

PRESENCIA DE HIDROCARBUROS EN CHORITO (*Mytilus chilensis*) DE LA COSTA DEL ESTRECHO DE MAGALLANES.

OCTAVIO LECAROS¹ y MARIA S. ASTORGA¹

ABSTRACT: Octavio Lecaros¹ and María S. Astorga¹. Hydrocarbons occurrence in mussel (*Mytilus chilensis*) from the Strait of Magellan coast.

Microgravimetric techniques have shown that the total hydrocarbons content in the blue mussel (*Mytilus chilensis*), in 10 stations along the Strait of Magellan, range from 46.6 to 293.4 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), wet weight. Capillary gas chromatographic techniques (CGS) has also shown that the total aliphatic hydrocarbons ranges from 12.5 to 69.2 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

The highest hydrocarbons values are associated to the sampling sites at Cabo Negro, Dungeness, BRP and also at Mansa Bay (site 100 miles away of the offshore oil industry).

The even/odd ratio of the biogenic aliphatic hydrocarbons are higher than unity in all of the studied stations.

Key words : Hydrocarbons, *Mytilus chilensis*, Strait of Magellan.

RESUMEN: Octavio Lecaros¹ y María S. Astorga¹. Presencia de hidrocarburos en choritos (*Mytilus chilensis*) de la costa del estrecho de Magallanes.

Mediante microgravimetría se establece que la concentración de hidrocarburos totales en choritos (*M. chilensis*) de 10 estaciones ubicadas en el estrecho de Magallanes alcanza valores de 46,6 a 293,4 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), peso húmedo. Utilizando cromatografía gaseosa capilar se determina que los niveles de hidrocarburos alifáticos totales fluctúan entre 12,5 y 69,2 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Los valores más altos corresponden a muestras procedentes de Cabo Negro, Dungeness, BRP y también de Bahía Mansa (sector ubicado a 245 km de las áreas de trabajo petrolero).

Se establece que las relaciones par/impar de hidrocarburos alifáticos, biogénicos son mayores que la unidad en todas las estaciones estudiadas.

Palabras claves: Hidrocarburos, *Mytilus chilensis*, estrecho de Magallanes.

INTRODUCCION

Desde 1974 a la fecha han contribuido a la contaminación del estrecho de Magallanes, tanto los importantes derrames de petróleo: Metula (Baker *et al.* 1976), Cabo Pilar (Lecaros, Quilodrán &

Astorga, 1988), Oshima Spirit (septiembre 1988, observación personal), etc., como también los trabajos que desde 1978 realiza ENAP para la extracción y producción de petróleo en las plataformas "costa afuera", la cual en forma accidental vierte hidrocarburos en el es-

trecho (Elgueta, 1979). Además, anualmente, aproximadamente las 1300 naves que cruzan el estrecho algunas de las cuales, en forma clandestina alijan sus aguas de lastraje antes de arribar a los terminales petroleros. Se suma a éstas, la contribución que proporciona la flota pesquera al utilizar el puerto de Punta Arenas para transbordar los productos de su pesca. La acción conjunta de todos estos agentes incorpora residuos de hidrocarburos fósiles en las aguas del estrecho de Magallanes.

Este trabajo intenta determinar la contribución a la contaminación antropogénica por hidrocarburos fósiles, producida por la extracción de petróleo en áreas "costa afuera", terminales de carga y descarga localizados en diferentes sectores costeros del estrecho de Magallanes.

Se espera acrecentar el catastro referencial de hidrocarburos presentes en diferentes áreas costeras del estrecho de Magallanes que permitan periódicamente determinar el grado de contaminación de sus aguas.

Con respecto a hidrocarburos "biogénicos" de origen reciente en organismos marinos, estudios efectuados por Johnston (1976), empleando ^{13}C sostiene que éstos son biosintetizados por el fitoplancton marino y transmitidos a través de la cadena alimentaria a otros organismos junto con cualquier combustible fósil contaminante.

En el estudio de la contaminación producida por los hidrocarburos, aplicando el concepto de Mitilido Centinela, se han utilizado diferentes especies de

Mitlidos: chorito azul *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis* y otros organismos: Warner (1976), Rowland & Volkman (1982), Albaiges *et al.* (1982), Risebrough *et al.* (1983), Martin & Castle (1984).

Según McCormick (1987), en los tejidos de *M. edulis* expuestos ante una emulsión de petróleo de 740 $\mu\text{g}/\text{l}$ durante 4 a 5 semanas, se produce una condición de stress la cual afecta el monitoreo.

Estudios realizados por Livingstone (1985) en tejidos de (*M. edulis*): glándulas digestivas, branquias, manto, restos (excepto pie y músculo aductor), señalan que numerosos compuestos orgánicos ajenos (xenobióticos) de origen natural o antropogénico ingresan al ambiente marino y son dispersados por una variedad de procesos que incluyen la incorporación en los tejidos de los organismos presentes. Estos compuestos, generalmente son lipofílicos y tóxicos.

Delvigne & Sweeney (1988), en investigaciones de laboratorio, sobre la relación de petróleo en superficie y sumergido, demuestran que el petróleo superficial rompe en gotas y penetra la columna de agua debido al efecto del rompimiento de olas, como también a la turbulencia en el agua ambiente. Establecen además que, la masa de petróleo dispersada por unidad de tiempo es función del tipo de petróleo, del espesor de la película del mismo, de la energía de rompimiento de la ola y de la temperatura.

MATERIALES Y METODOS

Entre noviembre de 1988 y junio de 1990, se recolectaron muestras de choritos (*M. chilensis*) en el intermareal de 10 estaciones distribuidas en el estrecho de

Magallanes, entre Dungeness y Fuerte Bulnes: Dungeness 1, Dungeness 2, bahía Posesión, bahía Gregorio, Punta Delgada, Cabo Negro, Punta Baja, Río Oscar, Puerto Percy y Bahía Mansa, (Fig. 1).



Fig.1. Estaciones muestreadas en la recolección de choritos *M. chilensis* del estrecho de Magallanes.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

La preparación de muestras se realizó según procedimientos señalados por Kennicutt (1988). Una vez colectadas, las muestras fueron congeladas a -20°C hasta la iniciación del análisis. Bajo condiciones ambientales limpias, los tejidos fueron removidos de las conchas y homogeneizados en un procesador de alimentos "ad hoc", aproximadamente 40 ejemplares de cada sitio.

PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA.

Todo el material de vidrio fue previamente lavado con soluciones detergentes, mezcla sulfocrómica y agua destilada. Secado luego en una estufa a 400°C por 12 horas. Los solventes empleados fueron n-hexano LiChrosolv Art. 4391 y diclorometano Uvasol Art. 6048 Merck.

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION DE TEJIDOS.

Del total de organismos muestreados en cada estación, entre 10 y 30 g de tejido (peso húmedo), fueron extraídos tres veces con 50 ml de CH_2Cl_2 , aplicando ultrasonido durante 3 minutos cada vez. Previa centrifugación, el homogenato fue percolado en columna de vidrio rellena con Na_2SO_4 anhidro y concentrado en evaporador rotatorio. Finalmente, fue diluido en 2 ml de n-hexano.

CROMATOGRAFIA GEL DE SILICE/ALUMINA.

El fraccionamiento de los hidrocarburos alifáticos e hidrocarburos aromáticos de los lípidos más polares se realizó en una columna de vidrio cargada con gel de sílice/alúmina. La gel de sílice (20 g) fue activada a 170°C durante 12 horas y de-

sactivada un 5 % con agua, colocada sobre alúmina (10 g) activada a 400°C durante 4 horas y desactivada en un 1 %. El extracto de cada muestra (2 ml) fue transferido a la columna.

Posteriormente, la columna fue eluida con 25 ml de n-hexano para extraer (f_1) hidrocarburos alifáticos y 25 ml de n-hexano : CH_2Cl_2 1:1 (f_2) para los hidrocarburos aromáticos. Las fracciones fueron concentrada y secadas con N_2 purificado y seco, pesadas y finalmente guardadas en frascos de vidrio "ad hoc".

CUANTIFICACION DE HIDROCARBUROS ALIFATICOS CG/DIL.

La cuantificación de los hidrocarburos (f_1) se logró con un cromatógrafo Shimadzu GC-9A equipado con un Procesador de Datos Chromatopac CR3A, DIL e inyector "on column", provisto de una columna capilar de sílice fundida Shimadzu de 25 m empacada con fases OV-1 y SE-30, con diámetro interior 0,33 mm, espesor del film $0,5\ \mu\text{m}$ y flujo (He) de 25 ml/min. La concentración de la mezcla UCM (unresolved complex mixture) no fue calculada. Las muestras fueron inyectadas con microjeringa provista de aguja de sílice fundida y el programa de temperatura empleado fue 60 a 300°C ($12^{\circ}\text{C}/\text{min}$) mantenida a 300°C durante 10 minutos.

RESULTADOS Y DISCUSION

HIDROCARBUROS.

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los análisis de muestras de tejidos de choritos *M. chilensis*, colectados en el intermareal de 10 estaciones ubicadas en el estrecho de Magallanes. En ésta se

muestran las concentraciones de hidrocarburos alifáticos y aromáticos totales, fracciones ($f_1 + f_2$), determinadas por microgravimetría las cuales fluctúan en-

tre 46,6 y 293,4 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), peso húmedo. También, se exhiben los niveles de hidrocarburos alifáticos determinados por cromatografía de gases capilar.

Tabla 1. Hidrocarburos parafínicos ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), peso húmedo en *M. chilensis* del estrecho de Magallanes.

	Alifáticos		Aromáticos	Totales	Relación
	identificados ($\mu\text{g}/\text{g}$)	totales ($\mu\text{g}/\text{g}$)	totales ($\mu\text{g}/\text{g}$)	$f_1 + f_2$ ($\mu\text{g}/\text{g}$)	Par/impar
Dungeness1	11,3	62,0	114,4	176,4	1,01
Dungeness2	10,0	27,2	44,2	71,4	4,2
BRP*	20,6	59,8	59,8	119,6	2,3
P.Delgada	3,4	12,5	50,5	63,0	2,4
Pta. Baja	0,3	35,0	142,6	177,6	0,6
Río Oscar	0,2	30,7	70,9	101,6	0,5
B. Gregorio	7,3	24,4	22,2	46,6	9,1
Pto. Percy	2,9	18,1	250,7	268,8	1,4
Cabo Negro	23,9	69,2	86,1	155,3	1,4
B. Mansa	25,4	47,1	246,3	293,4	1,5
Total Hc.	105,3	386	1087,7	1473,7	

* Bahía Receptora de Petróleo

Las muestras de Bahía Mansa, Puerto Percy, Punta Baja, Dungeness, Cabo Negro, BRP y Río Oscar presentan una bioacumulación en hidrocarburos totales superiores a 101,6 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Bahía Mansa, es una bahía cerrada de aguas muy tranquilas, ubicada aproximadamente a 235 km de la boca oriental del estrecho de Magallanes. Exhibe la mayor bioacumulación en hidrocarburos totales 293,4 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Estos resultados suponen una incorporación crónica de hidrocarburos asociada a actividades antrópicas, aún en ausencia de derrames de petróleo de importancia (MacLeod *et al.*, 1977;

Farrington & Meyer, 1975; Hanna, 1983; Burns & Smith, 1977; Satsmadjij, 1985, entre otros).

Puerto Percy, en cambio, es una bahía abierta, localizada en Tierra del Fuego, la cual al operar como terminal petrolero, se comporta como el importante contribuyente de hidrocarburos detectados en las muestras de choritos 268,8 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

Los resultados comparativos de los hidrocarburos totales de las fracciones $f_1 + f_2$, se muestran en Fig. 2.

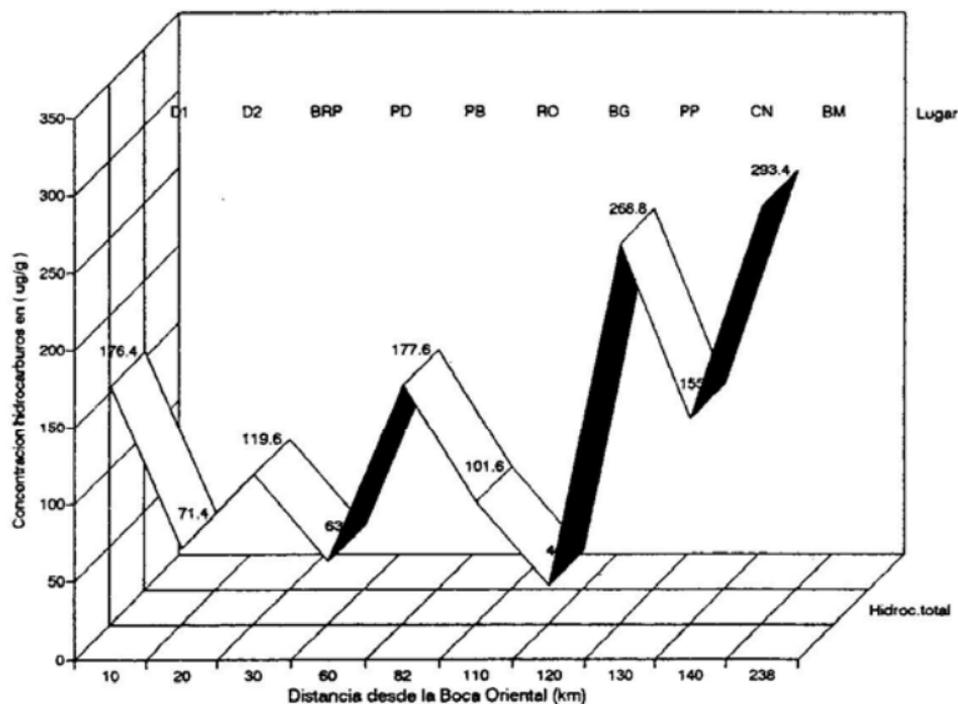


Fig. 2. Niveles comparativos de hidrocarburos totales, fracciones $f_1 + f_2$ en *M. chilensis* del estrecho de Magallanes.

En la Tabla 1, también se muestra la relación par/impar de los hidrocarburos alifáticos identificados en las muestras de choritos colectadas de las estaciones localizadas en el estrecho de Magallanes.

Clark & Blumer, 1966; Keiser *et al.*, 1978; Payne *et al.* 1985, etc., señalan que los n-alcenos procedentes de fuentes biogénicas terrestres contienen una marcada presencia de moléculas con carbonos impares. Los valores más altos corres-

ponden a Bahía Gregorio (terminal petrolero), Dungeness 2 (sector de plataformas) y BRP (bahía receptoras de petróleo).

La Tabla 2 exhibe las concentraciones de los hidrocarburos alifáticos identificados en muestras obtenidas en las diferentes estaciones ubicadas en el estrecho de Magallanes ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$), peso húmedo. Las concentraciones más altas

se obtuvieron en las de Bahía Mansa, área distante del sector plataformas, pero localizada en el paso de naves que cruzan el estrecho de Magallanes, que se utiliza como muelle de abrigo de embarcaciones menores. Destacan, también por su alta concentración en hidrocarburos alifáticos Cabo Negro, Dungeness y BRP, los cuales efectivamente corresponden a sectores de gran actividad petrolera.

Tabla 2. Hidrocarburos parafínicos ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$), peso húmedo en *M. chilensis* del estrecho de Magallanes.

Lugar	C17	Pris	C18	C19	C20	C22	C23	C24	C25	C26	C27	C28	C29	C30
Dungeness 1		153	51		103	123	623	144	1792	2482	2082	1934	1058	780
Dungeness 2	10	14	198	77	81	97	931	152	2997	83	1919	870	2166	445
BRP*		1198	642	2422	1026	896		616	2097	1149	4799	1481	3939	389
P. Delgada				21	12	43	249	26	1818	6458	1721	221	140	51
P. Baja								22		48	58	91	75	51
Río Oscar				36		62				39			35	39
B. Gregorio					33	177	1748	365	3031	55	1540	89	2124	
Pto. Percy			35	99	41	107	521	62	181	38	114	64	771	938
Cabo Negro		239	1096	528	344	331	18221	258	718	264	3820	4558	5899	4160
B. Mansa	39	18	1888	1573	308	259	2301	359	4815	3035	3040	3273	3489	3000
Total Hc. Impares	49	1622		4756			24594		17449		19093		19696	
Total Hc. pares			3910		1948	2095		2004		13651		12581		9853

* Bahía Receptora de Petróleo

La identificación y cuantificación de los hidrocarburos alifáticos totales, extraídos de los tejidos de choritos, se hizo por Cromatografía Gaseosa Capilar. En la Tabla 1, se puede apreciar que las fracciones eluidas como f_1 totales se encuentran en un rango comprendido entre 12,5 y 69,2 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). El gráfico Fig. 3 A,

muestra la distribución de éstos entre Dungeness-1 y Bahía Mansa. Los niveles más altos en hidrocarburos parafínicos se encuentran en muestras colectadas en Cabo Negro, BRP y Dungeness 69,2, 59,8 y 62,0 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), respectivamente.

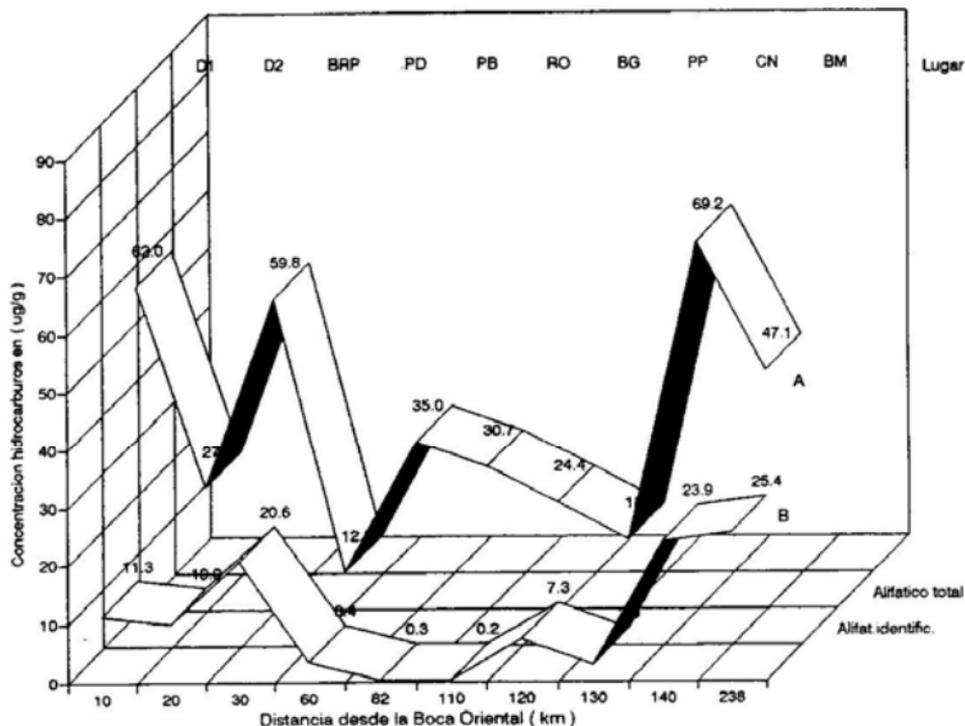


Fig. 3. Niveles comparativos de hidrocarburos alifáticos totales (A) e identificados f_1 (B) en *M. chilensis*.

En la Fig. 4, se comparan los niveles ($ng \cdot g^{-1}$) de hidrocarburos saturados pares e impares de la fracción f_1 . Las concentraciones máximas se obtuvieron de muestras de Bahía Gregorio, Dungeness-2, Punta Delgada y BRP. Todo lo cual su-

giere que, además de hidrocarburos de origen fósil, existe una importante contribución biogénica tanto de origen terrestre, como bentónica y / o fitoplanctónica marina.

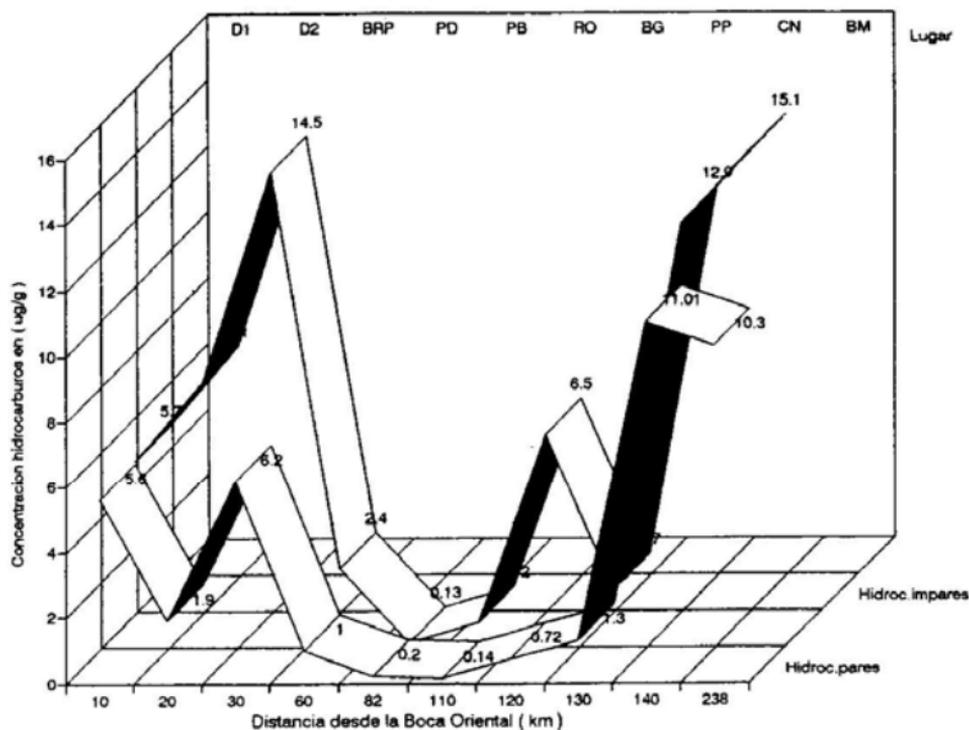


Fig. 4 . Niveles comparativos de hidrocarburos alifáticos pares e impares de la fracción f_1 identificada en *M. chilensis*.

Los hidrocarburos aromáticos totales, fracción f_2 determinados por microgravimetría, se muestran en Tabla 1. Sus concentraciones fluctúan entre 22,2 y 250,7 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), peso húmedo. La concentración de f_2 total es casi 3,6 veces mayor que la fracción f_1 total.

Al comparar la distribución de los resultados microgravimétricos entre hidrocarburos alifáticos y aromáticos (Fig. 5), se concluye que, es predominante, la presencia de hidrocarburos aromáticos en casi todas las estaciones muestreadas.

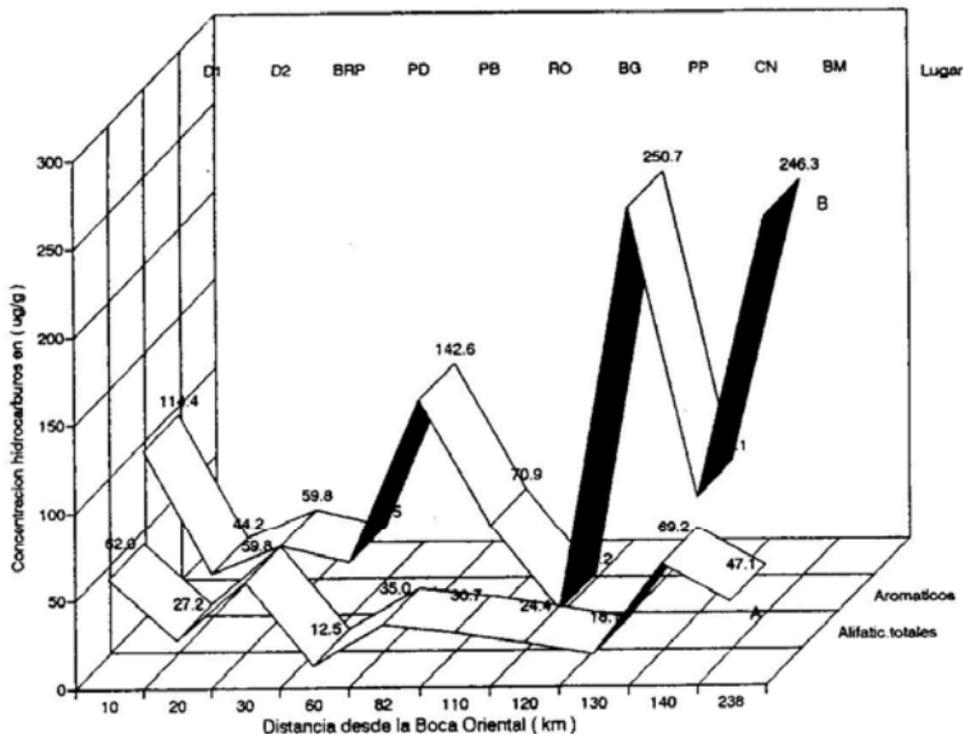


Fig. 5. Niveles comparativos de hidrocarburos alifáticos A y B aromáticos en *M. chilensis* obtenidos por microgravimetría.

Según estudios efectuados por Mironov & Shchekaturina, (1979) el petróleo ingerido por choritos (*Mytilus galloprovincialis*), aparece en las fecas y seudofecas, pero difiere de la composición del petróleo original. Contiene fracciones pesadas y aromáticos más grandes, como consecuencias de procesos metabólicos en estos organismos.

Los valores más altos en la f_2 de hidrocarburos corresponden a las muestras de choritos recolectados en Puerto Percy, Bahía Mansa, Punta Baja y Dungeness-1 250,7, 246, 142,6 y 114,4 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), respectivamente. Lo anterior sugiere que ha habido petróleo ingerido por estos organismos el cual posteriormente ha sido metabolizado.

CONCLUSIONES

- 1.- Los choritos *M. chilensis* recolectados en el estrecho de Magallanes también son organismos adecuados para el estudio de la contaminación producida por hidrocarburos y para la aplicación del concepto de "Mitflido Centinela".
- 2.- Bahía Mansa, aunque no corresponde a un área de trabajos petroleros, presenta la mayor bioacumulación de hidrocarburos. Su relación par/impar (Clark & Blumer, 1966; Keisser *et al.*, 1978 y Payne *et al.*, 1985) indica que en esa área habría una contribución biogénica terrestre y marina de importancia. Recibe además, aportes de hidrocarburos fósiles originados por actividades antrópicas cercanas a Isla Dawson, Paso del Hambre y Paso Froward. Durante la bajamar, sus playas exhiben arena de color negro y una gran mortalidad de organismos sésiles, probablemente por condición de "stress" (Mc Cormick 1987).
- 3.- Las muestras de organismos de Punta Baja, Dungeness-1, BRP, Cabo Negro, Punta Delgada y Puerto Percy, presentan una alta bioacumulación de hidrocarburos aromáticos polinucleares. Son sectores que concentran gran actividad de producción en plataformas "costa afuera", embarque, transporte, procesa-

miento y almacenaje de petróleo. La contaminación crónica, gradual y permanente que se produce, permite observar verdaderas plataformas asfálticas, producto de la intemperización del petróleo dispersado gradualmente y expuestos a turbulencias, corrientes marinas, vientos, temperatura, oxidación, reacciones fotoquímicas y a la biodegradación bacteriana. En consecuencia, los choritos bioacumulan también estos hidrocarburos (Delvigne & Sweeney, 1988).

- 4.- La presencia de hidrocarburos impares identificados en casi todas las muestras de choritos recolectados en las costas del estrecho de Magallanes, permiten afirmar que éstos, en forma permanente, reciben además, una contribución importante en hidrocarburos, los que tienen su origen en detritos de plantas terrestres y en la erosión de la turba costera.
- 5.- La reducida bioacumulación de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, en concentraciones poco significativas, tanto en Punta Delgada como en Gregorio, ambos centros de gran actividad de carga y descarga de petróleo, se explicaría porque esas áreas son afectadas por corrientes marinas muy fuertes, las que producirían un efecto de dilución, dispersando estos hidrocarburos.

LITERATURA CITADA

- Albaiges, J.; Gallifa, A.; Grimalt J. & M. Soler. 1982 Hydrocarbons in Biota Samples from the Western Mediterranean. VII Journees Etud. Pollutions, Cannes C.I.E.S.M.: 215-218.
- Baker, J. 1976. An oil spill in the straits of Magellan. In: Marine Ecology and oil Pollution. Chap. 18. A Halsted Press.

- Burns, A.K. & J.L. Smith. 1977. Distribution of Petroleum Hydrocarbons in Westernport Bay (Australia): Result of Chronic Low Level Inputs. In: Douglas A. Wolfe. Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisms. Pergamon Press.
- Clark, C.R. & M. Blumer. 1966. Distribution of n-paraffins in Marine organisms and sediment. Woods Hole Oceanographic Institution. Massachusetts.
- COI. Comisión Oceanográfica Intergubernamental. 1984. Manual para la vigilancia del aceite y de los hidrocarburos del petróleo disueltos o dispersos en el agua del mar y en las playas. Manuales y Guías 13. Unesco.
- Delvigne, L.A.G. & C.E. Sweeney. 1988. Natural Dispersion of Oil. Oil & Chemical Pollution 4 (4): 281-310.
- Elgueta, N.S. 1979. Separación e identificación de los hidrocarburos contaminantes ubicados sobre el sector playa del terminal Bahía Gregorio. Tesis de Ing. Ejec. Químico, mención en Petróleo y Petroquímica. Universidad Técnica del Estado.
- Farrington, W.J. & P.A. Meyer. 1975. Hydrocarbons in the Marine Environment. In: Environmental Chemistry. Ed. G. Eglinton. The Chemical Society, Burlington House, London, 1: 109-137.
- Farrington, W.J. & B.W. Tripp. 1982. Petroleum Contamination: Quantification and passive tagging in organisms and sediments. Woods Hole Oceanographic Institution. Massachusetts 02543. Report EPA-600/3-82-012. Reproduced by National Technical Information Service.
- Hanna, M.G. Rifaat. 1983. Oil Pollution on the Egyptian Red Sea. Marine Pollution Bulletin. 14 (7): 268-271.
- Johnston, R. 1976. Mechanisms and problems of marine pollution in relation to commercial fisheries. In: Johnston, R. (Ed). Marine Pollution, pp 3-156. Academic Press.
- Keiser, D.P.; Dale, J. & D.C. Gordon, Jr. 1978. Hydrocarbons in surficial sediments from the Scotian Shelf. Geochimica et Cosmochimica. Acta 42: 165-172.
- Kennicutt, C. Mahlon, II. 1988. The effect of Biodegradation on Crude Oil Bulk and Molecular Composition. Oil & Chemical Pollution. 4(2): 89-112.
- Lecaros, P.O.; Caro, J. & D. V. Muñoz. 1987. Identificación de hidrocarburos en huiro *Macrocystis pyrifera* del estrecho de Magallanes. Rev. Biol. Mar., Valpo, 23(2): 215-229.
- Lecaros, P.O.; Quilodrán, M. & M.S. Astorga. 1988. Determinación de hidrocarburos parafínicos derivados del petróleo del B/T "Cabo Pilar", en el estrecho de Magallanes. Ans. Inst. Pat. Ser. Cs. Nts., Punta Arenas. Chile. 18: 113-125.
- Lecaros, P.O.; Alberti, P. & M. S. Astorga. 1991. Hidrocarburos Parafínicos en Aguas del Estrecho de Magallanes. Rev. Biol. Mar., Valpo. 26(1): 61-74.
- Livingstone, R.D. 1985. Response of the Detoxication /Detoxication Enzyme Systems of Molluscs to Organic Pollutants and Xenobiotics. Marine Pollution Bulletin 16(4): 158-164.
- McCormick-Ray, Geraldine M. 1987. Hemocytes of *Mytilus edulis* Affected by Prudhoe Bay Crude Oil Emulsion. Marine Environmental Research. 22(2): 107-122

- MacLeod, D.W.; Brown, W.D.; Jenkins, G.R. & L.S. Ramos. 1977. Intertidal sediment hydrocarbons levels at two sites on the strait of Juan de Fuca. National Oceanic and Atmospheric Administration. National Marine Fisheries Service.
- Martin, M. & W. Castle. 1984. Petrowatch: Petroleum Hydrocarbons, Synthetic Organic Compounds and Heavy Metals in Mussels from the Monterey Bay Area of Central California. *Marine Pollution Bulletin* 15(7): 266-284.
- Mironov, G.O & T.L. Shchekaturina. (1979). Oil Change in Excretory Products of Mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Marine Pollution Bulletin*, 10(8): 232-234.
- Payne, R.J.; Clayton, J.R. Jr.; Phillips, C.R.; Lambach, J.L. & G.H. Farmer. 1985. Marine Oil Pollution Index. *Oil & Petrochemical Pollution* 2(3): 173-191.
- Risebrough, W.R.; De Lappe, B.W.; Wayman Walker II; Bernd R.T. Simoneit; Joan Grimalt; Joan Albaiges; Jose Antonio Garcia Regueiro; Antoni Ballester I Nolla & Manuel Mariño Fernandez. 1983. Application of the Mussel Watch Concept in Studies of the Distribution of Hydrocarbon in the Coastal Zone of the Ebro Delta. *Marine Pollution Bulletin* 14(5):181-187.
- Rowland, J.S., & J.K. Volkman 1982. Biogenic and Pollutant Aliphatic Hydrocarbons in *Mytilus edulis* from the North Sea. *Marine Environmental Research* 7: 117-130.
- Satsmadjis, J. 1985. Comparison of Indicators of Pollution in the Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 16(10): 395-400.
- Warner, S.J. 1976. Determination of Aliphatic and Aromatic Hydrocarbons in Marine Organisms. *Analytical Chemistry* 48(3): 578-583.