  $\text{ng g}^{-1}$  lw.

For all the other FRs, the extracts were analysed as explained in section 5.2 of the present thesis.

### 2.5. Statistical analysis

A t-test was used for the statistical analysis taking  $p < 0.05$  as the criterion for statistical difference. In box plots figures, outliers (x) were calculated as values above  $Q3 + 1.5IQR$  and below  $Q1 - 1.5IQR$  ( $Q3$  = third quartile,  $IQR$  = interquartile range,  $Q1$  = first quartile). For all means and standard deviations (SD), concentrations below LOQ were given the LOD value and concentrations below LOD were considered to be 10% of the LOD.

## 3. Results and discussion

See Table 1 for results. Mean PBDEs concentration was  $416 \pm 333 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . BDE-47 was found in all samples and was almost half the total PBDEs contamination ( $42 \pm 16 \%$ ). BDE-209, BDE-100 and BDE-99 were present in 100, 92 and 85% of the samples, respectively, representing an average 20, 9 and 19% of the PBDEs contamination. BDE-183 was not detected.

Published data about flame retardants in dolphins from the Indian Ocean is very scarce. Total PBDEs in blubber of Indo-Pacific humpback dolphin (*Sousa chinensis*, 1992) and Irrawaddy dolphin (*Orcaella brevirostris*, 2000-2001) from India were always below  $20 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Kannan *et al.*, 2005; Kajiwara *et al.*, 2006). One could expect PBDE levels on the Asian coast to be highest than on the African coast. Conversely, these levels were much lower than ours. On the other hand, they were different species. Similarities could be found, though, as BDE-47, BDE-99 and BDE-100 were detected in all the samples and accounted for 66, 16 and 9% of the total PBDEs contamination. BDE-209 was not analysed in those studies. Some studies from the last two decades on different dolphin species showed mean concentrations values between  $420$  and  $880 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in Europe, with the highest values at  $2340 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Pierce *et al.*, 2008; Barón *et al.*, 2015a, 2015b) and of

$166 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in Brasil, ranging from 6 to  $1800 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Alonso *et al.*, 2012). These results seem to be similar to the ones of the present study.

Looking at the also limited environmental samples from South Africa, sewage sludge and effluent samples of a wastewater treatment plant in Cape Town (west South Africa) showed levels of the same sum of congeners of  $400 \pm 490 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  and  $5100 \pm 6900 \text{ ng l}^{-1}$ , respectively, with BDE-47 and BDE-209 as the main contributors (Daso *et al.*, 2012). Sludge from wastewater treatment plants from 26 cities in China were reported to have a mean of  $94 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  ( $5.1\text{-}1115 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ ), including five PBDE congeners more (Wang *et al.*, 2007). On the other side, sediments and leachate from Gauteng, closer to KwaZulu-Natal, showed maximum PBDEs concentrations of  $114 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  and  $3.7 \text{ ng l}^{-1}$  (Olukunle *et al.*, 2015). In short, a lack of published information on PBDEs in South Africa makes it hard to comment on the high levels in the present study. However, some of the available data on environmental samples show high levels, suggesting high environmental contamination in the area, which would explain the results for the dolphins.

HBCD was detected in just two juvenile dolphins;  $\alpha$ -HBCD in a female humpback dolphin ( $20.7 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ) and  $\beta$ - and  $\gamma$ -HBCD in a male bottlenose dolphin ( $173$  and  $158 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ).

PBEB and HBB were not detected, while DBDPE was in all samples but always below its  $L_Q$ ,  $0.26 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . As DBDPE is the marketed alternative to Deca-BDE (97-98% of BDE-209), it seems logical to detect the presence of DBDPE in modern samples where BDE-209 accounts for 20% of the total PBDEs.

Dec 602 was the only quantifiable dechlorane at  $232 \pm 549 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Dec 602 has a higher bioaccumulation potential than other dechloranes (Shen *et al.*, 2011). Dec 603 was detected in one adult common dolphin and *anti*-DP was found in both adult common dolphins and an adult humpback dolphin, both compounds below their  $L_Q$ . It must be noted,



however, that other species of dolphins from the Mediterranean Sea had total dechloranes levels in blubber below  $60 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Barón *et al.*, 2015a).

Possible explanations for high levels of HFRs would be atmospheric transportation, air-water exchange and deposition. Asia has been reported as a source of marine pollution for HFRs with a stress on BDE-209 and the shift to alternative FRs (Möller *et al.*, 2011). Another reason could be the city of Durban as a local source. PBDE levels in dust collected in Durban in 2012 and 2013 reached concentrations of  $27,530 \text{ ng g}^{-1}$  in e-waste recycling sites samples and of  $11,833 \text{ ng g}^{-1}$  in automobile samples (Abafe and Martincigh, 2015, 2016).

Mean OPFRs concentration was  $526 \pm 565 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . TBOEP was found in all samples making most of the total OPFRs contamination. TPPO and TDCPP were detected in 53.8% of the samples, generally below  $1.0 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . IPPP, TEHP, TBP, EHDP and TMCP were detected in one to three samples at concentrations up to  $90 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ; except for IPPP and TEHP in a juvenile male bottlenose dolphin with 880 and  $279 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , respectively. Since there is no published data on OPFRs in marine mammals, there are no reference values to compare with. However, it is important to note that OPFRs were at concentrations similar to PBDEs (*t*-test  $t = 0.63$ ,  $df = 22$ ,  $p > 0.1$ ) and higher than dechloranes ( $t = 2.49$ ,  $df = 22$ ,  $p < 0.05$ ). This draws the attention to further monitoring of these compounds.

As for the natural compounds, MeO-PBDEs showed in all the samples with a mean concentration of  $114 \pm 137 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . These levels are similar to those found in other species of dolphin from Tanzania,  $65 \pm 43 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Rayne *et al.*, 2004; Mwevura *et al.*, 2010). Moreover, these compounds are in the dolphins in the same order of magnitude as the other compounds, including the analogous PBDEs. Sharing levels with a POP of similar structure

and properties is a good reason to consider these natural compounds in routine monitoring.

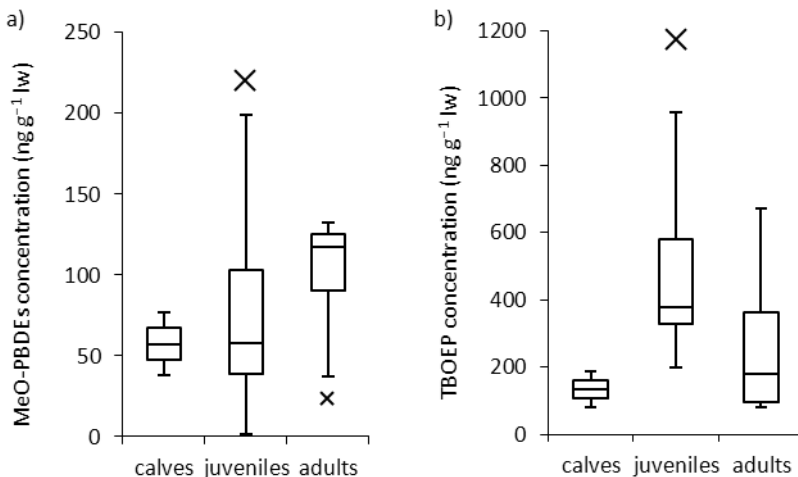
This study was conducted with individuals that were found stranded on shore. Thus, the number of samples, the species, the sex and the maturity stage of the dolphins were impossible to control. POPs levels should show a characteristic trend during dolphins' lifetime. Males should show increasing levels with age, as POPs are bioaccumulated. Females would show a decrease after giving birth because of the mother-to-calf transfer.

With the present samples, no differences between species could be assessed statistically for any family of compounds, except for MeO-PBDEs. The concentration of the natural compounds increased from juvenile to adult male dolphins ( $t = 4.19$ ,  $df = 4$ ,  $p < 0.05$ , Figure 1a). Female dolphins were excluded in case they had reproduced and transferred their contamination to their calves.

Additionally, although OPFRs did not show differences between maturity stages, some congeners (e.g. TBOEP) can be metabolised and they would not follow the increasing pattern with age, but their levels could decrease even in male individuals (Van den Eede *et al.*, 2013; Greaves *et al.*, 2016). TBOEP levels showed a statistically significant increase from calves to male juveniles ( $t = 2.66$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0.05$ , Figure 1b). However, this trend did not follow into adulthood, when levels seem slightly lower, probably due to the metabolism of this congener.

#### 4. Conclusions

PBDEs and dechloranes (only Dec 602) were found in dolphins from the eastern coast of South Africa at levels as high as in more industrialised areas, such as Europe ( $416 \pm 333 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  and  $232 \pm 549 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ). BDE-47, as well as BDE-209, BDE-100 and BDE-99, dominated the PBDE profiles. However, reports about FRs in biota and environmental samples from South Africa are scarce and that region should be further studied to see if these



**Figure 1** Box plots of MeO-PBDEs and TBOEP concentrations for all maturity stages. Juveniles and adults include only males. Outliers marked (x)

levels are the consequence of a high local contamination or if they are an isolated case influenced by the small number of samples or the variations between individuals.

DBDPE was the only brominated alternative FR detected in the samples, but always below 0.26 ng g<sup>-1</sup> lw. HBCD was detected in just two samples. Mean OPFRs concentration was 526 ± 565 ng g<sup>-1</sup> lw. TBOEP was found in all samples making most of the total OPFRs contamination, but showing that adult dolphins might be metabolising it successfully as the clear bioaccumulation trend from calves to juveniles seemed to stop in the adult age.

Finally, the natural MeO-PBDEs showed outstanding levels for a compound that is analogue to a family of POPs. Especially because they were the one group of compounds that showed statistically significant bioaccumulation through the dolphins' life even with such a reduced group of samples.

### Acknowledgments

This work has been financially supported by the Generalitat de Catalunya (Consolidated Research Group 2014 SGR 418 – Water and Soil Quality Unit). Biotage is acknowledged for

providing SPE cartridges. The samples were provided by the co-authors from South Africa.

### References

- Abafe, O. A., Martincigh, B. S. 2015. An assessment of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in the indoor dust of e-waste recycling facilities in South Africa: implications for occupational exposure. *Environmental Science and Pollution Research*. 22, 14078-14086. Doi 10.1007/s11356-015-4627-z
- Abafe, O. A., Martincigh, B. S. 2016. Determination and human exposure assessment of polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A in indoor dust in South Africa. *Environmental Science and Pollution Research*. 23, 7038-7049. Doi 10.1007/s11356-015-6031-0
- Alonso, M. B., Azevedo, A. *et al.* 2014. Anthropogenic (PBDE) and naturally-produced (MeO-PBDE) brominated compounds in cetaceans - A review. *Sci. Total Environ*. 481, 619-634. Doi 10.1016/j.scitotenv2014.02.022
- Alonso, M. B., Eljarrat, E. *et al.* 2012. Natural and anthropogenically-produced brominated compounds in endemic dolphins from Western South Atlantic: Another risk to a vulnerable species. *Environmental Pollution*. 170, 152-160. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.06.001>
- Andresen, J. A., Grundmann, A., Bester, K. 2004. Organophosphorus flame retardants and plasticisers in surface waters. *Sci. Total Environ*. 332, 155-166. Doi <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.04.021>
- Barón, E., Giménez, J. *et al.* 2015a. Bioaccumulation and biomagnification of classical flame retardants, related halogenated natural compounds and alternative flame retardants in three delphinids from Southern European

- waters. *Environmental Pollution*. 203, 107-115. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.041>
- Barón, E., Hauler, C. *et al.* 2015b. Halogenated natural products in dolphins: Brain-blubber distribution and comparison with halogenated flame retardants. *Environ. Sci. Technol.* 49, 9073-9083. Doi 10.1021/acs.est.5b02736
- Best, P. B. 2007. *Whales and Dolphins of the Southern African Subregion*. Cambridge University Press, Cape Town (South Africa), pp. 338.
- Betts, K. S. 2008. New thinking on flame retardants. *Environ. Health Perspect.* 116, A210-A213.
- Calzada, N., Aguilar, A. *et al.*, 1997. Patterns of growth and physical maturity in the western Mediterranean striped dolphin, *Stenella coeruleoalba* (Cetacea: Odontoceti). *Can. J. Zoology-Revue Can. De Zoologie* 75, 632e637.
- Cockcroft, V. G., Ross, G. J. B. 1990. Age, growth and reproduction of bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the east coast of southern Africa. *Fishery Bulletin*. 88, 289-302.
- Chung, H.-W., Ding, W.-H. 2009. Determination of organophosphate flame retardants in sediments by microwave-assisted extraction and gas chromatography-mass spectrometry with electron impact and chemical ionization. *Anal. Bioanal. Chem.* 395, 2325-2334. Doi 10.1007/s00216-009-3139-4
- Daso, A. P., Fatoki, O. S. *et al.* 2012. Occurrence of selected polybrominated diphenyl ethers and 2,2',4,4',5,5'-hexabromobiphenyl (BB-153) in sewage sludge and effluent samples of a wastewater-treatment plant in Cape Town, South Africa. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 62, 391-402. Doi 10.1007/s00244-011-9720-9
- Gao, Z., Deng, Y. *et al.* 2014. Determination of organophosphorus flame retardants in fish by pressurized liquid extraction using aqueous solutions and solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-flame photometric detector. *J. Chromatogr. A*. 1366, 31-37. Doi <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.09.028>
- Giulivo, M., Capri *et al.* 2016. Analysis of organophosphorus flame retardants in environmental and biotic matrices using on-line turbulent flow chromatography-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 1474, 71-78. Doi <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.10.042>
- Greaves, A. K., Su, G., Letcher, R. J. 2016. Environmentally relevant organophosphate triesters in herring gulls: In vitro biotransformation and kinetics and diester metabolite formation using a hepatic microsomal assay. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 308, 59-65. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2016.08.007>
- Hardy, M. L., Margitich, D. *et al.* 2002. The subchronic oral toxicity of ethane, 1,2-bis(pentabromophenyl) (Saytex 8010) in rats. *International Journal of Toxicology*. 21, 165-170. Doi doi:10.1080/10915810290096298
- Hou, R., Xu, Y., Wang, Z. 2016. Review of OPFRs in animals and humans: Absorption, bioaccumulation, metabolism, and internal exposure research. *Chemosphere*. 153, 78-90. Doi <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.003>
- Houde, M., Berryman, D. *et al.* 2014. Novel brominated flame retardants and dechloranes in three fish species from the St. Lawrence River, Canada. *Sci. Total Environ.* 479, 48-56. Doi 10.1016/j.scitotenv.2014.01.105
- HSEEE. Directive 2011/65/EU of the European Parliament and of the Council of 8 June 2011 on the restriction of the use of certain hazardous substances in electrical and electronic equipment Text with EEA relevance [online]. (2011). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX:32011L0065>> [accessed: July 2017].
- Kajiwar, N., Kamikawa, S. *et al.* 2006. Geographical distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in small cetaceans from Asian waters. *Chemosphere*. 64, 287-295. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.013>
- Kannan, K., Ramu, K. *et al.* 2005. Organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in Irrawaddy dolphins from India. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 49, 415-420. Doi 10.1007/s00244-005-7078-6
- Möller, A., Xie, Z. *et al.* 2011. Polybrominated diphenyl ethers vs alternate brominated flame retardants and dechloranes from East Asia to the Arctic. *Environmental Science & Technology*. 45, 6793-6799. Doi 10.1021/es201850n
- Mwevura, H., Amir, O. A. *et al.* 2010. Organohalogen compounds in blubber of Indo-Pacific bottlenose dolphin (*Tursiops aduncus*) and spinner dolphin (*Stenella longirostris*) from Zanzibar, Tanzania. *Environmental Pollution*. 158, 2200-2207. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.027>
- Losada, S., Roach, A. *et al.* 2009. Biomagnification of anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in a marine food web from Sydney Harbour, Australia. *Environ. Int.* 35, 1142-1149. Doi 10.1016/j.envint.2009.07.008
- Olukunle, O. I., Sibiyi, I. V. *et al.* 2015. Influence of physicochemical and chemical parameters on polybrominated diphenyl ethers in selected landfill leachates, sediments and river sediments from Gauteng, South Africa. *Environmental Science and Pollution Research*. 22, 2145-2154. Doi 10.1007/s11356-014-3443-1
- Pierce, G. J., Santos, M. B. *et al.* 2008. Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: Geographical trends, causal factors and effects on reproduction and mortality. *Environmental Pollution*. 153, 401-415. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.08.019>
- Plön, S., Cockcroft, V. G., Froneman, W. P. 2015. The Natural History and Conservation of Indian Ocean Humpback Dolphins (*Sousa plumbea*) in South African Waters. *Advances in Marine Biology*. 72, 143-162. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/bs.amb.2015.08.005>

## 6.1 Presència en mamífers marins

### Estudi 1

- PSWP. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy [online]. (2013). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32013L0039>> [accessed: April 2016].
- Rayne, S., Ikonou, M. G. *et al.* 2004. PBDEs, PBBs, and PCNs in three communities of free-ranging killer whales (*Orcinus orca*) from the northeastern Pacific Ocean. *Environmental Science & Technology*. 38, 4293-4299. Doi 10.1021/es0495011
- REACH. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC [online]. (2006). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32006R1907>> [accessed: August 2015].
- SC. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. (2008). <<http://chm.pops.int/>> [accessed: August 2017].
- Schreder, E. D., La Guardia, M. J. 2014. Flame retardant transfers from U.S. households (dust and laundry wastewater) to the aquatic environment. *Environmental Science & Technology*. 48, 11575-11583. Doi 10.1021/es502227h
- Shen, L., Reiner, E. J. *et al.* 2011. Historic trends of dechloranes 602, 603, 604, Dechlorane Plus and other norbornene derivatives and their bioaccumulation potential in Lake Ontario. *Environmental Science & Technology*. 45, 3333-3340. Doi 10.1021/es104328r
- Van den Eede, N., Maho, W. *et al.* 2013. First insights in the metabolism of phosphate flame retardants and plasticizers using human liver fractions. *Toxicology Letters*. 223, 9-15. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.08.012>
- Van der Veen, I., de Boer, J. 2012. Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere*. 88, 1119-1153. Doi <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.067>
- Vetter, W. 2006. Marine halogenated natural products of environmental relevance. In: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 188. Springer, New York, pp. 1-57. Doi 10.1007/978-0-387-32964-2\_1
- Wang, Y., Zhang, Q. *et al.* 2007. Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine pesticides in sewage sludge of wastewater treatment plants in China. *Chemosphere*. 68, 1683-1691. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.03.060>

## Flame retardants' temporal trends and non-targeted halogenated contaminants in striped dolphins from the Mediterranean Sea

Òscar Aznar-Alemanya<sup>a</sup>, Berta Sala<sup>a</sup>, Karl J. Jobst<sup>b</sup>, Eric J. Reiner<sup>b</sup>, Assumpció Borrell<sup>c</sup>, Àlex Aguilar<sup>c</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a</sup>, Damià Barceló<sup>a,e</sup>

<sup>a</sup>Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC); Barcelona (Spain)

<sup>b</sup>Ontario Ministry of the Environment (MOE); Toronto, (Canada)

<sup>c</sup>Departament de Biologia Animal, Universitat de Barcelona; Barcelona (Spain)

<sup>e</sup>Catalan Institute for Water Research (ICRA); Girona (Spain)

### Abstract

PBDEs, HBCD, novel DBDPE, PBEB and HBB, dechloranes and OPFRs, as well as natural MeO-PBDEs were monitored in muscle of striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea collected in three time periods between 1990 and 2016. Mean PBDEs levels were stable through time at  $4016 \pm 2827 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Most PBDEs were found in all the samples, with BDE-47 as the main contributor. BDE-99 and BDE-154 and secondly BDE-100 and BDE-153 were big contributors too. In five of the 15 samples,  $\alpha$ -HBCD was detected. PBEB and HBB were not detected, while DBDPE was in all samples but always below its limit of quantification. Dec 602 was the main dechlorane at  $27.2 \pm 36.6 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Mean OPFRs concentration was  $483 \pm 741 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . TBOEP was found in all but one sample making most of the total OPFRs contamination. Only dechloranes and OPFRs seemed to experience some increase in their levels with time. Polychlorinated terphenyls (PCTs), polychlorinated diphenyl ethers (PCDEs) and some compound related to dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) are the likely proposals for non-targeted compounds found in almost all the samples.

### 1. Introduction

Halogenated flame retardants (HFRs) have been thoroughly introduced in the present thesis (chapter 3). Organophosphorus flame retardants (OPFRs) have also been introduced in the previous study (thesis section 6.1.1).

FRs effects on human health and the environment have been a growing concern through time. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclododecane (HBCD) are included in the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) as well as in other European directives and regulations (REACH, 2006; SC, 2008; HSEEE, 2011; PSWP, 2013). POPs are often halogenated and have high lipid solubility, leading to their bioaccumulation in fatty tissues. The gradual restriction and ban of these compounds should eventually translate into a decrease in the environmental levels of said POPs. A study reported a 4.5 % annual decrease in the levels of

PBDEs over the last decade in Canadian fish and sediments (ECCC, 2016).

New FRs act as substitutes for the banned compounds. Some of them are decabromodiphenyl ethane (DBDPE), pentabromoethylbenzene (PBEB) and hexabromobenzene (HBB). Dechlorane Plus (DP) and dechloranes 602, 603 and 604 (Dec 602, Dec 603, Dec 604) are chlorinated alternatives to mirex, which was banned in the United States. A growing alternative to halogenated flame retardants (HFRs), are organophosphorus flame retardants (OPFRs). They were 20 % of the amount of FRs used in 2006 in Europe, doubling brominated FRs (Van der Veen and de Boer, 2012).

As the use of these alternatives has not been banned so far, the trend for the presence of these compounds in the environment might differ from the declining trend expected for their predecessors.

Finally, methoxylated PBDEs (MeO-PBDEs) are natural analogues to PBDEs that are synthesized by some marine sponges, algae and their associated cyanobacteria (Vetter, 2006). The fact that MeO-PBDEs are natural compounds might result in a completely different pattern over time.

On the other hand, most of the approximately 100,000 chemicals used in commerce and industry have not been investigated for possible deleterious effects to the environment and human health. It is a challenge to detect, identify and quantify environmental contaminants that are not routinely analysed or regulated (Howard and Muir, 2010).

Mass defect plots enable efficient characterisation of compounds in complex environmental samples. Kendrick realised that replacing the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) mass scale ( $C = 12.000\text{ Da}$ ) with the Kendrick scale ( $\text{CH}_2 = 14.000\text{ Da}$ ), organic ions belonging to homologous series had the same mass defect (Kendrick, 1963). For example, the exact Kendrick masses of methyl, ethyl and propyl naphthalene are 141.9195, 155.9195 and 169.9195 Da. Kendrick mass is calculated by applying a 14/12.01565 factor to IUPAC mass. The Kendrick mass defect plot represents the Kendrick mass defect of each mass spectral peak (y axis) against the nominal mass (x axis) (Hughey, 2001). This visualisation allows for easier identification of compounds as each homologous series appears as a band in a specific region of the plot. Additionally, in a mass defect plot, isotope patterns, like those of bromine and chlorine, are easily recognized.

This study assesses the occurrence of the aforementioned compounds in striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea. Along with the previous study of this thesis, it is the first time that OPFRs in dolphins are analysed. A preliminary search for non-targeted halogenated contaminants was also performed.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Sampling

Dorsal muscle samples were collected from 15 striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) that were found stranded on the Catalan coast, in the Mediterranean Sea. The samples were collected in three different periods, including five samples from 1990, five samples from 2007-2008 and five samples from 2014-2016. All individuals were adult males ranging from 185 to 211 cm of length (Calzada *et al.* 1997).

Samples were kept frozen at  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  and were freeze-dried prior to analysis. Lipid content referenced to dry weight (dw) was between 2.0-10.7%. See Table 1 for details.

### 2.2. Standards and reagents

Information about standards and reagents can be found in the same section of the previous study in section 6.1.1 of the present thesis.

### 2.3. Sample preparation

Regarding routine analysis, the extraction of OPFRs was carried out as explained in the previous study in section 6.1.1 of the present thesis. For all the other compounds, sample extraction was carried out as explained in section 5.2 of the present thesis.

For the non-target analysis 1 g of sample was used. The extraction was carried out with a Buchi SpeedExtractor E-914/E-916 using hexane:dichloromethane (1:1) in two cycles of 20 min at  $100\text{ }^\circ\text{C}$ . The extracts were re-dissolved in hexane before undergoing a solid phase extraction (SPE) using acidic alumina cartridges and eluting with hexane:dichloromethane (1:2). Extracts were evaporated to incipient dryness and reconstituted with toluene to a final volume of 600  $\mu\text{l}$  prior to the instrumental analysis.

### 2.4. Instrumental analysis

The analysis of OPFRs was carried out as explained in the previous study in section 6.1.1 of the present thesis. For all the other compounds, the extracts were analysed as explained in section 5.2 of the present thesis.

**Table 1** Sampling information and contaminant concentrations (ng g<sup>-1</sup> lw)

year	size (cm)	fat of dry (%)	∑PBDEs	∑Decs	α-HBCD	∑MeO-PBDEs	∑OPFRs
1990	191	3.7	3600	13.3	n. d.	45.6	1870
1990	197	3.7	2990	15.1	n. d.	71.4	41.7
1990	200	4.8	4140	18.4	244	35.7	33.5
1990	210	2.0	5800	-	n. d.	40.1	114
1990	211	10.7	2300	6.07	n. d.	16.7	42.8
		mean	3766	13.2	48.8	41.9	420
		SD (%)	1328	5.21	109	19.8	811
2007	185	3.9	1550	8.43	n. d.	15.8	36.1
2007	198	5.6	10700	20.4	4430	263	1750
2007	210	3.2	3520	43.1	n. d.	71.9	91.4
2008	194	3.9	2490	14.1	n. d.	19.2	86.9
2008	204	4.7	4450	32.4	n. d.	55.7	291
		mean	4542	23.7	886	85.1	451
		SD (%)	3610	14.0	1981	102	733
2014	204	7.0	3950	7.37	2280	16.0	3820
2015	204	8.2	1350	8.77	n. d.	11.0	7.99
2015	205	3.8	9460	43.5	384	110	335
2015	210	2.7	3070	144.3	n. d.	59.4	2060
2016	198	8.6	4420	32.0	375	32.8	107
		mean	4450	47.2	608	45.8	1266
		SD (%)	3036	56.4	954	40.5	1654
		frequency of detection	100	100	33.3	100	100
		L <sub>D</sub> <sup>a</sup>	0.04	0.002	0.1	0.43	0.19
		L <sub>Q</sub>	0.12	0.008	0.2	1.42	1.03

<sup>a</sup>L<sub>D</sub> and L<sub>Q</sub> of the compound with the lowest values of the group for PBDEs, Decs, MeO-PBDEs and OPFRs.

### 2.5. Non-target analysis

GC × GC/HRQTOFMS analysis was performed with an Agilent 7890B gas chromatograph (Agilent Technologies, CA, USA) fitted with a Zoex ZX2 GC × GC thermal modulator (Zoex, TX, USA) and interfaced to a WatersXevo G2-XS quadrupole time-of-flight mass spectrometer (Waters Corporation, MA, USA). The first-dimension column was an Rtx-5 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm film) followed by a Restek Siltek deactivated guard column (1 m × 0.15 mm) in the modulator loop. The second-dimension column was a Rtx-17 SIL (1 m × 0.15 mm × 0.15 μm film) and was placed in a secondary oven. The secondary column was then connected to a Custom MXT tubing (sulfinert treated, 0.8 m × 0.18 mm), which was inserted into the transfer line. Helium was used

as the carrier gas, and the flow was 1.5 ml min<sup>-1</sup>. The injector temperature was 280 °C. The initial oven temperature was held at 40 °C for 1 min, and then ramped at 3 °C min<sup>-1</sup> to 310 °C and held for 10 min. The secondary oven was at 10 °C offset, relative to the primary oven. The modulator was at a 15 °C offset relative to the primary oven and the modulation period was of 4 s. The transfer line was at 340 °C. The cone gas flow rate was 100 l hr<sup>-1</sup> and the auxiliary gas flow was 150 l hr<sup>-1</sup>. The source temperature was 150 °C, with the detector run in TOF mode using an acquisition range of 50–1200 amu with an acquisition rate of 30 Hz. The mass spectrometer was operated at a resolving power of > 20,000 (FWHM). Data processing was conducted using GC Image HRMS R2.5 (Zoex).

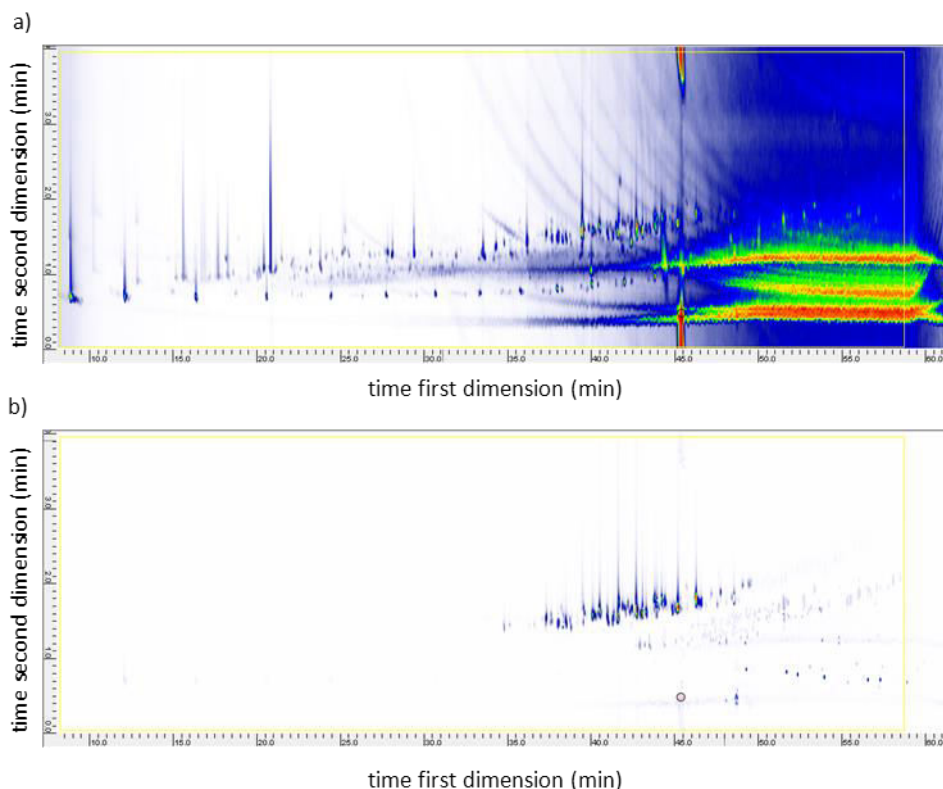
The H/Cl mass scale, which is defined by the substitution of a hydrogen atom by a chlorine atom being equal to 34.000Da, was used in this study (Taguchi, 2010). H/Cl mass is calculated by applying a 34/33.96102 factor to IUPAC mass. The H/Cl mass defect plot enables the efficient and comprehensive characterisation of halogenated compounds (Jobst, 2013).

The signals of the mass defect plot that did not belong to a homologous series included in the routine analysis were selected. Although PCBs are not included in this thesis, they are routinely analysed at the Ministry of Environment (MOE), Toronto (ON, Canada), where the identification was performed, thus not counted as unknown compounds.

The ions with the exact masses of the mass defect plot were extracted from the corresponding TIC (Figure 1) of the specific samples. The mass spectra was interpreted and the number of oxygen, nitrogen or sulphur atoms limited to a maximum of five.

### 2.6. Statistical analysis

A t-test was used for the statistical analysis taking  $p < 0.05$  as the criterion for statistical difference. In box plots figures, outliers (x) were calculated as values above  $Q3 + 1.5IQR$  and below  $Q1 - 1.5IQR$  ( $Q3$  = third quartile,  $IQR$  = interquartile range,  $Q1$  = first quartile). For all means and standard deviations (SD), concentrations below LOQ were given the LOD value and concentrations below LOD were considered to be 10% of the LOD.



**Figure 1** GCxGC-HRMS chromatograms: (a) total ion chromatogram (TIC) and (b) selected ion



### 3. Results and discussion

#### 3.1. Levels and temporal trends

PBDEs levels were stable through time at a general mean of  $4016 \pm 2827 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Six of the eight PBDE congeners analysed were found in all the samples. The other two were BDE-153 (93.3%) and BDE-183 (66.7%), still with high frequencies of detection. BDE-47 was the main contributor to the PBDEs profile ( $\approx 40\%$ ) and BDE-99 and BDE-154 ( $\approx 20\%$  each) were big contributors too.

Despite data about an annual decrease of PBDEs concentrations in Canada over the last decade (ECCC, 2016), no temporal trend was observed for these samples (Figure 2). Dolphins from the three periods analysed had levels ranging from 1350 to  $5800 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , with two outliers at 9460 and  $10700 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Maybe the difference between Canadian sediments and fish and the Mediterranean dolphins is the biomagnification that can take place in cetacean, which are high in the food web. On the other hand, our study only counted with five dolphins from each period and there are also variations between individuals. These two factors make the task of detecting temporal trends harder than when using fish or sediment, which are more available and show smaller variability.

In five of the 15 samples,  $\alpha$ -HBCD was detected ranging from 244 to  $4425 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Those dolphins were sampled in 1990, 2007, 2014, 2015 and 2016 and no temporal trend could be seen.

On the other hand, just as no decrease in the concentrations of PBDEs or HBCD was observed, no increase was detected for brominated emerging FRs. PBEB and HBB were not detected and DBDPE was always below its  $L_Q$  despite being detected in all individuals.

Conversely, concentrations of dechloranes and OPFRs and seem to be shifting to higher levels. The box plots in Figure 2 suggest a slow gradual growth on the levels of dechloranes throughout the three periods, with maximum

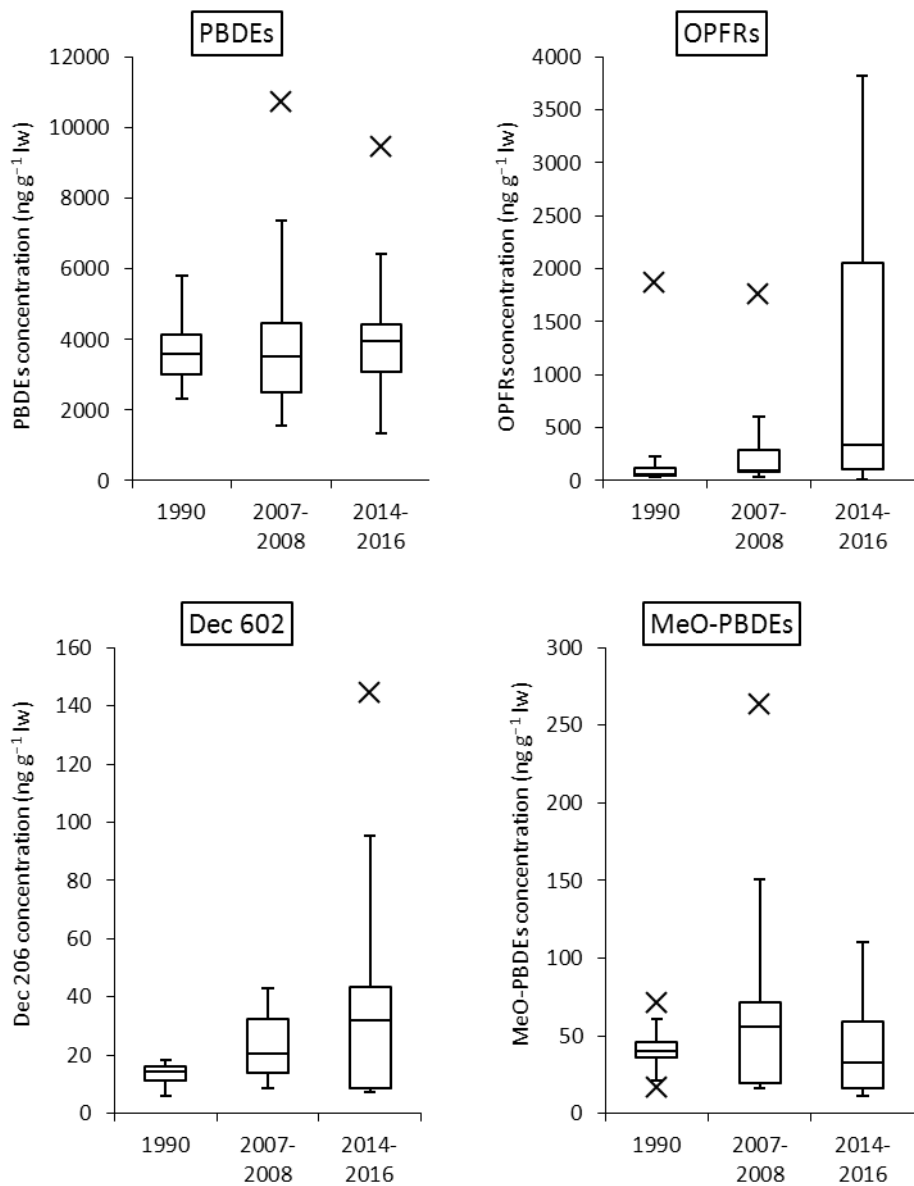
concentrations going from  $18.4 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in 1990 to  $144 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in 2015. OPFRs appear to have a more sudden growth between samples from 2007 and 2014 of over  $2000 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . This makes sense as in 2006 they already doubled the amount of PBDEs used in Europe (Van der Veen and de Boer, 2012) and in 2009 the Stockholm Convention started including PBDEs.

Dec 602 was the main dechlorane at  $27.2 \pm 36.6 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . In dolphins from 1990, Dec 603 was detected only below its  $L_Q$  ( $0.02 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ) in two samples, Dec 604 was found in one sample at  $7.21 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  and *anti*-DP was found in two samples at 9.57 and  $3.57 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . *Anti*-DP was also detected in a sample from 2008, but below its  $L_Q$  ( $0.008 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ). Only Dec 602 was found in dolphins from 2014-2016.

Mean OPFRs concentration was  $483 \pm 741 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . TBOEP was found in all but two samples making almost half of the total OPFRs contamination. EHDP and TBP showed much higher concentrations than TBOEP, up to  $3820 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , in a couple of samples from 2014-2016. However, that is not enough to talk about a change on OPFRs profiles yet. IDPP, THP and TEHP were not detected in any sample; TPHP, DCP and TMCP showed some value around  $30 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  for a couple of samples and the other OPFRs were mostly below their  $L_Q$ .

Finally, MeO-PBDEs also showed stable levels through time, as expected, since they are natural compounds independent from human activity (Figure 2). Agreeing with the most occurring congeners in previous studies (Alonso *et al.*, 2012; Barón *et al.*, 2015a,b), 2-MBDE-68, 6-MBDE-47 and 5-MBDE-100 were the three detected. Their mean concentrations and frequencies of detection were  $47.7 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  and 100%,  $4.5 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  and 87% and  $5.8 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  and 53%, respectively.

Dolphins from the same and different species sampled from the south of Spain between 2004 and 2012 showed levels of PBDEs, dechloranes and HBCD in the same range as in our dolphins from those periods (Barón *et al.*, 2015a,b).



**Figure 2** Box plots of concentrations for contaminants in dolphin muscle from all periods

### 3.2. Non-target analysis

Three groups of dots showing chlorine isotope patterns and separated 35 mass units from each other showed in most samples' mass defect plots (Figure 3, Table 2).

Compound A was present in all but two samples. With  $C_{18}H_{14-x}Cl_x$  ( $x = 5-7$ ) as a formula, it might be some polychlorinated terphenyls (PCTs). PCTs are extremely similar to PCBs, regarding their properties and toxic potential (Jensen and Jørgensen, 1983). For some reason, few publication address the occurrence of PCTs in the Mediterranean Sea. They were detected in shellfish collected between 1989 and 1991

from the Catalan coast in levers lower than PCBs' (Galcerán *et al.*, 1993a,b).

Compound B was present in one or two samples of each period. A likely formula for compound B would be  $C_{14}H_{12-x}Cl_x$  ( $x = 5-8$ ). This might be a higher chlorinated form of dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) or some related compound. DDTs have regularly been found in striped dolphins sampled between 1992 and 2009 from the western Mediterranean Sea in several studies (Borrel and Aguilar, 2005; Waffo *et al.*, 2005, 2012).

Compound C was detected in three or four samples from each period. The interpretation of the spectra suggested the formula  $C_{12}H_{10-x}OCl_x$

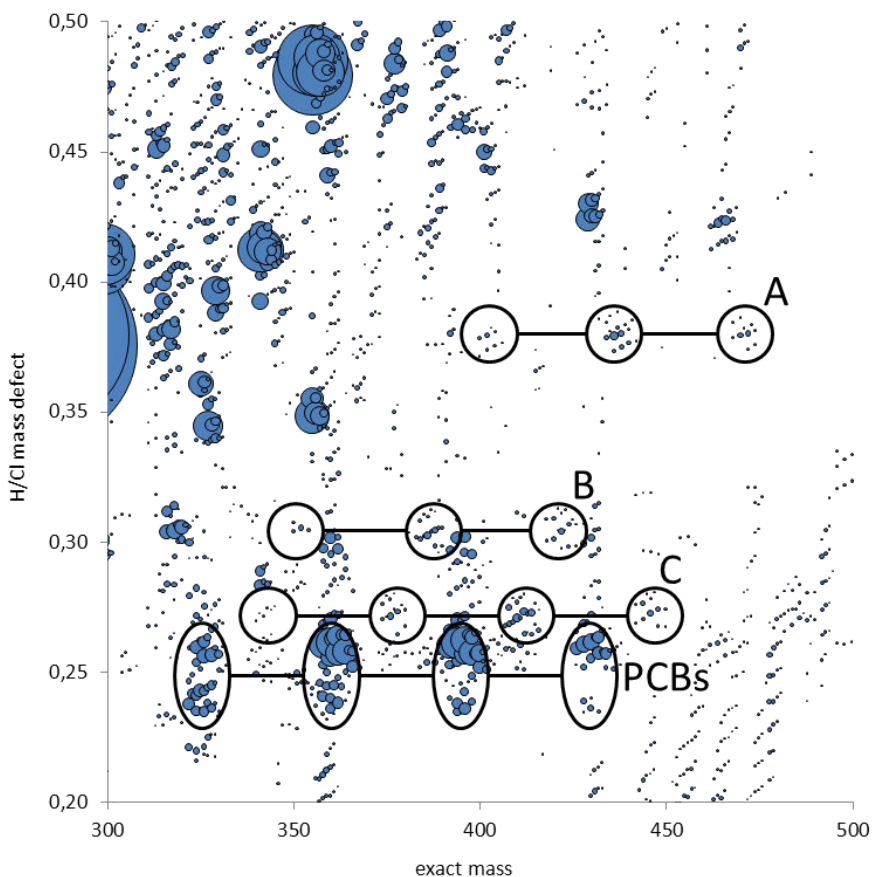


Figure 3 H/Cl mass defect plot of a sample. A, B, C are unknown compounds

**Table 2** Sampling information and contaminant concentrations ( $\text{ng g}^{-1} \text{lw}$ )

compound	mass defect	masses	occurrence	proposed formula	possible compound
A	0,38	400	13/15	$\text{C}_{18}\text{H}_{14-x}\text{Cl}_x$ ( $x = 5-7$ )	polychlorinated terphenyls (PCTs)
		435			
		470			
B	0,30	353	5/15	$\text{C}_{14}\text{H}_{12-x}\text{Cl}_x$ ( $x = 5-8$ )	related to dichlorodipenyldichloroethylene (DDE)
		386			
		421			
C	0,27	341	11/15	$\text{C}_{12}\text{H}_{10-x}\text{OCl}_x$ ( $x = 4-8$ )	polychlorinated diphenyl ethers (PCDEs)
		376			
		411			
		446			

( $x = 4-8$ ). That was most probably some polychlorinated diphenyl ether (PCDE). Despite their connection with PCBs and PBDEs, PCDEs are not as well documented as the others (Becker *et al.*, 1991; Domingo, 2006). They do not seem to be documented in the Mediterranean Sea yet.

The three proposals for these compounds are also supported by the fact that the homologous series they would belong to have been reported to show in the same area of the H/Cl mass defect plot where they showed (Jobst, 2013).

The next step on this study, not possible during the time of the present thesis, will be to obtain the standards of the proposed compounds to test our hypothesis. After verification and if compounds A and C are effectively PCTs and PCDEs, it would be interesting to try and quantify them as there is a lack of information on them regarding the Mediterranean Sea and they were present in 87 and 73 % of the samples including all periods.

#### 4. Conclusions

PBDEs were found in all dolphins collected in three periods between 1990 and 2016 from the Catalan coast, western Mediterranean Sea. PBDE levels were constant through time at  $4016 \pm 2827 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , with all eight congeners analysed present. Despite most PBDE formulations having been banned for almost a

decade, the persistence of these POPs and the bioaccumulation because of the position of dolphins in the food web might make the expected decline in levels slower than that reported in fish. On the other hand,  $\alpha$ -HBCD was found in only five samples, but at the same levels as the dominant BDE-47.

DBDPE was the only brominated emerging FR detected, but below its  $L_Q$  despite being detected in all individuals. Dec 602 and the sum of OPFRs showed some increase, but a greater time gap is still needed to observe statistically significant changes.

The naturally occurring MeO-PBDEs showed concentrations of  $57.7 \pm 63.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  with no differences among time periods.

The non-target analysis of halogenated compounds suggested the presence of PCTs, PCDEs and some compound related to DDTs. Although the latter have been regularly documented in Mediterranean striped dolphin, PCTs and PCDEs are not. In fact, they are hardly documented in samples from the Mediterranean Sea. This study is to be continued with the verification of the proposed compounds. Were PCTs and PCDEs confirmed, valuable new data could be obtained on their stable occurrence through time in the Mediterranean Sea.

## Acknowledgments

This work has been financially supported by the Generalitat de Catalunya (Consolidated Research Group 2014 SGR 418 – Water and Soil Quality Unit). Biotage is acknowledged for providing SPE cartridges. The samples were provided by the Departament de Biologia Animal, Universitat de Barcelona.

## References

- Alonso, M. B., Eljarrat, E. *et al.* 2012. Natural and anthropogenically-produced brominated compounds in endemic dolphins from Western South Atlantic: Another risk to a vulnerable species. *Environmental Pollution*. 170, 152-160. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.06.001>
- Barón, E., Giménez, J. *et al.* 2015. Bioaccumulation and biomagnification of classical flame retardants, related halogenated natural compounds and alternative flame retardants in three delphinids from Southern European waters. *Environmental Pollution*. 203, 107-115. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.041>
- Barón, E., Hauler, C. *et al.* 2015. Halogenated natural products in dolphins: Brain-blubber distribution and comparison with halogenated flame retardants. *Environmental Science and Technology*. 49, 9073-9083. Doi [10.1021/acs.est.5b02736](http://dx.doi.org/10.1021/acs.est.5b02736)
- Becker, M., Phillips, T., Safe, S. 1991. Polychlorinated diphenyl ethers—A review. *Toxicological and environmental chemistry*. 33, 189-200.
- Borrell, A., Aguilar, A. 2005. Differences in DDT and PCB residues between common and striped dolphins from the southwestern Mediterranean. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 48, 501-508. Doi [10.1007/s00244-004-0039-7](http://dx.doi.org/10.1007/s00244-004-0039-7)
- Domingo, J. L. 2006. Polychlorinated diphenyl ethers (PCDEs): Environmental levels, toxicity and human exposure. *Environment International*. 32, 121-127. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2005.05.021>
- ECCC. Environment and Climate Change Canada. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in fish and sediment. (2016). <<https://www.ec.gc.ca/indicateurs-indicators/default.asp?lang=en&n=0970C75C-1>> [accessed: June 2017].
- Galcerán, M. T., Santos, F. J. *et al.* 1993a. Environmental analysis of polychlorinated terphenyls: distribution in shellfish from the Ebro Delta (Mediterranean). *Journal of Chromatography A*. 643, 399-408. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)80576-T](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9673(93)80576-T)
- Galcerán, M. T., Santos, F. J. *et al.* 1993b. PCBs and chlorinated pesticides in shellfish of a deltaic environment. *Chemosphere*. 27, 1183-1200. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90166-3](http://dx.doi.org/10.1016/0045-6535(93)90166-3)
- Howard, P. H., Muir, D. C. G. 2010. Identifying new persistent and bioaccumulative organics among chemicals in commerce. *Environmental Science & Technology*. 44, 2277-2285. Doi [10.1021/es903383a](http://dx.doi.org/10.1021/es903383a)
- HSEEE. Directive 2011/65/EU of the European Parliament and of the Council of 8 June 2011 on the restriction of the use of certain hazardous substances in electrical and electronic equipment Text with EEA relevance [online]. (2011). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/TXT/?uri=CELEX:32011L0065>> [accessed: July 2017].
- Hughey, C. A., Hendrickson, C. L. *et al.* 2001. Kendrick mass defect spectrum: A compact visual analysis for ultrahigh-resolution broadband mass spectra. *Analytical Chemistry*. 73, 4676-4681. Doi [10.1021/ac1010560w](http://dx.doi.org/10.1021/ac1010560w)
- Jensen, A. A., Jørgensen, K. F. 1983. Polychlorinated terphenyls (PCTs) use, levels and biological effects. *Science of the Total Environment*. 27, 231-250. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697\(83\)90156-0](http://dx.doi.org/10.1016/0048-9697(83)90156-0)
- Jobst, K. J., Shen, L. *et al.* 2013. The use of mass defect plots for the identification of (novel) halogenated contaminants in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 405, 3289-3297. Doi [10.1007/s00216-013-6735-2](http://dx.doi.org/10.1007/s00216-013-6735-2)
- Kendrick, E. 1963. A mass scale based on CH<sub>2</sub> = 14.0000 for high resolution mass spectrometry of organic compounds. *Analytical Chemistry*. 35, 2146-2154. Doi [10.1021/ac60206a048](http://dx.doi.org/10.1021/ac60206a048)
- PSWP. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy [online]. (2013). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32013L0039>> [accessed: abril 2016].
- REACH. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC [online]. (2006). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32006R1907>> [accessed: agost 2015].
- SC. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. (2008). <<http://chm.pops.int/>> [accessed: August 2017].
- Taguchi, V. Y., Nieckarz, R. J. *et al.* 2010. Dioxin analysis by gas chromatography-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (GC-FTICRMS). *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 21, 1918-1921. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.jasms.2010.07.010>
- Van der Veen, I., de Boer, J. 2012. Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere*. 88, 1119-

## 6.1 Presència en mamífers marins

### Estudi 2

1153.

Doi

<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.067>

Vetter, W. 2006. Marine halogenated natural products of environmental relevance. In: Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 188. Springer, New York, pp. 1-57. Doi 10.1007/978-0-387-32964-2\_1

Wafo, E., Risoul, V. *et al.* 2012. PCBs and DDTs in *Stenella coeruleoalba* dolphins from the French Mediterranean coastal environment (2007–2009): Current state of contamination. *Marine Pollution Bulletin*. 64, 2535-2541. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.034>

Wafo, E., Sarrazin, L. *et al.* 2005. Accumulation and distribution of organochlorines (PCBs and DDTs) in various organs of *Stenella coeruleoalba* and a *Tursiops truncatus* from Mediterranean littoral environment (France). *Science of the Total Environment*. 348, 115-127. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.12.078>

## Assessing the effects of seawater temperature and pH on the bioaccumulation of dechloranes: a pilot study using marine bivalves

Òscar Aznar-Alemanya<sup>a</sup>, Ana Luísa Maulvault<sup>b,c,d</sup>, Carolina Camacho<sup>a</sup>, Vera Barbosa<sup>b</sup>, Ricardo Alves<sup>b</sup>, Patricia Anacleto<sup>b,c,d</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a</sup>, Damià Barceló<sup>a,e</sup>, António Marques<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC); Barcelona (Spain)

<sup>b</sup>Division of Aquaculture and Upgrading (DivAV), Portuguese Institute for the Sea and Atmosphere (IPMA, I.P.); Lisbon (Portugal)

<sup>c</sup>Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR), University of Porto; Porto (Portugal)

<sup>d</sup>Marine and Environmental Sciences Centre (MARE), University of Lisbon; Lisbon (Portugal)

<sup>e</sup>Catalan Institute for Water Research (ICRA); Girona (Spain)

### Abstract

Emerging contaminants that have not been historically regarded as pollutants or as toxicological hazards are increasingly more present in the marine environment. Additionally, the effects of environmental conditions (e.g. temperature and pH) on bioaccumulation and elimination of these emerging contaminants in marine biota have been poorly studied. This study assessed for the first time the effect of warmer seawater temperatures ( $\Delta = +4^\circ\text{C}$ ) and lower pH levels ( $\Delta = -0.4$  pH units), alone and combined, on the bioaccumulation and elimination of Dec 602, 603 and 604 in estuarine bivalve species *Ruditapes philippinarum*. Warming alone or combined with acidification promoted the bioaccumulation of Dec 602 and 604. Lower pH also resulted in higher levels of dechloranes. Bivalves' capacity to accumulate contaminants when altered temperature is combined with lower pH may be time-dependent, as drastic increase was observed with Dec 602 during the last 10 days of exposure when compared to reference conditions.

### 1. Introduction

The increase of the human footprint on the planet, especially since mid-20<sup>th</sup> century, has contributed to one of the greatest current environmental concerns: climate change. Climate change effects are visible and expected to worsen in the near future (IPCC, 2014). Such changes also affect marine ecosystems, leading to a potential increase of the average seawater surface temperature up to  $+4^\circ\text{C}$  and ocean acidification dropping seawater pH down 0.4 units in some areas of the globe (IPCC, 2014). These two effects can act independently, promoting alterations in marine species' metabolism, growth or reproduction among others. They can also occur combined with each other or with other climate stressors (e.g. hypoxia, salinity) presenting additional challenges to the resilience of marine

ecosystems (Rosa *et al.*, 2016; Sampaio *et al.*, 2017).

Marine species are currently chronically surrounded by chemical contaminants, particularly those inhabiting areas that are more vulnerable to anthropogenic impacts, such as estuaries and coastal lagoons (Bollman *et al.*, 2012; Maulvault *et al.*, 2015). Substances that in the past have not been considered pollutants or of which limited toxicological information is available, such as dechloranes, are increasingly more present in the marine environment (Feo *et al.*, 2012; Marques *et al.*, 2015; Van der Meersch *et al.*, 2015).

Climate change is likely to have an impact on substances' physicochemical properties and their partitioning among biological compartments (Noyes *et al.*, 2009). By altering species' physiological status and exacerbating many forms of water pollution, climate change

can also promote deleterious impacts on marine organisms (Maulvault *et al.*, 2017; Sampaio *et al.*, 2017). On the other hand, changes in contaminants' uptake, retention and detoxification rates may compromise seafood safety, raising concerns about public health (Marques *et al.*, 2010).

This study aimed at assessing, for the first time, the effect of temperature ( $\Delta = +4^\circ\text{C}$ ) and pH ( $\Delta = -0.4$  pH units), alone and combined, on the bioaccumulation and elimination of dechloranes 602, 603 and 604 in estuarine bivalve species *Ruditapes philippinarum* as biological model. This species were a suitable bioindicator of environmental pollution, as (a) they are filter-feeding and benthic organisms, thus potentially accumulating high levels of contaminants and reaching concentrations several orders of magnitude above the surrounding levels (Maulvault *et al.*, 2015) and (b) they are among the most commercially important seafood species, wild and farmed, with high consumption in Europe, thus enabling to establish a link with seafood safety.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental design

#### 2.1.1. Feed preparation

Exposure was performed through contaminated feed, taking into account the hydrophobic behaviour of dechloranes (Feo *et al.*, 2012), that are more commonly detected in marine sediments instead of water and can potentially be biomagnified along the food chain.

Bivalve powder feed (particle size:  $40\ \mu\text{m}$ ) was manufactured by SPAROS Lda (Olhão, Portugal). The feed was composed by 72.4% crude protein and 12.1% crude fat. Dechlorane stock solutions were prepared to achieve a nominal concentration in feed of  $50\ \text{ng g}^{-1}$  (about 100 times the average concentrations found in marine sediments of contaminated coastal areas (Feo *et al.*, 2012)) to ensure clear bioaccumulation and elimination patterns in the

experiment. A non-contaminated feed with the same composition was used during the elimination phase. As shown in Table 1, compound stabilization difficulties occurred in feed preparation for Dec 602 and Dec 604, possibly due to contaminant adsorption on the equipments used for feed preparation. These differences in dechloranes' concentrations were taken into account when analysing data.

**Table1** Concentrations in contaminated feed

compound	nominal concentration	real concentration
Dec 602	$50\ \text{ng g}^{-1}\ \text{lw}$	$10.0 \pm 0.4\ \text{ng g}^{-1}\ \text{lw}$
Dec 603	$50\ \text{ng g}^{-1}\ \text{lw}$	$50.0 \pm 2.0\ \text{ng g}^{-1}\ \text{lw}$
Dec 604	$50\ \text{ng g}^{-1}\ \text{lw}$	$1.0 \pm 0.1\ \text{ng g}^{-1}\ \text{lw}$

#### 2.1.2. Animal collection and acclimation

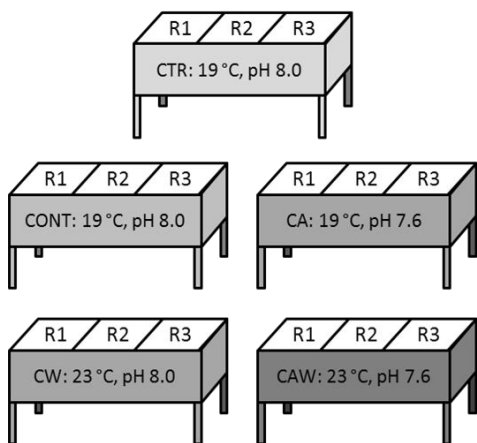
Bivalve specimens ( $n=1100$ , *Ruditapes philippinarum*) with similar dimensions were collected from the Tagus estuary (Lisbon, Portugal) in May 2015 and transported in refrigerated boxes to Guia Marine Laboratory (Faculty of Sciences, University of Lisbon, Portugal). In the laboratory, bivalves were randomly and equitably distributed in different glass tanks (70l of capacity; 3 tanks per treatment) of a recirculation aquaculture system. Each tank had independent functioning, with temperature and pH being set and adjusted whenever needed by means of an automatic seawater refrigeration system for temperature and by injecting  $\text{CO}_2$  or by  $\text{CO}_2$ -filtered aeration for pH. All tanks were equipped with UV disinfection (Vecton 300, TMC Iberia, Portugal) and biological filtration (FSBF 1500, TMC Iberia, Portugal) to maintain seawater quality parameters.

Bivalves were acclimated for 7 days at dissolved oxygen  $>5\ \text{mg l}^{-1}$ ,  $19 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 8.00 \pm 0.05$ , salinity  $= 35 \pm 1\ \text{‰}$  and photoperiod of 12 hours light and 12 hours dark. Ammonia, nitrite and nitrate levels were daily checked and kept below detectable levels ( $2.0\ \text{mg l}^{-1}$  for nitrates and  $0.02\ \text{mg l}^{-1}$  for the others). Seawater alkalinity was also measured



on a weekly basis. Bivalves were fed at least three times a day with non-contaminated feed (maintenance diet). Animal condition was checked daily, dead animals were removed and 25% of the total water volume in each incubation tank was changed.

During the four days before initiating exposure, seawater temperature and pH were slowly adjusted to the target values in the corresponding tanks: +1°C and -0.1 pH per day. The experimental setup is schematized in Figure 1, and comprised 5 treatments with three replicates: (a) CTR (control, non-contaminated, 19°C and 8.0 pH units), (b) CONT (contaminated, 19°C and 8.0 pH units), (c) CA (contaminated and acid, 19°C and 7.6 pH units), (d) CW (contaminated and warm, 23°C and 8.0 pH units) and (e) CAW (contaminated and acid and warm, 23°C and 7.6 pH units).



**Figure 1** Experimental setup. R = replicate, CTR = control, CONT = contaminated, CA = contaminated and acid, CW = contaminated and warm, CAW = contaminated and acid and warm

### 2.1.3. Exposure and elimination

During exposure, bivalves from each treatment were daily fed (contaminated or not) 2% of the average animals body weight (bw) divided in at least 3 times a day for a period of 20 days. For the elimination phase, another 20 days, only non-contaminated feed was used.

Seawater's physical-chemical parameters were daily checked and adjusted whenever needed as previously described. No mortality was observed. Thirty animals ( $n=10$  per replicate treatment) were randomly sampled from each treatment on days 0, 2, 10, 20 (exposure), 22, 30 and 40 (elimination). Bivalves' biometric data, e.g. size and weight, were registered. Then, edible tissues were collected, pooled ( $n=3$  pools per treatment, per sampling day), freeze-dried and kept at -80 °C until analysis.

### 2.2. Analysis of dechloranes

Analysis was carried out as explained in section 5.2 of the present thesis.

### 2.3. Accumulation and elimination indexes

The net accumulation rate for each contaminant at each sampling day (NAR;  $\text{ng g}^{-1}$  of  $\text{dw day}^{-1}$ ) was determined using the equation (Santana *et al.*, 2017):

$$\text{NAR}_t = \frac{[\text{cont}_t] - [\text{cont}_0]}{t}$$

where [cont] is the average contaminant concentration in bivalve tissues after  $t$  days of exposure.

The percentage of contaminant lost during elimination, the elimination factor (EF), was calculated according to the equation (Jebali *et al.*, 2014):

$$\text{EF} = 100 - \left( \frac{[\text{cont}_t]}{[\text{cont}_{20}]} \times 100 \right)$$

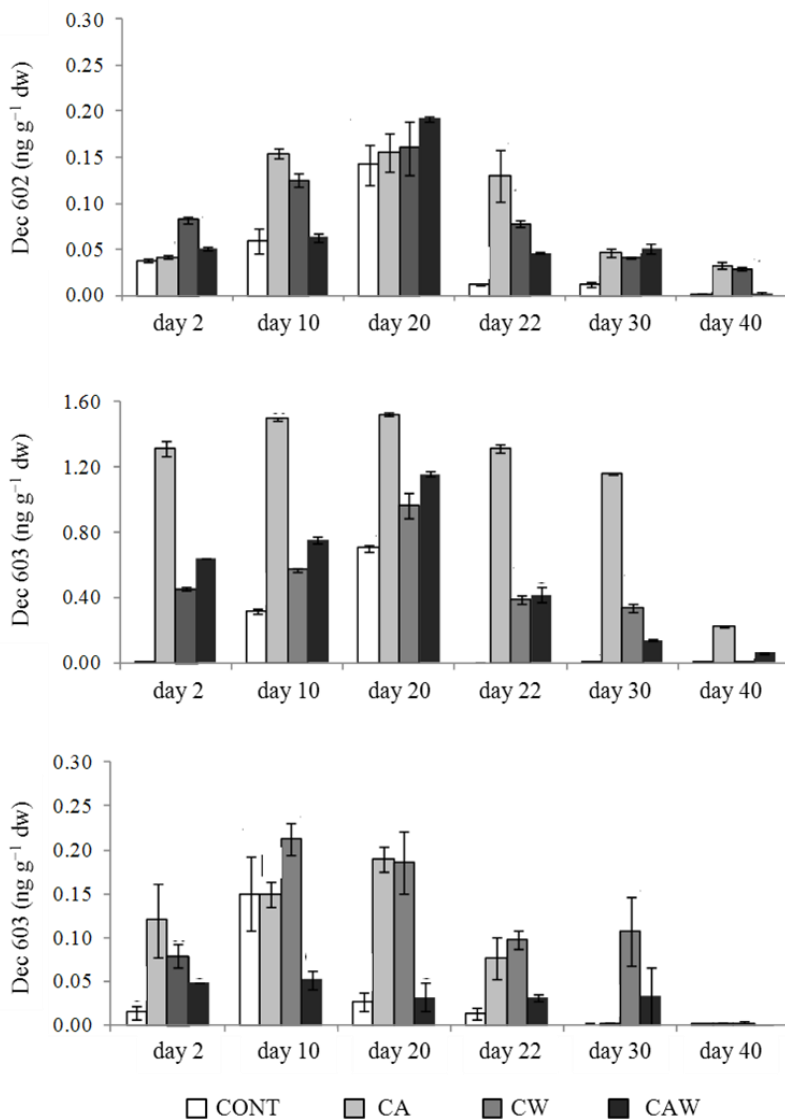
EF was considered to be 0 if  $[\text{cont}_t]$  was higher than  $[\text{cont}_{20}]$ .

## 3. Results and discussion

Dec 602, 603 and 604 were not detected in seawater (CTR and CONT treatments) or in bivalve samples collected in CTR treatment, thus contaminant did not leach from feed to seawater and there was no source of contamination apart from the feed. Figure 2 shows the concentrations of dechloranes in clams' meat during the experiment. Table 2 shows the NARs and EFs.

**Table 2** Average net accumulation rates (NAR,  $\text{ng g}^{-1} \text{dw day}^{-1}$ ) after 20 days of exposure and elimination factors (EF, %) after 20 days of depuration

treatment	Dec 602		Dec 603		Dec 604	
	NAR	EF	NAR	EF	NAR	EF
CONT	0.007	99.3	0.035	99.9	0.001	100
CA	0.007	78.7	0.076	85.2	0.010	98.6
CW	0.008	81.5	0.048	99.9	0.009	99.0
CAW	0.010	99.2	0.058	94.6	0.002	99.7



**Figure 2** Concentrations in bivalves samples from each contaminated treatment during the 40 days

Warmer temperatures increased Dec 602's concentration, straight from the second day of exposure, reaching the maximum concentration  $0.19 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  ( $\text{NAR} = 0.010 \text{ ng g}^{-1} \text{ day}^{-1}$ ) in treatment CAW after 20 days of exposure. A reduction was observed immediately after 2 days of depuration (day 22) in all treatments. Yet, acidification acting alone (treatment CA) resulted in the lowest EF for this compound after 20 days of elimination (78%, Table 2).

For Dec 603, lower pH levels, alone or combined with temperature, promoted higher concentrations in clams during the exposure phase ( $\text{CA} > 1.20 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$  and  $\text{CAW} > 0.60 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ ) as well as during depuration. Such trend resulted in higher NARs and lower EFs in treatments CA and CAW than in CONT and CW (Table 2). Warming alone also led to higher levels of Dec 603 at the end of the exposure and until day 30 compared to treatment CONT.

During the 20 days of exposure, Dec 604 revealed higher levels in bivalves subjected to warming and acidification acting alone, but not combined (Figure 2, Table 2). Despite the higher concentrations of Dec 604 in the treatment CW at days 22 and 30, by the end of the depuration period the percentages of elimination of this compound were similar among treatments (Table 2).

The higher concentrations of Dec 603 compared to Decs 602 and 604 found in clams' edible tissues during the exposure phase can be partially attributed to the lower daily exposures of Dec 602 ( $\approx 1/5$ ) and even lower for Dec 604 ( $\approx 1/50$ ) compared to Dec 603, due to the considerable loss of these compounds during feed preparation (Table 1), as previously mentioned. Differences in dechloranes' bioaccumulation can also be related to distinct bioavailability of each compound, as it has been reported in wild biota, with Dec 602 being often found in marine species at higher levels compared to other congeners (Feo *et al.*, 2012).

As for the effects of temperature and pH, there is a lack of empirical studies focusing on

the bioaccumulation and toxicity of emerging contaminants to compare with the findings of this pilot study. Still, the different trends observed in bivalves exposed to warmer and more acid seawater in this study highlighted the need to consider the interactions between multiple stressors when assessing the potential environmental risks of emerging contaminants' exposure, especially in the context of climate change.

By enhancing biota's metabolism, thus increasing species ventilation and feeding rates in response to higher metabolic demands (Dijkstra *et al.* 2013), warmer temperatures can likely translate into higher contaminant bioaccumulation and increased contaminant metabolism and excretion (Sampaio *et al.* 2016). Such metabolic enhancement may justify the increased bioaccumulation of some compounds under warmer temperatures, particularly those with long half-lives, such as dechloranes, which are more likely to build up their concentrations in tissues under continuous exposure conditions due to their lipophilic behaviour and low elimination rates (Shen *et al.*, 2010). Furthermore, animal growth should also be taken into account when interpreting contaminants' bioaccumulation in warmer environments, as increased feeding rates to support enhanced metabolic demands can also result in greater growth, leading to reduced contaminant bioaccumulation through somatic growth dilution (Dijkstra *et al.* 2013). However, particularly in CA and CAW treatments, the opposite trend was observed for dechloranes' as growth positively correlated with NARs.

Concerning the effect of acidification, as observed in Decs 603 and 604, increased contaminant bioaccumulation has also been reported in some studies due to metabolic changes under hypercapnia (Rosa *et al.*, 2016; Sampaio *et al.*, 2016, 2017), as well as damages in tissues' apical epithelial membrane that facilitate contaminant penetration into cells (Sampaio *et al.*, 2016, 2017).

Regarding the combination of pH and temperature, the different patterns compared to those observed when the stressors acted in isolation ( $t=20$ , Dec 604, CA and CW higher than CAW) emphasized the importance of considering the interactions between different abiotic stressors in studies focused on bioaccumulation kinetics.

A link can also be established between the increased bioaccumulation and the impaired detoxification of dechloranes under warmer temperatures and lower pH. This suggests that human exposure to dechloranes through the consumption of seafood may increase. Such findings can be of particular concern, considering the fact that marine bivalves are important food resources from the economical and nutritional point of view, being among the most frequently consumed seafood species worldwide (FAO, 2016).

#### 4. Conclusions

As clearly evidenced in this preliminary study, temperature and pH can strongly affect the bioaccumulation and elimination patterns of chemical contaminants in marine organisms. These results provide new insights on emerging contaminants' kinetics in bivalves maintained at higher temperatures and lower pH, and the potential human health risks associated to their consumption in the future. It also highlights the need to understand how multiple environmental stressors interact with each other.

Future research should take into consideration regional trends (e.g. abiotic factors, pollution levels, diversity of contaminants) when addressing the expected effects of climate change on the kinetics of emerging contaminants, as the alterations of environmental conditions will affect marine ecosystems differently across the planet. Also, as environmental stressors will unlikely occur in isolation or all at once, different combinations of contaminant mixtures and abiotic conditions should be investigated to have a broader view

of the toxicological impacts of climate change. Learning on this matter will allow to incorporate the effects of climate change in future regulations and recommendations for human exposure to emerging contaminants, as well as to develop mitigation strategies.

#### Acknowledgments

The research leading to these results has received funding from the European Union Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013) under the ECsafeSEAFOOD project (grant agreement n° 311820). Sparos Ida company for providing the experimental feeds. The local fishermen from Tagus estuary for providing *R. philippinarum* specimens. Eduardo Sampaio for helping in the maintenance of the bivalve RAS systems. This study was also supported by Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT), through the the contracts of AM in the framework of the IF program, as well as the PhD Grant of ALM (SFRH/BD/103569/2014) and post-PhD Grant of PA (SFRH/BPD/100728/2014).

#### References

- Bollmann, U.E., Möller, A., Xie, Z. *et al.* 2012. Occurrence and fate of organophosphorus flame retardants and plasticizers in coastal and marine surface waters. *Water Research*, 46, 531-538.
- Dijkstra, J.A., Buckman, K.L., Ward, D. *et al.* 2013. Experimental and natural warming elevates mercury concentrations in estuarine fish. *PLoS One*, 8(3), e58401.
- FAO, 2016. *FAO Yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2014*. FAO, Rome, 105p.
- Feo, M.L., Barón, E., Eljarrat, E., Barceló, D., 2012. Dechlorane Plus and related compounds in aquatic and terrestrial biota: a review. *Anal. Bioanal. Chem.*, 404, 2625–2637.
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Field, C.B., V.R. Barros, D.J. Dokken, K.J. *et al.* [eds.]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1132pp.

- Jebali, J., Chouba, L., Banni, M., Boussetta, H. 2014. Comparative study of the bioaccumulation and elimination of trace metals (Cd, Pb, Zn, Mn and Fe) in the digestive gland, gills and muscle of bivalve *Pinna nobilis* during a field transplant experiment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 28, 212–217.
- Marques, A., Diogène, J., Rodriguez-Mozaz, S. 2015. Non-regulated environmental contaminants in seafood: Contributions of the ECsafeSEAFOOD EU project. *Environ. Res.*, 143, Part B, 1-2.
- Marques, A., Nunes, M.L., Moore, S.K., Strom, M.S. 2010. Climate change and seafood safety: Human health implications. *Food Res. Int.*, 43(7), 1766–1779.
- Maulvault, A.L., Anacleto, P., Barbosa, V. *et al.* 2015. Toxic elements and speciation in seafood samples from different contaminated sites in Europe. *Environmental Research*, 143, 29-45.
- Maulvault, A.L., Barbosa, V., Alves, R. *et al.* 2017. Ecophysiological responses of juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax*) exposed to increased temperature and dietary methylmercury. *STOTEN*, 586, 551-558.
- Noyes, P.D., McElwee, M.K., Miller, H.D. *et al.*, 2009. The toxicology of climate change: environmental contaminants in a warming world. *Environ. Int.*, 35, 971-986.
- Rosa R., Paula, J.R., Sampaio, E. *et al.* 2016. Neuro-oxidative damage and aerobic potential loss of sharks under elevated CO<sub>2</sub> and warming. *Marine Biology*, 163, 119.
- Sampaio, E., Lopes, A.R., Francisco, S. *et al.* 2017. Ocean acidification dampens warming and contamination effects on the physiological stress response of a commercially important fish. *Biogeosciences Discussions*, 147, 2017.
- Sampaio, E., Maulvault, A.L., Lopes, V.M. *et al.* 2016. Habitat selection disruption and lateralization impairment of cryptic flatfish in a warm, acid, and contaminated ocean. *Marine Biology*, 163-217.
- Santana, L.M.B.M., Blasco, J., Abessa, D.M.S., Campana, O. 2017. Bioaccumulation kinetics of copper in *Ruditapes philippinarum* exposed to increasing, continuous and pulsed exposure: implications on growth. *Science of the Total Environment*, 595, 920-927.
- Sarazin, G., Michard, G., Prevot, F. 1999. A rapid and accurate spectroscopic method for alkalinity measurements in seawater samples. *Water Research*, 33, 209-294.
- Shen, L., Reiner, E.J., MacPherson, K.A. *et al.* 2010. Identification and Screening Analysis of Halogenated Norbornene Flame Retardants in the Laurentian Great Lakes: Dechloranes 602, 603, and 604. *Environmental Science Technology*, 44(2), 760–766.
- Van der Meersch, G., Lourenço, H.M., Alvarez-Muñoz, D. *et al.* 2015. Environmental contaminants of emerging concern in seafood – European database on contaminant levels. *Environmental Research*. 143 - Part B, 29-45.

### 6.1.2 Piretroides

L'exposició dels humans als piretroides està documentada amb estudis dels seus metabòlits en orina de nens i adolescents alemanys (Heudorf, 2004), en cabells i sang de dones embarassades i en meconi dels nadons (Ostrea, 2009), en plasma d'embarassades de zones rurals de Sud-àfrica (Channa, 2012) o en llet materna humana (Zehring i Herrmann, 2001; Corcellas, 2012). Però en biota marina, i especialment en mamífers marins, quasi no hi ha estudis disponibles.

El 2012 es van publicar les primeres dades sobre piretroides en fetge, llet materana i placenta de mascles de dofí del Plata (*Pontoporia blainvillei*) de São Paulo i Rio Grande do Sul, al Brasil (Alonso, 2012b). En les dues regions estudiades, les cries van presentar mitjanes de concentració en fetge molt més elevades (43,6 i 35,5 ng g<sup>-1</sup> lw) que els dofins joves (19,0 i 22,8 ng g<sup>-1</sup> lw) i els adults (33,9 i 18,5 ng g<sup>-1</sup> lw) (Alonso, 2012b). En el mateix estudi, l'elevada concentració de piretroides en placenta (331-1812 ng g<sup>-1</sup> lw) i la presència dels insecticides en llet materna (2,5-4,8 ng g<sup>-1</sup> lw) van suggerir la transferència de piretroides de les mares a les cries durant i després del part i van justificar les concentracions elevades en les cries.

Un estudi més recent dels mateixos autors va confirmar la transferència materna en dofins del Plata i en l'espècie *Sotalia guianensis* del Brasil (Alonso, 2015). Les mares i els fetus mostraven concentracions i perfils molt similars. Les concentracions mitjanes de permetrín i cipermetrín estaven al voltant dels 150 ng g<sup>-1</sup> lw, mentre que les mitjanes de la resta de piretroides inclosos en aquesta tesi quedaven per sota dels 20 ng g<sup>-1</sup> lw.

Un altre estudi recent va ser el primer a analitzar piretroides en peixos salvatges i comestibles de rius d'Espanya. Les concentracions totals variaven entre 12 i 1.508 ng g<sup>-1</sup> lw, tot i que un individu va arribar a 4.938 ng g<sup>-1</sup> lw (Corcellas, 2015). En una comparació amb dades de contaminants emergents, l'estudi destacava que els piretroides s'havien trobat en el 100 % de mostres, freqüència quasi igualada pels COP, com els retardants de flama, mentre que els productes d'higiene personal i els productes farmacèutics s'havien en menys del 50%. A més, els piretroides tenien les concentracions més elevades, fins a 6 vegades més grans que els parabens i els retardants de flama organofosforats, que ocupaven el segon i el tercer lloc. Això demostra la importància d'afegir els piretroides al grup de contaminants a monitoritzar.

En aquesta tesi, s'ha contribuït a ampliar les dades disponibles per a dofins. S'han estudiat dofins ratllats del Mediterrani (article 1). Les mostres es van obtenir gràcies al Departamento de Biología de la Conservación de l'Estación Biológica de Doñana (EBD) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) i a la plataforma Conservación, Investigación y Estudio Sobre los Cetaceos (CIRCE). És el primer estudi que publica dades de piretroides en cetacis de l'hemisferi nord. També és la mateixa espècie que s'ha estudiat per als retardants de flama en l'estudi 2, fet que permetrà fer comparacions entre els COP i els contaminants pseudopersistents. Aquest estudi s'ha publicat a la revista *Environmental Pollution* el 2017.



## Insecticide pyrethroids in liver of striped dolphin from the Mediterranean Sea<sup>☆</sup>



Oscar Aznar-Alemany<sup>a</sup>, Joan Giménez<sup>b</sup>, Renaud de Stephanis<sup>c</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a,\*</sup>,  
Damià Barceló<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research Studies (IDAEA), Spanish Council for Scientific Research (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Department of Conservation Biology, Estación Biológica de Doñana (EBD), Spanish Council for Scientific Research (CSIC), Americo Vespucio s/n, Isla Cartuja, 41092, Seville, Spain

<sup>c</sup> Conservation, Information and Research on Cetaceans (CIRCE), Cabeza de Manzaneda 3, Algeciras-Pelayo, 11390 Cádiz, Spain

<sup>d</sup> Catalan Institute for Water Research (ICRA), H<sub>2</sub>O Building, Scientific and Technological Park of the University of Girona, Emili Grahit 101, 17003 Girona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history

Received 9 January 2017

Received in revised form

24 February 2017

Accepted 26 February 2017

Available online 7 March 2017

#### Keywords:

Pesticide

Hotspot

Enantiomer

Marine mammal

### ABSTRACT

Pyrethroid pesticides were analysed in liver of striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the Alboran Sea (south of Spain, Mediterranean Sea). The occurrence and bioaccumulation of pyrethroid insecticides in marine mammal tissues from the northern hemisphere had never been determined before. Pyrethroids were detected in 87% of the specimens with a mean total concentration of  $300 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw} \pm 932$  (range  $2.7\text{--}5200 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ). Permethrin and tetramethrin were the main contributors to the pyrethroid profiles, with enantiospecific accumulation for the first and isomer specific accumulation for the latter. Bioaccumulation of pyrethroids was unlike that of persistent organic pollutants (POPs), as pyrethroid concentrations were not correlated to the maturity stage of the specimens. Concentrations slightly increased from calves to juveniles, whereas juveniles presented similar concentrations to adults. Metabolization of pyrethroids after achieving sexual maturity might account for this pattern.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Pyrethroids are insecticides used for household, commercial and farming applications, in medicine against scabies and lice and, in tropical countries, to control malaria by impregnating mosquito nets and indoor walls with them (Bradberry *et al.*, 2005). Pyrethroids seemed to be an ideal class of insecticides as they are presumed to be not persistent in the environment, and they were believed not to accumulate and to be metabolised by mammals (Casida *et al.*, 1975; Leng *et al.*, 1997). Hence, they became very popular during the 1970s, substituting other banned pesticides such as organophosphate insecticides (Ridgway *et al.*, 1978). They currently represent 25% of the insecticides used worldwide (Casida

and Quistad, 1998; Shafer *et al.*, 2005).

Regarding toxicity, pyrethroids disrupt the function of the neurons' sodium channels causing repetitive after-discharges in neurons and muscle cells that translate into repeated stimulation (Narahashi *et al.*, 1998; Pollack *et al.*, 1999). At high concentrations, the sodium intake might be such to block conduction and provoke paralysis. Type II pyrethroids can also affect chloride channels and  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors inducing cataleptic seizures in humans (Ray and Forshaw, 2000). Pyrethroids are 2250 times more toxic to insects than mammals, as insects have more sensitive sodium channels, smaller bodies and lower body temperatures (Bradberry *et al.*, 2005). It would also seem that pyrethroid skin adsorption in mammals is low and they can metabolise them into non-toxic compounds. However, dermal penetration may cause paresthesia for 12–24 h. Pyrethroid ingestion can cause sore throat, nausea, vomiting and abdominal pain in few minutes. Systemic effects that may show after 4–48 h after exposure are dizziness, headache, fatigue, palpitations, chest tightness or blurred vision (Bradberry *et al.*, 2005). As for chronic toxicity, symptoms caused by the accumulation of pyrethroids in nervous tissue are cerebral

<sup>☆</sup> This paper has been recommended for acceptance by Maria Cristina Fossi.

\* Corresponding author. Department of Environmental Chemistry, IDAEA, CSIC, C/ Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain.

E-mail addresses: [oaaznar@cid.csic.es](mailto:oaaznar@cid.csic.es) (O. Aznar-Alemany), [joan.gimenez@csic.es](mailto:joan.gimenez@csic.es) (J. Giménez), [renaud@stephanis.org](mailto:renaud@stephanis.org) (R. de Stephanis), [eeeqam@cid.csic.es](mailto:eeeqam@cid.csic.es) (E. Eljarrat), [dbsqam@cid.csic.es](mailto:dbsqam@cid.csic.es) (D. Barceló).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.060>  
0269-7491/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## ATENCIÓ !

Les pàgines 91 a 98 de la tesi contenen aquest article,  
que cal consultar a la web de l'editor

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749117300945>

## 6.2 Transport a llarga distància

Una de les característiques distintives dels COP és el seu potencial de transport a llarga distància. Això fa que puguin arribar a regions del planeta on mai no s'han fabricat ni utilitzat. La presència de retardants de flama als pols n'és un exemple. El fet que aquests compostos puguin arribar arreu del món i acumular-se en mostres ambientals i en biota suposa un risc per a tots els ecosistemes del planeta.

Principalment el transport atmosfèric i en segon lloc el transport en les corrents marines podrien ser les majors vies d'accés dels COP a les regions remotes. D'altra banda, la influència de l'activitat humana a les regions Àrtica i Antàrtica per part de les estacions científiques o del turisme també podria afectar la distribució espacial dels COP (Wang, 2012).

Els PBDE a l'Àrtic estan ben documentats en mostres ambientals, com ara aigua o sediments, i en mostres de biota, com ara ocells, peixos, mol·luscos, foques, balenes, ossos o ants (de Wit, 2010). També hi ha algunes dades publicades per l'Antàrtida, tot i que no tantes. Alguns estudis de l'última dècada informen de les concentracions de PBDE en krill, peixos, ocells i foques d'aquest continent (Borghesi, 2009; Schiavone, 2009; Goutte, 2013; Wolschke, 2015). Les concentracions a l'Antàrtida oscil·laven entre 0,1 i 20 ng g<sup>-1</sup> lw. Aquestes concentracions són més baixes que a l'Àrtic, on les mostres de biota poden arribar a tenir concentracions un ordre de magnitud superior o fins i tot dos (de Wit, 2010).

Pel que fa als compostos emergents, tot i que ja hi ha algunes dades sobre declorans en matrius ambientals (Möller, 2010; Möller, 2011; Shen, 2012), només fa un parell d'anys que s'han començat a publicar dades sobre declorans en biota de l'Antàrtida (Kim, 2015; Roscales, 2016). Respecte a la resta de compostos d'aquesta tesi, avui és difícil, si no impossible, trobar articles que tractin la seva presència a l'extrem sud del planeta.

En aquesta tesi s'ha analitzat el potencial de transport a llarga distància dels retardants de flama emergents (article 2). Les mostres es van obtenir gràcies a les bases a les bases brasileres a l'Antàrtida en col·laboració amb el Laboratório de Radioisótopos Eduardo Penna Franca de l'Institut de Biofísica Carlos Chagas Filho de la Universidade Federal do Rio de Janeiro i amb el Mestrado Profissional em Ambiente e Sustentabilidade de la Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), del Brasil. Es van utilitzar diferents teixits de dues espècies de foca de l'Antàrtida. Aquest estudi s'ha enviat en forma d'article a la revista *Environmental Pollution*.



## Flame retardants in marine organisms of Antarctica: long-range transport of these pollutants

Òscar Aznar-Aleman<sup>a</sup>, Xuefei Yang<sup>a</sup>, Mariana B. Alonso<sup>b</sup>, Erli Schneider Costa<sup>c</sup>, João Paulo M. Torres<sup>b</sup>, Olaf Malm<sup>b</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a</sup>, Damià Barceló<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup>Institute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC). Jordi Girona, 18, 08034 Barcelona (Spain)

<sup>b</sup>Radioisotopes Laboratory Eduardo Penna Franca, Institute of Biophysics Carlos Chagas Filho, Federal University of Rio de Janeiro. Av. Carlos Chagas Filho, 373, 21941-902 Rio de Janeiro, (Brazil)

<sup>c</sup>Mestrado Profissional em Ambiente e Sustentabilidade. State University of Rio Grande do Sul (UERGS). Rua Assis Brasil, 842, 95400-000 São Francisco de Paula, (Brazil)

<sup>d</sup>Catalan Institute for Water Research (ICRA). Emili Grahit, 101, 17003 Girona (Spain)

O.A.A. oaaqam@cid.csic.es, X.Y. xfyang219@gmail.com, M.B.A. alonso.mb@gmail.com, E.S.C. erli-costa@uergs.edu.br, J.P.M.T. torresjpm@gmail.com, O.M. olaf@biof.ufrj.br, E.E. eeeqam@cid.csic.es, D.B. dbcqam@cid.csic.es

Corresponding author: Ethel Eljarrat, eeeqam@cid.csic.es, tel: +34 93 400 6100, fax: +34 93 204 5904. Carrer de Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona (Spain)

### Abstract

Eight PBDE congeners, three novel brominated flame retardants, five dechloranes and eight MeO-PBDEs were monitored in tissues (muscular, adipose, nervous) and fur of southern elephant seal and Antarctic fur seal of the South Shetland Islands, Antarctic Peninsula. Total PBDEs and total dechloranes concentrations ranged between n.d.-6 ng g<sup>-1</sup> lw. While PBDEs were not detected in nervous system, Dec 602 was found in nervous system of both seal species indicating that dechloranes —with potential neurological toxicity— could cross the blood-brain barrier. Novel brominated flame retardants were not detected in any sample and only two MeO-PBDEs were found. The presence of the detected compounds in biota from the Antarctica evidences their long-range transportation. BDE-47 concentrations were lower than previously reported for the same species, suggesting a successful effect of the existing regulation and bans on PBDEs.

### Capsule abstract

Halogenated flame retardants were in tissues of Antarctic seals proving long-range transport. Dechloranes showed similar behaviour to PBDEs, plus they crossed the BBB.

**Keywords:** Antarctic seals; blood-brain barrier; fur samples; halogenated norbornenes; emerging flame retardants

### 1. Introduction

Flame retardants (FRs) are a group of compounds that are applied to materials to increase their fire resistance. Among FRs, polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are the most used family in a wide variety of indoor and outdoor products, such as household appliances, office electronics, textiles and furniture (Alaee, 2003). PBDEs are produced at different levels of bromination, that is, Penta-

BDE, Octa-BDE and Deca-BDE commercial mixtures. As these compounds are simply blended with the polymers, not bonded into them, they leach out of the materials (Alaee, 2003) and have therefore been found in different environmental matrices (Gorga, 2013; Guerra, 2010b; Harner, 2006; Sánchez-Avila, 2011), as well as in biological matrices (Guerra, 2012; Lacorte, 2010; Norén and Meironyté, 2000). PBDEs are persistent in the environment,

biomagnify in the food web and are toxic compounds that may affect hormonal regulation as well as hepatic, neuronal and thyroid activities (Branchi, 2003; Costa and Giordano, 2011; Mikula and Svobodova, 2006).

Over the years, the concern about FRs affecting the environment and human health has increased significantly. In 2009, Penta-BDE and Octa-BDE were added to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs) (SC, 2008), with exceptions for specific uses, and their presence in formulations was reduced in North America and Europe with the commitment to stop producing them by 2013 (EPA, 2014; Schecter, 2010). In 2010, Deca-BDE was included in the REACH regulation (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) (REACH, 2006) and in 2017 it was included in the Stockholm Convention.

The Stockholm Convention includes compounds that are characterized by their persistence, bioaccumulation through the food web, adverse effects to human health and the environment and transport capacity over long distances, far from their sources, even to regions where they have never been used or produced. The ecosystems of the poles are at risk because of this.

Due to the environmental and health concerns, novel FRs were produced as replacements for the banned formulations (Betts, 2008), including decabromodiphenyl ethane (DBDPE), hexabromobenzene (HBB) and pentabromoethylbenzene (PBEB). Since DBDPE is an alternative for Deca-BDE because of the similarity of their structures, their properties are presumably similar (Hardy, 2002). HBB is produced mainly in Japan and China; however, it has been found in European sediments and fish, which proves that it also leaks from materials into the environment (Cruz, 2015). PBEB had its production peak in the 1970s. It is persistent in environmental matrices and bioaccumulates (Covaci, 2011).

On the other hand, not all novel FRs are brominated. Dechlorane Plus (DP) and dechloranes 602, 603 and 604 (Dec 602, Dec 603, Dec 604) are chlorinated FRs used as substitutes for mirex since it was banned in the United States because of its toxicity (Johnson, 1976). DP has properties similar to those of mirex (WHO, 1984). There are reports of dechloranes' presence in environmental matrices (Hong, 2010; Sverko, 2007; Torre, 2010a, 2010b) and biota, including humans (Guerra, 2011; Houde, 2014; Siddique, 2012). However, more studies are required to assess the behaviour and occurrence of all novel FRs in the environment.

Additionally, methoxylated PBDEs (MeO-PBDEs) are structural analogs to PBDEs. They have been found in several cetaceans and seafood around the world (Alonso, 2014; Losada, 2009). It is proposed that MeO-PBDEs are synthesized by some algae, marine sponges and their associated bacteria (Bowden, 2000; Malmvärn, 2008). These compounds are likely to be detected in marine mammals at similar concentrations to antropogenic halogenated organic compounds (Alonso, 2014; Vetter, 2002, 2006).

PBDEs are ubiquitous compounds that can be found anywhere in the world, including the Arctic. They are found in numerous abiotic and biotic matrices (de Wit, 2010). Some information about PBDEs in the Antarctica has also been published (Table 1). Table 1 shows some data for different species of fish, as well as penguins and skuas and two species of seal. Sample types included muscle, liver, blubber and blood. With a few exceptions, total PBDEs concentrations oscillated between 0.1 and 20 ng g<sup>-1</sup> lipid weight (lw). Long-range atmospheric transport and ocean current transport could be the main pathways of PBDEs to remote areas although antropogenic influence (e.g. research stations, tourism) could also influence the spatial distribution of PBDEs in the Antractic Peninsula (Wang, 2012).

On the other side, few publications show data about dechloranes in remote regions. Although there are studies on dechloranes in environmental matrices from the Arctic and the Antarctic regions (Möller, 2010, 2011, 2012; Shen, 2012), only very recent publications address the presence of these compounds in biota, more specifically in the South Shetland Islands (Kim, 2015; Roscales, 2016).

The present article reports the presence of some aforementioned compounds in southern elephant seal (*Mirounga leonina*) and Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*) from the South Shetland Islands. Each sample corresponded to

muscular tissue from the fins, nervous system tissue, adipose tissue or fur. The specific aim of this study was to prove the long-range transport capacity of FRs. Furthermore, the diversity of the tissues collected allowed to evaluate if fur samples —more accessible and available— could substitute other lipid-rich tissues traditionally used for biomonitoring and to compare adipose and nervous system tissues samples of the same individual to judge the ability of these pollutants to cross the blood-brain barrier (BBB), which is relevant due to their neurological effects.

**Table 1.** PBDEs levels reported in biota from the Antarctica

location	years	species	sample type	$\Sigma$ PBDEs (pg/g) <sup>a</sup>	reference	
Pointe Géologie Archipelago	2010	Antarctic yellowbelly rockcod	muscle	< 1000	Goutte <i>et al.</i> (2013)	
		<i>Notothenia corriceps</i>		ww		
		Bald notothen		< 175 ww		
	<i>Pagothenia borchgrevinki</i>					
	2011	Ice krill	whole body	< 50 ww		
		<i>Euphausia crytallorophias</i>				
Ross Sea	2000	Antarctic krill	whole body	5600 lw	Corsolini <i>et al.</i> (2006)	
		<i>Euphausia superba</i>				
	-2002	emerald rockcod	whole body	4600 lw	Borghesi <i>et al.</i> (2009)	
		<i>Trematomus bernacchii</i>	muscle	5800 lw		
			Adélie penguin		660 lw	
			<i>Pygoscelis adeliae</i>			
	2001	South Polar skua	blood	500 lw	Corsolini <i>et al.</i> (2004)	
		<i>Catharacta maccormicki</i>				
	-2002	emperor penguin		36 lw		
		<i>Aptenodytes forsteri</i>				
			mackerel icefish		440 ww	
			<i>Champscephalus gunnari</i>			
2001	Nichol's lanternfish	muscle	89 ww	Borghesi <i>et al.</i> (2009)		
	<i>Gymnoscopelus nicholsi</i>					
-2002	blunt scalyhead		140 ww			
	<i>Trematomus eulepidotus</i>					
2005	Antarctic icefish		200 ww			
	<i>Chionodraco hamatus</i>					
2005	Antarctic icefish	muscle	160 ww	Borghesi <i>et al.</i> (2008)		
	<i>Chionodraco hamatus</i>	liver	200 ww			
	emerald rockcod	muscle	350 ww			
	<i>Trematomus bernacchii</i>	liver	790 ww			
Livingston Island	2004	Antarctic fur seal (pup)	blubber	11000 ww	Schiavone <i>et al.</i> (2009)	
		<i>Arctocephalus gazella</i>				

location	years	species	sample type	$\Sigma$ PBDEs (pg/g) <sup>a</sup>	reference
King George Island	2004	Adelie penguin <i>Pygoscelis adeliae</i>	blood	290 ww	Coriolini <i>et al.</i> (2007)
		chinstrap penguin <i>Pygoscelis Antarctica</i>		110 ww	
		gentoo penguin <i>Pygoscelis papua</i>		120 ww	
	2004 -2005	Weddell seal <i>Leptonychotes weddellii</i>	fat	2000 lw	Cipro <i>et al.</i> (2012)
	2008 -2011	dusky rockcod <i>Trematomus newnesi</i>	muscle	1200 lw	Lana <i>et al.</i> (2014)
		black rockcod <i>Notothenia coriiceps</i>	liver	4100 lw	
		marbled rockcod <i>Notothenia rossii</i>	muscle	13000 lw	
	2010 -2011	emerald rockcod <i>Trematomus bernacchii</i>	-	7000 lw	Wolschke <i>et al.</i> (2015)
		gentoo penguin <i>Pygoscelis papua</i>	-	110000 lw	
		brown skua <i>Stercorarius antarcticus</i>	-	9.1-300 dw	
				-	
				<LOD-	
				6500 dw	

<sup>a</sup> lw – lipid weight, dw – dry weight, ww – wet weight

## 2. Materials and methods

### 2.1. Sampling

A total of 31 samples including muscle tissue from hind flippers ( $n = 5$ ), nervous system tissue ( $n = 6$ ), adipose tissue ( $n = 9$ ) and fur ( $n = 11$ ) of southern elephant seal (*Mirounga leonina*) and Antarctic fur seal (*Arctocephalus gazella*) were collected in summer of 2012 during an Antarctic expedition in the framework of the Brazilian Antarctic Program (PROANTAR) in the South Shetland Islands, Antarctic Peninsula. Collection points were Hannah Point, Elephant Point and Byers Peninsula, in Livingston Island, and Penguin Island (Table 2, Figure 1). The biological samples were collected only from animals found dead and under Antarctic and Brazilian were in early decomposition stages. Antarctic fur seals were adults that fed in sub-Antarctic and South American waters and southern elephant seals were pups that fed locally. The nervous system tissue was collected inside the skull in the junction with the medulla.

### 2.2. Standards and reagents

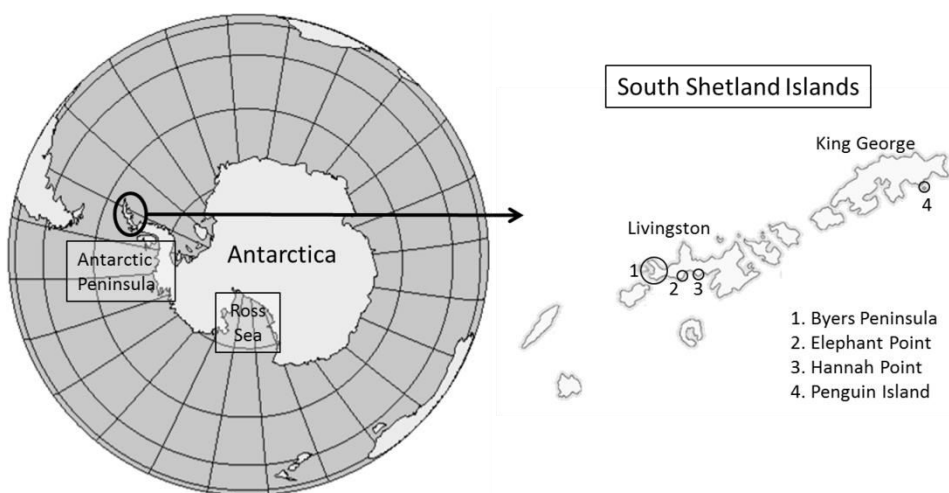
Native and <sup>13</sup>C-labelled standards mixtures of PBDEs (BDE-28, BDE-47, BDE-99, BDE-100, BDE-153, BDE-154, BDE-183 and BDE-209), *syn*-DP and *anti*-DP and <sup>13</sup>C-*syn*-DP were purchased from Cambridge Isotope Laboratories Inc. (Andover, MA, USA). Dec 602 (95 %), Dec 603 (98 %) and Dec 604 (98 %) were obtained from Toronto Research Chemical Inc. (Toronto, ON, Canada). HBB, DBDPE, PBEB and the standard mixture of MeO-PBDEs (5-MeO-BDE-47, 6-MeO-BDE-47, 4'-MeO-BDE-49, 2'-MeO-BDE-68, 5'-MeO-BDE-99, 5'-MeO-BDE-100, 4'-MeO-BDE-101 and 4'-MeO-BDE-103) were bought from Wellington Laboratories Inc. (Guelph, ON, Canada). Dichloromethane (DCM), hexane and sulphuric acid were purchased from Merck.

### 2.3. Sample preparation

Sample extraction was carried out according to de la Cal *et al.*, 2003 and Labandeira *et al.*, 2007. Freeze-dried sample (1.5 g) was spiked with the <sup>13</sup>C-labelled standards. Pressurized liquid

**Table 2.** Species sampled, location and lipid content (%) of the samples

species and location sample code	lipid content of the collected samples (%)			
	fin muscle	nervous system	adipose tissue	fur
southern elephant seal ( <i>Mirounga leonina</i> ) Livingston Island - Byers Peninsula				
ILB1	24.2	38.6		0.36
ILB2				0.53
ILB3	20.1		3.23	0.96
ILB4	41.6			0.73
ILB5	25.7		9.14	1.34
ILB6			9.78	1.95
southern elephant seal ( <i>Mirounga leonina</i> ) Livingston Island - Elephant Point				
ILE1				1.51
ILE2			9.96	0.06
ILE3				0.66
ILE4				1.32
ILE5				1.14
ILE6	21.1			
southern elephant seal ( <i>Mirounga leonina</i> ) Livingston Island - Hannah Point				
ILH1		19.4		
Antarctic fur seal ( <i>Arctocephalus gazella</i> ) Penguin Island				
IP1		66.0	9.09	
IP2		63.5	23.5	
IP3		69.2	3.75	
IP4		49.4	7.34	
IP5			18.6	

**Figure 1.** Location of the samples

extraction (PLE) was used with a mixture of hexane:DCM (1:1). Afterwards, the lipid content was determined gravimetrically and the extract was re-dissolved in hexane and treated with concentrated sulphuric acid to remove the fat. Then, the organic phase was cleaned by solid phase extraction (SPE) using Al-N cartridges (5 g) and eluted with hexane:DCM (1:2). Extract was reconstituted with 40 µl of toluene prior to the instrumental analysis.

#### 2.4. Instrumental analysis

The extracts were analysed with an Agilent 7890A gas chromatograph coupled to an Agilent 7000A triple quadrupole mass spectrometer. Chromatographic separation was carried out with a DB-5ms column (15 m × 0.25 mm × 0.1 µm of film thickness). The instrumental conditions for the brominated compounds were based on Eljarrat et al., 2002 and Eljarrat et al., 2007. For the spectrometric determination (Barón, 2014), electronic ionization at 300 °C was used, with helium as carrier gas. For the analysis of dechloranes (Barón, 2012), negative chemical ionization at 175 °C was used, with methane as ionization gas and helium as carrier gas.

For all compounds selective reaction monitoring (SRM) mode was used with two transitions monitored for each one. Recoveries for individual compounds ranged from 51-99 % and RSDs were 1.1-22 %. LODs and LOQs were, respectively, 2.3 pg g<sup>-1</sup> lipid weight (lw) to 10.6 ng g<sup>-1</sup> lw and 7.7 pg g<sup>-1</sup> lw to 35.4 ng g<sup>-1</sup> lw (Barón, 2012, 2014).

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Brominated flame retardants in Antarctic seals

PBDEs were detected in all sample types except for the nervous system and they were below the LOQ in fur (Table 3). BDE-183 and BDE-209 were not detected. Only BDE-28, BDE-47 and BDE-99 were above their LOQs —the latter in just one sample. Average total PBDEs concentrations were 1.00 ± 0.92 ng g<sup>-1</sup> lw (range

Table 3. Average contamination for the detected compounds in each tissue (ng g<sup>-1</sup> lw)

compound <sup>a</sup>	<i>M. leonina</i>			<i>A. gazella</i>			LOQ		
	fin muscle (n=5)	n <sup>b</sup>	nervous system (n=2)	fat (n=4)	fur (n=11)	nervous system (n=4)		fat (n=5)	
BDE-28	0.21±0.09	3	n.d.	2.43	1	n.d.	0.47±0.30	4	0.04
BDE-47	0.65±0.58	5	n.d.	1.28±1.24	3	n.d.	1.19±0.57	3	0.05
BDE-99	1.11	3	n.d.	n.d.	1	n.d.	n.d.-n.q.	2	0.29
BDE-100	n.d.-n.q. c	2	n.d.	n.d.	1	n.d.	n.d.-n.q.	2	0.20
BDE-153	n.d.-n.q.	1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.-n.q.	2	0.64
BDE-154	n.d.-n.q.	1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.-n.q.	2	2.13
ΣPBDEs	1.00±0.92	5	n.d.	2.09±2.64	3	n.d.	1.37±0.96	4	1.42
6-MBDE-47	n.q.	5	n.d.	n.q.	4	n.d.	n.d.-n.q.	2	1.06
5-MBDE-100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.-n.q.	2	1.99
Dec 602	0.30±0.26	4	0.52	1.48±0.35	2	0.17±0.05	2.63±1.25	3	0.02
anti-DP	n.d.-n.q.	1	n.d.	0.60	1	n.d.	0.16±0.16	2	0.002
Σdechloranes	0.30±0.26	4	0.52	1.77±0.07	2	0.17±0.05	2.73±1.30	3	0.01

<sup>a</sup>Compounds not listed in the table were not detected: BDE-183 < 6.24 ng g<sup>-1</sup> lw, BDE-209 < 0.16 ng g<sup>-1</sup> lw, MeO-PBDEs < 0.43-3.75 ng g<sup>-1</sup> lw, dechloranes < 0.007 ng g<sup>-1</sup> lw.

<sup>b</sup>Number of contaminated samples.

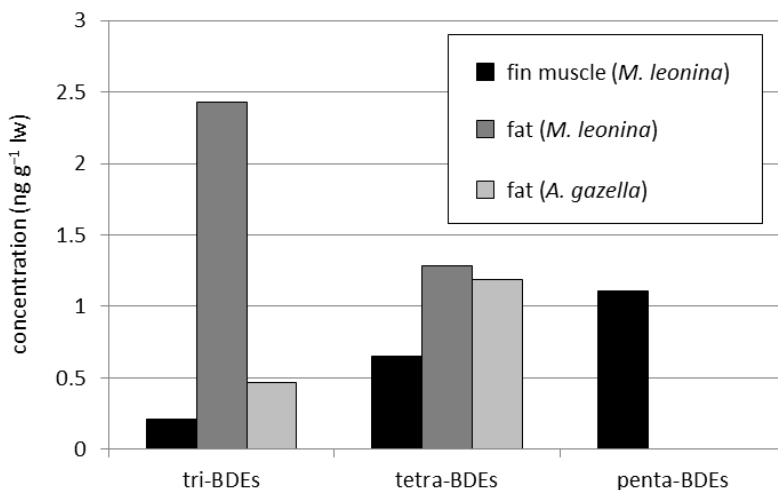
<sup>c</sup>n.d. means not detected (< LOD) and n.q. means not quantifiable (< LOQ).

0.27-2.21 ng g<sup>-1</sup> lw) in muscle and 2.09 ± 2.64 ng g<sup>-1</sup> lw (range n.d.-5.13 ng g<sup>-1</sup> lw) in adipose tissue of the southern elephant seal and 1.37 ± 0.96 ng g<sup>-1</sup> lw (range n.d.-2.74 ng g<sup>-1</sup> lw) in adipose tissue of the Antarctic fur seal. No novel brominated FRs was detected in any sample. Regarding the natural MeO-PBDEs, 6-MeO-BDE-47 was found in muscle, fur and adipose tissue of both species, while 5'-MeO-BDE-100 was only found in adipose tissue of Antarctic fur seal.

The distribution of PBDE homologue groups in seal tissues is shown in Figure 2. No hexa-BDEs, hepta-BDEs or deca-BDEs (containing six, seven or ten bromine atoms) were found in the samples. Concentrations of tri-BDE-28 were higher than those of tetra-BDE-47 in adipose tissue of southern elephant seal. Conversely, tetra-BDE-47 was predominant in fin muscle of the same species and in adipose tissue of Antarctic fur seal. BDE-47, BDE-99 and BDE-100, being the predominant congeners in commercial mixtures of PBDEs, are reported to be more abundant in biota samples from areas that are not remote. In this study, BDE-47 and BDE-99 were also detected, but concentrations of BDE-28 were unusually high in some samples

in relation to the other congeners. On average, it accounted for over a 20 % of the total PBDEs contamination. Lana et al. (2014) also detected BDE-28 in three species of rockcod collected in the years 2008-2011. However, BDE-28 contribution to their PBDEs profiles was lower than 10 %. The lower degree of bromination of this compound would make it more volatile thus easier to be transported over long distances. This would explain the presence of BDE-28 in Antarctic samples.

Some information about PBDEs in Antarctic biota is available in the literature (Table 1). Goutte et al. (2013) detected PBDEs in nine of 30 biological samples (including starfish, Antarctic yellowbelly rockcod, Antarctic krill) collected from Pointe Géologie Archipelago, Adélie Land. BDE-47 was predominant in the upper trophic level species, the Antarctic yellowbelly rockcod. Corsolini et al. (2006) reported that BDE-47 was the dominant congener in Antarctic krill and emerald rockcod from the same area and in three penguin species from the Antarctic Peninsula. On the other hand, Borghesi et al. (2008, 2009) found that BDE-100 was the dominant congener for some fishes.



**Figure 2.** PBDE homologue groups in tissues of seals

These previous results showed that BDE-47 is the predominant congener in the food web of seals. Antarctic fur seals diet is based on krill and fish associated with krill aggregations (Harrington, 2017). On the other hand, cephalopods are the main prey of southern elephant seals followed by fish (Daneri, 2015). While no data on PBDEs in Antarctic cephalopods seems to be published, the mentioned works about krill and fish could still be used as an indicator.

In the present study, muscle of southern elephant seal and adipose samples of both species analysed had quantifiable concentrations of BDE-47 and it was detected below the LOQ in fur of southern elephant seal. BDE-100 was detected in muscle and fur of both species, but always below its LOQ. Overall, BDE-47 was detected in 55 % of the samples and BDE-28 in 35 % of them, more than BDE-100. The higher occurrence of BDE-47 could be an added effect of the bioaccumulation in the food web and the direct exposure of the seals to the transported compound. Based on the previous data, BDE-28 would lack strong input from the food web, supporting the idea of long-range transportation.

Regarding concentration levels, Schiavone et al. (2009) reported an average of  $11 \pm 18 \text{ ng g}^{-1}$  lw of PBDEs in blubber of Antarctic fur seal pup from Livingston Island. Antarctic fur seals studied in the present work were from the same island and contained  $1.37 \pm 0.96 \text{ ng g}^{-1}$  lw of PBDEs in fat, one order of magnitude lower. In their case, BDE-47 ( $10 \pm 18 \text{ ng g}^{-1}$  lw) and BDE-66 ( $0.02 \pm 0.02 \text{ ng g}^{-1}$  lw) were detected, BDE-47 being the clear major contributor to the total PBDEs concentrations. In our study three of the eight congeners studied (BDE-28, BDE-47 and BDE-99) were detected. BDE-47 concentrations in adipose tissue samples of our seals ( $1.28 \pm 1.24 \text{ ng g}^{-1}$  lw for southern elephant seal and  $1.19 \pm 0.57 \text{ ng g}^{-1}$  lw for Antarctic fur seal) were lower than those reported by Schiavone et al. (2009).

The bans in Europe and North America before 2010 and the inclusion of PBDEs in the Stockholm Convention in 2011 may be accountable for a decrease in the emission of these pollutants and, therefore, in the amount transported to the Antarctica. Cipro et al. (2012) already reported lower total PBDEs concentrations ( $2.04 \text{ ng g}^{-1}$  lw), albeit in a different species, Weddel seal (*Leptonychotes weddellii*), of King George Island, also in the South Shetland Islands. Our samples were collected in 2012, when production of PBDEs should have ceased and any article containing more than 0.1 % of PBDEs should have been removed from the European market (REACH, 2006), although they are still used in Brazil, which is much closer. The amount of PBDEs transported to remote areas should drop as Europe and North America are not releasing more of these compounds into the environment. These findings could validate the success of the prohibition measures if the tendency is confirmed in future studies.

### 3.2. Dechloranes in Antarctic seals

Dechloranes were detected and quantifiable in samples of all tissues but fur, where they were detected in just two samples and below their LOQs (Table 3). Only Dec 602 and *anti*-DP were found. Dec 602 appeared in greater concentrations, especially in adipose tissue, i.e.  $1.48 \pm 0.35 \text{ ng g}^{-1}$  lw (range n.d.- $1.72 \text{ ng g}^{-1}$  lw) in fat of southern elephant seal and  $2.63 \pm 1.25 \text{ ng g}^{-1}$  lw (range n.d.- $3.19 \text{ ng g}^{-1}$  lw) in fat of Antarctic fur seal. For adipose tissue in the same species, the concentrations of *anti*-DP were  $0.60 \text{ ng g}^{-1}$  lw and  $0.16 \pm 0.16 \text{ ng g}^{-1}$  lw, respectively. In other tissues of both species, concentrations of Dec 602 were always below  $0.55 \text{ ng g}^{-1}$  lw and *anti*-DP was below its LOQ. Dec 603, Dec 604 and *syn*-DP were not detected in any sample.

Dec 602 has been reported to have a greater bioaccumulation potential than Dec 604 and DP according to their biota to sediment accumulation factors (BSAFs) (Jia, 2011; Shen,



2011). Coherently, Dec 602 is the dominant compound of the dechloranes profile in other recent studies. For example, three delphinids from southern European waters contained relatively high concentrations of Dec 602, up to  $29.6 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Barón, 2015a). Dec 602 has a lower octanol-water partition coefficient than Dec 604 and DP ( $\log K_{ow} = 7.1$  versus 8.5 and 9.0) (Feo, 2012). Dec 602 also has higher vapor pressure ( $5.53 \times 10^{-7} \text{ Pa}$ ) and water solubility ( $8.49 \text{ ng l}^{-1}$ ) than Dec 604 ( $8.47 \times 10^{-8} \text{ Pa}$  and  $2.21 \text{ ng l}^{-1}$ ) and DP ( $4.71 \times 10^{-8} \text{ Pa}$  and  $0.04 \text{ ng l}^{-1}$ ) (Feo, 2012). These properties would make Dec 602 easier to be transported to remote areas. The fact that DP is usually present in environmental samples but Dec 604 is less frequently detected may account for the presence of DP in our samples despite its less favourable properties. That is, the major quantities available enable a fraction to reach longer distances. DP concentrations in our Antarctic seals are lower than Dec 602 concentrations, which is consistent with both the usual reported levels in biota and the mentioned properties that enable long-range transportation.

Statistical comparison of PBDEs and dechloranes' levels between sample types and species could not be performed as the quantity of samples was limited and the concentration ranges were too similar. However, PBDEs were detected in more samples than dechloranes for all types of samples, except for nervous system samples, in which only dechloranes were found.

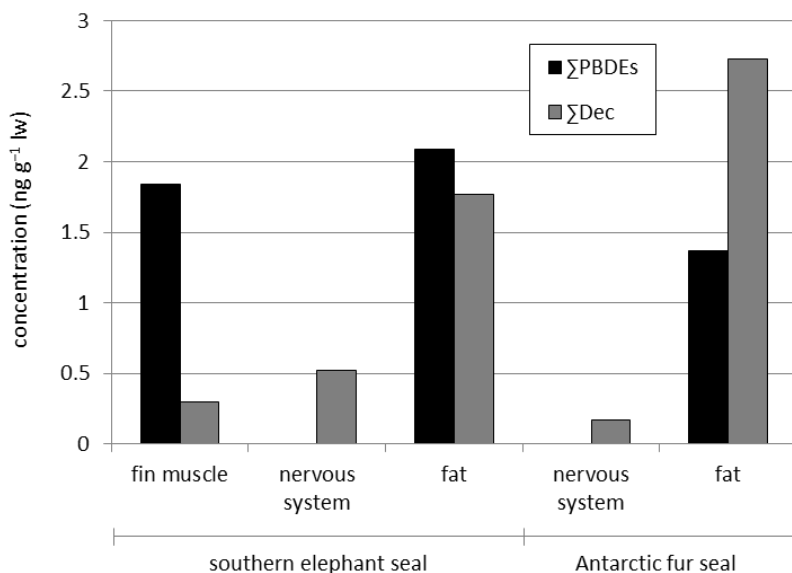
Differently to the case for PBDEs, few publications show data about dechloranes in biota from remote areas. Kim et al. (2015) reported the presence of DP and Dec 602 in avian tissue samples from the South Shetland Islands. DP concentrations were  $0.2\text{-}0.3 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in penguin tissues and  $2.1\text{-}11 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in the skua tissues. Concentrations of Dec 602 were  $0.4\text{-}1.0$  and  $4.5\text{-}36 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  in penguin and skua tissues, respectively. Again, Dec 602 showed higher levels than DP. Once again, the compounds detected in our seals are present in

their food web. Concentrations found in the present study were comparable to those reported in penguin tissues if slightly higher, suggesting the possibility of bioaccumulation. On the other hand, the seals in this study showed much lower levels than skua and southern giant petrels from the literature. Skua and southern giant petrels feed on penguins and mammals, thus have a higher trophic position than seals (Lu, 2005).

### 3.3. Comparison between tissues

Total dechloranes concentrations are in the same order of magnitude as total PBDEs concentrations, between n.d. and  $6 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Figure 3). However, dechloranes were found in the nervous system of both seal species while PBDEs were not detected in any sample of that tissue. Regarding the other tissues, southern elephant seals showed slightly higher averages for PBDEs whereas Antarctic fur seals showed otherwise. On the other hand, greater differences and a bigger number of samples are needed to draw a significant conclusion on a hypothetical selective accumulation.

It is noteworthy that Dec 602 was present in nervous system samples of both species, while none of the brominated compounds was. Looking into detail, there were four pairs of adipose and nervous tissue samples belonging to four individuals of Antarctic fur seal. In three cases, Dec 602 was detected in both samples. Dec 602 was detected neither in adipose tissue nor in the nervous system of the other individual. There was a correlation between the presence of Dec 602 in both tissues. On the other hand, concentration of Dec 602 in adipose tissue ( $2.05 \pm 1.73 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ) was higher than in nervous system tissue ( $0.13 \pm 0.09 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ) according to a t-test ( $t = 2.48$ ,  $df = 7$ ,  $p < 0.05$ ). This has been observed before for cetaceans and other animals (Corsolini, 2014; Li, 2014; Barón, 2015b). Indeed, more than 90 % of the total POP contamination in cetaceans is found in blubber because of its high lipid content (Yordy,



**Figure 3.** Average total concentration (ng g<sup>-1</sup> lw) of PBDEs and dechloranes in tissues of seals

2010). However, it is important to note that dechloranes did cross the BBB.

The information available about dechloranes distribution in different tissues is still limited. Zhang et al. (2011) reported levels of Dec 603 in nervous system samples for the first time and studied the tissue distribution of DP in muscle, liver and the nervous system of two fish species: mud carp (*Cirrhinus molitorella*) and northern snakehead (*Channa argus*). Barón et al. (2015) reported levels of dechloranes in nervous system samples from five delphinids from the Alboran Sea (Spain): Dec 602, n.d.-310 ng g<sup>-1</sup> lw; Dec 603, n.d.-3.56 ng g<sup>-1</sup> lw; DP, n.d.-4.95 ng g<sup>-1</sup> lw. In the present study, the range of Dec 602 is n.d.-0.52 ng g<sup>-1</sup> lw. This range is clearly lower, but the remote location of Antarctic samples and the typically higher levels of organic pollutants in the Mediterranean Sea can explain that (Aznar-Alemany, 2017; Jepson, 2016). Despite that, our results support those previously reported that dechloranes could cross the BBB, which is highly relevant for compounds with potential neurological toxicity.

Finally, while the analysis of fur allowed to detect the presence of the same compounds that were found in fin muscle and fat, all concentrations were lower than in those other tissues and below their LOQs. Therefore, if fur were to be used as a biomonitoring tissue, greater amount of sample should be used for the analyses to allow quantification of the compounds.

#### 4. Conclusions

PBDEs and dechloranes were detected in most samples of muscle, adipose tissue and fur of southern elephant seal and Antarctic fur seal of the South Shetland Islands (Antarctic Peninsula). Total PBDEs concentrations were up to 1.76 ng g<sup>-1</sup> lw in fin muscle and 5.13 ng g<sup>-1</sup> lw in adipose tissue and total dechloranes concentrations were up to 0.48 ng g<sup>-1</sup> lw in fins and 3.50 ng g<sup>-1</sup> lw in fat. Only Dec 602 was found in nervous system, with concentrations up to 0.52 ng g<sup>-1</sup> lw. No novel brominated FRs were detected and only 6-MeO-BDE-47 and 5'-MeO-BDE-100 were detected, albeit below their LOQs. The presence of the detected compounds

in biota from the Antarctica evidences their long-range transportation. This is especially relevant for dechloranes as few studies on their presence in remote areas are published. The present work confirms that dechloranes have capacity for long-range transportation.

BDE-28 and BDE-47 were the dominant compounds of the PBDEs profiles. While BDE-47 is reported to have a dominating presence in the seals' food web, BDE-28 is not. This supports the idea of long-range transportation as BDE-28 does not seem to have bioaccumulation as a significant input source. The lower degree of bromination of this compound would make it more volatile thus easier to be transported over long distances. BDE-47 concentrations in adipose tissue samples of our seals were about an order of magnitude lower than those reported by Schiavone et al. (2009) for the same species. As our samples were collected in 2012, the decrease in concentration suggests that the existing regulation and bans on PBDEs previous to 2011 might be having a successful effect.

Dec 602 and *anti*-DP were the only dechloranes found in the samples, with greater concentrations of Dec 602. The dominance of Dec 602 agrees with the literature. Additionally, its  $K_{ow}$ , vapour pressure and water solubility compared to the same properties of other dechloranes make Dec 602 more prone to long-range transportation. Total dechloranes concentrations are in the same order of magnitude as total PBDEs concentrations. This highlights the need for more studies on these compounds since their environmental impact and presence in biota is similar to those of POPs. However, Dec 602 was found in nervous system of both seal species while PBDEs were not. There seemed to be a correlation between the presence of Dec 602 in adipose and nervous tissues. This suggests that dechloranes could cross the BBB, which is highly relevant for compounds with potential neurological toxicity.

Finally, the analysis of fur allowed to detect the the same compounds that were found in fin

muscle and fat, but in concentrations below their LOQs. Therefore, if fur were to be used as a biomonitoring tissue, greater amount of sample should be used for the analyses to allow quantification of the compounds.

### Acknowledgements

This work has been financially supported by the Generalitat de Catalunya (Consolidated Research Group 2014 SGR 418 – Water and Soil Quality Unit). Biotage is acknowledged for providing SPE cartridges. The samples were collected with support of the Brazilian Antarctic Program (PROANTAR). The authors would like to thank the logistic support by Brazilian Navy and Aeronautics Forces. Project CNPq number (ESC). MBA has sandwich doctorate fellowship by CNPq – PDEE.

### References

- Alaea M., Arias P. et al. 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ Int.* 29, 683-689. Doi 10.1016/S0160-4120(03)00121-1.
- Alonso M. B., Azevedo A. et al. 2014. Anthropogenic (PBDE) and naturally-produced (MeO-PBDE) brominated compounds in cetaceans - A review. *Sci Total Environ.* 481, 619-634. Doi 10.1016/j.scitotenv.2014.02.022.
- Aznar-Alemany Ò., Giménez J. et al. 2017. Insecticide pyrethroids in liver of striped dolphin from the Mediterranean Sea. *Environ. Pollut.* 225, 346-353. Doi <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.060>
- Barón E., Eljarrat E., Barceló D. 2012. Analytical method for the determination of halogenated norbornene flame retardants in environmental and biota matrices by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 1248, 154-160. Doi 10.1016/j.chroma.2012.05.079.
- Barón E., Eljarrat E., Barceló D. 2014. Gas chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of 19 brominated compounds in environmental and biological samples. *Anal Bioanal Chem.* 406(29), 7667-7676. Doi 10.1007/s00216-014-8196-7.
- Barón E., Giménez J. et al. 2015a. Bioaccumulation and biomagnification of classical flame retardants, related halogenated natural compounds and alternative flame retardants in three delphinids from Southern European waters. *Environ Pollut.* 203, 107-115.
- Barón E., Hauler C. et al. 2015b. Halogenated natural products in dolphins: brain-blubber distribution and comparison with halogenated flame retardants. *Environ Sci Technol.* 49, 9073-9083. Doi 10.1021/acs.est.5b02736

- Betts K. 2008. New flame retardants detected in indoor and outdoor environments. *Environ Sci Technol.* 42, 6778.
- Borghesi N., Corsolini S. et al. 2009. Polybrominated diphenyl ether contamination levels in fish from the Antarctic and the Mediterranean Sea. *Chemosphere.* 77(5), 693-698.
- Borghesi N., Corsolini S., Focardi S. 2008. Levels and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorine pollutants in two species of Antarctic fish (*Chionodraco hamatus* and *Trematomus bernacchii*). *Chemosphere.* 73, 155-160.
- Branchi I., Capone F. et al. 2003. Polybrominated diphenyl ethers: Neurobehavioral effects following developmental exposure. *NeuroToxicology.* 24, 449-462. Doi 10.1016/S0161-813X(03)00020-2.
- Cipro C., Bustamante P. et al. 2012. Persistent organic pollutants and stable isotopes in pinnipeds from King George Island, Antarctica. *Mar Pollut Bull.* 64(12), 2650-2655.
- Corsolini S., Ademollo N. et al. 2004. Poly-brominated diphenyl-ethers (PBDEs) and other persistent organic pollutants in blood of penguins from the Ross Sea (Antarctica). *Organohalogen Compd.* 66, 1718-1724.
- Corsolini S., Ancora S. et al. 2014. Organotropism of persistent organic pollutants and heavy metals in the Greenland shark *Somniosus microcephalus* in NE Greenland. *Mar Pollut Bull.* 87, 381-387. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.07.021>
- Corsolini S., Berghesi N. et al. 2007. Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated dibenzo-dioxins, -furans, and -biphenyls in three species of Antarctic penguins. *Env Sci Pollut Res.* 14(6), 421-429.
- Corsolini S., Covaci A. et al. 2006. Occurrence of organochlorine pesticides (OCPs) and their enantiomeric signatures, and concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the Adelie penguin food web, Antarctica. *Environ Pollut.* 140(2), 371-382.
- Costa, L. G., Giordano, G. 2011. Is decabromodiphenyl ether (BDE-209) a developmental neurotoxicant? *NeuroToxicology.* 32, 9-24. Doi 10.1016/j.neuro.2010.12.010.
- Covaci A., Harrad S. et al. 2011. Novel brominated flame retardants: A review of their analysis, environmental fate and behaviour. *Environ Int.* 37, 532-556. Doi 10.1016/j.envint.2010.11.007.
- Cruz R., Cunha S. C., Casal S. 2015. Brominated flame retardants and seafood safety: A review. *Environ Int.* 77, 116-131. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.001>.
- Daneri G. A., Carlini A. R. et al. 2015. The feeding habits of the Southern elephant seal, *Mirounga leonina*, at Isla 25 de Mayo/King George Island, South Shetland Islands. *Polar Biology.* 38, 665-676. Doi 10.1007/s00300-014-1629-0
- de la Cal A., Eljarrat E., Barceló D. 2003. Determination of 39 polybrominated diphenyl ether congeners in sediment samples using fast selective pressurized liquid extraction and purification. *J Chromatogr A.* 1021, 165-173. Doi 10.1016/j.chroma.2003.09.023.
- de Wit C., Herzke D., Vorkamp K. 2010. Brominated flame retardants in the Arctic environment - trends and new candidates. *Sci Total Environ.* 408(15), 2885-2918.
- Eljarrat E., Labandeira A. et al. 2007. Decabrominated diphenyl ether in river fish and sediment samples collected downstream an industrial park. *Chemosphere.* 69, 1278-1286. Doi 10.1016/j.chemosphere.2007.05.052.
- Eljarrat E., Lacorte S., Barceló D. 2002. Optimization of congener-specific analysis of 40 polybrominated diphenyl ethers by gas chromatography/mass spectrometry. *J Mass Spectrom.* 37, 76-84. Doi 10.1002/jms.262.
- EPA. United States Environmental Protection Agency. 2014. An alternative assessment for the flame retardant decabromodiphenyl ether (DecaBDE). <[https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-05/documents/decabde\\_final.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-05/documents/decabde_final.pdf)> [accessed: March 2017].
- Feo M. L., Barón E. et al. 2012. Dechlorane Plus and related compounds in aquatic and terrestrial biota: a review. *Anal Bioanal Chem.* 404, 2625-2637. Doi 10.1007/s00216-012-6161-x.
- Gorga M., Martínez E. et al. 2013. Determination of PBDEs, HBB, PBEB, DBDPE, HBCD, TBBPA and related compounds in sewage sludge from Catalonia (Spain). *Sci Total Environ.* 444, 51-59. Doi 10.1016/j.scitotenv.2012.11.066.
- Goutte A., Chevreuil M. et al. 2013. Persistent organic pollutants in benthic and pelagic organisms off Adelie Land, Antarctica. *Mar Pollut Bull.* 77, 82-89.
- Guerra P., Alaeo M. et al. 2012. Emerging and historical brominated flame retardants in peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs from Canada and Spain. *Environ Int.* 40, 179-186. Doi 10.1016/j.envint.2011.07.014.
- Guerra P., Eljarrat E., Barceló D. 2010b. Analysis and occurrence of emerging brominated flame retardants in the Llobregat River basin. *J Hydrol.* 383, 39-43. Doi 10.1016/j.jhydrol.2009.06.052.
- Guerra P., Fernie K. et al. 2011. Dechlorane Plus and related compounds in peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs from Canada and Spain. *Environ Sci Technol.* 45, 1284-1290. Doi 10.1021/es103333j.
- Hardy M., Margitich D., et al. 2002. The subchronic oral toxicity of ethane, 1,2-bis(pentabromophenyl) (Saytex 8010) in rats. *Int J Toxicol.* 21(3), 165-170.
- Harner T., Shoeib M. et al. 2006. Passive sampler derived air concentrations of PBDEs along an urban-rural transect: Spatial and temporal trends. *Chemosphere.* 64, 262-267. Doi 10.1016/j.chemosphere.2005.12.018.
- Harrington A., Daneri G. A. et al. 2017. Seasonal variation in the diet of Antarctic fur seals, *Arctocephalus gazella*, at 25 de Mayo/King George Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Polar Biology.* 40, 471-475. Doi 10.1007/s00300-016-1959-1
- Hong Q. I., Liyan L. et al. 2010. Dechlorane plus in surficial water and sediment in a northeastern Chinese river.

- Environ Sci Technol. 44, 2305-2308. Doi 10.1021/es9027106.
- Houde M., Berryman D. et al. 2014. Novel brominated flame retardants and dechloranes in three fish species from the St. Lawrence River, Canada. *Sci Total Environ*. 479, 48-56. Doi 10.1016/j.scitotenv.2014.01.105.
- Jepson P. D., Deaville R. et al. 2016. PCB pollution continues to impact populations of orcas and other dolphins in European waters. *Scientific Reports*. 6, 18573.
- Jia H., Sun Y. et al. 2011. Concentration and bioaccumulation of dechlorane compounds in coastal environment of northern China. *Environ Sci Technol*. 45, 2613-2618. Doi. 10.1021/es103723h.
- Johnson E. L. 1976. Administrator's decision to accept plan of mississippi authority and order suspending hearing for the pesticide chemical mirex. *Federal Register* 41, 56694-56703.
- Kim J., Son M. et al. 2015. Occurrence of legacy and new persistent organic pollutants in avian tissues from King George Island, Antarctica. *Environ Sci Technol*. 49(22), 13628-13638.
- Labandeira A., Eljarrat E., Barceló D. 2007. Congener distribution of polybrominated diphenyl ethers in feral carp (*Cyprinus carpio*) from the Llobregat River, Spain. *Environ Pollut*. 146, 188-195. Doi 10.1016/j.envpol.2006.04.037.
- Lacorte S., Ikononou M. G., Fischer M. 2010. A comprehensive gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry based method for the determination of polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated and methoxylated metabolites in environmental samples. *J Chromatogr A*. 1217, 337-347. Doi 10.1016/j.chroma.2009.11.024.
- Lana N., Berton P. et al. 2014. Fingerprint of persistent organic pollutants in tissues of Antarctic notothenioid fish. *Sci Total Environ*. 499, 89-98.
- Li L., Wang W. et al. 2014. Bioavailability and tissue distribution of dechloranes in wild frogs (*Rana limnocharis*) from an e-waste recycling area in Southeast China. *J Environ Sci*. 26, 636-642. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(13\)60447-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(13)60447-7)
- Losada S., Roach A. et al. 2009. Biomagnification of anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in a marine food web from Sydney Harbour, Australia. *Environ Int*. 35, 1142-1149. Doi 10.1016/j.envint.2009.07.008.
- Lu B., Wang Z. P. et al. 2005. Residue levels of PCBs and OCPs in eggs of Antarctic seabirds and their global significance. *Acta Ecologica Sinica*. 25, 2440-2445.
- Malmvärn A., Zebühr Y. et al. 2008. Hydroxylated and methoxylated polybrominated diphenyl ethers and polybrominated dibenzo-p-dioxins in red alga and cyanobacteria living in the Baltic Sea. *Chemosphere*. 72(6), p10-916.
- Mikula, P., Svobodova, Z. 2006. Brominated flame retardants in the environment: Their sources and effects (a review). *Acta Vet Brno*. 75, 587-599. Doi 10.2754/avb200675040587.
- Möller A., Xie Z. et al. 2010. Large-scale distribution of Dechlorane Plus in air and seawater from the Arctic to Antarctica. *Environ Sci Technol*. 44(23), 8977-8982.
- Möller A., Xie Z. et al. 2011. Polybrominated diphenyl ethers vs alternate brominated flame retardants and dechloranes from east Asia to the Arctic. *Environ Sci Technol*. 45(16), 6793-6799.
- Möller A., Xie Z. et al. 2012. Brominated flame retardants and Dechlorane Plus in the marine atmosphere from southeast Asia toward Antarctica. *Environ Sci Technol*. 46(6), 3141-3148.
- Norén K., Meironyté D. 2000. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20–30 years. *Chemosphere*. 40, 1111-1123. Doi 10.1016/S0045-6535(99)00360-4.
- REACH. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC. 2006. <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32006R1907>> [accessed: August 2015].
- Roscales J., González-Solís J. et al. 2016. Latitudinal exposure to DDTs, HCB, PCBs, PBDEs and DP in giant petrels (*Macronectes* spp.) across the Southern Ocean. *Environ Res*. 148, 285-294.
- Sánchez-Avila J., Fernández-Sanjuan M. et al. 2011. Development of a multi-residue method for the determination of organic micropollutants in water, sediment and mussels using gas chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 1218, 6799-6811. Doi 10.1016/j.chroma.2011.07.056.
- SC. 2008. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. <<http://chm.pops.int/>> [accessed: June 2015].
- Schechter A., Haffner D. et al. 2010. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclodecane (HBCD) in composite U.S. food samples. *Environ Health Perspect*. 118, 357-362. Doi 10.1289/ehp.0901345.
- Schiavone A., Kannan K. et al. 2009. Occurrence of brominated flame retardants, polycyclic musks, and chlorinated naphthalenes in seal blubber from Antarctica: Comparison to organochlorines. *Mar Pollut Bull*. 58, 1406-1419.
- Shen L., Jobst K. et al. 2012. Identification and determination of the dechlorination products of Dechlorane 602 in Great Lakes fish and Arctic beluga whales by gas chromatography–high resolution mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 404(9), 2737-2748.
- Shen L., Reiner E. J. et al. 2011. Historic trends of dechloranes 602, 603, 604, Dechlorane Plus and other

- norbornene derivatives and their bioaccumulation potential in Lake Ontario. *Environ Sci Technol.* 45, 3333-3340. Doi 10.1021/es104328r.
- Siddique S., Xian Q. et al. 2012. Levels of dechlorane plus and polybrominated diphenylethers in human milk in two Canadian cities. *Environ Int.* 39, 50-55. Doi 10.1016/j.envint.2011.09.010.
- Sverko E., Tomy G. T. et al. 2007. Dechlorane Plus levels in sediment of the lower Great Lakes. *Environ Sci Technol.* 42, 361-366. Doi 10.1021/es0710104.
- Torre A. D. I., Pacepavicius G. et al. 2010a. Dechlorane plus and related compounds in Spanish air. *Organohalogen Compd.* 72, 929-932.
- Torre A. D. I., Shen L. et al. 2010b. New halogenated norbornene flame retardants in sewage sludge. *Organohalogen Compd.* 72, 1060-1063.
- Vetter W. 2006. Marine halogenated natural products of environmental relevance. In: *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol 188. Springer, New York, pp. 1-57. Doi 10.1007/978-0-387-32964-2\_1.
- Vetter W., Stoll E. et al. 2002. Sponge halogenated natural products found at parts-per-million levels in marine mammals. *Environ Toxicol Chem.* 21, 2014-2019. Doi 10.1002/etc.5620211002.
- Wang P., Zhang Q.-h. et al. 2012. PCBs and PBDEs in environmental samples from King George Island and Ardley Island, Antarctica. *RSC Advances.* 2, 1350-1355. Doi 10.1039/c1ra00462j
- Watanabe I. 2003. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environ Int.* 29(6), 665-682.
- WHO. World Health Organisation. 1984. Environmental Health Criteria 44: Mirex. <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc44.htm>> [accessed: March 2017].
- Wolschke H., Meng X. et al. 2015. Novel flame retardants (N-FRs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) in fish, penguin, and skua from King George Island, Antarctica. *Mar Pollut Bull.* 96(1-2), 513-518.
- Yamaguchi Y., Kawano M. et al. 1988. Hexabromobenzene and its debrominated compounds in human adipose tissues of Japan. *Chemosphere.* 17(4), 703-707
- Yordy J. E., Wells R. S. et al. 2010. Partitioning of persistent organic pollutants between blubber and blood of wild bottlenose dolphins: Implications for biomonitoring and health. *Environ Sci Technol.* 44, 4789-4795. Doi 10.1021/es1004158
- Zhang Y., Wu J. et al. 2011. Tissue distribution of Dechlorane Plus and its dechlorinated analogs in contaminated fish: High affinity to the brain for anti-DP. *Environ Pollut.* 159(12), 3647-3652.

## 6.3 Discussió biota

### **Abstract**

This thesis includes the first published data for pyrethroids in dolphins from the northern hemisphere and for OPFRs in cetaceans and marine organisms in the world. Table 12 compares the results from this thesis with other studies on striped dolphin from the Mediterranean Sea. Figure 10 shows the same data, limited to the compounds studied in this thesis and excluding the emerging BFR, which were below  $L_Q$  or  $L_D$ . The comparison with other studies is made knowing that there is a margin of error due to some studies having used different tissues as samples.

PBDEs levels in Catalan dolphins were higher than in dolphins from the Alboran Sea. The population on the Catalan coast (7.1 million people) more than doubles the population on the coast of the Alboran Sea (3.3 million). This would explain a greater use and release of PBDEs on the Catalan coast, thus the higher levels. The levels in South African dolphins were comparable to those in the Alboran Sea. Some studies have shown high levels of PBDEs in South Africa. However, information is scarce and further studies are required to decide between a local source and a regional trend. Figure 11 confronts the levels found in Catalan Mediterranean and Indian dolphins. Only the Mediterranean dolphins belonging to the third period were used to match the dates of the Indian sampling. Levels of PBDEs were higher in the Mediterranean Sea than in the Indic Ocean. Levels in North America, Europe and Asia are typically higher than in Africa. There are few studies on toxic effects of PBDEs on marine mammals and none on cetaceans. The estimated risk threshold for thyroid endocrine disruption in grey seals from the United Kingdom was estimated at  $1,500 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Hall, 2003). Conceding certain parallelism between marine mammals, there is a strong potential risk for Mediterranean dolphins ( $1,350\text{-}10,700 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ ). As shown in figures 10 and 12, HBCD levels were always lower than PBDE levels. Also, HBCD showed in a third of the samples, while PBDE showed in all of them. BSAF values for HBCD are one or two orders of magnitude lower than for PBDEs and PBDEs had been used longer. However, HBCD was found in the Antarctic seals, just as PBDEs, in a smaller side study not included in this thesis.

The emerging BFRs were always below  $L_Q$  or  $L_D$ . However, HBB was found in brain of striped dolphin at levels ten times higher than in blubber. Crossing the BBB is critical for a contaminant with possible neurotoxicity. Additionally, this shows that limiting the studies to one tissue might not be enough. DBDPE might have not been used enough and, just as BDE-209, is a big molecule that may have a low BSAF. Despite the low concentrations found, these compounds should be monitored —as EFA recommends— to see if this changes with time. On the other hand, dechloranes are in most dolphin samples at similar levels in the Mediterranean Sea and in the Indian Ocean. Mediterranean levels are comparable to those of HBCD, but Indian levels of dechloranes are higher than those of the legacy POP. In this thesis, dechloranes have also been proved to be transported to the Antarctica, to cross the BBB and to probably show growing levels. And some studies discovered similar or higher toxic potential than PBDEs. These findings make dechloranes a possible candidate to be listed in the Stockholm Convention. OPFRs were not part of the initial plan of this thesis, but their frequency of detection, levels and toxicity require the attention of the scientific community. Levels of MeO-PBDEs were similar in the

Mediterranean Sea and the Indian Ocean and lower than levels of PBDEs. However, it is important to monitor them as they are analogous to those POPs.

Regarding pseudo-persistent compounds, pyrethroids were also analysed in the Indian dolphins and in the Antarctic seals and in Brazilian but levels were below  $1 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Strong variations in the levels of pyrethroids are found in different studies suggesting that their levels are connected to their use in each region. The dominating pyrethroids for each region —tetramethrin and permethrin in the Mediterranean and permethrin and cypermethrin in Brasil— would mirror the composition of the commercial mixtures.

This thesis also showed how an increase in temperature and a decrease of pH, likely to happen due to climate change, can boost the bioaccumulation of dechloranes, which is likely to happen with other FRs.

Aquesta tesi inclou les primeres dades publicades per a piretroides en dofins de l'hemisferi nord i per a OPFR en cetacis i organismes marins en general a tot el món. També augmenta la base de dades, encara reduïda però creixent, d'informació sobre retardants de flama emergents en cetacis. A la taula 16 es mostren tots els resultats obtinguts en aquesta tesi per als dofins ratllats del Mediterrani (retardants de flama a Catalunya i piretroides al mar d'Alboran) i per a les tres espècies de l'oceà Índic, juntament amb quatre estudis sobre retardants de flama i COP en dofins ratllats del Mediterrani publicats en l'última dècada. Aquests estudis inclouen dofins del mar d'Alboran, al sud-est d'Espanya (Barón, 2015b); un conjunt de dofins de l'estret de Gibraltar, de França i d'Itàlia (Fossi, 2013); un altre conjunt de França (Wafo, 2012) i un de les aigües dels Països Catalans (Castrillon, 2010). La figura 10 exposa gràficament les mateixes dades, mitjana i rang, per als compostos analitzats en els estudis d'aquesta tesi. No s'hi mostren l'HBB, el PBEB ni el DBDPE perquè o bé no s'han detectat o bé estan per sota dels seus  $L_Q$ . Se n'exclouen també els PCB i el DDT perquè estan en un rang de dos o tres ordres de magnitud superiors.

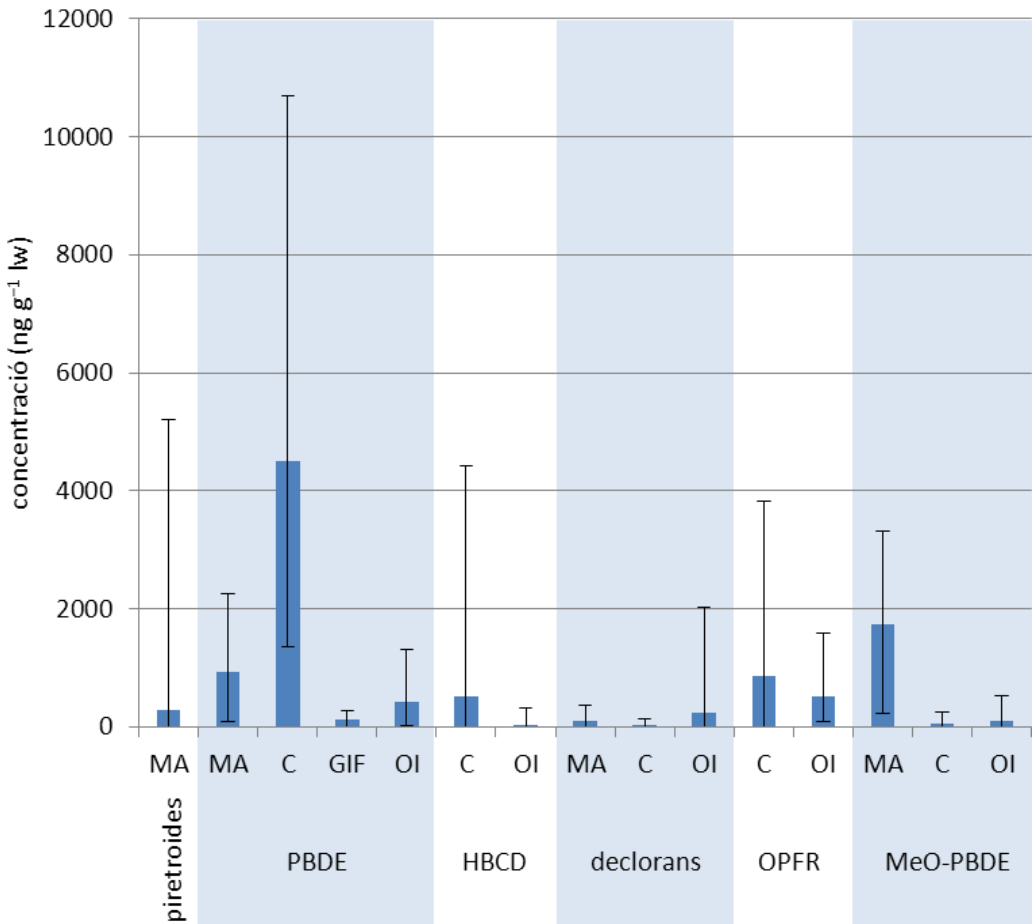
Aquests estudis s'han fet en diferents teixits i això podria impedir una comparació adequada. Per pal·liar aquest inconvenient, s'utilitzaran les dades sobre distribució de PCB en teixits de dofins ratllats del sud d'Itàlia (Storelli, 2012). En aquell estudi el greix tenia les concentracions més elevades, fins a un o dos ordres de magnitud majors que el múscul, que tenia els valors menors. El fetge tenia valors intermedis. Per als PBDE, COP similars als PCB, suposarem una distribució similar i la farem extensible als altres retardants de flama, ja que les seves propietats fisicoquímiques són similars als PBDE (vegeu 3.3 Propietats). Ara bé, només suposarem que es manté l'ordre de preferència de teixit, sense traslladar la magnitud de la diferència. D'altra banda, no es pot suposar el mateix per als piretroides, ja que un estudi pendent de publicació del nostre grup de recerca suggereix que no hi ha cap relació entre la concentració de piretroides i el contingut de lípids. El mateix passa per als compostos perfluorats, que s'acumulen en les proteïnes i no en els lípids (Lindh, 2012). La comparació dels nivells de piretroides s'ha de fer, doncs, conscient que hi haurà un marge d'error en la interpretació.



**Taula 16. Concentracions (ng g<sup>-1</sup> lw) de contaminants per als dofins d'aquesta tesi comparades amb dades publicades recentment per a dofins ratllats del Mediterrani**

compostos	teixit	lloc de mostreig <sup>a</sup>	mitjana	valor menor	valor major	freqüència de detecció
PCB	pell	estret de Gibraltar, França i Itàlia	39489	17996	72810	100
	greix	Països Catalans	57170	7330	152540	100
	greix	França	57336	2052	1617516	100
DDT	pell	estret de Gibraltar, França i Itàlia	28814	6530	74681	100
	greix	Països Catalans	69300	5650	258160	100
	greix	França	15995	1120	55174	100
PBDE	greix	mar d'Alboran	940	100	2250	100
	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	4496	1352	10706	100
	pell	estret de Gibraltar, França i Itàlia	130	11,5	286	100
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	416	33,3	1309	100
HBCD	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	514	n. d.	4425	33
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	27	n. d.	330	15
HBB	greix	mar d'Alboran	8,2	n. d.	8,2	9
	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	n. d.	-	< 0,18	0
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	n. d.	-	< 0,18	0
PBEB	greix	mar d'Alboran	n. d.	-	< 0,06	0
	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	n. d.	-	< 0,20	0
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	n. d.	-	< 0,20	0
DBDPE	greix	mar d'Alboran	n. d.	-	< 1,06	0
	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	n. q.	> 0,08	< 0,26	100
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	n. q.	> 0,08	< 0,26	100
decolorans	greix	mar d'Alboran	105	12,0	380	100
	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	35	7,4	144	100
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	232	n. d.	2034	85
OPFR	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	859	8,0	3820	100
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	526	86	1597	100
MeO-PBDE	greix	mar d'Alboran	1734	242	3320	100
	<b>múscul</b>	<b>Catalunya</b>	65	n. d.	263	92
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	114	1,5	529	100
piretroides	<b>fetge</b>	<b>mar d'Alboran</b>	300	2,7	5210	100
	<b>múscul</b>	<b>oceà Índic</b>	0,79	0,2	2,4	100

<sup>a</sup>Les dades de Catalunya i de l'oceà Índic s'han obtingut en el treball d'aquesta tesi. Les de l'estret de Gibraltar, França i Itàlia (Fossi, 2013), França (Wafu, 2012), Països Catalans (Castrillon, 2010) i el mar d'Alboran (Barón, 2015b) pertanyen a altres publicacions.



**Figura 10. Concentracions mitjanes i rangs (ng g<sup>-1</sup> lw) de contaminants per als dofins d'aquesta tesi comparades amb dades publicades recentment per a dofins ratllats del Mediterrani. MA = mar d'Alboran, C = Catalunya, GIF = Gibraltar, Itàlia i França, OI = oceà Índic**

Fixem-nos primer en els COP clàssics, és a dir els PBDE i l'HBCD. Les concentracions de PBDE en múscul de dofí ratllat de la costa catalana semblen lleugerament més altes que les documentades en greix al mar d'Alboran. Si la contaminació ambiental fos la mateixa a les dues zones, podríem esperar potser concentracions més elevades en les mostres de greix que en les de múscul. Ara bé, els PBDE són d'origen estrictament antropogènic i la densitat de població a les províncies de les costes on es van trobar els dofins pot ser rellevant. Entre els anys 2010 i 2013, la població de les tres províncies de la costa catalana, Girona, Barcelona i Tarragona, era d'uns 7,1 milions d'habitants; mentre que les províncies de la costa del mar d'Alboran, Almeria,

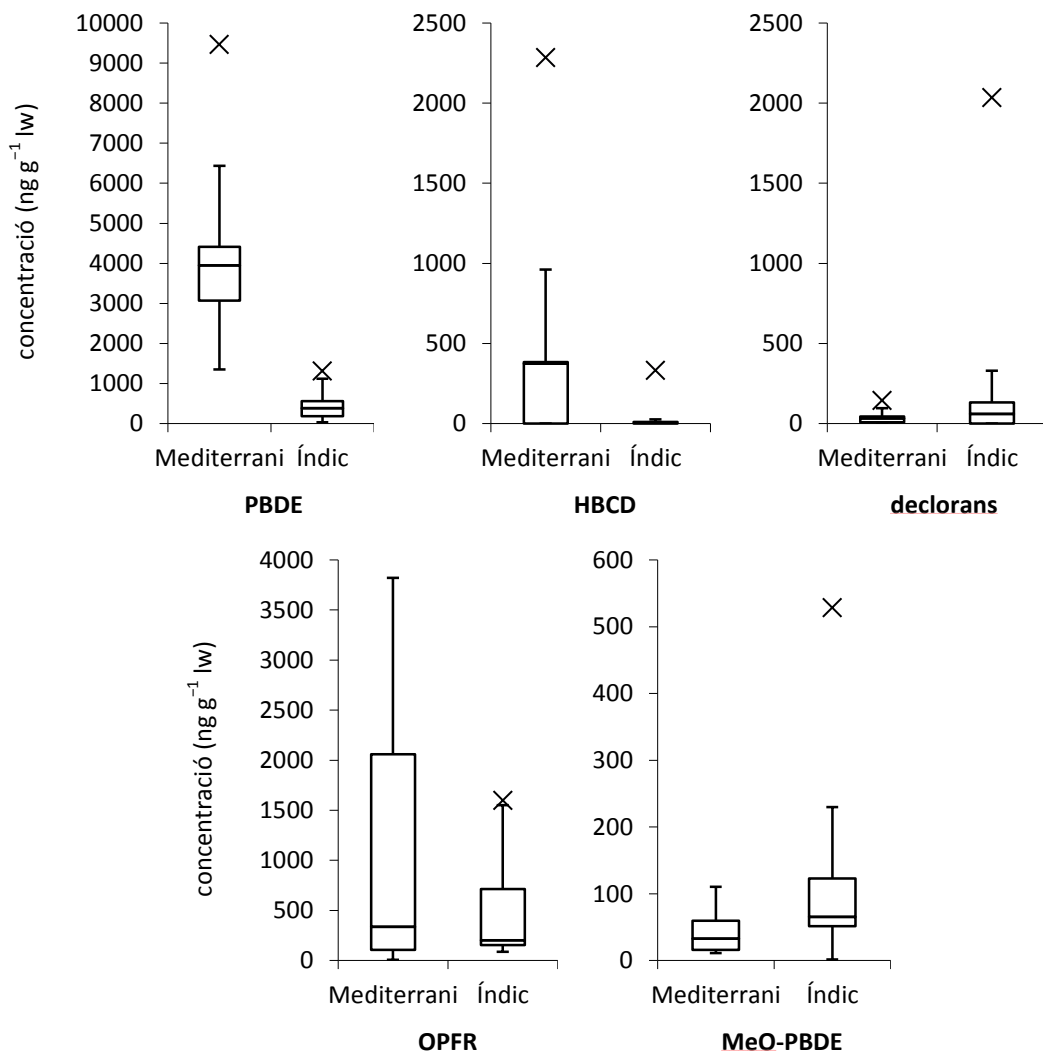
Granada i Màlaga, no arribaven als 3,3 milions (INE, 2017). Una població de més del doble d'habitants podria significar més contaminació. Això explica que les mostres catalanes estiguin més contaminades. Probablement, si s'hagués analitzat el greix dels dofins de Catalunya, la diferència seria més visible.

Els nivells de PBDE en múscul de dofins de Sud-àfrica sorprenen perquè encaixen prou bé amb els del mar d'Alboran, si bé lleugerament inferiors, tot i que les concentracions en peixos de l'Àfrica solen ser un parell d'ordres de magnitud menor que en peixos de l'Amèrica del Nord, d'Europa i de l'Àsia (Eljarrat, 2017). Com s'ha comentat en l'estudi pertinent, la ciutat de Durban, a la mateixa província de KwaZulu-Natal, podria actuar com a font de contaminació local (Abafe i Martincigh, 2015, 2016). Peixos de riu de la regió de Johannesburg mostrejats el 2013 van mostrar concentracions d'entre 4,63 i 33 ng g<sup>-1</sup> lw i els sediments contenien entre 10 i 24 ng g<sup>-1</sup> ww (Chokwe, 2015). Tot i que les concentracions en peix no són especialment elevades, les concentracions en sediment superen els 9,0 ng g<sup>-1</sup> dw del Mediterrani. Ara bé, aquestes dades són d'aigües continentals i calen més estudis en medi marí per esbrinar si els dofins del nostre estudi són representatius d'aquella part de l'oceà Índic.

La comparació amb un test t dels resultats obtinguts per a PBDE en múscul de dofins ratllats del Mediterrani i en múscul de dofins de l'oceà Índic es pot fer si es tenen en compte unes condicions. En primer lloc, cal comparar individus dels mateixos anys per evitar introduir desviacions per tendències temporals. Segons el que hem observat, els nivells de PBDE en dofins del Mediterrani no han sofert canvis significatius, però utilitzarem les mostres dels anys 2014-2016 ( $n = 5$ ) igualment per comparar amb les mostres dels anys 2012-2015 de l'Índic ( $n = 13$ ). En segon lloc, la varietat d'espècies i sexes entre els dofins de l'Índic i el número reduït de mostres no permet detectar cap diferència de nivells de contaminació que els distingeixi. Per això s'inclouen totes les mostres de l'estudi de l'Índic en la comparació. La figura 11 mostra les comparacions per a totes les famílies de compostos que s'han pogut quantificar entre els dos estudis, sempre utilitzant les mostres que es mencionen en aquest mateix paràgraf.

Estadísticament, comparant el mateix teixit, el múscul, les concentracions de PBDE en dofins del Mediterrani són més grans que en els dofins de l'Índic ( $t = 4,21$ ,  $df = 14$ ,  $p < 0,01$ ). És un fet esperable tenint en compte la diferència habitual entre nivells a l'Amèrica del Nord, Europa i l'Àsia per una banda i a l'Àfrica per una altra.

Cal tenir en compte, però, què signifiquen aquestes concentracions per als dofins. Hi ha pocs estudis fets sobre l'efecte dels PBDE en mamífers marins. Un estudi en foques grises del Regne Unit va estimar en 1.500 ng g<sup>-1</sup> lw el llindar de risc de disrupció endocrina tiroïdal (Hall, 2003). Utilitzarem aquest llindar per als dofins pel fet de ser mamífers marins i perquè no es disposa de dades més representatives. Per tant, aquesta avaluació de risc només serà un indicador potencial.



**Figura 11. Comparació amb diagrames de caixes dels nivells de PBDE, declorans, HBCD, OPFR i MeO-PBDE entre dofins del mar Mediterrani i dofins de l'oceà Índic**

El rang de concentracions de PBDE en dofins del Mediterrani anava de 1.350 a 10.700 ng g<sup>-1</sup> lw i el dels dofins de l'Índic, de 33 a 1.310 ng g<sup>-1</sup> lw. Tenint en compte que per a dofins el lliandar de 1.500 ng g<sup>-1</sup> lw és un valor imprecís de referència, es pot dir que tots els dofins de la costa catalana estan potencialment en risc; alguns amb concentracions fins a set vegades superiors. En el cas de Sud-àfrica, podria ser que els dofins més contaminats estiguessin en risc. En el cas desafortunat que el lliandar real per als dofins fos menor, es confirmaria el risc per als dofins del

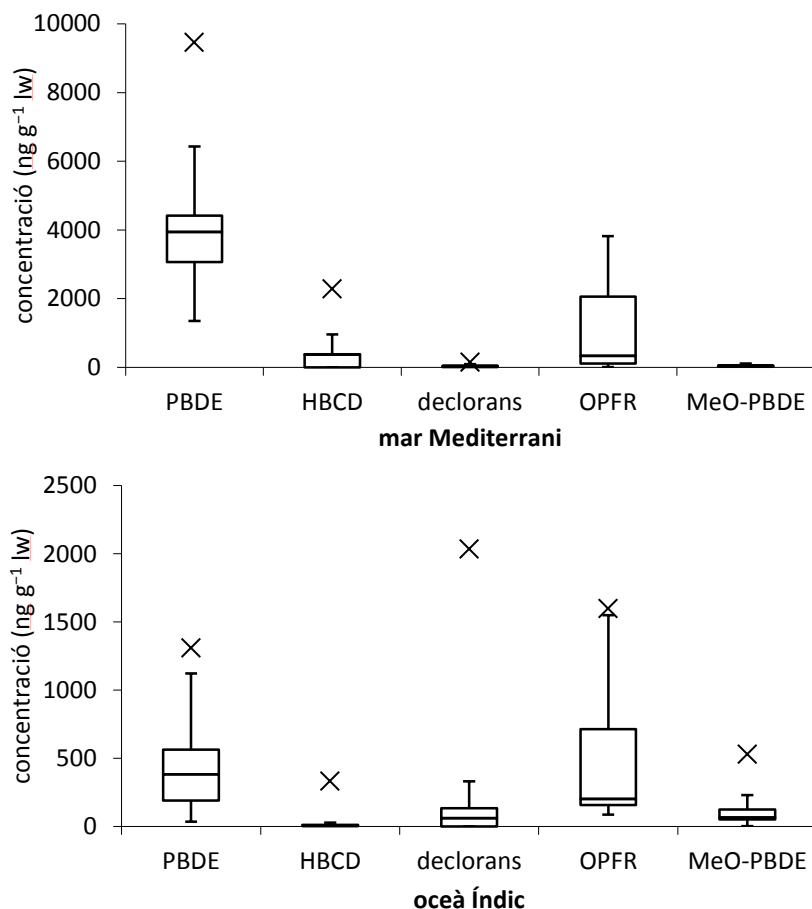
Mediterrani i més dofins de l'Índic podrien estar en risc. Si, contràriament, el llindar fos més alt, els dofins de l'Índic podrien estar segurs, però probablement molts dels dofins del Mediterrani encara el sobrepassarien.

L'HBCD és l'altre retardant de flama a la llista dels COP. Això no obstant, com es pot veure en les figures 10 i 12, les concentracions d'HBCD en múscul de dofí són menors que les de PBDE tant al Mediterrani ( $t = 4,40$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,01$ ) com a l'Índic ( $t = 5,75$ ,  $df = 21$ ,  $p < 0,01$ ). A més, els PBDE es detecten en totes les mostres, mentre que l'HBCD només en un 33 % de les del Mediterrani i en un 15 % de les de l'Índic. Tot i que el BMF de l'HBCD pot ser similar al dels PBDE (Law, 2006), els valors de BSAF de l'HBCD poden ser un o dos ordres de magnitud menors que els del BDE-47 i el BDE-100 (vegeu 3.4 Bioacumulació i biomagnificació). Addicionalment, els PBDE es van començar a utilitzar abans. Aquests motius expliquen la diferència observada.

Pel que fa a la resta de retardants de flama bromats, cap dels emergents no s'ha pogut quantificar, sovint ni tan sols detectar, ni en les mostres d'aquesta tesi ni en estudis publicats. Només en un 9 % de mostres del mar d'Alboran s'hi va detectar HBB, però a concentracions per sota dels  $10 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Ara bé, un estudi que comparava les concentracions dels retardants de flama en greix i en cervell de dofí ratllat del Mediterrani va trobar una concentració màxima d'HBB de  $8,20 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  en greix i de fins a  $100 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  al cervell. Això demostra el potencial de l'HBB de creuar la barrera hematoencefàlica, un fet problemàtic si el compost tingués propietats neurotòxiques com molts altres retardants de flama. D'altra banda, també ens indica que si haguéssim disposat de mostres de cervell, potser hauríem detectat nivells superiors.

Recordem que el DBDPE és l'alternativa designada per al BDE-209, però potser no s'ha utilitzat prou encara. A més, durant molts anys es va considerar que el BDE-209 no es bioacumulava perquè era una molècula massa gran per travessar la membrana cel·lular, però amb el temps s'ha vist que es bioacumula, tot i que en menor grau que els altres PBDE. El DBDPE també és una molècula gran, amb deu àtoms de brom, i podria tenir un potencial de bioacumulació també més petit.

El PBEB s'usava als Estats Units durant els anys 70 i 80, però ara es un compost de volum de producció baix a França (Hoh, 2005). L'HBB es produeix principalment al Japó i a la Xina (Watanabe i Sakai, 2003), mentre que no hi ha dades que es produeixi a Europa (Covaci, 2011). Si bé els retardants de flama bromats emergents tenen  $\log K_{ow}$  més elevats que l'HBCD (DBDPE, 11,1; HBB, 6,11; PBEB, 6,76) també sembla que tenen solubilitats en aigua un ordre de magnitud majors. L'EFSA recomana controlar aquests compostos emergents pel seu perill potencial (Cruz, 2015; Vandermeersch, 2015), però sembla que per ara no suposen una amenaça per als organismes marins si no s'hi detecten, tot i que caldria estudiar millor factors com la distribució en teixits, que indica que potser l'HBB sí que suposaria un risc.



**Figura 12. Comparació amb diagrames de caixes entre els nivells de PBDE, dechlorans, HBCD, OPFR i MeO-PBDE en dofins de cada zona**

Els que sempre es detecten, tant al Mediterrani com a l'Índic, són els dechlorans. A la figura 11 es pot apreciar que les concentracions als dos llocs són similars ( $t = 2,07$ ,  $df = 14$ ,  $p > 0,05$ ). Ara bé, mentre que els dechlorans són presents en totes les mostres del Mediterrani, només es troben en el 85 % de les de l'Índic, que, d'altra banda, no deixa de ser la major part. Les concentracions de dechlorans són menors que les de PBDE al Mediterrani ( $t = 4,70$ ,  $df = 6$ ,  $p < 0,01$ ) i a l'Índic ( $t = 3,99$ ,  $df = 22$ ,  $p < 0,01$ ). En canvi, al Mediterrani són similars a les concentracions d'HBCD ( $t = 1,52$ ,  $df = 6$ ,  $p > 0,1$ ), però a l'Índic són superiors ( $t = 3,03$ ,  $df = 21$ ,  $p < 0,01$ ).

En resum, els dechlorans es detecten amb tanta freqüència com els PBDE, mentre que l'HBCD —un COP clàssic— no passa d'un terç de les mostres. A més, encara que al Mediterrani les concentracions de dechlorans i d'HBCD siguin comparables, a l'Índic els contaminants emergents

superen el COP clàssics. És important destacar que s'estima que el potencial hepatotòxic i genotòxic del DP és similar o superior al d'alguns PBDE, com el BDE-209 (Barón, 2016). Si a aquestes freqüències i concentracions comparables a les d'alguns COP hi afegim el fet que en l'estudi de variacions temporals semblava que les concentracions de declorans podien haver estat augmentant lentament els últims 20 anys, la preocupació pel futur d'aquests compostos és real.

Una altra família de contaminants que ha augmentat la seva presència en l'última dècada en múscul de dofins ratllats del Mediterrani és la dels OPFR. Aquests compostos no estaven plantejats en la idea original d'aquesta tesi, però l'oportunitat d'afegir-los en alguns dels estudis ha generat les primeres dades disponibles d'OPFR en mamífers marins de tot el món. I no són dades negligibles. Els OPFR s'han detectat en tots els individus analitzats en concentracions similars a les dels PBDE tant al Mediterrani ( $t = 1,93$ ,  $df = 7$ ,  $p > 0,05$ ) com a l'Índic ( $t = 0,63$ ,  $df = 22$ ,  $p > 0,1$ ). De fet, el rang de concentracions en els dofins del Mediterrani és prou ampli perquè estadísticament es consideri que el nivell d'OPFR és similar al de declorans ( $t = 1,68$ ,  $df = 7$ ,  $p > 0,1$ ). Però a l'Índic els OPFR mostren concentracions més elevades que els declorans ( $t = 2,49$ ,  $df = 22$ ,  $p < 0,05$ ).

Els OPFR suposen quasi un quart del total de retardants de flama usats mundialment, tenen valors de BCF i BMC per a alguns congèneres comparables o superiors a alguns PBDE, tot i que alguns es poden metabolitzar, i presenten efectes tòxics en el sistema reproductor i el sistema endocrí entre d'altres (Hou, 2016). Aquestes dades unides als nostres resultats indiquen que els OPFR són una família de retardants de flama que mereix tanta atenció de la comunitat científica com els declorans, malgrat que actualment no sigui tan popular analíticament, com a mínim en el camp dels organismes marins.

Si passem als compostos naturals, els MeO-PBDE es troben en tots o quasi tots els individus i tenen concentracions similars al Mediterrani i a l'Índic ( $t = 1,37$ ,  $df = 15$ ,  $p > 0,1$ ), malgrat que el rang de concentracions a l'Índia dobli el del Mediterrani. És possible que les concentracions de MeO-PBDE en dofins d'un l'oceà siguin més elevades que en dofins d'un mar, ja que aquests compostos els produeixen algues i esponges marines i les concentracions de MeO-PBDE en biota solen augmentar amb la distància a la costa. Això no obstant, cal tenir present que els MeO-PBDE són compostos anàlegs als PBDE i podrien suposar un risc similar. De fet, la relació entre concentracions dels compostos naturals i artificials es pot invertir amb la distància a la costa. Però en el cas dels dofins de l'Índic, tot i que tinguin concentracions de PBDE menors que els del Mediterrani, encara són superiors a les dels MeO-PBDE ( $t = 4,24$ ,  $df = 22$ ,  $p < 0,01$ ).

Posem atenció, finalment, als compostos pseudopersistents, els piretroides. A part de l'estudi en fetge de dofí ratllat del Mediterrani, també es van analitzar en les mateixes mostres de múscul dels dofins de l'Índic (taula 16). Aquest segon estudi de piretroides a l'Índic no s'ha explicat en detall perquè els resultats obtinguts no donaven lloc a una discussió per separat,

però sí que té sentit incloure'ls en aquesta discussió dels contaminants en mamífers marins en contrast amb totes les altres dades.

Ja hem mencionat que en fetge de mascles de dofí del Plata del Brasil els dofins joves presentaven una mitjana aproximada de  $20 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  i els adults, de  $25 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Alonso, 2012b). En l'estudi de la transferència materna en dofins del Plata i en l'espècie *Sotalia guianensis* del Brasil, les mares presentaven concentracions mitjanes de permetrín i de cipermetrín al voltant dels  $150 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Alonso, 2015). I en peixos salvatges i comestibles de rius d'Espanya, les concentracions totals variaven entre 12 i  $1.508 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  (Corcellas, 2015).

És evident que la concentració mitjana de  $0,79 \pm 0,69 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  en múscul de dofins de l'Índic és pràcticament negligible. Es poden destacar les freqüències de detecció més elevades: cipermetrín, 69 %; deltametrín, 54 %; tetrametrín i fenvalerat, 46 %. El tetrametrín va mostrar les concentracions més altes,  $0,23 \pm 0,32 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ . Aquests resultats suggereixen un ús molt reduït de piretroides a Sud-àfrica. No atribuiríem aquestes concentracions tan petites a un efecte de dilució de l'oceà, ja que els dofins del Brasil tenen concentracions molt més elevades.

Contràriament, s'ha vist a l'article dels piretroides en fetge de dofí ratllat del Mediterrani que les concentracions i les freqüències de detecció d'aquests pesticides són equiparables a les dels PBDE. S'havien esperat nivells més baixos que els dels dofins del Plata del Brasil, que estan en una posició superior en la cadena tròfica, però pot ser que l'oest del Mediterrani sigui una zona de contaminació especialment alta de piretroides en dofins com ho és per als PCB (Jepson, 2016). Això podria indicar que s'utilitzen més al Mediterrani que al Brasil. També s'observa una diferència en els piretroides predominants que indicaria el contingut de les mesclades utilitzades a cada regió. Al Mediterrani predominen el tetrametrín i el permetrín, mentre que al Brasil predominen el permetrín i el cipermetrín.

A part d'avaluar quant sovint es troben aquests contaminants en biota marina, a quines concentracions i la importància ambiental de cada compost en relació amb la similitud de comportament amb els PBDE, en aquesta tesi també s'han analitzat altres factors rellevants per conèixer millor el potencial dels contaminants.

L'estudi dels efectes dels canvis de temperatura ( $\Delta T = +4^\circ\text{C}$ ) i del pH ( $\Delta\text{pH} = -0.4$ ) en la bioacumulació de declorans en bivalves ha demostrat que aquests factors poden alterar el medi marí i facilitar la bioacumulació d'alguns contaminants quan els organismes hi estan exposats o l'eliminació quan es retira l'exposició. Tot i que aquí només s'ha presentat l'experiment referent als declorans, aquest estudi forma part d'un altre inclòs en el projecte ECsafeSEAFOOD que també analitzava els efectes d'aquests factors en la bioacumulació de TBBPA, arsènic inorgànic i en compostos perfluorats, com el PFOA. L'estudi va concloure que l'augment de temperatura facilitava la bioacumulació de TBBPA i l'eliminació de TBBPA i d'arsènic inorgànic, mentre que la disminució de pH facilitava l'eliminació d'arsènic inorgànic i de PFOA. Sembla que la major



similitud era amb el TBBPA, un altre retardant de flama amb una estructura relativament similar als PBDE i el DBDPE.

El canvi climàtic és un fet i aquest estudi ha demostrat que dues de les alteracions que es poden produir potencialment en els mars i oceans en un futur no gaire llunyà poden augmentar la bioacumulació d'uns compostos que, com s'ha vist en els altres estudis, són ben presents al medi i ja en els organismes. Això implica que el canvi climàtic pot empitjorar la situació respecte a la contaminació ambiental.

I no n'hi ha prou de controlar l'entorn proper a les grans poblacions humanes. En l'estudi amb elefants marins meridionals (*Mirounga leonina*) i ossos marins antàrtics (*Arctocephalus gazella*) s'ha confirmat que no només el PBDE es transporten a llargues distàncies. Si els PBDE es trobaven a concentracions de fins a 1,76 ng g<sup>-1</sup> lw en múscul d'aleta i de fins a 5,13 ng g<sup>-1</sup> lw en teixit adipós, els declorans, especialment el Dec 602, podien arribar a 0,48 ng g<sup>-1</sup> lw en l'aleta i fins a 3,50 ng g<sup>-1</sup> lw en el teixit adipós. Els altres retardants de flama no s'hi van detectar.

També es van analitzar l'HBCD en algunes de les mostres. Això no s'inclou en l'article perquè no es va fer l'anàlisi del grup sencer. Es va analitzar múscul d'aleta ( $n = 1$ ), sistema nerviós ( $n = 1$ ) i teixit adipós ( $n = 3$ ) d'elefants marins meridionals i sistema nerviós ( $n = 2$ ) i teixit adipós ( $n = 3$ ) d'ossos marins antàrtics. Es va detectar  $\alpha$ -HBCD en només una mostra de teixit adipós d'elefant marí, però per sota del  $L_{0}$ , i  $\gamma$ -HBCD en dues mostres del mateix teixit a 0,48 i 3,12 ng g<sup>-1</sup> lw. En les mateixes mostres de l'Antàrtida es van analitzar els piretroides i no s'hi van detectar. Ja s'esperava aquest resultat perquè els piretroides tenen  $DT_{50}$  inferiors a un o dos mesos en sediments i en aigua i no són compostos persistents.

Es va observar també que el Dec 602 pot creuar la barrera hematoencefàlica que protegeix el cervell de les substàncies nocives. És rellevant els declorans puguin accedir al cervell perquè tenen potencial neurotòxic. I hi han pogut accedir estant en concentracions molt baixes amb relació a les que hem detectat en mostres del Mediterrani o de l'Índic.

Observant tots els estudis presentats en conjunt, els declorans destaquen amb concentracions similars a l'HBCD, inclòs en el Conveni d'Estocolm. A més, són presents en totes les mostres del Mediterrani i de l'Índic, mentre que l'HBCD es detecta en un terç com a màxim. Tenint en compte aquestes concentracions i freqüència de detecció, que poden transportar-se a llargues distàncies com els PBDE i potser millor que l'HBCD, i que sent potencialment neurotòxic pot creuar la barrera hematoencefàlica; els declorans són la família de retardants de flama emergents que cal monitoritzar més de prop. A més, l'ús de declorans encara està permès i s'espera que els nivells augmentin amb el temps. Els declorans són un candidat a ser inclòs a la llista del Conveni d'Estocolm i per això calen més estudis com els inclosos en aquesta tesi que aportin dades que ho demostrin.

Sense ser objecte d'estudi d'aquesta tesi, farem una menció especial als OPFR perquè presenten les mateixes freqüències de detecció i concentracions comparables amb les dels

PBDE. També se sap que es bioacumulen i que són tòxics. El que no se sap és si es transporten a llargues distàncies. Tant un servidor com la comunitat científica ha de fer més recerca sobre aquests compostos per afegir altres comentaris.

Els que per ara sembla que no suposin cap risc per als organismes marins són les alternatives bromades als PBDE i l'HBCD, és a dir, el DBDPE, l'HBB i el PBEB. No es detecten quasi mai i quan es detecten, sol ser per sota dels  $L_Q$  o en quantitats molt baixes. Ara bé, això no vol dir que s'hagin de deixar d'estudiar. S'ha de tenir en compte que l'ús d'aquests compostos ha estat més reduït i que fa menys anys que s'utilitzen. Així com els PBDE van trigar un parell de dècades a acumular-se prou per captar l'atenció de la comunitat científica, s'ha de donar un temps de marge sota control als contaminants emergents per veure si segueixen el mateix camí. Aquest control serviria, si fos el cas, per evitar que arribessin igual de lluny.

D'altra banda, tot i que aquests estudis s'acostumin a fer utilitzant teixits greixosos perquè és on s'acumulen els COP, les dades publicades sobre l'HBB en cervell de dofins del Mediterrani demostren que l'HBB sí que podria suposar un risc. Per tant, els estudis en greix o múscul no sempre són suficients. Això no obstant, cal destacar la dificultat d'obtenir mostres de mamífers marins i de poder disposar de diferents teixits. El cas del DBDPE és diferent, ja que actualment es detecta en sediments i llots, de vegades a concentracions superiors al BDE-209, però és probable que el DBDPE tingui un potencial de bioacumulació molt inferior que els altres compostos estudiats.

Finalment, el piretroides, tot i ser considerats només pseudopersistents, al Mediterrani es troben en tots els dofins en concentracions similars als de clorans ( $t = 1,55$ ,  $df = 36$ ,  $p > 0,1$ ). Ara bé, trobar concentracions més elevades en peixos continentals que en dofins i la variació entre els dofins del Mediterrani, els del Brasil i els de l'Índic fan pensar que la seva presència és un reflex de l'ús que se'n fa a la zona. També pot indicar que els piretroides es bioacumulen, però que no es biomagnifiquen. Això i la capacitat dels mamífers de metabolitzar els piretroides poden explicar aquesta diferència entre dofins i peixos. La part positiva d'aquesta observació és que si comptem amb els temps de vida curts dels piretroides i en la possibilitat dels mamífers de metabolitzar una part de la contaminació, un control rutinari de les concentracions al medi i en biota hauria de poder facilitar una regulació de l'ús que permetés mantenir els nivells ambientals dins dels límits desitjats.



## 7 Estudi en consum humà

Ara que s'ha vist la magnitud de la contaminació en organismes marins i els possibles riscos que alguns dels contaminants estudiats suposen, cal parar atenció a un altre assumpte vinculat a la contaminació marina. El medi marí és un compartiment del medi ambient molt més important del que es podria pensar. En major o menor grau, totes les societats consumeixen peix i marisc. Aquests organismes estan exposats a la mateixa contaminació que els organismes que s'han estudiat en el capítol anterior d'aquesta tesi i, per tant, poden bioacumular els contaminants i la biomagnificació d'aquests contaminants té com a nivell tròfic més elevat els humans.

L'exposició als COP sol ser a través de la ingesta, per inhalació i a través de la pell. Un estudi del Vietnam que tenia en compte diferents tipus d'exposició als PBDE va estimar que el consum de peix suposava un 70 % de l'exposició al total de PBDE i un 80 % de l'exposició al BDE-209 (Anh, 2017). Alguns estudis preliminars basats mostres de tot tipus d'aliments del Canadà, del Japó, dels Estats Units i d'Europa van estimar una ingesta de PBDE d'entre 13 i 113 ng dia<sup>-1</sup> (FAO/WHO, 2005). També van indicar que a Europa i al Japó el peix i el marisc són responsables de la major part d'ingesta de PBDE, mentre que als Estats Units i al Canadà ho és la carn. A Europa, la ingesta mitjana era de 2,2 ng dia<sup>-1</sup> per quilogram de pes corporal. Un estudi suec va estimar que el peix suposa més del 60 % de la ingesta total de PBDE i més del 80 % de la ingesta de BDE-47 (Darnerud, 2006).

Per això, la innocuïtat del peix i el marisc per al consumidor és un dels principals assumptes de salut pública actualment, en especial en països en vies de desenvolupament. El peix i el marisc produïts absorbeixen contaminants com els metalls o els COP (Wong, 2017). A més, el pinso que s'utilitza per alimentar aquests peixos està fet d'altres peixos sense valor comercial i això, en cert grau, pot amplificar el problema. Si tenim en compte la presència dels COP i dels contaminants pseudopersistents al medi marí i coneixem el seu potencial tòxic, l'aqüicultura és una activitat clau que no es pot deixar d'estudiar.

### 7.1 Aqüicultura

La producció de peix i marisc creix un 3,2 % cada any des de 1961 (FAO, 2016). Actualment, l'aqüicultura suposa la meitat del proveïment de peix i el consum mundial anual de peix per càpita és d'uns 20 kg. El 2013, el peix va constituir el 17 % de la ingesta de proteïna animal a tot el món.

Segons les dades disponibles, no hi ha diferències consistents respecte al valor nutricional o al risc del consum de peix salvatge o d'aqüicultura (EFSA, 2005a). Malgrat això, uns autors afirmaven els anys 2004 i 2005 que el salmó de piscifactoria contenien concentracions majors de compostos organoclorats que els salvatges (1-3 enfront de 0,1-0,3 pg g<sup>-1</sup> ww de dioxines i 10-

70 enfront de 2-10 ng g<sup>-1</sup> ww de PCB) i que els salmons salvatges de l'oceà Pacífic tenien concentracions menors d'alguns dels COP inicials del Conveni d'Estocolm que el salmó criat en piscifactories de l'oceà Atlàntic (Hites, 2004; Foran, 2005).

En canvi, altres estudis amb mostres dels anys 2002-2010 deien que el salmó i la truita de piscifactoria tenien menys contaminació per dioxines i PCB que els salvatges (EFSA, 2012a). Cal tenir en compte, que factors com l'espècie, l'època de l'any, el lloc de procedència o l'edat dels peixos tenen un gran impacte en el valor nutritiu i en la contaminació dels individus i d'aquí poden derivar les divergències i la conclusió que no hi ha diferències consistents entre el peix salvatge i el d'aqüicultura (EFSA, 2005b).

Com s'ha dit el pinso que s'utilitza per alimentar els peixos en les piscifactories estan fets amb residus d'altres peixos que ja tenien contaminació. A banda d'aquesta font de contaminació no intencionada, hi ha productes que s'utilitzen expressament, com els antibiòtics o els pesticides. Per exemple, els piretroides s'utilitzen en salmonicultura per combatre el poll de mar (Haya, 2005). El tractament pot ser un bany de 40 minuts a una concentració de 2,0 µg l<sup>-1</sup> de deltametrín o un bany d'una hora amb 5,0 µg l<sup>-1</sup> de cipermetrín (SEPA, 2008; Van Geest, 2014). La indústria del salmó és de les més importants en l'aqüicultura amb 2,4 milions de tones de producció el 2011 (Asche, 2013). Noruega i Xile són els principals productors de salmó, amb el 50 i el 30 % del total mundial. El següent productor és Escòcia, amb un 7,4 %.

En aquesta tesi es vol analitzar si l'activitat de l'aqüicultura pot afegir contaminació addicional al peix i marisc que produeix. Per això s'han dut a terme dos estudis dins del marc del projecte europeu SEA-on-a-CHIP (Real time monitoring of SEA contaminants by an autonomous Lab-on-a-CHIP biosensor). En primer lloc es mostra un article en què s'estudien els retardants de flama en diferents piscifactories europees (article 3). Es volia conèixer quines eren les concentracions d'aquests compostos en el lloc de producció. Aquest estudi s'ha publicat a la revista *Science of the Total Environment* el 2017. En segon lloc es mostra un article en què s'analitza l'impacte del tractament antiparasitari amb piretroides que es fa als salmons de piscifactoria (article 4). Es volia saber si el tractament aportava una contaminació que distingís el salmó criat del salvatge i en quin grau. Aquest estudi s'ha publicat a la revista *Food and Chemical Toxicology* el 2017.



## Halogenated and organophosphorus flame retardants in European aquaculture samples



Òscar Aznar-Alemany<sup>a</sup>, Yann Aminot<sup>b</sup>, Judit Vilà-Cano<sup>a</sup>, Marianne Köck-Schulmeyer<sup>a</sup>, James W. Readman<sup>b,c</sup>, António Marques<sup>d,e</sup>, Lia Godinho<sup>d</sup>, Elena Botteon<sup>f</sup>, Federico Ferrari<sup>f</sup>, Vasiliki Boti<sup>g</sup>, Triantafyllos Albanis<sup>g</sup>, Ethel Eljarrat<sup>h,\*</sup>, Damià Barceló<sup>a,h</sup>

<sup>a</sup> Institute of Environmental Assessment and Water Research, Department of Environmental Chemistry (IDAEA-CSIC), Jordi Girona, 18, 08034 Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Biogeochemistry Research Centre, Plymouth University, Plymouth, United Kingdom

<sup>c</sup> Plymouth Marine Laboratory, Prospect Place, The Hoe, Plymouth PL1 3DH, United Kingdom

<sup>d</sup> Division of Aquaculture and Upgrading (DivAV), Portuguese Institute for the Sea and Atmosphere (IPMA, IP.), Avenida de Brasília, 1449-006 Lisbon, Portugal

<sup>e</sup> Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR), University of Porto, Porto, Portugal

<sup>f</sup> Azeiteira S/A, Località Foggia 12-16, 29027 Gariga, Polesanara (PC), Italy

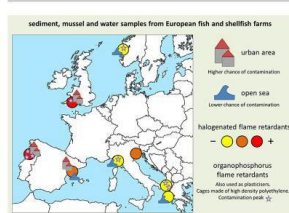
<sup>g</sup> Laboratory of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, University of Ioannina, Panepistimioupolis, 45110 Ioannina, Greece

<sup>h</sup> Catalan Institute for Water Research (ICRA), Emili Grahit, 101, 17003 Girona, Spain

### HIGHLIGHTS

- Flame retardants in European fish and shellfish farms: water, sediment, mussels.
- PBDEs were in 95% of the sediments (8.6 ± 23 ng g<sup>-1</sup> dw) and mussels (<10 ng g<sup>-1</sup> lw).
- DBDPE was at levels lower than BDE-209 in sediment and similar levels in mussels.
- OPFRs levels were much higher; they are plasticisers and plastics are used in farms.
- Farms away from urban shores and river mouths minimize flame retardants input.

### GRAPHICAL ABSTRACT



### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 July 2017

Received in revised form 18 August 2017

Accepted 19 August 2017

Available online xxxx

Editor: Adrian Covaci

#### Keywords:

Aquaculture

OPFRs

### ABSTRACT

This work monitors flame retardants in sediment, mussel and water samples from European fish farms. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) were detected in 95% of the sediment and mussel samples with mean levels of  $8.60 \pm 22.6$  ng g<sup>-1</sup> dw in sediments and  $0.07 \pm 0.18$  ng g<sup>-1</sup> dw in mussels. BDE-209 was the main contributor for the sediments and BDE-47 was found in about 60% of the samples of both matrices. Pentabromoethylbenzene (PBEB) and hexabromobenzene (HBB) were detected in 42% of the sediments, but not in mussels. Decabromodiphenyl ethane (DBDPE) was found in about 55% of the samples of both matrices. The same happened for dechloranes in mussels, but they were detected in 92% of the sediments. Syn-DP and anti-DP were always the main contributors. Methoxylated PBDEs (MeO-PBDEs) were detected in all mussels and some sediments, mainly 6-MeO-BDE-47 and 2'-MeO-BDE-68. Organophosphorus flame retardants (OPFRs) were found in all matrices with concentrations of 0.04–92.8 ng g<sup>-1</sup> dw in sediment, 0.50–102 ng g<sup>-1</sup> dw in mussel and 0.43–867 ng l<sup>-1</sup> in water. Only OPFRs were analysed in water samples as halogenated flame

\* Corresponding author at: Carrer de Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain.

E-mail addresses: [osaaqam@cid.csic.es](mailto:osaaqam@cid.csic.es) (Ò. Aznar-Alemany), [yann.aminot@plymouth.ac.uk](mailto:yann.aminot@plymouth.ac.uk) (Y. Aminot), [jvcqam@cid.csic.es](mailto:jvcqam@cid.csic.es) (J. Vilà-Cano), [mkoqam@cid.csic.es](mailto:mkoqam@cid.csic.es) (M. Köck-Schulmeyer), [james.readman@plymouth.ac.uk](mailto:james.readman@plymouth.ac.uk) (J.W. Readman), [amarques@ipma.pt](mailto:amarques@ipma.pt) (A. Marques), [lia.godinho@ipma.pt](mailto:lia.godinho@ipma.pt) (L. Godinho), [elena.botteon@aei.foia.it](mailto:elena.botteon@aei.foia.it) (E. Botteon), [federico.ferrari@aei.foia.it](mailto:federico.ferrari@aei.foia.it) (F. Ferrari), [vboti@cc.uoi.gr](mailto:vboti@cc.uoi.gr) (V. Boti), [talbanis@cc.uoi.gr](mailto:talbanis@cc.uoi.gr) (T. Albanis), [eeoqam@cid.csic.es](mailto:eeoqam@cid.csic.es) (E. Eljarrat), [dbcqam@cid.csic.es](mailto:dbcqam@cid.csic.es) (D. Barceló).

## ATENCIÓ i

Les pàgines 129 a 137 a de la tesi, contenen aquest article  
que cal consultar a la web de l'editor

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969717321976>



## Effect of pyrethroid treatment against sea lice in salmon farming regarding consumers' health



Oscar Aznar-Aleman<sup>a</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a,\*</sup>, Damià Barceló<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Department of Environmental Chemistry, Institute of Environmental Assessment and Water Research Studies (IDAEA), Spanish Council for Scientific Research (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034 Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Catalan Institute for Water Research (ICRA), H<sub>2</sub>O Building, Scientific and Technological Park of the University of Girona, Emili Grahià 101, 17003 Girona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 March 2017

Received in revised form

19 April 2017

Accepted 25 April 2017

Available online 27 April 2017

#### Keywords:

Pesticide

Risk assessment

Enantiomer

Fish farming

Seafood

### ABSTRACT

Pyrethroids are the most popular drug against sea lice in salmon farming. Although they are more toxic to insects, they have toxic effects in mammals. Pyrethroids were detected in 100% of farmed salmon with a mean concentration of  $1.31 \pm 1.39 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$  and in 50% of wild salmon with a mean of  $0.02 \pm 0.03 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ . Cypermethrin and deltamethrin, the active ingredients of anti-sea lice formulations, represented  $77 \pm 27\%$  of the total contamination of farmed salmon. Although farmed salmon had higher concentrations than wild salmon, the daily intake of pyrethroids through salmon consumption was several orders of magnitude below the accepted daily intake (ADI). Thus, the pyrethroids treatment on salmon does not pose a threat on the health of the consumers.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Sea lice (Copepoda: Caligidae) have been the most widespread pathogenic marine parasite in the three decades of salmon farming industry. In the second part of this period, pathogenic infestations on other farmed fish and wild salmonids have increased notoriously (Ragias et al., 2004; Costello, 2006). The impact of sea lice on the host ranges from mild skin damage to mortality induced by stress, including epidemics in wild fish populations in Europe and British Columbia (Costello, 2006). A non-comprehensive list of other effects would include epithelium loss, increased mucus discharge, bleeding, tissue necrosis and consequent exposure to secondary infections; reduced appetite, growth and food-conversion efficiency; anaemia and reduced lymphocytes (Tully and Nolan, 2002; Johnson et al., 2004; Costello, 2006).

Pyrethroids became the most popular drug against sea lice around 1995, substituting organophosphates, which had previously been the preferred compounds (Grave et al., 2004). The anti-sea lice pesticide formulations AlphaMax<sup>®</sup> and Excis<sup>®</sup> are emulsifiable

concentrates containing 1% of the synthetic pyrethroids deltamethrin or cypermethrin as the active ingredient, respectively. Both pesticides are effective against all attached stages of sea lice including adults (Haya et al., 2005; Burrige et al., 2010). Treatment of salmon is either a 40-min bath with AlphaMax<sup>®</sup> at a target concentration of 2.0 µg/L deltamethrin (SEPA, 2008) or a 1-h bath with Excis<sup>®</sup> at a target concentration of 5.0 µg/L cypermethrin (Van Geest et al., 2014).

Pyrethroid insecticides are applied for household, commercial and farming purposes, in medicine against lice and scabies and to control malaria in tropical countries by impregnating mosquito nets with them (Bradberry et al., 2005). In salmon farming pyrethroids are used against the sea lice, which parasite the fish (Haya et al., 2005). Pyrethroids were considered ideal insecticides because they were thought not to be persistent in the environment and to be metabolised by mammals instead of accumulated (Casida et al., 1975; Leng et al., 1997). Therefore, their popularity grew during the 1970s and pyrethroids substituted other banned pesticides (Ridgway et al., 1978). Nowadays, they account for 25% of the insecticides used worldwide, which equals about 100 tons of pyrethroids a year (Casida and Quistad, 1998; Shafer et al., 2005).

Their toxic effects include disruption of the function of the neurons' sodium channels as they provoke repetitive after-

\* Corresponding author. Carrer de Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain.  
E-mail addresses: oaaqam@cid.csic.es (O. Aznar-Aleman), eeeqam@cid.csic.es (E. Eljarrat), dbcqam@cid.csic.es (D. Barceló).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.036>  
0278-6915/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## ATENCIÓ i

Les pàgines 138 a 145 de la tesi, contenen aquest article  
que cal consultar a la web de l'editor

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691517302132>

## 7.2 Avaluació de riscos

Com s'ha dit, el peix i el marisc són responsables de la major part d'ingesta de PBDE a Europa (FAO/WHO, 2005). Aquest fet sumat al constant creixement del consum de peix (FAO, 2016), fa que l'avaluació de riscos d'aquest producte desperti cada cop més interès. Cal recordar que la Directiva marc sobre l'estratègia marina (Directiva 2008/56/CE) indicava la necessitat de mantenir els contaminants per sota dels nivells establerts en la regulació.

Els compostos inclosos en aquesta tesi tenen un inconvenient a l'hora de fer aquesta avaluació de riscos. Si bé els PBDE i l'HBCD estan prohibits pel Conveni d'Estocolm, encara són presents al medi aquàtic i en els organismes que hi viuen, però no hi ha legislació que fixi un límits màxims de residu en productes comestibles. Evidentment, els retardants de flama emergents tampoc disposen d'aquests límits. Això no obstant, la Directiva marc sobre l'estratègia marina recomana controlar els PBDE i l'HBCD, així com el DBDPE i l'HBB. L'EFSA també destaca la importància del DBDPE i de l'HBB (Cruz, 2015; Vandermeersch, 2015).

Els piretroides, en canvi, sí que tenen límits màxims de residu per a la majoria de productes (vegeu 4.6 Legislació, taula 10). Ara bé, el peix i el marisc no hi estan inclosos. D'altra banda, l'OMS sí que indica valors d'IDA i de NOAEL per aquests pesticides (vegeu 4.6 Legislació, taula 12).

Hi ha diferents estudis que estimen la ingesta diària de contaminants a través del consum de peix. Tot i això, les avaluacions de riscos i la legislació es basen sempre en el producte cru, malgrat que la major part del peix es consumeix cuinat i les maneres variables de cuinar o de processar el peix poden afectar la concentració dels contaminants (Marques, 2011). Aquest factor podria afectar per excés o per defecte l'avaluació de riscos, però són pocs els estudis publicats sobre l'efecte de cuinar el peix en els contaminants emergents (Perelló, 2009; Domingo, 2010; Houlbrque, 2011).

A això també se li pot afegir el fet que la concentració present en el peix no reflecteix necessàriament la fracció que s'absorbirà a l'epiteli intestinal i que passarà a la sang del consumidor, és a dir, la fracció bioaccessible del contaminant (Versantvoort, 2005; Collins, 2015). Quantificar aquesta fracció és una altra eina que permetria obtenir resultats més realistes en les avaluacions de riscos.

En aquesta tesi, es volia adreçar l'avaluació de risc incloent-hi dos factors poc estudiats. Per això es van dur a terme dos estudis dins del marc del projecte europeu ESsafeSEAFOOD (Priority environmental contaminants in seafood: safety assessment, impact and public perception). En primer lloc es mostra un article en què s'estudien els retardants de flama en diferents espècies comercials europees (article 5). A part de fer una anàlisi de les concentracions dels diferents retardants de flama, s'hi inclou una avaluació de risc i un estudi sobre l'efecte de cuinar el peix en les concentracions dels diferents compostos. Es van fer una enquesta a nivell europeu i



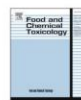
estudis demogràfics per conèixer millor la dieta de la població, escollir les espècies rellevants i fer una avaluació de riscos més acurada. En segon lloc es mostra un article en què s'analitza la bioaccessibilitat de la contaminació present en el peix que es consumeix (article 6). L'objectiu era obtenir una estimació de la fracció de la contaminació ingerida que el consumidor assimila realment. Actualment no hi ha un experiment unificat per avaluar la bioaccessibilitat. En aquest estudi es va fer una digestió artificial del peix i es van separar les fraccions aquosa i sòlida com a parts bioaccessible i no bioaccessible. Tots dos estudis s'han publicat a la revista *Food and Chemical Toxicology* el 2017.



Contents lists available at ScienceDirect

Food and Chemical Toxicology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/foodchemtox](http://www.elsevier.com/locate/foodchemtox)



## Occurrence of halogenated flame retardants in commercial seafood species available in European markets



Òscar Aznar-Alemany<sup>a</sup>, Laura Trabalón<sup>b</sup>, Silke Jacobs<sup>c,d</sup>, Vera Liane Barbosa<sup>e</sup>, Margarita Fernández Tejedor<sup>f</sup>, Kit Granby<sup>g</sup>, Christiaan Kwadijk<sup>h</sup>, Sara C. Cunha<sup>i</sup>, Federico Ferrari<sup>j</sup>, Griet Vandermeersch<sup>k</sup>, Isabelle Sioen<sup>c,l</sup>, Wim Verbeke<sup>d</sup>, Lolita Vilaver<sup>m</sup>, José L. Domingo<sup>l</sup>, Ethel Eljarrat<sup>a,n</sup>, Damià Barceló<sup>a,i</sup>

<sup>a</sup> Institute of Environmental Assessment and Water Research, Department of Environmental Chemistry (IDEA-CSIC), Carrer de Jordi Girona, 18-26, 08034 Barcelona, Spain

<sup>b</sup> Department de Química Analítica i Química Orgànica, Universitat Rovira i Virgili, Campus Sescelades, Marcel·lí Domingo, s/n, 43007 Tarragona, Catalonia, Spain

<sup>c</sup> Department of Public Health, Ghent University, IZ 4K3, De Pintelaan 185, 9000 Ghent, Belgium

<sup>d</sup> Department of Agricultural Economics, Ghent University, Coupure links 653, 9000 Ghent, Belgium

<sup>e</sup> Division of Aquaculture and Seafood Upgrading, Portuguese Institute for the Sea and Atmosphere, I.P. (IPMA), Avenida de Brasília, 1449-006 Lisbon, Portugal

<sup>f</sup> Institute of Agrifood Research and Technology (IRTA), Ctra. de Poble Nou, Km 5,5, E-43540 Sant Carles de la Ràpita, Spain

<sup>g</sup> Technical University of Denmark, National Food Institute, Artillerivej 59, DK2930 Søborg, Denmark

<sup>h</sup> Institute for Marine Resources and Ecosystem Studies (IMARES), Wageningen UR, PO Box 68, 1970 AB IJmuiden, The Netherlands

<sup>i</sup> IACQ-REQUMITE, Laboratory of Bromatology and Hydrology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Rua Jorge de Viterbo Ferreira 228, 4050-313 Porto, Portugal

<sup>j</sup> Aarforis Srl, Località Faggiola 16, 29027 Gariga di Pordenone (Piacenza), Italy

<sup>k</sup> Institute for Agricultural and Fisheries Research (IFV), Animal Sciences Unit – Fisheries, Ankerstraat 1, 8400 Oostende, Belgium

<sup>l</sup> Department of Food Safety and Food Quality, Ghent University, Coupure links 653, 9000 Ghent, Belgium

<sup>m</sup> Laboratory of Toxicology and Environmental Health, School of Medicine, IRV, Universitat Rovira i Virgili, Sant Llorenç, 21, 43201 Reus, Catalonia, Spain

<sup>n</sup> Catalan Institute for Water Research (ICRA), Emili Grahit, 101, 17003 Girona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 27 June 2016

Received in revised form

19 September 2016

Accepted 23 December 2016

Available online 24 December 2016

#### Keywords:

Effect of cooking

Margin of exposure

PBDEs

Risk assessment

2,4,6-TBP

### ABSTRACT

PBDEs (congeners 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209), HBCD ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), emerging brominated flame retardants (PBEB, HBB and DBDPE), dechloranes (Dec 602, 603, 604, *syn*- and *anti*-DP), TBBPA, 2,4,6-TBP and MeO-PBDEs (8 congeners) were analysed in commercial seafood samples from European countries. Levels were similar to literature and above the environmental quality standards (EQS) limit of the Directive 2013/39/EU for PBDEs. Contaminants were found in 90.5% of the seafood samples at n.d.–356 ng/g lw (n.d.–41.1 ng/g ww). DBDPE was not detected and 2,4,6-TBP was detected only in mussels, but at levels comparable to those of PBDEs. Mussel and seabream were the most contaminated species and the Mediterranean Sea (FAO Fishing Area 37) was the most contaminated location. The risk assessment revealed that there was no health risk related to the exposure to brominated flame retardants via seafood consumption. However, a refined risk assessment for BDE-99 is of interest in the future. Moreover, the cooking process concentrated PBDEs and HBB.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

#### \* Corresponding author.

E-mail addresses: [oaaznar@cid.csic.es](mailto:oaaznar@cid.csic.es) (Ó. Aznar-Alemany), [laura.trabalon@urv.cat](mailto:laura.trabalon@urv.cat) (L. Trabalón), [silke.jacobs@ugent.be](mailto:silke.jacobs@ugent.be) (S. Jacobs), [vera.barbosa@ipma.pt](mailto:vera.barbosa@ipma.pt) (V.L. Barbosa), [margarita.fernandez@irta.cat](mailto:margarita.fernandez@irta.cat) (M.F. Tejedor), [kgra@food.dtu.dk](mailto:kgra@food.dtu.dk) (K. Granby), [christiaan.kwadijk@wur.nl](mailto:christiaan.kwadijk@wur.nl) (C. Kwadijk), [sara.cunha@ff.up.pt](mailto:sara.cunha@ff.up.pt) (S.C. Cunha), [federico.ferrari@aarforis.it](mailto:federico.ferrari@aarforis.it) (F. Ferrari), [griet.vandermeersch@irv.vlaanderen.be](mailto:griet.vandermeersch@irv.vlaanderen.be) (G. Vandermeersch), [isabelle.sioen@ugent.be](mailto:isabelle.sioen@ugent.be) (I. Sioen), [wim.verbeke@ugent.be](mailto:wim.verbeke@ugent.be) (W. Verbeke), [lolita.vilaver@icra.cat](mailto:lolita.vilaver@icra.cat) (L. Vilaver), [josedls.domingo@urv.cat](mailto:josedls.domingo@urv.cat) (J.L. Domingo), [eeqam@cid.csic.es](mailto:eeqam@cid.csic.es) (E. Eljarrat), [dbscqm@cid.csic.es](mailto:dbscqm@cid.csic.es) (D. Barceló).

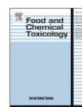
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.034>

0278-6915/© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## ATENCIÓ I

Les pàgines 148 a 163 de la tesi, contenen aquest article que cal consultar a la web de l'editor

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691516304951>



## Preliminary assessment on the bioaccessibility of contaminants of emerging concern in raw and cooked seafood



Ricardo N. Alves<sup>a,\*</sup>, Ana L. Maulvault<sup>a,b,c</sup>, Vera L. Barbosa<sup>a</sup>, Sara Cunha<sup>d</sup>,  
Christiaan J.A.F. Kwadijk<sup>e</sup>, Diana Álvarez-Muñoz<sup>f</sup>, Sara Rodríguez-Mozaz<sup>f</sup>,  
Oscar Aznar-Alemany<sup>g</sup>, Ethel Eljarrat<sup>g</sup>, Damià Barceló<sup>h,i</sup>, Margarita Fernandez-Tejedor<sup>h</sup>,  
Alice Tediosi<sup>j</sup>, António Marques<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Division of Aquaculture and Upgrading (DivAU), Portuguese Institute for the Sea and Atmosphere (IPMA, I.P.), Lisbon, Portugal

<sup>b</sup> Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research (CIIMAR), University of Porto, Porto, Portugal

<sup>c</sup> MARE – Marine and Environmental Sciences Centre, Faculty of Sciences, University of Lisbon (FCLU), Lisbon, Portugal

<sup>d</sup> LAQV-REQUIMTE, Laboratory of Bromatology and Hydrology, Faculty of Pharmacy, University of Porto, Portugal

<sup>e</sup> IMARES, Wageningen UR, IJmuiden, The Netherlands

<sup>f</sup> Catalan Institute for Water Research (ICRA), Parc Científic i Tecnològic de la Universitat de Girona, C/ Emili Grahit, Girona, Spain

<sup>g</sup> Institute of Environmental Assessment and Water Research, Department of Environmental Chemistry (IDAEA-CSIC), Jordi Girona, 18, 08034 Barcelona, Spain

<sup>h</sup> Marine Monitoring, Institute of Agriculture and Food Research & Technology (IRTA), Sant Carles de la Ràpita, Tarragona, Spain

<sup>i</sup> Aetforia Srl, Gariga di Podenzano (PC), Italy

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 9 August 2016

Received in revised form

13 January 2017

Accepted 29 January 2017

Available online 13 February 2017

#### Keywords:

Seafood

Perfluorinated compounds

Brominated flame retardants

Pharmaceuticals and personal care products

Bioaccessibility

Steaming

### ABSTRACT

A preliminary assessment of the bioaccessibility of contaminants of emerging concern (CeCs), including perfluorinated compounds (PFCs; i.e. PFOS and PFOA), brominated flame retardants (BFRs; i.e. BDE47, BDE100,  $\alpha$ -HBCD) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs; i.e. venlafaxine, methylparaben and UV-filter OC) was performed in seafood species available in the European markets. Additionally, the effect of steaming on CeCs bioaccessibility was also investigated for the first time. Overall, steaming affected differentially contaminants' concentrations, for instance, decreasing PFOS levels in flounder, but increasing both BDE47 and BDE100. CeCs bioaccessibility varied according to seafood species and contaminant group, i.e. in general, lower bioaccessibility values were obtained for PBDEs (<70%, except for mackerel), while PFCs and PPCPs revealed higher bioaccessibility percentages (between 71 and 95%). The lowest bioaccessibility value was obtained for  $\alpha$ -HBCD (mussel; 14%), whereas the highest percentage was observed in venlafaxine (mullet; 95%). Our preliminary study reports also, for the first time, the effects of steaming on CeCs bioaccessibility. In most cases, bioaccessibility was not affected by cooking, however, a decrease was observed in PBDEs and venlafaxine bioaccessibility in steamed mussels and mullet, respectively, thus lowering the potential health risks associated with seafood consumption.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Abbreviations:  $\alpha$ -HBCD, hexabromocyclododecane; BD, sample before digestion; BDE47, 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether; BDE99, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether; BDE100, 2,2',4,4',6-pentabromodiphenyl ether; BFRs, brominated flame retardants; BIO, bioaccessible fraction after *in vitro* digestion; CeCs, contaminants of emerging concern;  $K_{ow}$ , hydrophobicity parameter, octanol/water partition coefficient; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification; NBO, non-bioaccessible fraction after *in vitro* digestion; OC, octocrylene; PBDEs, polybrominated diphenyl ethers; PCBs, polychlorinated biphenyls; PFCs, perfluorinated compounds; PFOA, perfluorooctanoic acid; PFOS, perfluorooctanesulfonic acid; PFOA, perfluorooctanoic acid; pp, polypropylene; PPCPs, pharmaceuticals and personal care product.

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [ricardo.alves@ipma.pt](mailto:ricardo.alves@ipma.pt) (R.N. Alves), [alalisa@ipma.pt](mailto:alalisa@ipma.pt) (A.L. Maulvault), [vera.barbosa@ipma.pt](mailto:vera.barbosa@ipma.pt) (V.L. Barbosa), [sara.cunha@iap.pt](mailto:sara.cunha@iap.pt) (S. Cunha), [christiaan.kwadijk@wur.nl](mailto:christiaan.kwadijk@wur.nl) (C.J.A.F. Kwadijk), [dalvarez@icra.cat](mailto:dalvarez@icra.cat) (D. Álvarez-Muñoz), [oaagam@cid.csic.es](mailto:oaagam@cid.csic.es) (O. Aznar-Alemany), [eeeqam@cid.csic.es](mailto:eeeqam@cid.csic.es) (E. Eljarrat), [dicoam@cid.csic.es](mailto:dicoam@cid.csic.es) (D. Barceló), [margarita.fernandez@irta.cat](mailto:margarita.fernandez@irta.cat) (M. Fernandez-Tejedor), [alice.tediosi@aetforia.eu](mailto:alice.tediosi@aetforia.eu) (A. Tediosi), [amarques@ipma.pt](mailto:amarques@ipma.pt) (A. Marques).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.01.029>  
0278-6915/© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## ATENCIÓ !

Les pàgines 164 a 173 de la tesi, contenen aquest article  
que cal consultar a la web de l'editor

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691517300388>

## 7.3 Discussió consum humà

### **Abstract**

Although studies on biota might interest the scientific community, it is only when contaminants are detected in human samples or food that they become a pressing issue for society. The study of POPs and pseudo-POPs in seafood is relevant to produce better regulations and management recommendations for this product.

Before discussing seafood, however, it must be noted that the results observed in marine mammals were repeated. PBDEs and MeO-PBDEs were found in most samples. PBDEs showed the highest levels, followed by HBCD and dechloranes. Conversely, this time HBCD and dechloranes had similar frequencies of detection at around half the samples. Biomagnification would account for the difference in the frequency of detection of dechloranes between marine mammals and fish, as well as for the difference in the levels of all compounds. Brominated EFR showed levels below  $L_Q$  and  $L_D$  again. Pyrethroids showed lower levels than PBDEs, even though sometimes they are applied to fish.

The use of pyrethroids against sea lice was proved to add contamination to salmon. Conversely, the EDIs were still safe below the ADIs, so the treatment with pyrethroids does not pose a threat to consumers. A side study that has not been included in this thesis analysed 20 wild edible fish from Brazil (*Mugil liza*) and also found safe levels of pyrethroids. FRs are not used in aquaculture and locating fish farms away from urban sites and further away from the coast can reduce their levels in the production; although OPFRs can be present as plasticisers in the farm materials. Risk assessment for FRs in seafood is not as straight-forward since there are no regulated ADIs. The risk assessment of BDE-47, BDE-99 and BDE-100 for the European population estimated BDE-47 and BDE-100 to be within safe limits, while BDE-99 might be of concern for a fraction of heavy fish consumers.

On the other hand, the effect of cooking on the concentration of contaminants and the bioaccessibility of the ingested contaminants is never considered in legislation or risk assessments. This thesis showed that steaming seafood can concentrate PBDEs, HBB and PBEB. The effect on HBCD and MeO-PBDEs depended on the seafood species. An increase in concentrations is an issue for compounds that are already concerning, like BDE-99. However, smoking or marinating salmon did not alter its levels of pyrethroids. There are lots of cooking processes and further research is needed to learn their effects. Secondly, the study on the bioaccessibility of BDE-47, BDE-100 and  $\alpha$ -HBCD showed low bioaccessibilities for PBDEs (15-45 %) and variable for  $\alpha$ -HBCD (14-90 %). The hidroboficity of FRs may cause them to stay in the solid phase and be excreted. Steaming the seafood seemed to reduce PBDEs bioaccessibility, but had no significant effect on  $\alpha$ -HBCD. These results show that these factors need to be studied and taken into consideration for future regulations and recommendations.

Els estudis en mostres ambientals i en biota poden despertar preocupació i cridar l'atenció de la comunitat científica. Però, com va passar amb els PBDE, fins que els contaminants es detecten en mostres humanes o en aliments no ocupen un lloc destacat en l'interès dels científics i de la societat. L'estudi dels COP i contaminants pseudopersistents en mostres de peix i marisc de

consum humà és un tema important des del punt de vista científic, per l'aprofundiment en el coneixement dels compostos d'aquesta tesi, i des del punt de vista social, per les repercussions que pot tenir pel que fa a la gestió i regulació d'aquest producte de consum.

Fem, però, alguns comentaris referents a la contaminació en biota abans de tractar la connexió amb el consum humà. Les observacions extretes de l'estudi en biota sembla que es mantenen. Els PBDE es detecten, si bé no en la totalitat, en la major part de les mostres d'ambdós estudis (79-94 % de biota i 96 % de sediments) i els MeO-PBDE anàlegs en quasi totes les de biota, però en un terç dels sediments (91-100 % de biota i 33 % de sediments). Els PBDE es mantenen amb les concentracions més elevades i en un segon lloc se situen l'HBCD i els declorans. Al contrari que el que passava amb els cetacis, els declorans es detecten en peix i marisc en freqüències comparables a l'HBCD, al voltant de la meitat de mostres.

Cal tenir present que els cetacis ocupen posicions més elevades en la cadena tròfica que aquests animals i que la biomagnificació fa que sigui lògic detectar els contaminants lipòfils amb major freqüència i a concentracions més grans en dofins que en peixos. Efectivament, si comparem el conjunt de les mostres d'espècies comercials d'Europa —sense els musclos de l'article de piscifactories— amb els dofins, les concentracions de PBDE en peix i marisc,  $29,2 \pm 40,5 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , són molt més baixes que les dels dofins del Mediterrani,  $3196 \pm 1350 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  ( $t = 4,69$ ,  $df = 39$ ,  $p < 0,01$ ), i fins i tot que les dels dofins de l'Índic, que tenien concentracions menors,  $341 \pm 206 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$  ( $t = 5,23$ ,  $df = 47$ ,  $p > 0,01$ ).

Per als compostos emergents bromats, la situació és un xic diferent. El PBEB i l'HBB no es detecten en musclos de piscifactories, però sí en la meitat de les mostres de l'article d'espècies comercials, el PBEB per sota del  $L_Q$  i l'HBB al nivell de l'HBCD i els declorans. El DBDPE, en canvi, es detecta en els musclos de piscifactories, però no en l'altre estudi.

Finalment, recordem que les concentracions de piretroides depenien de l'ús que se'n feia en cada entorn en concret. Tot i que els piretroides s'utilitzin contra el poll de mar en la cria de salmó, els resultats obtinguts per a les mostres de salmó de països europeus,  $9,27 \pm 4,77 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ , són menors que els dels PBDE de les espècies comercials ( $t = 2,97$ ,  $df = 67$ ,  $p > 0,01$ ). Malgrat això, els PBDE només es van detectar en el 29 % dels musclos de piscifactories a una concentració mitjana de  $5,04 \pm 2,67 \text{ ng g}^{-1} \text{ lw}$ .

Amb aquest ús de piretroides tornem a la discussió dels compostos orgànics persistents i pseudopersistents en consum humà. La contaminació del peix pot provenir del medi ambient, com en el cas dels retardants de flama, que no s'utilitzen en piscifactories, o de l'aplicació directa, com quan els piretroides s'utilitzen contra els paràsits.

Pel que fa als piretroides, hem demostrat que el tractament contra el poll de mar aporta una contaminació addicional als salmons criats que els distingeix dels salvatges. La diferència no s'aprecia només en les concentracions, sinó en el fet que el cipermetrín i el deltametrín, els

principis actius dels productes contra el poll de mar, constitueixen el  $77 \pm 27\%$  de la concentració total de piretroides dels salmons de piscifactoria.

Els retardants de flama, d'altra banda, no tenen aplicació en l'aqüicultura i la contaminació de la producció respon a la contaminació de l'entorn de les piscifactories. En primer lloc, en aquesta tesi s'ha observat que situar les piscifactories lluny de nuclis poblacionals i al mar obert ajuda a reduir l'aportació de retardants de flama. Ara bé, els OPFR també s'usen com a plastificants i els materials utilitzats en la producció poden actuar de font de contaminació, com ara les gàbies, que solen estar fetes de polietilè d'alta densitat.

Conèixer l'origen de la contaminació és el primer pas per a reduir-la o eliminar-la. Però en primer lloc cal saber si les concentracions presents en el peix suposen un risc per al consumidor. Tot i que el tractament amb piretroides aporta una contaminació addicional al salmó, la ingesta estimada per a diferents piretroides ( $\leq 0,006 \text{ ng dia}^{-1}$  per quilogram de massa corporal) queda molt per sota dels valors d'IDA regulats ( $0,01\text{-}0,05 \text{ mg dia}^{-1}$  per quilogram de massa corporal). És a dir que l'ús dels piretroides no suposa un risc per al consumidor.

Un altre estudi breu no inclòs en aquesta tesi va analitzar mostres de múscul, fetge i brànquies de 20 peixos comestibles salvatges del Brasil (*Mugil liza*). Eren deu mascles i deu femelles de pesos compresos entre 345 i 1860 g i llargades entre 41 i 63 cm. Les concentracions totals de piretroides van ser menors que les obtingudes per als salmons tractats amb piretroides:  $0,41 \pm 1,21 \text{ ng g}^{-1}$  lw en múscul,  $1,50 \pm 6,42 \text{ ng g}^{-1}$  lw en fetge i  $0,18 \pm 0,32 \text{ ng g}^{-1}$  lw en brànquies. Per tant, el consum d'aquests peixos no suposarien un risc per a la població.

L'avaluació de riscos per als retardants de flama no és tan senzilla, ja que no hi ha valors d'IDA regulats. La Comissió Europea va demanar el 2014 que els PBDE i l'HBCD s'estudiessin en aliments per poder crear noves regulacions (Recomanació 2014/118/EU). En l'estudi de les mostres d'espècies comercials d'Europa es va avaluar l'exposició del consumidor al BDE-47, el BDE-99 i l'HBCD, a més de al TBBPA i es van utilitzar el marge d'exposició (MOE) de l'EFSA i el límit de dosi de cota (BMDL) com a indicadors del risc (EFSA, 2011a, b, c). El MOE és un valor calculat a partir del BMDL i de l'exposició calculada de la població als contaminants a través del consum de peix. El BMDL es basa en la dosi crítica per provocar un efecte tòxic.

L'exposició a aquests compostos estava uns ordres de magnitud per sota dels respectius BMDL. A més, el BDE-47, l'HBCD i el TBBPA se situaven a bona distància del límit del MOE. D'altra banda, el BDE-99 s'hi acostava i fins i tot el creuava per al 0,05 % dels consumidors adults portuguesos, que inclouen més peix a la seva dieta que altres europeus. Cal tenir en compte que l'exposició dels humans a aquests compostos no es limita al consum de peix. Si bé el peix era responsable d'entre el 60 i el 80 % de la ingesta de PBDE a través de la dieta, la carn, els ous, els productes lactis i els olis també n'aporten. Per tant, si el consum de peix sol s'acosta o creua el límit del MOE per al BDE-99, aquest és un compost que podria suposar un risc per al consumidor.

Ara bé, hi ha dos detalls que les avaluacions de risc i la legislació no tenen mai en compte: l'efecte de cuinar o processar el peix i el marisc abans de consumir-los i quina és la fracció bioaccessible de la contaminació ingerida. A dia d'avui és treballa amb la concentració en el peix fresc i això pot derivar en conclusions poc acurades. En aquesta tesi s'inclouen estudis preliminars sobre l'efecte de cuinar el peix en la concentració dels retardants de flama i sobre la bioaccessibilitat d'aquests compostos.

Primerament, cuinar el peix al vapor va fer augmentar la concentració de PBDE i d'HBB i, en menor grau, de PBEB. El grau de l'augment variava entre espècies, però, de mitjana, la concentració de PBDE es doblava i la d'HBB augmentava en un terç. L'efecte en l'HBCD i els MeO-PBDE depenia de l'espècie; per exemple, les concentracions augmentaven en verat, però disminuïen en tonyina. L'augment de la concentració probablement es devia a una disminució del pes del peix per pèrdua d'aigua. En tot cas, els contaminants van mostrar més tendència a concentrar-se que a diluir-se. Que la concentració de PBDE pugui arribar a doblar-se al cuinar el peix és una dada crítica per a una família de COP. A més, el BDE-99 ja se situava prop del llindar de risc quan l'avaluació es feia amb respecte a la concentració en peix fresc. Per als piretroides es va estudiar si els processos de marinat i fumat alteraven la concentració dels pesticides, però no es va apreciar cap canvi. D'altra banda, hi ha moltes maneres de cuinar el peix a part de fer-ho al vapor i s'haurien de fer estudis dels diferents processos com ara cuinar al forn o fregir.

Pel que fa al factor de la bioaccessibilitat, l'estudi presentat en aquesta tesi va incloure el BDE-47, el BDE-100, l' $\alpha$ -HBCD i també compostos perfluorats i PPCP. Els PBDE van mostrar les bioaccessibilitat més baixes, entre el 15 i el 45 %. L'HBCD va mostrar una de les més elevades per al verat,  $89,6 \pm 5,71$  %, i la més baixa per als musclos,  $13,8 \pm 0,34$  %. La resta de compostos se situaven entre un 60 % i un 95 % de bioaccessibilitat. Una diferència entre les famílies de compostos és que els retardants de flama són més hidròfobs i els altres més hidròfils; com els productes farmacèutics, que s'han d'assimilar al cos perquè hi actuïn. La hidrofobicitat dels retardants de flama pot dificultar que passin a la fase aquosa, que s'absorbeix al tracte intestinal, i facilitar que es quedin en la fracció sòlida, que s'excreta. Aquests resultats eren amb peix i musclos crus. Quan es calculava la bioaccessibilitat dels PBDE després de cuinar el peix al vapor, podia disminuir fins a la meitat. Per a l'HBCD no s'apreciaven canvis.

Vist en conjunt, es fa palès que l'avaluació de riscos sense tenir en compte els efectes de cuinar el peix pot subestimar el risc dels retardants de flama, tot i que la baixa bioaccessibilitat d'aquests compostos hidròfobs pot mitigar el risc. Actualment, són poques les publicacions que tracten aquest tema malgrat que aquests factors siguin clau per oferir millors directrius als productors i els consumidors i per fer una legislació més efectiva basada en dades realistes. Des d'aquesta tesi es destaca la necessitat d'aportar més dades en aquesta línia d'estudi per facilitar aquestes millores.





## 8 Conclusions / Conclusions

Aquesta tesi contribueix a **ampliar la informació**, encara escassa, sobre retardants de flama clàssic i emergents i piretroides en biota i sobre nous factors a tenir en compte respecte al risc del consumidor de peix i marisc. A més, inclou les **primeres dades** publicades sobre piretroides en mamífers marins de l'hemisferi nord i sobre OPFR en dofins de tot el món.

*This thesis contributes to **adding information**, which is still scarce, about classic and emerging flame retardants and pyrethroids in biota and about new factors to take into account regarding seafood safety. Moreover, it includes the **first published data** about pyrethroids in marine mammals from the northern hemisphere and OPFRs in dolphins from all the world.*

### 8.1 Biota / Biota

Els **PBDE** són COP inclosos al Conveni d'Estocolm i s'han utilitzat com a referència de contaminant preocupant. Els nivells de PBDE en dofí ratllat de la costa catalana semblen lleugerament més alts que en estudis previs, però en el mateix ordre de magnitud. D'altra banda, alguns individus mostren concentracions més elevades que les que provocarien disrupció endocrina en altres mamífers marins. Les concentracions en dofins de Sud-àfrica són menors —com solen ser les concentracions de PBDE a l'Àfrica—, però més altes del que a priori es podria pensar. A falta d'altres estudis similars en aquella zona, no es pot afirmar si és la norma o la conseqüència d'una font de contaminació local. Tant en dofins com en peix i marisc els PBDE es detecten en totes les mostres, o quasi totes, i presenten les concentracions més elevades de tots els contaminants inclosos en aquesta tesi. Finalment, les concentracions en dofins del Mediterrani s'han mantingut **estables** en les dues últimes dècades tot i que se n'hagi

***PBDEs** are POPs that are listed in the Stockholm Convention and they have been used as a reference of contaminant of concern. Levels of PBDEs in striped dolphin from the Catalan coast seem slightly higher than in previous studies but in the same order of magnitude. On the other hand, some individuals show concentrations higher than those reported to cause endocrine disruption in other marine mammals. Concentrations in dolphins from South Africa are lower —as levels of PBDEs tend to be in Africa—, but higher than what could be expected. The lack of similar studies in that region prevents from deciding is that is the norm of the consequence of a local source of contamination. PBDEs are detected in all or most samples of both dolphins and seafood at higher levels than the other compounds studied in this thesis. Finally, concentrations in Mediterranean dolphins have been **stable** for the last two decades despite PBDEs having been banned. Therefore, the impact of these*

abandonat l'ús. Per tant, l'impacte d'aquests COP en medi marí és encara present malgrat que faci més d'una dècada que no s'utilitzen.

Les concentracions d'**HBCD**, l'altre retardant de flama a la llista del Conveni d'Estocolm, sempre són menors que les de PBDE tant en dofins com en peix i marisc. Aquest compost no es detecta en més de la meitat de les mostres. S'ha detectat també en mostres de l'Antàrtida a causa del **transport a llarga distància**.

Els **retardants de flama emergents bromats** sovint no es poden quantificar o ni tan sols detectar, ni en les mostres d'aquesta tesi ni en altres estudis. Ara bé, l'**HBB** ha mostrat nivells comparables als de l'HBCD en algunes mostres de peix i marisc. El **DBDPE**, substitut del BDE-209, s'ha quantificat en musclos de piscifactoria. El **PBEB** s'ha mantingut per sota del límit de quantificació. Caldrà seguir estudiant aquests compostos per veure si es mantenen en aquest nivell i conèixer millor la seva toxicitat per establir el nivell considerat segur.

Els **declorans**, retardants de flama emergents clorats, i especialment el Dec 602, es detecten amb freqüències similars als PBDE en dofins i similars a l'HBCD en peix i marisc. D'altra banda, les concentracions de declorans al Mediterrani són comparables a les de l'HBCD, però a l'Índic els contaminants emergents superen el COP clàssic. A més, sembla que les concentracions de declorans podrien haver

*POPs in the marine environment is still present even if they haven't been used for more than a decade.*

*The concentrations of **HBCD**, the other flame retardant listed in the Stockholm Convention, are always lower than those of PBDEs, both in dolphins and in seafood. This compound is not detected in more than half of the samples. It has also been detected in the Antarctica due to its **long-range transport**.*

***Brominated emerging flame retardants** are usually below their limits of quantification or even not detected. That is true for this thesis and other studies. However, **HBB** has shown levels which are similar to HBCD's for some seafood samples. **DBDPE**, BDE-209's substitute, has been quantified in aquaculture mussels. **PBEB** has remained below its limit of quantification. Research on these compounds has to continue in order to see if they stay within this levels and to learn about their toxicity so that a reference on their safety levels can be established.*

***Dechloranes**, chlorinated emerging flame retardants, and especially Dec 602, are detected at frequencies of detection similar to PBDEs' in dolphins and similar to HBCD's in seafood. But levels of dechloranes in the Mediterranean Sea are comparable to levels of HBCD and in the Indian Ocean the levels of the emerging contaminants are higher than the levels of the legacy POP. Moreover,*

estar **augmentant** lentament els últims 20 anys i s'ha confirmat que es poden **transportar a llargues distància** i creuar la barrera hematoencefàlica (recordem que són potencialment neurotòxics). Segons aquestes dades preliminars, els dechlorans serien candidats a afegir a la llista del **Conveni d'Estocolm**.

Sense ser part del pla inicial, els **OPFR** s'han detectat en totes les matrius analitzades — biota, sediment i aigua— en concentracions similars a les dels PBDE i, en general, superiors a les dels dechlorans. També han augmentat la presència en dofins en l'última dècada. L'ús dels OPFR ha augmentat després que altres retardants de flama s'hagin prohibit i, a més, s'usen com a plastificants. És d'esperar que els nivells actuals augmentin i per això cal seguir estudiant la seva presència en medi marí i els seus potencials de bioacumulació, de biomagnificació i de toxicitat.

Els **MeO-PBDE**, compostos naturals anàlegs als PBDE, tenen concentracions similars en dofins del Mediterrani i de l'Índic. Les seves concentracions són **variables**, fins a poder-se comparar amb l'HBCD i els dechlorans.

Els compostos pseudopersistents, els **piretroides**, mostren concentracions i freqüències de detecció possiblement molt **vinculades a l'ús** que se'n fa en una àrea determinada. Les concentracions en dofins de

*concentrations of dechloranes seem to have been **increasing** slowly during the last two decades and it has been proved that dechloranes suffer **long-range transport** and that they can cross the blood-brain barrier (bear in mind that they have neurotoxic potential). According to these preliminary data, dechloranes would be candidates to be listed in the **Stockholm Convention**.*

*Not included in the original plan, **OPFRs** have been detected in all matrices —biota, sediment and water— in concentrations similar to PBDEs' and, in general, superior to those of dechloranes. Their presence in dolphins has also increased in the last decade. The use of OPFRs has increased after the ban of other flame retardants. Moreover, they are used as plasticisers. Levels are expected to keep increasing, thus it is imperative to keep studying their presence in the marine environment, their bioaccumulation and biomagnification potential and their toxicity.*

***MeO-PBDEs**, natural compounds analogous to PBDEs, showed similar concentrations in the Mediterranean Sea and in the Indian Ocean. They had **variable** concentrations, even comparable to HBCD's and dechloranes'.*

***Pyrethroids**, the pseudo-POPs, showed concentrations and frequencies of detection that are likely to be **linked to their use** in a specific region. Concentrations in Indian dolphins are almost negligible, while levels in*

l'Índic són pràcticament negligibles, mentre que en dofins del Mediterrani són equiparables a les dels PBDE. Per això, malgrat que siguin poc persistents, el grau d'ús dels piretroides els converteix en contaminants pseudopersistents que podrien suposar problemes similars als COP.

Les **condicions ambientals** són un factor important en la **bioacumulació** i la depuració de contaminants en organismes marins. S'han utilitzat els dechlorans per demostrar que l'augment de temperatura i la disminució de pH que el canvi climàtic podria provocar en un futur proper poden augmentar la bioacumulació en els organismes dels contaminants del seu entorn i empitjorar el problema de la contaminació del medi marí. D'altra banda, la **biomagnificació** de tots aquests contaminants s'intueix si es comparen els valors de concentració en peixos amb les trobades en dofins.

## 8.2 Consum humà / Seafood

L'**avaluació de riscos** per al **consumidor de peix i marisc** és conceptualment senzilla per als **piretroides**. Tot i que no existeixi regulació per als límits màxims de residu en peix perquè fins ara es creia que els piretroides no es bioacumulaven, hi ha valors d'IDA perquè se sabia que estaven en fruita i verdura. Agafant un exemple extrem d'aplicació directa sobre el peix, els piretroides utilitzats contra el poll de mar en la cria de salmó aporten contaminació addicional als peixos, però la ingesta diària per part del consumidor és molt

*Mediterranean dolphins are comparable to PBDEs'. Therefore, even though they are not persistent, their massive use makes them pseudo-persistent compounds that could cause as much concern as POPs.*

*Environmental conditions are an important factor for bioaccumulation and depuration of contaminants in marine organisms. Dechloranes were used to show that an rise of temperatures and the decrease of pH that climate change could cause in the near future can promote bioaccumulation in organisms of the compounds present in their surroundings and worsen the problem of contamination in the marine environment. Additionally, the comparison of the levels found in fish with the levels found in dolphins hints at the potential biomagnification of these contaminants.*

*Seafood risk assessment is conceptually simple for pyrethroids. Although there are no regulated maximum residue levels for fish because until now pyrethroids were believed not to bioaccumulate, there are ADI values because they were known to be in fruit and vegetables. Using an extreme example of direct application on the fish, pyrethroids used against sea lice in salmon farms introduce additional contamination into fish, but the daily intake of consumers is a lot lower and the use of pyrethroids does not pose a threat.*

petita i l'ús que es fa dels piretroides no suposa un risc.

L'**avaluació de riscos** per als **retardants de flama** és més complexa perquè no existeix regulació directa. S'han estudiat l'exposició i el risc del BDE-47, el BDE-99 i l'HBCD per a consumidors europeus i el BDE-99 podria suposar un risc. A més, **cuinar el peix** al vapor pot doblar la concentració de PBDE i augmentar la d'HBB i PBEB. L'efecte en l'HBCD i els MeO-PBDE sembla que depèn de l'espècie. D'altra banda, la **bioaccessibilitat** dels retardants de flama ingerits sembla menor del 50 % per als PBDE, però varia entre el 14 i el 90 % per a l' $\alpha$ -HBCD. En el futur caldrà seguir estudiant els factors que afecten el risc per al consumidor per poder oferir millors directrius als productors i els consumidors i per fer una legislació més efectiva basada en dades realistes.

**Situar les piscifactories** lluny de nuclis poblacionals i al mar obert ajuda a reduir l'aportació de retardants de flama. Ara bé, els OPFR poden tenir concentracions molt elevades si s'utilitzen materials plàstics en la producció de peix i marisc.

***Risk assessment for flame retardants is more complex as there is no regulation on this issue. Exposure and risk for European consumers regarding BDE-47, BDE-99 and HBCD were studied and BDE-99 might pose a threat. Moreover, steaming fish can double the concentration of PBDEs and increase the concentrations of HBB and PBEB. The effect on HBCD and MeO-PBDEs seem to depend on the seafood species. On the other hand, the bioaccessibility of the ingested flame retardants seemed lower than 50 % for PBDEs, but ranged from 14 to 90 % for  $\alpha$ -HBCD. These factors that affect seafood risks must be further studied in the future in order to offer better directions to producers and consumers and make accurate regulations based on realistic data.***

***Placing fish farms away from urban centres and on the open sea helps reduce the input of flame retardants. However, OPFRs can be present in very high concentrations if plastic materials are used in the fish farming activity.***



## Bibliografia

- Abafe, O. A., Martincigh, B. S. 2015. An assessment of polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in the indoor dust of e-waste recycling facilities in South Africa: implications for occupational exposure. *Environmental Science and Pollution Research*. 22, 14078-14086. Doi 10.1007/s11356-015-4627-z
- Abafe, O. A., Martincigh, B. S. 2016. Determination and human exposure assessment of polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A in indoor dust in South Africa. *Environmental Science and Pollution Research*. 23, 7038-7049. Doi 10.1007/s11356-015-6031-0
- Abdallah, M. A. E., Uchea, C., Chipman, J. K. et al. 2014. Enantioselective biotransformation of hexabromocyclododecane by in vitro rat and trout hepatic sub-cellular fractions. *Environmental Science and Technology*. 48, 2732-2740. Doi 10.1021/es404644s
- Abernath, C., Ueda, K., Engel, J. L. et al. 1973. Substrate specificity and toxicological significance of pyrethroid-hydrolyzing esterases of mouse liver-microsomes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 3, 300-311. Doi 10.1016/0048-3575(73)90028-x
- AERU. Agriculture & Environment Research Unit (University of Hertfordshire). PPDB: Pesticide Properties DataBase. (2007). <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>> [data de consulta: febrer 2014].
- Alaee, M., Arias, P., Sjödin, A. et al. 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environment International*. 29, 683-689. Doi 10.1016/S0160-4120(03)00121-1
- Alonso, M. B., Azevedo, A., Torres, J. P. M. et al. 2014. Anthropogenic (PBDE) and naturally-produced (MeO-PBDE) brominated compounds in cetaceans - A review. *Science of the Total Environment*. 481, 619-634. Doi 10.1016/j.scitotenv.2014.02.022
- Alonso, M. B., Eljarrat, E., Gorga, M. et al. 2012a. Natural and anthropogenically-produced brominated compounds in endemic dolphins from Western South Atlantic: Another risk to a vulnerable species. *Environmental Pollution*. 170, 152-160. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.06.001>
- Alonso, M. B., Feo, M. L., Corcellas, C. et al. 2015. Toxic heritage: Maternal transfer of pyrethroid insecticides and sunscreen agents in dolphins from Brazil. *Environmental Pollution*. 207, 391-402. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.039>
- Alonso, M. B., Feo, M. L., Corcellas, C. et al. 2012b. Pyrethroids: A new threat to marine mammals? *Environment International*. 47, 99-106. Doi 10.1016/j.envint.2012.06.010
- Amweg, E. L., Weston, D. P., You, J. et al. 2006. Pyrethroid insecticides and sediment toxicity in urban creeks from California and Tennessee. *Environmental Science & Technology*. 40, 1700-1706. Doi 10.1021/es051407c
- Anh, H. Q., Nam, V. D., Tri, T. M. et al. 2017. Polybrominated diphenyl ethers in plastic products, indoor dust, sediment and fish from informal e-waste recycling sites in Vietnam: a comprehensive assessment of contamination, accumulation pattern, emissions, and human exposure. *Environmental Geochemistry and Health*. 39, 935-954. Doi 10.1007/s10653-016-9865-6
- Asche, F., Roll, K. H., Sandvold, H. N. et al. 2013. Salmon aquaculture: Larger companies and increased production. *Aquaculture Economics & Management*. 17, 322-339. Doi 10.1080/13657305.2013.812156
- Asplund, L., Athanasiadou, M., Sjödin, A. et al. 1999. Organohalogen substances in muscle, egg and blood from healthy Baltic salmon (*Salmo salar*) and Baltic salmon that produced offspring with the M74 syndrome. *Ambio*. 28, 67-76.
- Ballschmiter, K., Zell, M. 1980. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography - Composition of technical aroclor- and Clophen-PCB mixtures. *Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie*. 302, 20-31. Doi 10.1007/bf00469758
- Barceló, D., Petrovic, M. 2007. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1141-1142. Doi 10.1007/s00216-006-1012-2
- Barón, E., Dissanayake, A., Vilà-Cano, J. et al. 2016. Evaluation of the genotoxic and physiological effects of decabromodiphenyl ether (BDE-209) and Dechlorane Plus (DP) flame retardants in

- marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Environmental Science & Technology*. 50, 2700-2708. Doi 10.1021/acs.est.5b05814
- Barón, E., Eljarrat, E., Barceló, D. 2012. Analytical method for the determination of halogenated norbornene flame retardants in environmental and biota matrices by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1248, 154-160. Doi 10.1016/j.chroma.2012.05.079
- Barón, E., Eljarrat, E., Barceló, D. 2014. Gas chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous analysis of 19 brominated compounds in environmental and biological samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. Doi 10.1007/s00216-014-8196-7
- Barón, E., Gago-Ferrero, P., Gorga, M. et al. 2013. Occurrence of hydrophobic organic pollutants (BFRs and UV-filters) in sediments from South America. *Chemosphere*. 92, 309-316. Doi 10.1016/j.chemosphere.2013.03.032
- Barón, E., Giménez, J., Verborgh, P. et al. 2015a. Bioaccumulation and biomagnification of classical flame retardants, related halogenated natural compounds and alternative flame retardants in three delphinids from Southern European waters. *Environmental Pollution*. 203, 107-115. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.041>
- Barón, E., Hauler, C., Gallistl, C. et al. 2015b. Halogenated natural products in dolphins: Brain-blubber distribution and comparison with halogenated flame retardants. *Environmental Science and Technology*. 49, 9073-9083. Doi 10.1021/acs.est.5b02736
- Betts, K. S. 2008. New thinking on flame retardants. *Environmental Health Perspectives*. 116, A210-A213.
- Birnbaum, L. S., Staskal, D. F. 2004. Brominated flame retardants: Cause for concern? *Environmental Health Perspectives*. 112, 9-17. Doi 10.1289/ehp.6547
- Bixian, M., Shejun, C., Xiaojun, L. et al. 2005. Distribution of polybrominated diphenyl ethers in sediments of the Pearl River Delta and adjacent south China Sea. *Environmental Science & Technology*. 39, 3521-3527. Doi 10.1021/es048083x
- Borghesi, N., Corsolini, S., Leonards, P. et al. 2009. Polybrominated diphenyl ether contamination levels in fish from the Antarctic and the Mediterranean Sea. *Chemosphere*. 77, 693-698. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.035>
- Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T. et al. 2005. Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological reviews*. 24, 93-106. Doi 10.2165/00139709-200524020-00003
- Branchi, I., Capone, F., Alleva, E. et al. 2003. Polybrominated diphenyl ethers: Neurobehavioral effects following developmental exposure. *Neurotoxicology*. 24, 449-462. Doi 10.1016/S0161-813X(03)00020-2
- Casida, J. E., Quistad, G. B. 1998. Golden age of insecticide research: Past, present, or future? *Annual Review of Entomology*. 43, 1-16. Doi 10.1146/annurev.ento.43.1.1
- Casida, J. E., Ueda, K., Gaughan, L. C. et al. 1975. Structure-biodegradability relationships in pyrethroid insecticides. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 3, 491-500.
- Castrillon, J., Gomez-Campos, E., Aguilar, A. et al. 2010. PCB and DDT levels do not appear to have enhanced the mortality of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) in the 2007 Mediterranean epizootic. *Chemosphere*. 81, 459-463. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.008>
- Castro-Jiménez, C. J., Dachs, J., Eisenreich, S. J. 2015. Atmospheric deposition of POPs: Implications for the chemical pollution of aquatic environments. *Comprehensive Analytical Chemistry*. 67, 295-322. Doi 10.1016/b978-0-444-63299-9.00008-9
- Cipro, C. V. Z., Bustamante, P., Taniguchi, S. et al. 2012. Persistent organic pollutants and stable isotopes in pinnipeds from King George Island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*. 64, 2650-2655. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.10.012>
- Cleuvers, M. 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicology Letters*. 142, 185-194. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4274\(03\)00068-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00068-7)
- Collins, C. D., Craggs, M., Garcia-Alcega, S. et al. 2015. 'Towards a unified approach for the determination of the bioaccessibility of organic pollutants'. *Environment International*. 78, 24-31. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2015.02.005>



- Corcellas, C. 2017. *Estudi dels insecticides piretroides en mostres biològiques i humanes*. Barcelona, pp. 234.
- Corcellas, C., Eljarrat, E., Barceló, D. 2015. First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: A case study in Iberian river basins (Spain). *Environment International*. 75, 110-116. Doi 10.1016/j.envint.2014.11.007
- Corcellas, C., Feo, M. L., Torres, J. P. et al. 2012. Pyrethroids in human breast milk: Occurrence and nursing daily intake estimation. *Environment International*. 47, 17-22. Doi 10.1016/j.envint.2012.05.007
- Corsolini, S., Ademollo, N., Martellini, T. et al. 2017. Legacy persistent organic pollutants including PBDEs in the trophic web of the Ross Sea (Antarctica). *Chemosphere*. 185, 699-708. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.054>
- Costa, L. G., Giordano, G. 2011. Is decabromodiphenyl ether (BDE-209) a developmental neurotoxicant? *Neurotoxicology*. 32, 9-24. Doi 10.1016/j.neuro.2010.12.010
- Covaci, A., Harrad, S., Abdallah, M. A. E. et al. 2011. Novel brominated flame retardants: A review of their analysis, environmental fate and behaviour. *Environment International*. 37, 532-556. Doi 10.1016/j.envint.2010.11.007
- Covaci, A., Voorspoels, S., Ramos, L. et al. 2007. Recent developments in the analysis of brominated flame retardants and brominated natural compounds. *Journal of Chromatography A*. 1153, 145-171. Doi 10.1016/j.chroma.2006.11.060
- Cruz, R., Cunha, S. C., Casal, S. 2015. Brominated flame retardants and seafood safety: A review. *Environment International*. 77, 116-131. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.001>
- Channa, K. R., Rollin, H. B., Wilson, K. S. et al. 2012. Regional variation in pesticide concentrations in plasma of delivering women residing in rural Indian Ocean coastal regions of South Africa. *Journal of Environmental Monitoring*. 14, 2952-2960. Doi 10.1039/c2em30264k
- Cheng, Z., Lin, T., Xu, W. et al. 2015. A preliminary assessment of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in deep-sea sediments from the Indian Ocean. *Marine Pollution Bulletin*. 94, 323-328. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.01.027>
- Chokwe, T. B., Okonkwo, J. O., Sibali, L. L. et al. 2015. Alkylphenol ethoxylates and brominated flame retardants in water, fish (carp) and sediment samples from the Vaal River, South Africa. *Environmental Science and Pollution Research*. 22, 11922-11929. Doi 10.1007/s11356-015-4430-x
- Christensen, J. H., Glasius, M., Pécseli, M. et al. 2002. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in marine fish and blue mussels from southern Greenland. *Chemosphere*. 47, 631-638. Doi 10.1016/S0045-6535(02)00009-7
- Darnerud, P. O., Atuma, S., Aune, M. et al. 2006. Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on Swedish market basket data. *Food and Chemical Toxicology*. 44, 1597-1606. Doi <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.03.011>
- Daughton, C. G. 2004. Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environmental Impact Assessment Review*. 24, 711-732. Doi 10.1016/j.eiar.2004.06.003
- Davis, J. W., Gonisor, S., West, B. et al. 2003. Evaluation of the aerobic and anaerobic transformation of hexabromocyclododecane in soil and sediments. A: *The Fifth Annual Workshop on Brominated Flame Retardants in the Environment. Book of Abstracts*. pp. 31.
- de Boer, J., Wester, P. G., Klamer, H. J. C. et al. 1998. Do flame retardants threaten ocean life? *Nature*. 394, 28-29.
- de la Cal, A., Eljarrat, E., Barceló, D. 2003. Determination of 39 polybrominated diphenyl ether congeners in sediment samples using fast selective pressurized liquid extraction and purification. *Journal of Chromatography A*. 1021, 165-173. Doi 10.1016/j.chroma.2003.09.023
- de Wit, C. A., Alaee, M., Muir, D. C. G. 2006. Levels and trends of brominated flame retardants in the Arctic. *Chemosphere*. 64, 209-233. Doi 10.1016/j.chemosphere.2005.12.029
- de Wit, C. A., Herzke, D., Vorkamp, K. 2010. Brominated flame retardants in the Arctic environment — trends and new candidates. *Science of the Total Environment*. 408, 2885-2918. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.08.037>
- deBruyn, A. M. H., Meloche, L. M., Lowe, C. J. 2009. Patterns of bioaccumulation of polybrominated diphenyl ether and polychlorinated biphenyl

- congeners in marine mussels. *Environmental Science & Technology*. 43, 3700-3704. Doi 10.1021/es900472k
- DeCarlo, V. J. 1979. Studies on brominated chemicals in the environment. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 320, 678-681. Doi 10.1111/j.1749-6632.1979.tb56642.x
- DG-SANCO. Directorate General for Health and Consumers (DG SANCO). EU Pesticides database. (2008). <[http://ec.europa.eu/sanco\\_pesticides/public/?event=homepage](http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/?event=homepage)> [data de consulta: març 2014].
- Domingo, J. L. 2010. Influence of cooking processes on the concentrations of toxic metals and various organic environmental pollutants in food: A review of the published literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51, 29-37. Doi 10.1080/10408390903044511
- EC. European Commission. Health and Consumers > Plants > Pesticides. (2012). <[http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/index_en.htm)> [data de consulta: març 2017].
- EFSA. Autoritat Europea de Seguretat Alimentària. EFSA provides advice on the safety and nutritional contribution of wild and farmed fish. (2005a). <<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/050704>> [data de consulta: setembre 2017].
- EFSA. 2005b. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the European Parliament related to the safety assessment of wild and farmed fish. *The EFSA Journal*. 236, 1-118. Doi 10.2903/j.efsa.2005.236
- EFSA. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *Scientific opinion on hexabromocyclododecanes (HBCDDs) in food* [en línia]. (2011a). <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2296.pdf>> [data de consulta: agost 2015].
- EFSA. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *Scientific opinion on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in food* [en línia]. (2011b). <[http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific\\_output/files/main\\_documents/2156.pdf](http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/2156.pdf)> [data de consulta: març 2016].
- EFSA. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *Scientific opinion on tetrabromobisphenol A (TBBPA) and its derivatives in food* [en línia]. (2011c). [data de consulta: març 2016].
- EFSA. Autoritat Europea de Seguretat Alimentària. Dioxins and PCBs report shows drop in dietary exposure over last decade. (2012a). <<https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/120718>> [data de consulta: setembre 2017].
- EFSA. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *Scientific opinion on emerging and novel brominated flame retardants (BFRs) in food* [en línia]. (2012b). <<http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2908.htm#>> [data de consulta: agost 2015].
- Egebäck, A. L., Sellström, U., McLachlan, M. S. 2012. Decabromodiphenyl ethane and decabromodiphenyl ether in Swedish background air. *Chemosphere*. 86, 264-269. Doi 10.1016/j.chemosphere.2011.09.041
- Eljarrat, E., Aznar-Alemany, Ò., Barceló, D. 2017. What about European environmental quality standards for PBDEs and HBCD in river fish? *BFR 2017 – 8th International Symposium on Flame Retardants*.
- Eljarrat, E., De La Cal, A., Larrazabal, D. et al. 2005. Occurrence of polybrominated diphenylethers, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls in coastal sediments from Spain. *Environmental Pollution*. 136, 493-501. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2004.12.005>
- Eljarrat, E., De La Cal, A., Raldua, D. et al. 2004. Occurrence and bioavailability of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in sediment and fish from the Cinca River, a tributary of the Ebro River (Spain). *Environmental Science & Technology*. 38, 2603-2608. Doi 10.1021/es0301424
- Eljarrat, E., Guerra, P., Martinez, E. et al. 2009. Hexabromocyclododecane in human breast milk: Levels and enantiomeric patterns. *Environmental Science & Technology*. 43, 1940-1946. Doi 10.1021/es802919e
- Eljarrat, E., Labandeira, A., Marsh, G. et al. 2007. Decabrominated diphenyl ether in river fish and sediment samples collected downstream an industrial park. *Chemosphere*. 69, 1278-1286. Doi 10.1016/j.chemosphere.2007.05.052
- Eljarrat, E., Lacorte, S., Barceló, D. 2002. Optimization of congener-specific analysis of 40 polybrominated diphenyl ethers by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 37, 76-84. Doi 10.1002/jms.262

- Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S. *et al.* 2014. Plastic pollution in the world's oceans: More than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PLoS ONE*. 9, e111913. Doi <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
- Eriksson, P., Viberg, H., Jakobsson, E. *et al.* 2002. A brominated flame retardant, 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether: Uptake, retention, and induction of neurobehavioral alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicological Sciences*. 67, 98-103. Doi 10.1093/toxsci/67.1.98
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all* [en línia]. (2016). <<http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/a-i5555e.pdf>> [data de consulta: setembre 2017].
- FAO/WHO. Food and Agriculture Organization of the United Nations i Organització Mundial de la Salut. *Joint FAO/WHO expert committee on food additives. Sixty-fourth meeting. Rome, 8-17 February 2005. Summary and conclusions* [en línia]. (2005). <[ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa64\\_summary.pdf](ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa64_summary.pdf)> [data de consulta: setembre 2017].
- Fatta-Kassinos, D., MERIC, S., Nikolaou, A. 2011. Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 399, 251-275. Doi 10.1007/s00216-010-4300-9
- Feng, M., Qu, R., Li, Y. *et al.* 2014. Biochemical biomarkers in liver and gill tissues of freshwater fish *Carassius auratus* following in vivo exposure to hexabromobenzene. *Environmental Toxicology*. 29, 1460-1470. Doi 10.1002/tox.21876
- Feng, M., Qu, R., Wang, C. *et al.* 2013. Comparative antioxidant status in freshwater fish *Carassius auratus* exposed to six current-use brominated flame retardants: A combined experimental and theoretical study. *Aquatic Toxicology*. 140, 314-323. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.07.001>
- Feo, M. L., Eljarrat, E., Manaca, M. N. *et al.* 2012. Pyrethroid use-malaria control and individual applications by households for other pests and home garden use. *Environment International*. 38, 67-72. Doi 10.1016/j.envint.2011.08.008
- Foran, J. A., Carpenter, D. O., Hamilton, M. C. *et al.* 2005. Risk-based consumption advice for farmed Atlantic and wild Pacific salmon contaminated with dioxins and dioxin-like compounds. *Environmental Health Perspectives*. 113, 552-556. Doi 10.1289/ehp.7626
- Fossi, M. C., Panti, C., Marsili, L. *et al.* 2013. The Pelagos Sanctuary for Mediterranean marine mammals: Marine Protected Area (MPA) or marine polluted area? The case study of the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). *Marine Pollution Bulletin*. 70, 64-72. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.013>
- Frydrych, B., Szymanska, J. A., Sala, M. *et al.* 2005. The effect of selected aromatic bromine derivatives on the activity of glutathione peroxidase and transferase. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 18, 127-132.
- Gerecke, A. C., Giger, W., Hartmann, P. C. *et al.* 2006. Anaerobic degradation of brominated flame retardants in sewage sludge. *Chemosphere*. 64, 311-317. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.016>
- Gerecke, A. C., Hartmann, P. C., Heeb, N. V. *et al.* 2005. Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether. *Environmental Science and Technology*. 39, 1078-1083. Doi 10.1021/es048634j
- Gorga, M., Martínez, E., Ginebreda, A. *et al.* 2013. Determination of PBDEs, HBB, PBEB, DBDPE, HBCD, TBBPA and related compounds in sewage sludge from Catalonia (Spain). *Science of the Total Environment*. 444, 51-59. Doi 10.1016/j.scitotenv.2012.11.066
- Goutte, A., Chevreuil, M., Alliot, F. *et al.* 2013. Persistent organic pollutants in benthic and pelagic organisms off Adélie Land, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*. 77, 82-89. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.027>
- Gribble, G. 2000. The natural production of organobromine compounds. *Environmental Science and Pollution Research*. 7, 37-49. Doi 10.1065/espr199910.002
- Grube, A., Donaldson, D., Kiely, T. *et al.* U.S. Environmental Protection Agency (EPA). *Pesticides Industry Sales and Usage - 2006 and 2007 Market Estimates* [en línia]. Washington, DC

- (2011).  
<<http://www.epa.gov/pesticides/pestsales/>>  
[data de consulta: agost 2015].
- Gu, S.-Y., Ekpeghere, K. I., Kim, H.-Y. *et al.* 2017. Brominated flame retardants in marine environment focused on aquaculture area: Occurrence, source and bioaccumulation. *Science of the Total Environment*. 601, 1182-1191. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.209>
- Guerra, P., Alae, M., Jiménez, B. *et al.* 2012. Emerging and historical brominated flame retardants in peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs from Canada and Spain. *Environment International*. 40, 179-186. Doi [10.1016/j.envint.2011.07.014](http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2011.07.014)
- Guerra, P., de la Torre, A., Martínez, M. A. *et al.* 2008. Identification and trace level determination of brominated flame retardants by liquid chromatography/quadrupole linear ion trap mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 22, 916-924. Doi [10.1002/rcm.3443](http://dx.doi.org/10.1002/rcm.3443)
- Guerra, P., Eljarrat, E., Barcelo, D. 2010a. Simultaneous determination of hexabromocyclododecane, tetrabromobisphenol A, and related compounds in sewage sludge and sediment samples from Ebro River basin (Spain). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 397, 2817-2824. Doi [10.1007/s00216-010-3670-3](http://dx.doi.org/10.1007/s00216-010-3670-3)
- Guerra, P., Eljarrat, E., Barceló, D. 2010b. Analysis and occurrence of emerging brominated flame retardants in the Llobregat River basin. *Journal of Hydrology*. 383, 39-43. Doi [10.1016/j.jhydrol.2009.06.052](http://dx.doi.org/10.1016/j.jhydrol.2009.06.052)
- Guerra, P., Fernie, K., Jiménez, B. *et al.* 2011. Dechlorane Plus and related compounds in peregrine falcon (*Falco peregrinus*) eggs from Canada and Spain. *Environmental Science & Technology*. 45, 1284-1290. Doi [10.1021/es103333j](http://dx.doi.org/10.1021/es103333j)
- Guerra, R., Pasteris, A., Lee, S.-h. *et al.* 2014. Spatial patterns of metals, PCDDs/Fs, PCBs, PBDEs and chemical status of sediments from a coastal lagoon (Pialassa Baiona, NW Adriatic, Italy). *Marine Pollution Bulletin*. 89, 407-416. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.10.024>
- Gustafsson, K., Björk, M., Burreau, S. *et al.* 1999. Bioaccumulation kinetics of brominated flame retardants (polybrominated diphenyl ethers) in blue mussels (*Mytilus edulis*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18, 1218-1224. Doi [10.1002/etc.5620180621](http://dx.doi.org/10.1002/etc.5620180621)
- Haglund, P. S., Zook, D. R., Buser, H.-R. *et al.* 1997. Identification and quantification of polybrominated diphenyl ethers and methoxy-polybrominated diphenyl ethers in Baltic biota. *Environmental Science & Technology*. 31, 3281-3287. Doi [10.1021/es9702834](http://dx.doi.org/10.1021/es9702834)
- Hall, A. J., Kalantzi, O. I., Thomas, G. O. 2003. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in grey seals during their first year of life—are they thyroid hormone endocrine disrupters? *Environmental Pollution*. 126, 29-37. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00149-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00149-0)
- Hardy, M. L. 2002. The toxicology of the three commercial polybrominated diphenyl ether (ether) flame retardants. *Chemosphere*. 46, 757-777. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00240-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00240-5)
- Harner, T., Shoeb, M., Diamond, M. *et al.* 2006. Passive sampler derived air concentrations of PBDEs along an urban–rural transect: Spatial and temporal trends. *Chemosphere*. 64, 262-267. Doi [10.1016/j.chemosphere.2005.12.018](http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.018)
- Harrad, S., Abdallah, M. A. E., Rose, N. L. *et al.* 2009. Current-use brominated flame retardants in water, sediment, and fish from English lakes. *Environmental Science and Technology*. 43, 9077-9083. Doi [10.1021/es902185u](http://dx.doi.org/10.1021/es902185u)
- Haya, K., Burrige, L. E., Davies, I. M. *et al.* 2005. A review and assessment of environmental risk of chemicals used for the treatment of sea lice infestations of cultured salmon. *Environmental Effects of Marine Finfish Aquaculture*. 5, 305-340.
- Hellou, J., Lebeuf, M., Rudi, M. 2013. Review on DDT and metabolites in birds and mammals of aquatic ecosystems. *Environmental Reviews*. 21, 53-69. Doi [10.1139/er-2012-0054](http://dx.doi.org/10.1139/er-2012-0054)
- Heudorf, U., Angerer, J., Drexler, H. 2004. Current internal exposure to pesticides in children and adolescents in Germany: urinary levels of metabolites of pyrethroid and organophosphorus insecticides. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 77, 67-72. Doi [10.1007/s00420-003-0470-5](http://dx.doi.org/10.1007/s00420-003-0470-5)
- Hites, R. A., Foran, J. A., Carpenter, D. O. *et al.* 2004. Global assessment of organic contaminants in farmed salmon. *Science*. 303, 226-229. Doi [10.1126/science.1091447](http://dx.doi.org/10.1126/science.1091447)

- Hoh, E., Zhu, Hites, R. A. 2006. Dechlorane Plus, a chlorinated flame retardant, in the Great Lakes. *Environmental Science & Technology*. 40, 1184-1189. Doi 10.1021/es051911h
- Hoh, E., Zhu, L., Hites, R. A. 2005. Novel flame retardants, 1,2-bis(2,4,6-tribromophenoxy)-ethane and 2,3,4,5,6-pentabromoethylbenzene, in United States' environmental samples. *Environmental Science and Technology*. 39, 2472-2477. Doi 10.1021/es048508f
- Hong, Q. I., Liyan, L., Hongliang, J. et al. 2010. Dechlorane plus in surficial water and sediment in a northeastern Chinese river. *Environmental Science and Technology*. 44, 2305-2308. Doi 10.1021/es9027106
- Hosokawa, M., Maki, T., Satoh, T. 1990. Characterization of molecular species of liver microsomal carboxylesterases of several animal species and humans. *Arch Biochem Biophys*. 277, 219-227.
- Hou, R., Xu, Y., Wang, Z. 2016. Review of OPFRs in animals and humans: Absorption, bioaccumulation, metabolism, and internal exposure research. *Chemosphere*. 153, 78-90. Doi <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.003>
- Houde, M., Berryman, D., de Lafontaine, Y. et al. 2014. Novel brominated flame retardants and dechloranes in three fish species from the St. Lawrence River, Canada. *Science of the Total Environment*. 479, 48-56. Doi 10.1016/j.scitotenv.2014.01.105
- Houlbrque, F., Hervé-Fernández, P., Teyssié, J. L. et al. 2011. Cooking makes cadmium contained in Chilean mussels less bioaccessible to humans. *Food Chemistry*. 126, 917-921. Doi 10.1016/j.foodchem.2010.11.078
- HSDB. United States National Library of Medicine. Hazardous Substances Data Bank (HSDB) (TOXNET Toxicology Data Network). (2001). <<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>> [data de consulta: febrer 2014].
- Huang, H., Fleming, C. D., Nishi, K. et al. 2005. Stereoselective hydrolysis of pyrethroid-like fluorescent substrates by human and other mammalian liver carboxylesterases. *Chemical Research in Toxicology*. 18, 1371-1377. Doi 10.1021/tx050072+
- Hunziker, R. W., Gonsior, S., MacGregor, J. A. et al. 2004. Fate and effect of hexabromocyclododecane in the environment. *Organohalogen Compd*. 66, 2300-2305.
- Hussain, S. 1987. A history of halogenated flame retardants. A: Seymour, R. B., Deanin, R. D. *History of polymeric composites*. VNU Science Press BV, Utrecht.
- Hwang, H.-M., Green, P. G., Holmes, R. W. 2009. Anthropogenic impacts on the quality of streambed sediments in the lower Sacramento River watershed, California. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 44, 1-11. Doi 10.1080/10934520802515137
- Ikem, A., Egiebor, N. O. 2005. Assessment of trace elements in canned fishes (mackerel, tuna, salmon, sardines and herrings) marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *Journal of Food Composition and Analysis*. 18, 771-787. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2004.11.002>
- Ikonomou, M. G., Fischer, M., He, T. et al. 2000. Congener patterns, spatial and temporal trends of polybrominated diphenyl ethers in biota samples from the Canadian west coast and the Northwest Territories. *Organohalogen Compounds*. 47, 77-80.
- INE. Instituto Nacional de Estadística. (2017). <<http://www.ine.es>> [data de consulta: setembre 2017].
- Issam, C., Zohra, H., Monia, Z. et al. 2011. Effects of dermal sub-chronic exposure of pubescent male rats to permethrin (PRMT) on the histological structures of genital tract, testosterone and lipoperoxidation. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 63, 393-400. Doi 10.1016/j.etp.2010.02.016
- Janák, K., Covaci, A., Voorspoels, S. et al. 2005. Hexabromocyclododecane in marine species from the Western Scheldt Estuary: Diastereoisomer- and enantiomer-specific accumulation. *Environmental Science and Technology*. 39, 1987-1994. Doi 10.1021/es0484909
- Jensen, S. *PCB Conference*. National Swedish Environmental Protection Board: Solna, Sweden (1970).
- Jepson, P. D., Deaville, R., Barber, J. L. et al. 2016. PCB pollution continues to impact populations of orcas and other dolphins in European waters. *Scientific Reports*. 6, 18573. Doi 10.1038/srep18573 <http://www.nature.com/articles/srep18573#supplementary-information>

- Jin, Y. X., Liu, J. W., Wang, L. G. *et al.* 2012. Permethrin exposure during puberty has the potential to enantioselectively induce reproductive toxicity in mice. *Environment International*. 42, 144-151. Doi 10.1016/j.envint.2011.05.020
- Johnson-Restrepo, B., Kannan, K., Addink, R. *et al.* 2005. Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in a marine foodweb of coastal Florida. *Environmental Science & Technology*. 39, 8243-8250. Doi 10.1021/es051551y
- Kajiwara, N., Noma, Y., Takigami, H. 2008. Photolysis studies of technical decabromodiphenyl ether (DecaBDE) and ethane (DeBDethane) in plastics under natural sunlight. *Environmental Science and Technology*. 42, 4404-4409. Doi 10.1021/es800060j
- Kim, J.-T., Son, M.-H., Kang, J.-H. *et al.* 2015. Occurrence of Legacy and New Persistent Organic Pollutants in Avian Tissues from King George Island, Antarctica. *Environmental Science & Technology*. 49, 13628-13638. Doi 10.1021/acs.est.5b03181
- Klamer, H. J. C., Leonards, P. E. G., Lamoree, M. H. *et al.* 2005. A chemical and toxicological profile of Dutch North Sea surface sediments. *Chemosphere*. 58, 1579-1587. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.11.027>
- Koch, C., Schmidt-Kötters, T., Rupp, R. *et al.* 2015. Review of hexabromocyclododecane (HBCD) with a focus on legislation and recent publications concerning toxicokinetics and -dynamics. *Environmental Pollution*. 199, 26-34. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.011>
- Kolaczinski, J. H., Curtis, C. F. 2004. Chronic illness as a result of low-level exposure to synthetic pyrethroid insecticides: a review of the debate. *Food and Chemical Toxicology*. 42, 697-706. Doi 10.1016/j.fct.2003.12.008
- Kostich, M. S., Lazorchak, J. M. 2008. Risks to aquatic organisms posed by human pharmaceutical use. *Science of the Total Environment*. 389, 329-339. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.09.008>
- Kozawa, K., Aoyama, Y., Mashimo, S. *et al.* 2009. Toxicity and actual regulation of organophosphate pesticides. *Toxin Reviews*. 28, 245-254. Doi 10.3109/15569540903297808
- Kuramochi, H., Takigami, H., Scheringer, M. *et al.* 2014. Estimation of physicochemical properties of 52 non-PBDE brominated flame retardants and evaluation of their overall persistence and long-range transport potential. *Science of the Total Environment*. 491-492, 108-117. Doi 10.1016/j.scitotenv.2014.04.004
- Kuriyama, S. N., Talsness, C. E., Grote, K. *et al.* 2005. Developmental exposure to low-dose PBDE-99: Effects on male fertility and neurobehavior in rat offspring. *Environmental Health Perspectives*. 113, 149-154. Doi 10.1289/ehp.7421
- Labandeira, A., Eljarrat, E., Barceló, D. 2007. Congener distribution of polybrominated diphenyl ethers in feral carp (*Cyprinus carpio*) from the Llobregat River, Spain. *Environmental Pollution*. 146, 188-195. Doi 10.1016/j.envpol.2006.04.037
- Lacorte, S., Ikonomou, M. G., Fischer, M. 2010. A comprehensive gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry based method for the determination of polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated and methoxylated metabolites in environmental samples. *Journal of Chromatography A*. 1217, 337-347. Doi 10.1016/j.chroma.2009.11.024
- Law, K., Halldorson, T., Danell, R. *et al.* 2006. Bioaccumulation and trophic transfer of some brominated flame retardants in a Lake Winnipeg (Canada) food web. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25, 2177-2186. Doi 10.1897/05-500r.1
- Law, R. J., Allchin, C. R., Bennett, M. E. *et al.* 2002. Polybrominated diphenyl ethers in two species of marine top predators from England and Wales. *Chemosphere*. 46, 673-681. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00231-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00231-4)
- Law, R. J., Allchin, C. R., Mead, L. K. 2005. Brominated diphenyl ethers in the blubber of twelve species of marine mammals stranded in the UK. *Marine Pollution Bulletin*. 50, 356-359. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.01.014>
- Lee, H. J., Kim, G. B. 2015. An overview of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the marine environment. *Ocean Science Journal*. 50, 119-142. Doi 10.1007/s12601-015-0010-8
- Leng, G., Leng, A., Kuhn, K. H. *et al.* 1997. Human dose-excretion studies with the pyrethroid insecticide cyfluthrin: urinary metabolite profile following inhalation. *Xenobiotica*. 27, 1273-1283.

- Liang, X., Li, W., Martyniuk, C. J. *et al.* 2014. Effects of dechlorane plus on the hepatic proteome of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). *Aquatic Toxicology*. 148, 83-91. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.01.003>
- Lindh, C. H., Rylander, L., Toft, G. *et al.* 2012. Blood serum concentrations of perfluorinated compounds in men from Greenlandic Inuit and European populations. *Chemosphere*. 88, 1269-1275. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.049>
- Lindström, G., Wingfors, H., Dam, M. *et al.* 1999. Identification of 19 polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) from the Atlantic. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 36, 355-363. Doi 10.1007/s002449900482
- Lohmann, R., Klanova, J., Kukucka, P. *et al.* 2013. Concentrations, fluxes, and residence time of PBDEs across the Tropical Atlantic Ocean. *Environmental Science & Technology*. 47, 13967-13975. Doi 10.1021/es403494b
- Losada, S., Roach, A., Roosens, L. *et al.* 2009. Biomagnification of anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in a marine food web from Sydney Harbour, Australia. *Environment International*. 35, 1142-1149. Doi 10.1016/j.envint.2009.07.008
- Lyons, J. W. 1970. *The chemistry and uses of fire retardants*. Wiley-Interscience, Nova York, pp.
- Macdonald, R. W., Bewers, J. M. 1996. Contaminants in the arctic marine environment: priorities for protection. *ICES Journal of Marine Science*. 53, 537-563. Doi 10.1006/jmsc.1996.0077
- Man, Y. B., Chow, K. L., Man, M. *et al.* 2015. Profiles and removal efficiency of polybrominated diphenyl ethers by two different types of sewage treatment work in Hong Kong. *Science of the Total Environment*. 505, 261-268. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.09.070>
- Marques, A., Lourenço, H. M., Nunes, M. L. *et al.* 2011. New tools to assess toxicity, bioaccessibility and uptake of chemical contaminants in meat and seafood. *Food Research International*. 44, 510-522. Doi 10.1016/j.foodres.2010.12.003
- Mauck, W. L., Olson, L. E. 1976. Toxicity of natural pyrethrins and five pyrethroids to fish. *Archives of environmental contamination and toxicology*. 4, 18-29.
- Meerts, I. A., Letcher, R. J., Hoving, S. *et al.* 2001. *In vitro* estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PDBEs, and polybrominated bisphenol A compounds. *Environmental Health Perspectives*. 109, 399-407.
- Meironyté, D., Norén, K., Bergman, Å. 1999. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*. 58, 329-341.
- Metcalfe, R. L. «Insect control technology». *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. John Wiley and Sons: New York (1995).
- Meylan, W. M., Howard, P. H. 1993. Computer estimation of the atmospheric gas-phase reaction rate of organic compounds with hydroxyl radicals and ozone. *Chemosphere*. 26, 2293-2299. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90355-9](http://dx.doi.org/10.1016/0045-6535(93)90355-9)
- Mikula, P., Svobodova, Z. 2006. Brominated flame retardants in the environment: Their sources and effects (a review). *Acta Veterinaria Brno*. 75, 587-599. Doi 10.2754/avb200675040587
- Molins-Delgado, D., Díaz-Cruz, S., Barceló, D. 2014. Introduction: Personal care products in the aquatic environment. A: Díaz-Cruz, S., Barceló, D. *Personal care products in the aquatic environment*. Springer International Publishing, Switzerland.
- Möller, A., Xie, Z., Cai, M. *et al.* 2011. Polybrominated diphenyl ethers vs alternate brominated flame retardants and dechloranes from East Asia to the Arctic. *Environmental Science & Technology*. 45, 6793-6799. Doi 10.1021/es201850n
- Möller, A., Xie, Z., Sturm, R. *et al.* 2010. Large-scale distribution of Dechlorane Plus in air and seawater from the Arctic to Antarctica. *Environmental Science & Technology*. 44, 8977-8982. Doi 10.1021/es103047n
- Moshhammer, H. 1996. Comment on Muller-Mohnssen, H., K. Hahn. A method for early detection of neurotoxic diseases. *Gesundheitswesen (Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (Germany))*. 58, 47-49.
- Muller-Mohnssen, H., Hahn, K. 1995. A new method for early detection of neurotoxic diseases (exemplified by pyrethroid poisoning). *Gesundheitswesen (Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (Germany))*. 57, 214-222.

- Nakari, T., Pessala, P. 2005. *In vitro* estrogenicity of polybrominated flame retardants. *Aquatic Toxicology*. 74, 272-279. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.06.004>
- Narahashi, T. 1992. Nerve membrane Na<sup>+</sup> channels as targets of insecticides. *Trends in Pharmacological Sciences*. 13, 236-241.
- Narahashi, T., Ginsburg, K. S., Nagata, K. *et al.* 1998. Ion channels as targets for insecticides. *Neurotoxicology*. 19, 581-590.
- Nasterlack, M., Chr Dietz, M. 1996. Comment on Muller-Mohnssen, H., K. Hahn. A method for early detection of neurotoxic diseases. *Gesundheitswesen (Bundesverband der Ärzte des Öffentlichen Gesundheitsdienstes (Germany))*. 58, 49-50.
- NAWQA. U. S. Geological Survey (U. S. Department of the Interior). Pesticide National Synthesis Project (National Water-Quality Assessment (NAWQA) Program). (2001). <<https://water.usgs.gov/nawqa/pnsp>> [data de consulta: febrer 2014].
- Ni, K., Lu, Y., Wang, T. *et al.* 2013. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in China: Policies and recommendations for sound management of plastics from electronic wastes. *Journal of Environmental Management*. 115, 114-123. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.09.031>
- Norén, K., Meironyté, D. 2000. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20–30 years. *Chemosphere*. 40, 1111-1123. Doi [10.1016/S0045-6535\(99\)00360-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00360-4)
- Nyholm, J. R., Asamoah, R. K., van der Wal, L. *et al.* 2010. Accumulation of polybrominated diphenyl ethers, hexabromobenzene, and 1,2-dibromo-4-(1,2-dibromoethyl)cyclohexane in earthworm (*Eisenia fetida*). Effects of soil type and aging. *Environmental Science & Technology*. 44, 9189-9194. Doi [10.1021/es1023288](https://doi.org/10.1021/es1023288)
- OMS. Organització Mundial de la Salut. Brominated diphenylethers. A: *Environmental Health Criteria*. (1994). <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc162.htm>> [data de consulta: juny 2017].
- OMS. Organització Mundial de la Salut. 2005. *Safety of pyrethroids for public health use*. pp.
- Ostrea, E. M., Bielawski, D. M., Posecion, N. C. *et al.* 2009. Combined analysis of prenatal (maternal hair and blood) and neonatal (infant hair, cord blood and meconium) matrices to detect fetal exposure to environmental pesticides. *Environmental Research*. 109, 116-122. Doi [10.1016/j.envres.2008.09.004](https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.09.004)
- Oursel, B., Garnier, C., Pairaud, I. *et al.* 2014. Behaviour and fate of urban particles in coastal waters: Settling rate, size distribution and metals contamination characterization. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 138, 14-26. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecss.2013.12.002>
- Park, B.-K., Park, G.-J., An, Y.-R. *et al.* 2010. Organohalogen contaminants in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from Korean coastal waters: Contamination status, maternal transfer and ecotoxicological implications. *Marine Pollution Bulletin*. 60, 768-774. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.03.023>
- Perelló, G., Martí-Cid, R., Castell, V. *et al.* 2009. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, hexachlorobenzene and polycyclic aromatic hydrocarbons in various foodstuffs before and after cooking. *Food and Chemical Toxicology*. 47, 709-715. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2008.12.030>
- Pham, C. K., Ramirez-Llodra, E., Alt, C. H. S. *et al.* 2014. Marine litter distribution and density in European seas, from the shelves to deep basins. *PLoS ONE*. 9, e95839. Doi <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095839>
- Pierce, G. J., Santos, M. B., Murphy, S. *et al.* 2008. Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: Geographical trends, causal factors and effects on reproduction and mortality. *Environmental Pollution*. 153, 401-415. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.08.019>
- Pollack, R. J., Kiszewski, A., Armstrong, P. *et al.* 1999. Differential permethrin susceptibility of head lice sampled in the United States and Borneo. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. 153, 969-973.
- POPRC. Comité de Examen de los Contaminantes Orgánicos Persistentes. *Evaluación de la gestión de riesgos del éter de pentabromodifenilo de calidad comercial* [en línea]. (2007). <<http://chm.pops.int/TheConvention/POPsReviewCommittee/Reports/tabid/2301/Default.aspx>> [data de consulta: setembre 2015].



- POPRC. Comité de Examen de los Contaminantes Orgánicos Persistentes. *Informe del Comité de Examen de los Contaminantes Orgánicos Persistentes sobre la labor realizada en su décima reunión: Perfil de riesgo sobre el éter de decabromodifenilo (mezcla comercial, c-decaBDE)* [en línia]. (2014). <<http://chm.pops.int/TheConvention/POPsReviewCommittee/Reports/tabid/2301/Default.aspx>> [data de consulta: setembre 2015].
- Rabbito, I. d. S., Bastos, W. R., Almeida, R. *et al.* 2011. Mercury and DDT exposure risk to fish-eating human populations in Amazon. *Environment International*. 37, 56-65. Doi 10.1016/j.envint.2010.07.001
- Ramu, K., Isobe, T., Takahashi, S. *et al.* 2010. Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecanes in sediments from coastal waters of Korea. *Chemosphere*. 79, 713-719. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.048>
- Ramu, K., Kajiwara, N., Lam, P. K. S. *et al.* 2006. Temporal variation and biomagnification of organohalogen compounds in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from the South China Sea. *Environmental Pollution*. 144, 516-523. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.027>
- Ramu, K., Kajiwara, N., Tanabe, S. *et al.* 2005. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and organochlorines in small cetaceans from Hong Kong waters: Levels, profiles and distribution. *Marine Pollution Bulletin*. 51, 669-676. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.02.041>
- Ray, D. E., Forshaw, P. J. 2000. Pyrethroid insecticides: Poisoning syndromes, synergies, and therapy. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*. 38, 95-101.
- REACH. *Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), establishing a European Chemicals Agency, amending Directive 1999/45/EC and repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC* [en línia]. (2006). <<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32006R1907>> [data de consulta: agost 2015].
- Resnik, D. B. 2009. Human health and the environment: In harmony or in conflict? *Health Care Analysis*. 17, 261-276. Doi 10.1007/s10728-008-0104-x
- Richardson, M. 1998. Pesticides - Friend or foe? *Water Science and Technology*. 37, 19-25. Doi 10.1016/s0273-1223(98)00257-1
- Ridgway, R. L., Tinney, J. C., Macgregor, J. T. *et al.* 1978. Pesticide use in agriculture. *Environmental Health Perspectives*. 27, 103-112. Doi 10.2307/3428869
- Roberts, D. R., Manguin, S., Mouchet, J. 2000. DDT house spraying and re-emerging malaria. *Lancet*. 356, 330-332. Doi 10.1016/s0140-6736(00)02516-2
- Roscales, J. L., González-Solís, J., Zango, L. *et al.* 2016. Latitudinal exposure to DDTs, HCB, PCBs, PBDEs and DP in giant petrels (*Macronectes spp.*) across the Southern Ocean. *Environmental Research*. 148, 285-294. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2016.04.005>
- Salvadó, J. A., Grimalt, J. O., López, J. F. *et al.* 2012. Transformation of PBDE mixtures during sediment transport and resuspension in marine environments (Gulf of Lion, NW Mediterranean Sea). *Environmental Pollution*. 168, 87-95. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2012.04.019>
- Sánchez-Avila, J., Fernandez-Sanjuan, M., Vicente, J. *et al.* 2011. Development of a multi-residue method for the determination of organic micropollutants in water, sediment and mussels using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1218, 6799-6811. Doi 10.1016/j.chroma.2011.07.056
- Satoh, T., Hosokawa, M. 1998. The mammalian carboxylesterases: From molecules to functions. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 38, 257-288. Doi 10.1146/annurev.pharmtox.38.1.257
- SC. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. (2008). <<http://chm.pops.int/>> [data de consulta: agost 2017].
- Schiavone, A., Kannan, K., Horii, Y. *et al.* 2009. Occurrence of brominated flame retardants, polycyclic musks, and chlorinated naphthalenes in seal blubber from Antarctica: Comparison to

- organochlorines. *Marine Pollution Bulletin*. 58, 1415-1419. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.05.019>
- Sellström, U., de Wit, C. A., Lundgren, N. *et al.* 2005. Effect of sewage-sludge application on concentrations of higher-brominated diphenyl ethers in soils and earthworms. *Environmental Science & Technology*. 39, 9064-9070. Doi 10.1021/es051190m
- Sellström, U., Kierkegaard, A., de Wit, C. *et al.* 1998. Polybrominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane in sediment and fish from a Swedish River. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 17, 1065-1072. Doi 10.1002/etc.5620170612
- SEPA. Scottish Environment Protection Agency. *Attachment XIV. Guidance note on the licensing of discharges of AMX (deltamethrin) at marine cage fish farms* [en línea]. (2008). <<https://www.sepa.org.uk/media/114914/fish-farm-manual-attachment-14.pdf>> [data de consulta: gener 2017].
- Shafer, T., Rijal, S., Gross, G. 2008. Complete inhibition of spontaneous activity in neuronal networks in vitro by deltamethrin and permethrin. *Neurotoxicology*. 29, 203-212.
- Shafer, T. J., Meyer, D. A., Crofton, K. M. 2005. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: Critical review and future research needs. *Environmental Health Perspectives*. 113, 123-136. Doi 10.1289/ehp.7254
- Shaw, S. D., Kannan, K. 2009. Polybrominated diphenyl ethers in marine ecosystems of the American continents: Foresight from current knowledge. *Reviews on Environmental Health*. 24, 157. Doi 10.1515/reveh.2009.24.3.157
- Shen, L., Jobst, K. J., Helm, P. A. *et al.* 2012. Identification and determination of the dechlorination products of Dechlorane 602 in Great Lakes fish and Arctic beluga whales by gas chromatography-high resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 404, 2737-2748. Doi 10.1007/s00216-012-6164-7
- Shen, L., Reiner, E. J., Helm, P. A. *et al.* 2011. Historic trends of dechloranes 602, 603, 604, Dechlorane Plus and other norbornene derivatives and their bioaccumulation potential in Lake Ontario. *Environmental Science & Technology*. 45, 3333-3340. Doi 10.1021/es104328r
- Siddique, S., Xian, Q., Abdelouahab, N. *et al.* 2012. Levels of dechlorane plus and polybrominated diphenylethers in human milk in two Canadian cities. *Environment International*. 39, 50-55. Doi 10.1016/j.envint.2011.09.010
- Sinkkonen, S., Rantalainen, A.-L., Paasivirta, J. *et al.* 2004. Polybrominated methoxy diphenyl ethers (MeO-PBDEs) in fish and guillemot of Baltic, Atlantic and Arctic environments. *Chemosphere*. 56, 767-775. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.02.007>
- Stern, G., Evans, M. 2003. Persistent organic pollutants in marine and lake sediments. A: Bidleman, T., Macdonald, R., Stow, J. *Canadian Arctic Contaminants Assessment Report II - Physical Environment* Aboriginal Affairs and Northern Development, Canada, pp. 100-115.
- Stevenson, F. J., Cole, M. A. 1999. *Cycles of soils: carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients*. John Wiley & Sons, pp.
- Stiborova, H., Vrkoslavova, J., Lovecka, P. *et al.* 2015. Aerobic biodegradation of selected polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in wastewater sewage sludge. *Chemosphere*. 118, 315-321. Doi 10.1016/j.chemosphere.2014.09.048
- Stoker, T. E., Cooper, R. L., Lambright, C. S. *et al.* 2005. *In vivo* and *in vitro* anti-androgenic effects of DE-71, a commercial polybrominated diphenyl ether (PBDE) mixture. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 207, 78-88. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2005.05.010>
- Storelli, M. M., Barone, G., Giacomini-Stuffler, R. *et al.* 2012. Contamination by polychlorinated biphenyls (PCBs) in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Southeastern Mediterranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184, 5797-5805. Doi 10.1007/s10661-011-2382-2
- Strandberg, B., Dodder, N. G., Basu, I. *et al.* 2001. Concentrations and spatial variations of polybrominated diphenyl ethers and other organohalogen compounds in Great Lakes air. *Environmental Science & Technology*. 35, 1078-1083. Doi 10.1021/es001819f
- Strauss, F., Kollak, L., Heyn, W. 1930. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 63, 1868-1885.

- Streets, S. S., Henderson, S. A., Stoner, A. D. *et al.* 2006. Partitioning and bioaccumulation of PBDEs and PCBs in Lake Michigan. *Environmental Science & Technology*. 40, 7263-7269. Doi 10.1021/es061337p
- Sühring, R., Barber, J. L., Wolschke, H. *et al.* 2015. Fingerprint analysis of brominated flame retardants and Dechloranes in North Sea sediments. *Environmental Research*. 140, 569-578. Doi <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.05.018>
- Sühring, R., Busch, F., Fricke, N. *et al.* 2016. Distribution of brominated flame retardants and dechloranes between sediments and benthic fish — A comparison of a freshwater and marine habitat. *Science of the Total Environment*. 542, Part A, 578-585. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.085>
- Sun, D., Pang, J., Zhou, Z. *et al.* 2016. Enantioselective environmental behavior and cytotoxicity of chiral acaricide cyflumetofen. *Chemosphere*. 161, 167-173. Doi 10.1016/j.chemosphere.2016.06.087
- Sun, R. B., Xi, Z. G., Zhang, H. S. *et al.* 2014. Subacute effect of decabromodiphenyl ethane on hepatotoxicity and hepatic enzyme activity in rats. *Biomedical and Environmental Sciences*. 27, 122-125. Doi <http://dx.doi.org/10.3967/bes2014.026>
- Sunda, W. G. 1989. Trace Metal Interactions with Marine Phytoplankton. *Biological Oceanography*. 6, 411-442. Doi 10.1080/01965581.1988.10749543
- Sverko, E., Reiner, E. J., Tomy, G. T. *et al.* 2010. Compounds structurally related to Dechlorane Plus in sediment and biota from Lake Ontario (Canada). *Environmental Science & Technology*. 44, 574-579. Doi 10.1021/es9025535
- Sverko, E., Tomy, G. T., Marvin, C. H. *et al.* 2007. Dechlorane Plus levels in sediment of the lower Great Lakes. *Environmental Science & Technology*. 42, 361-366. Doi 10.1021/es0710104
- Sverko, E., Tomy, G. T., Reiner, E. J. *et al.* 2011. Dechlorane Plus and related compounds in the environment: a review. *Environmental Science & Technology*. 45, 5088-5098. Doi 10.1021/es2003028
- Tange, S., Fujimoto, N., Uramaru, N. *et al.* 2014. In vitro metabolism of *cis*- and *trans*-permethrin by rat liver microsomes, and its effect on estrogenic and anti-androgenic activities. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 37, 996-1005. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.03.009>
- Teuten, E. L., Xu, L., Reddy, C. M. 2005. Two Abundant Bioaccumulated Halogenated Compounds Are Natural Products. *Science*. 307, 917-920. Doi 10.1126/science.1106882
- Tian, S., Zhu, L., Bian, J. *et al.* 2012. Bioaccumulation and metabolism of polybrominated diphenyl ethers in carp (*Cyprinus carpio*) in a water/sediment microcosm: Important role of particulate matter exposure. *Environmental Science & Technology*. 46, 2951-2958. Doi 10.1021/es204011k
- Tokarz, J. A., Ahn, M.-Y., Leng, J. *et al.* 2008. Reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers in anaerobic sediment and a biomimetic system. *Environmental Science & Technology*. 42, 1157-1164. Doi 10.1021/es071989t
- Tomy, G. T., Palace, V. P., Halldorson, T. *et al.* 2004. Bioaccumulation, biotransformation, and biochemical effects of brominated diphenyl ethers in juvenile lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Environmental Science & Technology*. 38, 1496-1504. Doi 10.1021/es035070v
- Tomy, G. T., Pleskach, K., Ismail, N. *et al.* 2007. Isomers of dechlorane plus in Lake Winnipeg and Lake Ontario food webs. *Environmental Science & Technology*. 41, 2249-2254. Doi 10.1021/es062781v
- Tomy, G. T., Thomas, C. R., Zidane, T. M. *et al.* 2008. Examination of isomer specific bioaccumulation parameters and potential in vivo hepatic metabolites of *syn*- and *anti*-Dechlorane Plus isomers in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Science & Technology*. 42, 5562-5567. Doi 10.1021/es800220y
- Torre, A. D. I., Pacepavicius, G., Shen, L. *et al.* 2010a. Dechlorane plus and related compounds in Spanish air. *Organohalogen Compound*. 72, 929-932.
- Torre, A. D. I., Shen, L., Reiner, E. *et al.* 2010b. New halogenated norbornene flame retardants in sewage sludge. *Organohalogen Compound*. 72, 1060-1063.
- Trumble, S. J., Robinson, E. M., Noren, S. R. *et al.* 2012. Assessment of legacy and emerging persistent organic pollutants in Weddell seal tissue (*Leptonychotes weddellii*) near McMurdo Sound, Antarctica. *Science of the Total Environment*. 421, 1060-1063.

- Environment*. 439, 275-283. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.09.018>
- Uluturhan, E., Kontas, A., Can, E. 2011. Sediment concentrations of heavy metals in the Homa Lagoon (Eastern Aegean Sea): Assessment of contamination and ecological risks. *Marine Pollution Bulletin*. 62, 1989-1997. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.019>
- Van Geest, J. L., BurrIDGE, L. E., Kidd, K. A. 2014. Toxicity of two pyrethroid-based anti-sea lice pesticides, AlphaMax® and Excis®, to a marine amphipod in aqueous and sediment exposures. *Aquaculture*. 434, 233-240. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.08.025>
- Vandermeersch, G., Lourenço, H. M., Alvarez-Muñoz, D. et al. 2015. Environmental contaminants of emerging concern in seafood – European database on contaminant levels. *Environmental Research*. 143, Part B, 29-45. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.011>
- Venier, M., Hites, R. A. 2008. Flame retardants in the atmosphere near the great lakes. *Environmental Science and Technology*. 42, 4745-4751. Doi 10.1021/es800313z
- Versantvoort, C. H. M., Oomen, A. G., Van de Kamp, E. et al. 2005. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology*. 43, 31-40. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2004.08.007>
- Vetter, W. 2006. Marine halogenated natural products of environmental relevance. A: Ware, G. W. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol 188*. Springer, New York, pp. 1-57. Doi 10.1007/978-0-387-32964-2\_1
- Vetter, W., Stoll, E., Garson, M. J. et al. 2002. Sponge halogenated natural products found at parts-per-million levels in marine mammals. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 21, 2014-2019. Doi 10.1002/etc.5620211002
- Viberg, H., Fredriksson, A., Eriksson, P. 2002. Neonatal exposure to the brominated flame retardant 2,2',4,4',5-pentabromodiphenyl ether causes altered susceptibility in the cholinergic transmitter system in the adult mouse. *Toxicological Sciences*. 67, 104-107. Doi 10.1093/toxsci/67.1.104
- Viberg, H., Fredriksson, A., Eriksson, P. 2003a. Neonatal exposure to polybrominated diphenyl ether (PBDE 153) disrupts spontaneous behaviour, impairs learning and memory, and decreases hippocampal cholinergic receptors in adult mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 192, 95-106. Doi [http://dx.doi.org/10.1016/S0041-008X\(03\)00217-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0041-008X(03)00217-5)
- Viberg, H., Fredriksson, A., Jakobsson, E. et al. 2003b. Neurobehavioral derangements in adult mice receiving decabrominated diphenyl ether (PBDE 209) during a defined period of neonatal brain development. *Toxicological Sciences*. 76, 112-120. Doi 10.1093/toxsci/kfg210
- Voorspoels, S., Covaci, A., Maervoet, J. et al. 2004. PBDEs in marine and freshwater sediments from Belgium: Levels, profiles and relations with biota. *Journal of Environmental Monitoring*. 6, 914-918. Doi 10.1039/b410243f
- Vorkamp, K., Christensen, J. H., Riget, F. 2004. Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine compounds in biota from the marine environment of East Greenland. *Science of the Total Environment*. 331, 143-155. Doi 10.1016/j.scitotenv.2004.03.026
- Wafo, E., Risoul, V., Schembri, T. et al. 2012. PCBs and DDTs in *Stenella coeruleoalba* dolphins from the French Mediterranean coastal environment (2007–2009): Current state of contamination. *Marine Pollution Bulletin*. 64, 2535-2541. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.07.034>
- Wan, Y., Wiseman, S., Chang, H. et al. 2009. Origin of hydroxylated brominated diphenyl ethers: Natural compounds or man-made flame retardants? *Environmental Science & Technology*. 43, 7536-7542. Doi 10.1021/es901357u
- Wang, C., Chen, F., Zhang, Q. et al. 2009. Chronic toxicity and cytotoxicity of synthetic pyrethroid insecticide cis-bifenthrin. *Journal of Environmental Sciences-China*. 21, 1710-1715. Doi 10.1016/s1001-0742(08)62477-8
- Wang, D.-G., Yang, M., Qi, H. et al. 2010. An Asia-specific source of Dechlorane Plus: concentration, isomer profiles, and other related compounds. *Environmental Science & Technology*. 44, 6608-6613. Doi 10.1021/es101224y
- Wang, F., Liu, D., Qu, H. et al. 2016. A full evaluation for the enantiomeric impacts of lactofen and its metabolites on aquatic macrophyte *Lemna minor*. *Water Research*. 101, 55-63. Doi 10.1016/j.watres.2016.05.064

- Wang, P., Zhang, Q.-h., Wang, T. *et al.* 2012. PCBs and PBDEs in environmental samples from King George Island and Ardley Island, Antarctica. *RSC Advances*. 2, 1350-1355. Doi 10.1039/c1ra00462j
- Watanabe, I., Sakai, S. I. 2003. Environmental release and behavior of brominated flame retardants. *Environment International*. 29, 665-682. Doi 10.1016/s0160-4120(03)00123-5
- Weijs, L., Losada, S., Das, K. *et al.* 2009. Biomagnification of naturally-produced methoxylated polybrominated diphenyl ethers (MeO-PBDEs) in harbour seals and harbour porpoises from the Southern North Sea. *Environment International*. 35, 893-899. Doi 10.1016/j.envint.2009.03.006
- Whyllie, P., Albaiges, J., Barra, R. *et al.* Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances (RBA PTS). *Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances – Global Report 2003* [en línia]. (2003). <[https://www.researchgate.net/profile/Hindrik\\_Bouwman/publication/292286858\\_Regionally\\_based\\_assessment\\_of\\_persistent\\_toxic\\_substances\\_Global\\_reprt/links/56ac8fb408ae19a38513e2e7/Regionally-based-assessment-of-persistent-toxic-substances-Global-reprt.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Hindrik_Bouwman/publication/292286858_Regionally_based_assessment_of_persistent_toxic_substances_Global_reprt/links/56ac8fb408ae19a38513e2e7/Regionally-based-assessment-of-persistent-toxic-substances-Global-reprt.pdf)> [data de consulta: agost 2017].
- Wiseman, S. B., Wan, Y., Chang, H. *et al.* 2011. Polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated/methoxylated analogs: Environmental sources, metabolic relationships, and relative toxicities. *Marine Pollution Bulletin*. 63, 179-188. Doi 10.1016/j.marpolbul.2011.02.008
- Wolkers, H., Van Bavel, B., Derocher, A. E. *et al.* 2004. Congener-specific accumulation and food chain transfer of polybrominated diphenyl ethers in two Arctic food chains. *Environmental Science and Technology*. 38, 1667-1674. Doi 10.1021/es030448a
- Wolschke, H., Meng, X.-Z., Xie, Z. *et al.* 2015. Novel flame retardants (N-FRs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) in fish, penguin, and skua from King George Island, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin*. 96, 513-518. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.012>
- Wong, M.-H. 2017. Chemical pollution and seafood safety, with a focus on mercury: The case of Pearl River Delta, South China. *Environmental Technology & Innovation*. 7, 63-76. Doi <https://doi.org/10.1016/j.eti.2016.12.004>
- Woollen, B. H., Marsh, J. R., Laird, W. J. D. *et al.* 1992. The metabolism of cypermethrin in man - Differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal administration. *Xenobiotica*. 22, 983-991.
- Wu, Z. Y., Huang, L., Gao, Y. L. *et al.* 2013. The effects of Dechlorane Plus on toxicity. *Applied Mechanics and Materials*. 380-384, 4163-4166. Doi 10.4028/www.scientific.net/AMM.380-384.4163
- Xie, Z., Möller, A., Ahrens, L. *et al.* 2011. Brominated flame retardants in seawater and atmosphere of the Atlantic and the Southern Ocean. *Environmental Science & Technology*. 45, 1820-1826. Doi 10.1021/es103803t
- Yamamuro, M., Kanai, Y. 2005. A 200-year record of natural and anthropogenic changes in water quality from coastal lagoon sediments of Lake Shinji, Japan. *Chemical Geology*. 218, 51-61. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemgeo.2005.01.021>
- Yang, C., Rose, N. L., Turner, S. D. *et al.* 2016. Hexabromocyclododecanes, polybrominated diphenyl ethers, and polychlorinated biphenyls in radiometrically dated sediment cores from English lakes, ~ 1950–present. *Science of the Total Environment*. 541, 721-728. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.102>
- Yogui, G. T., Santos, M. C. O., Bertozzi, C. P. *et al.* 2011. PBDEs in the blubber of marine mammals from coastal areas of São Paulo, Brazil, southwestern Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*. 62, 2666-2670. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.024>
- Zarfl, C., Matthies, M. 2010. Are marine plastic particles transport vectors for organic pollutants to the Arctic? *Marine Pollution Bulletin*. 60, 1810-1814. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.05.026>
- Zehringer, M., Herrmann, A. 2001. Analysis of polychlorinated biphenyls, pyrethroid insecticides and fragrances in human milk using a laminar cup liner in the GC injector. *European Food Research and Technology*. 212, 247-251. Doi 10.1007/s002170000223

- Zhan, Y., Zhang, M. H. 2014. Spatial and temporal patterns of pesticide use on California almonds and associated risks to the surrounding environment. *Science of the Total Environment*. 472, 517-529. Doi 10.1016/j.scitotenv.2013.11.022
- Zhang, Y., Wang, W., Song, J. *et al.* 2016. Environmental characteristics of polybrominated diphenyl ethers in marine system, with emphasis on marine organisms and sediments. *BioMed Research International*. 2016, Doi 10.1155/2016/1317232
- Zhao, M., Chen, F., Wang, C. *et al.* 2010. Integrative assessment of enantioselectivity in endocrine disruption and immunotoxicity of synthetic pyrethroids. *Environmental Pollution*. 158, 1968-1973. Doi 10.1016/j.envpol.2009.10.027
- Zhao, X., Zhang, H., Ni, Y. *et al.* 2011. Polybrominated diphenyl ethers in sediments of the Daliao River Estuary, China: Levels, distribution and their influencing factors. *Chemosphere*. 82, 1262-1267. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.12.032>
- Zhou, T., Ross, D. G., DeVito, M. J. *et al.* 2001. Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicological Sciences*. 61, 76-82. Doi 10.1093/toxsci/61.1.76
- Zhu, L. Y., Hites, R. A. 2005. Brominated flame retardants in sediment cores from Lakes Michigan and Erie. *Environmental Science & Technology*. 39, 3488-3494. Doi 10.1021/es048240s

Òscar Aznar Alemany  
químic, traductor i corrector  
*oaaqam@cid.csic.es*  
*oscar.az.al@gmail.com*  
<https://traduquimica.com>

Barcelona, 2017



Aquesta obra està subjecta a una  
licència de Reconeixement-  
NoComercial-CompartirIgual 4.0  
Internacional de Creative Commons