



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
(QUÍMICA ACUÁTICA)

DETERMINACIÓN DE TRICLOSÁN EN SEDIMENTOS DE LAGUNAS COSTERAS  
DE LA COSTA NORTE DE YUCATÁN

## **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

**ALFREDO ESAÚ JIMÉNEZ OCAMPO**

TUTOR PRINCIPAL

M. en. C. SANTIAGO CAPELLA VIZCAÍNO  
Facultad de Química, Unidad de Química Sisal. UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Araceli Peña Álvarez. Facultad de Química, UNAM  
Dra. Cecilia Vanegas Pérez. Facultad de Ciencias, UNAM  
Dra. Claudia A. Ponce De León Hill. Facultad de Ciencias, Área de Biología. UNAM.  
Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes. Facultad de Química,  
Unidad de Química Sisal. UNAM

MÉXICO, D. F. ENERO, 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por la educación de muy alto nivel que desde bachillerato me ha brindado, así como al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, a la Facultad de Química y a la Unidad Académica Sisal.*

*Al Laboratorio de Biogeoquímica y Calidad Ambiental de la Unidad de Química Sisal, lugar donde se realizó el desarrollo experimental de este estudio.*

*A la DGAPA UNAM, proyecto PAPIIT IN216710 “Estudio de la presencia de productos farmacéuticos y de cuidado personal en la costa de Yucatán”, por el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo.*

*Al CONACYT por la beca otorgada para mis estudios de posgrado.*

*A mi director de Tesis, Mtro. Santiago Capella Vizcaíno, por la oportunidad de colaborar con este proyecto, por su enseñanza y conocimiento compartido durante todo este ciclo, por su asesoría, paciencia y dedicación en la elaboración de este trabajo.*

*A mi comité tutorial, Dras. Araceli Peña, Cecilia Vanegas, Claudia Ponce y Gaby Rodríguez por su interés y aportes en el desarrollo y mejora de este proyecto.*

*A la Dra. Elsa Noreña Barroso del Laboratorio de Biogeoquímica y Calidad Ambiental por su entusiasmo, dedicación y apoyo técnico durante el trabajo de laboratorio y asesoramiento y capacitación en técnicas como Microextracción en Fase Sólida y Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas.*

*A la M. en C. Korynthia López Aguiar por la asesoría y apoyo en el muestreo, la preparación de las muestras y las determinaciones de Carbono y Nitrógeno por Análisis elemental.*

*Al I. Q. Ismael Ocegüera Vargas por su apoyo técnico y compañerismo.*

*A mis compañeros y amigos por las experiencias vividas y compartidas.*

*A mis profesores por la formación académica y conocimientos transmitidos.*

*A mis papás y hermanos, por su aliento y soporte siempre.*

## CONTENIDO

1. RESUMEN.....	14
2. INTRODUCCIÓN.....	15
3. ANTECEDENTES.....	17
3.1. CONTAMINANTES EMERGENTES.....	17
3.2. TRICLOSÁN.....	18
3.3. PENÍNSULA DE YUCATÁN.....	38
4. DETERMINACIÓN DE TRICLOSÁN. IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS.....	44
4.1. INTRODUCCIÓN.....	44
4.2. MARCO TEÓRICO.....	45
4.3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	56
4.4. HIPÓTESIS.....	56
4.5. OBJETIVOS.....	57
4.6. METODOLOGÍA.....	59
4.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	70
4.8. CONCLUSIONES.....	89
5. DETERMINACIÓN DE TRICLOSÁN EN LA ZONA COSTERA DEL ESTADO DE YUCATÁN.....	90
5.1. INTRODUCCIÓN.....	90
5.2. MARCO TEÓRICO.....	91
5.3. JUSTIFICACIÓN.....	97
5.4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	97
5.5. HIPÓTESIS.....	98
5.6. OBJETIVOS.....	98
5.7. ÁREA DE ESTUDIO.....	99
5.8. METODOLOGÍA.....	113

5.9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	117
5.10. CONCLUSIONES.....	150
6. REFERENCIAS .....	152
7. ANEXOS.....	166

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Estructura del triclosán.....	19
Figura 3.2. Mecanismos de degradación del TCS.....	21
Figura 3.3. Metiltriclosán.....	22
Figura 3.4. 2,8-dibenzodictloro- <i>p</i> -dioxina .....	23
Figura 3.5. Conversión fotoquímica de TCS a la DCDD en agua dulce y agua de mar como propone Latch <i>et al.</i> , 2003. (Tomado de Aranami 2007) .....	23
Figura 3.6. Predicción de los niveles de TCS (líneas sólidas) y de la DCDD (líneas punteadas) en agua dulce (líneas delgadas) y aguas de mar (líneas gruesas). Tomado de Aranami, 2007. ....	24
Figura 3.7. Modos de muestreo en MEFS: a) muestreo HS, b) muestreo por inmersión y c) con membrana. Tomado de Castillo, 2009.....	34
Figura 3.8. Localización de la Zona Metropolitana de Mérida y los municipios que la integran. (Tomado de SEDUMA, 2010). ....	41
Figura 3.9. Geohidrología de la Zona Metropolitana de Mérida. (Tomado de SEDUMA, 2010). ....	42
Figura 3.10. Diagrama conceptual de las lagunas costeras de Yucatán (Tomado de Herrera-Silveira & Morales-Ojeda, 2010). ....	43
Figura 4.1. Variación del rendimiento de extracción de TCS de sedimentos con mezclas agua:ACN calculado con el modelo propuesto. Las condiciones se describen en el texto. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 0.25 unidades de pH-pKa, 1 unidad de %ACN y 10 unidades de %R. ....	50
Figura 4.2. Variación del rendimiento de la microextracción de TCS del extracto acuoso de sedimentos con mezclas agua:ACN calculado con el modelo propuesto. Las condiciones se describen en el texto. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 0.25 unidades de pH-pKa, 1 unidad de %ACN y 5 unidades de %R.....	51
Figura 4.3. Variación del rendimiento global de la extracción de TCS calculado con el modelo propuesto realizando en forma sucesiva la EAUS y la MEFS. Las condiciones se describen en el texto. Se muestra el caso donde pH-pKa en la EAUS es 0.75. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 0.25 unidades de pH-pKa, 1 unidad de %ACN y 2 unidades de %R.....	53
Figura 4.4. Variación del rendimiento de la EAUS de TCS de sedimentos con mezclas agua:ACN calculado con el modelo propuesto. Las condiciones se describen en el texto. Las	

líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 1 unidades de %MO, 1 unidad de %ACN y 10 unidades de %R. ....	54
Figura 4.5. Etapas del desarrollo de la metodología de análisis.....	63
Figura 4.6. Técnica de análisis de sedimentos.....	69
Figura 4.7. Cromatogramas iónico total (izquierda) y de extractos de iones (derecha) obtenidos con el método cromatográfico rápido.....	70
Figura 4.8. Cromatograma del extracto de una muestra de sedimento enriquecida con 10 ng·g <sup>-1</sup> de estándares de TCS y MTCS y 100 ng·g <sup>-1</sup> de DCDD, obtenido con el método extendido de cromatografía, operado el EM en modo SIM con los iones 345, 304 y 252, representativos de TCS, MTCS y DCDD. ....	71
Figura 4.9. Espectro de masas de TCS silanizado. El EM operado en modo SCAN. Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de este compuesto son 345, 347 y 349. ....	72
Figura 4.10. Espectro de masas de MTCS. El EM operado en modo SCAN. Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de este compuesto son 252, 254, 302 y ....	72
Figura 4.11. Espectro de masas de DCDD. El EM operado en modo SCAN. Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de este compuesto son 126, 189, 252 y 254. ....	72
Figura 4.12. Efecto del tiempo de sonicación y de la adición de KOH (pH=9) al medio de extracción. Cociente del área entre el promedio de la serie de tiempo (líneas punteada y sólida, escala izquierda). El gráfico de barras (escala derecha) corresponde al porcentaje de extracción obtenida con la solución de KOH respecto a la extracción con agua sola.....	73
Figura 4.13. Efecto del disolvente de extracción: agua destilada, KOH 0.25 M y KOH 1 M...74	
Figura 4.14. Efecto del disolvente de extracción: agua destilada, KOH 0.25 M, ACN 5% y ACN 5% con KOH 0.25 M como disolvente de extracción. ....	75
Figura 4.15. Efecto de la potencia de la sonda de ultrasonido sobre la eficiencia de extracción. Las réplicas de la 40%, 55% y 70% de amplitud se realizaron en días distintos. 76	
Figura 4.16. Efecto del tiempo de humectación del sedimento con 5% ACN antes de la EAUS. Las ordenadas representan el AR de cada réplica con respecto a la primera y las abscisas el orden en que fueron procesadas. Las cruces corresponden a la serie en la que el tiempo de contacto previo aumenta con el orden en el que las muestras fueron procesadas. Los círculos representan la serie en la que el tiempo se mantuvo constante en 40 minutos. 78	

Figura 4.17. Coeficiente de variación de las etapas EAUS y MEFS y de la técnica global para la extracción de TCS, MTCS y DCDD con $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ de sedimento respectivamente. ....	79
Figura 4.18. Recobro de las etapas EAUS y MEFS y de la técnica global para la extracción de TCS, MTCS y DCDD de sedimento. ....	80
Figura 4.19. Linealidad del procedimiento global. Los gráficos de la izquierda corresponden al área sin corregir por la del EI. El ion utilizado para la integración se indica en la gráfica. Los de la derecha corresponden a las AR al TCS $^{13}\text{C}$ utilizado como EI. El ion de integración para el EI fue el de $m\cdot z^{-1}=357$ . ....	82
Figura 4.20. Cromatogramas del análisis de muestras de sedimento analizadas con la técnica de extracción EAUS/MEFS/CG-EM. Las flechas indican el pico identificado como TCS. a) $C=0.59 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , $S/R= 5.2$ , $\text{CO}=3.3\%$ ; b) $C=0.59 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , $S/R=3$ , $\text{CO}=7.6\%$ ; c) $C=0.58 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , $S/R=12.5$ , $\text{CO}=5.0\%$ y d) $C=0.53 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , $S/R=4$ , $\text{CO}=4.4\%$ . ....	86
Figura 4.21. Relación entre el área del TCS $^{13}\text{C}$ añadido como subrogado obtenida con el procedimiento de extracción propuesto y el porcentaje de carbono orgánico determinado por análisis elemental. ....	87
Figura 4.22. Ajuste lineal del inverso del área del TCS $^{13}\text{C}$ añadido como subrogado obtenida con el procedimiento de extracción propuesto y el porcentaje de carbono orgánico determinado por análisis elemental. ....	88
Figura 5.1. Mapa de consenso del flujo de aguas subterráneas a escala regional. Las flechas indican las direcciones de flujo de agua subterránea según la referencia correspondiente. ASK (Amigos de Sian Ka'an), 2003. ....	92
Figura 5.2. Estimación de las concentraciones de TCS en sedimentos y en MO a partir del modelo de equilibrio químico planteado y los valores reportados en el agua de cenotes y pozos de agua. ....	94
Figura 5.3. Modelo simple de transporte de TCS en la zona costera. ....	96
Figura 5.4. Localización del área de estudio y las zonas donde se realizó la recolecta de sedimentos. Tomado de <a href="http://www.yucatan.gob.mx">www.yucatan.gob.mx</a> ....	99
Figura 5.5. Ubicación de las estaciones de muestreo en la Ría Celestún. La imagen izquierda muestra las estaciones dentro de la Ría. La imagen derecha es un acercamiento del trayecto CE05, de un ojo de agua externo hasta su desembocadura en la Ría. ....	100
Figura 5.6. Estaciones de muestreo de Celestún. ....	102
Figura 5.7. Ubicación de las estaciones de muestreo en Sisal. En la imagen superior se muestran las estaciones cercanas al pueblo. En la imagen inferior se ubica la estación SI07 en un manantial aproximadamente a 6 km al Este del pueblo. ....	103



Figura 5.8. Estaciones de muestreo en Sisal .....	105
Figura 5.9. Ubicación de las estaciones de muestreo en la laguna La Carbonera. ....	106
Figura 5.10. Estaciones de muestreo en La Carbonera. ....	106
Figura 5.11. Ubicación de las estaciones de muestreo en la laguna de Chelem. ....	109
Figura 5.12. Estaciones de muestreo en la laguna de Chelem. ....	109
Figura 5.13. Ubicación de las estaciones de muestreo en la zona de Dzilam. ....	110
Figura 5.14. Estaciones de muestreo de Dzilam .....	112
Figura 5.15. Desarrollo de los procesos para el análisis de muestras de la zona de estudio. .....	113
Figura 5.16. <b>A</b> : valores de conductividad en la columna de agua de los sitios muestreados clasificados por zona. <b>B</b> : ordenados por la fracción de agua de mar en la mezcla estimada con los valores de conductividad: $f_x = (C_x - C_{min}) / (C_{max} - C_{min})$ . ....	120
Figura 5.17. Valores de potencial oxido-reductor, oxígeno disuelto y pH en la columna de agua de los sitios muestreados clasificados por zona. ....	123
Figura 5.18. Correlación entre los valores de pH, POR y OD con la conductividad. Las líneas punteadas indican el intervalo de predicción. Los datos en negrita en la tabla de coeficientes de correlación indican valores significativos ( $p < 0.5$ ). ....	124
Figura 5.19. Diagrama ternario que muestra los regímenes de sedimentación de los sitios estudiados. Sgruesos = %gravas + %arenas muy gruesas + %arenas gruesas; Smedios = %arenas medias + %arenas finas; Sfinos = %arenas muy finas + %limos y arcillas. ....	126
Figura 5.20. Clasificación de los sitios de muestreo por tipo de sedimentación. Las líneas diagonales corresponden a la escala de Smedios. F: sedimentación con predominio de las fracciones finas; M: predominio de fracciones medias y G: zonas de lavado con predominio de las fracciones gruesas. ....	127
Figura 5.21. Valores de Sfinos (% arenas finas + % limos y arcillas) en los sedimentos de los sitios muestreados clasificados por zona. ....	128
Figura 5.22. Clasificación de sedimentos por el contenido de CO y origen de la MO. El círculo indica las estaciones donde la MO es de origen fitoplanctónico y el rectángulo de línea discontinua las estaciones donde es de origen de las plantas ribereñas. ....	131
Figura 5.23. Valores de %CO, %N y C:N en los sedimentos de los sitios muestreados clasificados por zona. ....	132
Figura 5.24. Resultados del análisis de las muestras de control. Las líneas discontinuas corresponden al valor nominal de la concentración: $11.85 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ y $3.85 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ . ....	134

Figura 5.25. Valores de TCS en los sedimentos de los sitios muestreados clasificados por zona.....	136
Figura 5.26. Resultados del Análisis de Componentes Principales utilizando como variables los parámetros C, POR, OD, pH, Sgruesos, %CO y C:N. ....	139
Figura 5.27. Agrupamiento de los sitios de muestreo con base en los dos primeros factores del Análisis de Componentes principales. ....	140
Figura 5.28. Gráficos de cajas de los parámetros que tienen una contribución mayor a los valores de los factores F1 y F2 en función de la clasificación por grupos. Los cuadrados centrales corresponden a las medianas, la caja al rango intercuartílico (25%-75%), los círculos a los valores atípicos y los asteriscos a los valores extremos. ....	142
Figura 5.29. Gráficos de cajas de los parámetros que tienen una contribución mayor a los valores de los factores F1 y F2 y de la concentración de TCS en los sedimentos en función de la clasificación por grupos modificada. Los cuadrados centrales corresponden a las medianas, las cajas al rango intercuartílico, los bigotes al rango no atípico, los círculos a los valores atípicos y los asteriscos a los valores extremos. ....	144
Figura 5.30. Diferencia entre los valores experimentales de concentración de TCS con los valores teóricos de equilibrio para una concentración de TCS en el acuífero de $17 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ ..	147
Figura 5.31. Gráficos de cajas del valor de $\Delta$ en función de la clasificación por grupos modificada. Los cuadrados centrales corresponden a las medianas, las cajas al rango intercuartílico, los bigotes al rango no atípico, los círculos a los valores atípicos y los asteriscos a los valores extremos. ....	148

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Propiedades del TCS, MTCS y DCDD (SCCS, 2010; ATSDR, 1998).....	22
Tabla II. Concentración de TCS en agua de diferentes ambientes acuáticos.....	26
Tabla III. Concentración de TCS en sedimentos de diferentes ambientes. ....	26
Tabla IV. Concentración de TCS encontradas en matrices biológicas. ....	27
Tabla V. Condiciones del método cromatográfico rápido. ....	60
Tabla VI. Condiciones de la espectrometría de masas. ....	60
Tabla VII. Condiciones del método cromatográfico extendido.....	61
Tabla VIII. Iones seleccionados para la operación en modo SIM para la identificación y cuantificación en la validación y las muestras. En negritas el ion de cuantificación. ....	61
Tabla IX. Resultados de la regresión lineal sobre los datos C (ng·g <sup>-1</sup> ) vs AR al EI en el intervalo de concentraciones 2 a 1000 ng·g <sup>-1</sup> .....	83
Tabla X. Repetibilidad y límites de detección.....	83
Tabla XI. Valores de recobro y límites de detección en técnicas de extracción de triclosán en sedimentos. ....	85
Tabla XII. Descripción de las estaciones de muestreo de Ría Celestún. Fecha de colecta: 12/junio/2013. ....	101
Tabla XIII. Descripción de las estaciones de muestreo de Sisal. Fecha de colecta: 24/junio/2013. ....	104
Tabla XIV. Descripción de las estaciones de muestreo de la boca de la laguna La Carbonera. Fecha de colecta: 19/junio/2013. ....	107
Tabla XV. Descripción de las estaciones de muestreo de la laguna de Chelem. Fecha de colecta 11/junio/2013.....	108
Tabla XVI. Descripción de las estaciones de muestreo en Dzilam. Fecha de colecta: 10/junio/2013. ....	111
Tabla XVII. Miembros de los grupos integrados con base en los factores F1 y F2 del PCA. .....	140
Tabla XVIII. Coeficientes de correlación de los parámetros medidos con el valor de $\Delta$ para el total de datos. Los valores en negrita son significativos ( $p < 0.05$ ).....	149
Tabla XIX. Equipos. ....	166
Tabla XX. Materiales.....	167
Tabla XXI. Reactivos. ....	167

Tabla XXII. Resultados de los parámetros fisicoquímicos del agua: pH, conductividad, potencial oxido reducción (POR) y oxígeno disuelto (OD) de la columna de agua de cada estación. ....	168
Tabla XXIII. Resultados del porcentaje de carbono orgánico (%CO), total (%CT), nitrógeno (%N) y la relación molar de carbono orgánico y nitrógeno (C:N) de la fracción de limos y arcillas de sedimentos de cada estación.....	170
Tabla XXIV. Resultados de la granulometría de los sedimentos de cada estación: %gravas (>2 mm), %arenas muy gruesas (1 a 2 mm), %arenas gruesas (0.5 a 1 mm), %arenas medianas (0.25 a 0.5 mm), %arenas finas (0.125 a 0.25 mm), %muy finas (0.063 a 0.125 mm) y %limos y arcillas (<0.063 mm). ....	172
Tabla XXV. Concentración de TCS determinada en la fracción de limos y arcillas de los sedimentos y con respecto al contenido de carbono orgánico de cada estación.....	174

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

<b>ACN</b>	acetonitrilo
<b>AR</b>	área relativa
<b>C:N</b>	relación molecular carbono orgánico-nitrógeno
<b>CG/EM</b>	cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
<b>C</b>	conductividad
<b>CI</b>	carbono inorgánico
<b>CL<sub>50</sub></b>	concentración letal media
<b>CO</b>	carbono orgánico
<b>CONAGUA</b>	Comisión Nacional del Agua
<b>CT</b>	carbono total
<b>DCDD</b>	2,8-dibenzo-dicloro- <i>p</i> -dioxina
<b>EAUS</b>	extracción asistida por ultrasonido
<b>EI</b>	estándar interno
<b>EPA</b>	Agencia de Protección Ambiental de los EE. UU.
<b>FDA</b>	Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU.
<b>HS</b>	head space
<b>IC<sub>50</sub></b>	concentración media inhibitoria
<b>K<sub>OC</sub></b>	constante de reparto carbono orgánico-agua
<b>K<sub>OW</sub></b>	constante de reparto octanol-agua
<b>MEFS</b>	microextracción en fase solida
<b>MO</b>	materia orgánica
<b>MTBSTFA</b>	N-metil-N-(terbutildimetilsilil)-trifluoroacetamida
<b>MTCS</b>	metiltriclosán
<b>N</b>	nitrógeno
<b>OD</b>	oxígeno disuelto
<b>PA</b>	poliacrilato
<b>PAH</b>	hidrocarburos aromáticos policíclicos
<b>PDMS/DVB</b>	poli(dimetilsiloxano/divinilbenceno)
<b>pH</b>	potencial de hidrógeno
<b>PH</b>	peso húmedo

<b>PM</b>	peso molecular
<b>POR</b>	potencial óxido-reducción
<b>PPCP</b>	productos farmacéuticos y de cuidado personal
<b>PS</b>	peso seco
<b>PY</b>	Península de Yucatán
<b>S/R</b>	relación señal ruido
<b>SCAN</b>	barrido total del espectro
<b>SEDESOL</b>	Secretaría de Desarrollo Social
<b>SEDUMA</b>	Secretaría de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente
<b>SEMARNAT</b>	Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
<b>SIM</b>	monitoreo selectivo de iones
<b>TCS</b>	triclosán
<b>TCS <sup>13</sup>C</b>	triclosán carbono-13

## 1. RESUMEN

Este trabajo se presenta en dos secciones. En la primera se desarrolló, implementó y validó un método de análisis para la determinación de triclosán y dos de sus subproductos, el metiltriclosán y la 2,8-dibenzo-dicloro-*p*-dioxina, en sedimentos. Consiste en la extracción asistida por ultrasonido con un medio acuoso, y acopla las técnicas de microextracción en fase sólida y cromatografía de gases/espectrometría de masas. Con este método es posible detectar concentraciones con base en el peso seco (PS) menores que  $1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de triclosán en sedimentos con una repetibilidad mejor del 5%. Los límites de detección para el metiltriclosán y la dioxina fueron de  $3.3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $35 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  respectivamente. Además se demostró que es imprescindible el uso de un estándar interno, en este caso triclosán marcado con carbono-13, dada la proporcionalidad inversa del rendimiento del método de extracción frente al contenido de materia orgánica y variaciones por otras características particulares de cada muestra.

Con la técnica implementada se determinaron los mismos compuestos en sedimentos de lagunas costeras del Estado de Yucatán así como otros parámetros para relacionar la presencia de triclosán con la influencia del acuífero y las áreas de descarga. Se encontró triclosán en los sedimentos en concentraciones que van de  $0.3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  hasta  $6.8 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  en PS con una mediana de  $1.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , sin embargo, no se detectaron el metiltriclosán ni la dioxina por encima de los límites de detección del procedimiento de análisis. Además, de acuerdo al análisis de los datos, se concluye que triclosán llega a las lagunas costeras por medio de la descarga de agua del acuífero y está asociado a la materia orgánica de origen terrestre y su transporte.

## 2. INTRODUCCIÓN

El triclosán (TCS) es un fenoxifenol triclorado que por sus características químicas, fisicoquímicas y microbidas es uno de los compuestos bactericidas de mayor uso en productos de cuidado personal, como jabones, pastas de dientes, desodorantes, cosméticos, e incluso en fibras textiles y polímeros utilizados en la elaboración de ropa, calzado, envases y juguetes plásticos, por mencionar sólo algunos (Singer *et al.*, 2002; Rodricks *et al.*, 2010; EPA, 2010; FDA, 2010).

Como ingrediente de productos de cuidado personal, el TCS se desecha con el agua residual. Estudios dedicados al monitoreo de estos compuestos durante el tratamiento de aguas residuales revelan que el TCS no se elimina totalmente y se libera como parte de la matriz del efluente (Stuart *et al.*, 2012). En consecuencia se ha encontrado TCS en aguas residuales, superficiales, subterráneas, de mar y en los sedimentos (Dann & Hontela, 2011). Esto es motivo de preocupación por los efectos ecotoxicológicos que puede tener y por el eventual retorno al agua de consumo humano. Adicionalmente, se ha comprobado que se puede transformar en compuestos potencialmente más tóxicos y persistentes, tales como fenoles y éteres de bifenilo clorados por efecto de cloración en la desinfección de agua para consumo, metiltriclosán por metilación biológica y dibenzodioxinas cloradas por fotooxidación (Aranami & Readman, 2007; Buth *et al.*, 2010; Canosa *et al.*, 2005; Balmer *et al.*, 2005; Rule *et al.*, 2005).

Se ha estudiado que en las concentraciones empleadas como ingrediente activo en los productos de uso personal el TCS no es tóxico para los consumidores. Sin embargo, por la descarga continua de cantidades relativamente importantes, puede ocurrir que por acumulación se alcancen concentraciones que pueden llegar a considerarse un riesgo ecotoxicológico, principalmente en los lugares en donde se descargan las aguas residuales. Se han reportado concentraciones relativamente bajas en aguas superficiales y mantos acuíferos, sin embargo, se ha comprobado que aunque “insignificantes” tendrían efectos sobre algunas especies de plantas y animales acuáticos, además el riesgo potencial se incrementa por la mayor toxicidad de sus compuestos de degradación (Brausch & Rand 2011).

En Yucatán más del 80% de las aguas residuales se vierten en fosas sépticas, con frecuencia inapropiadas, o directamente en oquedades del suelo, pozos y cenotes sin ningún tratamiento previo (SEDUMA, 2010). En consecuencia las aguas residuales tienen como destino inmediato los mantos acuíferos, en donde los contaminantes se transportan con la



corriente subterránea hacia la zona costera y al aflorar pueden ser acumulados en los sedimentos por su mayor afinidad a la materia orgánica. Por esto es importante realizar un monitoreo de este compuesto y sus productos de degradación para evaluar las concentraciones actuales del sistema de lagunas costeras de Yucatán y valorar su posible comportamiento dentro de la hidrodinámica local.

Por otra parte, los estudios de la presencia de contaminantes en el ambiente generalmente necesitan del análisis de los compuestos de interés en un número grande de muestras. Los procedimientos normalmente involucran etapas de extracción con disolventes orgánicos de alta pureza, de limpieza de los extractos y de concentración de los analitos extraídos. En consecuencia, la fase del análisis químico de las muestras consume una cantidad considerable del tiempo y de los recursos financieros de los proyectos y puede llegar a generar una cantidad no despreciable de residuos peligrosos. Así, es de interés desarrollar opciones de procedimientos de análisis químico que permitan obviar alguno de estos inconvenientes.

Este trabajo se integra de dos partes independientes pero relacionadas entre sí: en la primera se desarrolló y evaluó un procedimiento de extracción y análisis del TCS y subproductos de degradación principales basado en una extracción en medio acuoso con un uso mínimo de disolventes orgánicos y en la segunda se utilizó ese procedimiento para determinar la presencia de TCS en los sedimentos de la zona costera de Yucatán. El documento que se presenta se divide en tres capítulos. En el primero se dan los antecedentes y generalidades sobre los conceptos centrales del proyecto, en los dos siguientes se presentan, para cada una de las partes señaladas, los conceptos específicos, el desarrollo de las actividades, los resultados, su análisis y las conclusiones.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. CONTAMINANTES EMERGENTES

Se usa el término “contaminantes emergentes” en aquellos compuestos que previamente eran desconocidos o no eran reconocidos como contaminantes y que su presencia en el ambiente no se consideraba importante en términos de distribución y/o concentración. Aunque su presencia no es necesariamente nueva es ahora cuando surge la preocupación por su potencial de producir efectos ecológicos adversos y a la salud humana (Daughton, 2004; Stuart *et al.*, 2012). Otra característica de estos compuestos es que no necesitan ser persistentes en el medio para provocar efectos negativos pues se tiene una descarga continua hacia el ambiente debido a su elevada producción, consumo y consecuente desecho (Barceló & López, 2007).

La presencia de estas sustancias tiene como causas, además de la falta de regulación, su utilización desde hace mucho tiempo, la síntesis continua de nuevos productos químicos, los cambios en su uso y/o su forma de eliminación (Murray *et al.*, 2010).

Se ha establecido que estos compuestos entran en el ambiente a través de aguas residuales domésticas, hospitalarias e industriales, de los efluentes de las plantas de tratamiento, de las actividades agrícolas y ganaderas y de las fosas sépticas (Gil *et al.*, 2012).

No son eliminados eficazmente con los tratamientos de agua convencionales debido a su baja concentración y a que las plantas de tratamiento, por lo general, no están diseñadas para eliminar estos compuestos (Stuart *et al.*, 2012). Por lo tanto pueden ser acumulados en las zonas de descarga e impactar en la salud y la ecología.

Su presencia en el ambiente es muy diversa y extensa. Se han encontrado en suelos, sedimentos, aire y en masas de agua subterráneas y superficiales, e inclusive en agua potable (Stuart *et al.*, 2012).

Algunos de los grupos de compuestos o productos considerados como emergentes son los surfactantes, productos farmacéuticos, productos para el cuidado personal, aditivos de las gasolinas, retardantes de fuego, antisépticos, aditivos industriales, esteroides y hormonas y subproductos de la desinfección del agua (Barceló & López, 2007).

En general los productos de cuidado personal son para uso directo sobre el cuerpo humano en pomadas, geles, aerosoles, talcos, cremas, maquillajes, etc. (Gil *et al.*, 2012). Al estar destinados para contacto directo con el usuario no deben mostrar actividad bioquímica significativa. Por la naturaleza de su uso, son liberados al ambiente con las aguas de lavado

(Stuart *et al.*, 2012). El TCS se incluye en este grupo, por ser un ingrediente activo de muchos productos de higiene personal.

### 3.2. TRICLOSÁN

El triclosán (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol) es un fenoxifenol triclorado considerado un contaminante emergente dentro del grupo de los productos de cuidado personal y farmacéuticos (PPCP). Tiene un amplio espectro microbicida contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, además de hongos y levaduras, inhibiendo la biosíntesis de ácidos grasos necesarios para la formación de las paredes celulares y la reproducción de bacterias (Singer *et al.*, 2002; McAvoy *et al.*, 2002). El TCS se utiliza desde hace más de 40 años y su uso se ha incrementado en los últimos 25 años. La producción actual de este compuesto a nivel mundial sobrepasa las 1500 toneladas por año, y se llega a obtener comercialmente hasta con un 99% de pureza (Singer *et al.*, 2002). Está presente en múltiples productos relacionados con la higiene y desinfección como jabones, desodorantes, limpiadores, champús y cosméticos con formulaciones que contienen desde 0.1 a 0.3 % (Rodricks *et al.*, 2010). Además, por su estabilidad térmica es el bactericida más utilizado para su incorporación en polímeros y fibras textiles (tablas de corte para cocina, envases, calzado y ropa de toda clase) (Rodricks *et al.*, 2010; EPA, 2010; FDA, 2010). En concentraciones de  $300 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  ofrece protección contra las bacterias Gram positivas, con  $750\text{-}1000 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  contra a Gram positivas y Gram negativas, con  $3\text{-}5 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  hay una protección adicional al desarrollo de hongos, con  $4 \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  es posible mantener las propiedades antibacterianas en productos que son lavados con frecuencia (Gacén, 2001). Su uso más conocido es como aditivo en dentífricos. Se considera un agente activo contra la gingivitis si el contenido en el producto es ligeramente superior a  $0.05\text{-}0.06 \text{mM}$  ( $14\text{-}17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) (Rautemaa *et al.*, 2007).

#### 3.2.1. Propiedades químicas y fisicoquímicas.

Su fórmula molecular es  $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_3\text{O}_2$  y su peso molecular es de  $289.55 \text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Su estructura química se muestra en la Figura 3.1.

Es un polvo blanquecino escasamente soluble en agua, poco volátil y con una hidrofobicidad elevada. Tiene un coeficiente de partición octanol-agua ( $\log K_{\text{OW}}$ ) de 4.76 y de 4.3 para carbono orgánico-agua ( $\log K_{\text{OC}}$ ) (Ying, 2007). Su solubilidad en agua es alrededor de  $10 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  a  $20^\circ\text{C}$ , sin embargo se incrementa al aumentar el pH (Dann & Hontela, 2011).

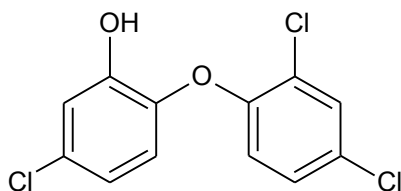


Figura 3.1. Estructura del triclosán

La Tabla I muestra algunas propiedades del TCS y de dos subproductos que se estudiaron, el metiltriclosán (MTCS) producto de biodegradación y de la 2,8-dibenzodictloro-*p*-dioxina (DCDD), producto de la fotooxidación (SCCS, 2010).

### 3.2.2. Degradación.

El TCS, como ingrediente activo en productos de cuidado personal presenta una baja toxicidad aguda y una tasa elevada de eliminación y degradación en el medio ambiente (Heidler & Halden, 2007). Sin embargo, después de ser arrojado en el ambiente, una fracción puede transformarse en otros compuestos como el MTCS, dioxinas, clorofenoles y fenoxifenoles tetra y penta clorados, los cuales inclusive poseen toxicidad y carácter bioacumulativo mayores (Aranami & Readman, 2007; Buth *et al.*, 2010; Canosa *et al.*, 2005; Balmer *et al.*, 2005; Rule *et al.*, 2005). Los estudios de conversiones químicas y biológicas son importantes para la evaluación de los riesgos ambientales de los ecosistemas y la salud humana, pues no sólo es la presencia de un compuesto objetivo una cuestión importante, sino también la generación de los subproductos (especialmente dioxinas), que pueden ser aún más tóxicos y persistentes que los compuestos originales (Aranami & Readman, 2007).

En general, la presencia o degradación del TCS en el medio ambiente depende de varios factores, entre los que se destacan:

- *pH*.- El TCS es una sustancia ionizable, y la variación en este parámetro modifica su distribución en medio acuático, de modo que si el pH aumenta la relación TCS ionizado/TCS sin ionizar también se incrementa, aumentando así su proporción disuelta en medio acuoso (Sabaliunas, 2003; Latch *et al.*, 2003).
- *Sólidos en suspensión*.- Una cantidad importante de materia particulada provoca un aumento del TCS adsorbido en su superficie, siempre que el pH del agua sea inferior al pKa del compuesto (Sabaliunas, 2003; Latch *et al.*, 2003).

- *Fotólisis*.- El TCS es susceptible de sufrir una transformación fotolítica en las aguas superficiales bajo la acción de la luz solar y es la vía de remoción más importante en aguas superficiales, sin embargo no en aguas subterráneas, residuales o sedimentos

Esta reacción está en función del pH pues es la forma ionizada del TCS, el fenolato, la fotoreactiva, mientras que el TCS no ionizado es fotoestable (Latch *et al.*, 2003; Aranami & Readman, 2007; Buth *et al.*, 2010).

- *Biodegradación*.- El TCS puede ser biodegradado por los organismos presentes en el agua. Este proceso depende de la temperatura del medio y de la profundidad. Por ejemplo, la bacteria *Achromobacter xylosoxidans* degrada el TCS en la superficie de las partículas en suspensión generando como producto principal de degradación el 2,4-diclorofenol, del mismo modo que el alga *Scenedesmus Subspicatus* (Orvos *et al.*, 2002).

- *Cloración*.- En presencia de cloro libre, principalmente durante los tratamientos de aguas residuales, el TCS puede sufrir la halogenación de su anillo fenólico, dando lugar a los tetra y pentaclosanos, y a dos productos de ruptura de su molécula, el 2,4-diclorofenol y el 2,4,6-triclorofenol (Rule *et al.*, 2005; Canosa *et al.*, 2005a).

La Figura 3.2 muestra los principales mecanismos de degradación que el TCS puede sufrir: cloración, biodegradación y fotodegradación.

Los clorofenoles se consideran productos posibles de hidrólisis del TCS en medio acuoso. El 2,4-diclorofenol y el 2,3,4-triclorofenol fueron propuestos inicialmente como subproductos de hidrólisis, aunque estudios posteriores pusieron de manifiesto que son el 2,4,6-triclorofenol y el 2,4-diclorofenol los productos finales generados en reacciones de oxidación e hidrólisis del TCS (Rule *et al.*, 2005; Canosa *et al.*, 2005a).

En este trabajo se enfocó a dos subproductos del TCS, el MTCS como resultado de biodegradación y a la DCDD resultado de fotólisis, indicadores de la importancia de estos dos procesos de degradación en los sitios de muestreo.

#### 3.2.2.1. Metiltriclosán

El MTCS (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)anisol) (Figura 3.3) es resultado de la biotransformación de TCS por diversos organismos por procesos de biometilación. Se ha detectado que las concentraciones del MTCS son mayores en los efluentes que en los influentes de las plantas de tratamientos de aguas residuales, lo que sugiere se genera principalmente

durante los procesos de tratamiento, aunque no son los únicos sitios de origen (Lindström, *et al.*, 2002).

Este compuesto es mucho más estable frente a la degradación fotoquímica y sus propiedades fisicoquímicas le permiten bioacumularse en los tejidos (principalmente lipídicos) de aquellos seres vivos expuestos tanto a matrices solidas como líquidas (Balmer *et al.*, 2004; Coogan *et al.*, 2007). Algunas de las propiedades del MTCS se describen en la Tabla I.

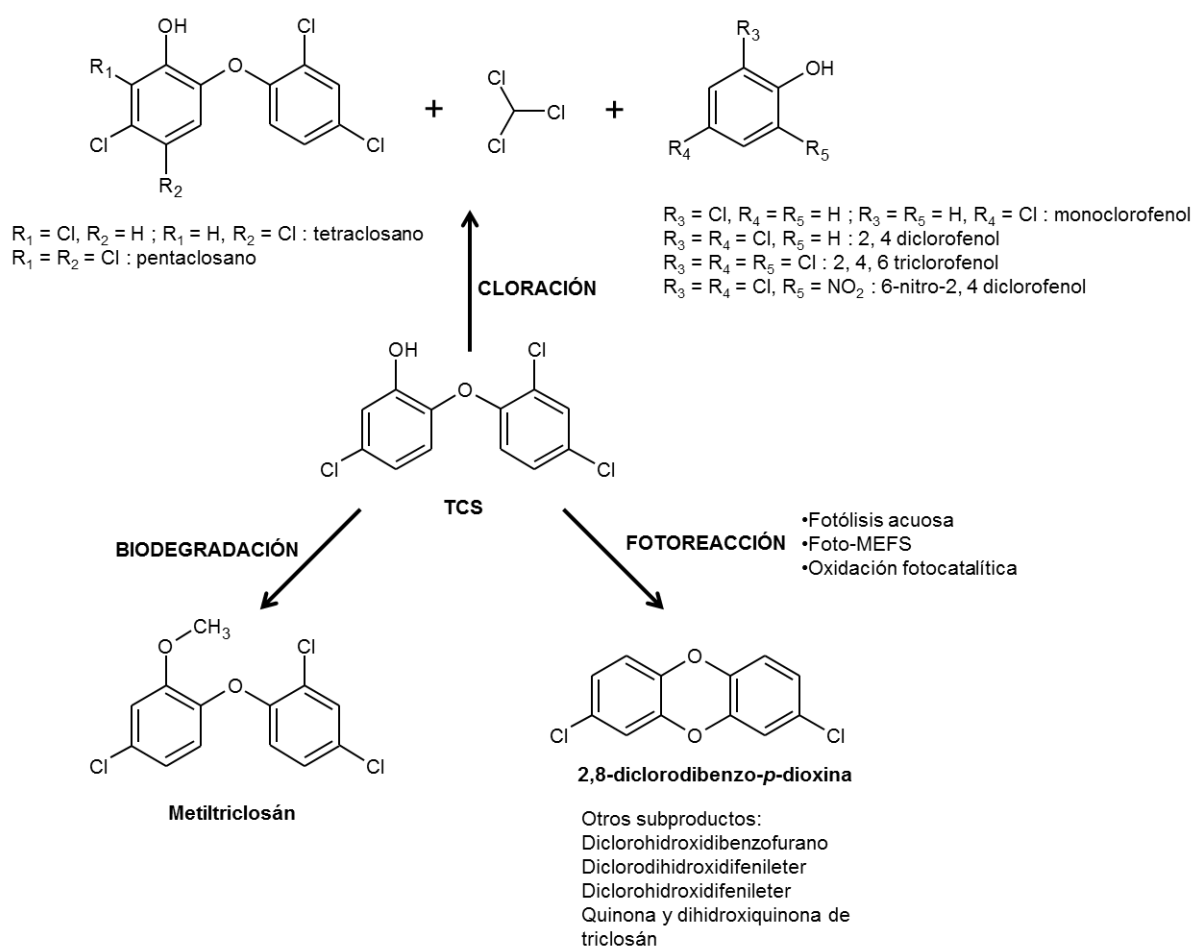


Figura 3.2. Mecanismos de degradación del TCS.

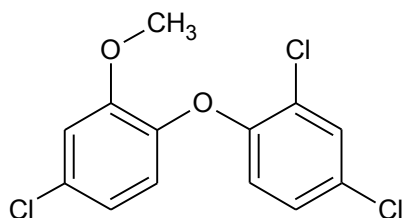


Figura 3.3. Metiltriclosán.

Tabla I. Propiedades del TCS, MTCS y DCDD (SCCS, 2010; ATSDR, 1998).

Propiedades	TCS	MTCS	DCDD
PM (g·mol <sup>-1</sup> )	289.5	303.6	253.1
pKa	7.9-8.1	---	---
log K <sub>ow</sub>	4.8	5.4	5.6
log K <sub>oc</sub>	4.3	4.1	---
Punto ebullición (°C)	120	359	---
Punto fusión (°C)	57±1	128	151
P vapor (mmHg)	4x10 <sup>-6</sup>	5.18 x10 <sup>-5</sup>	1.4x10 <sup>-4</sup>
Solubilidad, pH 3 (mg·L <sup>-1</sup> )	4	---	---
Solubilidad, pH 7 (mg·L <sup>-1</sup> )	10	1	0.0167 (0.0515 a 45°C)
Solubilidad, pH 9 (mg·L <sup>-1</sup> )	69	---	---
Solubilidad, Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 1N (g·kg <sup>-1</sup> )	4	---	---
Solubilidad, NaOH 1N (g·kg <sup>-1</sup> )	317	---	---

### 3.2.2.2. Dioxinas

El TCS es conocido como una predioxina. Las dioxinas son sustancias altamente tóxicas y consideradas contaminantes prioritarios, de modo que sus niveles en el medio ambiente están estrictamente controlados.

Latch (2003) asocia a la DCDD (Figura 3.4) como compuesto derivado del TCS bajo irradiación de luz solar en aguas superficiales. Además, sugiere que la forma ionizada del TCS, su fenolato, es la fotoreactiva (Figura 3.5), mientras que el TCS no ionizado es fotoestable, comprobando la dependencia de la reacción en función del pH.

Mezcua y colaboradores (2004) encontraron la formación de la 2,7 y 2,8-dibenzodiclono- *p*-dioxina como productos mayoritarios. Así mismo Ferrer *et al.* (2004) determinaron la presencia de los productos intermedios generados en la degradación fotoquímica del TCS utilizando como técnica de detección la cromatografía de líquidos acoplada a un espectrómetro de masas. Estos productos intermedios presentaron pérdidas de cloro, ruptura del enlace éter formando un monoclorodihidroxilado y sustitución de un átomo de cloro por un grupo hidroxilo.

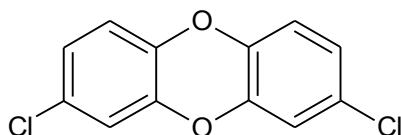


Figura 3.4. 2,8-dibenzodiclono-*p*-dioxina

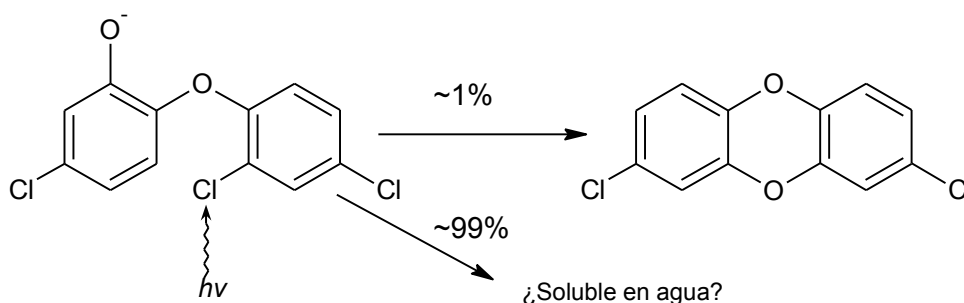


Figura 3.5. Conversión fotoquímica de TCS a la DCDD en agua dulce y agua de mar como propone Latch *et al.*, 2003. (Tomado de Aranami 2007)

Aranami y colaboradores (2007) estudiaron el comportamiento de degradación de TCS por vía fotolítica durante 12 días en agua dulce y agua de mar y reportan que un 0.8% del TCS fotodegradado es transformado a la DCDD, sin embargo el rendimiento de fototransformación de TCS en DCDD es variable con el pH. Latch (2003) lo había reportado entre 0-5% en un rango de pH de 4-8.

En el mismo estudio de Aranami, el TCS presentó una vida media de 8 y 4 días en agua dulce y agua de mar respectivamente, y se detectó DCDD tanto en muestras de agua dulce y agua de mar después de 3 días de la irradiación con luz artificial. Así mismo con sus resultados estimó la vida media de la DCDD en 26 días en agua dulce y 122 días en agua de mar (Figura 3.6). Esto sugiere que la diferencia entre los tiempos de vida media entre agua y



dulce y agua de mar puede ser causada por el pH y otros solutos disueltos como iones metálicos y materia orgánica, que afectan la especiación fenolato/fenol del TCS.

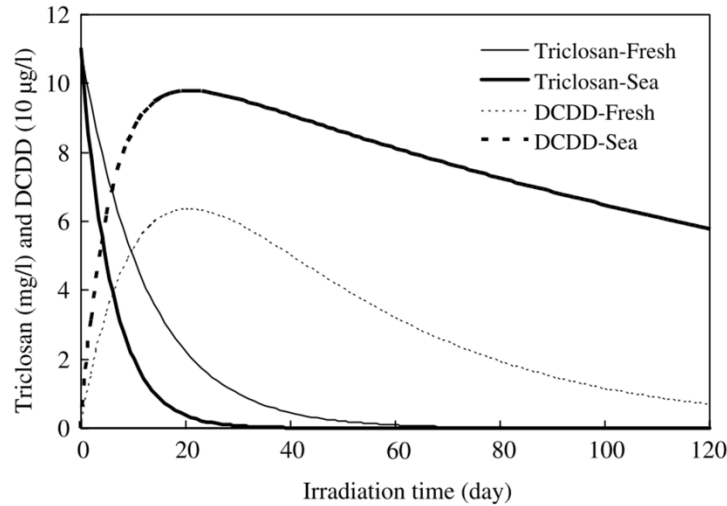


Figura 3.6. Predicción de los niveles de TCS (líneas sólidas) y de la DCDD (líneas punteadas) en agua dulce (líneas delgadas) y aguas de mar (líneas gruesas). Tomado de Aranami, 2007.

### 3.2.3. Fuentes de TCS hacia el ambiente.

Como contaminante emergente, el TCS tiene la característica de tener una producción alta, un uso elevado y descarga continua hacia el ambiente. El TCS se desecha en los residuos industriales involucrados en su síntesis, pero principalmente a través de las aguas residuales domésticas como consecuencia de su forma de uso.

Puede entrar al ambiente por medio de los efluentes de plantas de tratamientos de agua, en las que por lo general la remoción del compuesto no es completa, por los lodos de depuración que muchas veces se emplean como fertilizante, por fosas sépticas mal diseñadas y por la descarga directa de aguas residuales sin tratamiento previo (Dann & Hontela, 2009). El porcentaje de eliminación del TCS durante el tratamiento de aguas residuales está entre un 40 y un 95.5 %, sin tomar en cuenta la fracción absorbida en los lodos, y dependerá del tipo de tratamiento recibido, siendo el más efectivo el tratamiento con lodos activos (Heidler & Halden, 2007; Thompson *et al.*, 2005).

#### 3.2.4. Destino en el ambiente.

El destino del TCS en el ambiente es muy diverso como lo han puesto de manifiesto muchos estudios. Como desecho en aguas residuales, con y sin tratamiento previo, llega al ambiente a las aguas superficiales continentales y sus sedimentos y a las aguas subterráneas por percolación hacia los mantos acuíferos. Disuelto y en la materia suspendida se transporta a las zonas de afloramiento y descarga y, consecuentemente al mar y sedimentos marinos. Además, por su afinidad puede ser bioacumulado en los organismos que habitan estos medios.

Se ha encontrado en el ser humano debido a la absorción por contacto directo con los productos que usan TCS como ingrediente activo. También es ingerido con el agua potable y los alimentos, a los que llega desde el agua usada para riego y el uso de los lodos de los tratamientos de agua como fertilizante (Heidler & Halden, 2007).

#### 3.2.5. Valores reportados en distintas matrices ambientales.

Existen múltiples estudios en los que se ha demostrado la presencia de TCS en diversas matrices medioambientales, tales como aguas residuales y superficiales (Tabla II), sedimentos, lodos de depuradoras (Tabla III), muestras de material biológico como músculo y grasa de pescado y leche materna (Tabla IV), entre otros. Esto refleja que aunque el TCS no sea un compuesto persistente, su tasa alta de descarga y cualidad bioacumulativa permiten su presencia y distribución en el ambiente.

Aunque los valores de TCS encontrados en las matrices acuáticas podrían considerarse insignificantes, este compuesto es susceptible de acumularse en la materia orgánica (MO) de sedimentos y bioacumularse en animales y plantas presentes en ecosistemas que sufren descargas continuas de agua residual y continental debido a su alta lipofilia, como lo reflejan las concentraciones halladas en material biológico.

También se ha determinado la presencia del MTCS en matrices biológicas, sobre todo en peces de agua dulce. Balmer (2004) cuantificó niveles de MTCS del orden de  $1\text{-}340\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  referido a tejido graso en peces procedentes de lagos de Suiza en donde los niveles de MTCS en agua eran de  $0.02\text{-}1.2\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ . Se encontraron niveles de MTCS mayores en ríos del norte de Suiza que reciben efluentes de plantas de tratamientos de agua,  $130\text{-}2100\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  en lípidos (Buser *et al.*, 2006). Bohemer (2004) determinó, mediante un monitoreo

Tabla II. Concentración de TCS en agua de diferentes ambientes acuáticos.

<b>Tipo de muestra</b>	<b>Locación</b>	<b>Concentración (ng-L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Referencia</b>
Agua de consumo	Noruega	32	Bones (2006)
	Estados Unidos	< 1	Vanderford (2006)
Manantial	México	1-1.2	Gibson (2007)
Subterránea	México	180	Metcalfe (2011)
		17 - 2680	Kiel (2012)
Río	Estados Unidos	ND* - 2300	Dann (2011)
	Suiza	81 - 130	Barber (2006)
	Alemania	3 - 10	Bester (2005)
	Australia	< 75	Ying (2007)
	China	35 - 1023	Peng (2008)
	Dinamarca	140	Eriksson (2003)
Lago	Suiza	20	Singer (2002)
	Estados Unidos	< 10	Vanderford (2006)
Mar	China	16 - 99	Wu (2007)
	Japón	55 - 134	Nishi (2008)

\*ND: No detectable

Tabla III. Concentración de TCS en sedimentos de diferentes ambientes.

<b>Tipo de muestra</b>	<b>Locación</b>	<b>Concentración* (ng-g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Referencia</b>
Sedimento río	España	ND** - 36	Morales (2005)
Sedimento lago	Suiza	53	Singer (2002)
Sedimento marino	España	12	Morales (2005)
	Estados Unidos	50	Burkhardt (2005)
	Alemania	250 - 450	Kronimus (2004)
Sedimento estuarino	Estados Unidos	ND* - 800	Miller (2008)

\*Con base en PS

\*\*ND: No detectable

Tabla IV. Concentración de TCS encontradas en matrices biológicas.

Organismo	Tipo de muestra	Descripción del lugar	Concentración* (ng·g <sup>-1</sup> )	Referencia
Filamentous algae ( <i>Cladophora spp.</i> )	Organismo completo	Efluente, planta de tratamiento, Texas, EU.	100-150 50-400	Coogan (2007, 2008)
Caracoles de agua dulce ( <i>Helisoma trivolvis</i> )	Músculo		50-300	Coogan (2008)
Trucha arcoíris ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Bilis	Enjaulados, río arriba y a dos kilómetros después de planta de tratamiento.	710 17000	Adolfsson (2002)
Bremas machos ( <i>Abramis brama</i> )	Bilis	Ríos de Holanda	14000-80000 (peso bilis) 10-710 (peso total)	Houtman (2004)
	Músculo	Ríos de Alemania	< 3.4	Boehmer (2004)
Peces pelágicos	Plasma	Río Detroit	0.75-10	Valters (2005)
Humanos	Leche materna		0.022-9	Allmyr (2006); Dayan (2007)
	Plasma		0.4-38	Allmyr (2006)
	Orina		127 (ng·mL <sup>-1</sup> )	Ye (2005)

\*Con base en el peso húmedo (PH)

retrospectivo, TCS y MTCS en tejido muscular de peces del Banco de especímenes ambientales de Alemania del periodo 1994-2003. El TCS fue detectado en pocas muestras sin un patrón diferenciado, mientras que el MTCS estaba presente en todas las muestras y con niveles crecientes con respecto al tiempo, desde 4-10 ng·g<sup>-1</sup> hasta 16-26 ng·g<sup>-1</sup>. Los autores del estudio concluyeron que el MTCS es un contaminante persistente con el potencial de acumularse en el tejido muscular de los peces.

Por último, la DCDD se han detectado en aguas residuales sin tratar y tratadas en niveles de 0.02-8.9 ng·mL<sup>-1</sup> y 0.004-0.4 ng·mL<sup>-1</sup>, respectivamente (Mezcua *et al.*, 2004)

### 3.2.6. Toxicidad.

El TCS es un compuesto de baja toxicidad aguda. Diversos estudios sobre su uso en productos de cuidado personal revelan que a las concentraciones utilizadas en los productos que lo utilizan como ingrediente activo (0.1-0.3 %) no es tóxico, carcinogénico, teratogénico, ni irritante de ojos ni piel. Sin embargo, el TCS puede penetrar en el cuerpo humano por contacto con la piel, las mucosas y el tracto intestinal (Allmyr *et al.*, 2006). Después de una dosis oral única de 4 mg en humanos, alcanza concentraciones máximas en plasma dentro de las primeras 3 horas, se reduce a la mitad tras 21 horas y retorna a niveles basales dentro de los 8 días después de su ingestión (Sandborgh-Englund *et al.*, 2006).

El uso como agente antimicrobiano en desodorantes o cremas hace posible que se produzca la penetración cutánea. Estudios *in vivo* en ratas y humanos pusieron de manifiesto que entre un 21 y un 28 % del TCS era absorbido dérmicamente por las ratas, mientras que para los humanos sólo el 15 % de la cantidad aplicada penetraba en la piel. Dentro del organismo el TCS es transformado por el hígado en su conjugado glucurónido el cual tiene un tiempo de permanencia medio de 4 horas cuando es administrado oralmente a humanos (Moss *et al.*, 2000).

Un problema que se deriva del uso masivo de este compuesto es su descarga continua al ambiente, pues puede producir efectos adversos sobre la flora, la fauna y los microorganismos acuáticos, sobre todo si presenta acumulación en las zonas de descarga. Los principales organismos en los que se ha estudiado su toxicidad son algas, algunas especies unicelulares y peces (p. ej. Brausch & Rand, 2011).

Puesto que las algas comprenden el primer escalón en la pirámide alimentaria, un efecto negativo en ellas puede desembocar en un efecto en cadena dentro de la red trófica. Las algas unicelulares, particularmente las algas verdes y las cianobacterias, son del orden de 30 a 80 veces más sensibles a la exposición a TCS que otros organismos acuáticos. El crecimiento de estas algas es inhibido a concentraciones de TCS comprendidas entre 1.3 y 13 ng·mL<sup>-1</sup> en un tiempo de exposición de 4 días, con una concentración media inhibitoria, conocida como IC<sub>50</sub>, de 4.7 ng·mL<sup>-1</sup>. El estudio realizado por Orvos (2002) mostró que al disminuir la concentración de TCS el crecimiento de las algas se reanudaba, sugiriendo que los organismos se encuentran en un estado latente. Así mismo, descubrieron que el mayor efecto tóxico se produjo sobre la especie *Scenedesmus subspicatus*, dado que este organismo es capaz de transformar químicamente el TCS en 2,4-diclorofenol, de mayor

toxicidad que el compuesto de partida (Tatarazako *et al.*, 2004; Orvos *et al.*, 2002; Brausch & Rand, 2011).

Dentro de los vertebrados, la toxicidad del TCS ha sido estudiada en peces y anfibios principalmente de ríos y lagos. En un estudio inicial el grupo de Orvos (2002) descubrió que las crías de la trucha arcoíris presentaban una disminución de su supervivencia cuando eran expuestas durante un periodo de 35 a 61 días a niveles de TCS del orden de  $71.3 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ . Sin que hubiese diferencia de longitud y peso con respecto a las muestras control, se manifestaron malformaciones en la mandíbula, curvatura de la espina dorsal, inactividad y natación errática, factores que afectan negativamente a la supervivencia. Estimaron también que las concentraciones letales media ( $CL_{50}$ ) del TCS para la carpita cabezona (*Pimephales promelas*) y para la perca (*Lepomis macrochirus*), son del orden de  $260\text{-}440 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Ishibashi (2004) investigó como afecta la presencia del TCS al desarrollo reproductivo del pez medaka (*Oryzas latipes*). Estimaron en  $601 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  la  $CL_{50}$  (24 h) para las larvas, además de observar una reducción y retraso de la eclosión de 14 días. En esta misma línea, Tatarazako (2004) determinó que el pez medaka presentó una disminución del 50 % de sus poblaciones ( $IC_{50}$ ) a concentraciones de TCS del orden de los  $400 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

Con respecto a anfibios, en la rana leopardo (*Rana pipiens*) concentraciones del orden de  $230 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  provocaron alteraciones del sistema nervioso, mientras que en concentraciones 1000 veces inferiores se observó una disminución de peso importante, así como un aumento de mortalidad en las crías (Fraker & Smith, 2004). Para la rana toro (*Rana catesbeiana*) se observaron cambios en la metamorfosis mediada por la hormona tiroidea en presencia de niveles de TCS inferiores a  $150 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$  durante 4 días, traduciéndose en una disminución de peso y un aumento del tamaño de la cola en los renacuajos (Veldhoen *et al.*, 2006).

En ratas los niveles de hormonas tiroideas disminuyen al aumentar la cantidad de TCS inoculado, al igual que sucede en la rana toro. En este caso, los niveles necesarios para observar efectos adversos fueron de  $30 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  por día (Crofton *et al.*, 2007).

Como se mencionó, el uso de TCS, y en general de los contaminantes emergentes, no es reciente, sin embargo hasta hace unos años no era posible detectarlos. El desarrollo de técnicas nuevas y el aumento de sensibilidad en los instrumentos de análisis han permitido cuantificar de manera precisa concentraciones bajas de estos compuestos en diferentes matrices ambientales y así alertar del riesgo potencial que su presencia en el ambiente implica.

### 3.2.7. Métodos de análisis químico del TCS y sus subproductos ambientales.

#### 3.2.7.1.Extracción de la matriz sólida

La agencia de protección ambiental de EE. UU. (EPA) recomienda la extracción Soxhlet para la extracción de compuestos orgánicos semivolátiles y no volátiles de matrices sólidas, sin embargo, esta técnica es relativamente costosa, implica tiempo y trabajo elevados y requiere grandes cantidades de disolventes lo que resulta en cantidades considerables de residuos orgánicos. Por estas razones en los últimos años se ha favorecido el uso de técnicas alternativas que reducen el tiempo, los costos y la cantidad de disolventes. Las principales son la extracción con líquidos presurizados, la extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido (Morales *et al.*, 2005; Burkhardt *et al.*, 2005a; Bossio *et al.*, 2008). La elección del método de extracción depende de su efectividad, costo, facilidad de operación y la producción de desechos (Banjoo & Nelson, 2005).

Como la interacción entre los analitos en matrices sólidas suele ser mucho más intensa que en el caso de las matrices líquidas es necesario emplear técnicas de extracción más energéticas; en consecuencia son técnicas poco selectivas, de modo que muchas veces puede ser necesario realizar etapas posteriores de limpieza (Bossio *et al.*, 2008).

##### 3.2.7.1.1. Extracción asistida por ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido (EAUS) tiene una capacidad de extracción semejante con otros métodos de extracción convencionales, aunque ha sido demostrada tan sólo en un número reducido de grupos de compuestos químicos antropogénicos. La EPA plantea una técnica sencilla de extracción sólido-líquido (EPA, 2007a) en donde la muestra se pone en contacto con un disolvente adecuado y se somete a ultrasonido generado en un baño de agua o por una sonda de ultrasonido, de este modo se produce la agitación continua de la matriz con el disolvente orgánico.

La EAUS es muy particular, ya que favorece tanto la extracción química como la física de los analitos de matrices sólidas. Utiliza sonidos de alta frecuencia con el fin de desprender el compuesto buscado de la matriz sólida. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica formando burbujas de cavitación, éstas pueden aumentar de manera instantánea la temperatura y presión internas causando que el disolvente de extracción se propague hacia el exterior a una velocidad considerable y colisione con

partículas de la matriz sólida. Estas colisiones rompen la matriz y producen partículas más pequeñas, exponiendo así una mayor superficie para la extracción con disolvente (Capelo & Mota, 2005).

Una vez finalizada la etapa de sonicación, la muestra puede ser centrifugada y el sobrenadante se trata de modo adecuado para realizar el análisis. La elección del disolvente es esencial para que el método permita obtener recuperaciones elevadas de los analitos de interés (Fidalgo-Used *et al.*, 2007).

La aplicación general de la EAUS se ha centrado en la extracción de grupos químicos específicos, tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) o clases específicas de plaguicidas. Pocos han sido los trabajos enfocados a otros grupos de compuestos orgánicos. Para los PPCP también se ha reportado un mayor rendimiento en comparación con otras técnicas. Por lo que, para la extracción de contaminantes orgánicos de matrices sólidas, la EAUS es una alternativa conveniente a los otros métodos comúnmente utilizados, como Soxhlet, extracción con líquidos presurizados y extracción asistida por microondas (Bossio *et al.*, 2008).

En algunas ocasiones se ha señalado falta de repetibilidad en la EAUS debido a la distribución no uniforme de la energía (Sosa-Ferrera *et al.*, 2013). Sin embargo se han reportado un gran número de aplicaciones en muestras biológicas, ambientales y alimentos con buenos rendimientos y precisión, y continúan desarrollándose, como lo muestran múltiples revisiones (Tadeo *et al.*, 2010; Picó, 2013; Albero *et al.*, 2015), incluso en aplicaciones industriales de “química verde” (Tiwari, 2015). Como en otras técnicas analíticas, la incorporación de un estándar interno o un subrogado apropiado por lo general mejora significativamente la precisión de los resultados.

Las variables que se deben considerar en la utilización de la técnica de EAUS son: temperatura, disolvente, volumen del disolvente, tiempo de extracción, tamaño de la matriz de extracción, frecuencia del ultrasonido y número de ciclos de extracción. Estas variables han sido evaluadas en numerosos estudios de perfeccionamiento de esta técnica en la extracción de diversos compuestos orgánicos (Banjoo & Nelson, 2005).

Debido a la cavitación que produce la energía ultrasónica hay un aumento de la temperatura que puede provocar la descomposición de algunos analitos lábiles o la pérdida de compuestos volátiles (Picó, 2013; Sosa-Ferrera *et al.*, 2013). Esto se puede prevenir controlando la energía que se aplica y enfriando el recipiente de extracción. En la calidad de los resultados, además del control de los diversos parámetros de operación, también influye



el tipo de equipo utilizado (Tiwari, 2015). Si bien los baños de ultrasonido permiten la extracción simultánea de varias muestras, tienen el inconveniente de que en general no se puede variar la energía ultrasónica aplicada y que la energía se transmite a la muestra a través del agua del baño y el recipiente que la contiene. Otros aparatos, como las sondas de ultrasonido, permiten controlar la energía que se aplica directamente a la muestra y el medio de extracción y los otros parámetros de importancia (Picó, 2013; Albero *et al.*, 2015; Tiwari, 2015).

Durante la optimización de una técnica EAUS de compuestos indicadores de residuos antropogénicos orgánicos, tales como el TCS, fenantreno, Bisfenol A, benzopireno, entre otros, en suelo y sedimentos, Bossio y colaboradores (2008) encontraron que el mayor rendimiento se da al usar una mezcla 80:20 isopropanol:agua y dos ciclos de extracción, el primero a temperatura ambiente y el segundo a 55°C. El rendimiento de extracción reportado para el TCS es de 84.2%. Se realizaba el segundo ciclo a una temperatura elevada porque beneficiaba la extracción de los compuestos con alto peso molecular y baja polaridad. El ciclo de 55°C aumentaba considerablemente el rendimiento de extracción del Bisfenol A, el compuesto menos polar de este estudio (Bossio *et al.*, 2008).

#### 3.2.7.2. Preparación de la muestra

Aunque la elección de los métodos analíticos para la determinación de PPCP depende de las características de los compuestos, la mayoría de los PPCP, incluido el TCS, son analizados por cromatografía de líquidos o cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Pero antes, la muestra debe tener una preparación previa a la cromatografía con el fin de aumentar la concentración de los compuestos analizados, cambiar la matriz de la muestra en el caso de no ser compatible con la cromatografía y/o la separación de otros compuestos que puedan interferir en su determinación.

Algunos métodos de preparación de la muestra a partir de una matriz acuosa son extracción líquido-líquido, extracción en fase sólida y microextracción en fase sólida.

##### 3.2.7.2.1. Microextracción en fase sólida.

La microextracción en fase sólida (MEFS) es una técnica alternativa de preparación de muestra para la extracción de compuestos orgánicos a partir de muestras de agua. Sus ventajas principales son que evita el uso de disolventes orgánicos y minimiza el número de

pasos implicados en la preparación de la muestra. La MEFS es adecuada en combinación con técnicas basadas en cromatografía de gases (Canosa *et al.*, 2005b).

La MEFS es una técnica desarrollada por Belardi y Pawliszyn en 1989 (Pawliszyn, 1997, 2000). En la MEFS se emplea una fibra de sílice fundida recubierta de una fase adsorbente de naturaleza polimérica. En general, los analitos presentes en la muestra no se extraen cuantitativamente en la fibra, sino que se establece un equilibrio entre las fases existentes dentro del vial en donde se lleva a cabo el proceso (Cela *et al.*, 2002).

El proceso de MEFS puede describirse en dos etapas básicas (Cela *et al.*, 2002):

*Etapas de extracción:* migración de los analitos hacia la fibra a partir de la exposición de la fibra a la muestra.

*Etapas de desorción:* los analitos son desorbidos térmicamente o por disolución en la fase móvil del sistema de análisis (cromatógrafo de gases o de líquidos).

La etapa de extracción puede llevarse a cabo en tres modos, y el empleo de uno u otro dependerá de las muestras y/o compuestos analizados (Pawliszyn, 1997):

*Extracción directa o por inmersión:* La fibra está en contacto directo con la muestra líquida (sumergida). Es conveniente cuando las muestras son relativamente sencillas y los analitos poco volátiles, como en la extracción de compuestos orgánicos de muestras de agua.

*Extracción en espacio de cabeza (head space, HS por sus siglas en inglés):* La fibra es expuesta al espacio existente dentro del vial sobre la muestra. Los analitos que se volatilizan son los que pasan al recubrimiento de la fibra. Es adecuado para compuestos volátiles y en matrices que han sufrido tratamientos drásticos (modificaciones de pH, digestiones ácidas o básicas, etc.).

*Extracción a través de una membrana:* Se coloca una membrana entre la fibra y la muestra para evitar el deterioro que se puede producir al analizar muestras complejas en la modalidad de inmersión. El inconveniente es que de esta forma se ralentiza la cinética del proceso por la existencia de una barrera física entre la muestra y la fibra.

Los tres modos de MEFS se esquematizan en la Figura 3.7.



Figura 3.7. Modos de muestreo en MEFS: a) muestreo HS, b) muestreo por inmersión y c) con membrana. Tomado de Castillo, 2009.

Las condiciones de operación más importantes que afectan a la capacidad de extracción de la MEFS son (Pawliszyn, 1997):

*Temperatura.* Afecta a la cinética de extracción. Al aumentar la temperatura se acelera la transferencia desde la matriz hacia la fibra, haciendo que la cinética sea más rápida, aunque en condiciones de equilibrio, al ser la MEFS un proceso exotérmico, disminuye la cantidad de analito incorporada en la fibra.

*Tiempo de extracción.* Como la MEFS es una técnica de equilibrio entre las fases existentes, entre mayor sea el tiempo de extracción mayor será la cantidad recuperada en la fibra, hasta alcanzar el equilibrio. Sin embargo estos tiempos son demasiado prolongados y en la práctica se utilizan tiempos menores que el necesario para alcanzar el equilibrio. Se debe tener cuidado de fijar y controlar un tiempo para un método dado a fin de obtener una repetibilidad aceptable.

*Fuerza iónica.* La adición de sales (NaCl, KCl, etc.) provoca un aumento de la fuerza iónica, se reduce así la solubilidad de los analitos hidrofóbicos y por consiguiente aumenta la

migración hacia la fibra. En general, la masa de analito extraída aumenta con la fuerza iónica, aunque cuando la concentración de sal es muy elevada puede provocar el efecto contrario para ciertos compuestos.

*pH.* En compuestos ionizables, la solubilidad de los compuestos será dependiente del pH. Para obtener la máxima extracción, se ha de trabajar a un pH de la muestra dos unidades por debajo del pKa en caso de compuestos ácidos ( $HA/A^-$ ) y dos unidades por encima en caso de las bases neutras ( $B/HB^+$ ).

*Volumen de la muestra.* En general, la cantidad de analito en la fibra aumenta con el volumen de muestra hasta que se logra la saturación de la fibra, lo que dependerá del coeficiente de reparto. A partir de ese momento, la eficacia de extracción no aumenta con el volumen de la muestra. En cualquier caso es muy poco habitual usar volúmenes de muestra por encima de 100 mL.

*Volumen de espacio de cabeza.* Cuando se usa la modalidad HS, la capacidad de extracción estará influenciada por este volumen. Entre menor sea el espacio mayor será la extracción, por efecto de dilución de los compuestos volátiles en la fase gaseosa dentro del vial. Además, a menor tamaño del espacio de cabeza más rápida es la cinética del proceso de extracción.

*Agitación de la muestra.* La agitación favorece la migración de los analitos que se encuentran en la matriz acuosa hasta la fibra, acelerando la cinética de extracción. La influencia de la agitación es especialmente significativa cuanto mayor sea el peso molecular de los compuestos y sobre todo cuando se opera en la modalidad de muestreo por inmersión.

*Adición de disolvente.* La adición de disolventes orgánicos a muestras acuosas normalmente reduce la cantidad de analito extraída. Sin embargo, para muestras sólidas aumenta la eficacia de extracción, ya que favorece la difusión de los analitos desde la matriz a la fibra.

Canosa y su equipo (2005b) desarrollaron la optimización de la técnica de MEFS en muestras de agua para el TCS y algunos de sus compuestos de degradación, entre ellos el MTCS. Determinaron que la agitación era el factor más importante en el rendimiento de extracción fijándolo en 500 rpm con agitador magnético. No encontraron una influencia significativa del pH aunque en su técnica lo mantuvieron en 4.5. En dos horas de extracción no se llegaba al equilibrio, pero por razones de rapidez en esta etapa de preparación de la muestra, el tiempo de extracción se planteó en 30 min. El volumen de la muestra limita la agitación por lo que sugieren que no sea mayor a 22 mL. Encontraron que los mejores

materiales de fibra eran poliacrilato (PA) y poli(dimetilsiloxano-divinilbenceno) (PDMS/DVB), aunque con la de PA se obtiene mejor repetibilidad frente a la de PDMS/DVB. Bajo estas condiciones se logra un límite de detección de  $10 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ .

De igual forma, Castillo (2009) realizó una optimización de la MEFS para algunos PPCP que incluían ibuprofeno, clorofeno, naproxeno, TCS y bisfenol A. La técnica que se planteó fue con un tiempo de extracción de 30 minutos. En cuanto a la temperatura, el TCS tenía su máximo de extracción a los  $40^\circ \text{C}$ .

#### 3.2.7.2.2. Formación de derivados

La derivación es una operación orientada hacia la transformación de los analitos en otras especies más compatibles con la técnica de determinación o que presenten mejores características para su detección.

En el caso de usar técnicas cromatográficas en la etapa de determinación, los objetivos concretos de los procesos de derivación son (Cela *et al.*, 2002):

1. Mejorar la estabilidad térmica de los analito.
2. Mejorar la resolución cromatográfica entre picos.
3. Modificar indirectamente la sensibilidad del detector, introduciendo en las moléculas grupos orgánicos adecuados que incrementan su respuesta.

Los compuestos que contienen grupos polares en sus estructuras (como el TCS) deben ser derivados para mejorar la calidad de las separaciones en la cromatografía. La derivación se puede realizar en la muestra acuosa o en la fibra de MEFS después de la etapa de concentración. Se prefiere la segunda opción cuando se emplean reactivos de derivación sensibles al agua, tales como el diazometano o agentes silanizantes (Canosa *et al.*, 2005b).

##### 3.2.7.2.2.1. Silanización

La silanización es la reacción de derivación más adecuada al determinar sustancias con protones ácidos por cromatografía de gases. Mediante la formación del enlace silicio-oxígeno se bloquean las interacciones dipolo-dipolo y puentes de hidrógeno, reduciendo la polaridad de aquellas especies con grupos hidroxilos o carboxilos (Blau, 1993). Algunos autores han seleccionado esta reacción utilizando diversos agentes silanizantes entre los que destacan la

N,N-dietiltrimetilsililamina, la N,O-bis-(trimetilsilil)trifluoroacetamida, la N-metil-N-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida y la N-(tertbutildimetilsilil)-N-metiltrifluoroacetamida. (Mc Avoy *et al.*, 2002; Quintana *et al.*, 2007; Canosa *et al.*, 2005b).

En el trabajo de optimización de MEFS de Canosa (2005b), como en muchos estudios previos, se utiliza N-(tertbutildimetilsilil)-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA) como mejor opción de compuesto silanizante para el TCS. La silanización se realiza “*in situ*”, es decir, se lleva a cabo sobre la fibra de MEFS en modo HS después de concluido el proceso de extracción. Se evaluó la cantidad de silanizante, la temperatura, el tiempo, así como otros factores del proceso, sin encontrar diferencia entre los valores estudiados, por lo que por razones prácticas se fijaron los valores mínimos. Se determinó que el proceso de derivación se puede realizar por HS con 20  $\mu\text{L}$  de MTBSTFA a temperatura ambiente por 10 minutos sin encontrar trazas de TCS no derivado en la cromatografía de gases (Canosa *et al.*, 2005b).

### 3.2.7.3. Cromatografía de gases-Espectrometría de masas

La técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) es ampliamente utilizada para el análisis de compuestos orgánicos a niveles traza, incluidos los PPCP. En el proceso de cromatografía los compuestos son separados de acuerdo a sus afinidades por la fase estacionaria en la columna, mientras que la espectrometría de masas se emplea para la detección, cuantificación e identificación de cada uno de los analitos que se eluyen de la columna. La identificación de un compuesto se logra con la comparación del tiempo de retención frente al de un estándar y con el análisis de su espectro de masas. La cuantificación se obtiene relacionando la respuesta de un ion seleccionado para cada compuesto de la muestra contra las respuestas de una calibración de concentraciones conocidas (Amézquita & Mendoza, 2008).

La CG-EM es amplia y preferentemente utilizada para la determinación de PPCP. Así mismo, diversos estudios dedicados al estudio del TCS y subproductos optan por esta técnica. Por ejemplo, Aranami y colaboradores (2007) emplean este método utilizando una columna de metil 5% fenil polisiloxano de 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$  y helio como gas de arrastre con un flujo de  $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Las muestras eran introducidas en un inyector a  $280^\circ\text{C}$ . La columna comenzaba en  $40^\circ\text{C}$  durante 1 min y posteriormente alcanzaba los  $280^\circ\text{C}$  con una rapidez de calentamiento de  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . El tiempo de retención para la DCDD fue de 18.2 min y de 19.7 min para el TCS. Estas condiciones son muy similares a la técnica de este estudio y, en

general, no varían considerablemente a otras técnicas cromatográficas usadas para este compuesto (Canosa *et al.*, 2005a; Sanchez-Prado *et al.*, 2006; Aranami & Readman 2007; Chen *et al.*, 2011).

### 3.3. PENÍNSULA DE YUCATÁN

La Península de Yucatán (PY) es una plataforma de rocas caliza, dolomía y evaporita que alcanza espesores mayores a 1500 m, situada en la parte superior de las rocas ígneas y metamórficas. Tiene una superficie de unos 165 000 km<sup>2</sup> que comprende los Estados de Campeche, Yucatán, Quintana Roo y partes de Tabasco, así como la parte norte de Belice y una región del norte Guatemala (Weidie, 1985; Bauer-Gottwein *et al.*, 2011).

La constitución del suelo de la PY hace muy costosa la implementación de redes de recolección de aguas residuales. Casi el 80% del total de viviendas del Estado de Yucatán desechan sus aguas residuales en fosas sépticas (INEGI, 2010), con frecuencia mal diseñadas y sin mantenimiento, incluso se vierten en pozos someros abandonados en donde los excedentes derraman y se infiltran hacia el acuífero. Así mismo, las aguas residuales y los desechos sólidos son depositados sin tratamiento apropiado en cuevas y cenotes abandonados, donde los lixiviados al igual son una fuente de contaminación del acuífero. Los desechos industriales y clínicos se inyectan directamente en pozos profundos. En los centros urbanos el agua pluvial es introducida en el acuífero mediante pozos de absorción de 15 a 18 metros de profundidad. Todo esto ocasiona que la fuente de contaminación del manto freático sea mayor en las zonas con una alta concentración de población (Escolero *et al.*, 2000; Pacheco *et al.*, 2001).

El Estado de Yucatán tiene una población de poco más de 1.9 millones de habitantes en donde el agua subterránea es la única fuente de agua para consumo y uso humano, industrial y ganadero. La recolección directa de agua de lluvia para almacenamiento y uso posterior es insignificante.

En el municipio de Mérida, a 36 km de la costa, está localizada el 42.5% de la población del Estado de Yucatán. El resto de la población se encuentra distribuida en 106 municipios (2506 localidades) del Estado de Yucatán (INEGI, 2010).

La comisión nacional del Agua (CONAGUA) reportó en 2008 un volumen oficial de extracción de agua en la PY de 75.1 m<sup>3</sup> por segundo, o 1.63 m<sup>3</sup> por día *per cápita*. La extracción total del agua subterránea es equivalente a 1.4 % del promedio anual de precipitación.

Los datos de CONAGUA reportan que del total de agua extraída, 61% es destinada para agricultura, 20% para uso doméstico y 19% para uso industrial. No obstante, la extracción del agua subterránea es relativamente baja en comparación con la disponibilidad de este recurso y su escasez no representaría un problema serio en la PY. Sin embargo, las características geológicas, como su alta permeabilidad, hacen vulnerable el manto freático a la contaminación, pues facilita la infiltración y el arrastre de contaminantes hacia el acuífero (Dobson *et al.*, 2000).

### 3.3.1. Características del acuífero.

Al final del cretácico, un asteroide de unos 10 km de diámetro cayó sobre la PY. Se generó un cráter de ~200 kilómetros, llamado el cráter de Chicxulub, su centro quedó ubicado cerca de la actual costa de Yucatán en el Golfo de México, aproximadamente a 21.4°N, 89.52°W, lo que provocó que las propiedades hidrogeológicas del subsuelo fueran modificadas por el impacto de este meteorito hace 65 millones de años. El contorno del cráter se caracteriza por una zona de fractura con una alta densidad de dolinas conocida como el "Anillo de Cenotes". Los cenotes son comunes en toda la península pero la distribución de los cenotes varía significativamente (Bauer-Gottwein *et al.*, 2011).

La PY se encuentra prácticamente al nivel del mar, con elevaciones máximas de 30 m, exceptuando a la Sierrita de Ticul la cual alcanza unos 275 m sobre el nivel del mar. Por sus características geológicas, la escorrentía del agua superficial y el drenaje son prácticamente inexistentes, excepto en las partes meridionales de la PY. El almacenamiento y el flujo de aguas subterráneas se producen en los principales sistemas de cuevas, cavidades y conductos alojados en el acuífero kárstico, que incluyen los sistemas de cuevas subacuáticas más grandes del mundo (Bauer-Gottwein *et al.*, 2011).

Los procesos que regulan la recarga/descarga del acuífero son el flujo y descarga hacia las costas, la extracción para uso humano y la evapotranspiración freática. Se ha estimado un promedio de recarga del manto freático que tan sólo equivale al 17% del promedio anual de precipitación (Lesser, 1976; Gondwe *et al.*, 2010).

Una característica importante de la hidrogeología de Yucatán es su alta permeabilidad y la intrusión marina que es extensa en el acuífero kárstico y llega a decenas de kilómetros tierra adentro, incluso más de 90 km. Ello determina que el uso de las aguas subterráneas esté



limitado a una lente de agua dulce relativamente delgada (<10-100 m de espesor; Bauer-Gottwein *et al.*, 2011).

### 3.3.2. La Zona Metropolitana de Mérida.

Esta Zona es encabezada por el municipio de Mérida y 6 municipios circunvecinos. Cuatro reconocidos oficialmente por la Secretaría de Desarrollo Social (SEDESOL): Conkal, Kanasín, Ucú y Umán. La Secretaría de Desarrollo Urbano y Mejoramiento del Ambiente (SEDUMA) del Estado considera dos más, adicionados por su interacción, dinámica y cercanía a esta Zona: Progreso y Tixpéhual (Figura 3.8). Tiene poco más de un millón de habitantes (1, 017,226), el 52% de la población del Estado (INEGI, 2010).

Concentra la mayoría de las actividades de servicios en los que el turismo tiene un papel importante. Es la principal generadora de basura y aguas residuales domésticas, y por ello de descarga de contaminantes urbanos hacia el acuífero. En las áreas rurales de la Zona predominan las actividades relacionadas con avicultura y la porcicultura.

Tiene un clima semiseco muy cálido y subhúmedo con lluvias en verano con precipitaciones totales anuales que rondan los 1000 mm. El suelo es mayoritariamente de roca sedimentaria caliza del periodo Neógeno y el Leptosol es dominante. Tiene un sistema de topofomas de llanura rocosa de piso rocoso o cementado.

La geohidrología de la Zona Metropolitana divide el área norcentral del Estado en tres zonas: recarga, tránsito y descarga. Tiene como rasgo característico la presencia de un segundo anillo de cenotes que tiene importancia pues permite una filtración más rápida y forma un corredor de desagüe hacia el mar (Figura 3.9). Las áreas de mayor concentración poblacional se encuentran en zona de tránsito, lo que significa que el agua captada al sur de la Zona Metropolitana pasa a través de ellas en su recorrido hacia el mar. Si sumamos que de las aguas residuales se disponen por medio de fosas sépticas el 39.29% y en sumideros el 55.93%, es claro que hay un riesgo elevado de afectar la calidad de agua, tanto la que se suministra a la Zona como la que descarga en la costa (SEDUMA, 2010).

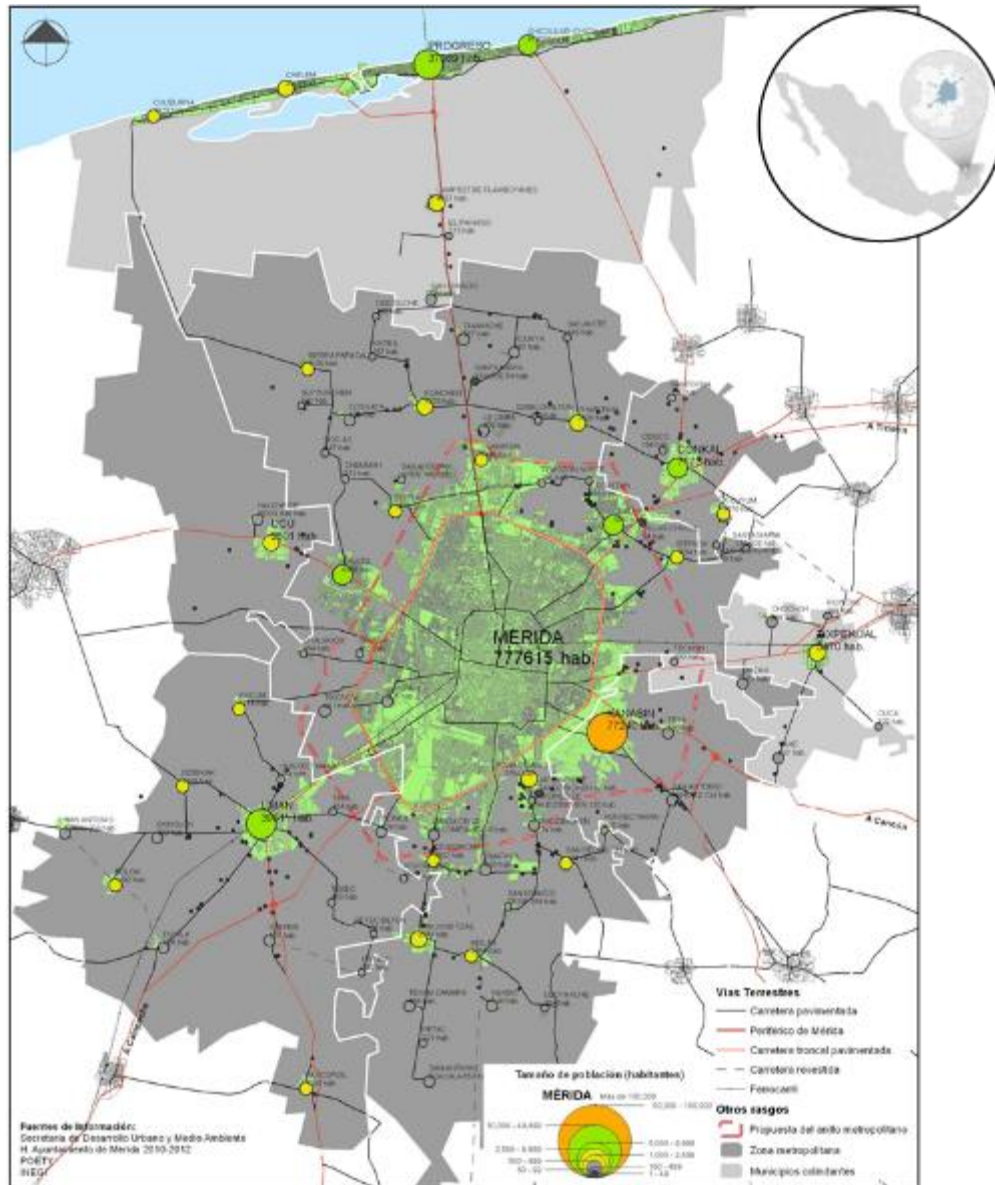


Figura 3.8. Localización de la Zona Metropolitana de Mérida y los municipios que la integran. (Tomado de SEDUMA, 2010).

### 3.3.3. La zona costera del Estado de Yucatán.

El litoral correspondiente al Estado de Yucatán mide 360 km de longitud, comenzando a partir del estero de Celestún, cuya boca o entrada, en la cual se encuentra el Real de Salinas, pertenece hoy al Estado de Campeche, y termina en las Bocas de Conil, límite con el Estado de Quintana Roo ([www.yucatan.gob.mx](http://www.yucatan.gob.mx)).

La zona costera está formada por más de 250 000 ha de humedales entre cuerpos de agua lagunares, manglares, petenes, pastizales y selvas inundables protegidos por un largo cordón de 15 000 ha de islas de barrera, con porciones muy frágiles. Tiene 461 km de bordes lagunares, las playas de arena corresponden 295 km y el resto se ubica en zonas erosionadas o en partes de alta fragilidad en las islas de barrera. El clima en la porción poniente y central de la zona costera es semiárido seco y en la porción oriental es cálido, subhúmedo, con lluvias en verano ([www.yucatan.gob.mx](http://www.yucatan.gob.mx)).

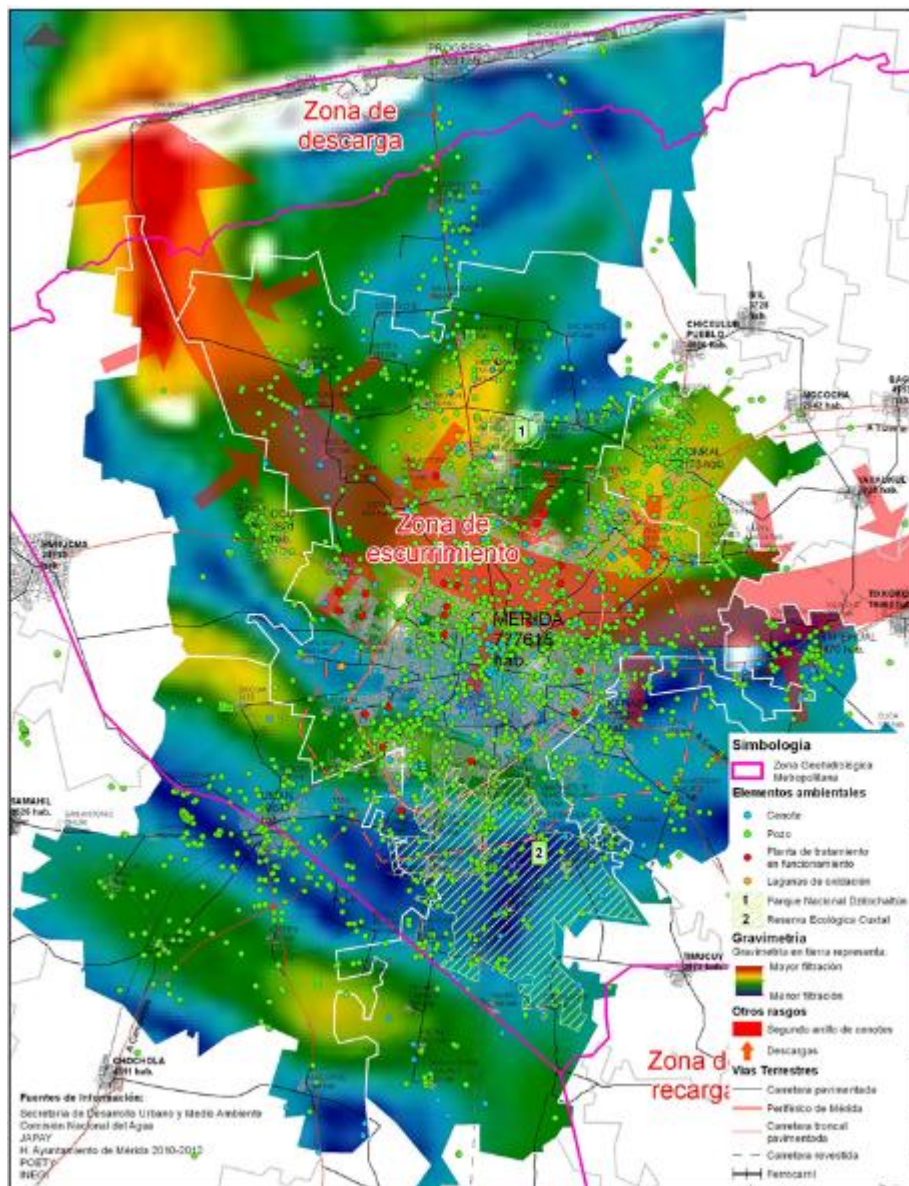


Figura 3.9. Geohidrología de la Zona Metropolitana de Mérida. (Tomado de SEDUMA, 2010).

Los humedales son ecosistemas de gran importancia por su biodiversidad y por los servicios ambientales que prestan: transformación de desechos químicos y biológicos, amortiguamiento a inundaciones, estabilización de la línea de costa, producción de nutrimentos y refugio de aves migratorias, entre otros. Una característica de estos sistemas en Yucatán es la descarga de agua dulce del acuífero tanto en forma difusa a través de las grietas del subsuelo como en forma puntual en múltiples manantiales; en la Figura 3.10 se muestra un diagrama conceptual de las lagunas costeras de Yucatán. Los manantiales, que incluso se encuentran en la zona marítima de la costa, son desembocaduras de los ríos subterráneos que comunican a los cenotes entre sí.



Figura 3.10. Diagrama conceptual de las lagunas costeras de Yucatán (Tomado de Herrera-Silveira & Morales-Ojeda, 2010).

## 4. DETERMINACIÓN DE TRICLOSÁN. IMPLEMENTACIÓN Y VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA DE ANÁLISIS

### 4.1. INTRODUCCIÓN

Como se mencionó en la sección de antecedentes, la extracción de contaminantes orgánicos, tanto de sedimentos como de agua, generalmente se realiza por extracción con disolventes. Si bien este tipo de extracciones en general son eficientes, presentan desventajas en tiempo, estrés térmico de la muestra y generación de disolventes residuales (Banjoo & Nelson, 2005). Como en general los estudios ambientales requieren de procesar un número grande de muestras, se justifica el interés por desarrollar procedimientos que reduzcan estas desventajas, particularmente el consumo de disolventes orgánicos y los tiempos en la preparación de la muestra.

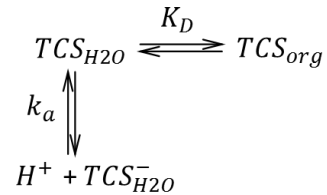
La MEFS ha probado que es una técnica plausible para la extracción de compuestos orgánicos de muestras de agua, pues en una misma operación se logra la extracción y concentración de los analitos de interés sin la generación de residuos (Canosa *et al.*, 2005b). Sin embargo, aplicar esta técnica para la extracción de muestras sólidas no es tan directo y se requiere un paso previo de extracción de los analitos hacia un medio acuoso y de ahí hacia la microfibra. Esto se puede realizar en operaciones sucesivas o de manera simultánea utilizando una barrera física permeable a la fase líquida pero que impida el contacto directo entre la muestra sólida y la microfibra para evitar su deterioro por abrasión o adherencia de las partículas (Pawliszyn, 1997). Por otra parte, también se ha demostrado que la extracción asistida con ultrasonido favorece los procesos de extracción (Bossio *et al.*, 2008).

Para este trabajo se planteó la posibilidad de combinar ambas técnicas, realizando primero una extracción acuosa del TCS en las muestras de sedimento utilizando la EAUS y después una reextracción del TCS del extracto acuoso por medio de la MEFS. El extracto así obtenido se puede analizar por cromatografía de gases-espectrometría de masas, previa formación *in-situ* del derivado silanizado.

## 4.2. MARCO TEÓRICO

### 4.2.1. Equilibrio condicional del triclosán.

Si se considera un sistema constituido por una fase orgánica y una fase acuosa, el TCS presenta fundamentalmente dos equilibrios simultáneos:



Donde:

$$K_D = \frac{|TCS|_{org}}{|TCS|_{H_2O}}$$

$$k_a = \frac{|H^+||TCS^-|_{H_2O}}{|TCS|_{H_2O}}$$

$|TCS|_{org}$  y  $|TCS|_{H_2O}$  son las concentraciones de TCS en la fase orgánica y en la fase acuosa respectivamente.

$|TCS^-|_{H_2O}$  es la concentración de la forma básica (disociación del  $H^+$  del fenol) en agua, forma que no existe en la fase orgánica ya que en un medio apolar no existe disociación.

$K_D$  es la constante de distribución del TCS entre las fases.

$k_a$  es la constante de disociación ácida del TCS.

Omitiendo por simplicidad el subíndice  $H_2O$ , la concentración total de TCS en la fase acuosa está dada por:

$$|TCS'| = |TCS| + |TCS^-|$$

$$|TCS'| = |TCS| + \frac{k_a|TCS|}{|H^+|}$$

$$|TCS'| = |TCS| \left[ 1 + \frac{k_a}{|H^+|} \right]$$

Donde  $|TCS'|$  es la concentración total o condicional de TCS en la fase acuosa. Se puede definir entonces una constante aparente o condicional de distribución ( $K'_D$ ):

$$K'_D = \frac{|TCS|_{org}}{|TCS'|} = \frac{|TCS|_{org}}{|TCS|} \frac{1}{1 + (k_a/|H^+|)}$$

$$K'_D = \frac{K_D}{1 + (k_a/|H^+|)}$$

Que corresponde al equilibrio condicional:



Con base en este modelo se puede analizar el rendimiento de extracción tanto en la extracción del sedimento como en la microextracción posterior.

#### 4.2.2. Extracción del TCS del sedimento con un medio acuoso.

A partir del modelo anterior se puede expresar la concentración total de TCS en la fase acuosa como:

$$|TCS'| = \frac{|TCS|_{org}}{K'_D} = \frac{|TCS|_{org}[1 + (k_a/|H^+|)]}{K_D}$$

Es razonable asumir que el TCS en el sedimento se encuentra en la MO y no en la matriz inorgánica.  $K'_D$  puede entonces expresarse en función de la cantidad de analito en cada fase ( $n_{org}$  y  $n_{ac}$ ) y de la dimensión de cada fase ( $V_{ac}$ , volumen del medio acuoso extractante y  $m_{org}$ , masa de MO en el sedimento):

$$K'_D = \frac{|TCS|_{org}}{|TCS'|} = \frac{n_{org}}{n_{ac}} \times \frac{V_{ac}}{m_{org}}$$

Así, el rendimiento de extracción está dado por:

$$\%R_{ac} = 100 \times \frac{n_{ac}}{n_{ac} + n_{org}} = 100 \times \frac{1}{1 + \frac{n_{org}}{n_{ac}}} = \frac{100}{1 + \frac{n_{org}}{n_{ac}}} = \frac{100}{1 + K'_D \frac{m_{org}}{V_{ac}}}$$

$$\%R_{ac} = \frac{100}{1 + \left[ \frac{K_D}{1 + \left( \frac{k_a}{|H^+|} \right)} \right] \frac{m_{org}}{V_{ac}}} = \frac{100}{1 + \left[ \frac{K_D}{1 + 10^{(pH-pka)}} \right] \frac{m_{sed} \times \%m_{org}}{V_{ac} \times 100}}$$

Como puede verse en esta última expresión, el rendimiento de extracción del TCS del sedimento hacia la fase acuosa se ve afectado por el pH, el volumen del extractante, la cantidad de sedimento extraído ( $m_{sed}$ ) y el porcentaje de MO en el sedimento ( $\%m_{org}$ ).

#### 4.2.3. Uso de cosolventes.

La ad/absorción de los compuestos orgánicos en una matriz compleja como son los suelos y sedimentos es un fenómeno asimismo complejo. Su extracción hacia el agua no sólo depende de las características de los equilibrios involucrados. La composición y estructura del sedimento determinan otras propiedades tanto cinéticas como termodinámicas que pueden impedir el transporte del analito del sedimento hacia el agua, aun cuando el equilibrio de distribución sea favorable para la extracción. Por ejemplo, si el analito se encuentra en el sedimento en forma no ionizada se encontrará preferentemente en la MO. Si ésta es suficientemente hidrofóbica no se formará una interfase entre la MO y el agua que permita el transporte de los analitos entre los dos medios. La “cosolvencia” es un término utilizado para referirse al efecto que tiene la adición de un disolvente orgánico al agua en estas propiedades. El cosolvente modifica tanto la estructura de la MO en los sedimentos como las propiedades de transporte (difusión) de los analitos (Rao, *et al.*, 1991; Della Site, 2001)

El cosolvente orgánico debe ser miscible con agua y presentar interacciones con el analito de interés y la MO. Una buena elección es el acetonitrilo (ACN). Los efectos de su adición al medio acuoso de extracción son múltiples. Además de los mencionados también está la modificación de la constante dieléctrica del medio ( $\epsilon$ ), que provoca cambios en la disociación ácida del TCS (cambio del valor de pKa) (Charlot y Tremillón, 1963). Los valores de  $\epsilon$  para las mezclas de agua y ACN se pueden estimar con modelos que han sido reportados (p. ej. Gagliardi *et al.*, 2007).

Además, cambia la solubilidad por el cambio tanto en las fuerzas más generales de interacción molecular (momento dipolo, puentes hidrógeno, etc.) como porque puede presentar interacciones específicas entre el grupo nitrilo y los electrones  $\pi$  del sistema aromático del TCS. Es posible estimar el efecto de la adición del cosolvente en los valores de la constante de distribución ( $K_D$ ) y del pKa con alguno de los modelos de predicción basados en las interacciones moleculares inicialmente propuesto por Rohrschneider y que han sido ampliamente utilizados para clasificar disolventes y calcular el efecto del disolvente en diversos parámetros fisicoquímicos (ver p. ej. Lessellier, 2015) y extendido por Hansen



(Hansen, 1967; The Official Hansen Solubility Parameter Site, s.f; Pirika, Chemistry site, s.f.). En mezclas de disolventes el parámetro de solubilidad ( $\delta$ ) es proporcional a la composición volumétrica de la mezcla:

$$\delta_{mezcla} = \varphi_{ACN}\delta_{ACN} + \varphi_{H2O}\delta_{H2O}$$

Donde  $\varphi$  es la fracción volumétrica y  $\delta$  es el parámetro de solubilidad de Hansen que resulta de la combinación de los parámetros de las fuerzas de interacción de dispersión ( $\delta_d$ ), polares ( $\delta_p$ ) y ácido base ( $\delta_h$ ):

$$\delta^2 = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2$$

A partir de los valores de  $\delta_{mezcla}$  y de manera similar a la propuesta de Snyder (Snyder y Kirkland, 1979) el cambio en el valor de  $K_D$  al modificar la composición del medio se puede estimar con la relación:

$$K_{D,mezcla} \sim K_{D,H2O} \times 10^{(\delta_{mezcla} - \delta_{H2O})/3.5}$$

Debe resaltarse que éstas son aproximaciones gruesas, los fenómenos que determinan la solubilidad son complejos y multifactoriales. No incluyen el efecto de la interacción del cosolvente con la MO de los sedimentos tanto en su estructura como en sus propiedades fisicoquímicas, por ejemplo la tensión superficial o la viscosidad. Aun así, son útiles para generar un esbozo razonable de lo que se puede esperar al incluir un cosolvente en el medio de extracción.

#### 4.2.4. Microextracción del TCS del extracto acuoso de los sedimentos.

Para el caso de la microextracción del TCS en el extracto acuoso con una fibra apolar el modelo de equilibrio condicional es el mismo y se pueden desarrollar las ecuaciones correspondientes de manera similar al caso anterior:

$$\%R_{MEFS} = 100 \frac{\left[ \frac{K_D}{1 + 10^{(pH-pka)}} \right] \frac{m_{fib}}{V_{ac}}}{1 + \left[ \frac{K_D}{1 + 10^{(pH-pka)}} \right] \frac{m_{fib}}{V_{ac}}}$$

Alternativamente el rendimiento de extracción hacia la fibra se puede calcular como  $\%R_{MEFS} = 100 - \%R_{ac}$ ,  $\%R_{ac}$  ahora está dado por:

$$\%R_{ac} = \frac{100}{1 + \left[ \frac{K_D}{1 + 10^{(pH-pka)}} \right] \frac{m_{fib}}{V_{ac}}}$$

Donde  $m_{fib}$  es la cantidad de fase orgánica en la microfibra.

#### 4.2.5. Análisis del efecto de los parámetros experimentales sobre los rendimientos de extracción.

El efecto sobre  $\%R_{ac}$  (extracción de sedimentos),  $\%R_{MEFS}$  (MEFS del extracto acuoso) y  $\%R_{global}$  (extracciones sucesivas EAUS-MEFS) de las diferentes variables se muestra en las Figuras 4.1 a 4.3, con base en las siguientes condiciones y consideraciones:

Extracción del sedimento:

$\log K_D \cong \log K_{OC} = 4.3$ .

Masa de sedimento que se extrae: 0.5 g,

Volumen de disolvente de extracción: 15 mL,

Porcentaje de MO: 2%,

Microextracción en fase sólida:

Volúmenes de extracto acuoso que se extrae con la microfibra: 10 mL,

Masa del medio de extracción de la microfibra: 0.000357 g, corresponde a una microfibra de PDMS/DVB de 1 cm de longitud y un espesor de película de 65  $\mu\text{m}$  (Mani, 1999).

Efecto del ACN como cosolvente:

Valores de  $\delta$  para el agua y el ACN: 47.8  $\text{MPa}^{1/2}$  y 24.4  $\text{MPa}^{1/2}$ , respectivamente.

Intervalo de concentración del ACN: 0% - 10%. Puesto que el objetivo de este trabajo es realizar la extracción acuosa y como el efecto del cosolvente es contrario en cada etapa (EAUS y MEFS) sólo son de interés las proporciones bajas.

Se puede observar que en la extracción de los sedimentos (Figura 4.1) el pH tiene un efecto significativo y debe ser mayor al pKa del TCS al menos en una unidad. La adición de ACN en general favorece la extracción. Cuando el pH es mayor que el pKa en 2 unidades o más el

efecto del ACN sobre el equilibrio de extracción es poco apreciable. Cuando el pH es cercano al pKa o menor la adición de ACN aumenta apreciablemente el rendimiento.

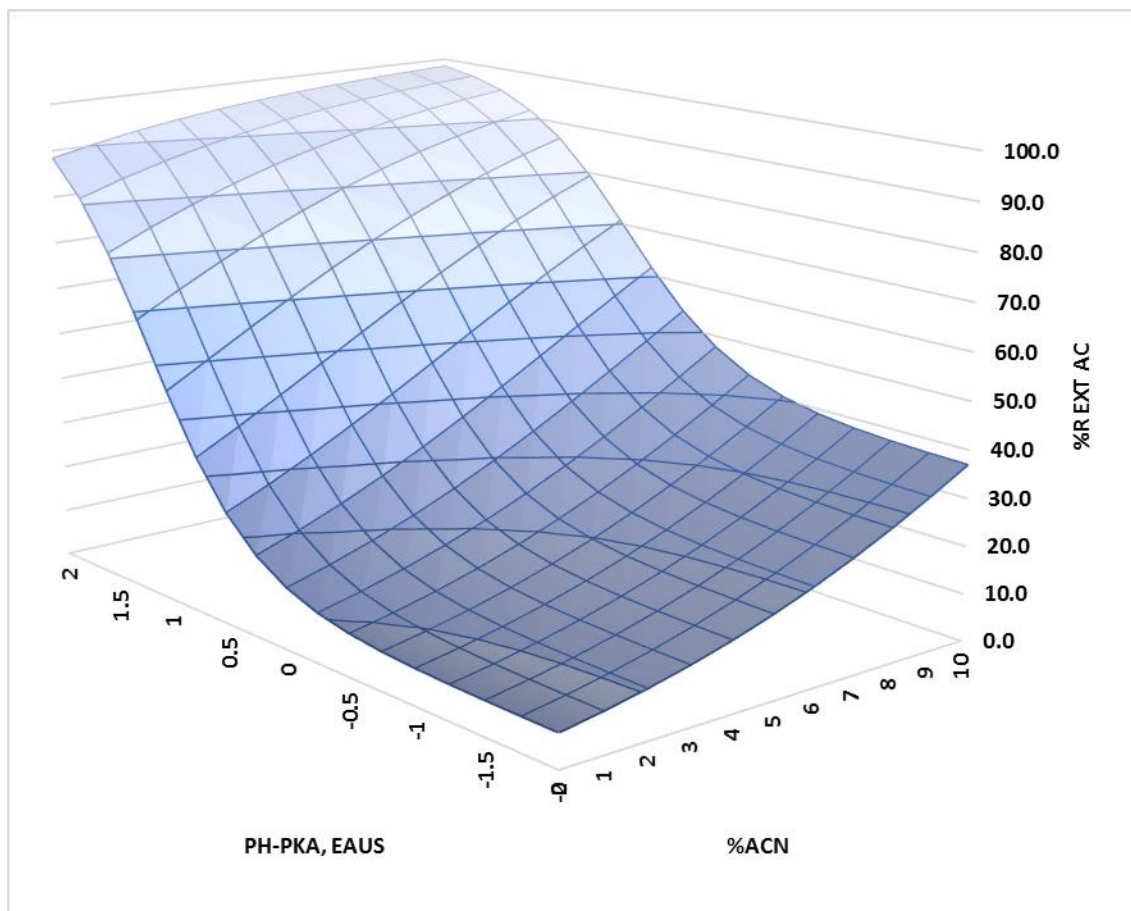


Figura 4.1. Variación del rendimiento de extracción de TCS de sedimentos con mezclas agua:ACN calculado con el modelo propuesto. Las condiciones se describen en el texto. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 0.25 unidades de pH-pKa, 1 unidad de %ACN y 10 unidades de %R.

En el caso de la microextracción (Figura 4.2) se aprecia que el pH debe ser menor que el pKa del TCS en al menos una unidad y que aumentar la proporción de ACN reduce de los rendimientos de la extracción. Aún sin la adición de un cosolvente el rendimiento de extracción está limitado a ~40% por la capacidad de la microfibra.

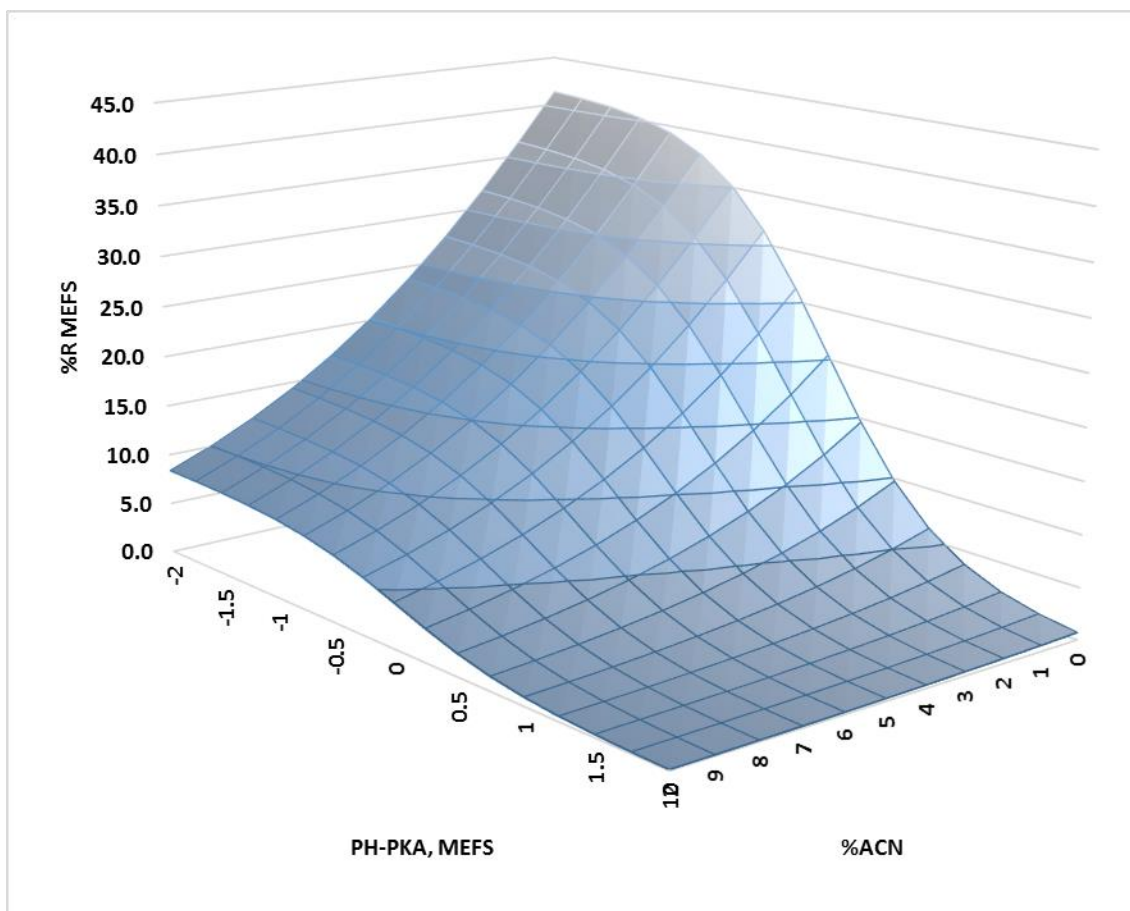


Figura 4.2. Variación del rendimiento de la microextracción de TCS del extracto acuoso de sedimentos con mezclas agua:ACN calculado con el modelo propuesto. Las condiciones se describen en el texto. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 0.25 unidades de pH-pKa, 1 unidad de %ACN y 5 unidades de %R.

Es importante señalar que como el efecto del pH es contrario en cada etapa es necesario ajustarlo a valores distintos: mayor al pKa en la extracción del sedimento y menor en la microextracción posterior. También el efecto de la adición de ACN es contrario en cada tipo de extracción. Reducir la cantidad de ACN en la mezcla entre una y otra extracción no es tan simple como modificar el pH, ya que eliminarlo por evaporación es un proceso que consume un largo tiempo y si se hace con calentamiento somete el extracto a estrés térmico. Así, la cantidad de ACN en la mezcla debe limitarse a proporciones bajas, 5% o menos.

#### 4.2.6. Rendimiento de extracción global.

Parecería que la conclusión obvia sería la de realizar ambas extracciones sólo con agua y modificar el pH del medio a valores de 2 unidades por encima del pKa en la EAUS y 2 por debajo para la MEFS. Pero cabe señalar nuevamente que la razón para añadir un cosolvente orgánico es para reducir el efecto hidrofóbico de la MO que inhibe el transporte de los analitos hacia el agua.

Si, como es práctico, se mantiene la misma proporción de ACN en ambas extracciones, el efecto contrario que tiene sobre los rendimientos resulta en que habrá un valor de proporción de ACN que ofrezca el rendimiento global de extracción máximo.

El rendimiento de extracción global que resulta de realizar de manera sucesiva la extracción de los sedimentos con un medio acuoso y la reextracción del extracto con MEFS se pueden calcular como el producto de los rendimientos individuales:

$$\%R_{global} = \frac{\%R_{ac} \times \%R_{MEFS}}{100}$$

En la Figura 4.3 se ilustra el efecto de la adición de ACN en el rendimiento global. Se fijó un valor de pH-pKa= 0.75 en el cálculo del  $\%R_{ac}$ , que es un punto intermedio del intervalo donde el incremento del  $\%R_{ac}$  es mayor por unidad porcentual de ACN. Las demás condiciones son las mismas que señaladas más arriba.

Como se esperaba, se presenta un máximo de rendimiento en  $\%ACN=2$  y  $pH-pKa=-2$  en la MEFS. Considerando que los valores reales de la  $K_D$  y del pKa pueden variar respecto a los utilizados en los cálculos, es razonable concluir que el valor de pH-pKa debe estar en el intervalo 0-1 para EAUS y debe ser  $<2$  para la MEFS y que el  $\%ACN$  debe estar entre 0% y 5%.

#### 4.2.7. Efecto de $\%MO$ sobre el rendimiento de extracción.

La cantidad de MO en el sedimento influye en el  $\%R$  en la EAUS que depende del inverso del  $\%MO$ . Este efecto se ilustra en la Figura 4.4 para un valor de pH-pKa=0.75, las demás condiciones son las que se describieron más arriba. La influencia de la adición de ACN sobre el aumento del  $\%R$  es mayor para  $\%MO$  bajos y poco apreciable si el  $\%MO$  es muy alto. En el primer caso ( $\%MO<5\%$ ) la adición de 5% de ACN produce un incremento de  $\sim 20\%$  en el  $\%R$ , mientras que si el  $\%MO$  es mayor de 15% el incremento en el  $\%R$  es menor del 10%.

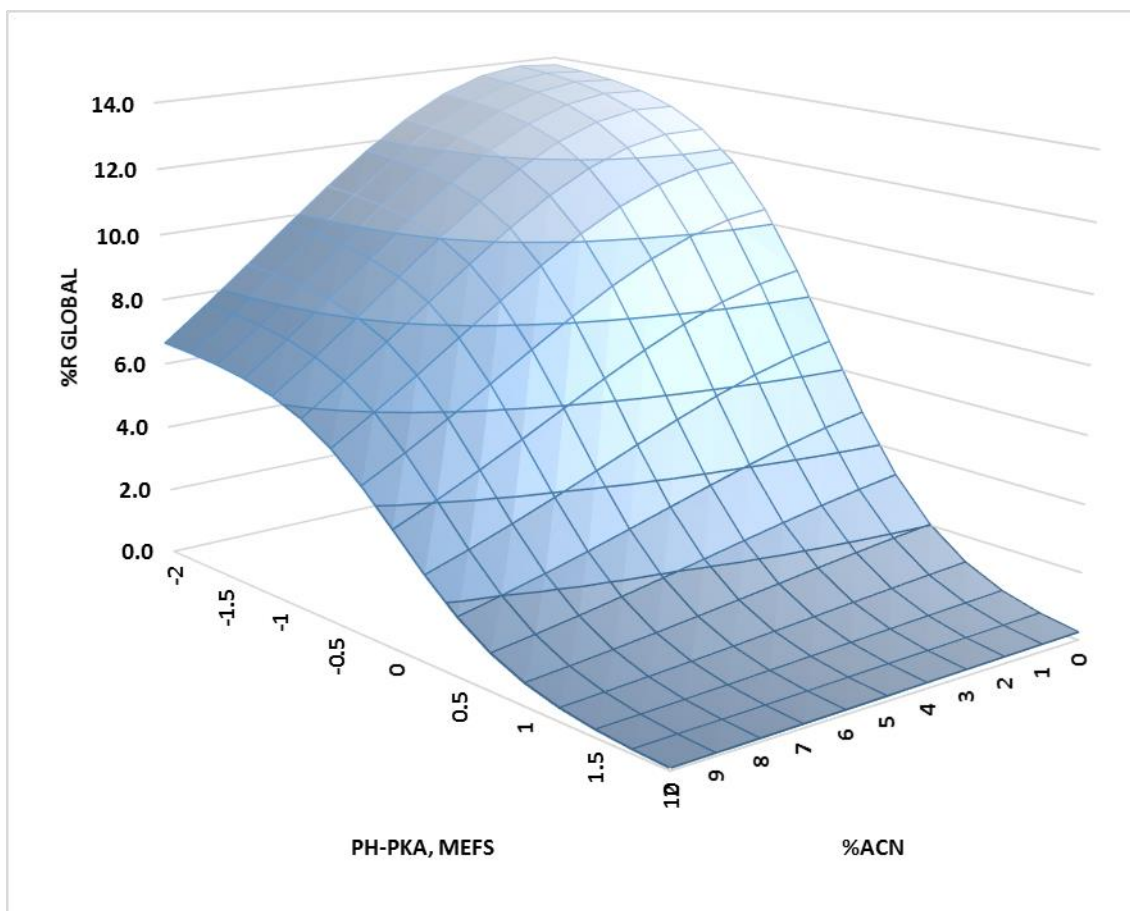


Figura 4.3. Variación del rendimiento global de la extracción de TCS calculado con el modelo propuesto realizando en forma sucesiva la EAUS y la MEFS. Las condiciones se describen en el texto. Se muestra el caso donde pH-pKa en la EAUS es 0.75. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 0.25 unidades de pH-pKa, 1 unidad de %ACN y 2 unidades de %R.

#### 4.2.8. Aplicabilidad de las extracciones sucesivas EAUS-MEFS en el análisis de TCS en sedimentos.

La discusión anterior muestra que en el mejor de los casos el recobro máximo del TCS en los sedimentos es del orden del 14%. Esto impone una restricción en la aplicación del procedimiento en muestras ambientales. Sin embargo, si las demás características analíticas (repetibilidad y linealidad) son adecuadas las posibilidades de aplicación están determinadas por la detectabilidad del analito en el sistema CG-EM.

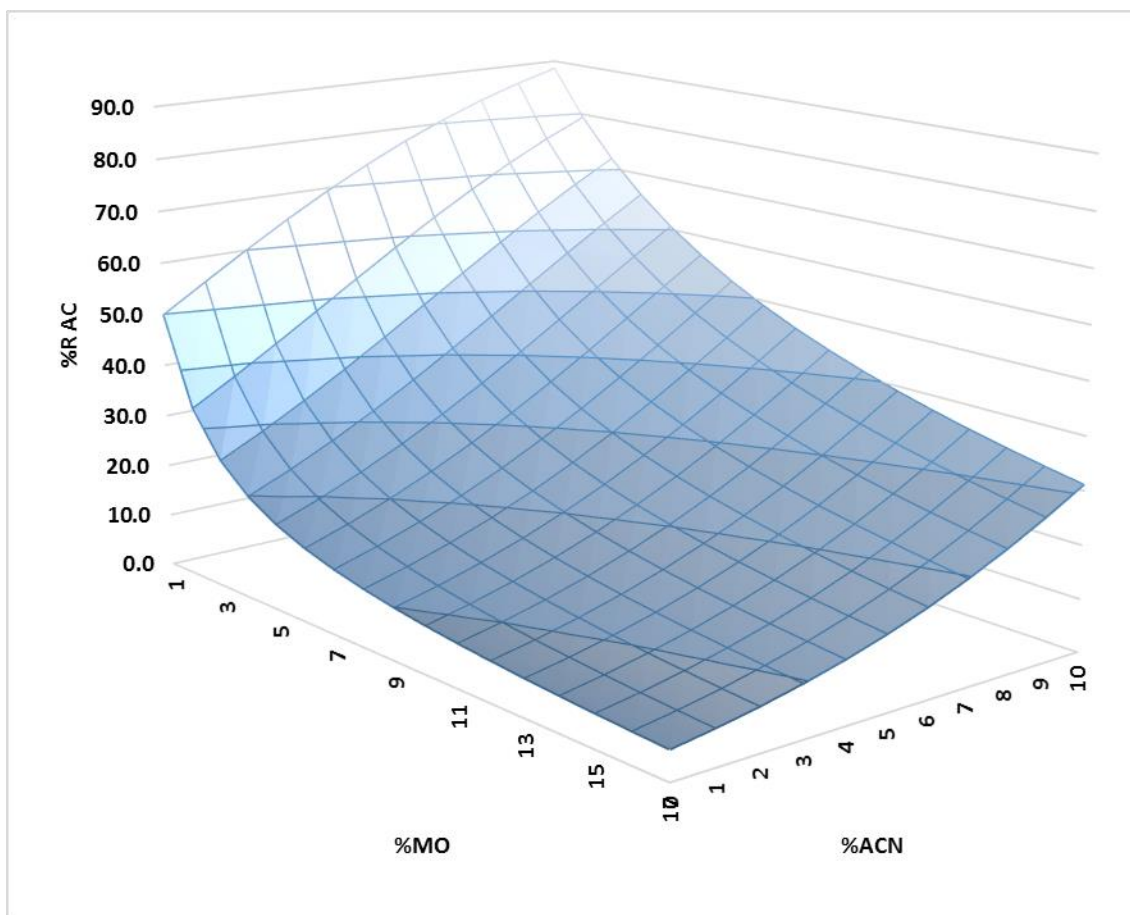


Figura 4.4. Variación del rendimiento de la EAUS de TCS de sedimentos con mezclas agua:ACN calculado con el modelo propuesto. Las condiciones se describen en el texto. Las líneas de la rejilla de la superficie corresponden a 1 unidades de %MO, 1 unidad de %ACN y 10 unidades de %R.

La detectabilidad (masa de analito que produce una señal significativamente diferente del ruido) de los instrumentos de CG-EM operados con monitoreo selectivo de iones es del orden de femtogramos, pero en muestras ambientales es más realista esperar que sea del orden de un picogramo (Fialkova *et al.*, 2007). Sin eliminar el ACN del extracto antes de realizar la MEFS los rendimientos globales esperados son bajos. Aun así, como con la MEFS se introduce al CG-EM la totalidad del analito extraído la cantidad inyectada es suficiente para ser detectada. Por ejemplo: considerando que se extraen 0.5 g de una muestra de sedimento con una concentración de TCS de  $1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  y con un rendimiento global de 10%; la cantidad de TCS inyectada a la CG-EM sería de 50 picogramos, más que suficiente para ser detectada.

Otro factor limitante es que el %R depende del %MO que es una variable que no se puede controlar pues está dada por las características de la muestra. Esto apunta la necesidad de incorporar en el procedimiento un estándar interno y/o subrogado que compense este factor de variación.



### 4.3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Es viable en la práctica implementar un procedimiento que permita realizar la extracción asistida por ultrasonido del TCS en muestras de sedimento con un medio acuoso y una MEFS del extracto obtenido para su análisis por CG-EM?
2. ¿El procedimiento permite detectar concentraciones de TCS en sedimentos tan bajas como las que se encuentran en la costa yucateca?
3. ¿El procedimiento tiene las características de calidad analítica necesarias para proporcionar información ambientalmente relevante?

### 4.4. HIPÓTESIS

Con base en el marco teórico presentado se plantean las siguientes hipótesis:

- a) El uso exclusivo de disolventes orgánicos es generalizado en la extracción de compuestos orgánicos, como el TCS, en matrices sólidas medioambientales para su posterior análisis por CG-EM. Sin embargo, deben existir condiciones experimentales que permiten la EAUS del TCS de sedimentos con un medio acuoso con una cantidad mínima de ACN como cosolvente con rendimientos superiores al 50%.
- b) La MEFS es una técnica que ha mostrado ventajas para la extracción y análisis por CG-EM de compuestos orgánicos de medios acuosos. Por tanto, es posible extraer el TCS del extracto acuoso de los sedimentos con recobros del orden de 40%, modificando únicamente el pH del medio.
- c) Al acoplar en forma secuencial la extracción acuosa de los sedimentos con la MEFS se espera que el rendimiento global sea menor del 50%. Por otra parte, con muestras reales la detectabilidad en los sistemas de CG-EM con monitoreo selectivo de iones es suficiente para detectar TCS en sedimentos en concentraciones del orden de  $1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , aún con rendimientos bajos.
- d) Es posible establecer un procedimiento para el análisis de TCS en sedimentos que utilice la extracción secuencial EAUS-MEFS seguida del análisis por CG-EM con monitoreo selectivo de iones con parámetros de calidad analítica (repetibilidad, linealidad y límites de detección) apropiados para los estudios ambientales.

## 4.5. OBJETIVOS

### 4.5.1. General:

Establecer las condiciones experimentales que permitan la extracción de TCS de sedimentos basado en la EAUS seguida de la reextracción por MEFS para su análisis posterior por CG-EM.

### 4.5.2. Particulares:

Establecer las condiciones para el análisis por CG-EM del TCS y sus principales metabolitos.

Estudiar el efecto sobre el rendimiento de extracción de los parámetros experimentales siguientes:

Extracción asistida con ultrasonido:

Tiempo

Potencia

Modo: continuo y alternando ciclos de encendido y apagado del ultrasonido.

Medio de extracción:

pH: adición de KOH.

Cantidad de muestra.

Volumen del medio de extracción.

Adición de 5% de ACN como cosolvente.

Implantar la microextracción en fase sólida utilizando las condiciones reportadas en trabajos previos.

Evaluar el uso de TCS marcado con  $^{13}\text{C}$  como estándar interno.

Validar el procedimiento desarrollado:

Determinar la linealidad de la técnica.

Determinar el porcentaje de recobro de la técnica.

Determinar la repetibilidad de la técnica.

Determinar el límite de detección de la técnica.

Estudiar el efecto de la cantidad de MO en los sedimentos sobre el rendimiento de extracción.

## 4.6. METODOLOGÍA

### 4.6.1. Materiales, equipos y reactivos.

En las Tablas XIX a XXI del anexo A se enlistan los equipos, materiales y reactivos que se utilizaron durante el desarrollo experimental.

### 4.6.2. Desarrollo experimental.

El desarrollo y la evaluación de la EAUS se realizaron utilizando sólo TCS como analito, que es el de interés principal para este trabajo. La incorporación de los metabolitos se hizo una vez que fueron seleccionadas las condiciones experimentales finales. Para los experimentos en los que se utilizaron muestras de sedimento se prepararon muestras enriquecidas con los analitos de interés, como se describe en el apartado correspondiente.

Para el análisis cromatográfico se utilizaron dos condiciones diferentes. Una que permite el análisis rápido cuando sólo se analizó el TCS durante la evaluación de las condiciones de EAUS y otra cuando se incorporaron los metabolitos y/o se realizaba la MEFS.

### 4.6.3. Análisis por CG-EM.

El análisis rápido del TCS se realizó de la siguiente manera:

#### a) Formación del derivado silanizado del TCS:

Con una microjeringa de 10  $\mu\text{L}$  se toman 1 o 2  $\mu\text{L}$  de la solución por analizar, según se requiera, y 1  $\mu\text{L}$  del reactivo de silanización (MTBSTFA), realizando así la derivación en la microjeringa y en el inyector del equipo de cromatografía. La formación del derivado en fase vapor a la temperatura del inyector es rápida y repetible. Cuando el TCS estaba en un disolvente orgánico el procedimiento se aplicó directamente. Si se encontraba en una fase acuosa se realizó una extracción previa de la siguiente manera: se agregan 2 mL de acetato de etilo a la muestra acuosa y se agita. La fase orgánica se transfiere a un vial de 2 mL y se agrega sulfato de sodio, se agita, se deja reposar unos minutos y con la microjeringa se toma 1  $\mu\text{L}$  del sobrenadante y 1  $\mu\text{L}$  de MTBSTFA para la formación del derivado.

b) Condiciones de CG-EM:

Tabla V. Condiciones del método cromatográfico rápido.

Parámetro	Valor
Inyección	
Tipo	Manual
Inyector	280° C.
Modo	Split 20:1
Columna	Zebtron 7HG-G018-11 ZB-5MSi 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
Temperatura	260° C por 5 min.
Gas transportador	Helio
Flujo	0.8 mL·min <sup>-1</sup>
Línea de transferencia	290° C

Tabla VI. Condiciones de la espectrometría de masas.

Parámetro	Descripción
Retardo para el disolvente	4 minutos
T del cuadrupolo	150°C
T de la fuente	230°C
Modo	Identificación de estándares y obtención de los espectros de masas: barrido total del espectro (SCAN): 50 a 600 m·z <sup>-1</sup> . Identificación y cuantificación en las muestras: monitoreo selectivo de iones (SIM). Iones de cada compuesto mostrados en la Tabla VIII

Para el análisis de las muestras extraídas por MEFS se utilizó un método cromatográfico extendido con condiciones descritas en la Tabla VII:

Los iones representativos del MTCS y de la DCDD se seleccionaron de espectros de masas de la biblioteca del software (The NIST Mass Spectral Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. Version 2.0. Build Dec 2005). Los iones representativos para la identificación del TCS y TCS marcado con carbono-13 (TCS <sup>13</sup>C) silanizados se seleccionaron de los espectros de masas resultado del análisis de estándares debido a que la biblioteca no cuenta con los espectros de estos compuestos silanizados. El ion para la cuantificación es el de mayor proporción y/o el que no presentaba interferencia con otros analitos presentes en las muestras. Estos iones se muestran en la Tabla VIII.

Tabla VII. Condiciones del método cromatográfico extendido.

Parámetro	Valor
Inyección	
Tipo	Manual con fibra MEFS (PDMS/DVB, 65 $\mu\text{m}$ )
Inyector	250° C.
Modo	Splitless, 0.5 min, purga 1:50
Columna	
	Zebron 7HG-G018-11 ZB-5MSi 30 m x 0.25 mm x 0.25 $\mu\text{m}$
Temperatura	Inicial: 40° C por 1 min Rampa: 10° C·min <sup>-1</sup> Final: 300° C por 13 minutos
Gas transportador	Helio
Flujo	0.8 mL·min <sup>-1</sup>
Línea de transferencia	280° C

Tabla VIII. Iones seleccionados para la operación en modo SIM para la identificación y cuantificación en la validación y las muestras. En negritas el ion de cuantificación.

Compuesto	Iones
TCS	<b>345</b> , 347, 349
TCS <sup>13</sup> C	<b>357</b> , 359, 361
MTCS	252, 254, 302, <b>304</b>
DCDD	126, 189, <b>252</b> , 254

#### 4.6.4. Preparación de las muestras enriquecidas.

Se utilizó la fracción <63  $\mu\text{m}$  de sedimento recolectado en la laguna La Carbonera en un estudio previo realizado en el mismo laboratorio de trabajo. El sedimento se había mantenido liofilizado y resguardado. Se seleccionó este sedimento porque el lugar donde se tomo es una zona de mezcla de agua dulce y agua marina, características que tendrían las muestras de la zona de estudio, y porque su contenido de carbono orgánico, de  $\approx 2\%$ , es el que generalmente se observa en estas lagunas.

El enriquecimiento de las muestras consistió en colocar una cantidad de sedimento pesada con exactitud en un vial, agregar una solución de TCS en acetato de etilo en una proporción tal que se humecte sin exceso todo el sedimento, y con la cantidad de TCS necesaria para obtener la concentración deseada en el sedimento. Para los sedimentos de este estudio la

proporción es de 4 mL por gramo de sedimento. La mezcla se mantuvo en agitación suave con ayuda de un agitador orbital y bajo protección de la luz hasta evaporar a sequedad (15-20 horas). Por último, se colocó en una estufa a 60°C por una hora. Para el valor de concentración en el sedimento enriquecido se consideró la cantidad nativa determinada por el método de adiciones patrón.

#### 4.6.5. Selección de condiciones para la extracción asistida por ultrasonido.

Inicialmente se planteó que las condiciones que podrían influir en la capacidad de EAUS eran el tiempo de sonicación, la potencia de sonicación, la temperatura, el disolvente de extracción, el pH, la cantidad de muestra y el volumen de disolvente de extracción. Durante el estudio se identificó que el tiempo de contacto del disolvente con la muestra de sedimento, tanto en el momento previo como el posterior al proceso de ultrasonido también podría influir sobre los resultados.

Por razones prácticas, como las características de la sonda de ultrasonido, el material disponible y el hecho de que se realizaría la MEFS del extracto acuoso obtenido, la cantidad de sedimento a extraer y el volumen de extractante se fijaron en 500 mg y 15 mL respectivamente.

Para el estudio de las otras variables de EAUS se usaron muestras de sedimento enriquecidas con una concentración de  $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de TCS que se extrajeron con el procedimiento general siguiente:

En un tubo tipo Falcon se colocan 500 mg de muestra enriquecida y se agregan 15 mL del disolvente de extracción. Se somete a sonicación con el procesador de ultrasonido. Se centrifuga por 20 min a 5000 rpm. El sobrenadante se transfiere a un tubo de ensayo. Los extractos obtenidos se analizaron por CG-EM siguiendo el procedimiento de análisis rápido del TCS ya descrito.

La Figura 4.5 esquematiza de forma general la serie de pasos que se siguieron para el establecimiento de las condiciones de la EAUS.

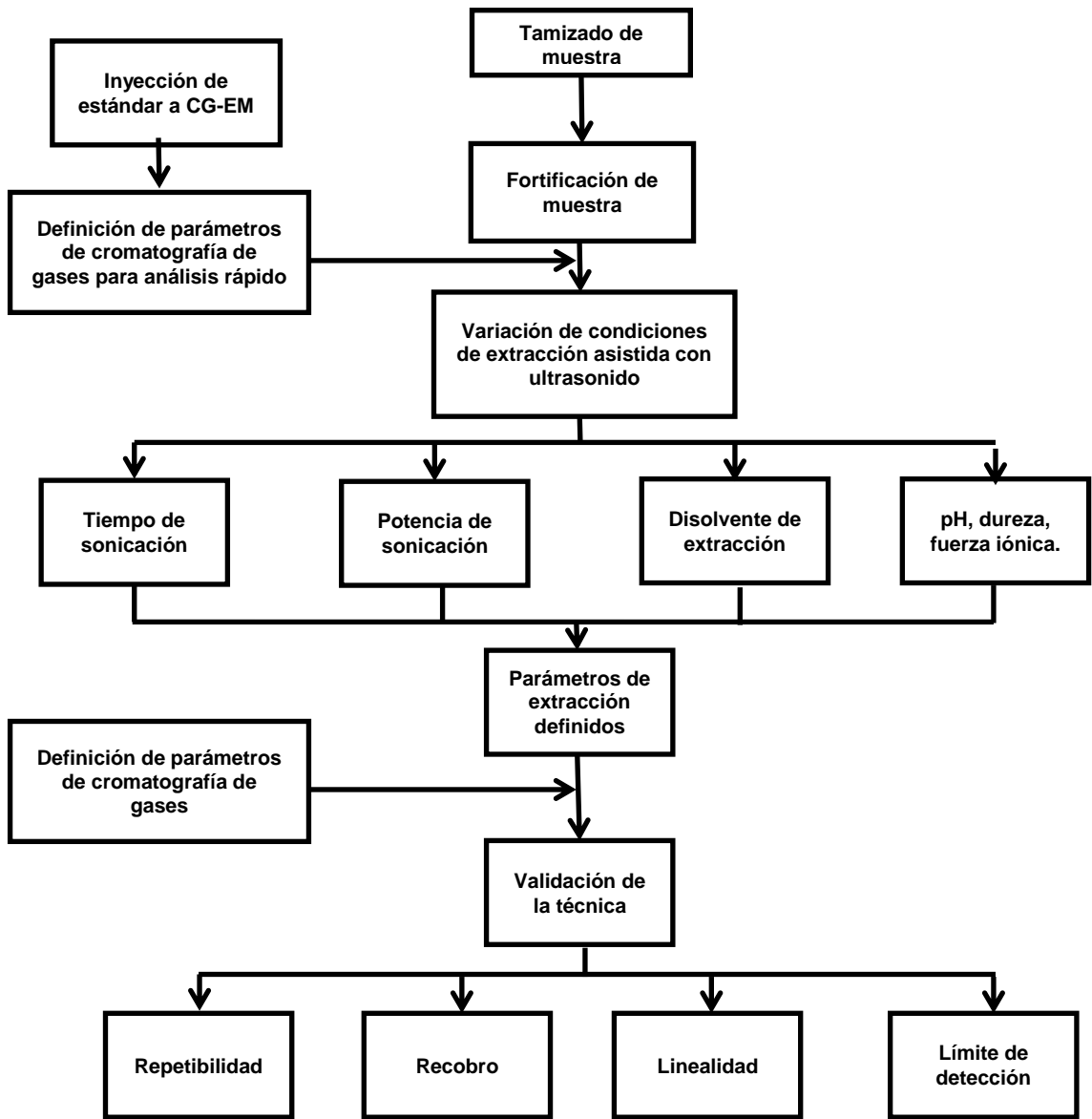


Figura 4.5. Etapas del desarrollo de la metodología de análisis.

4.6.5.1. Tiempo de sonicación.

Se realizaron dos experimentos por duplicado y una réplica de inyección. Como medio de extracción se utilizó agua destilada en el primero y una solución de KOH con pH 9 en el segundo. La potencia de sonicación se fijó en 40%. Se midió la temperatura después de cada experimento. Los tiempos estudiados fueron 1, 3 y 5 minutos.



#### 4.6.5.2. Disolvente de extracción.

El tiempo de sonicación se fijó en 1.5 min y la potencia en 40%. Se evaluaron los siguientes medios de extracción: agua destilada, KOH 0.25 M, KOH 1 M, ACN al 5% en agua, y ACN al 5% en KOH 0.25 M.

#### 4.6.5.3. Potencia de sonicación

Se probaron potencias de sonicación de 40, 55, 70, 85, y 100%. En todos los casos el tiempo de sonicación fue 1.5 minutos y ACN al 5% en agua como disolvente de extracción.

#### 4.6.5.4. Tiempo de contacto con el disolvente.

Los resultados iniciales al determinar la repetibilidad con 5 réplicas con  $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de TCS en sedimento y utilizando MEFS sugirieron que el tiempo previo de contacto de la muestra con el disolvente influye sobre la efectividad de la técnica de extracción asistida con ultrasonido.

Se realizaron dos experimentos sobre este parámetro. En el primero se compararon 40 minutos y 5 horas de contacto previo a la sonicación de la muestra con ACN al 5% en agua. En el segundo el contacto previo se hizo con ACN durante 40 minutos, al cabo de los cuales se añadió el agua para diluirlo hasta obtener la mezcla al 5%.

#### 4.6.5.5. Condiciones de EAUS seleccionadas.

A partir de los resultados de los experimentos descritos se seleccionaron las condiciones para realizar la EAUS del TCS de las muestras de sedimento, las cuales se plantean y discuten en la sección de resultados. El procedimiento general de EAUS para las siguientes etapas del proyecto fue:

Se colocan 500 mg de muestra en un vial de vidrio de 40 mL. Se agregan 15 mL del disolvente de extracción. Se dejan en contacto por 40 min agitando suave y continuamente con ayuda de un agitador orbital. Se sónica con un procesador de ultrasonido dentro de un baño de agua a temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ). La mezcla se transfiere a un tubo tipo Falcon y se centrifuga por 20 min a 5000 rpm. 10 mL del sobrenadante se transfieren a un vial para MEFS.

#### 4.6.6. Microextracción en fase sólida/derivación.

Para la MEFS de los extractos obtenidos de la EAUS se utilizó un procedimiento previamente implantado en el laboratorio para proyectos anteriores y que es el siguiente:

En un vial para MEFS de 15 mL se colocan 10 mL de la solución obtenida de la EAUS y un agitador magnético. El pH de la solución se ajusta a 2 con unas gotas de HCL 6 M. El vial se coloca en un baño de agua a 40°C, se inserta la fibra (PDMS/DVB, 65 µm) de MEFS en el vial y se realiza la microextracción en modo inmersión por 30 minutos con agitación suave.

Posteriormente, en un vial de 7 mL con septa se colocan 50 µL de silanizante MTBSTFA y un agitador magnético. De la misma forma que en MEFS, el vial se coloca en un baño a 40°C y se introduce la fibra colocándola en modo HS por 30 minutos. Los compuestos derivados de la silanización quedan fijados en la fibra que será inyectada en el cromatógrafo.

Las condiciones del análisis por CG-EM se describieron anteriormente.

#### 4.6.7. Validación del procedimiento utilizando sucesivamente la EAUS y la MEFS.

Una vez establecidas las condiciones de EAUS se incorporó la MEFS a la metodología. Así mismo, se incorporaron el MTCS y la DCDD en el enriquecimiento y análisis de las muestras. Tanto para la validación de la técnica global como para el análisis de las muestras de la zona de estudio se utilizó el método cromatográfico que se describió en la Tabla VII.

##### 4.6.7.1. Repetibilidad.

La repetibilidad se calculó mediante el coeficiente de variación de las áreas cromatográficas de un número de réplicas analizadas. En el caso de MEFS se determinó con 5 réplicas de 10 mL tomadas de una mezcla donde se combinaron los extractos de EAUS de 5 muestras con concentración de 100 ng·g<sup>-1</sup> de TCS, MTCS y DCDD en sedimento. La repetibilidad de la técnica global se evaluó con 5 réplicas independientes de 100 ng·g<sup>-1</sup> de TCS, MTCS, DCDD en sedimento. Con la repetibilidad de MEFS y la repetibilidad del procedimiento *global* (EAUS+MEFS) se calculó la repetibilidad del proceso de EAUS.

Los cálculos para determinar el %CV de cada compuesto se describen a continuación:

$$\% CV_{global} = \frac{\text{Desviación estandar } global}{\text{Promedio } global} * 100$$

$$\% CV_{mefs} = \frac{\text{Desviación estandar } mefs}{\text{Promedio } mefs} * 100$$

$$\% CV_{eaus} = \sqrt{\% CV_{global}^2 - \% CV_{mefs}^2}$$

#### 4.6.7.2. Recobro.

El recobro se calculó con las áreas cromatográficas, como se describe más adelante, utilizando como referencia de 100% la respuesta de una cantidad de analito equivalente a una concentración de 100 ng·g<sup>-1</sup> de TCS, MTCS y DCDD en sedimento.

*Área cromatográfica de referencia del 100% de extracción (Ainyección):* en el sistema CG-EM se inyectó directamente con microjeringa de cromatografía 1 µL de ACN con la cantidad de TCS, MTCS y DCDD equivalente a la contenida en 500 mg de sedimento con la concentración de referencia, junto con 1 µL de silanizante.

*Área cromatográfica de MEFS (Amefs):* se realizó la extracción a 10 mL de ACN al 5% en agua con la cantidad de TCS, MTCS y DCDD equivalente a la contenida en 500 mg de sedimento con la concentración de referencia.

*Área cromatográfica de la técnica global (Aglobal):* se realizó EAUS seguida de la MEFS a 500 mg de sedimento con la concentración de referencia.

Los cálculos para determinar los porcentajes de recobro (%R) son los siguientes:

$$\% R_{global} = \frac{A_{global}}{A_{inyección}} \times 100$$

$$\% R_{mefs} = \frac{A_{mefs}}{A_{inyección}} \times 100$$

$$\% R_{eaus} = \frac{A_{global}}{A_{mefs}} \times 100$$

#### 4.6.7.3. Estándar interno.

Con el fin de mejorar la repetibilidad de los resultados y compensar el efecto de las diferencias en el contenido de MO de las muestras, se incluyó como estándar interno (EI) TCS <sup>13</sup>C. Éste se agregó en disolución con el disolvente de extracción en una concentración

equivalente a  $50 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de sedimento, es decir 25 ng en los 15 mL de disolvente de extracción que se agregan a cada 500 mg de muestra. Las áreas de cada compuesto se corrigen dividiendo cada una entre el área del TCS  $^{13}\text{C}$ . A esta área corregida se le llama área relativa (AR).

#### 4.6.7.4.Repetibilidad

La repetibilidad se estimó con 7 réplicas con concentraciones de  $10 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de TCS y MTCS y de  $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de DCDD en sedimento.

#### 4.6.7.5.Linealidad

Se evaluó la linealidad en concentraciones de 2, 5, 20, 100, 500 y 1000  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . Se utilizó el valor del coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de la regresión por mínimos cuadrados como indicador de la calidad de la estimación lineal.

#### 4.6.7.6.Cálculo de la concentración en las muestras.

Con la ecuación de regresión concentración vs AR se determinó el factor de respuesta para calcular la concentración de las muestras a partir del AR de cada muestra.

#### 4.6.7.7.Límite de detección.

Se analizaron con la técnica completa réplicas ( $n=7$ ) de  $10 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de TCS y MTCS y  $50 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de DCDD. Con la desviación estándar muestral ( $de$ ) se calcularon los límites de decisión ( $Ld$ ) y de detección ( $LD$ ) para un nivel de significancia  $1-\alpha$ , y el de cuantificación ( $Lq$ ) para una incertidumbre relativa  $\Delta\%$  de acuerdo a las siguientes relaciones (Massart *et al.* 1978):

$$Ld = de \times t_{6,\alpha}$$

$$LD = Ld + de \times t_{6,\alpha} \approx 2 \times Ld$$

$$Lq = \Delta\% \times de$$

#### 4.6.7.8. Relación señal/ruido

Una práctica usual en cromatografía para estimar el límite de detección es con base en la relación señal/ruido de la respuesta cromatográfica de cada compuesto. Se evaluó esta relación con el software del equipo de CG-EM con los resultados de las muestras enriquecidas utilizadas para la cuantificación de las muestras de la segunda parte del proyecto.

#### 4.6.8. Influencia de la cantidad de materia orgánica en el sedimento.

Como se indicó en la parte teórica, la cantidad de MO en el sedimento influye de manera importante en la eficiencia de recobro del procedimiento. Para estudiar este factor se utilizaron las áreas del EI obtenidas en el análisis de los sedimentos de la zona costera de Yucatán, realizados en la segunda parte de este proyecto, y se correlacionaron con el porcentaje de carbono orgánico determinado a cada una de las muestras con un analizador elemental.

#### 4.6.9. Procedimiento final propuesto.

El procedimiento propuesto para el análisis de las muestras de sedimento por EAUS/MEFS/CG-EM es el que se esquematiza en la Figura 4.6.

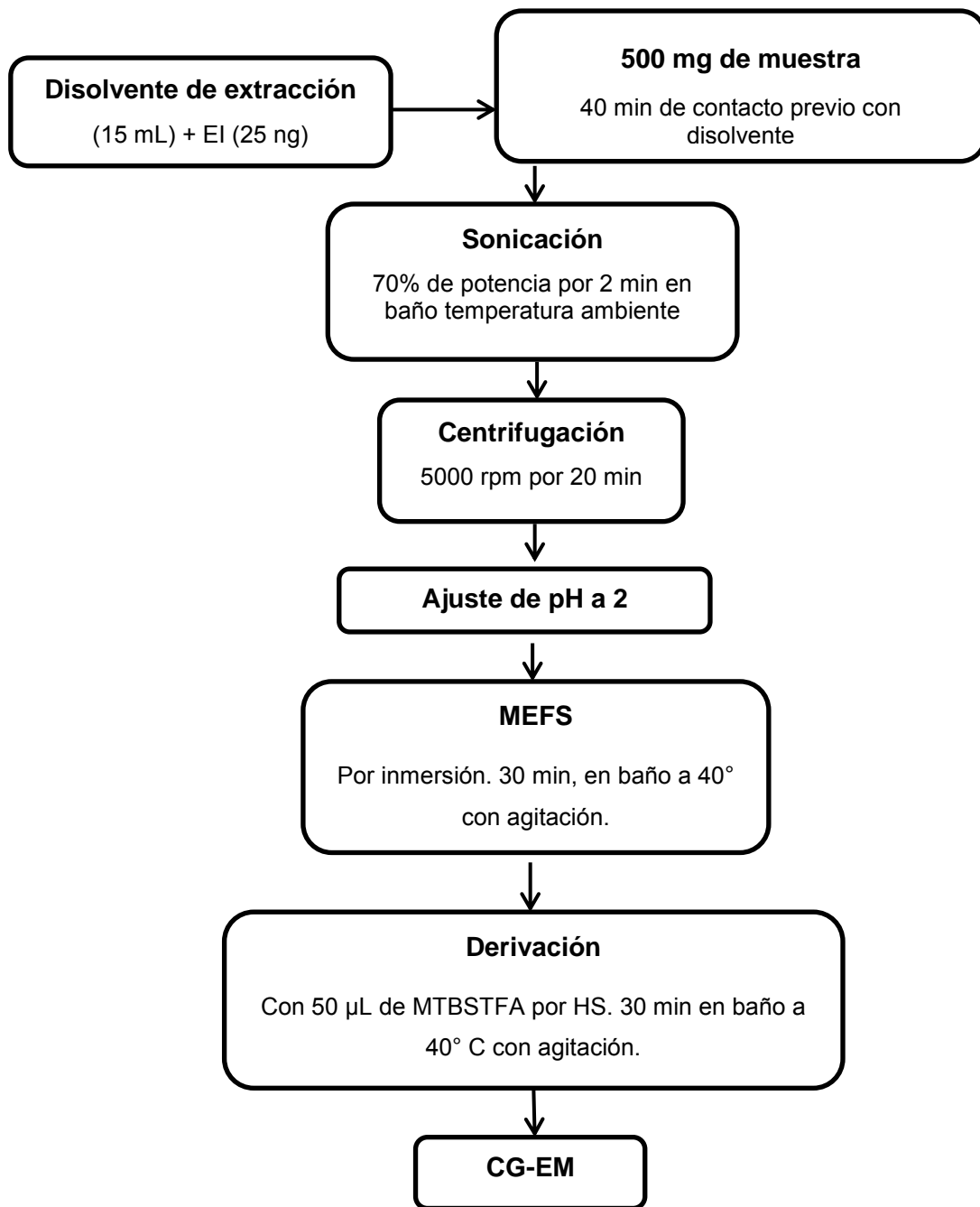


Figura 4.6. Técnica de análisis de sedimentos.

## 4.7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.7.1. Análisis por CG-EM

En la Figura 4.7 se muestran los cromatogramas iónico total y de extractos iónicos de un estándar de TCS silanizado, obtenidos por el método rápido utilizado para el desarrollo del procedimiento de EAUS en modo de monitoreo selectivo de iones (SIM). El pico cromatográfico es simétrico, bien definido y sin interferencias. El tiempo de retención es poco menos de 3.5 minutos, lo que permite realizar un número experimentos que no esté limitado por el tiempo de la corrida cromatográfica.

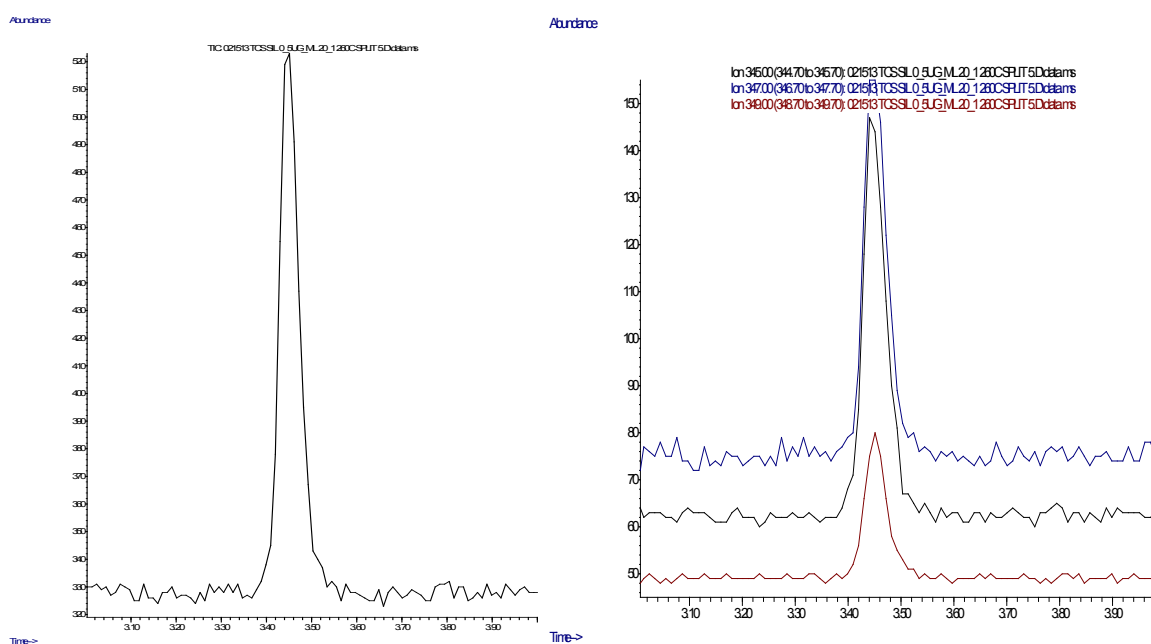


Figura 4.7. Cromatogramas iónico total (izquierda) y de extractos de iones (derecha) obtenidos con el método cromatográfico rápido.

En la Figura 4.8 se muestra el cromatograma del extracto de una muestra de sedimento enriquecida con  $10 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de TCS y MTCS y  $100 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de DCDD, obtenido con el método extendido de cromatografía modo SIM y que incluye ya a los otros compuestos estudiados. Los picos de interés son simétricos, bien definidos y sin interferencias significativas. Los compuestos de interés eluyen antes de 25 minutos, pero la corrida cromatográfica se extendió hasta 40 minutos para permitir la elución de compuestos más pesados y evitar su

acumulación en la columna. Aun así, durante el análisis de las muestras la columna debía acondicionarse periódicamente para reducir la señal de fondo.

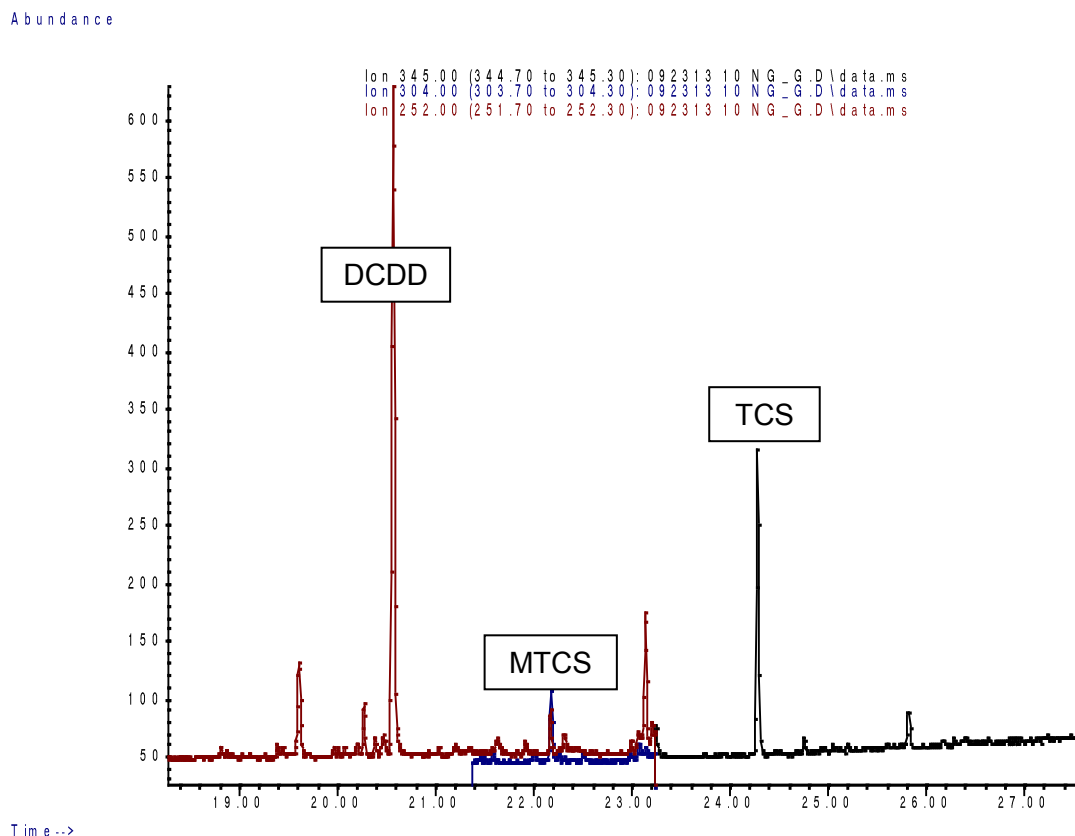


Figura 4.8. Cromatograma del extracto de una muestra de sedimento enriquecida con 10  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de estándares de TCS y MTCS y 100  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de DCDD, obtenido con el método extendido de cromatografía, operado el EM en modo SIM con los iones 345, 304 y 252, representativos de TCS, MTCS y DCDD.

En las Figuras 4.9 a 4.11 se encuentran los espectros de masas de los compuestos analizados. Presentan claramente las señales correspondientes al ion molecular y las de la isotopía característica del cloro.



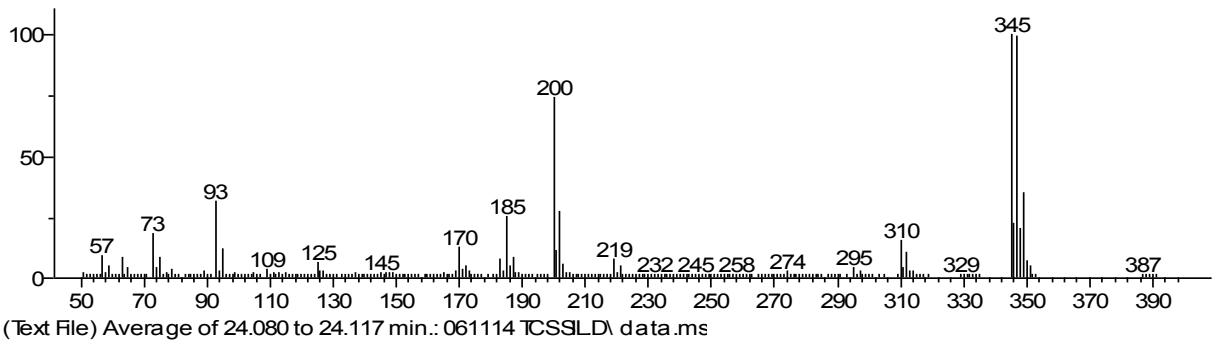


Figura 4.9. Espectro de masas de TCS silanizado. El EM operado en modo SCAN. Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de este compuesto son 345, 347 y 349.

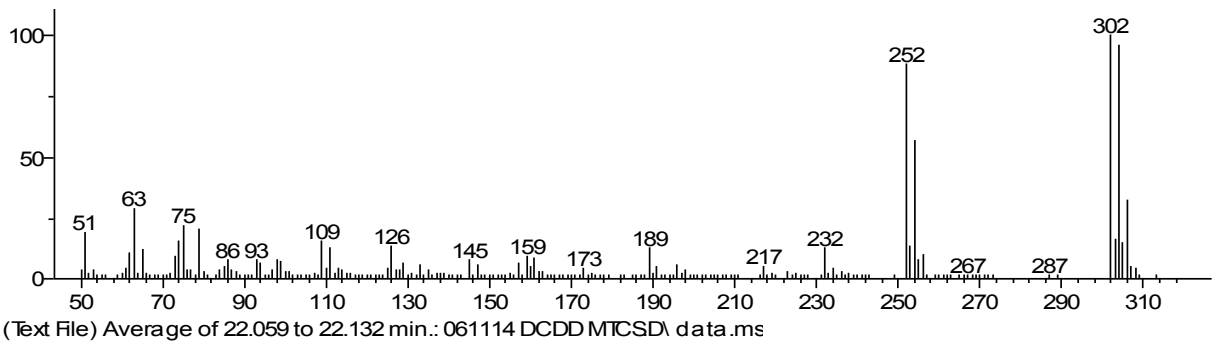


Figura 4.10. Espectro de masas de MTCS. El EM operado en modo SCAN. Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de este compuesto son 252, 254, 302 y 304.

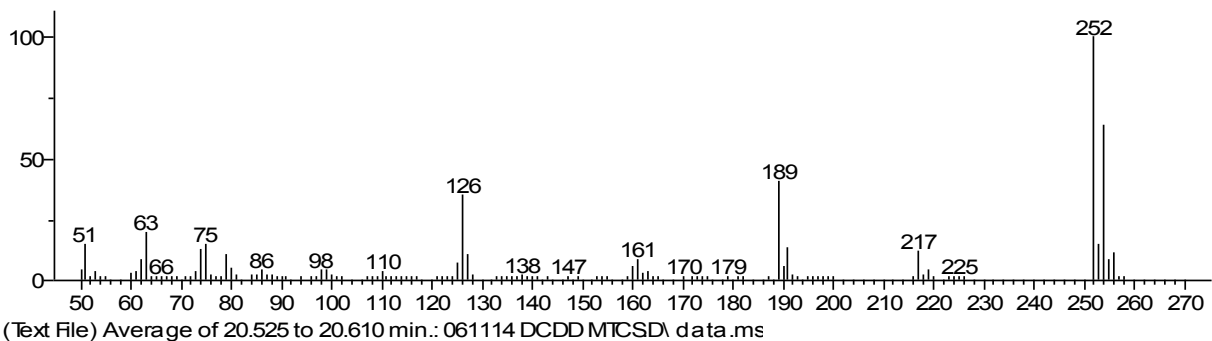


Figura 4.11. Espectro de masas de DCDD. El EM operado en modo SCAN. Los iones seleccionados para la identificación y cuantificación de este compuesto son 126, 189, 252 y 254.

#### 4.7.2. Tiempo de sonicación.

En la Figura 4.12 se muestran los resultados de la evaluación del tiempo de sonicación. Los datos se presentan como el cociente del área del experimento particular entre el promedio de la serie de tiempo. El gráfico de barras corresponde a los valores del cociente del área del pico obtenida con la extracción con una solución de KOH de pH igual a 9 entre el área del pico de la extracción realizada con agua sola, expresado como porcentaje. Las barras de error corresponden a  $\pm 1$  desviación estándar. El análisis de varianza de 2 factores muestra que no hay diferencias significativas entre los tiempos ni entre los disolventes. Esto último, aparentemente contradice lo señalado por el modelo teórico. Sin embargo, se explica por el hecho de que el pH de las soluciones de KOH al terminar la extracción estaba entre 6.5 y 7, lo que indica que hay especies ácidas y/o hidrolizables en los sedimentos, como los ácidos grasos y sus ésteres, o fenólicos como los ácidos húmicos y la lignina, en cantidad suficiente para neutralizar esta concentración alcalina y por lo tanto en todos los experimentos el pH era alrededor de una unidad inferior al pKa.

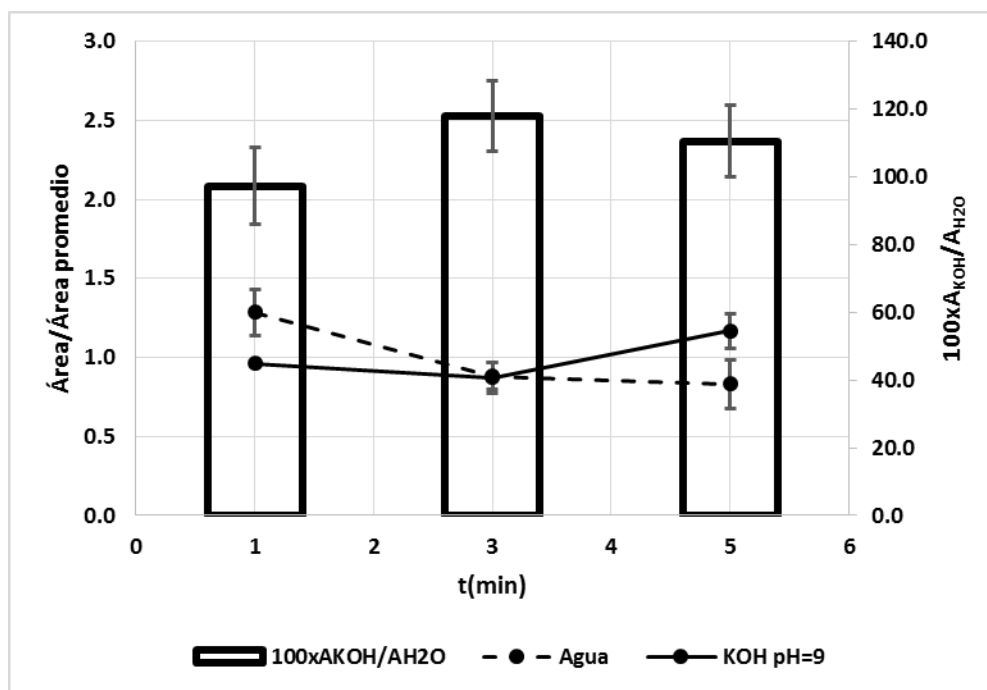


Figura 4.12. Efecto del tiempo de sonicación y de la adición de KOH (pH=9) al medio de extracción. Cociente del área entre el promedio de la serie de tiempo (líneas punteada y sólida, escala izquierda). El gráfico de barras (escala derecha) corresponde al porcentaje de extracción obtenida con la solución de KOH respecto a la extracción con agua sola.

En estos experimentos se midió la temperatura del extracto al terminar la sonicación. Los resultados fueron: 45, 58, 68, 72 y 78° C para los tiempos de 1, 2, 3, 4 y 5 minutos respectivamente. Se probó hacer pausas para los tiempos 3 y 5 minutos, sonicando un minuto y descansando un minuto hasta completar el tiempo requerido. Sin embargo, la temperatura final fue prácticamente la misma que sin hacer pausas. Como no se encontraron diferencias en el rendimiento de extracción en función del tiempo, en los experimentos siguientes se fijó en 1.5 minutos para no someter las muestras a un calentamiento innecesario. El tiempo de sonicación en la técnica final se estableció en 2 minutos.

#### 4.7.3. Disolvente de extracción.

Como la cantidad de KOH en una solución de pH 9 no fue suficiente para imponer el pH por encima del pKa del TCS en la mezcla de extracción, se evaluaron dos soluciones de KOH más concentradas, una de 0.25 M (pH≈13.4) y la otra de 1 M (pH≈14) y se compararon contra agua destilada. La Figura 4.13 muestra estos resultados; las barras de error indican el 21% de variabilidad entre réplicas calculado en los experimentos de tiempo de extracción.

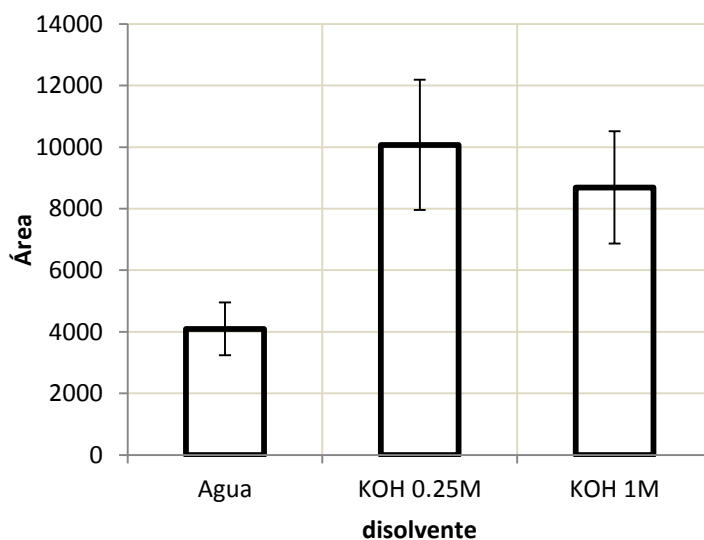


Figura 4.13. Efecto del disolvente de extracción: agua destilada, KOH 0.25 M y KOH 1 M.

Hay un incremento del rendimiento de extracción de 2.4 veces al usar las soluciones concentradas de KOH en comparación con agua destilada. El modelo teórico indica que esto corresponde a una diferencia de pH entre  $\sim 7$  y  $\sim 8.5$ . El pH inicial de las soluciones de KOH era mucho mayor ( $\text{pH} > 13$ ), pero al finalizar la EAUS el pH era de  $\sim 9$  y continuaba descendiendo hasta un valor menor a 7. El sobrenadante parecía “sucio” y de color café, más intenso con la disolución 1 M. Esto indica que hay reacciones ácido-base con componentes del sedimento que neutralizan el medio alcalino. El exceso alcalino es consumido por reacción con algunos compuestos presentes en el sedimento y se propicia la disolución de los compuestos húmicos, sustancias mayoritarias de la MO de sedimentos y solubles sólo en medio alcalino (McKnight y Aiken, 1998).

En otro experimento se estudió el efecto de la adición de ACN al medio de extracción. Se seleccionó una concentración de 5%. Es el límite que sugiere el análisis teórico sobre su efecto en los equilibrios de extracción. Con valores más bajos el efecto de cosolventancia para favorecer la cinética de extracción es menor. Como disolventes de comparación se tomaron agua y KOH 0.25 M. En la Figura 4.14 se muestran los resultados. Los tres disolventes diferentes del agua sola presentaron una respuesta similar de 2.5 veces mayor con respecto al agua. Este incremento en el rendimiento coincide con lo que predice el modelo teórico para una adición de 5% de ACN a  $\text{pH} \leq \text{pKa}$ .

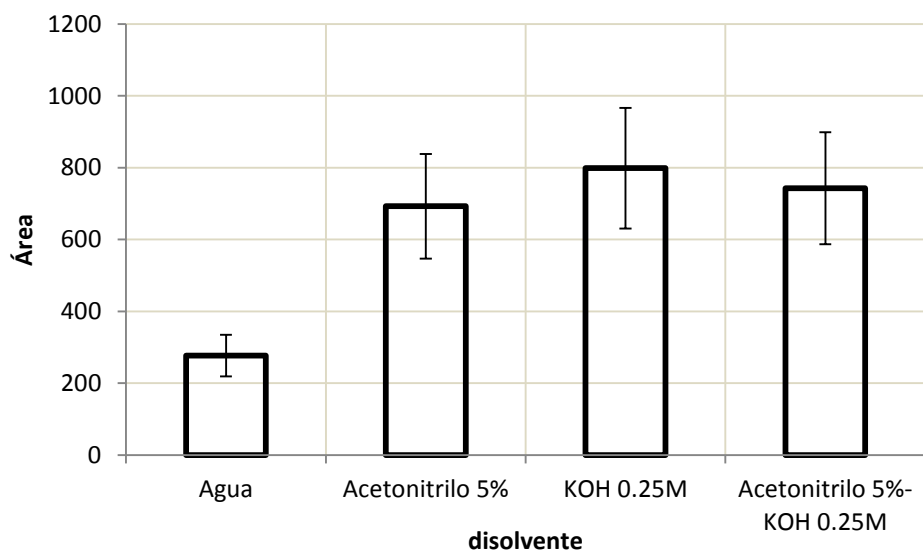


Figura 4.14. Efecto del disolvente de extracción: agua destilada, KOH 0.25 M, ACN 5% y ACN 5% con KOH 0.25 M como disolvente de extracción.

Para los experimentos siguientes se eligió utilizar la solución de ACN al 5% en agua debido a que se obtienen extractos más limpios que con los medios con KOH. El medio alcalino favorece la disolución de compuestos húmicos, que es indeseable pues contaminan y disminuyen la vida útil de la microfibra y de la columna cromatográfica, reducen el número de muestras que se pueden analizar entre operaciones de mantenimiento y limpieza del sistema CG-EM y pueden provocar interferencias en la detección de los compuestos de interés.

#### 4.7.4. Potencia del ultrasonido.

En la Figura 4.15 se muestra la influencia que tiene sobre el rendimiento de extracción incrementar la potencia (amplitud) del ultrasonido suministrado por la sonda. En los experimentos donde se evaluó la potencia de sonicación fue muy evidente que a mayor potencia mayor es el rendimiento de extracción. El ultrasonido aumenta la energía cinética del sistema, y con ello la temperatura, además facilita la extracción tanto física como química de los analitos de la matriz sólida (Capelo & Mota, 2005). Sin embargo, a 85% y 100% de potencia la temperatura de la mezcla superaba los 70°C. Para evitar someter a condiciones drásticas los compuestos estudiados se eligió la potencia del 70% y se incorporó un baño de agua a temperatura ambiente para absorber el calor generado. En estas condiciones la temperatura del medio al final de la extracción fue de 40-42° C.

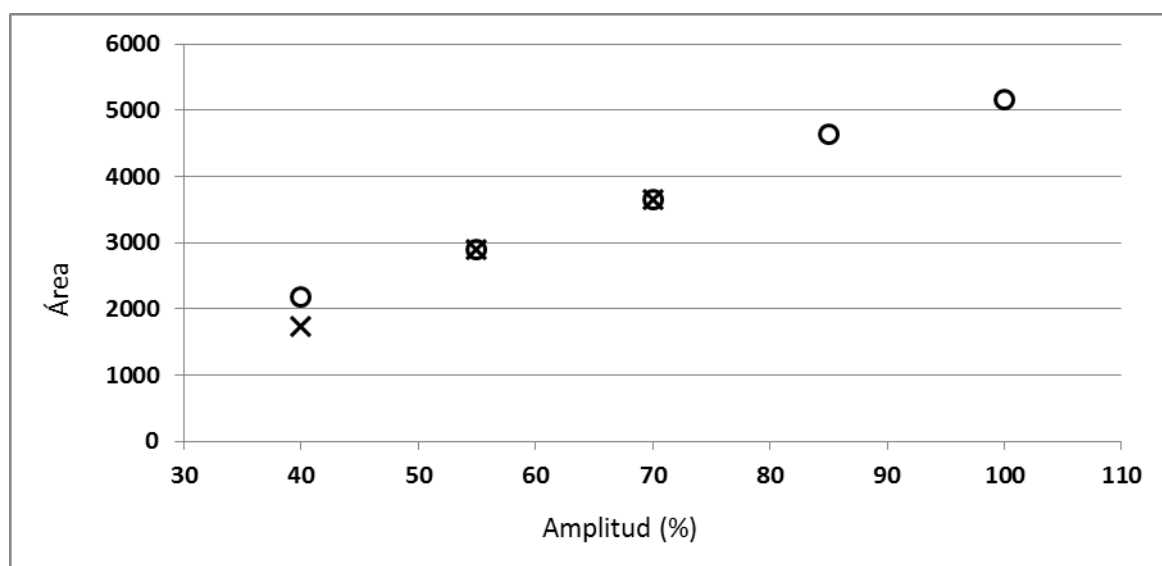


Figura 4.15. Efecto de la potencia de la sonda de ultrasonido sobre la eficiencia de extracción. Las réplicas de la 40%, 55% y 70% de amplitud se realizaron en días distintos.

#### 4.7.5. Tiempo de contacto con el disolvente.

En el desarrollo del procedimiento y al procesar una serie de cinco muestras idénticas se obtuvieron resultados que sugieren que el tiempo que el disolvente de extracción está en contacto con el sedimento antes de realizar la EAUS influye sobre el rendimiento de extracción (Figura 4.16) y es un factor experimental que debe controlarse. Entre la muestra 1 y la 5 hubo una diferencia de 40 minutos y un incremento del rendimiento de casi 3 veces. Esto puede explicarse considerando los aspectos cinéticos del proceso de mojado de la muestra liofilizada y la modificación por el ACN de la interfase entre la MO hidrofóbica y el medio acuoso.

Se realizaron experimentos exploratorios para ver el efecto de un tiempo mayor (5 horas) de humectación y de utilizar ACN puro y diluir con el agua después de la humectación. En ambos casos no se observaron diferencias significativas contra un tiempo de 40 minutos y la solución de ACN al 5%. Los resultados indican que estas condiciones permiten que se equilibre la interfase entre la MO y el medio acuoso por el efecto de cosolvencia del ACN.

A partir de estos resultados se incorporó al procedimiento el paso de someter las muestras a un tiempo de humectación previa de 40 minutos y procesarlas individualmente con el fin de que el tiempo de espera entre cada proceso fuera el mismo en todas las muestras. En la Figura 4.16 se muestra como este tiempo de humectación previa y semejante en todas las muestras elimina la variación secuencial sobre el rendimiento.

#### 4.7.6. Procedimiento final propuesto para la EAUS.

Con base en los resultados obtenidos en los experimentos anteriores, se decidió utilizar para la EAUS el siguiente procedimiento:

1. Pesar en un vial de 40 mL 0.5 g de la fracción menor a 65  $\mu\text{m}$  de la muestra de sedimento liofilizado.
2. Añadir 15 mL de solución de ACN al 5%.
3. Humectar durante 40 minutos con agitación con un agitador orbital.
4. Sonicar por dos minutos con 70% de potencia en un baño a temperatura ambiente (25°C)
5. Centrifugar a 5000 rpm por 20 minutos.
6. Transferir 10 mL del sobrenadante a un vial para MEFS y ajustar pH a 2 con HCl 6M.

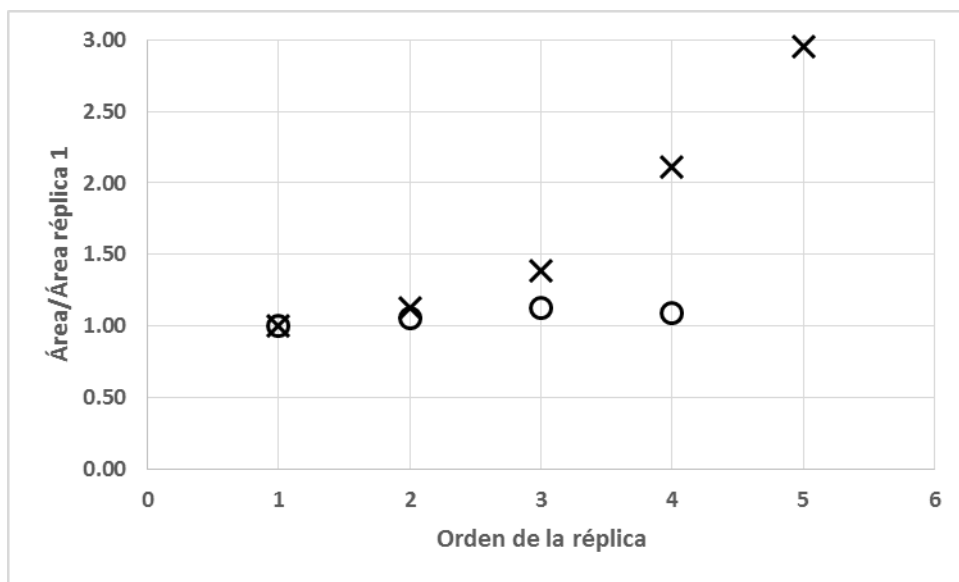


Figura 4.16. Efecto del tiempo de humectación del sedimento con 5% ACN antes de la EAUS. Las ordenadas representan el AR de cada réplica con respecto a la primera y las abscisas el orden en que fueron procesadas. Las cruces corresponden a la serie en la que el tiempo de contacto previo aumenta con el orden en el que las muestras fueron procesadas. Los círculos representan la serie en la que el tiempo se mantuvo constante en 40 minutos.

#### 4.7.7. Incorporación de la MEFS para el análisis por CG-EM de los extractos.

Una vez elegidas las condiciones para realizar la EAUS de las muestras de sedimento se incorporó la MEFS siguiendo el procedimiento descrito en la parte experimental, se incluyeron los otros dos analitos (MTCS y DCDD) y se validó el procedimiento global.

#### 4.7.8. Repetibilidad.

La repetibilidad con los tres compuestos se determinó para el procedimiento completo y para la etapa de la MEFS. La repetibilidad de la EAUS se estimó con base en la teoría de propagación de errores. Los resultados se presentan en la Figura 4.17. Resaltan dos hechos: la repetibilidad del procedimiento global está limitada por la de EAUS y es peor conforme el compuesto analizado es más hidrofóbico. Esto es explicable por la heterogeneidad que implica el uso de muestras pequeñas de sólidos pulverizados y porque la EAUS incluye un manejo de muestra más complejo. También porque una mayor hidrofobicidad de los compuestos implica una menor solubilidad en los medios acuosos y con ello una mayor

probabilidad de pérdida del compuesto por adsorción, no controlada, en los materiales con los que esté en contacto.

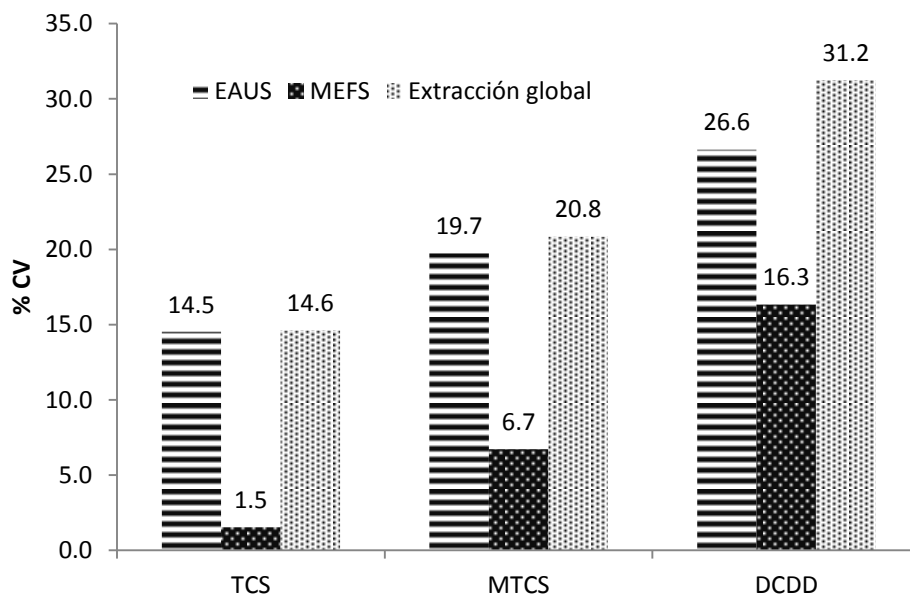


Figura 4.17. Coeficiente de variación de las etapas EAUS y MEFS y de la técnica global para la extracción de TCS, MTCS y DCDD con  $100 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$  de sedimento respectivamente.

A pesar de que estos porcentajes de variación son relativamente altos son aceptables para el análisis de trazas (Smeyers-Verbeke *et al.* 2005). Sin embargo indican la conveniencia de incluir un EI en el procedimiento para corregir el efecto de algunas de las fuentes de variación.

#### 4.7.9. Recobro.

En la Figura 4.18 se presentan los resultados de la determinación del recobro de las técnicas de EAUS, MEFS y de la técnica global de cada compuesto estudiado.

Con la técnica implementada el recobro calculado para el TCS en el proceso de EAUS es de 74.7%, aceptable de acuerdo a los criterios de calidad de métodos oficiales (p. ej. EPA, 2007b). En las condiciones establecidas el recobro de TCS en la MEFS es de 8.4%, por lo que el recobro global es tan sólo de 6.2%. Aunque es un valor bajo, como ya se mencionó no es imprescindible tener un recobro alto para el objetivo de determinar la cantidad de TCS en



los sedimentos, pero es esencial que el procedimiento de calibración corrija el déficit en el recobro y se obtengan linealidad, repetibilidad y límites de detección adecuados. En MEFS, además de las limitaciones termodinámicas impuestas por las dimensiones y composición de la microfibra, por cuestiones cinéticas es frecuente que por practicidad se opere en condiciones que no son las de equilibrio y por lo tanto las de máxima eficiencia de recuperación (Risticovic *et al.*, 2011). Para el MTCS y la DCDD los rendimientos de extracción global son sólo de 0.6% y 0.2%, respectivamente, lo que era de esperar al ser compuestos más hidrofóbicos que el TCS.

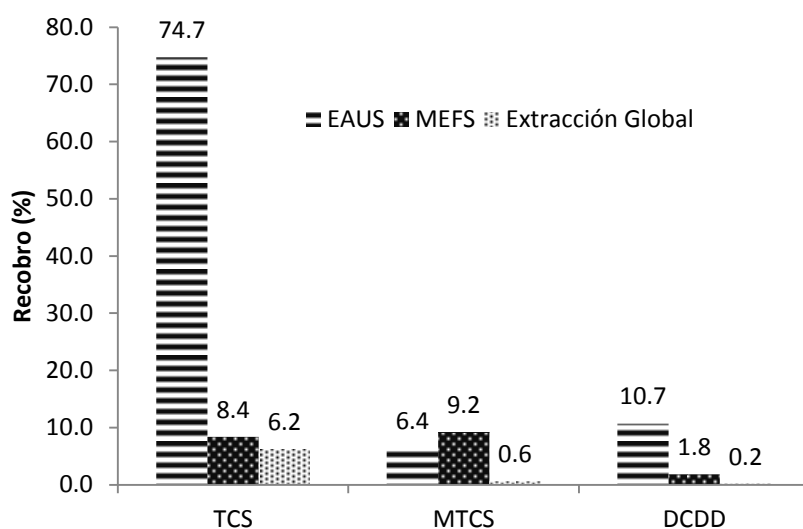


Figura 4.18. Recobro de las etapas EAUS y MEFS y de la técnica global para la extracción de TCS, MTCS y DCDD de sedimento.

Como se señaló en la parte teórica, el efecto de la adición del cosolvente es contrario en las dos etapas de extracción y reduce el recobro en la MEFS. Puede también producirse un “efecto matriz” por la presencia de compuestos orgánicos (posiblemente estructuras lipídicas y/o polifenólicas) en el extracto obtenido de la EAUS. Aunque la eliminación del ACN entre la EAUS y la MEFS podría aumentar el rendimiento global de la extracción, también incorporaría un procedimiento adicional de difícil control, un incremento muy significativo en el tiempo de procesamiento de las muestras y no eliminaría el efecto de matriz por otros compuestos extraídos.

Cuando los recobros son bajos la cantidad de analito que se introduce al sistema de análisis (CG-EM) es menor y puede comprometerse la detectabilidad. En estos casos es obligado hacer la calibración utilizando una muestra de referencia adicionada del analito para corregir el error en la exactitud debido a este factor. La incorporación de un estándar interno y/o un subrogado en el procedimiento coadyuva a mejorar la exactitud y la repetibilidad, como se muestra más adelante.

A partir de los datos experimentales de recobro y un pH del extracto cercano al pKa, con el modelo teórico se pueden calcular las constantes aparentes de reparto que tenemos en los sistemas de extracción: a) para la extracción de los sedimentos,  $\log K_D = 3.86$  y b) para la microextracción,  $\log K_D = 3.28$ . Esto concuerda con trabajos dedicados a la determinación de coeficientes de reparto en diferentes muestras de sedimentos y biosólidos:  $\log K_D = 3.61 - 3.97$  y  $\log K_{OC} = 3.99 - 4.09$  (p. ej. Agyin-Birikorang *et al.*, 2010 y Karnjanapiboonwong *et al.*, 2010).

#### 4.7.10. Linealidad.

En la Figura 4.19 se presentan los gráficos de la relación entre la respuesta cromatográfica, expresada como área y como AR, y la concentración de los compuestos de interés en las muestras de sedimento enriquecidas. Las áreas sin corregir por el EI se expresan como el cociente respecto al área obtenida con la concentración de  $1000 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  con el fin de reducir la magnitud en que se expresa el área por el integrador del equipo. En los mismos gráficos se presentan las ecuaciones obtenidas por regresión lineal y los coeficientes  $r^2$ . Estos resultados muestran que el procedimiento propuesto es lineal, tanto utilizando la respuesta sin corregir como con el AR al EI.

Con el fin de obtener las ecuaciones de calibración se realizó el análisis de regresión lineal de la relación  $C \text{ (ng}\cdot\text{g}^{-1})$  vs AR. En ningún caso se rechazó la hipótesis nula de ordenada al origen cero. Por lo tanto se realizó nuevamente el ajuste lineal, pero ahora forzando la recta a pasar por el origen. Los resultados de ambas regresiones se muestran en la Tabla IX.

Como era de esperar los valores de  $r^2$  y pendiente son prácticamente los mismos en ambos ajustes. Así, es posible utilizar los factores de respuesta relativos (pendiente) para cuantificar la cantidad de analito en los sedimentos. Cabe señalar que al calibrar utilizando un sedimento de referencia dopado con cantidades conocidas de TCS y con el uso del TCS  $^{13}\text{C}$  como EI el factor de respuesta incluye ya las correcciones por rendimiento de extracción y

por las diferencias de composición en sedimentos, ya que el compuesto marcado cumple también las funciones de un subrogado.

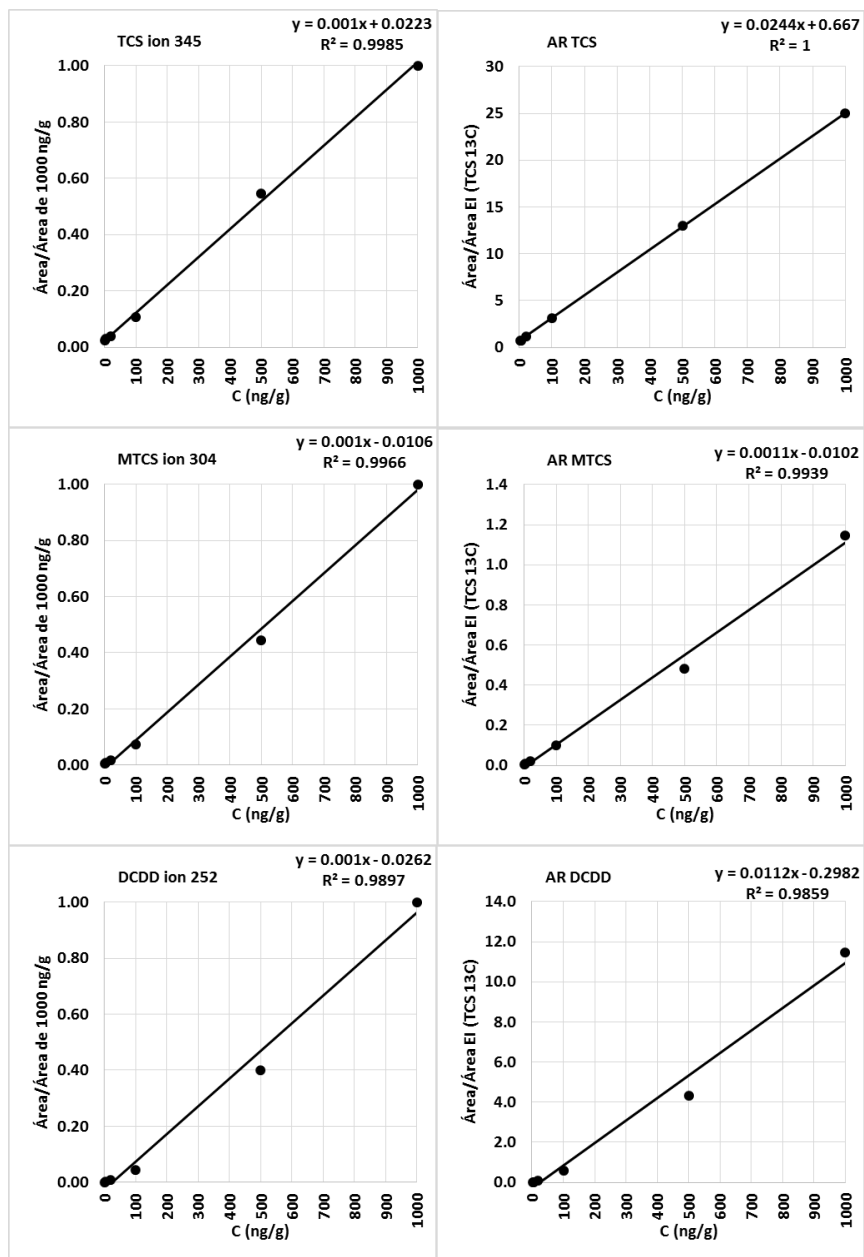


Figura 4.19. Linealidad del procedimiento global. Los gráficos de la izquierda corresponden al área sin corregir por la del EI. El ion utilizado para la integración se indica en la gráfica. Los de la derecha corresponden a las AR al TCS <sup>13</sup>C utilizado como EI. El ion de integración para el EI fue el de  $m \cdot z^{-1} = 357$ .

Tabla IX. Resultados de la regresión lineal sobre los datos C (ng·g<sup>-1</sup>) vs AR al EI en el intervalo de concentraciones 2 a 1000 ng·g<sup>-1</sup>.

Ajuste	y=mx+b			y=mx		
	TCS	MTCS	DCDD	TCS	MTCS	DCDD
r <sup>2</sup>	0.99997	0.99389	0.98592	0.99998	0.99567	0.98787
Ordenada	1.16	10.67	29.96	0	0	0
Pendiente	40.99	886.75	87.66	41.05	898.87	90.94

#### 4.7.11. Repetibilidad y límite de detección.

En la Tabla X se presentan los resultados de la evaluación de la repetibilidad y los límites de decisión, detección y cuantificación para los tres compuestos estudiados, estimados tanto sin el uso del estándar interno como con las AR. El uso del estándar interno mejora sensiblemente la repetibilidad y los límites de detección.

Tabla X. Repetibilidad y límites de detección.

Compuesto	Sin estándar interno			Con estándar interno		
	TCS	MTCS	DCDD	TCS	MTCS	DCDD
C (ng·g <sup>-1</sup> )	10	10	100	10	10	100
CV%	19	17	20	8.9	3.6	3.6
de	1.9	1.8	19.8	0.8	0.8	8.9
n	7	7	7	7	7	7
Ld (α=0.05)	3.7	3.4	39	1.5	1.6	17
LD (α=0.05)	7.5	6.8	77	3.0	3.3	35
LQ (Δ%=10)	19	17	198	7.6	8.4	89

Como los límites de detección se estiman con la desviación estándar de réplicas no sólo dependen de las características intrínsecas del procedimiento, sino que la sistematización y estandarización de las manipulaciones de laboratorio en la aplicación rutinaria mejora la repetibilidad y en consecuencia se reducen los límites de detección. Durante el desarrollo de la segunda parte de este trabajo se aplicó el procedimiento de manera sistemática, incluyendo el análisis periódico de dos muestras de sedimento de calibración de TCS (3.85 y 11.85 ng·g<sup>-1</sup>). Los resultados se muestran en la Figura 5.24. La desviación estándar en las réplicas de baja concentración (n=9) fue de 0.15 ng·g<sup>-1</sup> (CV%=3.8) y en las de alta (n=8) de

0.33 ng·g<sup>-1</sup> (CV%=2.8%). A partir de las réplicas de baja concentración se estiman los límites de decisión ( $\alpha \leq 0.05$ ), de detección ( $\alpha \leq 0.05$ ) y de cuantificación ( $\Delta = 10\%$ ), respectivamente: 0.27, 0.55 y 1.5 ng·g<sup>-1</sup>.

Con frecuencia en cromatografía se prefiere utilizar otro estimador, más relacionado con la detectabilidad de muestras individuales, que es la relación señal/ruido (S/R). Cuando se detecta un pico que tiene una altura mayor que dos (o tres) veces la amplitud del ruido, esa señal tiene una probabilidad ( $\alpha$ ) menor del 0.05 (o 0.01) de ser producto del ruido. Si los parámetros de identificación, como el tiempo de retención y la relación de los iones calificadores en CG-EM, son positivos se puede afirmar que el compuesto fue detectado. Cabe aclarar que esto corresponde que un pico que ya ha sido detectado tenga una probabilidad  $< \alpha$  de ser un falso positivo, es equivalente al límite de decisión (Ld). En cambio, el límite de detección corresponde a la concentración de analito para la que se tiene una probabilidad  $\alpha$  de obtener falsos negativos.

En la Figura 4.20 se muestran cromatogramas de cuatro muestras diferentes que satisfacen las condiciones de identificación, con concentraciones de TCS calculadas entre 0.5 y 0.6 ng·g<sup>-1</sup> y en los que la señal del triclosán es superior al ruido en tres veces o más. No es posible especificar un valor único para el umbral de detectabilidad con base en la señal/ruido debido a la variabilidad de las características entre muestras. Por ejemplo, las concentraciones determinadas de las muestras de la Figura 4.20 son cercanas, sin embargo los valores de la señal/ruido son notablemente diferentes. Esto se puede atribuir a la diferencia en las características de las muestras, principalmente al contenido de MO.

#### 4.7.12. Comparación con otras técnicas de extracción.

Otras técnicas de extracción asistida que se han utilizado se presentan en la Tabla XI. En esos casos después de la extracción de los sedimentos se realiza una extracción en fase sólida (EFS). Si bien utilizan una cantidad de disolventes orgánicos menor que los procedimientos tradicionales de extracción, es mucho mayor que la cantidad que se utiliza en la técnica que se propone en este trabajo.

La técnica global planteada ofrece repetibilidad y límites de detección similares a técnicas alternativas como las que se muestran en la Tabla XI, aun cuando los recobros de esas técnicas son altos ( $\geq 78\%$ ).

Tabla XI. Valores de recobro y límites de detección en técnicas de extracción de triclosán en sedimentos.

Técnica	Repetibilidad (%)	Recobro (%)	LD (ng·g <sup>-1</sup> )	Volumen total de disolventes orgánicos	Referencia
Extracción asistida con microondas (acetona-metanol) – EFS – CG-EM	6.5-11.5	78-106	0.4-0.8*	65 mL	Morales (2005)
EAUS (baño; isopropanol 80:20 agua) – EFS – CG-EM	10.6	84.2	70	48 mL	Bossio (2008)
Extracción con líquidos presurizados – EFS – CG-EM	6.3 9.36	93 78	1 0.1	No reportado (>30 mL)	Katz (2013) Pintado-Herrera (2014)
EAUS/MEFS/CG-EM	3.8	6.2	0.27	0.75 mL	Técnica propuesta

\*Con base en la relación S/R = 10

#### 4.7.13. Efecto del porcentaje de carbono orgánico en la muestra sobre el rendimiento de extracción.

Las variaciones en el recobro debido a las características de la muestra, principalmente al contenido de MO, también se ha observado en técnicas como extracción asistida por microondas y extracción con líquidos presurizados (Camel, 2000 & 2001; Mahugo-Santana, 2005).

Como se indicó en el marco teórico, el contenido de MO afecta el rendimiento de extracción EAUS con medio acuoso de acuerdo a la relación:

$$\%R_{ac} = \frac{100}{1 + \left[ \frac{K_D}{1 + 10^{(pH-pKa)}} \right] \frac{m_{sed} \times \%m_{org}}{V_{ac} \times 100}}$$

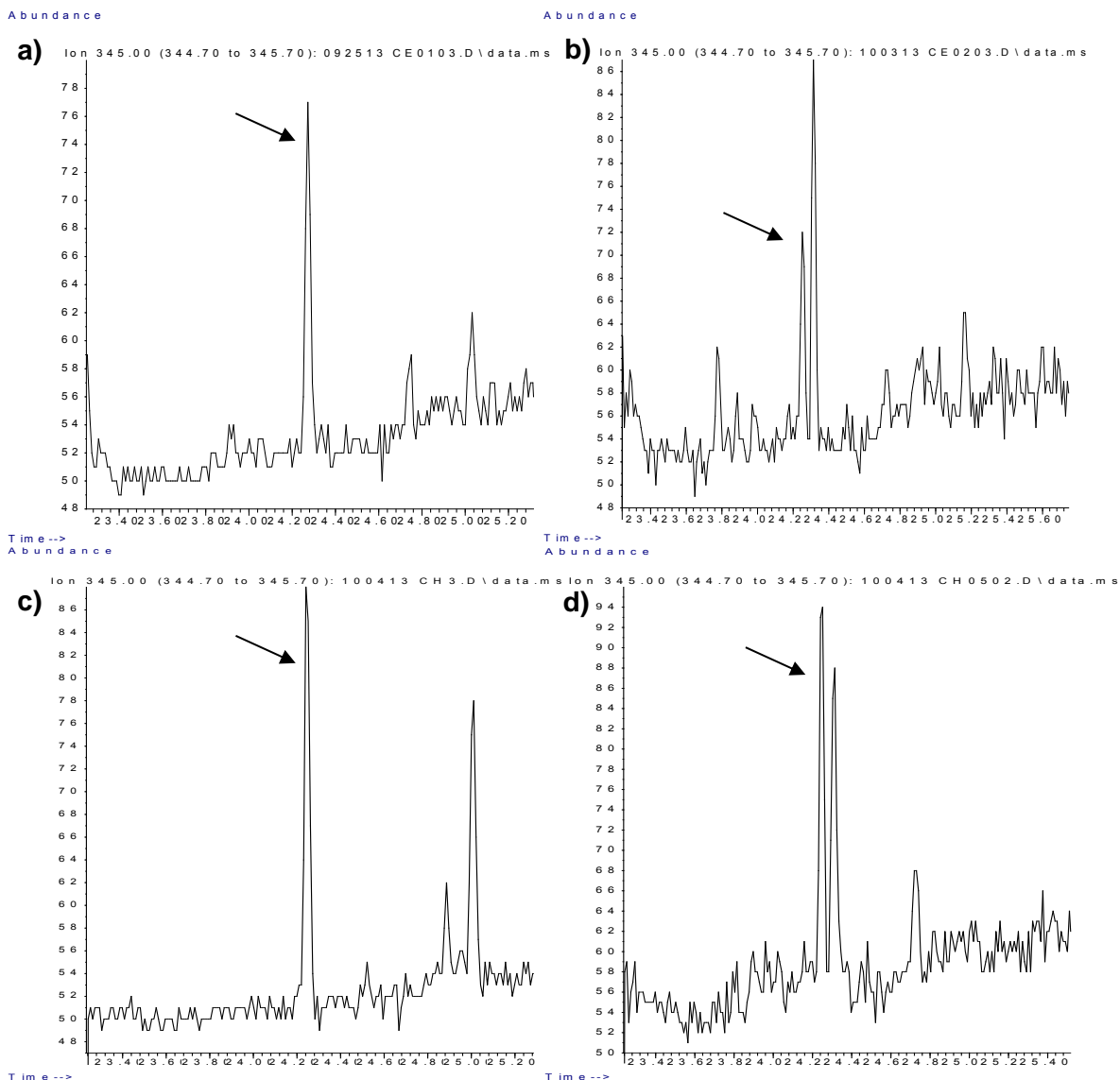


Figura 4.20. Cromatogramas del análisis de muestras de sedimento analizadas con la técnica de extracción EAUS/MEFS/CG-EM. Las flechas indican el pico identificado como TCS. a)  $C=0.59 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $S/R= 5.2$ ,  $CO=3.3\%$ ; b)  $C=0.59 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $S/R=3$ ,  $CO=7.6\%$ ; c)  $C=0.58 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $S/R=12.5$ ,  $CO=5.0\%$  y d)  $C=0.53 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ,  $S/R=4$ ,  $CO=4.4\%$ .

El rendimiento global será afectado en la misma proporción ya que es el resultado del producto de los rendimientos individuales de las dos extracciones (EAUS y MEFS). Este efecto puede estudiarse utilizando el TCS  $^{13}\text{C}$  como un subrogado, añadiéndolo en cantidad constante a muestras de sedimento con %CO diferentes y analizándolo con el procedimiento propuesto. El área cromatográfica es un estimador proporcional al rendimiento global y el

porcentaje de carbono orgánico (%CO), determinado por análisis elemental, del contenido de MO. Como todas las condiciones de extracción permanecen constantes, incluyendo la concentración del TCS  $^{13}\text{C}$ , la relación entre su área y el %CO reflejará la dependencia del rendimiento global en función de la cantidad de MO en los sedimentos.

De la ecuación anterior esta relación puede expresarse entonces como:

$$A_{TCS\ 13C} = \frac{A}{1 + B \times \%CO_{sed}}$$

Donde A y B son constantes que depende de las condiciones bajo las que se realiza la EAUS y la proporcionalidad entre el área y el porcentaje de rendimiento. Rearreglando la expresión:

$$\frac{1}{A_{TCS\ 13C}} = C + D \times \%CO_{sed}$$

Donde C y D son  $1/A$  y  $B/A$  respectivamente.

La relación entre el área del TCS  $^{13}\text{C}$  y el %CO así como el ajuste de la función anterior se muestra en la Figura 4.21 y Figura 4.22.

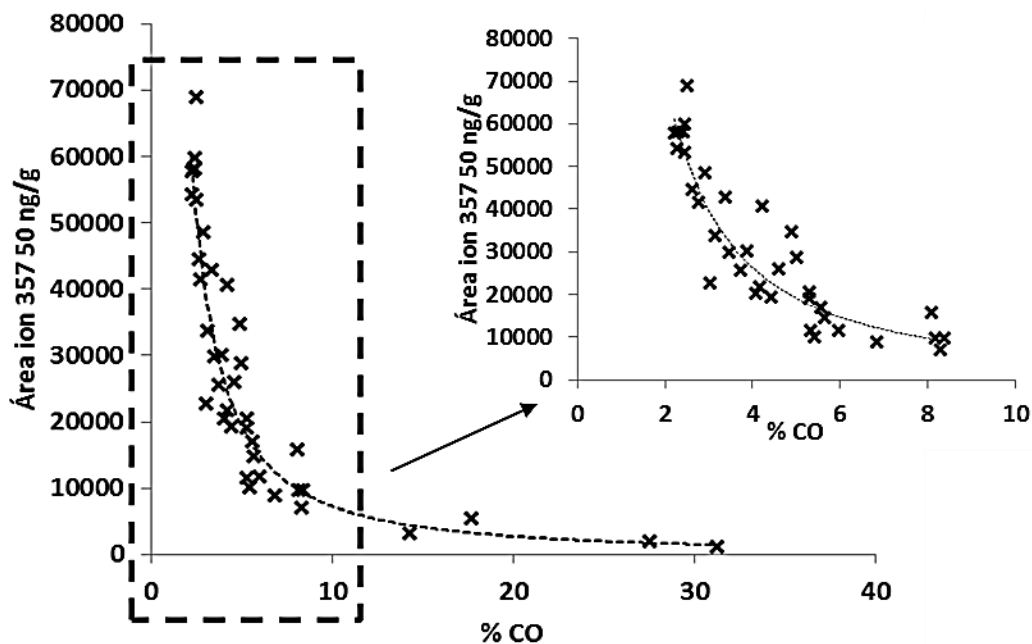


Figura 4.21. Relación entre el área del TCS  $^{13}\text{C}$  añadido como subrogado obtenida con el procedimiento de extracción propuesto y el porcentaje de carbono orgánico determinado por análisis elemental.



Los valores de los coeficientes de determinación son significativos al 95%, con lo que se comprueba que existe la dependencia propuesta entre el rendimiento y la cantidad de MO. La dispersión de los datos alrededor de la recta de ajuste es resultado tanto de la repetibilidad analítica como de la composición particular de la MO presente en cada muestra de sedimento. Estos resultados demuestran que el uso del TCS  $^{13}\text{C}$  como EI es imprescindible. Además, el uso de un EI permite corregir las variaciones de sensibilidad del espectrómetro de masas, que se producen al analizar series de muestras “sucias” como las de los extractos de sedimentos que casi invariablemente contienen compuestos que por su peso molecular alto quedan retenidos en CG y ensucian la fuente de ionización.

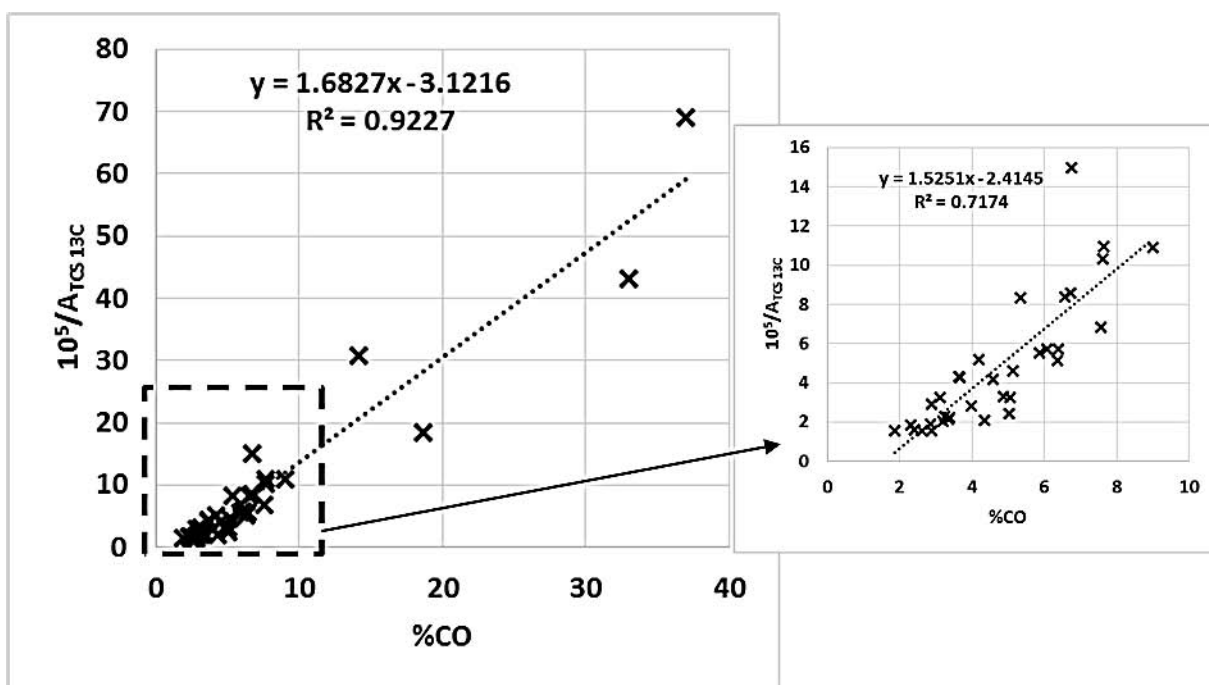


Figura 4.22. Ajuste lineal del inverso del área del TCS  $^{13}\text{C}$  añadido como subrogado obtenida con el procedimiento de extracción propuesto y el porcentaje de carbono orgánico determinado por análisis elemental.

#### 4.8. CONCLUSIONES

1. Se demostró que es posible realizar la determinación de TCS, MTCS y DCDD en sedimentos mediante un procedimiento secuencial EAUS/MEFS/CG-EM utilizando un disolvente acuoso como medio de extracción, reduciendo así el uso de disolventes orgánicos respecto a otras técnicas de extracción.
2. Se definieron condiciones de un procedimiento para la determinación de TCS, MTCS y DCDD en sedimentos mediante EAUS/MEFS/CG-EM que permite detectar el TCS en concentración menor de  $1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . Aunque los porcentajes de recuperación son bajos, el procedimiento es lineal y tiene una repetibilidad mejor que 5%.
3. Se demostró la proporcionalidad inversa del rendimiento de extracción frente a la cantidad de MO de las muestras.
4. Se demostró que es imprescindible el uso de TCS  $^{13}\text{C}$  como EI para obtener resultados confiables, ya que reduce las desviaciones durante el procedimiento que afectan la repetibilidad y las que provienen de las propiedades de las muestras analizadas, como la cantidad de MO.

## 5. DETERMINACIÓN DE TRICLOSÁN EN LA ZONA COSTERA DEL ESTADO DE YUCATÁN

### 5.1. INTRODUCCIÓN

Como ya se señaló en el capítulo de antecedentes, la zona costera del Estado de Yucatán está formada por una serie de sistemas lagunares costeros alimentados con agua dulce por la descarga del acuífero a través de múltiples ojos de agua. Están comunicados con el mar con entrada de agua gobernada por las mareas y por lo tanto tienen comportamiento estuarino. Son principalmente áreas de manglar de gran importancia ecológica. Las características del suelo de la península, la dinámica del acuífero, el manejo de las aguas residuales y de la basura inciden en que la zona costera sea vulnerable a la contaminación, aún de aquella que es producto de actividades que se realizan muchos kilómetros tierra adentro.

El TCS es un germicida de uso generalizado en una gran diversidad de productos, considerado un contaminante potencial, con efectos sobre crustáceos, peces y algas, que se ha detectado en el agua de cenotes y algunos ojos de agua de la zona costera (Kiel, 2012). Por sus características fisicoquímicas es más afín hacia los medios hidrofóbicos, como la MO, y podría estarse acumulando en los sedimentos de la zona costera.

Son muy escasos los estudios en México sobre la presencia de TCS en los diversos compartimentos ecológicos y, hasta ahora, ninguno que se refiere a los sedimentos de la zona costera. Se justifica entonces realizar estudios para conocer la distribución y concentración del TCS en los sedimentos de las lagunas costeras del Estado de Yucatán.

## 5.2. MARCO TEÓRICO

### 5.2.1. El acuífero de Yucatán y el transporte de contaminantes hacia la costa.

Las características geológicas como la presencia o ausencia de fracturas y cavidades, así como la densidad del subsuelo, determinan el tipo y flujo de movimiento locales del acuífero. El agua fluye de manera difusa a través de los poros del karst y por cauces definidos cuando lo hace a través de las fracturas o sistemas de cuevas. Se ha determinado que la conductividad hidráulica en la península de Yucatán va desde los  $10^{-4} \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  hasta  $1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$  (Worthington & Ford 2009). Por sus características hidrogeológicas el agua del acuífero fluye hacia la costa de la península, como se observa en la Figura 5.1. Dentro del anillo de cenotes, el agua subterránea fluye de forma radial hacia la costa y sus flujos principales y de mayor descarga son sobre la circunferencia del anillo hacia las costas (Bauer-Gottwein *et al.*, 2011).

La descarga del acuífero en la zona costera se calcula en  $29.5 \times 10^6 \text{ L}\cdot\text{día}^{-1}\cdot\text{km}^{-1}$  en forma de ojos de agua, manantiales y descargas no puntuales, alimentando a las lagunas costeras y diversidad de humedales (Escolero *et al.*, 2005). Así, los contaminantes infiltrados al acuífero, disueltos y (ad)/absorbidos en la materia en suspensión, son transportados hacia la costa.

### 5.2.2. Zona metropolitana de la ciudad de Mérida

La Ciudad de Mérida se encuentra en la parte central del área comprendida por el anillo de cenotes y la costa. Junto con el Puerto de Progreso y los municipios de Conkal, Kanasín, Uman y Ucú conforma la Zona Metropolitana de la Ciudad de Mérida (ZMCM), que es la de mayor concentración urbana con la mitad de la población del Estado y la mayoría de las actividades productivas industriales y de servicios. Es, por tanto, la fuente principal de descarga de contaminantes emergentes, como el TCS, hacia el acuífero. En estudios anteriores realizados en el laboratorio (Capella, 2011; Kiel, 2012) se reportó la presencia de TCS en el agua de pozos de la ciudad de Mérida y de cenotes del primer anillo, en concentraciones con mediana de  $\sim 80 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  (mínimo,  $17 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ; máximo,  $2.7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en cenotes y  $6.5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  en pozos). El TCS se encuentra en numerosos de productos de uso diario por lo que hay una descarga continua de TCS hacia la zona costera.

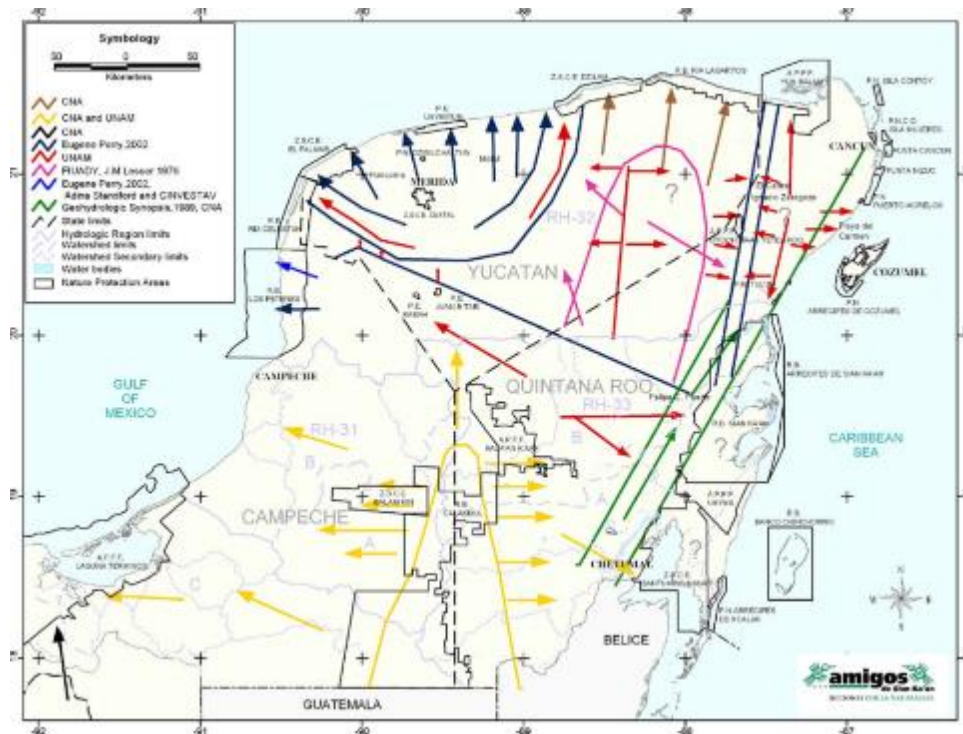
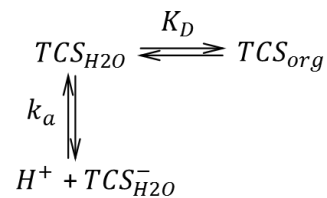


Figura 5.1. Mapa de consenso del flujo de aguas subterráneas a escala regional. Las flechas indican las direcciones de flujo de agua subterránea según la referencia correspondiente.

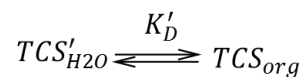
ASK (Amigos de Sian Ka'an), 2003.

### 5.2.3. Equilibrio químico.

Por sus características fisicoquímicas (solubilidad:  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{pK}_a$ : 7.9; y  $\log K_{OC}$ : 4.3) es razonable asumir que el TCS llega a la costa transportado en el agua del acuífero, disuelto y (ad)/absorbido en la MO en suspensión. Podemos describir esta relación con el mismo sistema de equilibrios presentado en la sección anterior:



Que puede representarse por el equilibrio condicional:



Donde  $K'_D$  es la constante condicional de reparto entre las fases y está dada por:

$$K'_D = \frac{|TCS|_{org}}{|TCS'|_{H_2O}} = \frac{K_D}{1 + (K_a/|H^+|)}$$

$|TCS'|_{H_2O}$  es la concentración total (ionizado y neutro) de TCS disuelto en el agua y  $K_D$  es la constante de reparto entre el agua y la MO de la especie no ionizada. En las condiciones fisicoquímicas del medio se ve afectada principalmente por la temperatura, la fuerza iónica y la composición química de las fases. A partir de la relación anterior podemos expresar la concentración de TCS en la MO como:

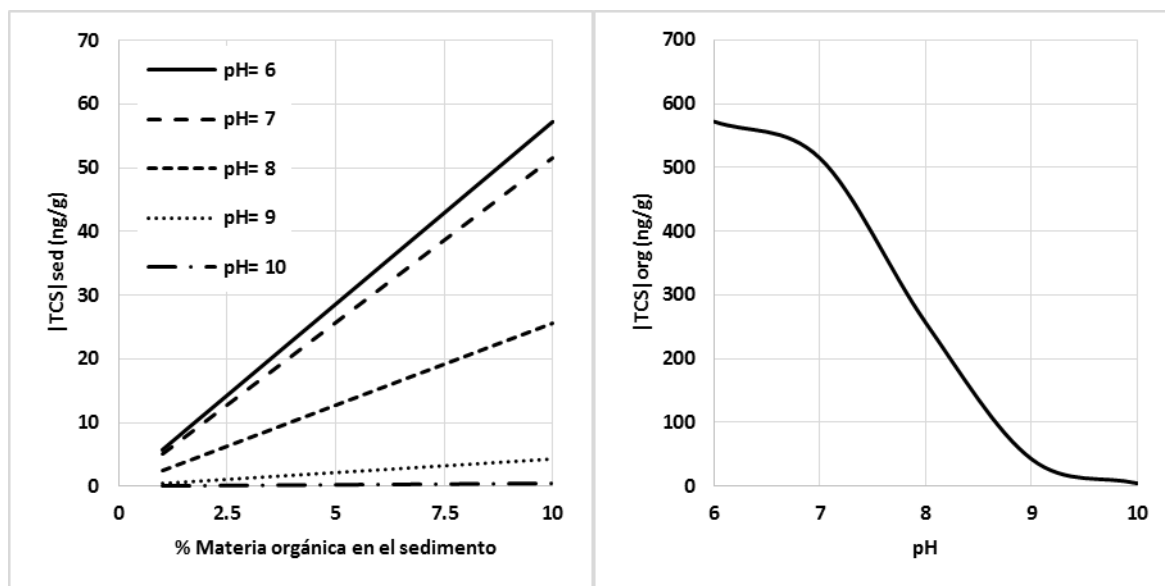
$$|TCS|_{org} = \frac{|TCS'|_{H_2O} \times K_D}{1 + (K_a/|H^+|)}$$

El valor de  $K_D$  puede estimarse con el de  $K_{OC}$ . Se han reportado valores de  $\log K_{OC}$  para TCS de 3.34 a 4.67 (p. ej. Singer *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2009; Karnjanapiboonwong *et al.*, 2010) y en el capítulo anterior de este trabajo se estimó un valor de 3.86 a partir del rendimiento de extracción del TCS en los sedimentos. Tomando ese valor, la mediana de los valores reportados de concentración de TCS en el agua de cenotes de  $\sim 80 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$  (Kiel, 2012) y el intervalo de pH de 6 a 9 esperado en las zonas costeras, se puede estimar el orden de concentraciones que se espera encontrar en los sedimentos (Figura 5.2).

#### 5.2.4. Sedimentación

En cuerpos de agua, el agua que fluye erosiona, transporta y deposita sedimentos. El proceso de transporte está controlado por dos factores: la turbulencia del agua y la velocidad de caída de cada grano individual. Las partículas de materia sólida que son barridas por la corriente turbulenta constituyen el material en suspensión, denominada carga de lavado, y está formada por partículas muy finas, especialmente limos y arcillas que son mantenidas fácilmente en suspensión, generalmente materiales con diámetro menor que 0.062 mm y que sólo en zonas de velocidades muy bajas pueden sedimentar (UNICAUCA, 2014).

La velocidad de caída aumenta con el tamaño de la partícula, suponiendo que su forma general y densidad permanecen iguales. Cuanto más grande es una partícula, más turbulento deberá ser el flujo que se necesita para mantenerla en suspensión. En cuanto la velocidad de la corriente disminuye por debajo del punto necesario para mantener el material en suspensión, la corriente comienza a depositar su carga suspendida (UNICAUCA, 2014).



%MO	$ TCS _{sed}$ ( $ng \cdot g^{-1}$ )					$ TCS _{org}$ ( $ng \cdot g^{-1}$ )				
	pH					pH				
	6	7	8	9	10	6	7	8	9	10
1	6	5	3	0.4	0.05	572	515	257	43	5
2	11	10	5	0.9	0.1					
5	29	26	13	2	0.2					
10	57	51	26	4	0.5					

Figura 5.2. Estimación de las concentraciones de TCS en sedimentos y en MO a partir del modelo de equilibrio químico planteado y los valores reportados en el agua de cenotes y pozos de agua.

La deposición es un proceso selectivo. Primero se asientan los materiales más gruesos, después, a medida que la velocidad continúa debilitándose, se van asentando materiales cada vez más finos. Por lo tanto, hay clasificación de los sedimentos en los cuerpos de agua causada principalmente por la acción del flujo y consiste en el agrupamiento de las partículas de sedimento que responden al flujo en una manera similar, al mismo tiempo, en la separación de aquellas partículas que responden al flujo en una forma diferente (UNICAUCA, 2014):

Las partículas entre 1 y 10 mm tienden a moverse por rotación sobre los granos más abundantes (arenas) y pueden ser transportadas rápidamente.

Las arenas de tamaño grueso a fino (0.0625 - 1 mm) se mueven por tracción y suspensión intermitente con deposición temporal en dunas y barras puntuales.

Los limos y arcillas ( $< 0.0625$  mm) se mueven principalmente en suspensión continua y pueden ser transportados rápidamente hasta la salida del cuerpo de agua o depositados en llanuras de inundación.

Sin embargo los procesos de suspensión, transporte y posterior deposición del sedimento no sólo dependen de las condiciones del flujo sino también de las propiedades del sedimento (UNICAUCA, 2014).

Los flujos más intensos de las zonas de estudio son algunos de los ojos de agua y canales cercanos que se forman por el flujo de agua. Aunque las corrientes no son tan intensas como en ríos debido a la falta de elevaciones, sí es posible diferenciar zonas de lavado y de sedimentación de acuerdo al tamaño de partículas de los sedimentos. Para las lagunas costeras de Yucatán (Chelem, Celestún y Términos) se han reportado tasas de sedimentación de 2 a 4  $\text{mm}\cdot\text{año}^{-1}$  (Gonnea, *et al.*, 2004).

#### 5.2.5. Materia orgánica en sedimentos

La cantidad de nitrógeno y carbono orgánico existente en los sedimentos dependen de la producción orgánica, de la tasa de sedimentación y del decaimiento bacteriano, y son parámetros útiles que se relacionan directamente con el contenido de MO. Además, es posible utilizar su relación molecular (C:N) para inferir, en una primera aproximación, el origen del material orgánico que compone el sedimento (Stein, 1991; Luque, 2003)

La MO en sedimentos de cuerpos de agua puede tener dos orígenes principales: procedente del fitoplancton y vegetación subacuática, y la procedente de plantas terrestres (Luque, 2003).

Convencionalmente, se ha establecido que los valores de C:N para los diferentes tipos de MO son (Silva & Astorga, 2010; Luque, 2003):

MO de origen fitoplanctónico: menor a 10-12. Rullköter (2000) reporta un índice entre 7-10 para sedimento fresco marino.

MO de plantas terrestres: generalmente mayor a 20 (Deevy, 1973).

Mezcla de los dos tipos anteriores: 10-20.

La MO antrópica tiene valores de la relación C:N muy variables. Si predominan las descargas de aguas residuales domésticas generalmente son bajos ( $\leq 5$ ), aunque pueden llegar a  $\approx 10$ , medido directamente en la descarga. La actividad microbiana sobre esta MO



modifica sustancialmente este índice por los procesos de nitrificación y desnitrificación (Henze & Comeau, 2008; Wang *et al.*, 2015). Si la descarga no es directa a un cuerpo de agua es difícil diferenciarla de la MO de otras fuentes, a menos que se midan otros parámetros como la razón isotópica de C, N y P (Faganeli, et al, 1988).

#### 5.2.6. Acumulación de triclosán en los sedimentos.

En la Figura 5.3 se ilustra un modelo simple de los procesos involucrados en la acumulación del TCS en los sedimentos de la zona costera. Ingresa al sistema desde el acuífero disuelto y ad/absorbido en el material particulado en suspensión. Se encuentra ahora en un sistema con mucha mayor abundancia de MO disuelta, suspendida y sedimentada. Se distribuye entre la fase acuosa, el material en suspensión y el sedimentado por los equilibrios de distribución entre fases. Se transporta en el sistema por el flujo neto de descarga hacia el mar en forma disuelta y en el material particulado en procesos de sedimentación-resuspensión, con lo que eventualmente se exporta hacia el mar. Si el resultado del transporte de masa, en la combinación de distribución entre fases y los procesos de transporte de partículas, es favorable hacia los sedimentos habrá acumulación en los sedimentos por la incorporación de MO nueva y las concentraciones serán cercanas a las de equilibrio. Si el compuesto se encuentra primordialmente disuelto y en el material suspendido, eventualmente terminará siendo exportado hacia el mar y las concentraciones en el material sedimentado serán menores que las del equilibrio de distribución.

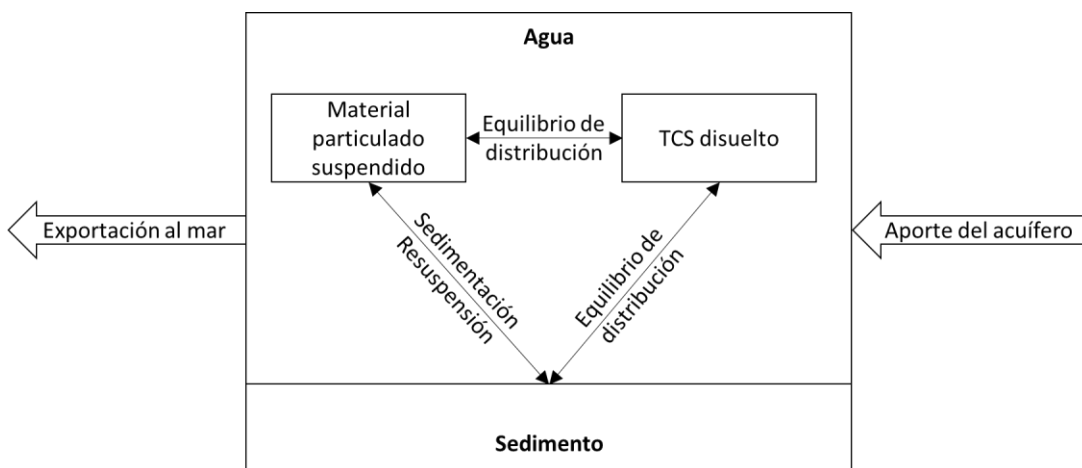


Figura 5.3. Modelo simple de transporte de TCS en la zona costera.

### 5.3. JUSTIFICACIÓN

En el Estado de Yucatán la mayor parte de las aguas residuales se descargan al subsuelo y se infiltran al acuífero, en el mejor de los casos después de haber pasado por fosas sépticas o algún tratamiento simple de oxidación. Por sus características hidrodinámicas el agua del acuífero descarga hacia la costa en afloramientos puntuales y en forma difusa en una cantidad estimada de 30 millones de litros diarios por kilómetro de costa (Escolero *et al.*, 2005). Existen dos estudios previos en agua de la península de Yucatán: en los laboratorios de la Unidad de Química en Sisal se encontraron concentraciones desde 17 ng hasta 2.68 µg de TCS por litro de agua de cenotes y pozos del Estado de Yucatán (Kiel, 2012); en el Estado de Quintana Roo se detectaron 181 ng·L<sup>-1</sup> de TCS en aguas del acuífero (Metcalf, 2011). Sin embargo no existen estudios sobre la presencia de TCS en sedimentos de la costa de Yucatán.

Como el TCS y sus productos de degradación pueden representar un riesgo ambiental para el delicado sistema de lagunas costeras de Yucatán es importante realizar estudios sobre la situación actual de este problema y con ello generar información para estudios de monitoreo y/o de regulación ambiental futuros.

### 5.4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

A partir del marco teórico anterior se plantearon las siguientes preguntas de investigación:

1. ¿Hay presencia de TCS y sus principales productos de degradación en los sedimentos de las lagunas de la zona costera del Estado de Yucatán?
2. ¿La concentración del TCS en los sedimentos está relacionada con la descarga del acuífero hacia la costa?
3. ¿La concentración de TCS en los sedimentos permite inferir que hay acumulación en los sedimentos?

## 5.5. HIPÓTESIS

Dado que se ha reportado la presencia de TCS en el agua de los cenotes y de acuerdo a lo presentado en el marco teórico, se plantean las siguientes hipótesis:

1. Hay TCS en los sedimentos de la zona costera del Estado de Yucatán.
2. La concentración de TCS en los sedimentos está positivamente relacionada con la influencia del agua del acuífero en las áreas de descarga.
3. Hay acumulación de TCS en los sedimentos de la zona costera del Estado de Yucatán.

## 5.6. OBJETIVOS

### 5.6.1. General

Determinar la concentración de TCS y sus dos principales productos de degradación (MTCS y DCDD) y relacionarla con la influencia de la descarga del acuífero.

### 5.6.2. Particulares

Recolectar muestras de sedimentos superficiales en lagunas costeras del Estado de Yucatán.

Medir los parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad, potencial redox, oxígeno disuelto) de la columna de agua en los puntos de muestreo.

Medir la granulometría de los sedimentos recolectados.

Determinar el contenido de carbono orgánico y nitrógeno en la fracción de limos y arcillas.

Analizar el contenido de TCS y sus metabolitos en la fracción de limos y arcillas.

Analizar los datos para clasificar los puntos de muestreo según las características fisicoquímicas de la columna de agua, la granulometría y el contenido de MO y relacionarlo con las concentraciones de TCS.

## 5.7. ÁREA DE ESTUDIO

Se seleccionaron como zonas de estudio las lagunas costeras de Celestún, Sisal, La Carbonera, Chelem y Dzilam, situadas a lo largo de la costa dentro del anillo de cenotes (Figura 5.4). Todas ellas tienen aportes de agua del acuífero a través de manantiales y se encuentran comunicadas con el mar.



Figura 5.4. Localización del área de estudio y las zonas donde se realizó la recolecta de sedimentos. Tomado de [www.yucatan.gob.mx](http://www.yucatan.gob.mx)

### 5.7.1. Ría Celestún

La Ría Celestún es una laguna costera situada en el extremo Oeste del anillo de cenotes entre las coordenadas  $90^{\circ} 19' 00''$  y  $90^{\circ} 25' 00''$  longitud Oeste y  $20^{\circ} 46' 00''$  y  $20^{\circ} 58' 00''$  latitud Norte. Está situada dentro de La Reserva de la Biosfera Ría Celestún, considerada reserva natural por la SEMARNAT. Tiene aproximadamente 22.5 km de longitud de norte a sur y 1.25 km de ancho promedio. Cuenta con diversos ojos de agua del acuífero dentro y fuera de la Ría que la alimentan. Presenta ciclos de entrada y salida de agua marina

gobernados por las mareas pero tiene un flujo neto hacia el sur hasta la interacción con el mar. Esta zona se considera una de las dos principales áreas de descarga del agua subterránea debido a las fracturas del anillo de cenotes (Bauer-Gottwein *et al.*, 2011).

Se encuentra adyacente del pueblo de Celestún el cual alberga 6,831 habitantes. Sus actividades principales son la pesca y el turismo por lo que tienen una mayor afluencia en fines de semana y temporada vacacional (INEGI, 2010).

El muestreo en esta zona consistió en 4 trayectos transversales desde la boca hasta al fondo de la Ría, con tres estaciones de muestreo cada uno. Además de un trayecto pequeño desde un ojo de agua hasta su desembocadura en la Ría. En las Tablas XII a XVI se describen con mayor detalle las estaciones de muestreo de cada zona. La Figura 5.5 muestra la ubicación de las estaciones de muestreo en esta zona y la Figura 5.6 imágenes de algunas estaciones.

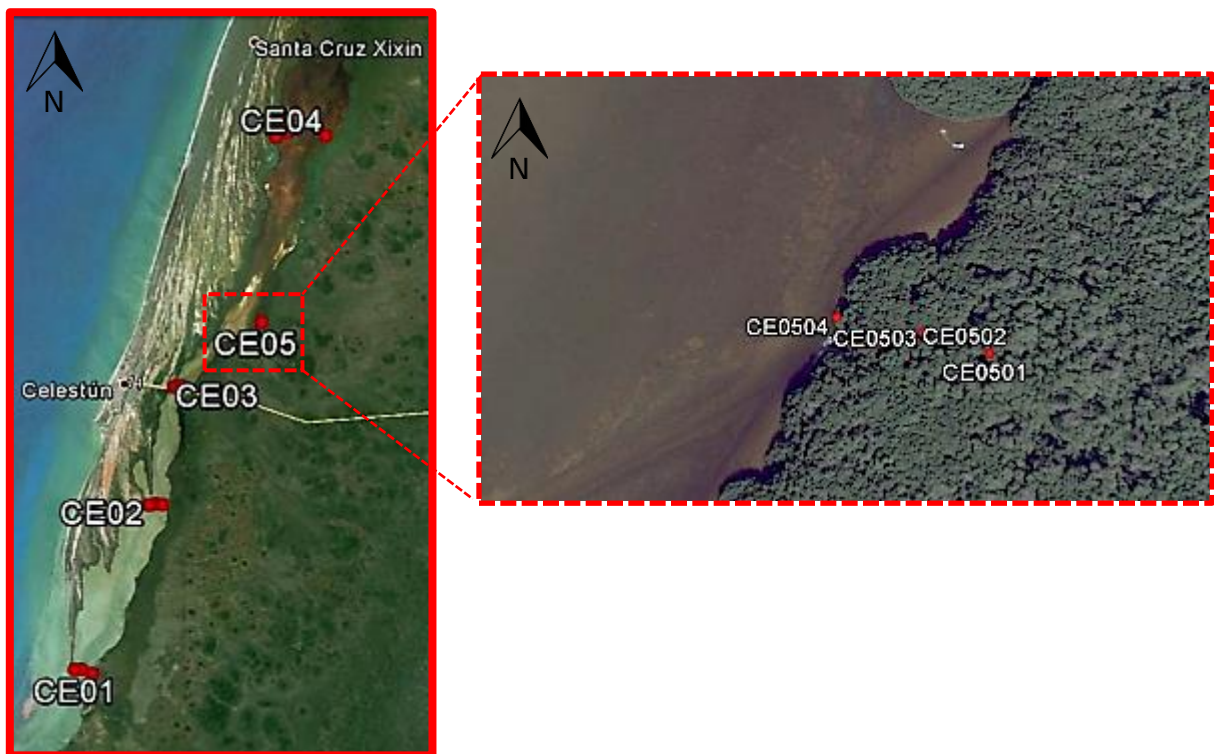


Figura 5.5. Ubicación de las estaciones de muestreo en la Ría Celestún. La imagen izquierda muestra las estaciones dentro de la Ría. La imagen derecha es un acercamiento del trayecto CE05, de un ojo de agua externo hasta su desembocadura en la Ría.

Tabla XII. Descripción de las estaciones de muestreo de Ría Celestún. Fecha de colecta:  
12/junio/2013.

Estación	Posición		Descripción
	N	O	
CE0101	20°46'35.1"	90°24'45.2"	Trayecto de Oeste a Este, perpendicular al largo de la Ría. Estaciones ubicadas en la desembocadura con el mar. Esta zona es la más influenciada por la entrada y salida de agua que son gobernadas por mareas.
CE0102	20°46'35.2"	90°24'37.4"	
CE0103	20°46'31"	90°24'25.6"	
CE0201	20°49'27.4"	90°23'22.1"	Trayecto de Oeste a Este, perpendicular al largo de la Ría. Estaciones ubicadas a 8 kilómetros de la desembocadura con el mar.
CE0202	20°49'28.8"	90°23'15.3"	
CE0203	20°49'27.9"	90°23'7.1"	
CE0301	20°51'30.8"	90°22'54.8"	Trayecto perpendicular a la Ría, de Oeste a Este. Estaciones ubicadas a 12 km aprox. de la desembocadura con el mar. Este trayecto está ubicado a menos de 140 metros del puente de la carretera federal que atraviesa la Ría. Son las estaciones más cercanas a la localidad de Celestún.
CE0302	20°51'31.2"	90°22'52.6"	
CE0303	20°51'32.2"	90°22'46.2"	
CE0401	20°55'52.1"	90°21'0.6"	Estaciones ubicadas a 21 km de la desembocadura con el mar, en un trayecto perpendicular al largo de la Ría. Es una zona ubicada en el fondo de la Ría, la más alejada de la boca de la laguna.
CE0402	20°55'57.2"	90°20'47.8"	
CE0403	20°55'53.5"	90°20'5.3"	
CE0501	20°52'38.7"	90°21'16.3"	Trayecto de aproximadamente 100 metros a partir de un ojo de agua y sobre el canal por el que fluye hasta la desembocadura en la Ría, a 16 km de la boca de la ría.
CE0502	20°52'39.2"	90°21'17.7"	
CE0503	20°52'39"	90°21'18.6"	
CE0504	20°52'39.6"	90°21'19.6"	



Figura 5.6. Estaciones de muestreo de Celestún.

#### 5.7.2. Sisal

El pueblo de Sisal se encuentra a 53 km al Noroeste de la ciudad de Mérida entre las coordenadas  $90^{\circ} 01' 15''$  y  $90^{\circ} 02' 55''$  longitud Oeste y  $21^{\circ} 09' 40''$  y  $21^{\circ} 10' 08''$  latitud Norte. Cuenta con una población de 1,837 habitantes, sus actividades principales son la pesca y el turismo promoviendo una concurrencia mayor en fines de semana y temporada vacacional (INEGI, 2010).

Parte de su ciénega adjunta pertenece a la Reserva Estatal El Palmar, declarada Humedal de Importancia Internacional (FIR, 2003). El muestreo se realizó en tres zonas cercanas al pueblo. En una zona de la ciénega contigua al pueblo, conectada con el puerto de abrigo y por lo tanto influida por los ciclos de mareas; en uno de los petenes cercano al pueblo que alimenta a la ciénega de manera puntual; y en un ojo de agua a unos 6 kilómetros al Este del pueblo, que proveía a instalaciones de acuacultura camaronera y actualmente fuera de operación, esta estación es la única que no se incluye en la Reserva El Palmar. La Figura 5.7 muestra la ubicación de las estaciones de muestreo en esta zona y la Figura 5.8 imágenes de algunas estaciones.



Figura 5.7. Ubicación de las estaciones de muestreo en Sisal. En la imagen superior se muestran las estaciones cercanas al pueblo. En la imagen inferior se ubica la estación SI07 en un manantial aproximadamente a 6 km al Este del pueblo.



Tabla XIII. Descripción de las estaciones de muestreo de Sisal. Fecha de colecta:  
24/junio/2013.

Estación	Posición		Descripción
	N	O	
SI01	21°09'29.4"	90°02'57.6"	El muestreo se realizó en una zona de la ciénega cercana a la población. Las estaciones corresponden a un trayecto de 800 metros aproximadamente. En el lado Oeste de la ciénega de Sisal, comenzando del primer a tercer punto es un canal entre manglar en la que se notó una corriente. A partir del punto 3 se llega a una zona despejada, sin manglar, por lo que la corriente se disipa y no es notoria. El sedimento es muy fino.
SI02	21°09'28.4"	90°03'2.8"	
SI03	21°09'26"	90°03'10.8"	
SI04	21°09'23"	90°03'13.2"	
SI05	21°09'14.6"	90°03'16.1"	
SI06	21°09'31.9"	90°02'22.8"	Es un peten que alimenta a la ciénega de Sisal de manera puntual, aunque no tenía un efluente apreciable. El sedimento era color café oscuro o negro, quizá con MO refractaria. También materia vegetal como ramas y hojas.
SI07	21°11'00.6"	89°58'43.2"	Es un estanque ubicado a 6 kilómetros aprox. de la localidad de Sisal con al menos tres ojos de agua con flujos vigorosos. Anteriormente proveía a una planta de acuacultura que funcionaba en la misma zona. Se forma un pequeño canal de 150 metros aprox. con dirección al mar, aunque no desemboca en él por la superficie, sino al parecer el agua vuelve a infiltrarse al subsuelo en la zona de dunas. El sedimento es muy grueso formado por restos de conchas, caracoles, etc., principalmente. Se mezclaron 2 muestras tomadas en la cercanía de los ojos de agua.

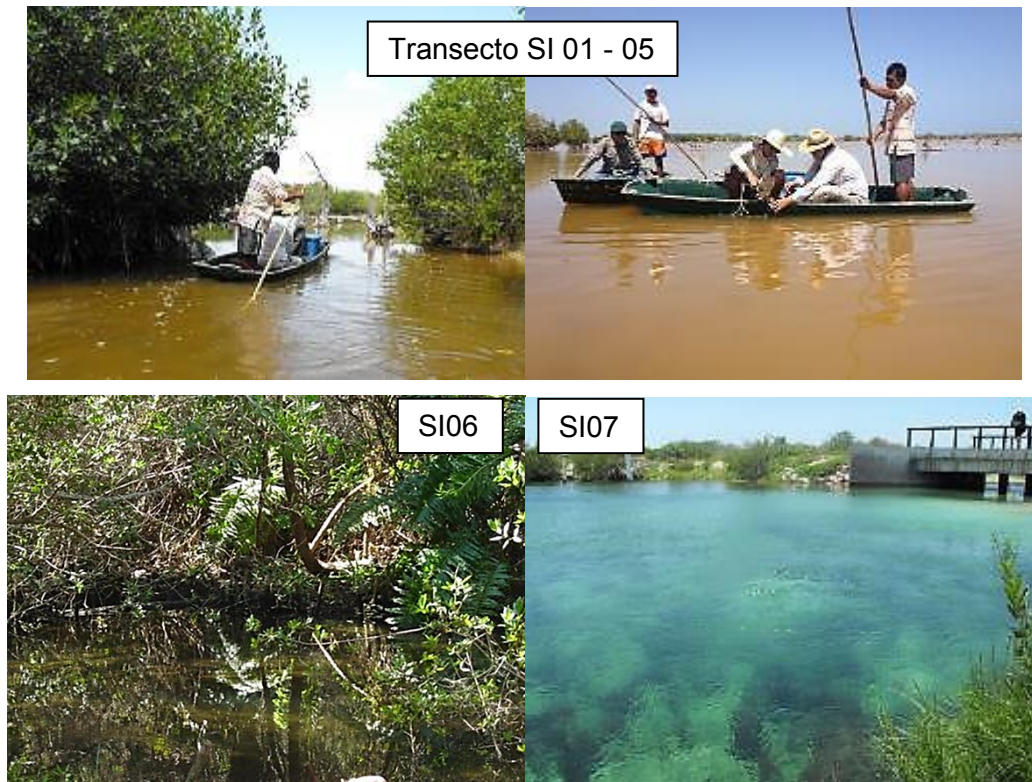


Figura 5.8. Estaciones de muestreo en Sisal

### 5.7.3. Laguna de La Carbonera

La laguna de La Carbonera, conocida como “La Bocana”, se encuentra a 42 km al Norte de la ciudad de Mérida, entre las coordenadas 89° 53' 00" y 89° 54' 00" longitud Oeste y 21° 13' 00" y 21° 14' 00" latitud Norte. Las localidades más cercanas son el pueblo de Sisal a 16 km al Oeste y a 9 km de la localidad de Chuburná hacia el Este. Es alimentada de agua del acuífero por varios ojos de agua, descarga hacia el mar y presenta entrada y salida de agua marina regida por las mareas (Camacho, 2011). La zona de muestreo fue un trayecto de 4 puntos desde el canal de descarga del ojo de agua principal de la laguna hasta la boca que une la laguna con el mar. La Figura 5.9 muestra la ubicación de las estaciones de muestreo en esta zona y la Figura 5.10 imágenes de algunas estaciones.



Figura 5.9. Ubicación de las estaciones de muestreo en la laguna La Carbonera.



Figura 5.10. Estaciones de muestreo en La Carbonera.

Tabla XIV. Descripción de las estaciones de muestreo de la boca de la laguna La Carbonera.

Fecha de colecta: 19/junio/2013.

Estación	Posición		Descripción
	N	O	
B1	21°13'57.2"	89°53'25"	Boca de la laguna de la Carbonera. Zona limítrofe entre la laguna y el mar. Entrada y salida de agua gobernada por mareas
B3	21°13'46.5"	89°53'26.2"	Localizada en el canal Oeste de la laguna. Zona de mezcla de agua de mar con agua de ciénega
B5	21°13'37.3"	89°53'42.5"	Zona intermedia entre el brote de agua y la salida al mar. Ubicada en el canal Oeste de la salida de agua del cenote.
B7	21°13'13.4"	89°53'52.5"	Se encuentra en la salida del cenote en donde se forma un canal de agua que fluye principalmente hacia el mar.

#### 5.7.4. Chelem

La zona de muestreo en Chelem fue la laguna costera que abarca las localidades de Chuburna, Chelem y parte de Puerto Progreso entre las coordenadas 89° 40' 00" y 89° 48' 00" longitud Oeste y 21° 14' 24" y 21° 16' 40" latitud Norte. Las localidades están rodeadas por un lado por esta laguna, y por el otro por el mar. Cuenta con diversos ojos de agua que la alimentan y se comunica directamente con el mar por el canal del puerto de abrigo por lo que su entrada y salida de agua están sometidas a la acción de las mareas. Es la región donde se encuentra la descarga del segundo anillo de cenotes que colecta agua del acuífero de Mérida (SEDUMA, 2010).

El pueblo de Chelem, el más cercano a la zona de muestreo, se encuentra a 45 km de la ciudad de Mérida y cuenta con una población de 3509 habitantes. Chuburna es un pueblo pequeño de pescadores a 56 km al norte de Mérida y a 20 km al Oeste de Puerto Progreso, con 1929 habitantes. La ciudad de Puerto Progreso está ubicada a 36 km al Norte de la ciudad de Mérida con 37,369 habitantes. Es el puerto principal de Yucatán por lo que tiene un tráfico de barcos y mercancías muy importante. Otras actividades de la zona son la pesca y el turismo, tanto local como extranjero, por lo que su población incrementa durante los fines de semana y temporada vacacional (INEGI, 2010).

El muestreo se realizó en las inmediaciones de tres ojos de agua dentro de la laguna, en una zona cercana a la ciudad de Puerto Progreso en donde se presume es la mayor descarga indirecta de aguas residuales por tener una población mucho mayor que las otras dos poblaciones y en la comunicación con el puerto de abrigo. La Figura 5.11 muestra la ubicación de las estaciones de muestreo en esta zona y la Figura 5.12 imágenes de algunas estaciones.

Tabla XV. Descripción de las estaciones de muestreo de la laguna de Chelem. Fecha de colecta 11/junio/2013.

Estación	Posición		Descripción
	N	O	
CH01	21°15'10.3"	89°45'22.2"	Estación en un ojo de agua en el lado Oeste de la laguna de Chelem y cercana a la orilla norte, cercana a la población. Flujo bajo poco perceptible.
CH02	21°14'51.9"	89°45'58.6"	Estación en un ojo de agua en el lado oeste de la laguna de Chelem, aproximadamente a la mitad entre las orillas Norte y Sur. Su flujo era visiblemente fuerte
CH03	21°14'46"	89°45'47.1"	Ojo de agua dentro de una pequeña cala, en el lado oeste de la laguna de Chelem y cercana a la orilla sur, lado contrario de la población. Flujo bajo, casi inapreciable.
CH04	21°16'31.3"	89°40'45.3"	Mezcla de tres puntos de un trayecto de 90 metros aproximadamente, ubicados del lado este de la laguna, muy cercanos a la población de Puerto Progreso en donde se presume hay un gran aporte de aguas residuales de esa localidad.
CH0501	21°16'7.8"	89°41'52"	Estaciones en el canal que comunica la laguna con el mar. Zona de mezcla por la entrada y salida de agua por la influencia de mareas. Aproximadamente 500 metros entre ambas estaciones.
CH0502	21°16'0.7"	89°42'6.9"	

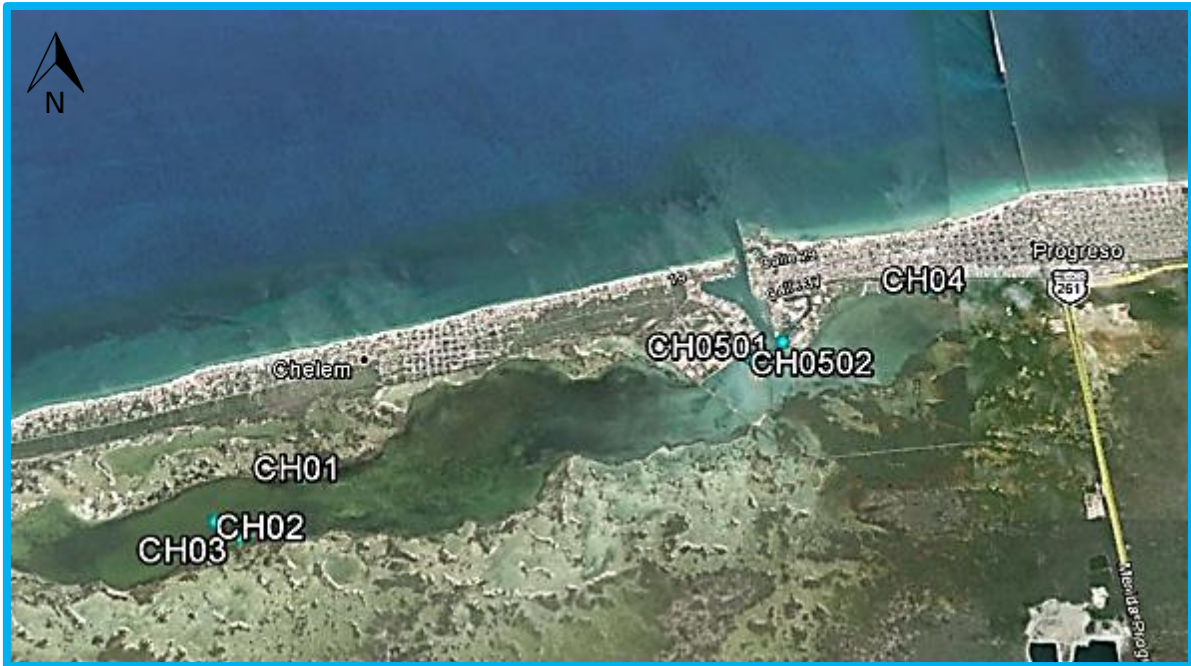


Figura 5.11. Ubicación de las estaciones de muestreo en la laguna de Chelem.



Figura 5.12. Estaciones de muestreo en la laguna de Chelem.

### 5.7.5. Dzilam

La zona de muestreo Dzilam está ubicada entre las coordenadas  $88^{\circ} 49' 00''$  y  $88^{\circ} 53' 00''$  longitud Oeste y  $21^{\circ} 23' 40''$  y  $21^{\circ} 24' 19''$  latitud Norte dentro de la Reserva Estatal Dzilam, declarada por la SEDUMA, en el extremo Este del anillo de cenotes, es la otra zona considerada como principal descarga del acuífero dentro del anillo de cenotes (Bauer-Gottwein et al., 2011). La localidad cercana a la zona de muestreo es Dzilam de Bravo. Tiene una población de 2,374 habitantes (INEGI, 2010) y como actividades principales están la pesca y el turismo en fines de semana y temporada vacacional.

Se tomaron muestras en el cenote "Xbulla", un ojo de agua del acuífero que brota dentro del mar aproximadamente a 500 m de la playa. Otra área donde se muestreó fue el cenote Elepetén en un trayecto siguiendo el flujo de descarga hasta la playa. Finalmente, se tomaron muestras en una zona de inundación inmediata al mar, al parecer influida tanto por las escorrentías en la temporada de lluvias como por las mareas. Hay que señalar que en el momento del muestreo en este último sitio sólo había lodos y los parámetros fisicoquímicos del agua se midieron en el mar en un punto cercano, por donde ingresa el agua de mar en la marea alta. La Figura 5.13 muestra la ubicación de las estaciones de muestreo en esta zona y la Figura 5.14 imágenes de algunas estaciones.



Figura 5.13. Ubicación de las estaciones de muestreo en la zona de Dzilam.

Tabla XVI. Descripción de las estaciones de muestreo en Dzilam. Fecha de colecta:  
10/junio/2013.

Estación	Posición		Descripción
	N	O	
DZ01A	21°24'18.2"	88°49'53.4"	Mezcla de 4 puntos alrededor de un ojo de agua que brota en el mar, el cenote "Xbulla" a 500 m aprox. de la playa. Con un flujo muy abundante y en la zona una corriente marina fuerte hacia el Oeste. El lugar tiene zonas en donde el sedimento era fangoso, aparentemente plantas en descomposición, y otras en donde el sedimento era grueso.
DZ01B	21°24'18"	88°49'54"	Muestra tomada a 20 metros aprox. a partir del cenote "Xbulla" hacia el Oeste siguiendo la corriente marina.
DZ02A	21°24'2.4"	88°49'33.3"	Mezcla de 4 puntos del cenote "Elepeten". Gran cantidad de materia vegetal muerta (hojas, ramas, etc.) que no se tomó con la muestra. Sedimento escaso.
DZ02B	21°24'6.8"	88°49'34.8"	Estación ubicada a 150 metros aprox. del cenote hacia la orilla del mar. El sedimento está en contacto con el flujo pequeño del agua proveniente del cenote y que corre en dirección a la orilla del mar. Mucha cantidad de materia vegetal muerta que no se tomó con la muestra.
DZ02C	21°24'13"	88°49'36.4"	Estación en la orilla del mar a 350 metros aprox. del cenote. Es una zona de inundación en donde descarga parte del agua proveniente del cenote. Se notaba la presencia de reacciones de descomposición.
DZ03	21°23'43.8"	88°52'32.7"	Mezcla de tres puntos de una zona de inundación. Zona lodosa influenciada por mareas y lluvias. Se notaba la presencia de reacciones de descomposición. Los parámetros del agua se midieron en el mar en un punto aledaño.





Figura 5.14. Estaciones de muestreo de Dzilam

## 5.8. METODOLOGÍA

La Figura 5.15 esquematiza la secuencia de procesos que se siguieron para el análisis de las muestras de la zona de estudio a partir de su recolección. El equipo, materiales y reactivos utilizados se detallan en las Tablas XIX a XXI del Anexo A.

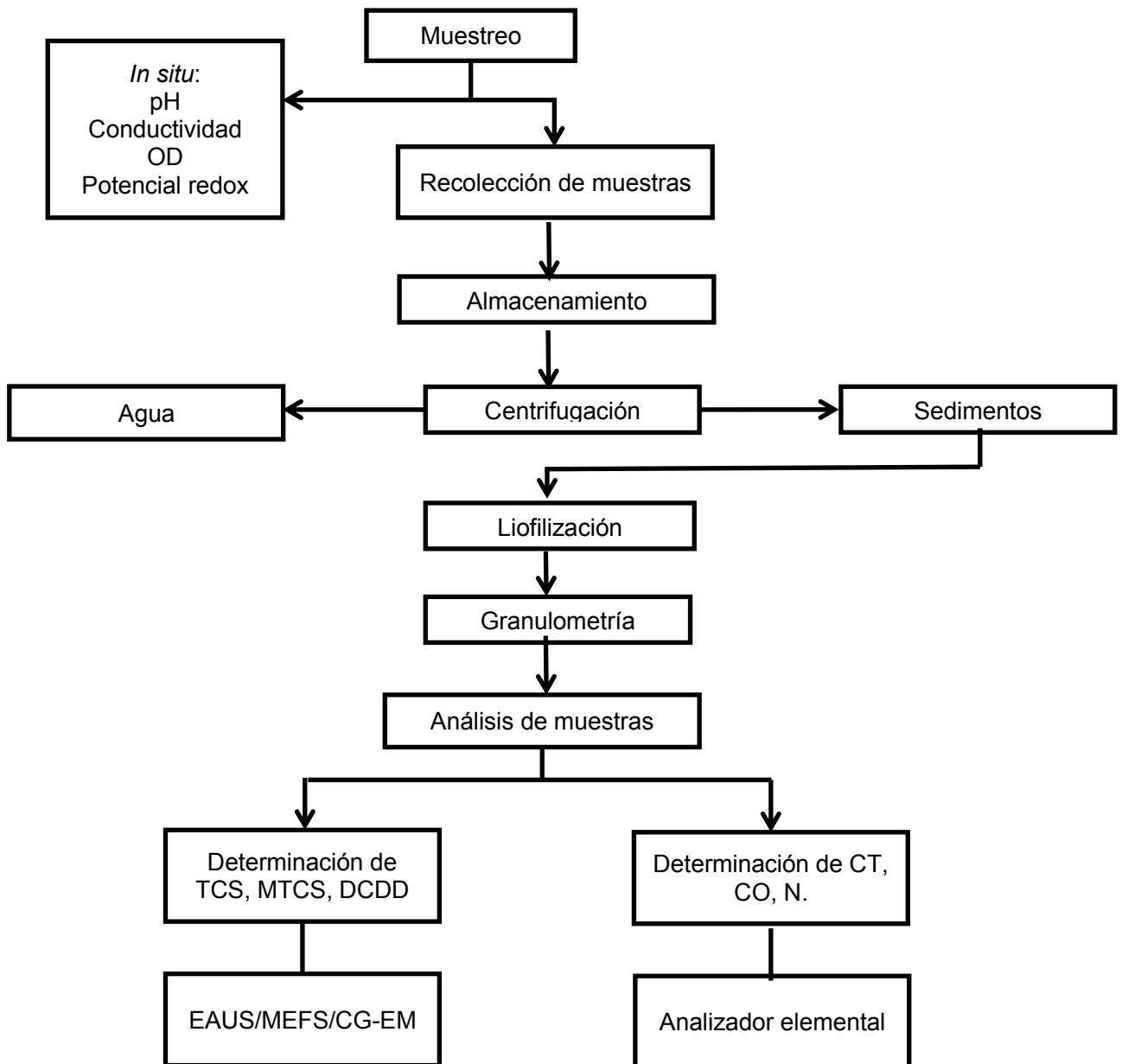


Figura 5.15. Desarrollo de los procesos para el análisis de muestras de la zona de estudio.

### 5.8.1. Colecta y conservación de muestras.

En el mes de junio de 2013 se realizó la recolección de muestras en las 5 zonas mencionadas, una zona por día. Los muestreos se efectuaron aproximadamente a la misma hora del día para minimizar el probable efecto de mareas. El material empleado fue debidamente lavado y enjuagado con agua destilada antes de su uso.

En cada estación, con ayuda de una pala o una draga, se tomaron sedimentos superficiales, en una capa de 0 a 5 cm de profundidad, y fueron depositados dentro de recipientes de PET previamente enjuagados por triplicado con agua de la estación. Los recipientes cerrados se mantuvieron en hielo hasta su llegada a la Unidad de Química en Sisal en donde se guardaron en refrigeración a 4°C hasta el día de su tratamiento siguiente, no más de una semana.

Para una mejor conservación de los sedimentos se eliminó el agua de cada muestra. Cada una de las muestras fue centrifugada para separar en lo posible el agua adjunta. Las muestras de sedimento centrifugado se congelaron a -80° C para posteriormente liofilizarlas y así eliminar toda el agua. Las muestras liofilizadas se mantuvieron en sus mismos envases de PET a 25° C ocultos de la luz hasta realizar la granulometría.

### 5.8.2. Parámetros fisicoquímicos.

Durante el muestreo, en cada estación se midieron los siguientes parámetros fisicoquímicos de la columna de agua mediante una sonda multiparamétrica:

Conductividad ( $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ )

Potencial óxido-reducción (mV)

pH

Oxígeno disuelto ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )

### 5.8.3. Granulometría.

Para determinar la granulometría de las muestras se tamizaron 100 g de sedimento por una serie de mallas con luz de 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, y 0.063 mm, que corresponden a gravas, arenas muy gruesas, gruesas, medianas, finas, muy finas y limos y arcillas respectivamente,

de acuerdo con la clasificación de Wentworth (1922). Se pesó cada una de las fracciones y se calculó el porcentaje de cada una de ellas.

#### 5.8.4. Determinación de C y N.

Se determinó el porcentaje de carbono total (%CT), carbono orgánico (%CO) y nitrógeno total (%N) en la fracción granulométrica de limos y arcillas por análisis elemental. La calibración del equipo se hizo con acetanilida. El carbono y nitrógeno totales se determinaron pesando exactamente entre 1 y 5 mg de muestra seca dentro de las capsulas de plata que se colocan en el muestreador automático del equipo.

Para determinar el carbono orgánico (CO) se siguió el procedimiento implantado en el laboratorio (Olivares, 2015), que es una modificación de las técnicas usuales (Lohse *et al.*, 2000; Ryba & Burgess, 2002; Fernandes & Krull, 2008) debido al alto contenido de carbonatos en los sedimentos de la zona costera de Yucatán. El procedimiento se describe a continuación:

Se llevan a peso constante viales de 40 mL. En ellos se colocan pesados con exactitud entre 100 y 500 mg de muestra. Se agregan 10 mL de ácido clorhídrico 1 M en porciones de 2 mL para evitar una producción incontrolada de espuma y con ello pérdida de muestra. Cuando el CO<sub>2</sub> termina de liberarse de la reacción del ácido con los carbonatos, las muestras se secan en los viales a 60° C por 12 horas y después a 105°C por una hora. Se dejan en contacto con el ambiente cubiertos con una hoja de papel bond durante un día para que las muestras se equilibren con las condiciones de humedad y temperatura del laboratorio. Se determina el peso de las muestras y se prosigue con la determinación de carbono con el analizador elemental. En este caso, los valores de porcentaje de carbono calculados por el equipo son en base húmeda, deben corregirse a base seca y referirlos al peso inicial.

El porcentaje de carbono inorgánico fue calculado como la diferencia entre el %CT y el %CO.

#### 5.8.5. Determinación de triclosán y sus subproductos

La determinación de TCS y sus subproductos se realizó en la fracción de limos y arcillas (<63 µm). Se utilizó la técnica implementada y validada de EAUS/MEFS/CG-EM descrita en el capítulo anterior. Las concentraciones se refieren al peso seco de la muestra.

La calibración se hizo analizando dos muestras de sedimento de control enriquecido, con concentraciones finales de TCS de  $3.85 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $11.85 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  junto con cada serie diaria de análisis de las muestras. Se utilizó el modo de monitoreo selectivo de iones del espectrómetro de masas. Se aceptó la identificación positiva de los compuestos de interés si se observaba una señal con una altura de más de dos veces el ruido y cumplía con las siguientes condiciones:

- a) Coincidencia mejor del 99.9% con el tiempo de retención promedio de los estándares de calibración, equivalente a una variación no mayor de  $\pm 0.02 \text{ min}$ .
- b) Presencia del ion de cuantificación y dos iones de cualificación.
- c) Coincidencia mejor del 70% en la razón de intensidades de los iones de cualificación respecto a la del de cuantificación.

La cuantificación se hizo con base en las AR al EI, con el factor de respuesta promedio calculado para los estándares de calibración.

#### 5.8.6. Análisis de datos.

Los gráficos y pruebas estadísticas se realizaron con el programa Statistica (StatSoft, Inc. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7).

## 5.9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.9.1. Consideraciones previas.

Los resultados completos de las mediciones realizadas en el trabajo de campo y en el laboratorio se encuentran en las Tablas XXII a XXV del Anexo B.

En el análisis de los datos se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones:

a) Los datos de los parámetros fisicoquímicos son una “instantánea” del estado de la columna de agua en el momento del muestreo. Las lagunas estudiadas son sistemas dinámicos, con influencia significativa de los ciclos mareales y de las temporadas climáticas. Sin embargo, los datos medidos en la columna de agua son útiles para esbozar el entorno en el que se encuentran los sedimentos. Todas las zonas se muestrearon alrededor de la pleamar.

b) Asumiendo una tasa media de sedimentación de 3 mm/año (Gonnea *et al.*, 2004) las muestras recolectadas (los 5 cm más superficiales) representarían lo acumulado en los últimos 17 años. Cabe señalar que en el año 2002 el huracán Isidoro y en 2005 el huracán Wilma impactaron la costa yucateca, con lo que la estructura de la capa más superficial de los sedimentos fue alterada. Es razonable suponer que los parámetros medidos en los sedimentos representan los valores medios de los últimos ~10 años.

c) Las zonas estudiadas son muy someras y hay dispersión importante de los sedimentos provocada tanto por los procesos físicos (mareas y vientos), la bioturbación y las actividades antrópicas como la pesca y el turismo.

d) La estrategia de muestreo no fue aleatoria, al contrario, se eligieron sitios que representaran distintos ambientes, principalmente las características estuarinas de las lagunas tomando como puntos “ancla” sitios que se anticipaba tendrían sólo aporte de agua del acuífero, sitios CE501, SI06, SI07, B7 y DZ02A que corresponden a manantiales y ojos de agua; y con aporte marino mayoritario (B1, CE101 a CE103 y DZ03). Los demás puntos se seleccionaron por su cercanía a manantiales de agua dulce o procurando tener trayectos de zonas dominadas por agua del acuífero hacia aquellas predominantemente marinas.

## 5.9.2. Parámetros fisicoquímicos en la columna de agua.

### 5.9.2.1. Conductividad.

Este parámetro refleja la cantidad de iones disueltos, por ello el agua de mar presenta valores mucho más altos en comparación con el agua dulce. En el acuífero de la Península de Yucatán, cenotes, pozos y petenes, la conductividad (C) se ha reportado desde 0.4 hasta 5  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  (Ortega, 2011; Kiel, 2012), mientras que en agua de mar la conductividad es mayor a los 50  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$  (Ruiz, 2011). Por tanto, en zonas de mezcla la conductividad será aproximadamente el promedio de los valores de las fuentes ponderado por la fracción volumétrica.

La Figura 5.16 muestra los valores de este parámetro de las 5 zonas estudiadas. Se aprecian con claridad las estaciones donde el agua es totalmente marina (B1, B3, B5, CH01, DZ02C y DZ03), con una conductividad promedio, de 67  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ , y aquellas que son francamente del acuífero (B7, CE501, DZ02A, SI06 y SI07), con un valor promedio de 4.6  $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ . El resto de las estaciones tienen valores que indican diferentes grados de mezcla. Los valores determinados son consistentes con las referencias señaladas.

Por zona de muestreo se observa que:

La Bocana:

Como se esperaba en el punto B7, que se encuentra en la descarga del ojo de agua hacia la laguna, la columna de agua está formada por agua del acuífero y el punto B1 por agua marina. Los puntos B3 y B5 no presentan características de mezcla, debido a que al momento de la toma de muestra había marea alta y no había empezado la temporada de lluvias y con ello la recarga del acuífero y entonces los gastos de descarga eran relativamente bajos. Se sabe que en este tipo de sistemas los efectos de las mareas y las lluvias son muy pronunciados (Medina-Gómez *et al.*, 2014).

Celestún.

Ría.

No hay puntos que se encontraran dominados por agua marina, ni por el agua del acuífero. Todos se encuentran en zonas de mezcla de aguas. En el trayecto transversal a la Ría de la serie CE0101 a CE0103, que se encuentra en la boca de la laguna hay predominio de agua marina (alrededor de 70%) y

en las series centrales CE0201-CE0203 y CE0301-CE0303 hay una menor proporción de agua marina (entre 30% y 40%), debido al aporte de los numerosos manantiales con descarga hacia la laguna. En la serie CE0401-CE0403 nuevamente aumenta la conductividad, pero no es debido a una mayor proporción de agua marina, ya que por esa zona es donde se presentan los mayores aportes de agua del acuífero (Vázquez-Lule *et al.*, 2009), sino a que es una zona muy somera con mucha evaporación y el consiguiente aumento en la concentración de las sales disueltas. En los trayectos transversales de las series CE0101-CE0103 y CE0401-CE0403 se observan gradientes de conductividad, posiblemente resultado de afloramientos locales del acuífero y/o de perfiles diferenciados de los flujos del agua marina y el agua del acuífero (Medina-Gómez *et al.*, 2014).

Manantial.

En el punto CE0501, que corresponde al manantial, la conductividad es característica del agua del acuífero. En los puntos del canal de descarga (CE0502-CE0503) la conductividad corresponde a la de una mezcla con 40%-50% de agua marina, que resulta del efecto de la pleamar que provoca que el agua de la Ría penetre en el canal.

Chelem.

En la laguna de Chelem la conductividad de la columna de agua en los puntos de muestreo varía desde valores con predominio del agua del acuífero (CH03) hasta agua claramente marina (CH01). En los demás puntos se presenta mezcla de aguas con predominio marino (CH02 y CH04) y con proporciones similares de ambos tipos (CH0501 y CH0502). Aunque los puntos CH01, CH02 y CH03 se encuentran en las inmediaciones de manantiales que afloran en el fondo de la laguna sólo el último presenta el valor esperado. Los otros dos presentan valores mayores, probablemente porque se encuentran azolvados y las descargas eran muy pequeñas, de hecho se localizaron sólo por las indicaciones de personas locales que conocen su ubicación. Los puntos CH501 y CH502 se encuentran en la entrada del canal de comunicación de la laguna con el puerto de abrigo y el mar, presentan valores de conductividad que corresponden a la mezcla de aguas en proporciones similares.



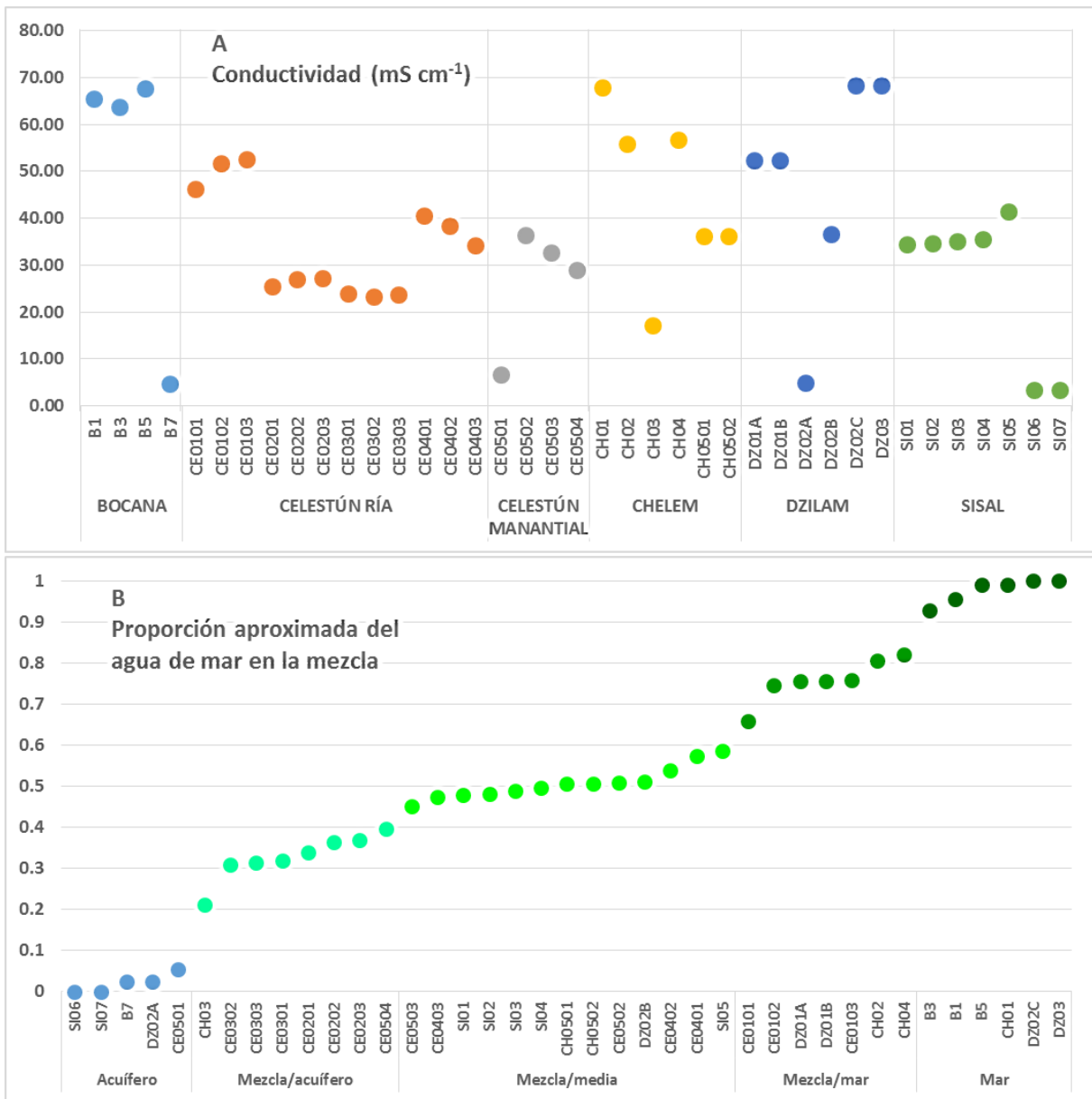


Figura 5.16. **A:** valores de conductividad en la columna de agua de los sitios muestreados clasificados por zona. **B:** ordenados por la fracción de agua de mar en la mezcla estimada con los valores de conductividad:  $f_x = (C_x - C_{\min}) / (C_{\max} - C_{\min})$ .

### Dzilam

La zona de Dzilam no corresponde a una laguna. Los puntos DZ01A y DZ01B corresponden a un manantial que brota en el mar cerca de la costa, los

valores medidos de conductividad indican que a pesar de que el gasto del manantial es apreciable hay un proceso rápido de mezcla (aprox. 75% de agua de mar) debido a la intensa corriente marina presente. Los puntos DZ02A-DZ02C muestran el gradiente de conductividad entre el manantial (A), a través del canal de descarga (B) y el mar (C). El punto DZ03 se encuentra en el mar inmediato a la playa y eso se muestra en el valor de conductividad medido.

#### Sisal

Los puntos SI01 a SI05 corresponden a la mezcla del agua marina que ingresa por la dársena del puerto de abrigo, la que aportan los manantiales cercanos y la que aflora por descargas no puntuales. La ciénega es muy somera ( $h \leq 50$  cm) y la altura de la columna de agua disminuye hacia el interior, por lo que el efecto de la evaporación es significativo y se refleja en un pequeño aumento de la conductividad entre los puntos SI01 y SI05. Los puntos SI06 y SI07 corresponden a manantiales y ambos tienen conductividades características del agua del acuífero.

#### 5.9.2.2. Potencial óxido-reducción, oxígeno disuelto y pH.

En la Figura 5.17 se presentan los valores de estos parámetros que se determinaron en los diferentes sitios estudiados. Sus valores están determinados por una combinación compleja de factores diversos, entre los cuales los más evidentes son: las reacciones ácido-base, el intercambio de  $O_2$  y de  $CO_2$  entre el agua y la atmósfera, la fotosíntesis y respiración, y la degradación microbiana de la MO (Mota-Ávila, 2011).

Se pueden hacer las siguientes observaciones sobre estos parámetros:

##### a) Potencial de óxido-reducción (POR):

Los sitios con valores de POR más reductores ( $< -50$  mV) fueron las estaciones DZ02C, DZ03 de Dzilam y en SI04 y SI05 de Sisal. En el primer caso corresponden a estaciones lodosas sin una lámina de agua por encima y donde era evidente la actividad de microorganismos reductores por el olor a sulfuros. El segundo son las estaciones más interiores de la ciénega de Sisal, muy someras y también con una evidente actividad de descomposición de MO. Los sitios con valores más oxidantes ( $> 100$  mV) no están asociadas al origen del agua pues se presentaron tanto en

estaciones con mayor influencia del agua marina (B5, CE0101, CE0102, CE0103, DZ01A y DZ01B) como en estaciones donde el agua es exclusivamente del acuífero (DZ02A, SI06 y SI07). Aunque la gráfica sugiere que en algunas localidades hay tendencias espaciales para este parámetro, por ejemplo hacia el interior de la ciénega en Sisal y de la Ría en Celestún se tienen valores más bajos.

#### b) Oxígeno disuelto.

Los valores más bajos se encuentran en los manantiales y petenes, donde el agua proviene sólo del acuífero ( $\approx 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Tienden a aumentar conforme se alejan de estos sitios y en el interior de las lagunas tienden a ser más homogéneos, con valores entre  $\sim 5\text{-}7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Los procesos de fotosíntesis y respiración seguramente juegan un papel importante en las variaciones dentro de este rango. Los valores mayores se encuentran en general en las estaciones con mayor aporte del mar, a excepción de las estaciones CE0302 y CE0402 cuyos valores tan alejados de los que tienen los sitios similares bien pueden ser el resultado de turbulencia provocado por el paso reciente de alguna lancha de pescadores y de los paseos turísticos, muy frecuentes en este lugar. Un caso que vale la pena señalar es el de la ciénega de Sisal (sitios SI01 a SI05). Aunque la conductividad y el pH son prácticamente constantes, tanto el POR como el oxígeno disuelto (OD) disminuyen hacia el interior de la ciénega, mostrando que el consumo de oxígeno es mayor que lo que se produce por fotosíntesis o difusión desde la atmósfera y, en consecuencia, se favorece el desarrollo de microorganismos reductores de la MO.

#### c) pH

Los valores extremos de pH corresponden por un lado a manantiales y petenes, estaciones donde el agua es casi exclusivamente del acuífero ( $\text{pH}\sim 6.5$ ), y en el otro extremo a las estaciones B1, B3 y B5 identificadas como marinas por su conductividad ( $\text{pH}\sim 8.5$ ). En los cursos de las descargas de los petenes de Celestún (CE0501 a CE0504) y Dzilam (DZ02A a DZ02C) el pH aumenta conforme el agua se aleja de la fuente por efecto de la mezcla con el agua marina. El resto de las estaciones presenta valores de  $7.0\pm 0.5$ . Aunque la reacción simple de neutralización por la mezcla de aguas debe ser importante, los procesos locales de fotosíntesis, respiración y degradación de la MO juegan un papel significativo pues los valores de pH son más homogéneos que los de conductividad.

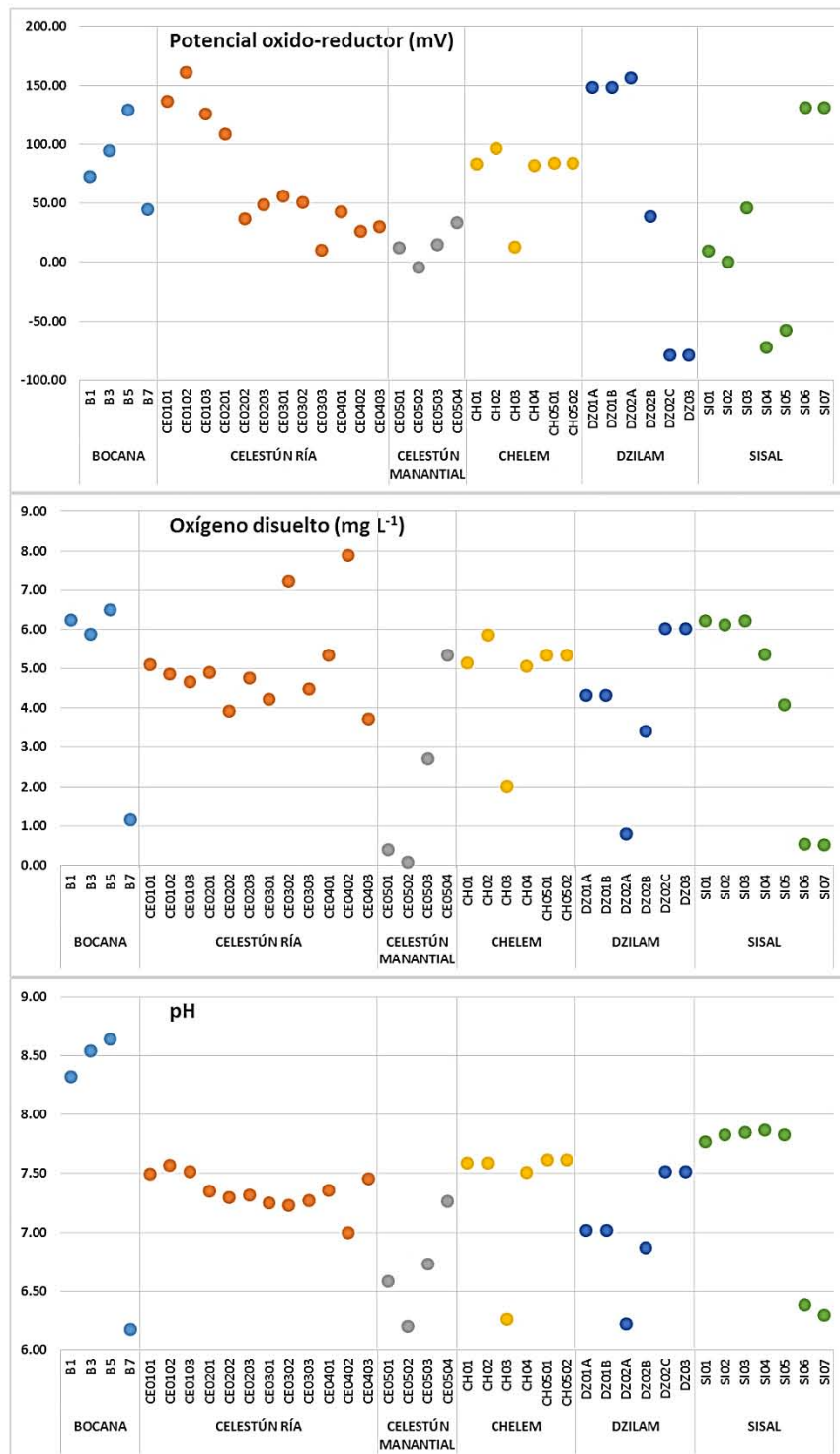


Figura 5.17. Valores de potencial oxido-reductor, oxígeno disuelto y pH en la columna de agua de los sitios muestreados clasificados por zona.

### 5.9.2.3. Relación entre los parámetros fisicoquímicos del agua.

Los resultados parecen indicar que los parámetros medidos están relacionados con las descargas del acuífero, además de la influencia particular de los procesos químicos y bioquímicos locales. Como la conductividad es el parámetro con la menor influencia de estos procesos y condiciones particulares, es el mejor parámetro para indicar la proporción de la mezcla de aguas y por consiguiente de la influencia del acuífero en cada sitio. Los coeficientes de correlación es una manera de comprobar si estas relaciones son significativas. En la Figura 5.18 se muestra la relación de pH, POR y OD con la C y los valores de los coeficientes de correlación de pH, POR y OD para el total de datos y por zona.

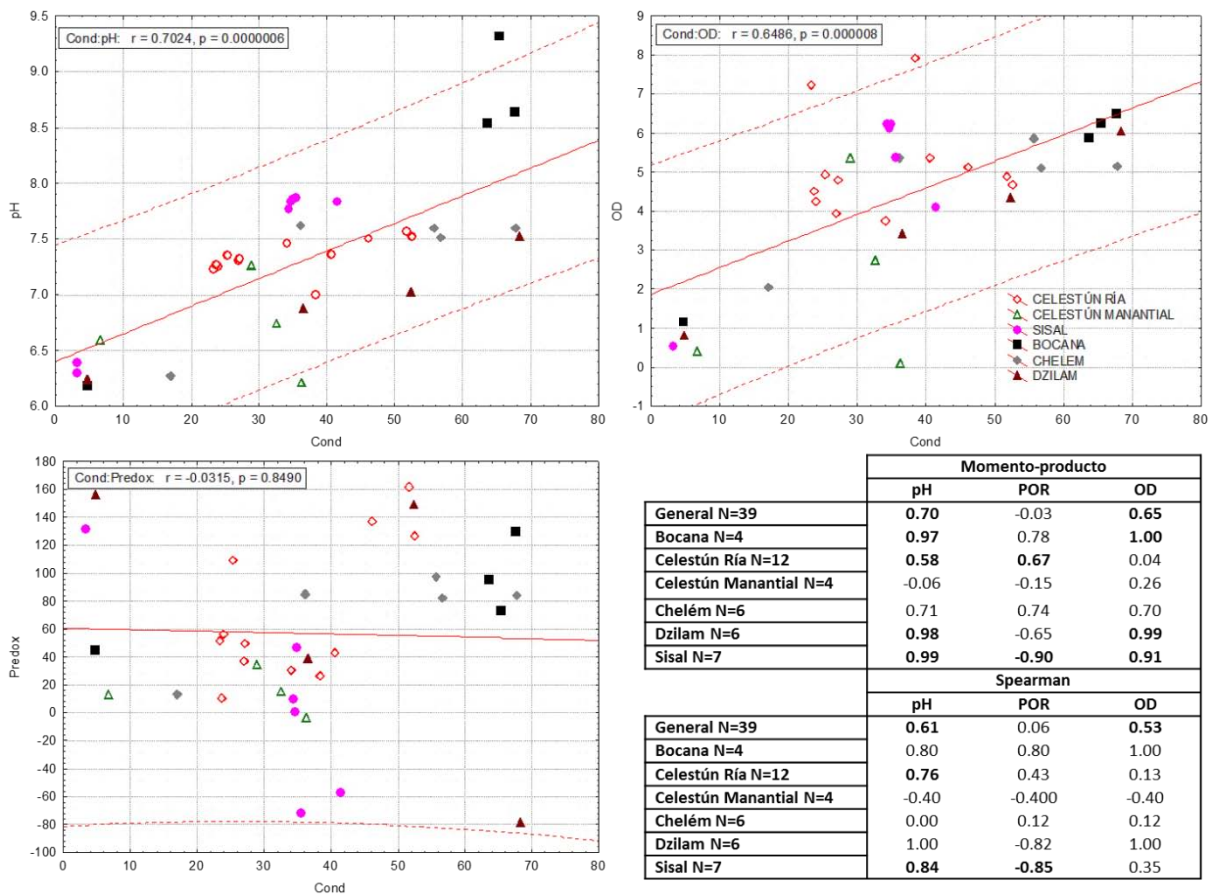


Figura 5.18. Correlación entre los valores de pH, POR y OD con la conductividad. Las líneas punteadas indican el intervalo de predicción. Los datos en negrita en la tabla de coeficientes de correlación indican valores significativos ( $p < 0.5$ ).

Globalmente hay una correlación significativa de la conductividad con el pH y el OD pero no con el POR. La dispersión vertical de los datos indica el efecto que tienen otros factores diferentes al de la mezcla de aguas. La interpretación de los coeficientes de correlación y su significancia en los datos agrupados por zona debe hacerse con precaución por el número reducido de datos. Sin embargo, sí se obtienen valores altos, cercanos a 1, para el pH y muy bajos para el POR. En el caso del OD las particularidades de cada zona son más evidentes. Por ejemplo, en la Ría de Celestún, donde se tiene el mayor número de datos, la correlación con la C del pH sí es significativa, pero no la del OD, que coincide con lo ya señalado de que los otros aportes de OD diferentes al de la mezcla de aguas son importantes. Una discusión más amplia sobre estas relaciones va más allá de la intención de este trabajo. Los parámetros de la columna de agua más importantes para los fines de este estudio son la conductividad, como indicador del aporte del acuífero, y el pH por su efecto sobre la distribución del TCS entre el agua y la MO.

#### 5.9.3. Textura de los sedimentos.

Una forma útil de estudiar las características del régimen de sedimentación es por medio de diagramas ternarios de las fracciones de sedimentos gruesos, medios y finos, similares a los triángulos de texturas usados para la clasificación de suelos. En la Figura 5.19 se muestra el diagrama agrupando las fracciones como: gruesos ( $S_{gruesos}$ ) = %gravas + %arenas muy gruesas + %arenas gruesas; medios ( $S_{medios}$ ) = %arenas medias + %arenas finas; y finos ( $S_{finos}$ ) = %arenas muy finas + %limos y arcillas. En este diagrama se puede observar que:

- a) Los puntos muestreados pertenecen a zonas diferentes, desde zonas de lavado intenso a zonas con sedimentación de finos, señaladas en el diagrama en el vértice izquierdo y superior, respectivamente.
- b) Las diferencias de régimen de sedimentación más amplias se presentan en las fracciones  $S_{gruesos}$  (~ 0% - 75%) y  $S_{finos}$  (~ 5% - 85%), en tanto que para  $S_{medios}$  las variaciones son menores (~ 20% - 55%).
- c) Por su posición en las zonas señaladas en el diagrama se distinguen tres grupos: predominio de fracciones finas, predominio de fracciones medias y predominio de fracciones gruesas.

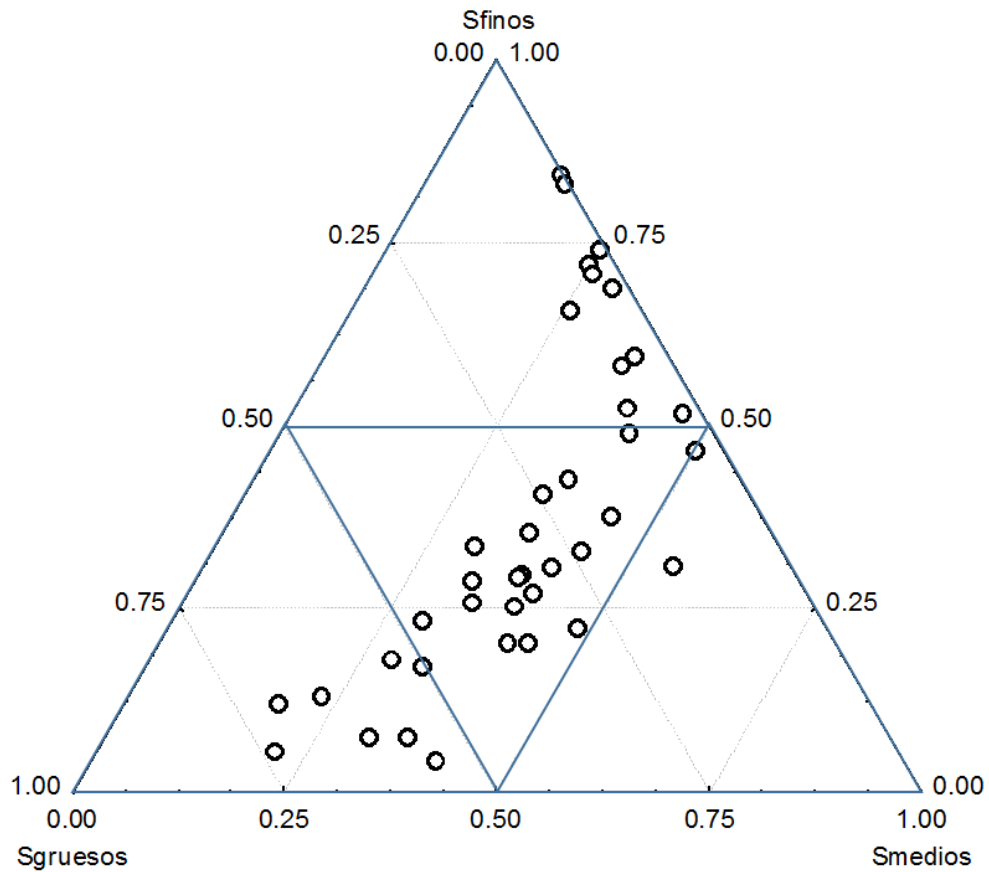


Figura 5.19. Diagrama ternario que muestra los regímenes de sedimentación de los sitios estudiados. Sgruesos = %gravas + %arenas muy gruesas + %arenas gruesas; Smedios = %arenas medias + %arenas finas; Sfinos = %arenas muy finas + %limos y arcillas.

Los tres grupos se muestran con más claridad en el gráfico de la Figura 5.20.

En la Figura 5.21 se muestra la proporción de la fracción de finos para cada punto, ordenados por zona de muestreo. Cabe observar que:

#### La Bocana

La proporción de finos es baja, menor de 30% y presenta un gradiente creciente entre la boca y la descarga del canal que viene del ojo de agua, lo que indica que la combinación de mareas, descarga del ojo de agua y escorrentía en lluvias tiene un efecto neto de exportación de finos hacia el mar.

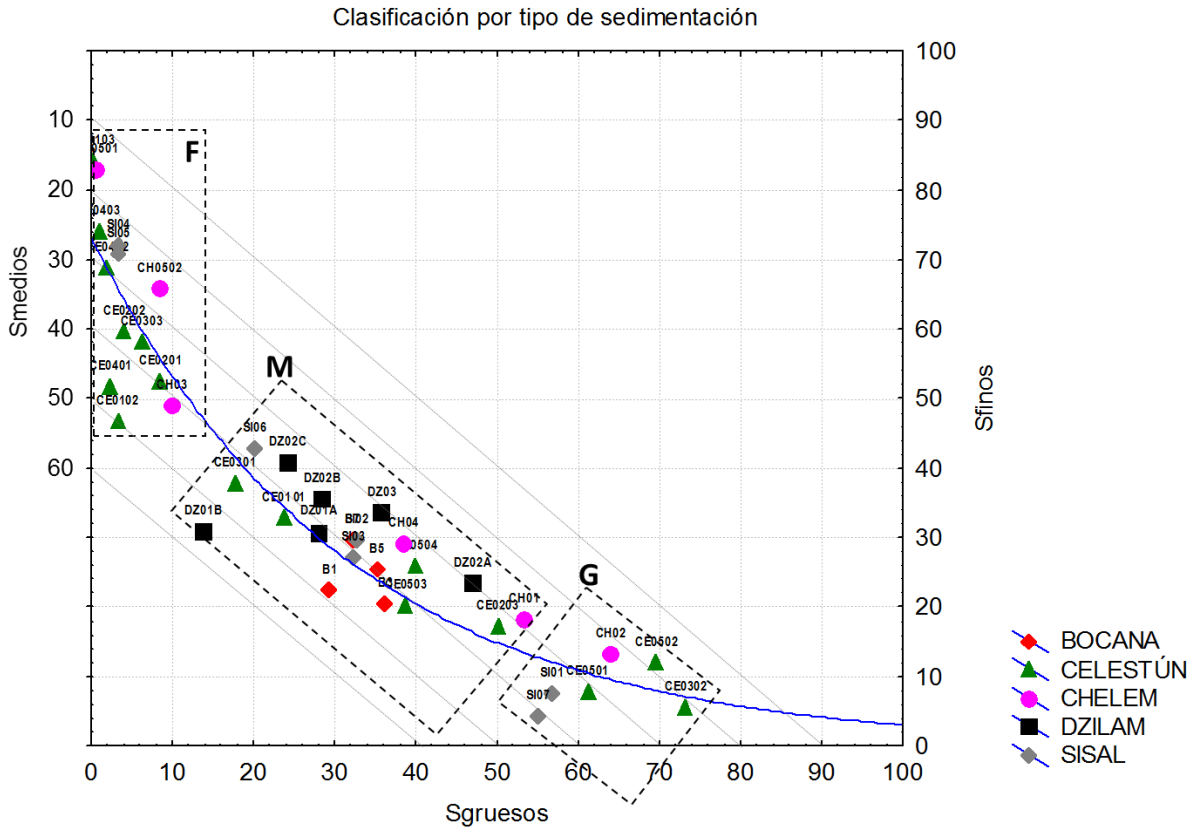


Figura 5.20. Clasificación de los sitios de muestreo por tipo de sedimentación. Las líneas diagonales corresponden a la escala de Smedios. F: sedimentación con predominio de las fracciones finas; M: predominio de fracciones medias y G: zonas de lavado con predominio de las fracciones gruesas.

## Celestún

### Ría

En primer lugar es notable la dispersión de los valores de la proporción de finos en los trayectos transversales a la Ría, resultado del perfil de flujos en el canal. Aunque en general predominan las fracciones finas de los sedimentos, el rango es muy amplio. La sección central es la que presenta la menor proporción de finos, es la más cercana al poblado y al embarcadero turístico, es la zona con más actividad en los recorridos turísticos.



## Manantial

En estos puntos, que corresponden al manantial (CE501) y canal de descarga hacia la Ría (CE502 a CE504), se observa muy claramente el gradiente que provoca la corriente de agua, lo que indica el lavado de finos hacia la Ría.

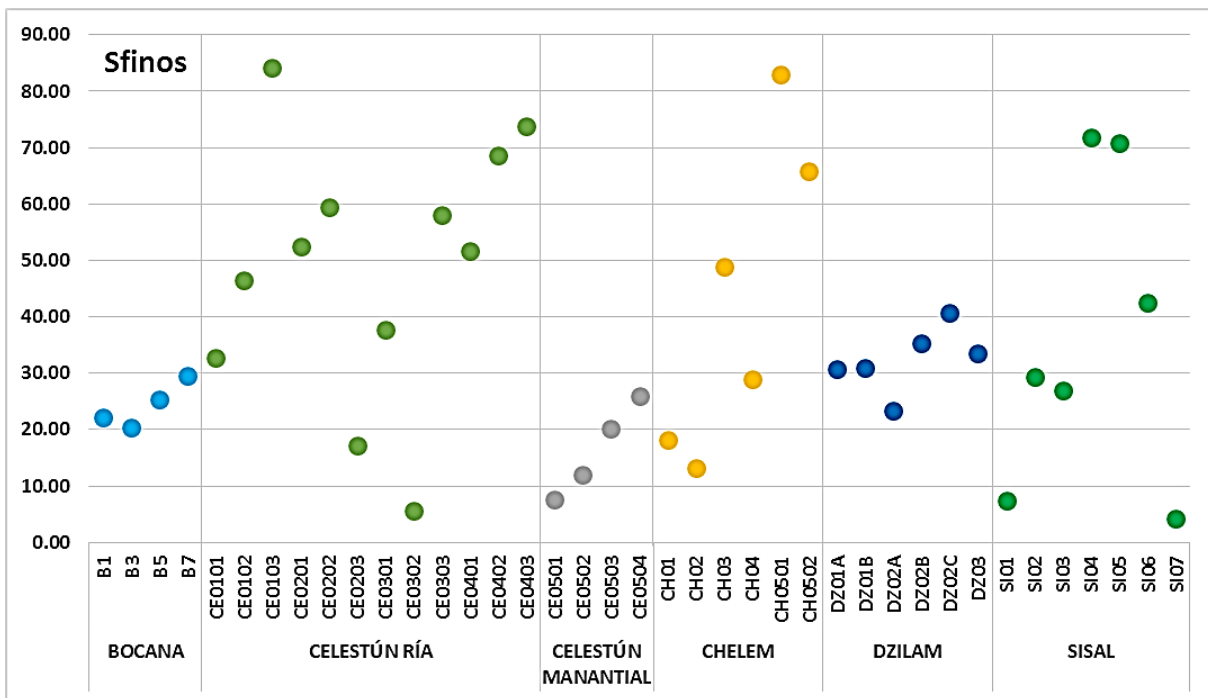


Figura 5.21. Valores de Sfinos (% arenas finas + % limos y arcillas) en los sedimentos de los sitios muestreados clasificados por zona.

## Chelem

Los sitios CH501 y CH502 son los que tienen una mayor proporción de finos, a pesar de que se encuentran en la comunicación de la laguna con el canal que la une con el mar. Estas estaciones se encuentran bajo el puente que cruza la laguna para unir Progreso con Chelem. En principio se esperaba que fuera un área de lavado de sedimentos por efecto de la marea. Seguramente, la pérdida de energía que provocan los pilares que soportan el puente en la corriente de agua de los ciclos de marea produce esta sedimentación de finos.

Los sitios CH01 y CH02 son zonas de lavado con una fracción de finos menor de 20% y los puntos CH03 y CH04 tienen valores intermedios, 30% y 50% respectivamente. Por la localización de estos puntos no son evidentes los factores que influyen en la sedimentación, que resulta de una hidrodinámica compleja, con diferencias locales importantes por la circulación provocada por las mareas y los afloramientos del acuífero (Arcega-Cabrera *et al.*, 2015).

#### Dzilam

Este lugar es el único de los estudiados que no es una laguna o ciénega. La proporción de finos es similar en todos los puntos, entre 20% y 40%. Sin embargo, cabe destacar que en los puntos que van del ojo de agua y por la descarga hacia el mar (DZ02A, DZ02B y DZ02C) se aprecia el gradiente de incremento de finos conforme la corriente fluye hacia la playa, donde termina filtrándose en la arena.

#### Sisal

En los puntos que van de la comunicación con el canal de acceso al puerto de abrigo hacia el interior de la ciénega se observa un gradiente muy pronunciado en el aumento de la fracción de finos. Esto indica que es un área de sedimentación que seguramente sólo en las temporadas de lluvias y nortes, cuando aumentan las escorrentías y la altura de la columna de agua, hay transporte de material hacia el mar.

El punto SI07 es un manantial del acuífero sin vegetación importante en las orillas y con una corriente de agua apreciable por un canal que descarga en la base de la duna que lo separa de la playa, por lo que no hay retención de finos en el cuerpo de agua que forma el manantial.

#### 5.9.4. Cantidad y origen de materia orgánica en los sedimentos.

En las zonas estudiadas la cantidad de MO en los sedimentos depende de múltiples factores, principalmente: la actividad biológica endógena y exógena, el transporte del material sólido por escorrentías, corrientes de descarga de los manantiales y mareas, y la eficiencia de remineralización de la MO. Por otra parte, el origen de la MO es primordialmente la productividad primaria local, tanto por pastos, algas y fitoplancton, como la ribereña, especialmente la producida por el manglar y otras plantas presentes en los

petenes (Stein, 1991; Luque, 2003). Como ya se mencionó, la relación molar C:N de la MO está asociada al origen. Los valores altos (>20) corresponden a origen de plantas terrestres (Deevy, 1973) y los valores bajos (7-10) a sedimento marino fresco (Rullkötter, 2000).

En los sitios de este estudio el tipo de MO (C:N) está relacionado con la cantidad (%CO). En la Figura 5.22 se muestra en forma gráfica la relación entre estos dos parámetros en los sitios analizados. En esta figura se observa que:

a) Las estaciones con la relación C:N mayor también tienen la cantidad de CO más alta. Corresponden a las que están localizadas en petenes (Figura 5.22 recuadro superior derecho). Esto indica que la MO en estos sitios proviene de la vegetación ribereña propia del petén, que el detrito es abundante y que hay una retención prolongada en el sitio hasta que es degradada a partículas finas que pueden ser exportadas hacia la laguna o remineralizada en compuestos solubles en agua (Luque, 2003). Por su origen tiene un contenido alto de materiales refractarios a la degradación (celulosa, ligninas). Las estaciones SI06 y DZ02A son petenes en los que hay presencia apreciable de algas y peces mientras que en los sitios B7 y CE501 no se observa lo mismo. Esto puede explicar que los valores de la relación C:N de SI6 y DZ02A sean ligeramente menores que las esperadas (C:N>20)

b) Las estaciones con menor cantidad de CO son también las que tienen las relaciones C:N más bajas (círculo inferior izquierdo). Esto indica que el origen de la MO en estos sitios es principalmente fitoplanctónico y de plantas subacuáticas (Rullkötter, 2000; Luque, 2003). Por la conductividad del agua son las que se identificaron como de ambiente marino, con excepción de SI07 que es un manantial donde el agua proviene exclusivamente del acuífero. Esta estación no es un petén y carece de vegetación en las orillas, pero hay abundantes algas.

c) El resto de las estaciones presenta relaciones C:N crecientes, lo que indica diversos grados de mezcla de MO, proveniente de plantas ribereñas y de fitoplancton y vegetación subacuática de producción endógena y aportada por el mar (Luque, 2003). La dispersión horizontal de los datos refleja las diferencias de producción de CO y de sedimentación en cada sitio.

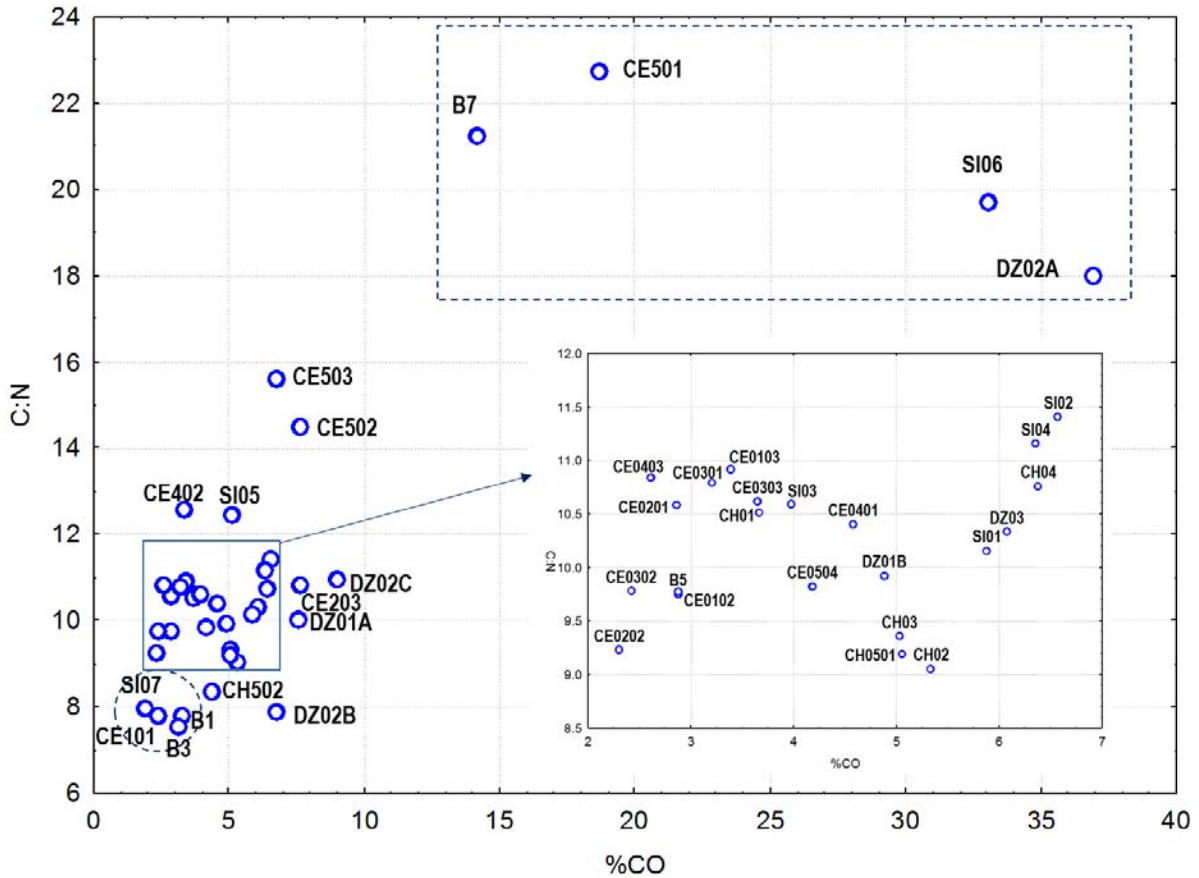


Figura 5.22. Clasificación de sedimentos por el contenido de CO y origen de la MO. El círculo indica las estaciones donde la MO es de origen fitoplanctónico y el rectángulo de línea discontinua las estaciones donde es de origen de las plantas ribereñas.

La Figura 5.23 muestra los valores de %CO, %N y de la relación C:N ordenados por localidad. Los perfiles de los tres parámetros para cada zona estudiada son muy similares y coincidentes con las observaciones generales anteriores.

Es interesante lo que se observa en el gráfico de la relación C:N en las zonas: Bocana, Celestún a lo largo de la Ría, Celestún en la descarga del manantial hacia la laguna y Sisal en las estaciones hacia el interior de la ciénega (SI01 a SI05). En estos sitios se aprecian tendencias de la relación C:N que muestran el transporte de MO de los petenes hacia las lagunas, donde es consumida, remineralizada y exportada hacia el mar.

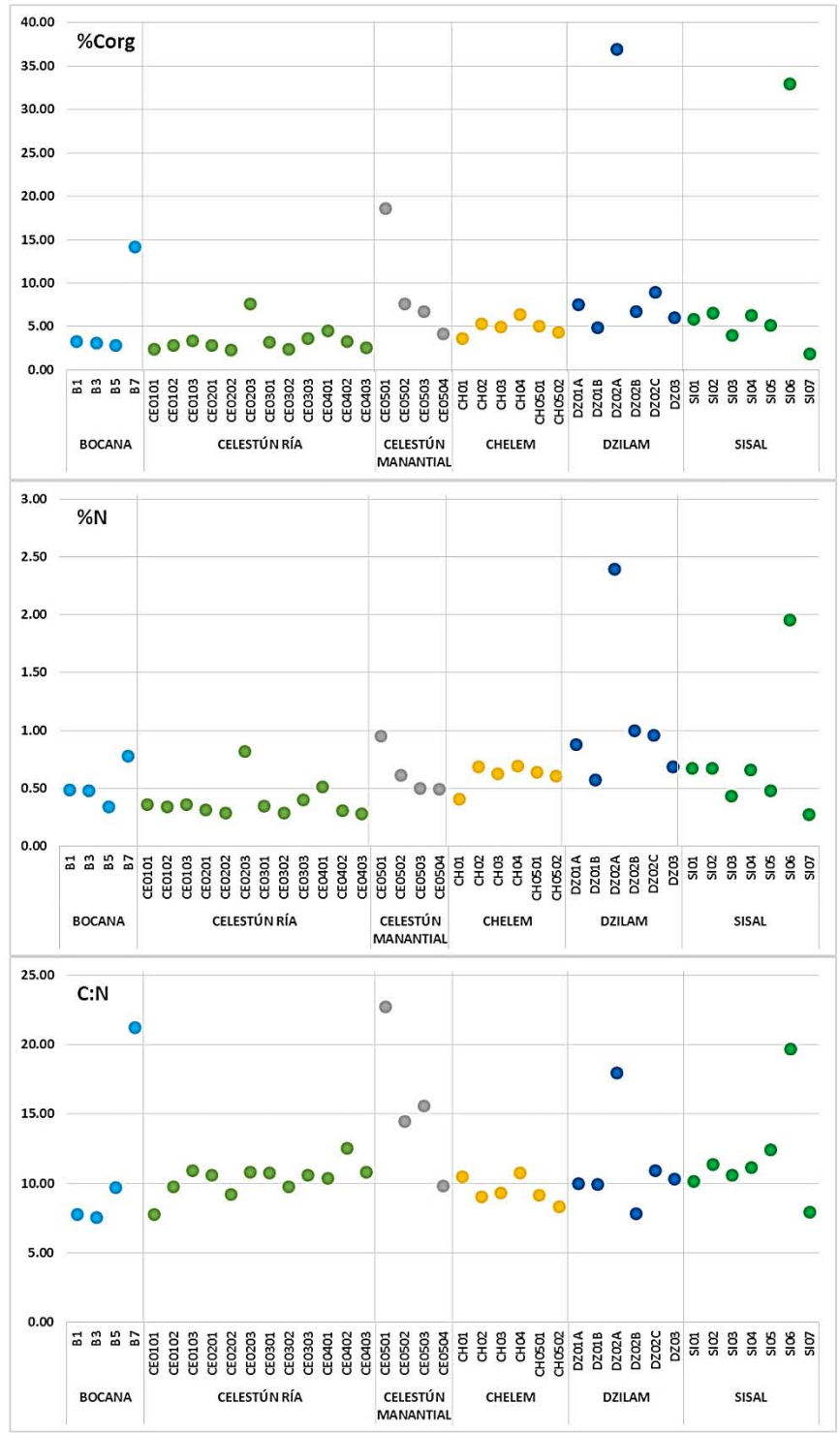


Figura 5.23. Valores de %CO, %N y C:N en los sedimentos de los sitios muestreados clasificados por zona.

#### 5.9.5. Triclosán.

En ninguna de las muestras se detectaron MTCS o DCDD. Una razón es que se encuentren en concentración inferior a la que produce una señal analítica que se identifique como positiva. Esto es probable dado los valores bajos de TCS que se determinaron en las muestras y los porcentajes de degradación que se han reportado (Aranami, 2007; Ying, 2007). Otra posibilidad es que la ruta y los productos de degradación sean diferentes a los esperados. En otro proyecto que se realiza en el laboratorio con microcosmos para ver el efecto del TCS en la diversidad microbiana de los sedimentos de la ciénega de Sisal se ha observado degradación del TCS sin la formación de MTCS o DCDD (Aguilar, 2014).

Son pocos los estudios en donde se ha determinado MTCS junto con TCS en matrices sólidas de ambientes marinos o estuarinos (Fernandes, 2011; Pintado-Herrera, 2014), la mayoría se han enfocado a plantas de tratamiento de aguas residuales y cuerpos de agua dulce. Estos trabajos sí reportan concentraciones similares de TCS y MTCS, sin embargo, los sitios estudiados son zonas de descarga de plantas de tratamiento, donde se sabe que se lleva a cabo la mayoría de los procesos de biotransformación del TCS en MTCS (Lindström *et al.*, 2002).

Junto con las muestras se analizaron periódicamente dos muestras de control de sedimento enriquecido con TCS (3.85 y 11.85 ng·g<sup>-1</sup>). Los resultados se muestran en la Figura 5.24. La desviación estándar en las réplicas de baja concentración (n=9) fue de 0.15 ng·g<sup>-1</sup> (CV%=3.8) y en las de alta (n=8) de 0.33 ng·g<sup>-1</sup> (CV%=2.8%). A partir de las réplicas de baja concentración se estiman los límites de decisión ( $\alpha \leq 0.05$ ), de detección ( $\alpha \leq 0.05$ ) y de cuantificación ( $\Delta = 10\%$ ), respectivamente: 0.27, 0.55 y 1.5 ng·g<sup>-1</sup>.

El TCS se detectó e identificó positivamente en todas las muestras. Todas las concentraciones estimadas, referidas al PS de la muestra, se encuentran por encima del límite de decisión.

Las concentraciones determinadas en este trabajo son comparables a las que se reportan en otros estudios de sistemas estuarinos y marinos que reciben descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales. Los valores de concentración de TCS en sedimentos (PS) que se reportan en esos estudios son: <80 ng·g<sup>-1</sup> (Miller, 2008), <1-32 ng·g<sup>-1</sup> (Katz, 2013) y 0.3-9.6 ng·g<sup>-1</sup> (Pintado-Herrera, 2014), por mencionar algunos.

El hecho de que los valores encontrados en los sedimentos de la costa de Yucatán sean del mismo orden magnitud que los que se reportan para áreas donde hay descarga de aguas

residuales tratadas reitera que hay que poner interés y atención a lo que ocurre en la zona costera y el acuífero por las insuficiencias en el manejo de las aguas residuales.

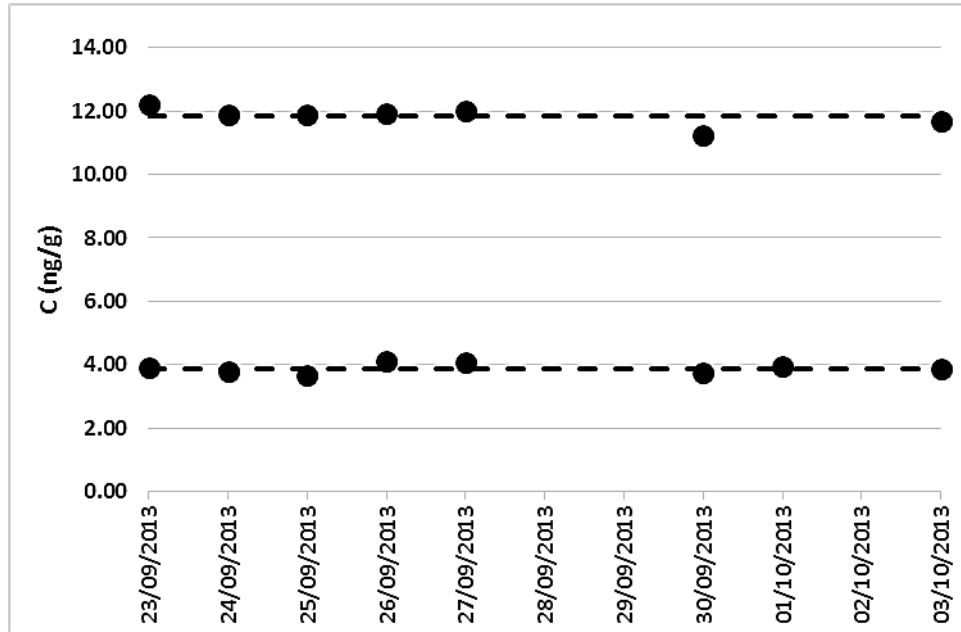


Figura 5.24. Resultados del análisis de las muestras de control. Las líneas discontinuas corresponden al valor nominal de la concentración:  $11.85 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $3.85 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ .

En la Figura 5.25 se presentan los resultados de concentración de TCS clasificados por zona de estudio. Las concentraciones menores ( $\leq 1 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) están en los puntos localizados al interior de las lagunas en concentración promedio de  $0.75 \pm 0.23 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  ( $\bar{X} \pm S$ ), en tanto que los valores mayores corresponden a las estaciones con mayor influencia del acuífero. Hay algunas excepciones, los siguientes sitios presentaron valores mayores de los que les correspondería por su entorno aparente:

B3. No hay una razón clara para que este punto muestre un valor del doble del de los sitios cercanos B1 y B5, que son muy similares en los demás parámetros medidos.

CE201. En este caso sí sabemos que hay diversos afloramientos del acuífero a lo largo de la Ría y alguno bastante próximo.

CE401. Se sabe que el mayor aporte de agua del acuífero a la Ría viene del norte que es donde se encuentra este punto. Sin embargo las estaciones cercanas (CE402 y CE403) no presentan valores tan altos.

Podrían ser sólo eventualidades, pero también el resultado de la combinación compleja de fenómenos y procesos como los afloramientos difusos del acuífero a través del fondo o la dinámica de sedimentación del material o la del agua aportada por el acuífero en los manantiales.

Las concentraciones más altas ( $>1.3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ) se encontraron en los sedimentos de los ojos de agua y en los puntos directamente asociados con sus descargas. En este grupo las excepciones son:

SI07. Siendo un manantial con una descarga abundante del acuífero presenta una concentración de TCS mucho menor que la de los otros ojos de agua. Tiene los valores más bajos de la fracción sedimentos de finos y de MO entre las muestras analizadas. Esto indica que hay poca retención de partículas finas y explica que también haya poca retención del TCS en el sitio.

DZ01A y DZ01B. Estas estaciones están en el mar alrededor de un manantial submarino y se esperaban concentraciones mayores. En este lugar la corriente marina es intensa y seguramente el material aportado por la descarga se aleja de la zona de muestreo.

Es importante señalar que los dos valores más altos de TCS se encontraron en Dzilam y Celestún. Lo que coincide con el hecho de que estos lugares están en los extremos del anillo de cenotes y son donde se presentan las principales descargas del acuífero hacia la costa (Bauer-Gottwein *et al.*, 2011). También cabe mencionar que donde la descarga del manantial es por un canal definido (CE501 a CE502) hay tendencia decreciente hacia la descarga. En el caso de Dzilam (DZ02A a DZ02C) la descarga del manantial hacia la playa es difusa, no hay un canal bien definido, y la concentración de TCS disminuye abruptamente.

Se puede considerar que las concentraciones halladas no tienen efecto en microorganismos, organismos más susceptibles a concentraciones bajas de TCS. Huang (2015) reporta que a concentraciones menores que  $1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  en sedimentos los efectos en microorganismos son limitados, aunque parecen regirse por la absorción-desorción del TCS en los sedimentos.



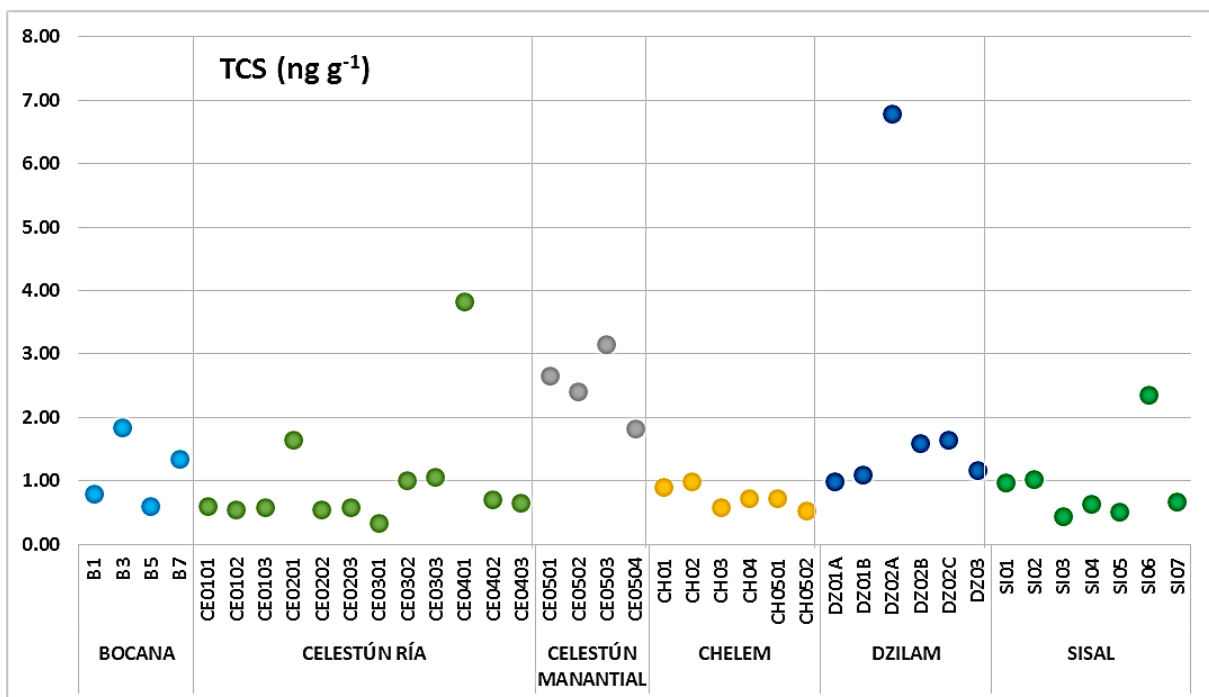


Figura 5.25. Valores de TCS en los sedimentos de los sitios muestreados clasificados por zona.

#### 5.9.6. Relación de la concentración de TCS con los otros parámetros medidos.

La discusión anterior muestra que la dinámica de las zonas estudiadas está fuertemente influida por las descargas del acuífero. Para este trabajo es de interés analizar si la concentración de TCS está asociada a estos parámetros y si las observaciones se pueden generalizar.

Son pocos los estudios acerca de la distribución del TCS, sus metabolitos, u otros compuestos emergentes en sistemas estuarinos y marinos, además la distribución se ha analizado sólo con base en la fuente y descarga en el ambiente (descargas de plantas de tratamiento, principalmente), y, en algunos casos, en la cantidad de CO en sedimentos. Hasta el momento no se ha relacionado la distribución de estos compuestos con las propiedades fisicoquímicas o granulométricas de los sitios de estudio u otros parámetros.

#### 5.9.6.1. Correlación del TCS con los parámetros de la columna de agua y de los sedimentos.

Una primera aproximación simple para verificar si la concentración del TCS está relacionada con las características de los sitios es estudiar las correlaciones. Los coeficientes de correlación de la concentración de TCS con los demás parámetros son:

	<b>r</b>	<b>1 - p</b>
Conductividad	<b>-0.31</b>	<b>0.05</b>
pH	<b>-0.41</b>	<b>0.01</b>
POR	0.10	0.56
Oxígeno disuelto	<b>-0.44</b>	<b>0.005</b>
%N	<b>0.69</b>	<b>&lt;0.001</b>
%CO	<b>0.71</b>	<b>&lt;0.001</b>
C:N	<b>0.52</b>	<b>0.001</b>
Sgruesos	0.24	0.14
Smedios	0.02	0.91
Sfinos	-0.24	0.14

Los valores marcados en negritas indican una correlación significativa. Las correlaciones con la cantidad y tipo de MO son positivas y las más significativas. Esta correlación también se ha encontrado en otros estudios sobre distribución de TCS (Katz, 2013). Las correlaciones con los parámetros fisicoquímicos de la columna de agua son negativas y más débiles ( $r < 0.5$ ) pero significativas, excepto para el POR. Sorprendentemente, las correlaciones con las fracciones granulométricas no son significativas.

Lo anterior indica que la concentración de TCS está asociada a:

- a) las descargas del acuífero: es mayor en los sitios con valores menores de C, pH y OD;
- b) a la cantidad de MO: es mayor en los sitios con mayor cantidad de MO; y
- c) el tipo de MO: es mayor en los sitios con una mayor proporción de MO que proviene de plantas terrestres.

Ninguno de los parámetros es totalmente independiente y tienen relaciones más o menos complejas a través de los diversos procesos en los sistemas, por lo que hay que ser cauteloso en las conclusiones.

#### 5.9.6.2. Agrupamiento de sitios.

Otras formas de aproximación para verificar si existen asociaciones entre múltiples variables son las técnicas estadísticas de exploración multivariante, entre ellas el análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés). En la Figura 5.26 se muestran los resultados de la aplicación de esta técnica utilizando como variables los parámetros fisicoquímicos del agua (C, POR, OD y pH), la fracción Sgruesos, el %CO y la relación C:N. Se incluyó la fracción Sgruesos porque discrimina mejor entre grupos de sedimentación (ver Figura 5.19). No se incluyó el %N porque es redundante con %CO y C:N.

La concentración de TCS que se incluye en las proyecciones de las variables de la Figura 5.26 no se consideró en el PCA, se muestra sólo con el fin de ilustrar con qué factores está asociada. Confirma las asociaciones señaladas en la discusión anterior.

Los dos primeros factores explican algo más del 60% de la varianza de los datos y permiten clasificar los sitios en grupos bastante bien definidos (Figura 5.27). La inclusión del tercer factor incorpora información granulométrica pero disgrega excesivamente los datos, no aporta información útil adicional a la clasificación y, como ya vimos, no está correlacionada con la concentración del TCS.

En la Figura 5.27 se muestra la distribución de los casos en el plano definido por los factores F1 y F2. La posición horizontal indica el origen del agua y la cantidad y fuente de MO, y la dirección vertical señala las diferencias en las características óxido-reductoras en la columna de agua. Esto es que, cuanto más hacia la izquierda está el grupo más marinos son las características de la columna de agua, menor es la cantidad de MO y mayor el componente de origen fitoplanctónico. Hacia la derecha están los grupos con mayor influencia del acuífero y de la vegetación de los manglares y petenes, y con mayor cantidad de MO. Los grupos de la parte superior de la gráfica corresponden a sitios en medios más oxidantes y hacia abajo a los más reductores. Con otras técnicas de agrupamiento se obtienen básicamente los mismos grupos, con discrepancias aisladas en los grupos centrales para los sitios que se encuentran a distancias similares de grupos vecinos. Esto se debe a que en estos sitios los valores de los parámetros varían casi en forma continua entre los valores extremos de sitios marinos y de los petenes y manantiales. Esos agrupamientos son coincidentes con la discusión hecha más arriba para cada parámetro.

Los miembros de cada uno de los grupos señalados en la Figura 5.27 se presentan en la Tabla XVII. La designación alfabética de los grupos se asignó de modo que el valor del %CO fuera creciente.

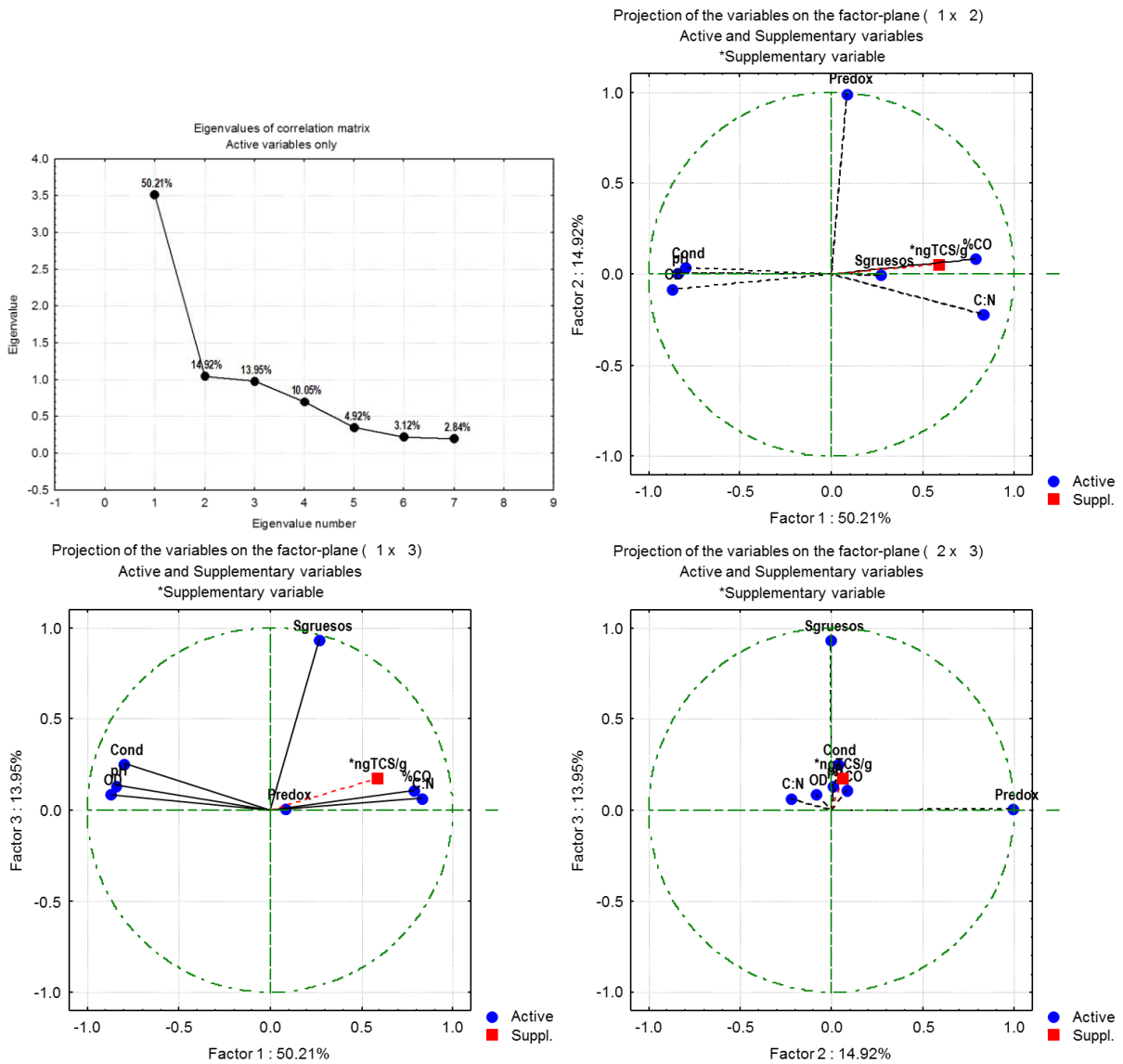


Figura 5.26. Resultados del Análisis de Componentes Principales utilizando como variables los parámetros C, POR, OD, pH, Sgruesos, %CO y C:N.

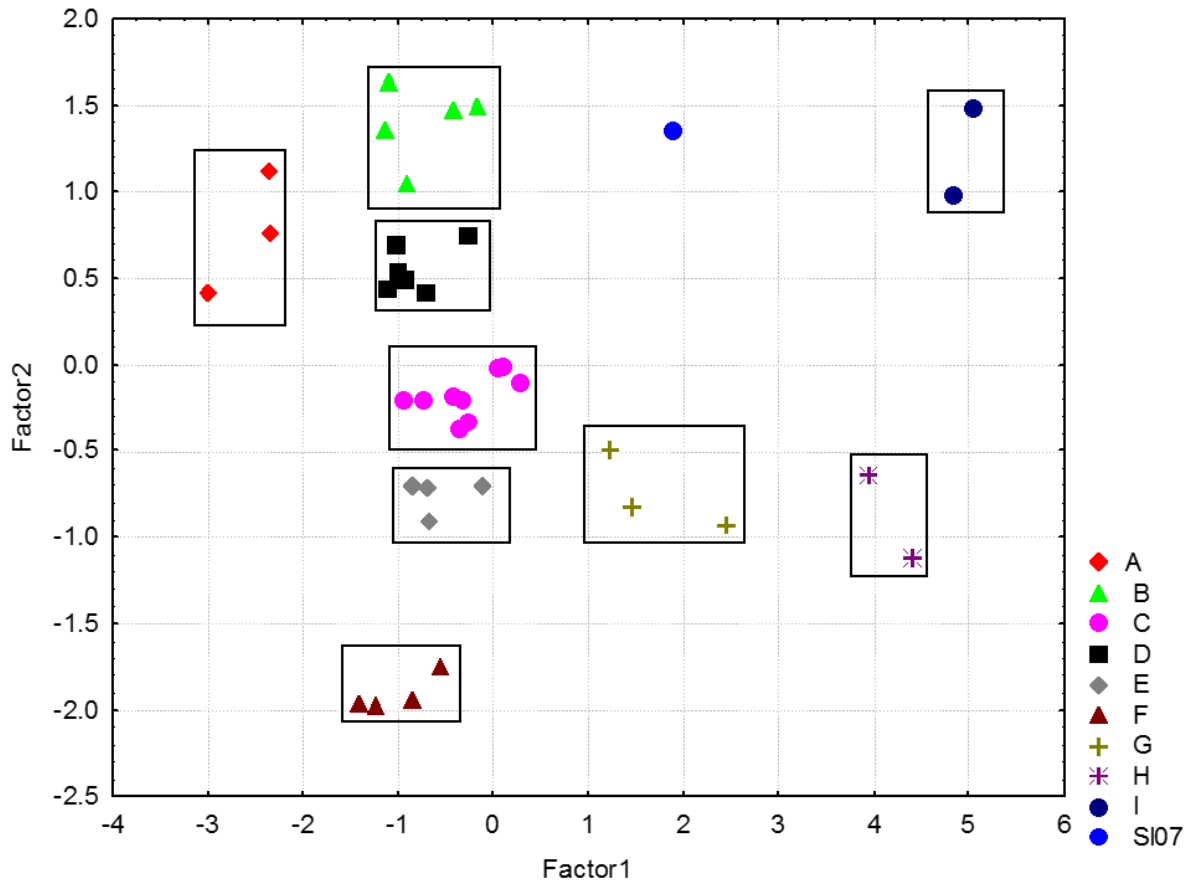


Figura 5.27. Agrupamiento de los sitios de muestreo con base en los dos primeros factores del Análisis de Componentes principales.

Tabla XVII. Miembros de los grupos integrados con base en los factores F1 y F2 del PCA.

A	B	C	D	E
	CE0101	CE0202 CE0203	CE0201	CE0303
B1	CE0102	CE0301 CE0302		CE0402
B3	CE0103	CE0401 CE0403	CH01 CH02	
B5	DZ01A	CE0504	CH04	SI01
	DZ01B	DZ02B	CH0501 CH0502	SI02
		SI03		
F	G	H	I	Otro
DZ02C DZ03 SI04 SI05	CE0502 CE0503 CH03	B7 CE0501	DZ02A SI06	SI07

En la Figura 5.28 se muestran los gráficos de cajas en función de los grupos para los parámetros que tienen un aporte importante al valor de los factores F1 y F2. Se observa que:

a) Columna de agua:

El grupo A (sitios B1, B3 y B5) presenta los valores extremos mayores característicos de agua marina.

Los grupos H, I y SI07 corresponden a los extremos menores excepto el POR para el que los grupos I y SI07 tienen valores altos, estos tres grupos son característicos del agua del acuífero.

Los Grupos B a F son muy similares, presentan los valores medios de C y pH, resultado de la mezcla de aguas. El OD es alto, cercano al valor del grupo A. Hay diferencias en los valores de POR, el grupo F corresponde al medio más reductor.

El grupo G corresponde a estaciones cercanas a aportes de agua del acuífero y esto se refleja en sus valores de pH y OD. Aunque la mediana de la conductividad del grupo corresponde a valores medios, el sesgo que se observa en la caja indica influencia del acuífero en parte de sus elementos.

b) Materia orgánica:

Los grupos A a D son similares en los valores de %CO y C:N, el origen de la MO es predominantemente planctónico. Los grupos E, F y G tienen un %CO algo mayor y con mezcla de origen de la MO.

El grupo I que tiene valores mucho más altos que los demás, está integrado por dos sitios localizados en petenes (DZ02A y SI06). El grupo H, formado por estaciones de los otros dos petenes (B7 y CE501), tiene valores de %CO que indican una menor cantidad de MO retenida en el lugar. En ellos hay un flujo de descarga definido y apreciable a través de un canal hacia las lagunas, al contrario de los del grupo I en los que la descarga es difusa. En ambos grupos el origen es principalmente de la vegetación de los manglares y petenes. El sitio SI07 es particular pues es un ojo de agua sin vegetación en el entorno inmediato y por eso la relación C:N es típica de fitoplancton.

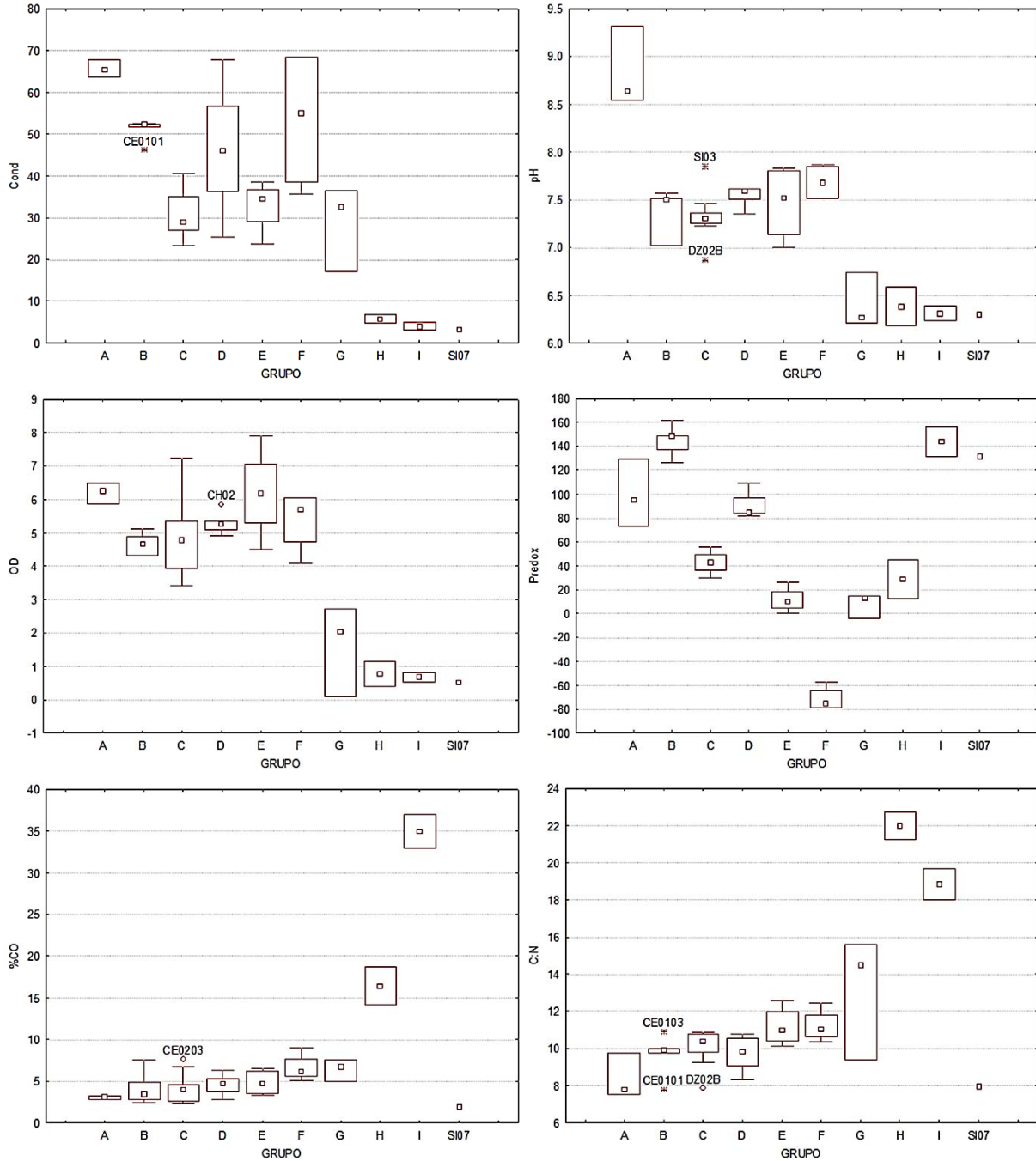


Figura 5.28. Gráficos de cajas de los parámetros que tienen una contribución mayor a los valores de los factores F1 y F2 en función de la clasificación por grupos. Los cuadrados centrales corresponden a las medianas, la caja al rango intercuartílico (25%-75%), los círculos a los valores atípicos y los asteriscos a los valores extremos.

Como era de esperar por lo discutido con anterioridad, los grupos B a F se diferencian fundamentalmente por el POR y poco por los demás parámetros. Si consideramos además que el POR no está correlacionado con la concentración de TCS, para los fines de este estudio parece razonable integrar estos grupos en uno solo que designaremos como B'.

En la Figura 5.29 se muestran los gráficos de cajas de las variables con este reagrupamiento. Se observa que el orden de las medianas de los grupos es el mismo para los parámetros de la columna de agua (C, pH y OD) y con el %CO, con la excepción del dato para el sitio SI07, cuyo bajo contenido de MO ya fue explicado. En las medianas de la relación C:N el orden de los grupos H e I están intercambiados. También ya se mencionó que en estos grupos la descarga del agua hacia el entorno es diferente: en H es por medio de canales bien definidos con flujo apreciable y en I es por esorrentía difusa.

#### 5.9.6.3. Relación de la concentración del TCS con los grupos.

En la misma Figura 5.29 se presenta el diagrama de cajas de la concentración de TCS en función de estos últimos grupos de clasificación. Se aprecia que el orden de las medianas de los grupos es coincidente con el de la cantidad y tipo de MO e inverso al de los parámetros del agua, que coincide con los coeficientes de correlación del conjunto de datos. Cabe señalar que la dispersión de datos (rango intercuartílico) del grupo combinado B' es menor que en los otros grupos, lo que confirma que la concentración de TCS no está asociada al POR. En el mismo gráfico se presentan los resultados de las pruebas de comparación de Kruskal-Wallis y ANOVA. Se concluye que entre grupos hay diferencias significativas y se aprecia que las diferencias mayores se presentan entre los grupos A y B con el grupo I, con los grupos G y H con valores intermedios de la concentración de TCS. Esto puede interpretarse en el sentido de que la fuente de TCS en la costa es el acuífero y que se encuentra asociado a la MO.



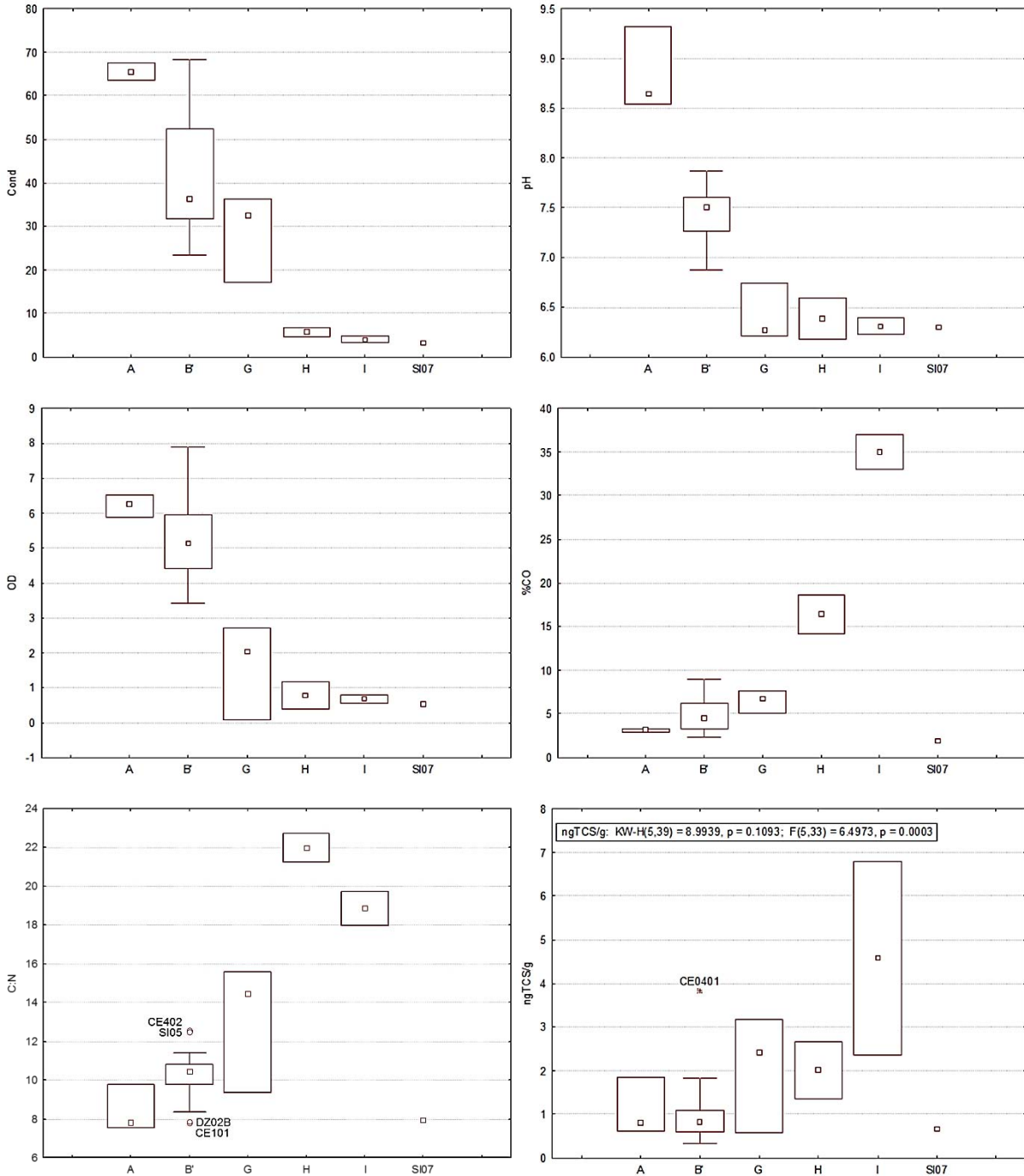


Figura 5.29. Gráficos de cajas de los parámetros que tienen una contribución mayor a los valores de los factores F1 y F2 y de la concentración de TCS en los sedimentos en función de la clasificación por grupos modificada. Los cuadrados centrales corresponden a las medianas, las cajas al rango intercuartílico, los bigotes al rango no atípico, los círculos a los valores atípicos y los asteriscos a los valores extremos.

#### 5.9.6.4. Acumulación de TCS en los sedimentos.

En la parte teórica se presentó un modelo simple que plantea que si comparamos la concentración experimental en cada sitio con la teórica esperada para las mismas condiciones de pH y %CO podemos inferir si el TCS que llega con las descargas del acuífero se está acumulando en los sedimentos. Si asumimos que:

- a) El TCS llega al sistema en las descargas de acuífero en forma disuelta y ad/absorbida en el material en suspensión en equilibrio de distribución con la forma disuelta.
- b) El sistema se encuentra en estado estacionario, esto es la cantidad de TCS que llega al sistema es igual a la que se exporta menos la que se queda en los sedimentos por sedimentación del material suspendido y por equilibrio de distribución entre el TCS y la MO sedimentada.
- c) La concentración aparente de TCS en el agua sólo se ve afectada por el efecto de dilución al mezclarse el agua que descarga del acuífero con la del sistema.

Entonces la concentración de TCS en la MO de los sedimentos será aproximadamente igual a la del equilibrio de distribución. Si hay retención del TCS en la MO de los sedimentos la concentración será mayor que la del equilibrio. Si es menor es que el tiempo de residencia del TCS en la columna de agua es insuficiente para llegar al equilibrio y no hay acumulación en los sedimentos.

Los valores teóricos se calcularon utilizando el modelo de equilibrio químico presentado en el marco teórico:

$$|TCS|_{org} = \frac{|TCS'|_{H_2O} \times K_{OC}}{1 + (k_a/|H^+|)}$$

Para los valores de concentración de TCS en el agua se utilizó el valor mínimo ( $17 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) reportado para los cenotes (Kiel, 2012), que daría un estimado de la cota mínima esperada. Para el valor de  $\log K_{OC}$  se tomó 3.85, que fue estimado en la primera parte del trabajo y 7.9 para el de pKa.

Aceptando que el TCS en los sedimentos se encuentra en la MO, la concentración de TCS en la MO se calculó con la relación:

$$|TCS|_{org} = |TCS|_{sed} \times \frac{100}{\%CO}$$

La corrección por el efecto de la dilución en la mezcla de aguas en cada sitio se estimó a partir de los valores de conductividad:

$$|TCS|_x = F_x \times |TCS|_{ac}$$

$$F_x = \frac{C_{mar} - C_x}{C_{mar} - C_{ac}}$$

$F_x$  es el factor de corrección de la concentración de TCS en el agua del sitio  $x$ , donde la conductividad es de  $C_x$ . Los subíndices  $mar$  y  $ac$  se refieren al mar y el acuífero. Para  $C_{mar}$  se tomó el entero inmediato superior al valor máximo de conductividad medido y el entero inmediato inferior al mínimo para  $C_{ac}$ .

En la Figura 5.30 se presentan los datos de la diferencia ( $\Delta$ ) entre el valor experimental y el valor mínimo teórico de la concentración de TCS en la MO de los sedimentos calculado para cada punto del muestreo.

Los sitios que muestran valores claramente mayores que los esperados ( $\Delta > 0$ ) son: Bocana: B1, B3, B5; Celestún: CE401; Chelem: CH01; y Dzilam: DZ02C y DZ03. Excepto CE401 y CH01, los demás se encuentran en las zonas más marinas, más alejadas de los manantiales del acuífero. Como se indicó anteriormente, el sitio CE401 se encuentra por donde ingresa la mayor parte del agua del acuífero a la Ría de Celestún, en una zona muy somera y con alta evaporación y el sitio CH01 en las inmediaciones de un ojo de agua con un flujo de descarga poco perceptible. Aparte de las descargas puntuales del acuífero en ojos de agua y manantiales, en las lagunas y ciénagas hay afloramientos difusos a través del suelo. En donde esto ocurre la relación entre la cantidad de MO respecto al volumen de agua en contacto es mucho mayor que en el cuerpo de la laguna, lo que favorece la distribución del TCS hacia los sedimentos. Esto puede explicar que en estos sitios los valores de  $\Delta$  sean mayores a cero y no negativos como en los sitios similares.

Los demás sitios se encuentran en valores negativos (déficit respecto al equilibrio). Los sitios B7, CE501, CH03, SI02A, SI06 y SI07 presentan los valores más negativos de  $\Delta$ , concentración de TCS mucho menor que la esperada en el equilibrio. Todos corresponden a los manantiales con descargas apreciables.

Como la fuente de TCS para estos sistemas costeros son los manantiales del acuífero, los valores extremos de  $\Delta$  sugieren que hay transporte desde las fuentes hacia el mar.

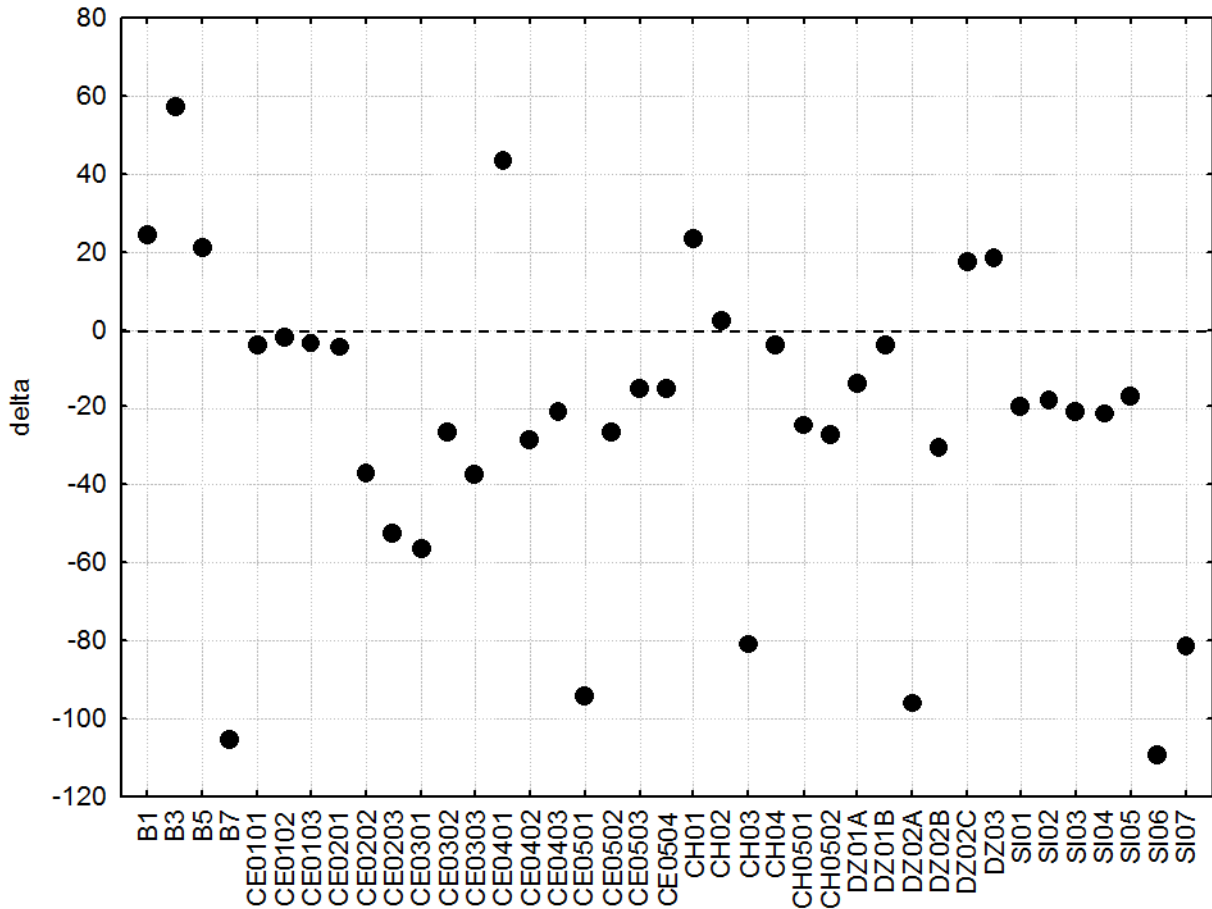


Figura 5.30. Diferencia entre los valores experimentales de concentración de TCS con los valores teóricos de equilibrio para una concentración de TCS en el acuífero de  $17 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Es interesante lo que se observa al presentar en un gráfico de cajas (Figura 5.31) los datos de  $\Delta$  clasificados en los grupos que se definieron antes. Tanto la prueba de Kruskal-Wallis como el ANOVA indican que hay diferencias significativas entre grupos. Se aprecia claramente que los grupos que están integrados por los ojos de agua (H, I y SI07) presentan el mayor déficit respecto al equilibrio y el de mayor influencia marina (A) tiene un exceso. Los grupos intermedios muestran una tendencia a disminuir el déficit conforme se alejan de las fuentes del acuífero (mayor proporción de agua marina). Esto soporta la idea de que el TCS es transportado desde las descargas del acuífero hacia el mar y que conforme se va alejando de la fuente se incorpora a material en suspensión en formación que se sedimenta aguas abajo. Probablemente combinado con que el tiempo de residencia en la laguna es mayor que en los ojos de agua y eso favorece la distribución hacia los sedimentos.

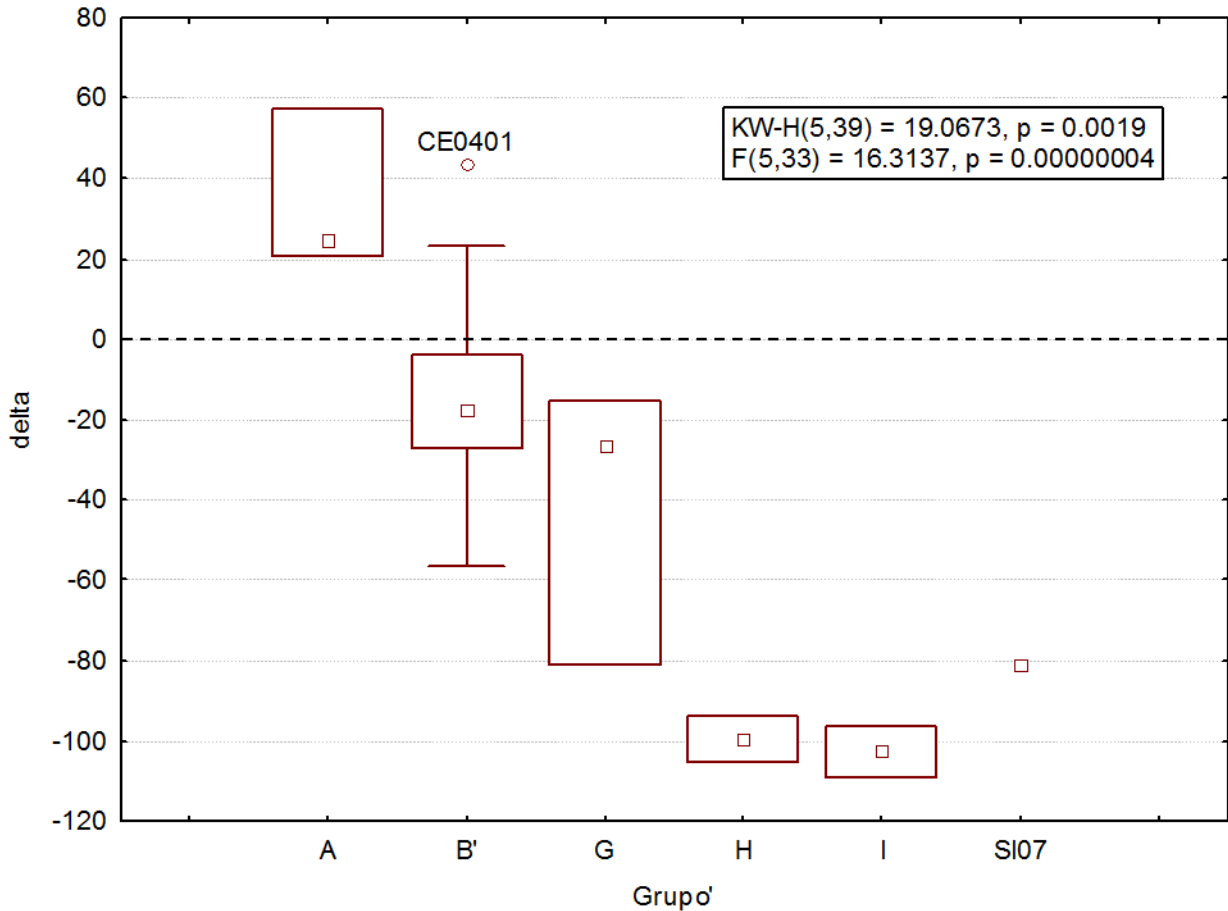


Figura 5.31. Gráficos de cajas del valor de  $\Delta$  en función de la clasificación por grupos modificada. Los cuadrados centrales corresponden a las medianas, las cajas al rango intercuartílico, los bigotes al rango no atípico, los círculos a los valores atípicos y los asteriscos a los valores extremos.

Los valores del coeficiente de correlación de las variables fisicoquímicas con los valores de  $\Delta$  del conjunto total de datos (Tabla XVIII) indican también que hay transporte del TCS en el mismo sentido. El déficit respecto al equilibrio de distribución del TCS entre el agua y la MO es menor conforme el sitio se encuentra en un medio de mayor influencia marina y llega a estar en exceso en las estaciones que tienen un contacto más directo con el mar. Es de suponer que eventualmente terminará siendo degradado y/o exportado hacia el mar por efecto de la marea.

Tabla XVIII. Coeficientes de correlación de los parámetros medidos con el valor de  $\Delta$  para el total de datos. Los valores en negrita son significativos ( $p < 0.05$ ).

<b>Parámetro</b>	<b>r</b>
Conductividad	<b>0.88</b>
pH	<b>0.74</b>
POR	-0.06
OD	<b>0.72</b>
%N	<b>-0.47</b>
%CO	<b>-0.58</b>
C:N	<b>-0.60</b>
Sgruesos	-0.14
Smedios	0.11
Sfinos	0.09

## 5.10. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio y su análisis nos conducen a las siguientes conclusiones:

1. Las lagunas costeras de Yucatán tienen un comportamiento estuarino, con un gradiente de mezcla de agua del acuífero y del mar, con predominio de agua marina.
2. La MO en los sedimentos es de origen terrestre en los ojos de agua y sus inmediaciones y en las lagunas predomina la de origen fitoplanctónico.
3. En las zonas inmediatas a los afloramientos de agua del acuífero hay transporte de sedimentos finos hacia las lagunas por los flujos de agua del acuífero. Las bocas de las lagunas son zonas de lavado por efecto de las mareas y al interior se localizan áreas con predominio de la sedimentación de finos.
4. Hay presencia de TCS en los sedimentos de las lagunas costeras del Estado de Yucatán, en concentraciones que van de  $0.3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  hasta  $6.8 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  con una mediana de  $1.0 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ , que corresponden a concentraciones en la MO entre  $8.5 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $94 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  con una mediana de  $20.3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ . Estas concentraciones son similares a los valores bajos de los reportados para otros cuerpos de agua en diversos países.
5. No se detectaron el MTCS o la DCDD por encima de los límites de decisión del procedimiento de análisis,  $1.6 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  y  $17.3 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$  respectivamente. Lo que puede estar indicando que el tiempo de residencia del TCS en los sedimentos superficiales antes de ser exportado hacia el mar no es suficientemente prolongado para que ocurra la degradación o que los principales productos de degradación son otros, clorofenoles por ejemplo.
6. Las concentraciones de TCS determinadas son bajas para considerar que están afectando de manera significativa a los organismos de las lagunas costeras, pero sí pueden ser un riesgo para algas y crustáceos que son organismos sensibles a este producto.
7. El arribo del TCS a las zonas costeras es por medio de la descarga de agua del acuífero y se transporta asociado a la MO alejándose de la fuente.
8. La comparación de la concentración de TCS en la MO con la esperada en condiciones de equilibrio sugiere que el TCS no se acumula en los sedimentos y se está exportando hacia el mar.

Puesto que este estudio es el primero que se realiza para evaluar la presencia de TCS en las lagunas costeras del Estado de Yucatán, tiene un carácter exploratorio importante y las conclusiones anteriores apuntan hacia la necesidad de nuevos estudios enfocados a cuestiones más específicas, como:

- a) La distribución de TCS entre la MO suspendida y el agua del acuífero, MO sedimentaria y el agua intra e interparticular.
- b) Distribución de TCS en la columna de sedimentos.
- c) Transporte de TCS a través del suelo kárstico de la Península y hacia la costa por el acuífero.
- d) Efecto del TCS en la diversidad de la comunidad microbiológica de los sedimentos.
- e) Bioacumulación en algas, crustáceos y peces.



## 6. REFERENCIAS

1. Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J., Sturve, J. (2002). Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere* 46: 1485–1489
2. Agency for Toxic Substances & Disease Registry (ATSDR) (1998). Chlorinated Dibenzo-p-dioxins. Toxic Substances Portal. Tomado de: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=366&tid=63>
3. Aguilar, Abraham (2014). Comunicación interna.
4. Agyin-Birikorang, S., Miller, M. & O'connor, G.A. (2010). Retention-release characteristics of triclocarban and triclosan in biosolids, soils, and biosolids-amended soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 29 (9): 1925–1933.
5. Albero, B., Sánchez-Brunete, C., García-Valcárcel, A. I., Pérez, R. & Tadeo, J. L. (2015). Ultrasound-assisted extraction of emerging contaminants from environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 71, 110–118
6. Allmyr, M., Adolfsson-Erici, M., McLachlan, M.S., Sandborgh-Englund, G. (2006). Triclosan in plasma and milk from Swedish nursing mothers and their exposure via personal care products. *Sci. Total Environ*. 372(1): 87–93.
7. Amézquita, F. & Mendoza, D. (2008). Taller básico de cromatografía de gases. Facultad de Química. Universidad de Guanajuato.
8. Aranami, K., & Readman, J. (2007). Photolytic degradation of triclosan in freshwater and seawater. *Chemosphere*, 66, 1052–1056.
9. Arcega-Cabrera, F., Garza-Pérez, R., Noreña-Barroso, E. & Ocegüera-Vargas, I. (2015). Impacts of Geochemical and Environmental Factors on Seasonal Variation of Heavy Metals in a Coastal Lagoon Yucatan, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 94:58–65.
10. ASK (Amigos de Sian Ka'an) (2003) Tratamiento de Aguas Residuales: construyendo las Bases Para la Conservación del Agua y su Biodiversidad Asociada en la Península de Yucatan [Wastewater treatment: constructing the basis for the conservation of water and the associated biodiversity on the Yucatan Peninsula]. CD-ROM, Amigos de Sian Ka'an, The Nature Conservancy y la Comisión de Áreas Naturales Protegidas, Cancún, Quintana Roo, Mexico Back W (1985)
11. Balmer, M. E., Poiger, T., Droz, C., Romanin, K., Bergqvist, P.-A., Müller, M. D., & Buser, H.-R. (2004). Occurrence of methyl triclosan, a transformation product of the

- bactericide triclosan, in fish from various lakes in Switzerland. *Environmental science & technology*, 38(2), 390–5.
12. Balmer, M.E., Buser, H.R., Müller, M.D., Poiger, T. (2005). Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss Lakes. *Environ Sci Technol* 39, 953
  13. Banjoo, D., Nelson, P. (2005). Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *J. Chromatogr. A.* 1066, 9–18.
  14. Barber, L.B., Keefe, S.H., Antweiler, R.C., Taylor, H.E., Wass, R.D. (2006). Accumulation of contaminants in fish from wastewater treatment wetlands. *Environ Sci Technol* 40, 603
  15. Barceló, D., & López, M. J. (2007). Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Panel científico-técnico de seguimiento de la política de aguas. Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC.
  16. Bauer-Gottwein, P., Gondwe, B.R.N., Charvet, G., Marín, L. E., Rebolledo-vieyra, M., Merediz-alonso, G. (2011). Review : The Yucatán Peninsula karst aquifer , Mexico, (130), 507–524.
  17. Bester, K. (2005). Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and surface waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 49(1): 9–17.
  18. Blau, K., Halket, J. (1993). *Handbook of derivatives for Chromatography*. Ed. Wiley and Sons, 2<sup>a</sup> ed.
  19. Boehmer, W., Ruedel, H., Weinzell, A., Schroeter-Kerman, C. (2004). Retrospective monitoring of Triclosan and methyl-triclosan in fish: results from the German environmental specimen bank. *Organohalogen Compd.* 66: 1516–1521.
  20. Bones, J., Thomas, K., Nesterenko, P.N., Paull, B. (2006). On-line preconcentration of pharmaceutical residues from large volume water samples using short reversed-phase monolithic cartridges coupled to LC-UV-ESI-MS. *Talanta* 70, 1117
  21. Bossio, J. P., Harry, J., & Kinney, C. A. (2008). Application of ultrasonic assisted extraction of chemically diverse organic compounds from soils and sediments, 70, 858–864.
  22. Brausch, J. M., & Rand, G. M. (2011). A review of personal care products in the aquatic environment : Environmental concentrations and toxicity, 82, 1518–1532.
  23. Burkhardt, M., ReVello, R., Smith, S., Zaugg, S. (2005). Pressurized liquid extraction using water/isopropanol coupled with solid-phase extraction cleanup for industrial and

- anthropogenic waste-indicator compounds in sediment. *Anal. Chim. Acta* 534, 89–100.
24. Buser, H.R., Balmer, M.E., Schmid, P., Kohler, M. (2006). Occurrence of UV filters 4-methylbenzylidene camphor and octocrylene in fish from various Swiss rivers with inputs from wastewater treatment plants. *Environ. Sci. Technol.* 40(5): 1427-1431.
  25. Buth, J. M., Steen, P. O., Sueper, C., Blumentritt, D., Vikesland, P. J., Arnold, W. a, & McNeill, K. (2010). Dioxin photoproducts of triclosan and its chlorinated derivatives in sediment cores. *Environmental science & technology*, 44(12):, 4545–51.
  26. Camacho, A. (2011). Variación espacio-temporal en el perfil de ácidos grasos en la bocana de la Carbonera de Sisal en la costa noroeste de Yucatán. Tesis (Maestría en Ciencias del Mar y Limnología). Facultad de Química, UNAM.
  27. Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 19 (4): 229-248.
  28. Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. *Analyst*. 126 (7): 1182-1193.
  29. Canosa, P., Morales, S., Rodriguez, I. Rubi, E. Cela, R. and Gomez, M. (2005a) Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine. *Anal. Bioanal. Chem.*, 383, pp. 1119–1126.2.2
  30. Canosa, P., Rodriguez, I., Rub, E., & Cela, R. (2005b). Optimization of solid-phase microextraction conditions for the determination of triclosan and possible related compounds in water samples, 1072, 107–115.
  31. Capella, S. (2011). Comunicación interna. Proyecto PAPIIT IN216710. Estudio de la presencia de productos farmacéuticos y de cuidado personal en la costa de Yucatán.
  32. Capelo, J.L., Mota, A.M., (2005). Ultrasonication for analytical chemistry. *Curr. Anal. Chem.* 1, 193–201.
  33. Castillo, L. A. (2009). Identificación y cuantificación de PPCPs en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas. Tesis (Maestría en Ciencias del Mar y Limnología). Facultad de Química. UNAM.
  34. Cela, R., Lorenzo, R.A., Casais, M.C. (2002). Técnicas de separación en Química Analítica. Ed. Síntesis.
  35. Charlot, G., & Trémillon, B. (1963). Les réactions chimiques dans les solvants et les sels fondus. Paris: Gauthier-Villars.

36. Chen, X., Nielsen, J. L., Furgal, K., Liu, Y., Lolas, I. B., & Bester, K. (2011). Biodegradation of triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions. *Chemosphere*, 84(4), 452–6.
37. Coogan, M.A., Edziyie, R.E., La Point, T.W., Venables, B.J. (2007). Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater, treatment plant receiving stream. *Chemosphere* 67(10): 1911–1918.
38. Coogan, M.A., La Point, T.W. (2008). Snail bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyltriclosan in a North Texas, USA, stream affected by wastewater treatment plant runoff. *Environ. Toxicol. Chem.* 27(8): 1788–1793.
39. Crofton, K.M., Paul, K.B., De Vito, M.J., Hedge, J.M. (2007). Short-term in vivo exposure to the water contaminant triclosan: Evidence for disruption of thyroxine. *Environ Toxicol & Pharm.* 24, 194
40. Dann, A., & Hontela, A. (2011). Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *Applied toxicology*, 31, 285-311.
41. Daughton, C. (2004). Non-regulated water contaminants: emerging research. *Environ Impact*, 24, 711-32.
42. Dayan, A.D. (2007). Risk assessment of triclosan [Irgasan®] in human breast milk. *Food Chem. Toxicol.* 45(1): 125–129.
43. Deevy, E. (1973). Sulfur, nitrogen and carbon in the biosphere. In *Carbon and the Biosphere* (Eds. G.M. Woodwell and E.V. Peacan) USAEC, Washington, D. C. pp. 182-190.
44. Delle Site, A. (2001) Factors Affecting Sorption of Organic Compounds in Natural Sorbent/Water Systems and Sorption Coefficients for Selected Pollutants. A Review. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 30(1):187-253
45. Dobson, J.E., Bright, E.A., Coleman, P.R., Durfee, R.C., Worley, B.A. (2000). LandScan: a global population database for estimating populations at risk. *Photogramm Eng Remote Sens* 66(7):849– 857
46. EPA (2007a). Method 3550c “Ultrasonic extraction”. Rev 3.
47. EPA (2007b). Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS.
48. EPA (2010). Pesticides: Reregistration. Obtenido de Triclosan Facts: [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/triclosan\\_fs.htm](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/triclosan_fs.htm)

49. Eriksson, E., Auffarth, K., Eilersen, A.M., Henze, H., Ledin, A. Water, S.A. (2003). Household chemicals and personal care products as sources for xenobiotic organic compounds in grey wastewater. 29, 135
50. Escolero, O., Marin, L.E., Steinich, B., Pacheco, J.A., Molina-Maldonado, A., Anzaldo, J.M. (2005). Geochemistry of the hydrogeological reserve of Merida Yucatan, Mexico. *Geofis. Internat.* 44(3), 301 – 314.
51. Escolero, O.A., Marín, L.E., Steinich, B., Pacheco, J. (2000) Delimitation of a hydrogeological reserve for a city within a karstic aquifer: the Merida, Yucatan example. *Landscape Urban Plann* 51 (1):53–62
52. Faganeli, J., Malej, A., Pezdic, J. & Malacic, V. (1988). C:N:P ratios and stable C isotopic ratios as indicators of sources of organic matter in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). *Oceanol. Acta*, 11(4): 377–382.
53. Fernandes, M. & Krull, E. (2008). How does acid treatment to remove carbonates affect the isotopic and elemental composition of soils and sediments?. *J. Environmental Chemistry*, 5, 33-39.
54. Fernandes, M., Shareef, A., Kookana, R., Gaylard, S., Hoare, S., Kildea, T., (2011). The distribution of triclosan and methyl-triclosan in marine sediments of Barker Inlet, South Australia. *J. Environ. Monitor.* 13 (4), 801–806.
55. Ferrer, I., Mezcua, M., Gomez, M., Thurman, E., Aguera, A., Hernando, M., & Fernandez-Alba, A. (2004). Liquid Chromatography/time-of-flight mass spectrometric analyses for the Elucidation of the Photodegradation Products of Triclosan in Wastewater Samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18, 443-450.
56. Fialkova, A.B., Steiner, U., Lehotay, S.J., Amirav, A. (2007). Sensitivity and noise in GC–MS: Achieving low limits of detection for difficult analytes. *International Journal of Mass Spectrometry*. 260(1):31-48
57. Ficha informativa de los humedales de Ramsar (FIR) (2003). Reserva Estatal El Palmar. Secretaria de Ecología del Estado de Yucatán, México. Convenio Ramsar.
58. Food & Drug Association (FDA) (2010). Triclosan: What consumers should know. Obtenido de: <http://www.fda.gov/forconsumers/consumerupdates/ucm205999.htm>
59. Fraker, S.L., Smith, G.R. (2004). Direct and interactive effects of ecologically relevant concentrations of organic wastewater contaminants on *Rana pipiens* tadpoles. *Environ Toxicol* 19, 250
60. Gacén, J. (2001). *Boletín Intexter (UPC)*, 120, 49.

61. Gagliardi, L. G., Castells, C. B., Rafols, C., Roses, M., Bosch, E. (2007). Static Dielectric Constants of Acetonitrile/Water Mixtures at Different Temperatures and Debye – Hückel A and  $a_0B$  Parameters for Activity Coefficients. *J. Chem. Eng. Data* (3), 1103-1107.
62. Gibson, R., Becerril-Bravo, E., Silva-Castro, V., Jiménez, B. (2007). Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine, disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1169, 31
63. Gil, M., Soto, A., Usma, J., & Gutiérrez, O. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción limpia*, 7, 52-73.
64. Gondwe, B.R.N., Lerer, S., Stisen, S., Marín, L., Rebolledo-Vieyra, M., Merediz-Alonso, G., Bauer-Gottwein, P. (2010). Hydrogeology of the south-eastern Yucatan Peninsula: new insights from water level measurements, geochemistry, geophysics and remote sensing. *J Hydrol.*
65. Gonnea, M. E., Paytan, A. Herrera-Silveira, J.A. (2004). Tracing organic matter sources and carbon burial in mangrove sediments over the past 160 years. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 61:211-227.
66. Hansen, C.M. (1967). The three dimensional solubility parameter and solvent diffusion coefficient. Their importance in surface coating formulation. Copenhagen: Danish technical press.
67. Heidler, J., Halden, R.U. (2007). Mass balance assessment of triclosan removal during conventional sewage treatment. *Chemosphere* 66, 362
68. Henze, M. & Comeau, Y. (2008). Wastewater Characterization. *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*. 33-52.
69. Herrera-Silveira & Morales-Ojeda (2010). *Lagunas Costeras en Biodiversidad y desarrollo humano en Yucatán*. SEDUMA. Cap. 1, pp 24.
70. Houtman, C.J., Van Oostveen, A.M., Brouwer, A., Lamoree, M.H., Legler, J. (2004). Identification of estrogenic compounds in fish bile using bioassaydirected fractionation. *Environ. Sci. Technol.* 38(23): 6415–6423.
71. Huang, X., Wu, C. Hu, H., Yu, Y. & Liu, J. (2015). Sorption and degradation of triclosan in sediments and its effect on microbes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 116 (2015) 76-83.
72. INEGI (2010). Marco estadístico. Obtenido de [www.mapserver.inegi.gob.mx](http://www.mapserver.inegi.gob.mx)

73. Ishibashi, H., Matsumura, N., Hirano, M., Matsuoka, M., Shiratsuchi, H., Ishibashi, Y., Takao, Y., Arizono, K. (2004). Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquat. Toxicol.* 67(2): 167–179.
74. Karnjanapiboonwong, A., Morse, A., Maul, J., Anderson, Todd. (2010). Sorption of estrogens, triclosan, and caffeine in a sandy loam and a silt loam soil. *J. Soils Sediments.* 10:1300–1307.
75. Katz, D. R., Cantwell, M. G., Sullivan, J. C., Perron, M. M., Burgess, R. M., Ho, K. T., & Charpentier, M. a. (2013). Factors regulating the accumulation and spatial distribution of the emerging contaminant triclosan in the sediments of an urbanized estuary: Greenwich Bay, Rhode Island, USA. *The Science of the total environment*, 443, 123–33. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.10.052
76. Katz, D.R., Cantwell, M.G., Sullivan, J.C., Perron, M.M., Burgess, R.M., Ho, K.T., & Charpentier, M.A. (2013). Factors regulating the accumulation and spatial distribution of the emerging contaminant triclosan in the sediments of an urbanized estuary: Greenwich Bay, Rhode Island, USA. *The Science of the total environment*, 443, 123-33.
77. Kiel, A. L. (2012). Productos farmacéuticos y de cuidado personal en el acuífero y la costa de la península de Yucatán. Tesis (Maestría en Ciencias del Mar y Limnología). Facultad de Química, UNAM.
78. Kronimus, A., Schwarzbauer, J., Dsikowitzky, L., Heim, S., Littke, R. (2004). Anthropogenic organic contaminants in sediments of the Lippe River, Germany. *Water Res* 38, 3473
79. Latch, D., Packer, J., Arnold, W., & McNeill, K. (2003). Photochemical conversion of triclosan to 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 158, 63–66.
80. Lessellier, E. (2015). Spider diagram: A universal and versatile approach for systemcomparison and classification. Application to solvent properties. *Journal of Chromatography A.* 1389 (2015) 49–64.
81. Lesser, J.M. (1976) Estudio hidrogeológico e hidrogeoquímico de la Península de Yucatán [Hydrogeological and hydrochemical study of the Yucatán Península]. Proyecto Conacyt-NSF 704, Secretaria de Recursos Hidráulicos, Dirección de Geohidrología y Zonas Áridas, México City.

82. Lindström, A., Buerge, I.J., Poiger, T., Bergqvist, P.-A., Müller, M.D., Buser, H.-R., (2002). Occurrence and environmental behavior of the Bactericide Triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 36 (11), 2322–2329.
83. Lohse, L., Kloosterhuis, R., de Stiger, H., Helder, W., van Raaphorst, W., van Weering, T. (2000). Carbonate Removal by Acidification Causes Loss of Nitrogenous Compounds in Continental Margin Sediments. *J. Marine Chemistry*, 69, 3-4, 193-201.
84. Loraine, G.A., Pettigrove, M.E. (2006). Seasonal variation in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in Southern California. *Environ. Sci. Technol.* 40: 687–695.
85. Luque, J. A. (2003). El Lago de Sanabria: un sensor de las oscilaciones climáticas del Atlántico Norte durante los últimos 6.000 años. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Instituto de Ciencias de la Tierra 'Jaume Almera'.
86. Mahugo-Santana, C., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Rodríguez, J.J. (2005). An environmentally friendly method for the extraction and determination of priority phenols in soils using microwave-assisted micellar extraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 382 (1): 125-133.
87. Mani, V. Editado por Pawliszyn, J. (1999). Cap. 5 Properties of Comercial SPME Coatings. En *Applications of Solid Phase Microextraction* (p. 60). Cornwall: Chromatography Monographs. The Royal Society of Chemistry.
88. Massart, D.L., Dijkstra, A., Kaufman, L. (1978). Evaluation and Optimization of Laboratory Methods and Analytical Procedures. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company.
89. McAvoy, D., Schatowitz, B., Jacob, M., Hauk, A., & Eckhoff, W. (2002). Measurement of triclosán in wastewater treatment systems. *Environ. Toxicol. Chem*, 21, 1323 – 1329.
90. McKnight, D.M. y Aiken, G.R. (1998). Sources and age of aquatic humus. *Aquatic Humic Substances*. Hessen, D.O. y Tranvik. L.J.(Editores). Springer-Verlag. Berlin Heidelberg.
91. Medina-Gómez, I., Kjerfve, B., Mariño, I. & Herrera-Silveira, J. (2014). Sources of Salinity Variation in a Coastal Lagoon in a Karst Landscape. *Estuaries and Coasts* 37:1329–1342.



92. Metcalfe, C. B.-B. (2011). Contaminants in the coastal karst aquifer system along the Caribbean coast of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Environmental Pollution*(159), 991-997.
93. Mezcuca, M., Gómez, M., Ferrer, I., Aguera, A., Hernando, M., & Fernández-Alba, A. (2004). Evidence of 2,7/2,8-dibenzodichloro-pdioxin as a photodegradation product of triclosan in water and wastewater samples. *Analytica Chimica*, 524, 241–247.
94. Miller, T., Heidler, J., Chillrud, S., Delaquil, A., Ritchie, J., Mihalic, J., & Bopp, R. (2008). Fate of triclosan and evidence for reductive dechlorination of triclocarban in estuarine sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 4570–4576.
95. Morales, S., Canosa, P., Rodriguez, I., Rubí, E., Cela, R. (2005). Microwave assisted extraction followed by gas chromatography with tandem spectrometry for the determination of triclosan and two related chlorophenols in sludge and sediments. *J Chromatography* 1082: 128–135
96. Moss, T., Howes, D., Williams, F.M. (2000). Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). *Food Chem. Toxicol.* 38(4): 361–370.
97. Mota-Ávila, A.J. (2011). El Agua. En *Química del Medio Ambiente*. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. Tomado de <http://www.ugr.es/~mota/Agua.html>
98. Murray, K., Thomas, S., & Bodour, A. (2010). Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental Pollution*, 158, 3462–3471.
99. Nishi, I., Kawakami, T., Onodera, S. (2008). Monitoring of triclosan in the surface water of the Tone Canal, Japan *Bull Environ Contam Toxicol* 80, 163
100. Olivares, J. L. (2015). Implementación de una metodología de eliminación de carbonatos para el análisis elemental de carbono orgánico en sedimentos costeros de la península de Yucatán. Tesis de licenciatura, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Yucatán.
101. Ortega, D. (2011). Verificación y aplicación de una técnica analítica para la determinación de elementos mayores por ICP-OES. Caracterización y clasificación de agua subterránea del Anillo de Cenotes, Yucatán, México. Tesis de licenciatura (Química). Facultad de Química. UNAM.
102. Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J. Capdevielle, M., Rothenstein, A. and Cunningham, V. (2002). Aquatic toxicity of triclosan. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21 (7), 1338-1349.

103. Pacheco, J., Marín, L., Cabrera, A., Steinich, B., Escolero, O. (2001) Nitrate temporal and spatial patterns in 12 water-supply wells, Yucatan, Mexico. *Environ Geol* 40(6):708–715
104. Pawliszyn, J. (1997). *Solid-Phase Microextraction: Theory and practice*. New York: Wiley-VCH Inc.
105. Pawliszyn, J. (2000). *Theory of Solid-Phase Microextraction*, 38(July), 270–278.
106. Peng, X., Yu, Y., Tang, C., Tan, J., Huang, Q., Wang, Z. (2008). Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. *Sci Total Environ* 397, 158
107. Picó, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 43, 84–99
108. Pintado-Herrera, M.G., González-Mazo & Lara-Martín, P.A. (2014). Determining the distribution of triclosan and methyl triclosán in estuarine settings. *Chemosphere*. 95 (2014) 478-485.
109. Pirika, JAVA, HTML5 & Chemistry Site. s.f. Tomado de <https://pirika.com/>
110. Quintana, J. B., Rodil, R., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., & Prada-Rodríguez, D. (2007). Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography. A*, 1174(1-2), 27–39.
111. Rao, P.S.C., Lee, L.S. & Wood, A.L. (1991). Solubility, Sorption and Transport of Hydrophobic Organic Chemicals in Complex Mixtures. EPA, Environmental Research brief. EPA/600/1M-91/1009 Mar. 1991.
112. Rautemaa, R., Lauhio, A., Cullinan, M., & Seymour, G. (2007). Oral infections and systemic disease. An emerging problem in medicine. *Clin. Microbiol. Infect.*, 13, 1041-1047.
113. Risticvic, S., Vuckovic, D., Pawliszyn, J. (2011). Cap. 15 Application of solid-phase microextraction in determination of organic compounds from complex environmental matrices. En *Biophysico-chemical processes of anthropogenic organic compounds in environmental systems*. Edited by Baoshan Xing, Nicola Senesi, and Pan Ming huang, 2011. John Wiley & Sons, inc.
114. Rodricks, J., Swenberg, J., Borzelleca, J., Maronpot, R., & Shipp, A. (2010). Triclosan: a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Crit Rev toxicol*, 40, 422-484.

115. Ruiz, E. (2011). La corriente costera de Yucatán. Tesis (Licenciatura en manejo sustentable de zonas costeras). Facultad de Ciencias. UNAM.
116. Rule, K.L., Ebbett, V.R., Vikesland, P.J. (2005). Formation of chloroform and chlorinated organics by free-chlorine-mediated oxidation of triclosan *Environ Sci Technol* 39, 3176
117. Rullkötter, J. (2000). Organic matter: The driving force for early diagenesis. *Marine Geochemistry*. Springer-Verlag. Berlin, pp 129-172.
118. Ryba, S., Burgess, R. (2002). Effects of Sample Preparation on the Measurement of Organic Carbon, Hydrogen, Nitrogen, Sulfur, and Oxygen Concentrations in Marine Sediments. *J. Chemosphere*, 48, 1, 139-147.
119. Sabaliunas D., Webb S.F., Hauk A., Jacob M., Eckhoff W.S. (2003). Environmental fate of Triclosan in the River Aire Basin, UK. *Water Res.* 37, 3145-54
120. Sanchez-Prado, L., Llompart, M., Lores, M., García-Jares, C., Bayona, J. M., & Cela, R. (2006). Monitoring the photochemical degradation of triclosan in wastewater by UV light and sunlight using solid-phase microextraction. *Chemosphere*, 65, 1338–1347.
121. Sandborgh-Englund G, Adolfsson-Erici M, Odham G, Ekstrand J. Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *J Toxicol Environ Health* 2006;69:1861-73.
122. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) (2010). Opinion on triclosán. Antimicrobial Resistance. European Commission. Directorate-General for Health & Consumers.
123. Secretaría de Desarrollo Urbano y Medio Ambiente (SEDUMA) (2010). Zona Metropolitana de Mérida. Tomado de <http://www.seduma.yucatan.gob.mx/desarrollo-urbano/zona-metropolitana-merida.php>
124. Silva, N. & Astorga, M. I. (2010). Textura, materia orgánica y composición química elemental (C y N) de sedimentos marinos superficiales de la zona Puerto Montt a Boca del Guafo (Norpatagonia chilena). *Latin american journal of aquatic research*. 38(1): 1-14.
125. Singer, H., S., Müller., C., Tixier., & L., Pilonel. (2002). Triclosan: Occurrence and Fate of a Widely Used Biocide in the Aquatic Environment: Field Measurements in Wastewater Treatment Plants, Surface Waters, and Lake Sediments. *Environ. Sci. Technol*, 36, 4998 – 5004.
126. Smeyers-Verbeke, J., Massart, D.L., Vander-Heyden, Y. (2005). Benchmarking for Analytical Methods: The Horwitz Curve. *LCGC Europe* 18(10). Obtenido de

- <http://www.chromatographyonline.com/benchmarking-analytical-methods-horwitz-curve?id=&pageID=1&sk=&date=>
127. Snyder, L. R., & Kirkland, J. J. (1979). *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. USA: John Wiley & Sons, Inc.
  128. Sosa-ferrera, Z., Mahugo-santana, C., & Santana-rodríguez, J. J. (2013). *Analytical Methodologies for the Determination of Environmental Samples*, 2013 (674838)
  129. Stein, R. (1991). *Accumulation of organic carbon in marine sediments*. Springer-Verla, Berlin, 34:217 pp.
  130. Stuart, M., Lapworth, D., Crane, E., & Hart, A. (2012). Review of risk from potential emerging contaminants in UK groundwater. *Science of the Total Environment*, 416, 1-21.
  131. Tadeo, J. L., Sánchez-Brunete, C., Albero, B. & García-Valcárcel, A. I. (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2415–2440
  132. Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K., Arizono, K. (2004). Effects of triclosan on various aquatic organisms. *Environ. Sci.* 11: 133–140.
  133. The Official Hansen Solubility Parameter Site, s.f. Tomado de <http://hansen-solubility.com>
  134. Thompson, A., Griffin, P., Stuetz, R., Cartmell, E. (2005). The fate and removal of triclosan during wastewater treatment. *Water Environ Res* 77, 63
  135. Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: a clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109
  136. Universidad del Cauca (UNICAUCA) (2014). Transporte de sedimentos. Facultad de Ingeniería Civil. Departamento de Hidráulica. Tomado en junio de 2014 de: <http://artemisa.unicauca.edu.co/~hdulica>.
  137. Valters, K., Li, H.X., Alaei, M., D'Sa, I., Marsh, G., Bergman, A., Letcher, R.J. (2005). Polybrominated diphenyl ethers and hydroxylated and methoxylated brominated and chlorinated analogues in the plasma of fish from the Detroit River. *Environ. Sci. Technol.* 39(15): 5612–5619.
  138. Vanderford, B.J., Snyder, S.A. (2006). Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environ Sci Technol* 40, 7312
  139. Vázquez-Lule, A. D.; G. Ríos-Saís y M. F. Adame (2009). Caracterización del sitio de manglar Celestún, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la

- Biodiversidad (CONABIO). Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica. CONABIO, México, D.F.
140. Veldhoen, N., Skirrow, R.C., Osachoff, H., Wigmore, H., Clapson, D.J., Gunderson, M.P., Van Aggelen, G., Helbing, C.C. (2066). The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat Toxicol* 80, 217
141. Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37, 29-38.
142. Wang, X., Wang, S., Xue, T., Li, B., Dai, X. & Peng, Y. (2015). Treating low carbon/nitrogen (C/N) wastewater in simultaneous nitrification-endogenous denitrification and phosphorous removal (SNDPR) systems by strengthening anaerobic intracellular carbon storage. *Water research*, 77, 191–200
143. Weidie, A.E. (1985) *Geology of Yucatan Platform. Geology and hydrogeology of the Yucatan and Quaternary geology of northeastern Yucatan Peninsula*. New Orleans Geological Society, New Orleans, LA.
144. Wentworth, C. K. (1922): A scale of grade and class terms for clastic sediments. *Journal Geology*. 30: 377-392.
145. Wisconsin Department of Natural Resources (Wisconsin DNR) (1996). *Analytical Detecton Limit Guidance & Laboratory Guide for Determining Method Detection Limits*. Laboratory Certification Program. PUBL-TS-056-96.
146. Worthington, S.R.H., Ford, D.C. (2009). Self-organized permeability in carbonate aquifers. *Ground Water* 47(3):326–336
147. Wu, C., Spongberg, A.L., Witter, J.D. (2009). Adsorption and degradation of triclosan and triclocarban in soils and biosolids-amended soils. *J. Agric. Food Chem.* 57:4900–4905
148. Wu, J.L., Lam, N.P., Martens, D., Kettrup, A., Cai, Z. (2007). Triclosan determination in water related to wastewater treatment. *Talanta* 71, 1650
149. Xu, J., Wu, L., Chang, A.C. (2009). Degradation and adsorption of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in agricultural soils. *Chemosphere* 77:1299–1305.
150. Ye, X., Kukennyik, Z., Needham, L.L., Calafat, A.M. (2005). Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method with peak focusing for the determination of nine environmental phenols in urine. *Anal Chem* 77, 5407

151. Ying, G.G., Kookana, R.S. (2007). Triclosan in wastewaters and biosolids from Australian wastewater treatment plants. *Environ. Internat.* 33: 199–205.
152. Ying, G.G., Yu, X.Y. & Kookana, R.S. (2007). Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modelling. *Environmental Pollution* 150: 300-305.

## 7. ANEXOS

### A. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

En las Tablas XIX a XXI se enlistan los equipos, materiales y reactivos que se utilizaron durante el desarrollo experimental y recolección de muestras.

Tabla XIX. Equipos.

<b>Equipo</b>	<b>Marca, modelo</b>
Agitador orbital	Corning S2020-P4-COR
Agitador vortex	Vortex Genie2 G560. Scientific industries. Inc.
Analizador elemental	COSTECH Instruments EA 4510
Balanza analítica	Explorer Pro EP214C
Centrifuga	Hettich zentrifugen Universal 320
Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies. 6850
Espectrómetro de masas	Agilent Technologies. 5975B-VL
Estufa	Binder
Liofilizadora	LABCONCO
Microbalanza	Sartorius CPA 2P
Parrilla eléctrica de calentamiento y agitación magnética.	Thermo scientific
pH Stat	Titrande 842
Procesador de ultrasonido de alta intensidad	COLE-PARMER Instruments CPX500
Purificador y desionizador de agua (grado 1)	Barnstead-Easy. Pure Rodi C13321
Refrigerador	Revco Elite Plus
Sonda multiparamétrica	YSI 556 MPS

Tabla XX. Materiales.

Nombre	Marca, modelo	Descripción
Draga	Fabricación local	6 x 7.5" (apertura de mandíbula)
Espátulas	RSG Solingen	Acero inoxidable
Fibra para MEFS	Supelco	PDMS/DVB de 65 µm
Frascos de PET	Fabricación local	500 mL
Matraz aforado	Pyrex	5, 10, 25, 50, 100 mL
Matraz Erlenmeyer	Pyrex	25 mL
Microjeringa para cromatografía	Hamilton #701	10 µL
Micropipeta semiautomática	Eppendorf	20, 200, 1000 mL
Pipeta Pasteur	Corning 7095B-5X	Vidrio
Tubo para centrifuga	Fisherbrand	50 mL
Vaso de precipitados	Pyrex	10, 20, 50, 200 mL
Viales	Supelco	Vidrio de 40 mL
Viales para MEFS	Supelco	Vidrio 7 y 15 mL

Tabla XXI. Reactivos.

Nombre/Acrónimo	Acrónimos	Formula	Marca	Grado
2,8-Diclorodibenzo-p-dioxina	DCDD	C <sub>12</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Ultra Scientific	99.9%
Acetanilida		C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NH(COCH <sub>3</sub> )		10.36% N; 71.09% C
Acetato de etilo	AcOEt	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	J.T. Baker	HPLC
Acetonitrilo	ACN	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N	J.T. Baker	HPLC
Ácido clorhídrico		HCl	Karal	99%
Ácido fosfórico		H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	J.T. Baker	RA
Ácido sulfúrico		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	J.T. Baker	RA
Cloruro de sodio		NaCl	J.T. Baker	99.9%
Dicromato de potasio		K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	Sigma-Aldrich	99%
Difenilamina		C <sub>12</sub> H <sub>11</sub> N	Sigma-Aldrich	99%
Hidróxido de potasio		KOH	Sigma-Aldrich Cambridge	99%
Metiltriclosán	MTCS	C <sub>13</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Isotope Laboratories.	99%
Nitrato de plata		AgNO <sub>3</sub>	J.T. Baker	RA
N-metil-N-t-butildimetilsililtrifluoroacetamida	MTBSTFA	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> F <sub>3</sub> NOSi	Fluka	RA
Sulfato de sodio anhidro		NaSO <sub>4</sub>	Sigma-Aldrich	99.4%
Sulfato ferroso		Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sigma-Aldrich	99%
Triclosán	TCS	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Ultra Scientific Cambridge	99%
Triclosán <sup>13</sup> C	TCS <sup>13</sup> C	C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	Isotope Laboratories.	99%



## B. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados completos de cada parámetro medido.

Tabla XXII. Resultados de los parámetros fisicoquímicos del agua: pH, conductividad, potencial oxido reducción (POR) y oxígeno disuelto (OD) de la columna de agua de cada estación.

Zona	Muestra	pH	Conductividad (mS·cm <sup>-1</sup> )	POR (mV)	OD (mg·L <sup>-1</sup> )
Bocana	B1	9.32	65.40	73.10	6.25
	B3	8.54	63.66	94.90	5.88
	B5	8.64	67.69	129.40	6.50
	B7	6.18	4.77	44.90	1.16
Celestún	CE0101	7.50	46.20	136.80	5.11
	CE0102	7.57	51.79	161.60	4.87
	CE0103	7.52	52.61	126.30	4.67
	CE0201	7.35	25.39	108.80	4.92
	CE0202	7.30	27.00	36.90	3.93
	CE0203	7.32	27.19	49.30	4.78
	CE0301	7.25	23.98	56.20	4.24
	CE0302	7.23	23.37	51.10	7.23
	CE0303	7.27	23.74	10.30	4.50
	CE0401	7.36	40.67	42.80	5.35
	CE0402	7.00	38.40	26.20	7.90
	CE0403	7.46	34.17	30.30	3.73
	CE0501	6.59	6.75	12.70	0.40
	CE0502	6.21	36.31	-4.00	0.09
	CE0503	6.74	32.6	15.0	2.7
	CE0504	7.26	29.0	34.0	5.3

	CH01	7.59	67.81	83.60	5.15
	CH02	7.59	55.78	96.90	5.86
Chelem	CH03	6.27	17.08	13.06	2.03
	CH04	7.51	56.77	82.00	5.08
	CH0501	7.62	36.20	84.30	5.36
	CH0502	7.62	36.20	84.30	5.36
	DZ01A	7.02	52.40	149.00	4.33
	DZ01B	7.02	52.40	149.00	4.33
Dzilam	DZ02A	6.23	4.85	156.50	0.81
	DZ02B	6.88	36.6	39.0	3.4
	DZ02C	7.52	68.4	-78.5	6.0
	DZ03	7.52	68.38	-78.50	6.03
	SI01	7.77	34.40	9.50	6.23
	SI02	7.83	34.62	0.50	6.12
	SI03	7.85	34.99	46.60	6.23
Sisal	SI04	7.87	35.56	-72.00	5.38
	SI05	7.83	41.44	-57.40	4.10
	SI06	6.39	3.27	131.70	0.55
	SI07	6.30	3.27	131.70	0.52

Tabla XXIII. Resultados del porcentaje de carbono orgánico (%CO), total (%CT), nitrógeno (%N) y la relación molar de carbono orgánico y nitrógeno (C:N) de la fracción de limos y arcillas de sedimentos de cada estación.

Zona	Muestra	% N	% CO	C:N	% CT
Bocana	B1	0.49	3.26	7.81	13.78
	B3	0.48	3.12	7.55	13.57
	B5	0.34	2.88	9.74	14.01
	B7	0.78	14.18	21.22	22.54
Celestún	CE0101	0.36	2.41	7.80	13.37
	CE0102	0.34	2.88	9.76	13.22
	CE0103	0.36	3.39	10.91	13.77
	CE0201	0.32	2.86	10.58	13.71
	CE0202	0.29	2.30	9.22	13.40
	CE0203	0.82	7.64	10.82	16.23
	CE0301	0.35	3.21	10.78	13.83
	CE0302	0.29	2.42	9.77	13.26
	CE0303	0.40	3.65	10.61	14.02
	CE0401	0.51	4.58	10.40	15.13
	CE0402	0.31	3.34	12.57	14.00
	CE0403	0.28	2.61	10.84	13.88
	CE0501	0.96	18.65	22.71	24.52
	CE0502	0.61	7.62	14.47	16.10
	CE0503	0.50	6.74	15.58	15.67
	CE0504	0.50	4.18	9.82	15.06

	CH01	0.41	3.67	10.50	14.36
	CH02	0.69	5.34	9.05	15.60
Chelem	CH03	0.63	5.03	9.35	15.74
	CH04	0.69	6.38	10.76	15.38
	CH0501	0.64	5.06	9.19	14.66
	CH0502	0.61	4.35	8.34	14.48
	DZ01A	0.88	7.56	10.00	17.07
	DZ01B	0.57	4.88	9.92	14.98
Dzilam	DZ02A	2.40	36.96	17.99	36.82
	DZ02B	1.00	6.75	7.86	17.65
	DZ02C	0.96	9.01	10.93	16.07
	DZ03	0.69	6.08	10.33	15.49
	SI01	0.67	5.87	10.15	15.30
	SI02	0.67	6.57	11.40	15.71
	SI03	0.44	3.98	10.59	14.10
Sisal	SI04	0.66	6.35	11.15	15.67
	SI05	0.48	5.13	12.45	14.78
	SI06	1.96	33.03	19.70	35.95
	SI07	0.27	1.88	7.96	13.43

Tabla XXIV. Resultados de la granulometría de los sedimentos de cada estación: %gravas (>2 mm), %arenas muy gruesas (1 a 2 mm), %arenas gruesas (0.5 a 1 mm), %arenas medianas (0.25 a 0.5 mm), %arenas finas (0.125 a 0.25 mm), %muy finas (0.063 a 0.125 mm) y %limos y arcillas (<0.063 mm).

Zona	Muestra	% gravas	% muy gruesas	% gruesas	% medianas	% finas	% muy finas	% limos y arcillas
Bocana	B1	11.64	6.72	11.00	14.44	33.95	18.83	3.41
	B3	22.23	8.14	5.89	10.41	32.95	17.01	3.36
	B5	11.63	11.71	11.93	14.95	24.36	16.55	8.87
	B7	8.81	11.29	12.20	17.93	20.20	14.68	14.87
Celestún	CE0101	12.52	5.24	6.07	9.47	33.96	25.00	7.74
	CE0102	0.31	0.69	2.34	6.32	43.77	38.42	8.15
	CE0103	0.05	0.08	0.16	0.36	15.10	25.57	58.67
	CE0201	1.74	1.22	5.59	13.88	25.09	23.67	28.81
	CE0202	0.02	0.17	3.89	14.63	21.76	30.17	29.36
	CE0203	11.85	15.06	23.27	19.15	13.50	10.86	6.32
	CE0301	3.75	4.80	9.24	19.52	25.00	19.28	18.41
	CE0302	32.08	20.95	20.23	15.29	5.88	2.92	2.64
	CE0303	0.26	0.33	5.72	14.91	20.66	28.15	29.96
	CE0401	0.02	0.08	2.26	20.66	25.39	25.35	26.26
	CE0402	0.00	0.10	1.91	9.74	19.56	35.35	33.33
	CE0403	0.00	0.06	0.97	5.84	19.25	42.40	31.48
	CE0501	20.51	17.81	22.89	22.53	8.66	4.27	3.32
	CE0502	34.09	20.53	15.02	12.12	6.26	5.53	6.44
	CE0503	6.60	16.33	15.87	24.04	16.94	10.65	9.58
	CE0504	5.25	20.92	13.84	20.41	13.62	12.53	13.41

	CH01	21.61	16.15	15.68	13.97	14.43	11.03	7.13
	CH02	33.98	17.03	13.02	11.74	11.05	8.04	5.14
Chelem	CH03	3.97	2.17	3.90	13.34	27.65	28.02	20.95
	CH04	16.95	9.82	11.70	14.37	18.20	15.12	13.85
	CH0501	0.10	0.15	0.46	3.09	13.29	38.98	43.92
	CH0502	0.15	0.85	7.57	9.58	16.05	32.05	33.75
	DZ01A	13.37	6.99	7.82	8.75	32.41	21.80	8.86
	DZ01B	7.80	2.54	3.52	6.03	49.22	26.55	4.34
Dzilam	DZ02A	16.31	14.04	16.69	15.68	13.98	13.98	9.32
	DZ02B	3.97	7.72	16.86	20.68	15.38	18.01	17.38
	DZ02C	3.42	8.45	12.38	15.54	19.48	21.48	19.26
	DZ03	9.12	10.64	16.07	15.06	15.57	17.24	16.29
	SI01	32.37	10.45	14.03	20.94	14.71	4.44	3.06
	SI02	13.42	9.39	9.97	15.03	22.75	17.23	12.21
	SI03	12.23	8.85	11.27	19.01	21.63	13.95	13.07
Sisal	SI04	0.02	0.57	2.79	6.97	17.76	34.14	37.75
	SI05	0.14	0.42	2.92	8.97	16.73	27.55	43.27
	SI06	4.39	5.47	10.40	17.75	19.38	20.38	22.22
	SI07	29.49	10.07	15.49	20.52	20.21	3.87	0.34

Tabla XXV. Concentración de TCS determinada en la fracción de limos y arcillas de los sedimentos y con respecto al contenido de carbono orgánico de cada estación.

<b>Zona</b>	<b>Muestra</b>	<b>TCS (ng·g sed<sup>-1</sup>)</b>	<b>TCS (ng·gCO<sup>-1</sup>)</b>
Bocana	B1	0.81	23.95
	B3	1.84	53.15
	B5	0.61	19.47
	B7	1.36	9.52
Celestún	CE0101	0.61	26.73
	CE0102	0.56	22.54
	CE0103	0.59	20.27
	CE0201	1.65	68.41
	CE0202	0.56	25.18
	CE0203	0.59	8.63
	CE0301	0.35	12.59
	CE0302	1.01	41.10
	CE0303	1.07	35.21
	CE0401	3.83	93.99
	CE0402	0.70	27.00
	CE0403	0.66	27.23
	CE0501	2.67	15.05
	CE0502	2.42	29.55
	CE0503	3.16	52.84
	CE0504	1.83	41.57

	CH01	0.90	24.33
	CH02	1.00	18.39
Chelem	CH03	0.58	11.98
	CH04	0.74	13.92
	CH0501	0.73	15.82
	CH0502	0.53	12.59
<hr/>			
	DZ01A	0.99	12.22
	DZ01B	1.11	22.19
Dzilam	DZ02A	6.80	21.75
	DZ02B	1.59	19.24
	DZ02C	1.66	19.82
	DZ03	1.17	20.67
<hr/>			
	SI01	0.97	17.43
	SI02	1.03	19.32
	SI03	0.46	11.78
Sisal	SI04	0.63	11.94
	SI05	0.51	12.26
	SI06	2.35	8.54
	SI07	0.67	29.39
<hr/>			