



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

“NIVELES ACTUALES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS (HAPs) EN ORGANISMOS BIVALVOS DE LA LAGUNA DE ALVARADO, VERACRUZ, MÉXICO.”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
(QUÍMICA ACUÁTICA)

PRESENTA:

Hidrobiól. Pascuala Montiel Mejía

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Fernando Antonio González Farías
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

COMITÉ TUTOR:

Dra. María Guadalupe Ponce Vélez
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

Dra. Silke Cram Heydrich
Instituto de Geografía

Dra. Ana Carolina Ruíz Fernández
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Mazatlán

Dra. Gabriela Rodríguez Fuetes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Sisal

ASESORA EXTERNA: Dra. María Martha Reguero Reza
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. Marzo, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**“NIVELES ACTUALES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS
POLICÍCLICOS (HAPs) EN ORGANISMO BIVALVOS DE LA
LAGUNA DE ALVARADO, VERACRUZ, MÉXICO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
(Química Acuática)

PRESENTA:
Hidrobiólogo. Pascuala Montiel Mejía

DIRECTOR DE TESIS: Dr. Fernando Antonio González Farías
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

COMITÉ TUTOR:
Dra. María Guadalupe Ponce Vélez
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

Dra. Silke Cram Heydrich
Instituto de Geografía

Dra. Ana Carolina Ruíz Fernández
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Mazatlán

Dra. Gabriela Rodríguez Fuetes
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Sisal

ASESORA EXTERNA: Dra. María Martha Reguero Reza
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. Marzo, 2016

DEDICATORIA

A mis padres

A mis hermanas

A mis sobrinos

A Jorge

*“Live as if you were to die tomorrow.
Learn as if you were to live forever.”*

-Mahatma Gandhi

AGRADECIMIENTOS

A la ilustre Universidad Autónoma de México y al Instituto de Ciencias del Mar por brindarme la oportunidad y las herramientas para seguirme formado académicamente.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la realización de mis estudios.

Al Dr. Fernando Gonzáles Farías por aceptarme como alumna, y guiarme durante la elaboración de este trabajo.

Un agradecimiento especial al Dr. Alfonso Vázquez Botello por brindarme la confianza para formar parte de su equipo de trabajo y proveerme del espacio, equipo y materiales necesarios para la realización de este estudio.

A cada una de las integrantes de mi comité tutorial: Dra. Silke Cram Heydrich, Dra. Martha Reguero Reza, Dra. Ana Carolina Ruíz Fernández, Dra. Gabriela Rodríguez fuentes, por el constate enriquecimiento de este trabajo con sus valiosos comentarios, y el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis, particularmente a la Dra. Guadalupe Ponce Vélez por compartir conmigo sus conocimientos durante el procesamiento de los organismos y ser parte clave de mi formación, por todos sus consejos y aportaciones

A mis padres Amalia y Emeterio, por todos sus consejos, por inculcarme valores y enseñarme que todo por lo que vale la pena luchar requiere de esfuerzo y perseverancia, por su infinito amor y estar siempre presente en mis logros y fracasos, sin importar las circunstancias.

A mis hermanas, Jazmín por permitirme compartir maravillosos momentos con mis sobrinos que siempre me alegran y hacen sonreír, Clara por ser mi cómplice de aventuras y por creer siempre en mí, y Magy porque tu recuerdo siempre me inspira para continuar.

A Jorge por estar a mi lado y compartir tanto conmigo, por tu cariño, pero sobre todo por tu paciencia y admiración.

A mis compañeros y amigos: Esteban, Anita, Vero, Mariana, Naty y Vladimir por su agradable compañía, por hacer mucho más llevaderos estos años, por escucharme siempre y por todo su apoyo.

Les agradezco infinitamente porque sin ustedes la culminación de esta tesis no hubiera sido posible, y por lo tanto este logro no es solo mío sino suyo también

ÍNDICE

Índice de siglas y abreviaturas.	ii
Índice de figuras.	v
Índice de tablas.	vi
Resumen	vii
1. Introducción.	1
2. Marco teórico.	
2.1 Características fisicoquímicas.	5
2.2 Importancia del estudio de los HAPs	7
2.3 Origen y aporte de los HAPs al ambiente acuático.	9
2.4 Ingreso y comportamiento de los HAPs en el ambiente acuático.	13
2.5 Ingreso y efecto de los HAPs en los organismos acuáticos.	15
3. Antecedentes.	17
4. Justificación.	21
5. Hipótesis y objetivos.	
5.1 Objetivo general.	23
5.2 Objetivos específicos.	23
6. Área de estudio.	24
7. Metodología.	
7.1 Materiales y equipos.	27
7.2 Recolección de organismos.	28
7.3 Extracción de los HAPs.	29
8. Identificación de los organismos.	
8.1 Sistemática.	32
9. Análisis de datos	38
10. Resultados y discusión.	
10.1 Parámetros fisicoquímicos.	38
10.2 Hidrocarburos aromáticos policíclicos en organismos bivalvos.	43
11. Conclusiones.	53
12. Literatura citada.	54
13. Anexos.	
13.1 Anexo 1.	67
13.2 Anexo 2.	70
13.3 Anexo 3.	71

ÍNDICE DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
RAMSAR	Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas.
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
PCBs	Polychlorinate Biphenyls
OSPAR	Convención para la Protección del Medio Ambiente Marino del Atlántico del Noreste
USEPA	United States Environmental Protection Agency
EPA	Environmental Protection Agency
IARC	International Agency for Research on Cancer
OMS	Organización Mundial de la Salud
CE	Comisión Europea
SEGOB	Secretaria de Gobernación
No	Número
CAS	Chemical Abstracts Service
PM	Peso Molecular
g/mol	Gramos por mol
Pf	Punto de fusión
°C	Grados Celsius
Pe	Punto de ebullición
Sol. en H ₂ O	Solubilidad en agua
mg/L	Miligramos por litro
Kow	Coeficiente de partición octanol/agua
Koc	Coeficiente de adsorción en carbono orgánico agua/sedimento
Naf	Naftaleno
Ace	Acenaftileno
Acen	Acenafteno
Fl	Fluoreno
Fen	Fenantreno

Ant	Antraceno
Fluo	Fluoranteno
Pir	Pireno
BaA	Benzo(a)antraceno
Cri	Criseno
BbF	Benzo(b)fluoranteno
BkF	Benzo(k)fluoranteno
BaP	Benzo(a)pireno
IP	Indeno(1,2,3-cd)pireno
DahA	Dibenzo(a,h)antraceno
BghiP	Benzo(g,h,i)perileno
Per	Perileno
FAO	Food and Agriculture Organization
pH	Potencial de hidrógeno
COPs	Compuestos Orgánicos Persistentes
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
UE	Unión Europea
CYP450	Citocromo P450
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
EH	Epóxido Hidrolasa
GST	Glutación S Transferasa
Ha	Hectáreas
SEMAR	Secretaria de Marina
M	Metros
m ³	Metros cúbicos
%	Porcentaje
FIR	Ficha informativa de los humedales de Ramsar
ups	Unidades prácticas de salinidad
T	Toneladas
PEMEX	Petróleos Mexicanos
HPLC	High Performance Liquid Chromatography

mm	Milímetros
MPS	Multiparametric system
Solv.	Solvente
MAE	Microwave Assisted Extraction
µg/g	Microgramos por gramo
CG	Cromatografía de Gases
FID	Flame Ionization Detector
Ø int.	Diámetro interno
µm	Micrómetros
mL/min	Mililitro por minuto
ICMyL	Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
CU	Ciudad Universitaria
M	Molar
W	Watts
UNEP	United Nations Environment Programme
FAO	Food and Agriculture Organization
IOC	Intergovernmental Oceanographic Commission
IAEA	International Atomic Energy Agency
psi	Libra por pulgada cuadrada
LMD	Límite de detección
LDC	Límite de cuantificación
CV	Coeficiente de variación
T	Temperatura
S	Salinidad
OD	Oxígeno disuelto
SOD	Saturación de oxígeno disuelto
CONTAM	Contaminants in the Food Chain
EFSA	European Food Safety Authority
Am	Área de la muestra
Ab	Área del blanco
Astd	Área del estándar

Cstd	Concentración del estándar
Vlm	Volumen de la muestra
VR	Volumen de reconstrucción del extracto purificado
Pm	Peso de la muestra

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructuras químicas de los 16 hidrocarburos analizados.	5
Figura 2. Esquema de la biotransformación del B(a)P	17
Figura 3. Mapa de la laguna de Alvarado, Veracruz con los sitios de recolección durante marzo del 2015.	24
Figura 4. Valvas de un ejemplar de <i>Crassostrea virginica</i> .	32
Figura 5. Valvas de un ejemplar de <i>Crassostrea rhizophorae</i> .	34
Figura 6. Valvas de un ejemplar de <i>Rangia cuneata</i> .	35
Figura 7. Valvas de un ejemplar de <i>Rangia flexuosa</i> .	36
Figura 8. Valvas de un ejemplar de <i>Polymesoda carolinina</i> .	37
Figura 9. Variabilidad espacial de la temperatura de la laguna de Alvarado.	39
Figura 10. Variabilidad espacial de la salinidad de la laguna de Alvarado.	40
Figura 11. Variabilidad espacial del pH de la laguna de Alvarado.	41
Figura 12. Variabilidad espacial del OD de la laguna de Alvarado.	42
Figura 13. Variabilidad espacial de la SOD de la laguna de Alvarado.	42
Figura 14. Sumatoria de las concentraciones de cada uno de los HAPs detectados en los organismos.	49
Figura 15. Relaciones isoméricas de los HAPs detectados en las muestras de organismos bivalvo de la laguna de Alvarado.	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los HAPs.	6
Tabla 2. Procesos naturales y artificiales que son generadores de HAPs e índices usados para identificar las fuentes de origen de los mismos.	13
Tabla 3. Coordenadas geográficas de los sitios de recolección de organismos en la laguna de Alvarado, Veracruz.	29
Tabla 4. Concentraciones detectadas de los 16 HAPs evaluados en los tejidos de los organismos en cada uno de los sitios de recolección.	44
Tabla 5. Concentraciones de hidrocarburos presentes en organismos bivalvos evaluados en distintos sitios.	52

RESUMEN.

Se analizaron los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), considerados prioritarios por la Environmental Protection Agency (EPA) en tejido blando de moluscos bivalvos que fueron recolectados en la laguna de Alvarado, Veracruz, durante el mes marzo que corresponde al periodo de secas del 2015, en una red de estaciones considerando la posible aparición de los moluscos.

El propósito fue detectar y cuantificar las concentraciones de estos contaminantes en el ambiente acuático y tratar de identificar el origen de los mismos, así como determinar si los organismos contenían HAPs de alto riesgo ambiental que pudieran perjudicar de manera indirecta la salud humana por el consumo de los mismos.

La extracción de los HAPs se realizó siguiendo el método EPA 3546 (2001), y después se siguió la metodología de la UNEP/FAO/IOC/IAE (1993), para la purificación de los extractos, por último la cuantificación de los HAPs se realizó por cromatografía de gases con detector de ionización de flama.

Las concentraciones totales de los HAPs en los organismos fueron de 640 ng/g a 3000 ng/g y se detectaron compuestos considerados cancerígenos en todas las muestras de bivalvos analizadas, como el BaP y el DahA, este último fue el compuesto individual que presentó la concentración más elevada (2550 ng/g).

La presencia de los poliaromáticos de alto peso molecular fue dominante y de origen predominantemente pirolítico.

La mayoría de los organismos estudiados presentó concentraciones de BaP que sobrepasan los límites máximos recomendados por la Unión Europea (UE) contenidos en moluscos para el consumo humano, lo que representa un riesgo, ya que estos se encuentran en la cultura de consumo, y no solo local, puesto que las pesquerías de bivalvos de la laguna de Alvarado son de las más importantes del país, lo que hace indispensable el monitoreo constante de estos contaminantes.

1. INTRODUCCIÓN

Los estuarios y las lagunas costeras son ecosistemas complejos, debido al dinamismo de la zona que es producto de la interfase del continente, océano y la atmósfera y, que por sus amplias variedades de hábitats albergan un gran número de organismos de importancia ecológica y comercial (Ávila-Pérez y Zarazúa-Ortega, 1993). Las lagunas costeras son de los ecosistemas más productivos, lo cual se refleja en su alta rendimiento pesquero y diversidad, esta elevada productividad se debe a que dichos ecosistemas disponen de nutrientes terrígenos provenientes de los ríos, escurrimientos y del reciclamiento durante la mineralización de la materia orgánica en el sedimento, así como de la resuspensión de la misma en la columna de agua. La alta fertilidad de las lagunas costeras mantienen una rica y compleja trama alimenticia sosteniendo importantes pesquerías (Botello *et al.*, 2000 y Lara-Lara *et al.*, 2008).

Por la falta de buena planeación y regulación estos ambientes son usados como áreas de vertimiento de desechos urbanos, portuarios e industriales, especialmente de la industria petrolera en el Golfo de México (Ávila-Pérez y Zarazúa-Ortega, 1993), que por causa de las operaciones de extracción, refinación, transporte, almacenamiento y uso del petróleo provocan alteraciones de ecosistemas marinos y costeros (García-Ruelas *et al.*, 2002).

La laguna de Alvarado es uno de los sistemas estuarinos más productivos en el golfo de México, sin embargo dicho ecosistema manifiesta un constante deterioro, no solo por la pesca excesiva, sino porque está siendo afectado por la contaminación (Muñoz-Aldape, 2010). Según la Comisión Nacional para el Conocimiento y el uso de la Biodiversidad (CONABIO), el sistema lagunar Alvarado es de importancia para alimentación, refugio, reproducción, desarrollo y crecimiento de diferentes especies. Fue declarado sitio RAMSAR (Convenio sobre los Humedales de Importancia Internacional, especialmente como Hábitat de Aves Acuáticas), asimismo, el sistema lagunar Alvarado fue registrado como Área de Importancia para la Conservación de las Aves (CONABIO, 2003). Entre las especies de alto valor comercial que se encuentran en el área se tiene a moluscos bivalvos (*Crassostrea rhizophorae*, *C. virginica*, *Polymesoda caroliniana*, *Rangia cuneata*, *R. flexuosa*); crustáceos (*Callinectes bocourti*, *C. danae*, *C. ornatus*, *C. similis*, *Uca rapax*, *Farfantepenaeus aztecus*); peces (*Centropomus undecimalis*, *Cichlasoma urophthalmus*,

Oreochromis niloticus); además de especies protegidas de manglares (*Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia germinans* y *Conocarpus erectus*) (CONABIO, 2010; SAGARPA, 2008).

Ruíz-Fernández *et al.* (2014) mencionan que la laguna de Alvarado y su zona de influencia han sufrido deterioro, entre ellos el incremento de la erosión de suelos en la cuenca, que a su vez, ha modificado el ritmo de sedimentación, la composición geoquímica y la calidad del sedimento, que se acumula en la laguna.

Los sedimentos son una matriz integradora de los cambios químicos y equilibrios de la solubilidad de los compuestos orgánicos e inorgánicos contenidos en la columna de agua a través del tiempo. La adsorción de compuestos orgánicos en partículas y, la formación de complejos y/o de precipitados, son los mecanismos que favorecen la incorporación de estos compuestos químicos a los sedimentos (Rudolph, 2002).

Pelusco (2011), refiere que a la contaminación de los sedimentos y al deterioro general del ecosistema por la presencia de algunos compuestos como hidrocarburos, Polychlorinate Biphenyls (PCBs), mercurio y plaguicidas, se le asocian efectos adversos en la biota, que en algunos casos son evidentes, como cambios a nivel poblacional por reducción del éxito reproductivo o del reclutamiento. Por ejemplo, las comunidades de invertebrados bentónicos pueden verse alteradas por disminución y modificación de su riqueza específica, en otros casos las perturbaciones son difíciles de detectar, como respuestas fisiológicas a nivel bioquímico, lo cual puede derivar en variaciones de las funciones osmorreguladoras e inmunológicas (Espina y Vanegas, 2005).

La flora y fauna bentónicas (aquella asociada a los sedimentos) contribuyen al funcionamiento de los ecosistemas acuáticos, particularmente los invertebrados, como los bivalvos que poseen una riqueza específica y biomasa abundantes (Pelusco, 2011).

La fauna malacológica es uno de los componentes bióticos más relevantes de los ecosistemas lagunares, debido a su posición de consumidores dentro de la red trófica y a que algunas especies nativas, como ostiones y almejas, están sujetas a explotación comercial y son objeto de cultivos extensivos (Reguero y García-Cubas, 1989). El uso de bivalvos como bioindicadores de la contaminación química es ampliamente aceptado y es

recomendado por los convenios internacionales, como la Comisión OSPAR (Convenio para la Protección del Medio Ambiente Marino del Atlántico del Nordeste), Convenio de Barcelona y la Comisión de Helsinki (Viñas *et al.*, 2009). Un organismo bioindicador de contaminación es aquel donde la respuesta a esta puede advertirse y pueden ser manifestaciones de modificaciones en comportamiento, fisiología o simple tolerancia o intolerancia a los contaminantes (Baqueiro-Cárdenas, 2007). En este sentido, los moluscos bivalvos son ampliamente utilizados en los programas de vigilancia de la costa, como el programa Mussel Watch (Viñas *et al.*, 2009); Long y Sloane (2005) exponen que estos organismos son a menudo usados como indicadores de las condiciones ambientales actuales debido a que son relativamente inmóviles y son directamente afectados (incrementando su mortalidad) por la exposición a los contaminantes en los sedimentos donde residen.

Por lo que es importante analizar organismos considerados indicadores de compuestos potencialmente peligrosos en estudios donde se evalúa la presencia de contaminantes ambientales, ya que son ellos los que interactúan con el hombre al ser incluidos en su alimentación y los compuestos presentes en sus tejidos pueden provocar problemas de salud (Badawy *et al.*, 1993).

Dentro de los contaminantes presentes en la zona costera se encuentran los hidrocarburos del petróleo (Vázquez-Botello, 1996). Los hidrocarburos son los componentes principales del petróleo y en general, son compuestos orgánicos que sólo contienen hidrógeno y carbono (Calva y Torres, 2007).

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) son emitidos a la atmósfera por diversas actividades antropogénicas, asociados a la fase gaseosa o a partículas volátiles. A través de diversos fenómenos atmosféricos se favorece su dispersión y transporte a grandes distancias. Las propiedades físicas y químicas de los HAPs de bajo peso molecular hacen de ellos candidatos ideales para su dispersión a través de la atmósfera. En cambio los HAPs de mayor peso molecular tienen mayor afinidad por el material particulado como cenizas y la materia orgánica del suelo y por lo tanto son más persistentes en el ambiente (Ortiz-Salinas *et al.*, 2012). Puleggi (1991) y Bombi *et al.* (1991) refieren que los HAPs son principalmente emitidos al ambiente por procesos pirolíticos y que estos representan del 40 al 83% de los HAPs contenidos en los vertimientos urbanos, otras fuentes que se han

reportado son de origen petrolero o petrogénicos y los HAPs producidos por biosíntesis contribuyen con una fracción minoritaria.

Los HAPs son contaminantes ambientales persistentes y ampliamente distribuidos, presentes en mezclas complejas (Neff, 1979) y debido a sus características tóxicas, mutágenas y cancerígenas, varios de ellos han sido identificados como contaminantes prioritarios por parte de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA) (International Agency for Research on Cancer, 2007), así como también por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Comunidad Europea (CE) (Ortíz-Brito *et al.*, 2007). Por lo tanto sus fuentes y distribución en el medio ambiente tienen que ser supervisados de manera particular (Ramdine *et al.*, 2012). En México no existen normas con respecto a los límites permisibles de hidrocarburos en el ambiente marino o costero, sin embargo sí existe una Norma Oficial Mexicana (NOM-138-SEMARNAT/SSAI-2012), que establece los límites máximos permisibles de hidrocarburos en suelos y lineamientos para el muestreo en la caracterización y especificaciones para la remediación (SEGOB, 2013).

De igual manera se ha estudiado el origen, distribución y destino en el medio ambiente de los HAPs y se cuentan entre los principales grupos de contaminantes ambientales debido a su potencial de bioacumulación (proceso por el cual una concentración de un contaminante es incrementada en un organismo comparada a la del ambiente, debido a la incorporación por todas las rutas incluyendo la dieta, absorción dérmica o por vía respiratoria) (Arias *et al.*, 2010 y Espinoza-García, 2016). Por lo tanto, es importante evaluar la presencia de HAPs en agua, sedimentos y organismos de un ecosistema costero. Para propósitos de programas de vigilancia es necesario incorporar e incrementar la evaluación de los niveles de HAPs en moluscos bivalvos, ya que con estos se puede determinar el estado de las zonas costeras y si estas presentan contaminación por petróleo (Vázquez-Botello *et al.*, 1993).

Por lo expuesto anteriormente este estudio se orientó al análisis de HAPs en muestras biológicas (bivalvos) de la laguna de Alvarado, Ver., para evaluar la presencia y concentración de dichos compuestos en este sistema costero.

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 Características físico-químicas de los HAPs

Por definición, los HAPs constan de dos o más anillos bencénicos, en posición lineal, angular o con un conjunto de arreglos (Herrera-Murillo y Chaves-Villalobos, 2012).

Los anillos bencénicos o aromáticos constan de 6 carbonos fusionados a través de dos o más átomos de carbono, pero algunos HAPs contiene también anillos de 5 carbonos, como Acenaftileno (Ace), Fluoranteno (Fluo) y otros (García-Martínez, 2005).

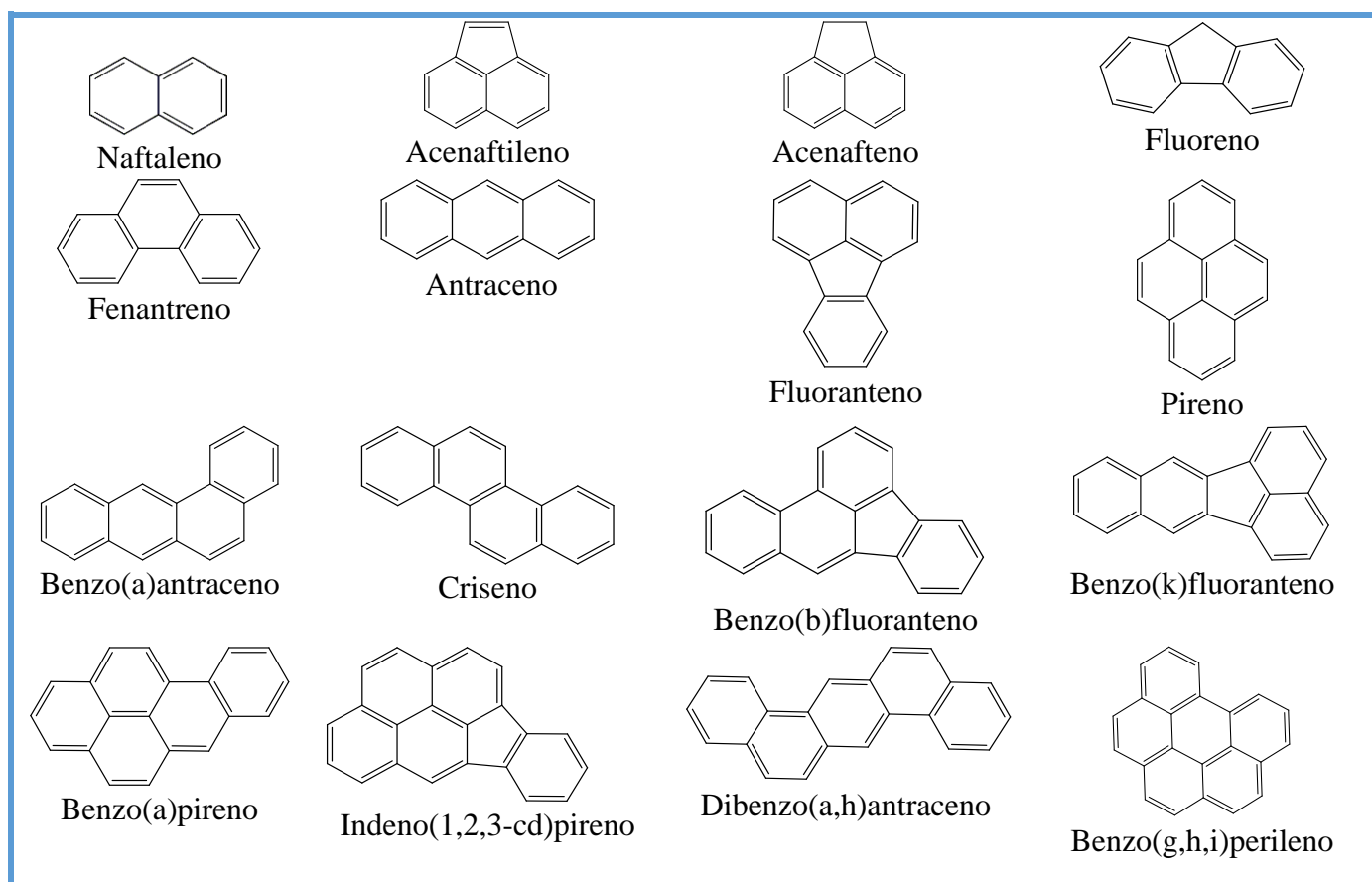


Figura. 1. Estructura química de los 16 HAPs considerados prioritarios por la USEPA. (Estructuras químicas realizadas en ChemBioDraw Ultra 12.0. Para realizar las estructuras se tomaron como referencia las publicadas por la CE (https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/Factsheet%20PAH_0.pdf).

Los HAPs son compuestos altamente estables gracias a que los anillos bencénicos presentan sistemas continuos de dobles enlaces conjugados. Las reacciones características de los compuestos aromáticos como los HAPs son las de sustitución; en este tipo de reacciones un átomo de hidrogeno del anillo bencénico es reemplazado, manteniendo

siempre el arreglo de anillos. Algunos ejemplos de estas reacciones son la halogenación, la sulfonación, la nitración y las alquilaciones (Autoni *et al.*, 2013).

Tabla 1. Características fisicoquímicas de los HAPs.

HAP	PM (g/mol) ¹	Pf(°C) ¹	Pe(°C) ¹	Sol. en H ₂ O (mg/L) ¹ a 25°C	logKow ¹	logKoc ²
Naftaleno	128.063	80.30	218.00	31.00	3.30	2.97
Acenaftileno	152.196	89.40	280.00	9.00	3.93	1.40
Acenafteno	154.212	93.00	277.50	3.90	3.92	3.66
Fluoreno	166.223	114.76	294.00	1.69	4.18	3.86
Fenantreno	178.234	101.00	340.00	1.15	4.46	4.15
Antraceno	178.234	218.00	342.00	4.34x10 ⁻²	4.45	4.15
Fluoranteno	202.256	110.20	384.00	0.20-0.26	5.16	4.58
Pireno	202.256	150.62	404.00	0.135	4.88	4.58
Benzo(a)antraceno	228.294	156.00	437.60	0.0094	5.76	5.28-5.58
Criseno	228.294	255.00	448.00	0.002	5.73	5.30
Benzo(b)fluoranteno	252.316	168.00	481.00	0.0015	5.78	5.74
Benzo(k)fluoranteno	252.316	217.00	480.00	0.0008	6.11	5.88-6.08
Benzo(a)pireno	252.316	178.10	496.00	0.00162	6.13	5.46-6.42
Indeno(1,2,3-cd)pireno	276.331	163.60	536.00	0.062	6.58	7.66
Dibenzo(ah)antraceno	278.354	269.00	524.00	6.27x10 ⁻⁴	6.50	5.97
Benzo(ghi)perileno	276.338	278.30	550.00	2.6x10 ⁻⁴	6.63	6.31-6.78

1) Datos tomados de la base de datos PubChem

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>; 2) Cram *et al.*, 2004; Igwe *et al.*, 2015.

PM=peso molecular. g/mol=gramos sobre mol. Pf=punto de fusión. Pe=punto de ebullición.

Sol. en H₂O=solubilidad en agua. mg/L=miligramos sobre litro. logKow=logaritmo de coeficiente de partición. logKoc=logaritmo de coeficiente de adsorción. °C=grados centígrados.

Los HAPs pueden clasificarse de acuerdo a su peso molecular (Tabla 1) en compuestos ligeros o pesados, dependiendo del número de anillos que contengan, de 2 y 3 anillos bencénicos se consideran HAPs ligeros, y los de 4, 5 y 6 anillos son HAPs pesados. Los de bajo peso molecular tienden a estar más concentrados en la fase de vapor como: Naftaleno (Naf), Acenaftileno (Ace), Acenafteno (Acen), Antraceno (Ant), Fluoreno (Fl) y Fenantreno (Fen), en tanto que los de mayor peso molecular se asocian a menudo con partículas como es el caso de: Benzo(b)fluoranteno (BbF), Benzo(k)fluoranteno (BkF), Benzo(a)pireno (BaP), Ideno(1,2,3-cd)pireno (IP), Dibezo(a,h)antraceno (DahA) y Benzo(ghi)perileno (BghiP), y los compuestos con peso intermedio a los anteriores se encuentran tanto en fase de vapor como en partículas: Fluoranteno (Fluo), Pireno (Pir),

Criseno (Cri) y Benzo(a)antraceno (BaA). Presentan solubilidad variada en solventes orgánicos pero son prácticamente insolubles en agua conforme mayor es su peso (Herrera-Murillo y Chaves-Villalobos, 2012).

El Kow o coeficiente de partición octanol/agua es una medida de como una sustancia puede distribuirse en dos solventes inmiscibles, agua que es una sustancia polar y octanol una sustancia no polar, que representa las grasas. Los HAPs con un valor de Kow alto pueden acumularse en tejido adiposo de los organismos dado a que los compuestos son solubles en las grasas (Jáquez-Mata, 2014).

El Koc se conoce como coeficiente de adsorción sedimento/agua o coeficiente de adsorción. Es una medida de la tendencia de un compuesto orgánico a ser adsorbido (retenido) por los sedimentos. Los HAPs con un valor de Koc elevado se fijan con firmeza al material orgánico del sedimento (ya que este proporciona un depósito para el almacenamiento de compuestos orgánicos hidrófobos), por lo que poca cantidad del compuesto se mueve a las aguas circundantes (Jáquez-Mata, 2014 y Manahan, 2007).

Debido a que los valores de Kow y Koc en los compuestos orgánicos tienden a ser muy elevados comúnmente se expresan como $\log Kow$ y $\log Koc$.

2.2 Importancia del estudio de los HAPs

De toda la familia de hidrocarburos que afectan la salud de los organismos y propiedades de los sedimentos, como la materia orgánica, nutrientes como el fósforo y nitrógeno, el pH y la biodiversidad microbiana, causando un deterioro ambiental son los HAPs (Cobos-Chong, 2014).

Los HAPs pertenecen al grupo de Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) ya que de acuerdo con el Protocolo de Contaminantes Orgánicos Persistentes firmado en Dinamarca en 1998, reúnen las cinco características fundamentales debido a sus características fisicoquímicas : 1) ser tóxicos que es la capacidad de una sustancia para ejercer un efecto nocivo sobre un organismo, 2) persistentes, aquellos compuestos químicos resistentes a la degradación que perduran largo tiempo en el ambiente y pueden recorrer grandes distancias, 3) bioacumulables, 4) ser transportados a través del aire y depositados a largas distancias, y 5) causar efectos negativos sobre la salud y el medio ambiente tanto cerca,

como lejos de donde son emitidos) (Mejía-Monterroza, 2001; Ronco *et al.* 2009; Yarto *et al.*, 2003). Entre ellos los 16 HAPs son considerados como prioritarios por la USEPA y por la Unión Europea (UE). El alto potencial genotóxico y carcinógeno de los HAPs se debe a la existencia de la región Bahía presente en la estructura de algunos HAPs (se denomina región bahía al área cóncava exterior que presentan algunos HAPs como es el caso del Benzo(a)pireno y está formada por tres de sus anillos bencénicos en una disposición no lineal), con unas propiedades electrofílicas elevadas que permiten interaccionar con los enlaces covalentes del ADN, destacándose entre los más peligrosos Antraceno (Ant), Benzo(a)pireno (BaP) y Dibezo(a,h)antraceno (DahA) (Mejía-Monterroza, 2001; Ronco *et al.* 2004; Yarto *et al.*, 2003).

Diversas organizaciones internacionales como la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC por si siglas en ingles), USEPA y la UE; se han dado a la tarea de realizar clasificaciones basadas en estudios experimentales del potencial carcinogénico de algunas sustancias incluidos algunos de los HAPs que se analizaron en este trabajo.

Dentro de la clasificación de sustancias cancerígenas de la IARC se encuentran los siguientes grupos: grupo 1, incluye las sustancias que se ha comprobado que son cancerígenas para el ser humano, el único hidrocarburo de los que se analizaron en este trabajo que se encuentra en esta categoría es el BaP; grupo 2A, en esta categoría están los compuestos que son probablemente carcinógenos para el ser humano, aunque las pruebas no son concluyentes para asegurarlo, sin embargo hay pruebas suficientes de carcinogenicidad en animales, el poliaromático que pertenece a este grupo de los 16 analizados es el DahA; grupo 2B, incluye sustancias en las que las pruebas de que pueden causar cáncer en el ser humano son limitadas e insuficientes para asegurar que producen cáncer en animales, los HAPs clasificados en este grupo son, BaA, Cri, IP, Naf, BbF y BkF y; grupo 3, en esta categoría están los compuestos para los que aún no hay pruebas de que puedan causar cáncer en el ser humano, pero existen fuertes evidencias de que los mecanismos de carcinogenicidad en animales no opera en humanos, los HAPs encontrados en este grupo son el BghiP, Ant, Fen, Flu y Pir (IARC 2016).

En cuanto a la clasificación de la USEPA que difiere un poco a la de la IARC, ya que su clasificación no es tan detallada; el BaA, Cri, BbF, BaP, DahA e IP están clasificados como

B2, son probables carcinógenos en humanos y carcinógenos en animales; el Naf está clasificado en el grupo C como posible carcinógeno en humanos, disponen de pruebas limitadas en animales y ausencia de información en humanos. El resto de los HAPs están considerados en el grupo D, ya que no clasifican como carcinógenos humanos (Soriano-Sanz, 2009). En tanto que la UE reconoce al BaP, BaA, BbF, BkF, BghiP, Cri, DahA e IP como compuestos carcinógenos (UE reglamento 835/2011).

2.3 Origen y aportes o fuentes de HAPs al ambiente.

El petróleo es una mezcla compleja de compuestos orgánicos y se pueden identificar más de 17000 componentes químicos distintos. En su composición predominan los hidrocarburos (50-98%), entre estos podemos encontrar HAPs, pero principalmente se forman durante la combustión incompleta de petróleo y de sus derivados, así como la de todo tipo de materia orgánica, como carbón, madera, tabaco o vegetación en general. En otras palabras, los HAPs se producen por procesos pirolíticos. La pirólisis consiste en la descomposición de la materia orgánica por la acción del calor en ausencia de oxígeno, la descomposición térmica de estos materiales biomásicos se produce a través de una serie de complejas reacciones químicas, además es un proceso muy extendido en el medio ambiente ya que los procesos pirolíticos no solo son empleados por las industrias (p. ej. Obras de cemento, incineración, procesado de alimentos y metalurgia), sino también por el sector agrícola y los hogares que utilizan hornos de leña u otro tipo de biomasa; además puede ocurrir la pirólisis de manera natural como en los incendios forestales y erupciones volcánicas (pirólisis incompleta), lo que explica la alta distribución de HAPs en todos los compartimentos ambientales (aire, suelo, aguas, sedimentos y tejidos biológicos) y en los alimentos (carne, pescado ahumado, cereales, azúcar y dulces, aceites, grasas, leche y derivados lácteos sobre todo) (Vives *et al.*, 2001; Izquierdo-Romero, 2013 y FAO, 2009).

También existen otras rutas por las cuales se llegan a formar este tipo de compuestos como la diagénesis a temperatura baja o moderada de materia orgánica sedimentaria, proceso que consiste en acumulación de materia orgánica en un medio sedimentario, con un ambiente reductor que favorece la preservación del material orgánico, experimentando una serie de cambios a temperaturas bajas o moderadas y altas presiones dando lugar a combustible fósil. Carburantes fosiles como, carbón y gas natural además del petróleo y por biosíntesis

(García-Martínez, 2005; Calva y Torres, 2007). A continuación se mencionan y describen los orígenes de los HAPs:

Pirolíticos: este tipo de HAPs se forman por pirólisis o combustión incompleta a elevadas temperaturas (300-1000 °C) de materia orgánica que contiene carbono e hidrógeno. La pirólisis de compuestos orgánicos produce fragmentos de moléculas y radicales que se combinan para dar lugar a los HAPs. La composición y cantidad de los HAPs que se generan de la piro-síntesis depende del combustible y la temperatura, y aunque el grupo de HAPs que se generan es relativamente constante, se sabe que en la formación de estos grupos algunos HAPs pueden ser relativamente favorecidos bajo ciertas condiciones y no bajo otras y es ahí donde se marcan las pequeñas variantes entre los HAPs que se forma de un combustible u otro, incluso estas variantes en los HAPs que se generan pueden encontrarse en materiales similares pero provenientes de distintas regiones. Así la quema de carbón produce una mezcla diferente a la combustión de combustible o un bosque, por mencionar algunos ejemplos, tenemos que el Fen, Flou y Pir, son posibles marcadores de emisiones generadas por la quema de caña, mientras que el Fluo, Pir, Fen y Ant predominan en la combustión de carbón y de las emisiones de diesel resaltan Ace, Fluo, Fen, Ant y Pir. Por otra parte se considera que el BaA y Cri se generan durante la combustión de gas natural. Es importante mencionar que aunque los HAPs que se generan durante la pirolisis son predominantemente de tres y cuatro anillos aromáticos, compuestos de mayor peso molecular (5-6 anillos bencénicos) también se producen cuando la temperatura de la combustión aumenta, como en el caso de la pirolisis de carbón, a temperaturas inferiores a los 800 C la mayor proporción de HAPs es de compuestos ligeros y de peso medio (2,3 y 4 anillos aromáticos), en tanto que la temperatura aumente los compuestos de 5 y 6 anillos aromáticos también lo hacen. Las emisiones de HAPs pirolíticos se caracterizan por una baja proporción de derivados alquilados. Estos compuestos aromáticos pueden escapar a la atmósfera en forma de gases, debido a sus bajas presiones de vapor, y/o pueden quedar adsorbidos sobre la materia particulada como el hollín, aunque también tienen la capacidad de formar ellos mismos partículas muy pequeñas. Las partículas presentes en la atmósfera son capaces de absorber los HAPs en forma de vapor, con lo que se producirá una diseminación de aerosoles que contiene HAPs, que pueden ser transportados a grandes distancias por los vientos (Bobadilla-Alfaro *et al.*,

1997; Mastandrea *et al.*, 2005; Romero-Cárdenas *et al.*, 2013; Igwe *et al.*, 2015; Gao *et al.*, 2016 Zaghden *et al.*, 2017).

Petrogénicos: formados por procesos a baja temperatura, incluyendo la transformación lenta de material orgánico biogénico (lípidos, proteínas, carbohidratos, ligninas, terpenos, esteroides, pigmentos carotenoides, etc.) a combustible fósil, bajo un gradiente geotérmico (aumento de la temperatura que se observa conforme se desciende a niveles más profundos de la corteza terrestre). Se caracterizan por HAPs de 2 y 3 anillos, con una gran proporción de compuestos alquilados. Los tipos de HAPs que pueden encontrarse son Naf, Fl, Fen y Cri, este último aunque es un compuesto formado por 4 anillos bencénicos, ha sido reportado en el petróleo crudo (Méndez-Montaña, 2012), sin embargo no se encuentra en la misma proporción que el producido por procesos pirolíticos. Los principales aportes de HAPs petrogénicos son los derrames, transporte, carga y descarga de petróleo (Vázquez-Botello, 2005).

Biogénicos: los HAPs biogénicos son el resultado de procesos metabólicos de los organismos, como plantas y restos de las mismas, hongos y nidos de termitas asociados a microorganismos, donde se ha evidenciados que pueden aportar a los sedimentos Naf, Fen y Perileno (Per), además es bien conocido que el Per proviene de la actividad microbiana en ambientes sedimentarios anaeróbicos (Wilcke, 2007).

Los aportes de HAPs al medio ambiente se clasifican de acuerdo con su procedencia en fuentes puntuales y no puntuales, las primeras son aquellas que como el nombre lo indica provienen de fuentes que no son móviles y la emisión de hidrocarburos al agua o al aire es fija, por ejemplo, los sitios de extracción y explotación petrolera, derrames de combustibles fósiles, sitios de deposición de desechos municipales que son incinerados o industrias que tienen procesos de combustión. Las fuentes no puntuales son las que se mueven y por lo tanto diseminan a mayor distancia los hidrocarburos, como todo tipo de transporte que utiliza combustibles fósiles (automóviles, aviones y embarcaciones) (Méndez-Montaña, 2012)

Aunque sería difícil enlistar todas las fuentes que generan hidrocarburos a continuación se mencionan algunas de las actividades a las que se les puede atribuir el ingreso de HAPs a la laguna de Alvarado: gasolineras, derrames por explotación y transporte de hidrocarburos,

combustión de combustibles empleados por automóviles y/o embarcaciones, actividades domésticas que involucran la quema de carbón o restos vegetales, industrias ubicadas en las partes altas de la cuenca, por ejemplo, los complejos azucareros que incineran los restos vegetales de la misma manera que lo hacen las papeleras aunque estas últimas además emplean combustibles fósiles para sus calderas.

Yunker *et al.* (2002) menciona que es importante la correcta evaluación y determinación de las fuentes y composición de los HAPs que pueden causar alteraciones en los organismos para así poder formular estrategias de control de este tipo de contaminantes. Es por eso que diversos grupos de estudio se han encargado de la valoración de los tipos de HAPs que se generan en diversas actividades, tanto antropogénicas como naturales, y han propuesto índices tales que permitan tener una idea más clara de la procedencia de estos (Tabla 2). Los cálculos de los índices están restringidos al uso de HAPs que tienen determinadas masas moleculares (276, 202, 252, 178, 278 y 228), debido a que son termodinámicamente más estables. Los HAPs que se generan durante los procesos de combustión y/o de procesos antrópicos son a menudo determinados por un aumento en las proporciones de los isómeros menos estables contra los isómeros más estables termodinámicamente. Por ejemplo, la relación de los isómeros Fen/Ant en la cual el Fen es el isómero tri-aromático termodinámicamente más estable, por lo que si el resultado de la relación es inferior a 10 se sugiere que los HAPs son predominantemente pirolíticos, sin embargo este valor engloba todas las posibles fuentes pirolíticas; por el contrario si el producto de la relación es superior a 10 indica una lenta maduración de la materia orgánica (HAPs petrogénicos). Otro caso que se puede mencionar es de la relación Fluo/Pir, si el cociente es mayor a uno los HAPs se clasifican como de origen pirolítico, por combustión de carbón, sin embargo esto solo se aplica a muestras de carbón de Europa o América, en tanto que para carbones de Australia donde se ve favorecida la producción de Pir los valores están entre 0.3 y 0.7, por último si la relación se encuentra en el rango de 0.6 a 0.8 es porque el Pyr es predominante sobre el Fluo en aerosoles atmosféricos urbanos (Budzinski *et al.*, 1997)

Tabla 2. Origen de los HAPs e índices que son usados para identificar las fuentes de origen.

Origen	Índice	Valor	Autor
Petrogénico	Fen/Ant	>10	Budzinsky <i>et al.</i> , 1997; Soclo <i>et al.</i> , 2000
Pirolítico	Fen/Ant	<10	Budzinsky <i>et al.</i> , 1997; Soclo <i>et al.</i> , 2000
Petrogénico	Fluo/Pir	<1	Sicre <i>et al.</i> , 1987
Pirolítico	Fluo/Pir	>1	Sicre <i>et al.</i> , 1987
Petrogénico	Ant/(Ant+Fen)	<0.1	Yunker <i>et al.</i> , 2002
Pirolítico	Ant/(Ant+Fen)	>0.1	Yunker <i>et al.</i> , 2002
Combustión de combustibles fósiles: petróleo crudo, combustibles líquidos y vehículos	Fluo/(Fluo+Pir)	0.4-0.5	Yunker <i>et al.</i> , 2002
Combustión de carbón, pasto y madera	Fluo/(Fluo+Pir)	>0.5	Yunker <i>et al.</i> , 2002
Fuentes mixtas	BaA/BaA+Cri	0.2-0.35	Yunker <i>et al.</i> , 2002
Contaminación antigua, dominancia de compuestos pesados	$\frac{\sum \text{compuestos} \leq 3 \text{ anillos}}{\sum \geq 4}$	<1	Cai <i>et al.</i> , 2007; Ping <i>et al.</i> , 2007
Contaminación reciente, dominancia de compuestos ligeros	$\frac{\sum \text{compuestos} \leq 3 \text{ anillos}}{\sum \geq 4}$	>1	Cai <i>et al.</i> , 2007; Ping <i>et al.</i> , 2007

Recopilado por Ponce-Vélez, 2012

2.4 Ingreso y comportamiento de los HAPs en ambientes acuáticos.

El medio acuático está cada vez más amenazado por un gran número de compuestos como los hidrocarburos del petróleo y sus derivados que pueden penetrar a este medio por depósitos atmosféricos de partículas derivadas de pirolisis, descargas industriales y urbanas, escorrentías terrestres por acción de la lluvia, actividades como la navegación que pueden derramar combustible, combustión de combustibles, derrames o emanaciones naturales de petróleo y en menor grado fuentes naturales como la biosíntesis (Trisciani, 2012; Salazar-Coria, 2008), aunque

Las características de los hidrocarburos que determinan su destino en el ambiente están en función de sus propiedades físicas y químicas como densidad, presión de vapor, Kow y Koc, polaridad e hidrofobicidad (Tabla 1) (Ortinez-Brito *et al.*, 2007).

Debido a que los HAPs poseen un alto coeficiente Kow, la tendencia natural de estos compuestos orgánicos es adsorberse al material lipídico contenido en el detrito del ecosistema costero o marino, para seguir la ruta de floculación, sedimentación y depósito, iniciando el proceso de almacenamiento en el fondo del sistema y ser consumidos por la biota bentónica o permanecer sin cambios en los sedimentos costeros por largo tiempo (Ponce-Vélez y Vázquez-Botello, 2005).

Los HAPs debido a su gran estabilidad tienen una gran resistencia a ser degradados por sustancias químicas, aunque sí son degradados tanto fotoquímica como biológicamente (Oliva, 2015). La manera más común en la que estos compuestos pueden descomponerse y ser eliminados del ambiente es por fotooxidación ya que son inestables fotoquímicamente (Autoni *et al.*, 2013; Pérez-Morales *et al.*, 2016), sin embargo una vez que los HAPs se depositan en el sedimento, los procesos de oxidación fotoquímica o degradación biológica son prácticamente nulos, de modo que pueden permanecer y acumularse en el ambiente sedimentario, alcanzando concentraciones hasta 1000 veces superiores a las concentraciones en la columna de agua; especialmente de aquellos compuestos de 4 y 5 anillos bencénicos, que por su escasa solubilidad y elevado peso molecular tienen una mayor afinidad a la fase orgánica quedando sorbidos en la fase sólida por lo cual se sedimentan (Vázquez-Botello *et al.*, 1995).

La composición de los hidrocarburos contenidos en los sedimentos varía dependiendo del tiempo de almacenamiento y la fuente de la que se deriva. El tiempo de residencia de estos compuestos en el compartimiento sedimentario pueden ser desde horas hasta 10 años, esto depende del HAP depositado (entre más anillos bencénicos contenga más persistente será) así como de las condiciones ambientales reinantes ya que la degradación de estos es mayor en las zonas costeras tropicales, debido largos periodos de luz, altas temperaturas y elevados contenidos de oxígeno (Ponce-Vélez *et al.*, 2006).

Muchos estudios se han realizado a nivel global sobre los sedimentos superficiales, ya que estos representan los aportes más recientes al medio. En general, las mayores concentraciones de HAPs se encuentran en puertos, golfos, bahías y estuarios, que suelen estar localizados en sitios cercanos a centros urbanos e industriales, observándose una

tendencia a decrecer paulatinamente a medida que aumenta la distancia a estos centros (Oliva, 2005).

2.5 Ingreso y efectos en los organismos

Los contaminantes orgánicos hidrofóbicos como los HAPs que ingresan a la zona costera se asocian con partículas y coloides en la columna de agua, flocculan y sedimentan hacia la interfase agua-sedimentos; de esta forma, los sedimentos y las partículas asociadas a los contaminantes están disponibles para la biota y se bioacumulan en el tejido lipídico de los organismos. Los invertebrados bentónicos filtradores tales como los ostiones y mejillones pueden servir como indicadores de los contaminantes orgánicos hidrofóbicos (Vázquez-Botello y Ponce-Vélez 2005), razón por la cual las especies de este grupo fueron elegidas dentro del programa Mussel Watch de los Estados Unidos de Norteamérica, para monitorear los cuerpos de agua interiores y costeros (Zambrano-Ortiz, 2015). Cabe señalar que los organismos que se seleccionan como indicadores deben constituir un recurso pesquero importante para la región de estudio, además de su valor ecológico, deben ser de interés alimenticio, y por tanto económico y social (Vázquez-Botello *et al.*, 1993).

En los bivalvos los compuestos bioacumulables ingresan al organismo mediante filtrado, los HAPs se acumulan rápidamente en la glándula digestiva; a nivel branquial también se registra una acumulación considerable. Dicha glándula es un órgano rico en lípidos y al igual que el hepatopáncreas en crustáceos y el hígado en peces, es el principal sitio de acumulación y excreción de materiales solubles en lípidos. El tejido presenta variaciones en contenido lipídico, lo cual puede relacionarse con la disponibilidad de alimento debido a las distintas épocas climáticas, o con ciclos de desoves. Las comunidades bentónicas son sumamente importantes en la transferencia de contaminantes del sedimento a niveles tróficos superiores y los cambios en la estructura de esas comunidades la hacen indicadora de alta sensibilidad ante exposición a hidrocarburos del petróleo (Zambrano-Ortiz, 2015).

Se ha estimado que los mejillones acumulan HAPs de partículas en suspensión cinco veces más rápido que a partir de agua. La acumulación de contaminantes orgánicos por organismos acuáticos es un proceso esencialmente pasivo de absorción y eliminación de xenobióticos (Coutiño-Rodríguez *et al.*, 2010) que involucra las vías de biotransformación (proceso que lleva una conversión metabólica de los compuestos extraños presentes en el

organismo). En los moluscos las tasas de degradación metabólica de los HAPs son significativamente menores que las tasas de absorción, lo que resulta en una bioacumulación (Trisciani *et al.*, 2012).

Luego de su ingestión, el organismo trata de eliminar estos compuestos extraños (Trisciani *et al.*, 2012), de tal manera que han desarrollado sistemas metabólicos complejos, capaces de acelerar la eliminación de los xenobióticos, debido a que la mayoría de estos son de naturaleza liposoluble, lo que les impide ser eliminados por los fluidos de los organismos como orina, heces o bilis; por ello sistemas metabolizadores como el complejo enzimático Citocromo P450 (CYP450), que se reconoce como el sistema biológico primario para desintoxicar/bioactivar los HAPs. (Coutiño-Rodríguez *et al.*, 2010).

A continuación se describe el metabolismo de los HAPs.

Fase I (biotransformación): son el primer paso en el metabolismo de estos xenobióticos. Consisten en la oxidación del compuesto para que sea más hidrosoluble y facilite la excreción. Estas reacciones de oxidación son mediadas por las enzimas del CYP450. Por lo general, esa oxidación activa los compuestos y de esta manera durante esas reacciones bioquímicas se generan epóxidos, compuestos reactivos, que eventualmente pueden interactuar con moléculas biológicas de importancia, como por ejemplo de ADN, y así producir mutagénesis (Autino *et al.*, 2013). Los efectos nocivos tanto en vertebrados como invertebrados que causan los HAPs incluyen daño genético, inmunológico y endocrino, malformaciones, fibrosis y cáncer. Por lo que el metabolito oxidado vuelve a ser metabolizado por otras enzimas en una segunda fase (Trisciani *et al.*, 2012).

Fase II (conjugación): consiste en la conjugación de los compuestos generados en la fase I (o incluso del mismo xenobiótico) con moléculas endógenas para aumentar aún más la hidrosolubilidad del xenobiótico y ser eliminados por la orina o bilis, de esta manera evitar su interacción y un posible daño al ADN o proteínas, por ello esta fase es considerada como una verdadera desintoxicación. Existen diversas enzimas que catalizan la conjugación sin embargo la glutatión-S-transferasa (GST) es la más importante (Vázquez-Gómez *et al.*, 2016).

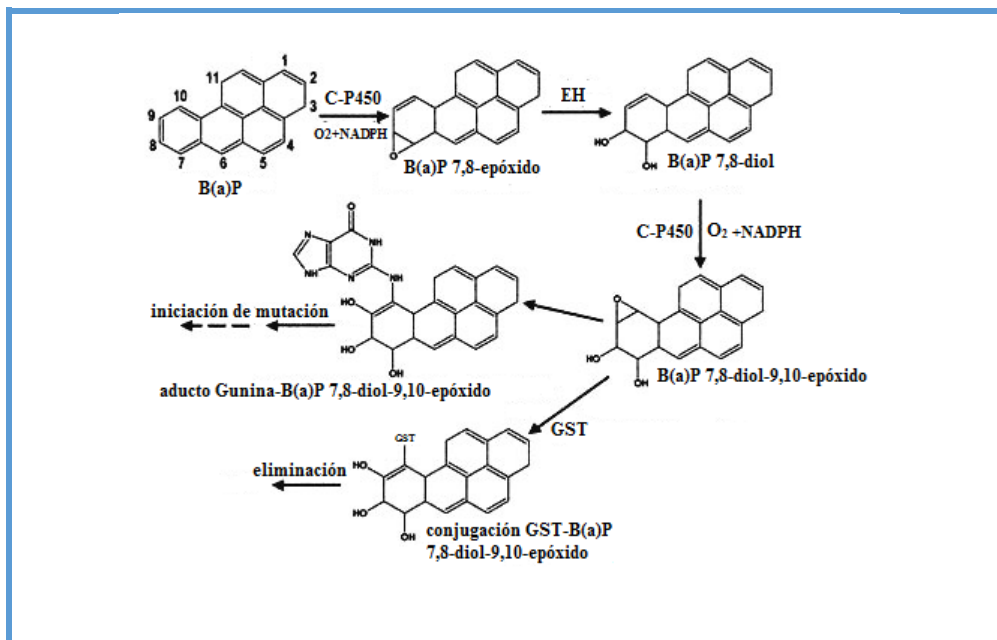


Figura 2. Esquema del proceso de biotransformación de B(a)P, fase I y II (Quiñones *et al.*, 2006).

3. ANTECEDENTES

Los estudios sobre los hidrocarburos y su impacto sobre el ambiente han sido objeto de investigaciones desde hace ya varias décadas con distintos enfoques, como establecer sus características y comportamiento en el ambiente. En este sentido los trabajos que se pueden mencionar son los realizados por Commins (1969), en su trabajo se discuten los efectos en la variación y las proporciones de los HAPs que surgen de la combustión de combustible, además de los efectos que ejerce la temperatura en la producción de hidrocarburos, el autor tomo encuesta trabajos previos con el mismo objetivo sin embargo mencionó que en esos trabajos previos no se había analizado la composición de la mezcla de HAPs ajustando la relación combustible/aire durante el proceso pirolítico; Youngblood y Blumer (1975), estudiaron las implicaciones de los procesos geoquímicos, ambientales y analíticos que resultan del análisis de sedimentos contaminados con HAPs ya que muchos homólogos-alquilados tienen pesos molecular parecido y esto provoca pequeñas variaciones en el rango de distribución ambiental; Laflamme (1978) realizó el estudio de la distribución de HAPs en Nueva Inglaterra de distintas fuentes de origen, los descubrimientos de sus análisis sugirieron que los HAPs y sus homólogos alquilados se encuentran distribuidos por todo el mundo y que el incremento en la abundancia de estos compuestos fue más evidente en las proximidades de los centros urbanos ya que la combustión antropogénica fue la mayor

fuentes de los HAPs.

Otros autores han estudiado estos compuestos para determinar la fuente de emisión contaminante en los ambientes sedimentarios los trabajos más sobresalientes en ese sentido son los realizados por Soclo y colaboradores en 2000, Yunker y colaboradores en 2002, en estos trabajos se analizan y se emplean índices moleculares, para poder establecer las fuentes de las cuales provienen los HAPs en sedimentos contaminados en regiones con influencia de contaminantes. Otros autores como Glegg y Rowland (1996), Baumard *et al.* (1998 y 1999), se enfocaron en los procesos de bioacumulación de los HAPs en los organismos., en ambos trabajos los autores concluyeron que los HAPs de elevado peso molecular tienden a concentrarse en mayor cantidad en los tejidos de los organismos, Baumard también menciona que esto tiene relación por las características de estos hidrocarburos que al ser más hidrofóbicos que los de menor peso molecular les favorece la acumulación en sedimentos que quedan a disposición de los organismos filtradores. Con base en lo anterior, entre los estudios realizados en México con las ópticas que los investigadores pioneros en el rubro han descrito destaca el de Vázquez-Botello (1978), por ser de los primeros trabajos realizados en costas mexicanas; en este trabajo se evaluaron los niveles de hidrocarburos fósiles, en muestras de sedimentos y organismos de diversas lagunas costeras de los estados de Veracruz y Tabasco, concluyendo que la contaminación era efecto de las descargas de refinerías y plantas petroquímicas.

Vázquez-Botello *et al.* (1987) estudiaron las concentraciones de hidrocarburos en muestras de agua, sedimentos y organismos del río Coatzacoalcos, río Tonalá y de la laguna Ostión, Veracruz, considerando que los ambientes de ríos estaban altamente contaminados y presentaban hidrocarburos de alto riesgo ambiental.

Vázquez-Botello *et al.* (1993) determinaron la presencia de HAPs en diversos ambientes costeros del golfo de México y las concentraciones más elevadas de estos compuestos las detectaron en los estados de Veracruz y Tabasco, también registraron los HAPs dominantes en la zonas costeras del golfo de México, que fueron los de 3, 4 y 5 anillos bencénicos.

Álvarez-Legorreta *et al.* (1994) establecieron las concentraciones de hidrocarburos para la laguna de Pom, Campeche, considerados como los causantes del decremento en las poblaciones de organismos.

Vázquez-Botello *et al.* (1995) analizaron las concentraciones de HAPs contenidos en sedimentos y organismos del puerto de Salina Cruz, Oaxaca, y zonas adyacentes. Las concentraciones más bajas de estos compuestos fueron detectadas en los sedimentos oceánicos del área. Los organismos presentaron concentraciones mayores que los detectados en los sedimentos evidenciando un proceso de bioacumulación. Los autores concluyeron que el origen de los HAPs es primordialmente pirogénico o de descargas municipales, así como descargas directas de petróleo.

Gold-Bouchot *et al.* (1995) examinaron las concentraciones de hidrocarburos en ostiones de la laguna de Términos, Campeche, como una contribución al conocimiento de la contaminación en una de las zonas más importantes del país en cuanto a diversidad, ya que la zona había sido propuesta por el gobierno mexicano para el estudio de la creación de un refugio de la vida silvestre.

Gold-Bouchot *et al.* (1997) detectaron las concentraciones de hidrocarburos en tres lagunas costeras del estado de Tabasco, para eso emplearon muestras de sedimentos y organismo. El estudio se enfocó en determinar el impacto de los hidrocarburos para la población de ostiones, concluyeron que como las concentraciones medias de los HAPs en los ostiones se encontraban entre las reportadas por el Mussel Watch no representaban peligro.

Noreña-Barroso *et al.* (1999) estudiaron las concentraciones de hidrocarburos en muestras de ostiones de la laguna de Términos, Campeche. Los autores concluyeron que era importante implementar programas de monitoreo, ya que los organismos de la laguna mostraron concentraciones elevadas de hidrocarburos provenientes, sobre todo, de la actividad petrolera.

García-Ruelas *et al.* (2002) presentaron los niveles de hidrocarburos del petróleo en sedimentos y en diversas especies de organismos bivalvos del Pacífico subtropical mexicano, estableciendo los primeros registros de estos contaminantes en moluscos para esa área. Los resultados arrojaron que los organismos con las concentraciones más elevadas fueron los recolectados en los estados de Baja California Sur y Sinaloa. Concluyeron que la presencia de hidrocarburos era de origen pirolítico atribuido a la quema de combustible fósil, vegetación y basura.

García-Cuellar *et al.* (2004) analizaron el impacto de la industria petrolera en la Sonda de Campeche tras 30 años de actividades. Aunque no concluyeron que la actividad petrolera fuera la única causa del deterioro de los ambientes circundantes, mencionaron que los efectos que han tenido los derrames accidentales de petróleo en la zona no han sido bien documentados, por lo que se presenta la dificultad de distinguir el daño a los ecosistemas por causas naturales o antrópicas.

Mejía-Maravilla y García-Cabrera (2012) estudiaron el impacto de los hidrocarburos en el golfo de México y el Mar Caribe, su objetivo era establecer una red de monitoreo y vigilancia para detectar las zonas costeras impactadas por contaminantes como el petróleo. Sus resultados arrojaron que los estados de Tabasco, Campeche, Yucatán y Quintana Roo eran los más afectados por los hidrocarburos.

Orozco-Barajas *et al.* (2014) evaluaron la presencia de HAPs en diversas matrices del ambiente acuático de la Laguna de Términos, Campeche. En el estudio se obtuvo que los organismos analizados pertenecientes a especies comerciales superaron las concentraciones de BaP recomendadas por la UE.

Vázquez-Botello *et al.* (2015) se enfocaron en determinar la concentración de hidrocarburos de petróleo crudo y otros contaminantes en diversas matrices del norte del Golfo de México, después del derrame de crudo por la plataforma Deepwater Horizon. Ellos concluyeron que las concentraciones de hidrocarburos mostraban un bajo efecto en la biota bentónica.

Estudios de otra índole realizados en la laguna de Alvarado, son los de Reguero y García-Cubas (1989), quienes analizaron la estructura de las comunidades malacológicas de la laguna, así como los tipos de nutrición de las especies recolectadas.

Palmerín-Ruíz (2011) realizó la evaluación de plaguicidas organoclorados en sedimentos y organismos bivalvos de la laguna de Alvarado, Veracruz. Las concentraciones más altas de los plaguicidas se encontraron en la zona sur de la laguna durante la época de lluvias, y registró valores más altos en las muestras de organismos que en el sedimento, probando que existía bioacumulación de estos compuestos. Concluyó que debido a las características de los compuestos analizados, tanto en las muestras de organismos como en las de sedimentos,

la laguna de Alvarado se considera un lugar donde pueden existir riesgos ambientales y de salud pública, ya que en el caso de los organismos no se cumplía con las especificaciones sanitarias.

Ruíz-Fernández *et al.* (2014) analizaron la cronología y caracterización geoquímica de los sedimentos en la laguna Alvarado, Veracruz. Los resultados obtenidos del estudio demostraron que la alta deforestación en la cuenca de captación han provocado cambios en el incremento de sedimentación provocando azolvamiento en la boca de la laguna, esto debido al cambio del uso del suelo para la ganadería, alterando la vegetación natural por pastizales y a la expansión del cultivo de caña.

En otras zonas del mundo se tiene que Arias *et al.* (2010), establecieron las fuentes de hidrocarburos detectados en sedimentos de Bahía Blanca, Argentina. Los autores encontraron que los aportes de HAPs a la bahía son principalmente carcinogénicos, de origen predominantemente pirolítico, y realizaron el primer registro para la zona de posibles efectos adversos para la biota.

Boitsov *et al.* (2011) analizaron la presencia de HAPs en sedimentos del mar de Barents, encontraron que en general los niveles de HAPs son más bajos en el ambiente marino que en las muestras del fiordo, las relaciones isoméricas mostraron que los HAPs eran de tipo petrogénico, provenientes de las fugas naturales de petróleo en el área.

Debido a los descubrimientos realizados por los grupos de investigación sobre los HAPs el interés por estudiar a mayor detalle estas sustancias ha aumentado dado que se ha establecido en esos estudios sus daños potenciales no solo al ambiente sino a la salud de los organismos que los habitan y por ende al ser humano.

4. JUSTIFICACIÓN.

Según la SEMARNAT (2012) México cuenta con una longitud costera de aproximadamente 11 122 km y a pesar de que el golfo de México solo representa el 29.7% de esa longitud, esta región alberga algunos de los sistemas lagunares más importantes del país, de los que destaca la laguna de Alvarado debido a su gran importancia económica y ecológica, además de que son fuente indispensable de recursos naturales para las comunidades humanas (Reguero-Reza y García-Cubas, 1989). Sin embargo estos

ambientes están siendo cada vez más deteriorados por las actividades humanas que involucran el uso y generación de contaminantes como los HAPs.

Los HAPs pueden ingresar fácilmente a los ambientes acuáticos debido a que estos compuestos se generan durante el uso de petróleo o sus derivados como gasolinas y diesel, así como la quema de vegetación en zonas aledañas. Una vez que estos son emitidos al entorno son atrapados por partículas atmosféricas y/o sedimentarias que viajan y pueden ser transportadas a grandes distancias, por vientos, lluvias o erosión, y son depositados en los hábitats acuáticos y a todos sus compartimentos, cabe mencionar que las emisiones de estos contaminantes también pueden ser directas al medio acuático. Sin importar si los HAPs son emitidos directa o indirectamente a este tipo de medioambientes, lo que resulta más alarmante es que estos compuestos quedan a disposición de la biota y debido a la capacidad de los HAPs a bioacumularse en los tejidos de organismos tales como los moluscos bivalvos, estos pueden afectar indirectamente la salud humana al ser consumidos cuando presentan concentraciones elevadas de estos xenobióticos.

Debido al potencial genotóxico de diversos HAPs para los seres vivos, se hace indispensable la evaluación de la presencia de estos en el medio ambiente, y en los organismos que lo habitan y que son un recurso alimenticio importante, tales como los ostiones y las almejas de la laguna de Alvarado.

5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

H0: Si la laguna de Alvarado es receptora de contaminantes como hidrocarburos aromáticos policíclicos, derivados de las actividades antropogénicas realizadas en las zonas aledañas, entonces los organismos bivalvos recolectados en la laguna no presentarán este tipo de compuestos en sus tejidos.

H1: Si la laguna de Alvarado es receptora de contaminantes como hidrocarburos aromáticos policíclicos, derivados de las actividades antropogénicas realizadas en las zonas aledañas, entonces los organismos bivalvos recolectados en la laguna presentarán este tipo de compuestos en sus tejidos.

5.1 Objetivo general.

Evaluar la presencia de HAPs en los tejidos blandos de moluscos bivalvos recolectados en la laguna de Alvarado, Veracruz; para determinar si las concentraciones de estos contaminantes pueden ser perjudiciales.

5.2 Objetivos específicos.

I. Identificar y cuantificar los 16 HAPs considerados prioritarios por la EPA, en organismos bivalvos.

II. Identificar las especies de bivalvos recolectados.

III. Identificar las posibles fuentes dominantes de los HAPs, usando los índices moleculares recomendados en la literatura.

IV. Comparar los resultados obtenidos en este trabajo con aquellos de trabajos similares, hechos en México u otras regiones del mundo.

6. ÁREA DE ESTUDIO

El estado de Veracruz se localiza en la parte central del golfo de México, limita al norte con Tamaulipas, al oeste con SanLuis Potosi, Hidalgo y Puebla, al suroeste y sur con Oaxaca y al sureste con Chiapas y Tabasco. La superficie del estado es de 78 815 km², y tiene un litoral de 745 km , existe una gran riqueza de hábitats y ecosistemas terrestres y acuáticos, estos últimos están representados por cuencas hidrológicas de importancia nacional como las de los ríos Pánuco, Papaloapan y Coatzacoalcos, en los que se ubican 17 lagunas costeras y estuarios, además de una vasta plataforma continental (Castañeda y Contreras, 1994; Chávez-López *et al.*, 2005). (Secretaría de Desarrollo Economico y Portuario, 2017; Moreno-Casasola *et al.*, 2014).

De acuerdo con la secretaria de finanzas y planeación del estado de Veracruz (2015) Veracruz cuenta con 12 distritos de desarrollo rural, el municipio de Alvarado corresponde al 007, y se ubica dentro de las coordenadas 18° 34' 00''-19° 06' 15'' latitud N y 95° 31' 23''-96° 07' 25'' longitud O; limita al norte con el municipio de Boca del Río y el golfo de México; al sur con Acula y Tlacotalpan; al este con el golfo de México y con el municipio de Lerdo de Tejada y al oeste con los municipios de Medellín de Bravo, Tlalixcoyan e Ignacio de la Llave. El municipio de Alvarado cuenta con una extensión de 825.8 km² de

los cuales 12.8 km² son usados para la agricultura y 422 km² para la ganadería, los cultivos que destacan son: piña con 115 ha cultivadas, sandía con 155 ha y caña de azúcar con 280 ha.

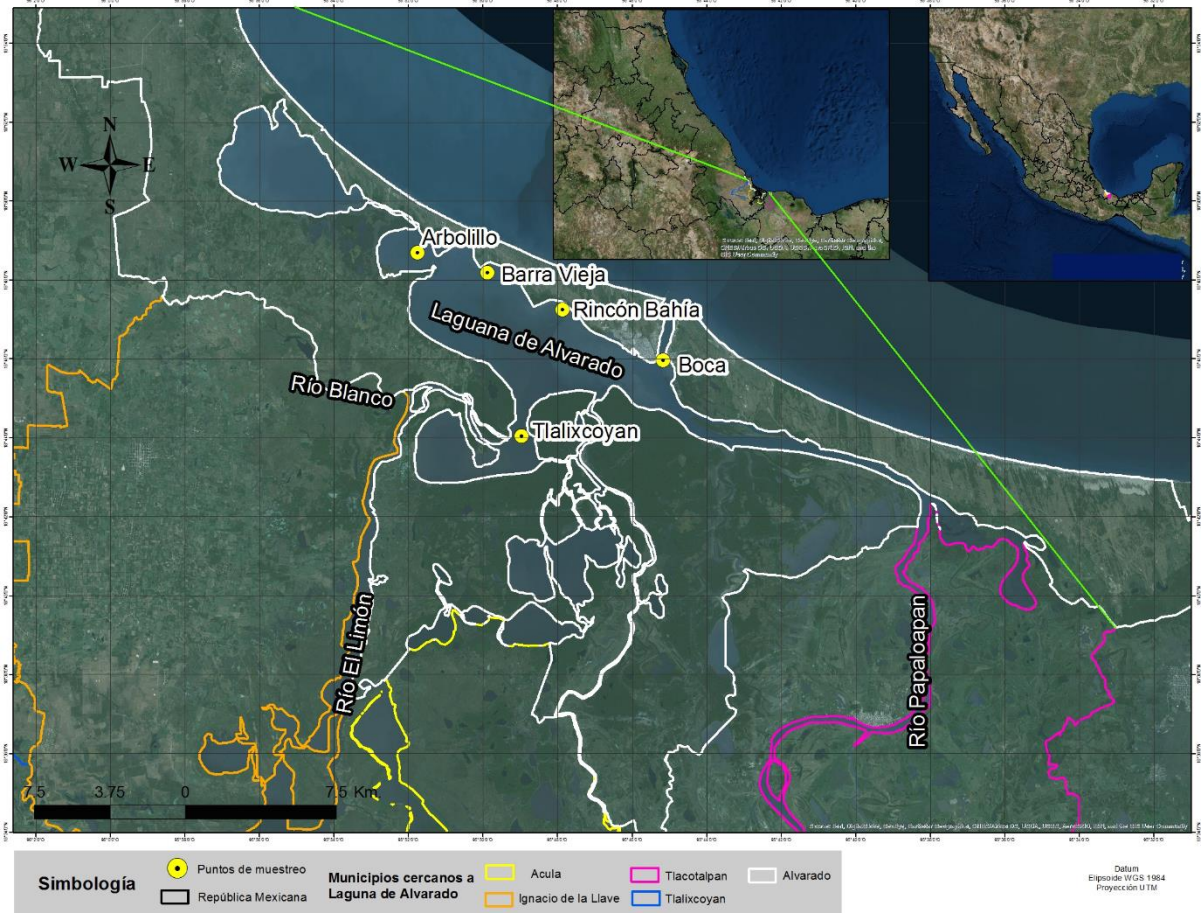


Figura 3. Mapa de la laguna de Alvarado, Veracruz. Estaciones de la recolecta realizada en el mes de marzo de 2015.

El municipio de Alvarado se encuentra regado por los ríos Papaloapan, cuya cuenca cubre una extensión de aproximadamente 39 189 km² (Lankford, 1977), y el río Blanco, siendo ambos tributarios del complejo lagunar de Alvarado (SEMARNAT, 2003). El complejo lagunar de Alvarado se localiza en la zona central del estado de Veracruz, entre los 18°43'-18°52' N y los 95°42'-95°57' O. Está constituido de norte a sur, por las lagunas Camaronera, con 3 900 ha; Buen País, la laguna de Alvarado propiamente dicha (coordenadas 18°44'00"-18°52'15" N y 95°44'00"-95°57'00"), con una extensión de 6 200 ha, y una barrera arenosa (barra de Alvarado); y por último la laguna Tlalixcoyan, con 1

700 ha, principalmente, aunque cuenta con un gran número de otros cuerpos acuáticos y zonas inundables. (Lankford, 1977).

En la laguna de Alvarado, además de realizarse actividades de pesca, se cuenta con un puerto (puerto de Alvarado) de categoría de navegación menor y como puerto de atraque de buques camaroneros y pesqueros, predominando el sector industrial, principalmente en la conservación y envasado de carnes, pescados y mariscos, así como la construcción y reparación de embarcaciones ya que en él se encuentra un varadero que provee de estos servicios a barcos pesqueros y a compañías petroleras y marítimas tanto nacionales como internacionales. La laguna tiene un canal de acceso que conduce desde la boca de esta hasta las inmediaciones del puerto, este canal tiene 150 m de ancho y la profundidad varía de 5 a 12 m; además de que el río Papaloapan también sirve en esta función a la navegación marítima proveniente del golfo de México.

CLIMATOLOGÍA. Según García (1972), la laguna de Alvarado presenta un clima tipo AW₂, que corresponde al cálido subhúmedo, con una temperatura media anual mayor a 22°C y la media del mes más frío por arriba de 18 °C; con dos épocas climáticas: 1) temporada de secas de noviembre a mayo, cuando solo la parte sureste del sistema lagunar recibe la influencia del agua dulce de los ríos Blanco y Papaloapan; y 2) temporada de lluvias de mayo a septiembre, produciendo un descenso en la salinidad de la laguna, tanto por los aportes de los ríos como por las precipitaciones. En esta localidad los efectos de nortes y huracanes son menores, con respecto a otras localidades del estado, debido a que se encuentra en una de las zonas aparentemente más protegidas; estos fenómenos se pueden presentar entre noviembre y febrero. La predominancia de los vientos a lo largo del año son del sur-oeste y los vientos del norte se registran de enero a mayo (López-Portillo, 2012).

HIDROGRAFÍA. El río Papaloapan desemboca a la laguna en el lado sureste, los ríos Blanco y el Limón al suroeste en la laguna de Tlalixcoyan y el río Acula se conecta al cuerpo de agua central. El río Papaloapan tiene la particularidad de vencer siempre las barreras provocadas por la marea y tener un balance positivo de gasto, el río siempre aporta agua a la laguna, en un promedio diario de 40 000 000 m³ (Palmerín-Ruíz, 2011). La cuenca hidrológica del Papaloapan abarca Oaxaca (51 %), Veracruz (37 %) y Puebla (12 %), las aguas del río son contaminadas principalmente por los desechos de las industrias

azucareras, papeleras, cerveceras, aguas negras municipales y escurrimientos de agroquímicos (López-Portillo, 2012).

El río Blanco está fuertemente contaminado por las industrias generadoras de energía eléctrica para las fábricas de textiles que se encuentran ubicadas en la parte alta de la cuenca, en las poblaciones de Nogales, Orizaba y Córdoba, por las que pasa el río. En él también se descargan los residuos de complejos azucareros y es considerado por la Comisión Nacional del Agua como el cuerpo receptor que muestra los más altos índices de contaminación de la región del centro del Golfo (Palmerín-Ruíz, 2011)

HIDROLOGÍA. El sistema de Alvarado en la época de secas podría clasificarse como mesohalino, al iniciarse la temporada de lluvias desciende marcadamente la salinidad y las características son oligihalinas. En términos generales se aprecian 4 zonas con base en su salinidad: a) zona de influencia dulceacuícola, cercana a la desembocadura de los ríos, en la que hay un aporte continuo que incrementa en la época de lluvia; b) zona de estratificación, ubicada en las regiones de influencia mareal; c) zona de influencia nerítica, que se manifiesta en el canal que corre a lo largo de la barra arenosa interna de la laguna; y d) zona de mezcla o agua estuarina, que domina el resto de la laguna (FIR, 2003). La salinidad varía de 0 a 10 ups entre julio y octubre, en este periodo las salinidades más altas se encuentran en la boca artificial de la laguna Camaronera y en la boca de comunicación del río Papaloapan; de noviembre a junio alcanza hasta 16 ups en la laguna Camaronera, 22 ups en la boca del río Papaloapan, mientras el resto del complejo lagunar presenta de 0 a 8 ups en las lagunas de Buen País y Alvarado (Morán *et al.*, 2005).

BATIMETRÍA. La laguna de Alvarado es somera, en promedio con 2 m. La máxima profundidad se registra en la boca de comunicación con el mar que va desde 9 a 13 m (Portilla-Ochoa, 2003).

SEDIMENTOS. Los sedimentos presentes en la laguna son calcáreos, arenosos y limosos (De la Lanza-Espino y Lozano-Montes, 1999), con alto contenido de materia orgánica en el extremo noroeste de la laguna y sedimentos arenosos y carbonatados, pobres en materia orgánica, en la zona sureste (Contreras 1985)

VEGETACIÓN. Los humedales de Alvarado contienen ecosistemas representativos de las planicies costeras del golfo de México, incluyendo la vegetación de dunas costeras, espidual (*Cyperus* sp.), tular (*Typha* sp.), apompal (*Pachira acuatica*), diferentes tipos de palma (*Sabal mexicana*, *Scheelea liebmanni*, *Acrocomia mexicana*), encinar de *Quercus oleoides*, selva mediana subperennifolia con vegetación secundaria, selva baja caducifolia, acahuales, pastizales (naturales, cultivados e inducidos) y vegetación acuática y subacuática como lirio acuático (*Eichhornia crassipes*). Se destacan los manglares, con unas 19,000 ha de *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* y *Avicennia germinans*,=que están sujetas a protección especial de acuerdo con la NOM-059-ECOL-2001 (Portilla- Ochoa *et al.*, 2003).

FAUNA. Está conformada por una gran variedad de aves acuáticas y terrestres, reptiles como cocodrilos, crustáceos como cangrejos y camarón, y moluscos de gran importancia comercial como el ostión y las almejas. La pesquería de ostión es una de las más importantes del golfo de México, en el 2005 contribuyó con 70 % de la producción ostrícola nacional, donde Veracruz contribuye con la mayor fracción 57% (1,150 t) (SAGARPA, 2008).

7. METODOLOGÍA.

7.1 Materiales y equipos

Reactivos químicos

Hexano, calidad HPLC, Baker®.

Diclorometano, calidad HPLC, Baker®.

Acetona, calidad HPLC, Baker®.

Metanol, calidad HPLC, Baker®.

Alúmina, para columna cromatográfica, 0.1-0.2 mm de mesh, Macherey-Nagel

Sílica, para columna cromatográfica, Macherey-Nagel

Sulfato de sodio, Baker®.

Aparatos

Sonda multiparamétrica, YSI 556 MPS, para la obtención de los datos fisicoquímicos registrados en campo.

MAE, Anton Paar modelo Multiwave 3000 solv. empleado para la extracción de los analitos.

Cromatógrafo de gases capilar de alta resolución, modelo 5890, serie II, Hewlett Packard; con límite de detección de los analitos 0.01 µg/g . Equipado con un detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar de 30 m x 0.25 (Ø int.) x 0.25 µm con capa de sílice fundida y fenilmetil silicón al 5%.

Rotavapor, Heidolph Lavoratora 4010-digital.

Baño María, marca Heidolph Lavoratora 4010-digital.

7.2 Recolección de organismos y parametros fisicoquímicos del agua.

Se establecieron 5 localidades de muestreo en la laguna de Alvarado (Tabla 3), el muestreo se realizo durante laepoca de secas el mes de marzo del 2015. Se escogieron aquellas estaciones que se conoce que presentan condiciones fisicoquímicas del agua distintas, generadas por el aporte de ríos, comunicación con el mar, aislamiento geomorfológico y cercanas a sitios con actividades antropogénicas. Las condiciones fisicoquímicas del agua se midieron en todas las estaciones durante el mismo dia, con diferencia de 10 minutos aprox. entre estación y estación y se realizo una sola lectura de la sonda multiparametrica.

Se recolectaron manualmente organismos bivalvos pertenecientes a 5 especies: *C. virginica*, *C. rhizophorae*, *P. caroliniana*, *R. cuneata* y *R. flexuosa*. Los organismos se colocaron en papel aluminio y se depositaron en una hielera para mantenerlos a 4 °C para su preservación hasta llegar al Laboratorio de Contaminación Marina ubicado en Instituto de Ciencias del Mar y Limología, de la Universidad Nacional Autónoma de México (ICML-UNAM), en Ciudad Universitaria (CU), donde fueron procesados.

Tabla 3. Coordenadas geográficas y características de las estaciones de muestreo en el mes de marzo del 2015, en la laguna de Alvarado, Ver.

Nombre de las estaciones y tipo de organismos recolectados	Características	Actividades antrópicas que posiblemente aportan HAPs a la laguna	Coordenadas
Arbolillo Almejas y ostiones	Zona aislada geomorfológicamente	Uso de todo tipo de vehículos motorizados.	18°48'41.58"N 95°51'45.69"W
Barra vieja almejas	Zona geomorfológicamente aislada	Quema de vegetación y combustibles fósiles	18°48'10.69"N 95°49'52.68"W
Tlalixcoyan almejas	Zona de influencia dulce acuícola	Gasolineras Desechos	18°44'01.84"N 95°48'58.17"W
Rincón Bahía almejas	Zona cercana al poblado de Alvarado	urbanos Transporte y manejo	18°47'14'.31"N 95°47'52.11"W
Boca Almejas y ostiones	Zona de influencia mareal y dulce acuícola	de hidrocarburos.	18°45'57.76"N 95°45'10.45"W

7.3 Extracción de los HAPs.

Se prepararon las muestras biológicas de la siguiente manera:

Se descongelaron los organismos a temperatura ambiente.

Se desconcharon manualmente, el tejido se colocó en charolas de aluminio y se dejó secar por 4 días a una temperatura de entre 40-50 °C en una caja de secado. Una vez seco el tejido se molió en un mortero de porcelana para homogeneizar las muestras y posteriormente realizar la extracción de los HAPs.

Es importante notar que, para obtener el peso necesario requerido por el método para la extracción de los HAPs en el caso de las almejas, se realizó una mezcla de los tejidos de las especies recolectadas

Extracción de HAPs de muestras biológicas.

El método de extracción seguido para el análisis fue el EPA 3546 (2001), que consistió en

la extracción asistida por microondas (MAE por sus siglas en inglés). Se tomaron submuestras de 3g del tejido (peso seco), y la extracción se realizó con 35 mL de potasa metanólica (1.5 M). Las condiciones de trabajo fueron las siguientes: 130°C durante 10 minutos donde se realizó la extracción de los HAPs y 15 minutos de enfriamiento, 600 W, 6.8 bar.

Una vez que se obtuvo el extracto en el horno de microondas se siguió el método de la UNEP/FAO/IOC/IAEA (1993) con el propósito de purificar los extractos obtenidos y separar los hidrocarburos alifáticos de los HAPs, en este se prosiguió con trasvasado de los extractos a tubos de centrífuga, se realizaron varios enjuagues al tubo del MAE con la mezcla de potasa metanólica, para evitar pérdidas del extracto se centrifugó y el sobrenadante se vertió en embudos de separación y se añadieron 20 mL de agua tridestilada y 25 mL de hexano, se separó la fase hexánica de la metanólica, a esta última se le realizaron 2 enjuagues más con 10 mL de agua tridestilada y 10 mL de hexano. La fase hexánica siempre se recuperó en matraces de balón, para posteriormente concentrarlas en un rotavapor, la temperatura del baño María no excedió los 40°C y la presión de la bomba de vacío fue de 40 psi.

Posteriormente, se realizó una limpieza de los extractos en columnas de adsorción, para esto se utilizaron columnas de 2 cm de diámetro interno por 30 cm de longitud. Se empacaron con fibra de vidrio, 5 g de sílica, 10 g de alúmina, y sulfato de sodio. La sílica y la alúmina fueron previamente activadas en una mufla a 200 °C durante 4 h y se desactivó al 5 % de su peso con agua tridestilada. Se vertió la muestra con una pipeta Pasteur, realizando nuevamente varios enjuagues con hexano al matraz. La elución de los HAPs se llevó a cabo agregando 30 mL de una mezcla de hexano-diclorometano (9:1). La mezcla se recolectó en un matraz de balón, se concentró en el rotavapor y se trasvasó a viales. Estos se llevaron a sequedad con una corriente de nitrógeno y posteriormente se analizaron en un cromatógrafo de gases.

7.4 Análisis cromatográfico de las muestras.

Las muestras se recuperaron entre 50 y 100 μL de hexano y fueron inyectadas en el CG con detector FID. Las condiciones de trabajo del cromatógrafo fueron las siguientes:

Gas acarreador: Helio 99% de pureza y un flujo de 1 mL/min.

Gas auxiliar: Nitrógeno (99% de pureza) y un flujo de 30 mL/min.

Gases del detector: Aire (99% de pureza) y un flujo de 300 mL/min.

Hidrógeno (99% pureza) y un flujo de 30 mL/min.

Temperatura del inyector: 320°C

Temperatura del detector: 320°C

Modo de inyección: splitless

Programa de la temperatura. Temperatura inicial de 90°C.

Rampa 1: 8°C/min. hasta llegar a una temperatura de 180°C.

Rampa 2: 5°C/min. hasta llegar a una temperatura de 245°C. Rampa 3: 2°C/min. hasta llegar a la temperatura de 300°C.

Tiempo de purga: 0.75 min.

Tiempo de análisis: 52.25 min

8. IDENTIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS.

Para la identificación de los organismos se usaron únicamente las valvas, basándose en las características morfológicas como charnela, impresiones musculares, presencia de seno palial, tamaño y coloración. Se siguió el sistema de clasificación propuesto en The WorldRegister of Marine Species (WoRMS).

8.1 Sistemática.



- ❖ *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1971)
- ❖ Phylum Mollusca
- ❖ Clase Bivalvia
- ❖ Subclase Pteriomorpha
- ❖ Orden Ostreida
- ❖ Superfamilia Ostreoidea
- ❖ Familia Ostreidae
- ❖ Subfamilia Crassostreinae
- ❖ Género *Crassostrea*
- ❖ Especie *Crassostrea virginica*
- ❖ Nombre común Ostión americano

Figura 4. Valvas de un ejemplar de *C. virginica*.

Morfología de las valvas: concha de tamaño mediano a grande (hasta 474 mm de altura) forma elongada, inequivalvas, la valva inferior levemente convexa. Ornamentación externa de la valva superior casi lisa, con pronunciadas líneas de crecimiento que dan lugar a foliaciones que se dirigen hacia el borde formando un cinturón oscuro en el borde interno posterior de la concha. La valva inferior presenta costillas no simétricas, y las que se levantan hacia el borde posterior, dan la forma de pequeños pliegues, encajando eficazmente con el borde de la valva superior. Coloración externa café oscuro pardo con manchas o líneas irregulares púrpuras a todo lo largo de la concha, coloración intensa blanquecina, algunas veces con manchas violáceas o amarillas, huella del músculo aductor pigmentada de púrpura oscuro. Charnela y resilífero de tamaño moderado, condróforo liso, istmo no profundo. Sin comata a lo largo del borde interno. Músculo de Quenstedt bien representado. El manto es de forma ovoide o alargada de color amarillento, crema o verde oliva, lóbulos del manto grandes (García-Cubas, 1981).

Los organismos adultos no poseen dimorfismo sexual, son dióicos, presentan alternancia de sexos ya que al principio de su ciclo reproductor actúan como machos y al final como hembras. Cuando las gónadas alcanzan su madurez, un simple cambio en la temperatura o salinidad del agua son suficientes para promover la expulsión del esperma, el cual a su vez estimula a las hembras para liberar los óvulos (Méndez-Montaño, 2012)

Distribución geográfica: del golfo de San Lorenzo en Canadá hasta el golfo de México y Antillas.

Hábitat y tipo de nutrición: especie epifaunal constituyendo bancos. Habita aguas someras, protegidas y sin azolvamiento continuo, preferentemente en salinidades de 19 ups, temperaturas entre 18 y 27 °C, nutrición por filtración de partículas orgánicas suspendidas (García-Cubas y Reguero, 1989).

En el complejo lagunar de Alvarado se encuentra principalmente en la laguna Camaronera y Buen País y en la parte poniente de la laguna de Alvarado. El ostión presenta dos temporadas reproductivas, de diciembre a enero y en julio, la mayoría de los organismos son hembras. Las temperaturas entre los 25 y 31 °C y las salinidades de 17 y 20 ups, repercuten en la reproducción de los organismos (Palmerín-Ruíz, 2011).

Épocas de pesca de enero a mayo y de julio a diciembre (COMEPESCA, 2014).



- ❖ *Crassostrea rhizophorae* (Guilding, 1828)
- ❖ Género *Crassostrea*
- ❖ Especie *Crassostrea rhizophorae*
- ❖ Nombre común Ostión de mangle

Figura 5. Valvas de un ejemplar de *C. rhizophorae*.

Morfología de las valvas: concha más bien pequeña, forma generalmente redonda u ovalada hasta elongada casi trigonal, no es equivalva y los adultos muestran claramente la valva inferior notablemente más concava que la superior que es lisa. Los ejemplares adultos llegan a medir hasta 18 mm de altura. La coloración externa café pardo a verde oliva con líneas irregulares violáceas o púrpuras que van desde el umbo hasta el borde, internamene es blanquecino, ocasionalmente con manchas verde-amarillento, manchas color púrpura en el margen posterior. La ornamentación externa de la valva superior es lisa desde el umbo o prodisoconcha hasta, aproximadamente, la parte media donde hay líneas que se dirigen hasta el borde en donde llegan a formar un cinturón foliar que encaja perfectamente con la valva inferior la cual muestra la marca de fijación sobre el mangle, el resto presenta grandes costillas a lo largo de la concha que se levanta considerablemente, dispuestas más o menos radialmente, de tal manera que al llegar al borde de la concha forma pliegues que caracterizan a la especie. La charnela es generalmente estrecha con resilífero moderado y condróforo casi plano. Istmo profundo, comata a los lados de la charnela. Músculo de Quenstedt bien representado. El manto es de forma alargada a ovoide, color amarillento cremoso verdoso hasta levemente púrpura y pigmentación oscura hacia el margen de los lóbulos del manto (García-Cubas, 1981).

Distribución geográfica: golfo de México, Caribe, Las Antillas, Brasil y Uruguay.

Hábitat y tipo de nutrición: habitan sobre raíces y tallos de mangle en la zona intermareal, en aguas de mayor salinidad y menor turbiedad que *C. virginica*. temperaturas de 25 a 31°C, salinidades de 37 a 44 ups. Epifaunales, de nutrición suspensívora (García-Cubas y Reguero, 1989).



Figura 6. Valvas de un ejemplar de *R. cuneata*.

- ❖ *Rangia cuneata* (Gray, 1831)
- ❖ Subclase Heterodonta
- ❖ Infraclass Euheterodonta
- ❖ Superorden Imparidentia
- ❖ Superfamilia Mactroidea
- ❖ Familia Mactridae
- ❖ Subfamilia Mactrinae
- ❖ Género *Rangia*
- ❖ Especie *Rangia cuneata*
- ❖ Nombre común Almeja gallito

Morfología de las valvas: tamaño entre 3 y 7 cm de largo, color blanco amarillento por debajo del periostraco, forma ovalada muy obesa y oblícua, equivalva inequilateral, con la parte posterior alargada y triangular. Conchas gruesas. Presenta ornamentación, finas líneas de crecimiento concéntricas. La charnela presenta una foseta profunda que aloja el condróforo, 2 dientes cardinales y 2 laterales. El postero lateral es muy largo, llegando hasta las proximidades del margen ventral. Los umbones son prominentes y dirigidos hacia el margen anterior (prosogiros). El interior es lustroso blanquesino, con un tinte azulado, la impresión del músculo aductor anterior es más pequeña y profunda que la del posterior. El seno palial es pequeño, dirigido hacia delante y hacia arriba, con sifones. El periostraco es liso y de color café erosionado en el umbo.

Hábitat y tipo de nutrición: lagunas costeras y esteros de baja salinidad, es una especie típicamente estuarina (5-15 ups), en áreas influidas por ríos, en fondos limo-arcillosos, forma parte de la infaunal superficial, nutrición suspensívora y saprófaga (García-Cubas y Reguero, 1989).

Desoves todo el año, pero mayormente de febrero a julio (Wakida, 2004).

Siempre se encuentra asociada a almejas menos abundantes como *Rangia flexuosa* y *Polymesoda caroliniana*.

Distribución geográfica: de Virginia al Sur del Golfo de México.



- ❖ *Rangia flexuosa* (Conrad, 1839)
- ❖ Subgénero *Rangianella*
- ❖ Género *Rangia*
- ❖ Especie *Rangia flexuosa*
- ❖ Nombre común Almeja casco

Figura 7. Valvas de un ejemplar de *R. flexuosa*.

Morfología de las valvas: concha rostrada, periostraco de color amarillo paja que cubre a la concha blanca, más oscura y fibrosa en el declive posterior, dientes laterales cortos y rectos casi lisos y seno palial diminuto o ausente. Tamaño entre 2.5 y 4 cm de largo, color blanco, forma ovalada, oblícua, cuneiforme inequilateral, pesada y gruesa. Su ornamentación consta de finas líneas de crecimiento. El declive posterior largo y en forma de quilla fuertemente rostrada. Umbones prominentes, charnela con un condróforo; con dientes cardinales, los dientes laterales son mucho más cortos y elevados que en *R. cuneata*. El interior es blanco lustroso con un tinte grisáceo-azul. Presenta dos impresiones musculares ovaladas.

Distribución geográfica: de Louisiana al sur del Golfo de México (García-Cubas, 1981).

Hábitat y tipo de nutrición: en lagunas costeras y esteros de baja salinidad, con influencia de agua dulce, forma parte de la infauna superficial en fondos blandos, su nutrición es micrófaga suspensivora y saprófaga (García-Cubas y Reguero, 1989).

La fase reproductiva de *Rangia* se hace evidente durante casi todo el año, los desoves masivos se presentan de febrero a junio y de septiembre a noviembre, las condiciones fisicoquímicas que rigen los desove son la temperatura y salinidad de 22 a 30 °C y 0 a 3 ups, los valores más bajos de salinidad coinciden con lo valores porcentuales más altos en los desoves (Palmerín-Ruiz, 2011).



- ❖ *Polymesoda caroliniana* (Bosc, 1801)
- ❖ Subclase Heterodonta
- ❖ Infraclasse Euheterodonta
- ❖ Superorden Imparidentia
- ❖ Orden Venerida
- ❖ Superfamilia Cyrenoidea
- ❖ Familia Cyrenidae
- ❖ Género *Polymesoda*
- ❖ Especie *Polymesoda caroliniana*
- ❖ Nombre común Almeja negra

Figura 8. Valvas de un ejemplar de *P. caroliniana*.

Morfología de las valvas: tamaño entre 3 y 7 cm de largo, color café o amarillento, con los umbones de color rosado salmón. El interior de la concha es blanco azulado y en la parte dorsal y central adquiere un tinte rosáceo a salmón, en ocasiones con manchas púrpura.

Conchas fuertes, subtriangulares, obesas, equivalvas e inequivalvas. El exterior es casi liso con débiles líneas de crecimiento. Cada una de las valvas presenta una charnela con tres pequeños dientes casi verticales, que irradian exactamente por debajo del ápice del umbo, y un diente anterior y otro posterior. Ligamento externo grande y estrecho, de color café oscuro. Línea palial tenue y poco marcada, el seno palial es estrecho y asciende en la parte media; el interior presenta 2 impresiones musculares casi del mismo tamaño. Periostraco pelúcido o fibroso formando ondulaciones escamosas y generalmente erosionadas cerca de los umbones (García-Cubas, 1981).

Hábitat y tipo de nutrición: comunes en las bocas de los ríos hasta donde llega la influencia de las mareas, son típicos de aguas salobres de baja salinidad hasta aguas dulces, están formando parte de la infauna en fondos suaves. Su nutrición es filtrante (García-Cubas y Reguero, 1989).

Distribución geográfica: Virginia, Norte de Florida y Texas hasta el sur del golfo de México.

9. ANALISIS DE DATOS

Una vez que los extractos purificados de las muestras biológicas se analizaron en el CG se obtuvieron cromatogramas, que son la representación gráfica de la señal que da el detector al paso de los distintos analitos en función del tiempo. En los cromatogramas se pueden observar picos que corresponden a las sustancias analizadas y cada pico debe concordar con el tiempo de retención determinado para cada uno de los HAPs (análisis cualitativo). Para el análisis cuantitativo de los HAPs que estuvieron presentes en los tejidos de los bivalvos se emplea la siguiente información: área de la muestra (A_m), área del blanco (A_b), área del estándar (A_{std}), concentración del estándar (C_{std}), volumen inyectado del estándar (V_{Istd}), volumen inyectado de la muestra (V_{Im}), volumen de reconstitución del extracto purificado (V_R) y peso de la muestra (P_m) y con esta obtener las concentraciones finales de cada analito en las muestras biológicas.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

10.1 Parámetros fisicoquímicos.

En las gráficas 9, 10, 11, 12 y 13 se muestran los resultados de los parámetros fisicoquímicos medidos *in situ* en la columna de agua de la laguna, parámetros estrechamente asociados tanto a la biología de los organismos como a procesos de bioacumulación de contaminantes como HAPs.

PROFUNDIDAD.

Durante la época de muestreo (secas) la estación donde se registró la menor profundidad fue Arbolillo, mientras que la más profunda fue la estación Boca. De manera general el cuerpo de agua es somero, sin embargo, la profundidad aumentó considerablemente hacia la estación Boca alcanzando los 7.3 m (Com. Per. Montero-Delgadillo, D.) donde se localiza el canal de comunicación de la laguna con el mar.

TEMPERATURA.

La temperatura varió de 25.1 °C a 26 °C en la superficie del cuerpo de agua con un promedio de 25.5 °C; mientras que en el fondo fue de 23.4 °C a 25.8 °C con un promedio de 24.8°C (figura 9). La temperatura del fondo de la laguna fue relativamente menor que la de la superficie, ya que esta se ve directamente afectada por la incidencia solar elevando la temperatura en el transcurso del día. Las estaciones donde se notó más diferencia entre la superficie y el fondo fueron las más cercanas a la boca de comunicación con el mar, que se puede explicar debido a que en las estaciones Rincón Bahía y Boca se presentaron las mayores profundidades, demostrando que existe una relación inversa entre la profundidad y la temperatura de la laguna, además es donde se notó más claramente una estratificación típica de estos ambientes; estratificación causada por la intrusión de agua marina a través de la boca y el aporte de agua dulce proveniente de descargas continentales.

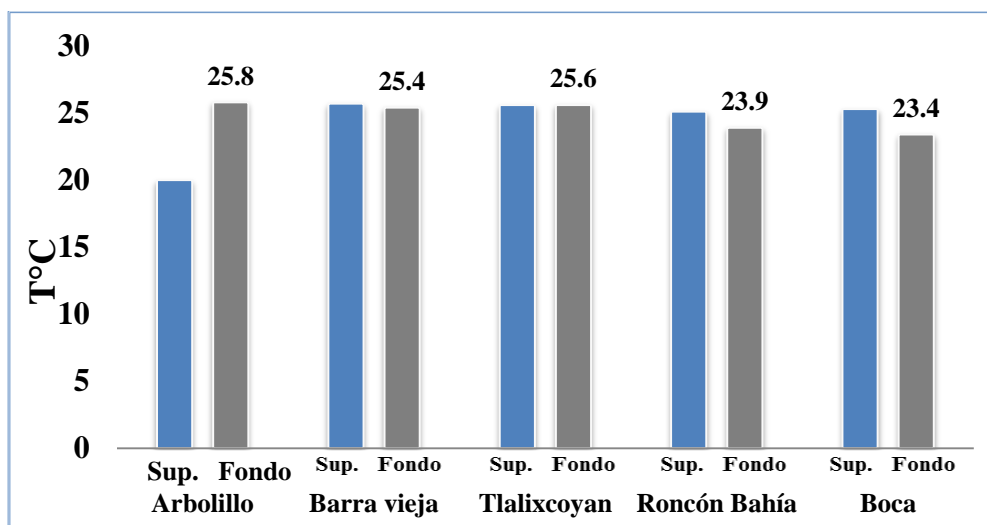


Figura 9. Variabilidad espacial de la temperatura de la laguna de Alvarado.

SALINIDAD.

En la figura 10 observamos que la salinidad osciló de 2.7 a 9.6 ups en la superficie, en tanto que el fondo fue de 3.2 a 19.8 ups, de igual manera se notó una estratificación del ambiente lagunar con las concentraciones más elevadas de salinidad en el fondo del cuerpo de agua, debido a que el agua proveniente del mar es más densa que el agua dulce de los aportes fluviales; las estaciones con las valores más elevados de salinidad fueron las estaciones Rincón Bahía y Arbolillo, esto puede deberse a que ambas estaciones se encuentran en zonas geomorfológicamente aisladas, mientras que la estación Tlalixcoyan presentó los valores más bajos de salinidad ya que en este punto de la laguna desemboca el río Blanco; en la estación Boca se podría pensar que por ser la que está directamente ubicada en el canal de comunicación con el mar presentaría valores de salinidad muy elevados o por encima del resto de las estaciones, sin embargo, esta localidad se ve muy influenciada por las aguas del río Papaloapan, que según Palmerín-Ruíz (2011) este río cuenta con la particularidad de vencer la marea dando como resultado una salinidad más baja. Autores como Raz-Guzmán, *et al.* (1987) y Winfield, *et al.* (2007), reportaron condiciones mesohalinas (5 a 18 ups) para época de secas en la laguna.

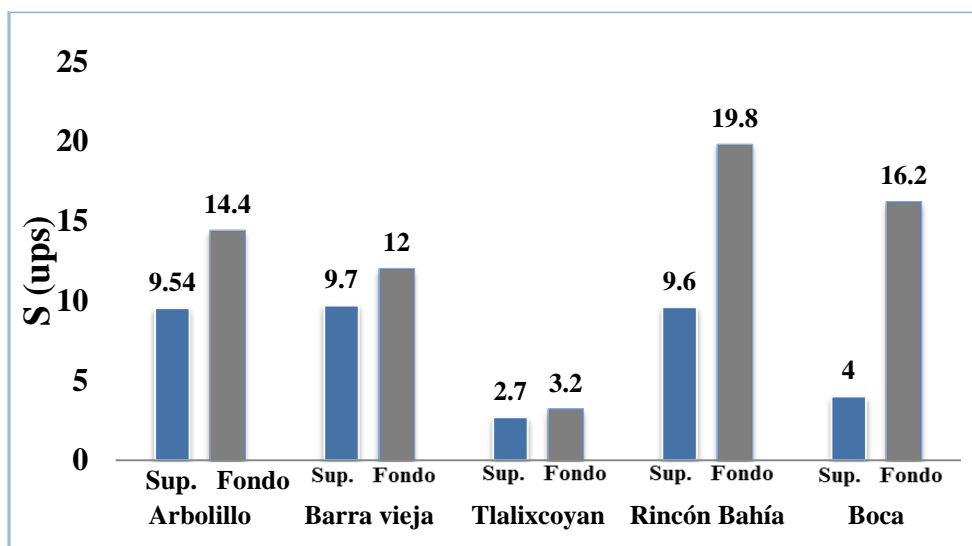


Figura 10. Variabilidad espacial de la salinidad en la laguna de Alvarado.

pH.

El pH en las lagunas costeras está regulado por diversos factores como la degradación de la materia orgánica, la remoción de sedimentos por efecto de las corrientes causando

remineralización, los escurrimientos terrestres y la influencia oceánica, procesos biológicos como la biosíntesis y la respiración (López-Ortega *et al.*, 2012).

El pH tuvo valores de 7.3 a 8.1 en la superficie y de 7.7 a 8.2 en el fondo (figura 11), en la mayoría de las estaciones el pH se mantuvo alrededor de 8, condiciones ligeramente básicas, lo que indica una clara influencia del agua proveniente del océano, debido a que las aguas marinas mantienen un sistema amortiguador de carbonatos-bicarbonatos. Mientras que el resto de las estaciones mantuvo valores muy cercanos a la neutralidad.

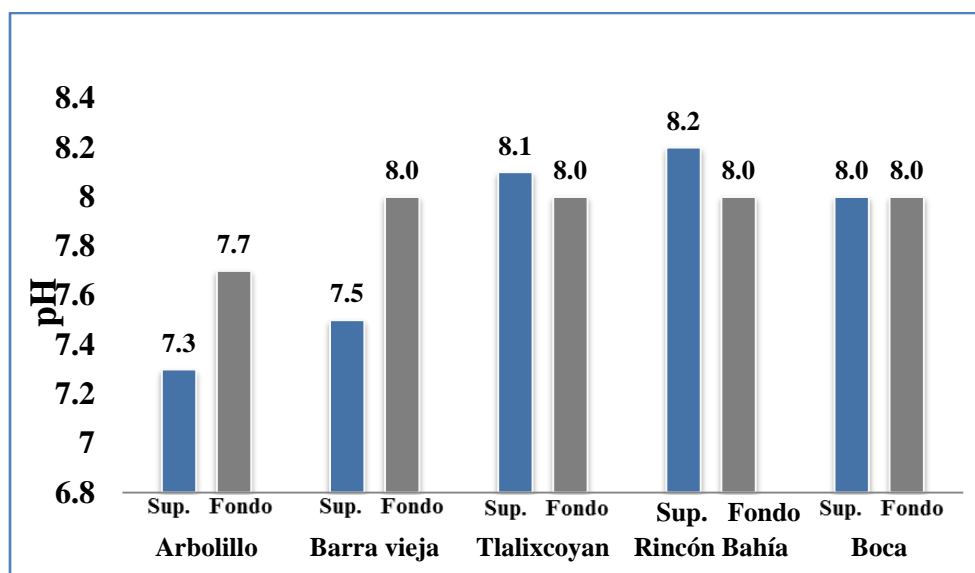


Figura 11. Variabilidad espacial del pH en la laguna de Alvarado.

OXÍGENO DISUELTO Y PORCENTAJE DE SATURACIÓN

En la figura 12 se muestra n las concentraciones de oxígeno disuelto, este presentó intervalos de concentración 6.04 a 9.45 mg/L y porcentaje de saturación de 72.64 y 115.10% en la superficie; mientras que en el fondo fueron de 3.14 a 5.91 mg/L, de oxígeno disuelto y de 37.83 a 71.46% de porcentaje de saturación.

Cabe mencionar que posiblemente las concentraciones más bajas en el fondo son debidas al uso de este para procesos tanto de descomposición de materia orgánica como de respiración de la biota, además de que en la superficie es donde ocurre el intercambio de este gas con la atmósfera. Las estaciones Arbolillo y Barra Vieja presentan las concentraciones más bajas, pero sólo en el fondo (3.21 y 3.14 mg/L respectivamente), lo cual pudiera ser causante de estrés en los organismos, ya que Goyenola (2007) reporta que concentraciones menores de

5 mg/L se consideran condiciones de hipoxia, y que las concentraciones aceptables son de 5-8 mg/L; mientras Cupil-Díaz (2015) menciona que concentraciones por encima de 4.1 mg/L se consideran de buena calidad. Con excepción de esos dos valores relativamente bajos el resto de los sitios mostró buena oxigenación, adicionalmente las variaciones en las concentraciones de oxígeno pueden verse afectadas por la salinidad y la temperatura.

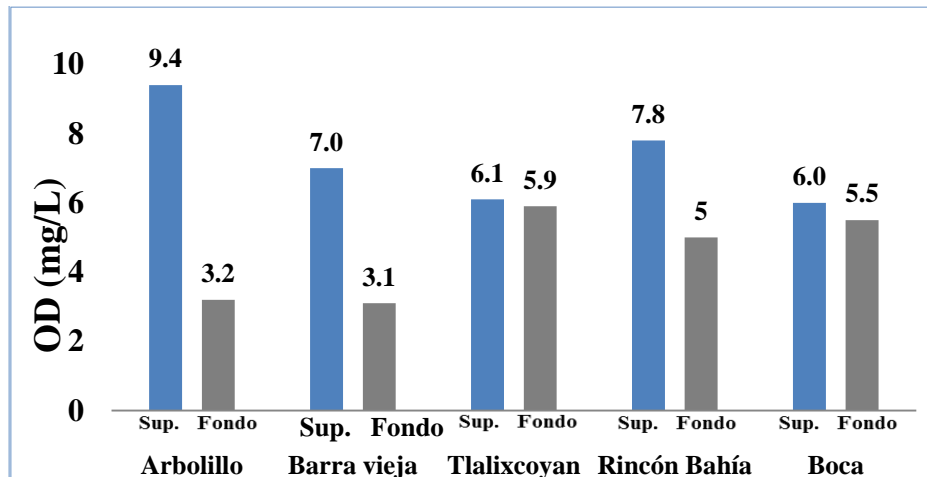


Figura 12. Variabilidad espacial del OD en la laguna de Alvarado.

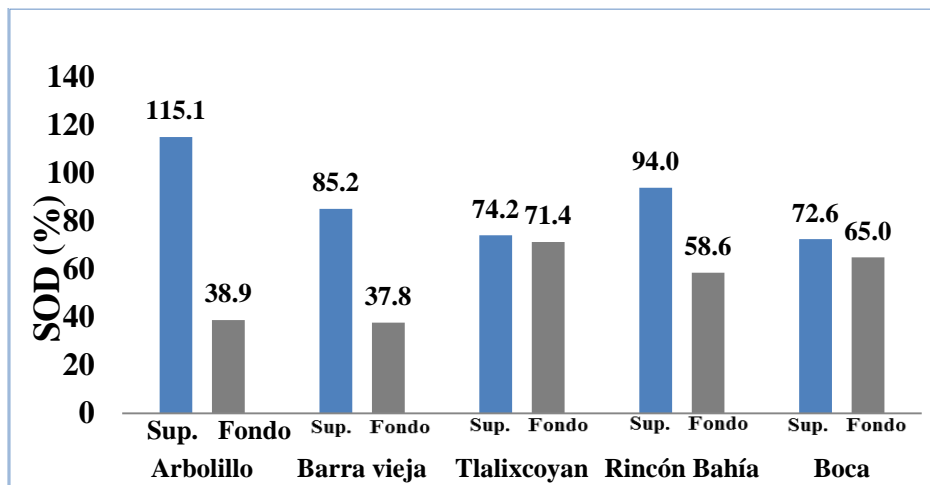


Figura 13. Variabilidad espacial de la SOD en la laguna de Alvarado.

La temperatura, la salinidad y el oxígeno disuelto son factores que juegan papeles importantes en la biología y ecología de los moluscos bivalvos, sin embargo este último parámetro está influenciado directamente por la temperatura (Vera-Manrique y Aldana-Aranda, 2000), entonces estos parámetros fisicoquímicos determinan la distribución de los organismos en el ambiente donde habitan. Mientras que las almejas empleadas para el presente estudio toleran un rango de salinidad que va desde 0 hasta 32 ups, y

preferentemente se encuentran en las zonas donde hay aporte de agua dulce, los ostiones no toleran salinidades por debajo de 15 ups, lo cual podría ser una razón para justificar la abundancia de las almejas. De la misma manera estos factores interfieren en los ciclos de desove de estos organismos. Según George-Zamora *et al.* (2003) para organismos bivalvos que habitan latitudes altas solo se registra un periodo de desove que se ve afectado por la salinidad y la temperatura, sin embargo, a latitudes inferiores donde las temperaturas son más altas y sin tantas oscilaciones, los periodos de desove se incrementan a 2, inclusive se registran desoves todo el año, siendo mayormente afectados por los cambios de salinidad.

10.2 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.

Debido al creciente impacto que generan las actividades humanas sobre los ambientes costeros, que a su vez brindan diversos recursos como organismos de distintas especies con gran valor comercial por ser usados como alimento, el interés por conocer los efectos que estas actividades ejercen sobre ellos también ha ido en aumento ya que muchas de estas involucran contaminantes como los HAPs, y pueden afectar la calidad de los recursos alimenticios que estos hábitats generan. De esta manera el empleo de especímenes que residen en estos medios son utilizados frecuentemente para el monitoreo de contaminantes presentes en estos ambientes, como es el caso de los moluscos bivalvos considerados como organismos centinelas o bioindicadores de la contaminación. Con esa premisa se recolectaron moluscos bivalvos en la laguna de Alvarado, Veracruz, en época de secas, marzo del 2015, y así se analizó el contenido de HAPs en sus tejidos, las concentraciones se muestran en la tabla 4 donde se puede observar el comportamiento espacial de estos xenobióticos.

Tabla 4. Concentraciones medidas en ng/g (peso seco) de los 16 HAPs analizados en el tejido blando de los diferentes organismos bivalvos por estación de muestreo.

No. Anillos	Compuesto	Muestras						
		Est. Arbolillo(20 almejas)	Est. Arbolillo (1 ostión)	Est. Barra Vieja (5 almejas)	Est. Tlalixcoyan (25 almejas)	Est. Rincón Bahía (13 almejas)	Est. Boca (12 almejas)	Est. Boca (2 ostiones)
2	Naf	N.D.	N.D	10	20	20	10	110
2	Ace	20	10	10	10	N.D.	10	100
2	Acen	10	N.D.	10	10	N.D.	10	N.D.
2	Fl	10	10	N.D.	10	10	N.D.	70
3	Fen	10	10	10	10	20	10	30
3	Ant	10	N.D.	10	10	10	10	50
3	Fluo	10	10	N.D.	10	20	N.D.	50
4	Pir	10	10	N.D.	20	30	N.D.	30
4	B(a)A	10	20	10	20	30	10	90
4	Cris	20	360	10	20	40	310	850
4	B(b)F	90	N.D.	10	70	90	10	480
4	B(k)F	130	N.D.	20	80	130	N.D.	N.D.
5	B(a)P	100	80	60	200	210	50	410
5	IP	50	80	170	530	410	0.0	N.D.
5	D(ah)A	100	N.D.	260	1040	990	160	N.D.
6	B(ghi)P	100	290	170	480	400	50	730
COCENTRACIÓN TOTAL (Σ HAPs)		680	880	760	2540	2410	640	3000
Σ HAPs DE BAJO PESO MOLECULAR		70	40	50	80	80	50	410
Σ HAPs DE ALTO PESO MOLECULAR		610	840	710	2460	2330	590	2590

N. D.= no detectado < 0.01 (límite de detección). HAPs con < 3 anillos = bajo peso molecular. HAPs con > 3 anillos =alto peso molecular.

La degradación de los contaminantes tales como los HAPs está dominada en gran parte por las características de estos ya que los de menor peso molecular tiene un tiempo de vida media menor a los de mayor peso y por las condiciones ambientales como; la temperatura, la cantidad de oxígeno, la actividad fotoquímica y la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos que los degradan (Botello *et al.*, 1992; Espina y Vanegas, 2005); determinando las concentraciones que quedan biodisponibles. Por ejemplo Ponce-Vélez (2012) refiere que las bajas temperaturas provocadas por periodos fríos afectan la descomposición microbiana de HAPs viéndose limitada, así como su foto-oxidación, ya que esto depende directamente de la incidencia solar; también menciona que durante los crecimientos planctónicos en primavera se produce una gran cantidad de material detrítico que atrapa HAPs debido a que estos analitos presentan un alto valor de Kow y Koc, por lo

que su tendencia natural es a adsorberse y absorberse en el material lipídico del detrito y seguir la ruta de sedimentación; pero también pueden ser incorporados por los organismos bivalvos ya sea por filtración directamente de este material detrítico o a través de red trófica, ya que el proceso de bioacumulación y biomagnificación comienza por ingreso de los HAPs en la comunidad planctónica, comunidad de la cual los organismos bivalvos se alimentan. También se ha observado que la salinidad tiene una relación inversa sobre la solubilidad de los HAPs, dejando de esta manera una menor biodisponibilidad (Salazar-Coria, 2008)

El aporte de los ríos así como el de las aguas residuales por descargas urbanas se deben tomar en cuenta a la hora de realizar un monitoreo de contaminantes. Escobar (2002) menciona que las fuentes fijas y difusas de la contaminación son producto de una amplia gama de actividades humanas realizadas en tierra, y que son captadas por agua de las cuencas hidrográficas. Ambas fuentes se suman y al llegar a los ríos que desembocan en la región costera se generan puntos de alta concentración.

En este sentido, se observó que las concentraciones más elevadas de HAPs detectadas en los tejidos de los organismos se encontraron en las muestras de las estaciones cercanas a desembocaduras de ríos como la estación Boca con 3000 ng/g, las almejas recolectadas en Tlalixcoyan y las almejas de Rincón Bahía con 2540 ng/g y 2410 ng/g respectivamente; en el caso de la estación Rincón Bahía por ejemplo más próxima al poblado de Alvarado, en tanto que las concentraciones de los analitos en los organismos de las demás estaciones, que se localizaron más alejadas de las desembocaduras de los ríos, fueron menores, en las muestras de almejas de Arbolillo 640 ng/g y 880 ng/g en la muestra de ostión y los organismos de Barra vieja presentaron 760 ng/g.

Vanegas (2005) ha mencionado que la biología de los organismos es de vital importancia a la hora de incorporar y almacenar compuestos como los HAPs en sus tejidos. En los organismos analizados en el presente trabajo sobresalen diversas similitudes en cuanto a estos aspectos, ya que tanto las almejas como los ostiones son filtradores, de hábitos sedentarios, se encuentran asociados a los sedimentos, y presentan una respuesta metabolizadora reducida a los xenobióticos. A pesar de estas similitudes en las muestras de las almejas de la estación Boca se presentó una concentración menor de HAPs (640 ng/g) a

diferencia de las muestras de ostiones de la misma estación, que presentaron la concentración más alta. Esto pudiera deberse a que aunque la vía de administración es la misma, la concentración que estos ingieren puede estar influenciada no solo por el sitio de recolección como ya se mencionó, sino por factores como la capacidad filtradora de los organismos, ya que a una cantidad mayor de agua filtrada aumentara la posibilidad de interacción de los bivalvos con los contaminantes presentes en el ambiente; igualmente los procesos como turbulencia a microescala y bioturbación influye en la distribución de estos xenobióticos (Salazar-Coria, 2008), sin olvidar que la cantidad de lípidos que contengan sus tejidos también son de suma importancia, debido a la alta lipofilidad de estas sustancias. En todas las estaciones se detectaron concentraciones que Neff (1982) mencionaba pudieran causar daño a los organismos como toxicidad a nivel celular, provocando alteraciones metabólicas, las concentraciones que él refería van de 200 a 10000 ng/g.

Es importante recalcar que se detectaron compuestos considerados de alto riesgo ambiental, y de las fracciones más tóxicas del petróleo para la vida acuática; estos son tanto hidrocarburos de la fracción soluble en agua, que pertenecen a los compuestos ligeros como Naf y Fluo, el primero causa los mayores efectos narcóticos entre todos los HAPs analizados, en tanto que el segundo tiene efectos de tipo crónico como mutagénesis (Zambrano *et al.*, 2012). El Naf fue registrado en las muestras de almeja y de ostión en las estaciones en Barra Vieja y Boca, las concentraciones detectadas estuvieron en el límite de detección (10 ng/g), y en las estaciones Tlalixcoyan y Rincón Bahía las concentraciones fueron un poco mayores de 20 ng/g cada una. En cuanto al Fluo en tejidos de almejas y ostiones, en las estaciones Arbolillo y Tlalixcoyan, se registraron concentraciones sobre el límite de detección (10 ng/g), en la estación Rincón Bahía de 20 ng/g y en la estación Boca solo en los ostiones, 50 ng/g.

Diversos HAPs han sido catalogados por distintas agencias tales como la IARC y la UE como cancerígenos o potencialmente cancerígenos para el ser humano, tal es el caso del BaP y el DahA, el primero ha sido de los más estudiados y los datos que se pueden encontrar de este en cuanto a su toxicología son mucho más amplios que los de cualquiera de los otros 16 HAPs considerados prioritarios por la EPA. Tanto así que éste se ha

empleado como marcador de la presencia y efectos de los HAPs cancerígenos; sin embargo el Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM Panel) de la European Food Safety Authority (EFSA) a petición de la UE, revisó la idoneidad de mantener al BaP como marcador de la existencia de HAPs en alimentos, por lo que la EFSA adoptó un dictamen, en ese dictamen se concluyó que no es recomendable usar por sí solo el BaP como marcador de la incidencia de HAPs en alimentos, sino más bien un sistema de 4 sustancias específicas (HAP4); BaP, BaA, BbF y Cri (UE, 2011). Es fundamental tomar en cuenta que no existen criterios que establezcan los límites máximos permisibles de HAPs contenidos en organismos acuáticos de vida silvestre destinados para el consumo humano, pero la UE en el reglamento 1881/2006 para la protección de salud humana, fijó el contenido máximo de BaP de 6 ng/g y la suma de HAP4 35 ng/g. Para el caso de los bivalvos sometidos a proceso de ahumado y en muestras de bivalvos en peso húmedo, el máximo nivel se fijó en 10 ng/kg (UE, 2011). El BaP tuvo presencia en todas las muestras de bivalvos, en la estación Arbolillo se registraron concentraciones de 100 ng/g en las almejas y 80 ng/g en los ostiones, 60 ng/g en la estación Barra vieja, 200 ng/g en Tlalixcoyan, 210 ng/g en Rincón Bahía y 50 ng/g en las almejas de la estación Boca, en tanto que en los ostiones se registraron 410 ng/g, siendo este último valor el más elevado para este compuesto. El DahA se detectó en la estación Arbolillo en las muestras de almejas, con una concentración de 100 ng/g pero en los ostiones no, en Barra vieja 260 ng/g, en Tlalixcoyan 1040 ng/g, en Rincón Bahía 990 y en la estación Boca al igual que en Arbolillo solo se encontraron 160 ng/g en las almejas.

En la figura 14 se aprecian concentraciones totales de cada uno de los HAPs, se observa claramente que la hubo mayor predominancia de aquellos analitos denominados como HAPs pesados (4, 5 y 6 anillos aromáticos), sobre de los HAPs ligeros (2 y 3 anillos aromáticos), lo cual indica que los compuestos pirolíticos fueron dominantes, y que las fuentes pirolíticas tienen una mayor influencia en la laguna y, por lo tanto, en la bioacumulación de estos xenobióticos en los bivalvos. Esta tendencia obedece a las características fisicoquímicas de los compuestos analizados, pues como Salazar-Coria (2008) ha indicado la presión de vapor determina la presencia del tipo de HAPs en el ambiente, mientras que los HAPs de 2-3 anillos aromáticos son muy volátiles, los de 4 o más anillos muestran una volatilidad casi nula. También alude al hecho de que los HAPs

de 4 anillos aromáticos son más disponibles que los de 3 y 5 anillos para que los bioacumulen organismos como moluscos, a partir de sedimentos contaminados y que los compuestos de alto peso molecular por su Kow podrían ser favorecidos en este proceso. Con base en esto, se tiene que la dominancia de los HAPs por número de anillos está dada de la siguiente manera: 4 anillos > 2 anillo > 3 anillos > 5 anillos > 6 anillos. Sin embargo, los analitos de 5 y 6 anillos bencénicos exhibieron las concentraciones más altas (exceptuando al IP con 1240 ng/g) el DahA con 2550 ng/g y el BghiP con 2220 ng/g; que los de 4 anillos bencénicos Cri con 1610 ng/g, BaP con 1110 ng/g y el BbF con 750 ng/g.

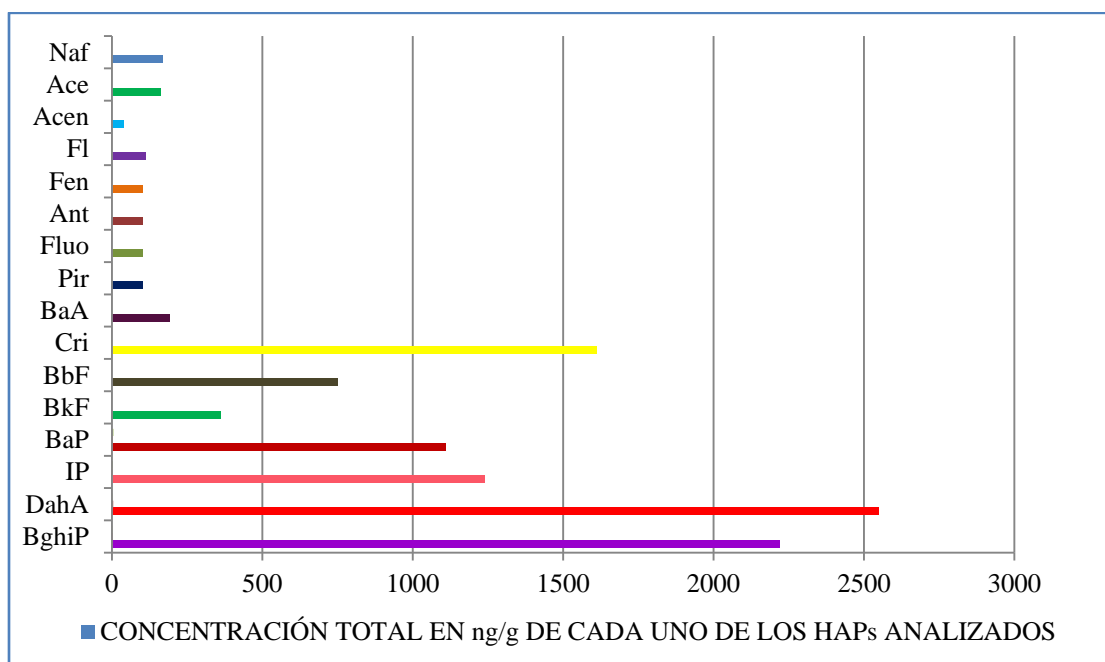


Figura 14. Sumatoria de las concentraciones de cada uno de los HAPs detectados en el tejido blando de los bivalvos. Concentraciones dadas en ng/g (peso seco).

Para tener una mayor certeza tanto del origen de los HAPs acumulados en los tejidos de los organismos, como de las actividades que más impactan a la laguna de Alvarado, se emplearon algunas relaciones isoméricas. Aunque, los índices que se emplean fueron realizados originalmente para aplicarlos en datos obtenidos de sedimentos, Soriano-Sanz (2009) en su trabajo empleó la siguiente relación isomérica para determinar la fuente de los HAPs: Fen/Ant y Fluo/Pir, con base en eso, en este estudio se utilizó la misma relación, y también se aplicó la de IP/IP+BghiP y Fluo/Fluo+Pir, ya que no en todas las muestras analizadas se detectaron los compuestos Ant, Flu y Pir.

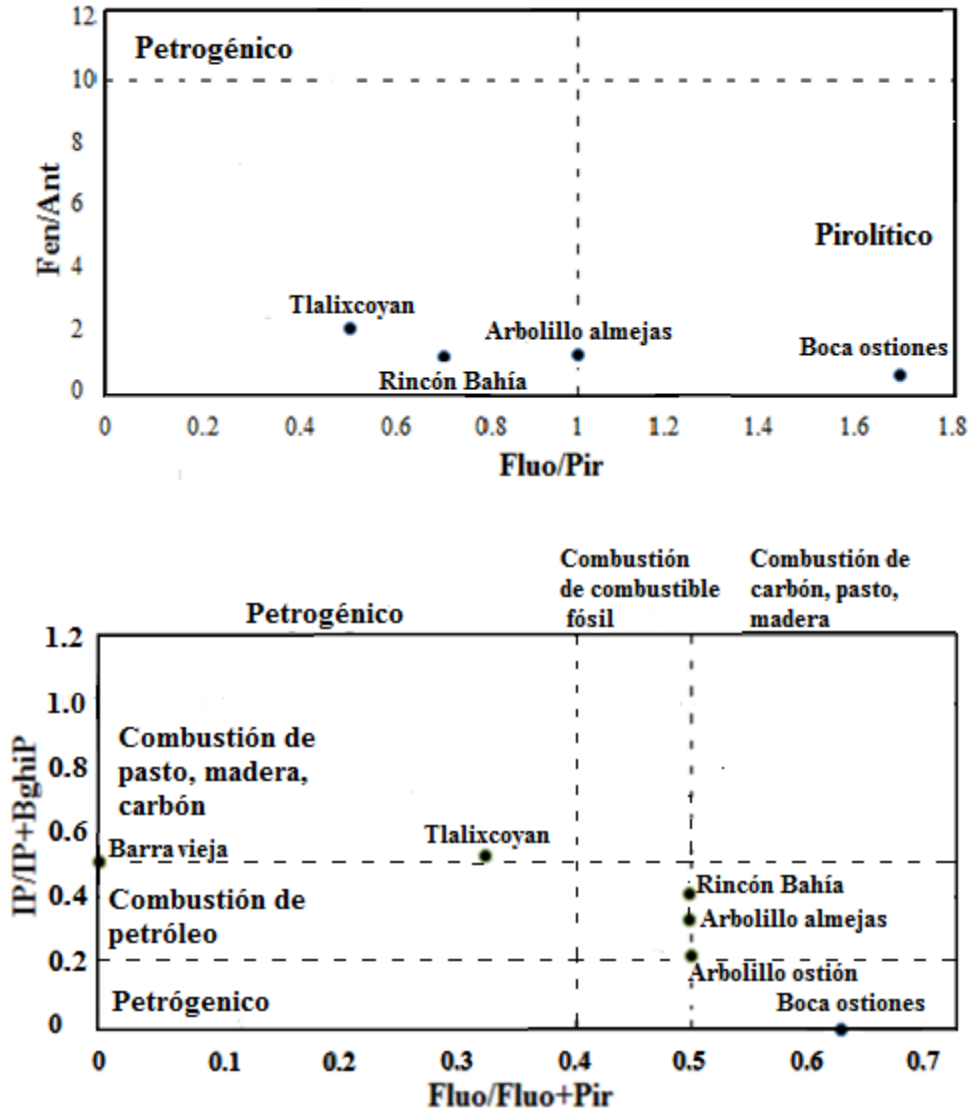


Figura 15. Relaciones isoméricas de HAPs detectados en bivalvos de la laguna de Alvarado, Veracruz.

En el índice de Fen/Ant se puede observar, que los HAPs detectados en las muestras de las estaciones Tlalixcoyan y Rincón Bahía son predominantemente pirolíticos, en tanto que para el cociente Fluo/Pir estas estaciones se ubicaron con un origen petrogénico. El índice de Fluo/Pir para las almejas de la estación Arbolillo se ubicó en la frontera de pirolítico y petrogénico, y el cociente de Fen/Ant indicó un origen pirolítico, por último los HAPs presentes en los ostiones fueron pirolíticos para ambos índices.

Para el índice IP/IP+BghiP las estaciones de Barra vieja y Tlalixcoyan la tendencia dominante en la procedencia de los HAPs es de combustión de vegetación, carbón y/o

madera, para las estaciones Rincón Bahía y Arbolillo almejas se ubican en la sección de combustión de petróleo, en tanto que la estación Arbolillo ostión se ubica en la frontera entre combustión de petróleo y fuente petrogénicas. Las estaciones Ricón Bahía, Arbolillo tanto en las muestras de almejas como de ostión de acuerdo con los intervalos del índice Fluo/Fluo+Pir el origen de los HAPs se ubica entre el límite de combustión de combustible fósil y combustión de vegetación, carbón y/o madera, mientras que los valores de la estación Boca ostiones apuntan hacia un origen de combustible de vegetación, carbón y/o madera. A las muestras de almejas de la estación Boca se les aplicó el índice Ant/Ant+Fen, ya que por falta de datos no se les pudo aplicar alguna de las 2 relaciones que se emplearon para las demás muestras, el resultado para estas muestras indicó que los HAPs eran de origen pirolítico.

De manera general los resultados en la aplicación de los índices moleculares a las muestras de organismos sugieren una procedencia predominantemente pirolítica.

Con la finalidad de analizar si los resultados obtenidos en cuanto a concentraciones de HAPs en los organismos empleados para este estudio son más elevadas, menores o incluso iguales a los que han reportado diversos autores en investigaciones similares realizadas en distintos lugares de las costas mexicanas y de otros países, se presenta a continuación la tabla 5.

Tabla 5. Concentración de HAPs en moluscos bivalvos recolectados en diversas áreas de México y del mundo.

Localidad	Concentración	Especie de bivalvo	Referencia
Laguna Pom (sistema lagunar de Términos), Campeche	2.9-147.14 µg/g	<i>Rangia cuneata</i>	Álvarez-Legarreta <i>et al.</i> , 1994
Río Coatzacoalcos, Veracruz	0.12 µg/g	<i>Rangia flexuosa</i>	Vázquez-Botello <i>et al.</i> , 1996
Isla Pajaritos, Veracruz	0.13 µg/g	<i>Polymesoda caroliniana</i>	Vázquez-Botello <i>et al.</i> , 1996
Laguna Pueblo Viejo y canal el Chijol, Veracruz	0.1684 µg/g	<i>Crassostrea virginica</i>	Borade <i>et al.</i>
Pichilingue, B.C.S.	22.86 µg/g	<i>Crassostrea palmula</i>	García-Ruelas, 2002
Nayarit	< LDC-1.73 µg/g	<i>Crassostrea corteziensis</i>	García-Ruelas, 2002
Costa Atlántico-Cantábrica española	0.02-1.9 µg/g*	<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Soriano-Sanz, 2009
Laguna La Grande-La Chica, Veracruz	23.33 µg/g	<i>Crassostrea virginica</i>	Méndez-Montaño, 2012
Laguna La Grande-La Chica, Veracruz	4.614 µg/g	<i>Crassostrea rhizophorae</i>	Méndez-Montaño, 2012
Isla Guadalupe, Mar Caribe, Antillas Francesas	0.066-0.961 µg/g	<i>Crassostrea corteziensis</i>	Ramdine <i>et al.</i> , 2012
Bahía Cienfuegos, Cuba	1171.90 µg/kg*	<i>Perna viridis</i>	Vega-Bolaños <i>et al.</i> , 2012
Bahía de Tanoura (Mar de Yatsushiro), Japón	0.23 µg/g	<i>Crassostrea gigas</i>	Nakata <i>et al.</i> , 2014
Estuario de Bahía Blanca, Argentina	<LDC-0.482 µg/g*	<i>Brachidontes rodriguezii</i>	Oliva, 2015
Laguna de Alvarado, Veracruz	0.64-3 µg/g	<i>Rangia cuneata</i> , <i>Rangia flexuosa</i> , <i>Polymesoda caroliniana</i> , <i>Crassostrea virginica</i> y <i>Crassostrea rhizophorae</i>	presente estudio

* Mejillones

11. CONCLUSIONES.

Se detectaron hidrocarburos aromáticos policíclicos en tejidos de organismos bivalvos recolectados en la laguna de Alvarado, Veracruz. Las concentraciones más elevadas de estos compuestos se registraron en las estaciones más cercanas a los aportes de ríos, así como al poblado de Alvarado.

Se detectaron tanto compuestos ligeros de 2 a 3 anillos aromáticos, como compuestos pesados de 4 a 6 anillos aromáticos, los compuestos de 4 anillos fueron los que dominaron en las muestras. De igual manera, se encontraron HAPs considerados de alto riesgo ambiental como el BaP y el DahA, siendo este último el compuesto que presentó la concentración más elevada de los 16 analizados. Esto indica un impacto de las actividades antropogénicas sobre la laguna, y pone de manifiesto la importancia del monitoreo de estos analitos en ambientes acuáticos con comunidades de organismos de interés comercial, destinados al consumo humano, ya que se detectaron concentraciones de BaP que sobrepasan a las recomendadas por la UE.

Los índices moleculares empleados sugirieron que los HAPs detectados en las muestras de bivalvos son predominantemente pirolíticos. Aunque el empleo de las relaciones isoméricas no es tan común en organismos, es de suma importancia la aplicación de las mismas para tener certeza sobre las actividades que más impactan al ambiente al aportar este tipo de contaminantes.

Las concentraciones detectadas de HAPs en el presente estudio no se encontraron entre las más altas en comparación con otros estudios realizados en organismos similares.

Las concentraciones de los HAPs en los tejidos de los bivalvos, puede estar influenciado por factores intrínsecos del organismo o extrínsecos como las condiciones ambientales imperantes.

12. LITERATURA CITADA.

Álvarez-Legorreta, T., G. Gold-Bouchot and O. Zapata-Pérez. 1994. Hydrocarbon Concentration in Sediments and Clams (*Rangia cuneata*) in Laguna de Pom, Mexico. *Bul. Environ. Contam. Toxicol.* 52:39-45.

Arias, H. A., J. E. Marcovecchino, R. H. Freije, G. Ponce-Vélez y A. Vázquez-Botello. 2010. Análisis de fuentes y toxicidad equivalente en sedimentos contaminados con PAHs en el Estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Hidrobiológica* 20(1): 41-56.

Autino, J. C., G. Romanelli y D. M. Ruiz. 2013. Introducción a la química orgánica. Libro de cátedra. Facultad de ciencias agrarias y forestales. 1ª ed. Editorial de la Universidad de la Plata. Universidad de la Plata. 139 p.

Ávila-Pérez, P. y G. Zarazúa-Ortega. 1993. Concentraciones de metales pesados en ostiones (*Crassostrea virginica*, Gmelin), del canal el Chijol, Veracruz, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 9(2): 53-64.

Badawy, M. I., I. S. Al-Mujainy and M. D. Hernández. 1993. Petroleum derived hydrocarbons in water, sediments and biota from the Mina al Fahal Coastal Waters. *Marine Pollution Bulletin*, 26(8): 457-460.

Baumard, P., H. Budzinsky, P. Garrigues, J. C. Sorbe, T. Burgeot and J. Bellocq, 1998. Concentration of PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) in various marine organisms in relation to those in sediments and to trophic level. *Marine Pollution Bulletin*, 36(12): 951-960.

Baumard, P., H. Budzinsky, P. Garrigues, J. F. Narbonne, T. Burgeot, X. Michel and J. Bellocq. 1999. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) burden of mussel (*Mytilus sp.*) in different marine environments in relation with sediment PAH contamination and biovariability. *Mar. Environ. Res.*, 47: 415-439.

Baqueiro-Cárdenas, E.R., L. Borabe, C. G. Goldaracena-Islas y R. Josefina-Navarro. 2007. Los moluscos y la contaminación. Una revisión. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 78:1-7. Recuperado de: <http://www.ib.unam.mx/m/revista/pdfs/Baqueiro.pdf>. 01/12/2017.

Borabe, L., J. L. Sericano, A. García-Murillo y F. J. Carrillo-Romo. Biomonitorio de Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares en el sistema estuarino-lagunar del río Pánuco, México. Instituto Politécnico Nacional CICATA-IPN, Unidad Altamira. Retrieved from: www.researchgate.net/publication/238763408 Biomonitorio de Hidrocarburos Aromatic. 10/04/2015

Boitsov, S., H. K. B. Jensen and J. Klungsoyr. 2009. Natural background and anthropogenic inputs of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in sediments of South-Western Barents Sea, *Marine Environment Research*, 68(5): 236.

Budzinski, H., I. Jones, J. Bellocq, C. Piérard and P. Garrigues. 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary, *Marine Chemistry*, (58): 85-97.

Calva-Benítez, L. G. y R. Torres-Alvarado. 2007. Contaminantes prioritarios en agua, sedimentos y organismos. *In: J.L. Arredondo-Figueroa, G. Díaz-Zavaleta y J. T. Ponce-Palafox (Eds). Limnología de presas mexicanas aspectos teóricos y prácticos. 1ª ed. AGT Editors S. A.*

Castañeda, L. O. y F. Contreras. 1994. Serie bibliográfica comentada sobre ecosistemas costeros mexicanos. Vol III, Golfo de México I (de Tamaulipas a Veracruz). CONABIO/UAM-I/CDELM. 615 p.

Commins, B. T. 1969. Formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during pyrolysis and combustion of hydrocarbons. *Atmospheric Environment*, 3: 565-572.

Cobos-Chong, D.M. 2014. Aislamiento e identificación de bacterias del suelo del campo petrolero Miguel Alemán, para su posible uso en la remediación de suelos contaminados por hidrocarburos. Tesis. Universidad Veracruzana, Facultad de Ingeniería y Ciencias Químicas. Xalapa, Veracruz. 95p.

Contreras, E.F. 1985. Las Lagunas Costeras Mexicanas. Centro de Ecodesarrollo, SEPESCA. 138-142.

Coutiño-Rodríguez, E.M. del R., A. Purata, P. Hernández-Cruz 2010. Citocromo P450 biomarcador de exposición terapéutico-toxicológico-carcinogénico. *Rev.* 29(2): 39-52.

Cram, S., R. Ortiz y R. Paéz. 2004. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. p. 173-199. *In*: A. Fernández-Bremauntz, M. Yarto-Ramírez y J. Castro-Díaz (Eds.). Las sustancias tóxicas persistentes. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. 257 p.

Cupil-Díaz, A. 2015. Calidad del agua mediante el análisis fisicoquímico, demanda bioquímica de oxígeno y química de oxígeno en los humedales de Tumulco, Veracruz, México. Tesis. Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Veracruzana. 55p.

De la Lanza-Espino, G., H. Lozano-Montes. 1999. Comparación fisicoquímica de las lagunas de Alvarado y Términos. *Hidrobiológica*, 9 (1): 15-30.

Escobar, J. 2002. La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar. División de Recursos Naturales e Infraestructura (CEPAL). Impreso en Naciones Unidas. 59p.

Espina, S. y C. Vanegas. 2005. Ecofisiología y contaminación, p. 53-78. *In* : A. Vázquez-Botello, J. Rendón-von Osten, G. Bouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnostico y Tendencias, 2da Ed. Univ. Autón. De Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología. 696p.

Espinoza-García, S. 2016. Bioacumulación y biomagnificación de Cd, Hg, Pb, en *Mustelus henlei* (Gill, 1863) de la costa suroccidental de Baja California Sur. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 58p.

Fernández-Ramos, M. C. 2011. Desarrollo y validación de métodos analíticos para la determinación de distintas matrices medioambientales de tensoactivos aniónicos derivados de alcoholes: alcoholes sulfatos y etoxisulfatos. Tesis doctoral. Universidad de Granada, Facultad de Ciencias, Departamento de Química Analítica. 727p.

García, A, 1972. Los climas del Estado de Veracruz (según el sistema de clasificación de Köppen modificado por la autora). Anales del Instituto de Biología Serie Botánica Universidad Nacional Autónoma de México, 41(1): 3-42.

García-Cubas, A. 1981. Moluscos de un sistema lagunar tropical en el sur del Golfo de México. Laguna de Términos, Campeche. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Laboratorio de Malacología. Contribución 924 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.

García-Cubas, A. y M. Reguero, 1989. Moluscos de la laguna de Alvarado, Veracruz: sistemática y ecología. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. Contribución 664 del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM.

Graza, E. y C. García-Hernández. 2003. Establecimiento de Unidades de Gestión Ambiental en el humedal de Alvarado, Veracruz, México: Bases para su Ordenamiento Ecológico y Social. Informe Técnico Semestral, Instituto de Investigaciones Biológicas, Universidad Veracruzana. 45p.

García-Cuellar, J. A., F. Arreguin-Sanchez, S. Hernández-Vázquez y D. B. Llunch-Cota. 2004. Impacto Ecológico de la Industria Petrolera en la Sonda de Campeche, México, tras 3 décadas de actividad: una revisión. *Interciencia*, 29(6): 311-319.

García-Martínez M. J. 2005. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos asociados a combustibles fósiles. Caracterización, análisis y remediación. Tesis. Departamento de Ingeniería Química y Combustibles, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas. Universidad Politécnica de Madrid. 537p.

García-Ruelas, C.E. 2002. Hidrocarburos del petróleo en sedimentos y bivalvos indicadores de la contaminación marina en el Pacífico Subtropical Mexicano. Tesis de Maestría en Ciencias. Facultad de Ciencias, División de Estudios de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. 493p.

Glegg, G. A. and S. J. Rowland. 1996. The Brear oil spill- Hydrocarbons concentration in intertidal organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 32(6): 486-492.

George-Zamora, A., M. L. Sevilla-Hernández y D. Aldama-Aranda. 2003. Ciclo gonádico del ostión americano *Crassostrea virginica* (Lamelli branchia: Ostraide) en Mecoacán, Tabasco, México. *Revista Biológica Tropical*, 51(4):109-177.

Gold-Bouchot, G., M. Zavala-Coral, O. Zapata-Pérez y V. Ceja-Moreno. 1997. Hydrocarbons Concentrations in Oysters (*Crassostrea virginica*) and Recent Sediments from Three Coastal Lagoons in Tabasco, Mexico. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*, 59: 430-437.

Goyenola, G. 2007. Red de monitoreo ambiental participativo de sistemas acuáticos. RED MAPSA. Versión 1.0. Recuperado de:
imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/propuestas/red/curso_2007/cartillas/tematicas/OD.pdf
25/11/2016

Igwe, J. C. and P. O. Ukaogo. 2015. Environmental effects of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Natural Sciences Research*, 5(7): 117-131.

Izquierdo-Romero, A.R. 2013. Biodegradación de HAPs durante la biorremediación aeróbica de suelos contaminados con hidrocarburos del petróleo. Análisis de poblaciones bacterianas y genes funcionales. Tesis doctoral. Programa de doctorado Microbiología Ambiental y Biotecnología, Universitat de Barcelona. 263p.

Jáquez-Mata, S. 2014. Estudio del impacto socio-ambiental causado por el uso de plaguicidas en zonas agrícolas del valle del Guadiana, Durango. Tesis de maestría. Centro interdisciplinario de investigación integral regional unidad Durango. 90p.

Laflamme, R. E. A. and R. Hites. 1978. The global distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments. *Geochemica et Cosmochimica Acta*, 42(3): 289-303.

Lankford, R. R. 1977. Coastal lagoons of Mexico their origin and classification, p. 182-215. *In*: M. Wiley (Ed.), *Estuarine processes. Circulation, sediments and transfer material in the estuary*. 1ª edición. Academic Press. 446 p.

Lodoño-Carbajal, A., G. I. Giraldo-Gómez y A. A. Gutiérrez-Gallego. 2010. Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua. Manizales, Colombia Editorial Blanecolor Ltda.

López-Ortega, M., G. Pulido-Flores, A. Serrano-Solís, J. C. Gaytán-Oyarzún, W. S. Monks Sheets y M. A. López-Jiménez. 2012. Evaluación estacional de las variables fisicoquímicas del agua en la laguna de Tampamachoco, Veracruz, México. *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(3): 713-719.

López-Portillo Guzmán, J. A. 2012. Programa regional para la caracterización y el monitoreo de ecosistemas de manglar del Golfo de México y Caribe Mexicano: inicio de una red multi-institucional. Veracruz. Instituto de Ecología A. C. Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. FN007. México D. F.

Mastandrea, C., C. Chichizola, B. Ludueña, H. Sánchez, H. Álvarez y A. Gutiérrez. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgo para la salud y marcadores biológicos. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 39(1). Recuperado de: scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000100006. 31/01/2016.

Manahan, S.E. 2007. *Introducción a la química ambiental*. México D.F., México: Reverté Ediciones. 709p.

Mejía-Maravilla, E., J. García-Cabrera. 2012. Impacto por Hidrocarburos en el Golfo de México y Mar Caribe. XXII Consejo Nacional de Hidráulica. Acapulco, Guerrero, México.

Mejía-Monterroza, G. E. 2015. Hidrocarburos aromáticos policíclicos en la costa Caribe colombiana y posibles fuentes de contaminación. Tesis de doctorado. Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. 90p.

Méndez-Montaña, B. A. 2012. Evaluación de la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos y moluscos (bivalvos) en el sistema lagunar La Grande-La Chica Veracruz, México. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. 119p.

Gao, M., Y. Wang, J. Dong, F. Li and K. Xie. 2016. Release behavior and formation mechanism of polycyclic aromatic hydrocarbons during coal pyrolysis. *Chemosphere*, 158:1-8.

Moreno-Casasola, P., D. Infante-Mata, I. Espejel, Ó. Jiménez-Oroclo, Ma. L. Martínez, N. Rodríguez-Revelo y R. Monroy. 2014. Veracruz de Ignacio de la llave. Diagnóstico de las

dunas costeras de México. SEMARNAT y CONAFOR. Recuperado de: <http://www1.inecol.edu.mx/costasustentable/esp/pdfs/Publicaciones/Dunas/Veracruz.pdf>. 01/02/2018.

Muñoz-Aldape. 2010. Explorando la laguna de Alvarado. Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Universidad Veracruzana. La Ciencia y el Hombre, 23(1)

Nakata, H., K. Uehara, Y. Goto, M. Fukumura, H. Shimasaki, K. Takikawa and T. Miyawaki. 2014. Polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters and sediments from the Yatsushiro Sea, Japan: Comparison of potential risks among PAHs dioxins and dioxin-like compounds in benthic organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 99: 61-68.

Noreña-Barroso, E., G. Gold-Bouchot, O. Zapata-Pérez and J. L. Sericano. 1999. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in American Oyster *Crassostrea virginica* from the Terminos Lagoon, Campeche, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, 38(8): 637-645.

Neff, J. M. 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment, sources, fates, and biological effects. Applied Science, London, Great Britain. 262 p.

Neff, J. M. 1982. Accumulation and release of polycyclic aromatic hydrocarbons from water, food and sediment by marine animals. *In*: N. L. Richards, B. L. Jackson (Eds.), symposium: Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Marine Environment, Rep. 600/9-82-103, U. S. Environmental Protection Agency, Washington, D. C.

Oliva, A. L. 2015. Acumulación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) en sedimentos y mejillones (*Brachidontes rodriguezii*) del Estuario de Bahía Blanca. Tesis de doctorado en biología. Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur Bahía Blanca, Argentina. 124p.

Orozco-Barajas, L., L.A. Ayala-Pérez y M.E. Morales-McDevitt. 2014. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) y peces del sistema Pom-Atasta, Campeche, México. p. 363-382. *In*: A. Vázquez-Botello, J. Rendón-von Osten, J. A. Benítez y G. Gold-Bouchot (eds). Golfo de México. Contaminación a impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. UAC, UNAM-ICMyL, CINVESTAV-Unidad Mérida. 1176 p.

Ortíz-Brito, O., I. Ize-Lema y A. Gavilán-García. 2007. La restauración de suelos contaminados con hidrocarburos en México. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT.

Ortiz-Salinas, R., S. Cram e I. Sommer. 2012. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 28(2): 131-144.

Palmerin-Ruiz, C. 2011. Evaluación de plaguicidas organoclorados en laguna de Alvarado, Veracruz, México. Tesis de maestría. Posgrado en ciencias del mar y limnología. Universidad Nacional Autónoma de México. 98p.

Pelusco, M.L. 2011. Evaluación de efectos biológicos y biodisponibilidad de contaminantes en sedimentos del Río de la Plata y afluentes. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas. Departamento de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de la Plata. 178p.

Pérez-Morales, L. G., P. Morales-Gómez y A. I. Hasa-Duaso. 2016. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (I). Toxicidad exposición de la población y alimentos implicados. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(1): 1-15.

Portilla-Ochoa, E. 2003. Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar. Instituto de Investigaciones Biológicas. Universidad Veracruzana. Recuperado de: ramsar.conanp.gob.mx/docs/sitios/FIR_RAMSAR/Veracruz/Sistema_Lagunar_Alvara. 30/08/2015.

Ponce-Vélez, M. G. 2012. Los contaminantes orgánicos persistentes en la laguna el Yucateco, Tabasco, México: una década de estudio. Tesis de doctorado. Programa de Posgrado de Ciencias de la Tierra, Universidad Nacional Autónoma de México. 228 p.

Ponce-Veléz, G. y A. Vázquez-Botello. 2005. Niveles de hidrocarburos en el Golfo de México, p. 269-298. *In*: A. Vázquez-Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnostico y Tendencias*, 2da Ed. Univ. Autón. de Campeche, Univ. Nal. Auto. de México, Instituto Nacional de Ecología. 696p.

Ponce-Vélez, G., A. Vázquez-Botello and G. Díaz González. 2006. Organic and inorganic pollutants in marine sediments from northern and southern continental shelf of the Gulf of Mexico, *International Journal of Environment and Pollution*, 26(1): 295-311.

Raz-Guzmán, A., A. J. Sánchez y L. A. Soto. 1992. Catálogo Ilustrado de Cangrejos Braquiuros y Anomuros (Crustacea) de la laguna de Alvarado, Veracruz, México. Cuadernos del Instituto de Biología, Univ. Nac. Aut. México. 51p.

Ramdine, G., D. Fichet, M. Louis y S. Lemoine. 2012. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in surface sediment and oyster (*Crassostrea rhizophorae*) from mangrove of Guadalupe: Levels, bioavailability, and effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 79: 80-89.

Ronco, A., M.C. Díaz-Baéz y Y. Pica-Granados. 2004. Conceptos Generales, p. 17-22. *In*: G. Castillo-Morales (Ed.) Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. 179p.

Romero-Cárdenas, D., H. Sarmiento-Vela y J. E. Pachón. 2013. Estimación de hidrocarburos aromáticos policíclicos y metales pesados asociados con la quema de caña de azúcar en el valle geográfico del río Cauca, Colombia

Rubio-Armendáriz, C., R. Álvarez y A. Hardison-de la Torre. 2006. Hidrocarburos Aromáticos Policíclico (HAPs) en productos de la pesca: revisión. *Revista de Toxicología*, 23(1): 1-6. *Revista Épsilon* (21):57-82.

Rudolph, A., C. Franco, J. Becerra, A. Barros y R. Ahumada. 2002. Evaluación de materia orgánica e hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos superficiales, Bahía Concepción-Chile. *Bol. Soc. Chil. Quím*, 47(4). Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0366-16442002000400012>. 09/09/2016.

Ruiz-Fernández, A.C., M. Manaán, J.A. Sánchez-Cabeza, L.H. Pérez-Bernal, P. López-Mendoza y A. Limoges. 2014. Cronología de los sedimentos recientes y caracterización

geoquímica de los sedimentos de la laguna de Alvarado, Veracruz (suroeste del Golfo de México). *Ciencias Marinas*, 40(4): 291-303.

Salazar-Coria, L. 2008. Evaluación de toxicidad de hidrocarburos poliaromáticos en un sistema acuático y su aplicación en la ponderación de evidencias. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. 158 p.

Soclo, H. H., P. H. Garrigues and M. Ewald. 2000. Origin of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in coastal marine sediments: Case studies in Cotonou (Benen) and Aquitaine (France) areas. *Marine Pollution Bulletin*, 40(5): 387-396.

Soriano-Sanz, J. A. 2009. Evaluación y seguimiento del contenido de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (PAHs) en mejillón silvestre de la costa de Galicia y Cantábrico, Antes y después del vertido B/T Prestige. Tesis doctoral. Universidad de Coruña, Departamento de Química Analítica. 321 p.

Trisciani, A., G. Perra, T. Caruso, S. Focardi e I. Corsi. 2012. Phase I and II biotransformation enzymes and polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) collected in front of an oil refinery. *Marine Environmental Research*, 79: 29-36.

Unión Europea. 2011. Reglamento (UE) n° 835/2011 de la Comisión, que modifica el reglamento (CE) n° 1881/2006 por el contenido máximo de hidrocarburos aromáticos policíclicos en los productos alimenticios. Diario Oficial de Unión Europea.

UNEP/IAEA/FAO/IOC, 1993. Guidelines for monitoring chemical contaminants in the sea using marine organisms. Reference method No.6 United Nations Experts Pollution (UNEP).

Vázquez-Botello, A. 1978. Niveles actuales de hidrocarburos fósiles en ecosistemas estuarinos del Golfo de México. *Revista de Biología Tropical*, 26(1): 133-151.

Vázquez-Botello, A. 1996. Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo, p. 203-210. *In*: A. Vázquez-Botello, J.L. Rojas-Galaviz, J.A. Benítez y D. Zaráte-

Lomelí (Eds.). Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnostico y Tendencias. *EPOMEX* Serie Científica 5. Universidad Autónoma de Campeche, México. 666p.

Vázquez-Botello, A. 2005. Características, composición y propiedades fisicoquímicas del petróleo, p. 261-268. *In:* A. Vázquez-Botello, J. Rendón-von Osten, G. Gold-Bouchot y C. Agraz-Hernández (Eds.). Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnostico y Tendencias, 2da Ed. Univ. Autón. de Campeche, Univ. Nal. Autón. de México, Instituto Nacional de Ecología, 696p.

Vázquez-Botello, A., G.G. Rueda-Quintana y A. Toledo. 2000. Persistent Organochlorine pesticides (POPs) in Coastal Lagoons of the Subtropical Mexican Pacific. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 64: 390-397.

Vázquez-Botello, A., G. Ponce-Vélez, A. Toledo, S. Díaz y S. Villanueva. 1992. Ecología, recursos costeros y contaminación en el Golfo de México. *Ciencia y Desarrollo*, 17: 28-48.

Vázquez-Botello, A., G., Ponce-Vélez, G., Díaz-González. 1993. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) en áreas costeras del Golfo de México. *Marine Pollution Bulletin*, 45(2): 234-245.

Vázquez-Botello, A., L. A. Soto, G. Ponce-Vélez y S. Villanueva F. 2015. Baseline for PAHs and metals in NW Gulf of Mexico related to the Deepwater Horizon oil spill. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 156:124-133.

Vázquez-Botello, A., S. Villanueva, G. Díaz e Y. Pica. 1995. Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos y organismos del puerto de Salina Cruz, Oaxaca, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 11(1): 21-30.

Vázquez-Botello, A. y O. F. Páez. 1986. El problema Crucial: La Contaminación. Serie Medio Ambiente en Coatzacoalcos. Centro de Ecodesarrollo. México. 180p.

Vázquez-Gómez, G., J. Rubio-Lightbourn y J. J. Espinosa-Aguirre. 2016. Mecanismo de acción del receptor de hidrocarburos de arilo en el metabolismo del Benzo(a)Pireno y el

desarrollo de tumores. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 19(1): 54-67.

Vega-Bolaños, L., R. Castelo-Baez, J.A. Arias-Verdes y R. Sersa-Espinosa. 2012. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en mejillón verde (*Perna viridis*) de la Bahía de Cienfuegos. Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras, 29(1): 49-53.

Vera-Manrique, D. A. y D. Aldama-Aranda, 2000. Crecimiento y sobrevivencia del ostión *Crassostrea virginica* en una granja camaronícola en Yucatán, México. Revista Biologica Tropical, 48(1): 1-17.

Vives, Í. J., O. Grimalt y R. Guitart. 2001. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos y la salud humana. Apuntes de Ciencia y Tecnología (AACTE), (3): 45-51.

Viñas, L., M. A. Franco, J. A. Soriano, J. J. González, L. Ortiz, J. M. Bayona and J. Albaiges, 2009. Accumulation trends of petroleum hydrocarbons in commercial shellfish from the Galician coast (NW Spain) affected by the Prestige oil spill. Chemosphere. 75: 534-541.

Wakida Kusunoki, A. T., Jr. Mackenzie and L. Clyde. 2004. Rangia and Marsh Clams, *Rangia cuneate*, *Rangia flexuosa* y *Polymesoda caroliniana*, in Eastern Mexico: Distribution, Biology, Ecology and Historical Fisheries. Retrieved from: www.researchgate.net/publication/259453094_Rangia_and_Marsh_Clams_Rang. 20/08/2017.

Wilcke, W. 2007. Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. Geoderma. 141: 157-166.

Yarto, M., A. Gavilán y J. Barrera. 2003. El convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México. Gaceta Ecológica. Consultado en: <http://www.redalyc.org/comocitar.ou?id=53906901>. 01/12/2017.

Yunker, M.B., R. W. Macdonald, R. Vingarzan, R. H. Mitchell, D. Goyette and S. Sylvestre. 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. Organic Geochemistry, 33: 489-515.

Youngblood, W. W. and M. Blumer. 1975. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment: homologous series in soils and recent marine sediments. *Geochemica et Cosmochimica Acta*, 39(9): 1303-1314.

Zaghden, H., M. Tedetti, S. Sayadi, M. Moncef Serbaji, B. Elleuch and A. Saliot. 2017. Origin and distribution of hydrocarbons and organic matter in the surficial sediments of the Sfax-Kerkenneh channel (Tunisia, Southern Mediterranean Sea). *Marine Pollution Bulletin*, 117: 414-428.

Zambrano, M., J. Prada, G. Arancibia y A. Vidal. 2012. Bioacumulación de naftaleno y fluoranteno en el molusco bivalvo *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833). *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.*, 15(2): 283-290.

Zambrano-Ortiz, M. M. 2015. Evaluación de *Anadara similis* y *Anadara tuberculosa* como especies biomonitoras de contaminación por hidrocarburos en el Pacífico Colombiano. Tesis doctoral. Ciencias biológicas, Universidad de la Habana Centro de Investigaciones Marinas. 172 p.

PAGINAS WEB

www.gbcbiotech.com/genomicaypesca/documentos/industria/SAGARPA%20Diagnostico%20y%20planificacion%20regional%20de%20la%20pesca%20y%20acuacultura%20en%20Mexico,%20region%20III.pdf. 09/08/2015

www.fao.org/docrep/010/ah833s/ah833s15.htm. 06/11/2015

www.conabio.gob.mx/conocimiento/manglares/doctos/caracterizacion/GM53_Sistem. 12/07/2016

www.comepesca.com/portfolio-item/almeja-gallito/. 15/07/2016

www.greenfacts.org/es/glosario/abc/clasificacion-iarc.htm. 09/09/2016

www.fao.org/input/download/standards/11257/CXP_068s.pdf. 30/01/2018

<http://www.veracruz.gob.mx/wp-content/uploads/sites/2/2015/05/Alvarado.pdf>. 01/02/2018

13. ANEXOS

13.1 Anexo 1

Parámetros de calidad del método analítico.

Los métodos analíticos que se aplican para producir datos de composición química deben ser apropiados y utilizar técnicas analíticas exactas, para esto se deben tener en cuenta algunos criterios como: dar preferencia a métodos cuya calidad y confianza se haya establecido en estudios colaborativos o similares en diversos laboratorios, y preferir aquellos métodos que estén bien documentados o adoptados por organizaciones internacionales.

Los métodos analíticos deben ser validados cada que las condiciones para las que el método fue validado cambien, como los reactivos o equipo, antes de realizar un análisis rutinario y cuando se realizan cambios en el método original.

Entre los atributos a considerar en la calidad de un método están las características de precisión, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, recuperación y robustez.

Precisión.

Es el término que se utiliza para describir qué tan semejantes son los resultados de una serie de análisis realizados exactamente de la misma manera. El cálculo de la precisión debe estar acompañado de la experimentación desarrollada, es decir, el operador, los instrumentos, aparatos, reactivos, estándares y hora de análisis han sido los mismos o distintos. Mientras más diferencia haya en las condiciones experimentales, mayores serán las causas de variabilidad, la dispersión del conjunto de resultados será mayor y por lo tanto menor la precisión. Para una buena evaluación de la precisión debe tenerse en cuenta los conceptos de repetibilidad y reproducibilidad (Soriano-Sanz, 2009)

Según la OMS la repetibilidad es la capacidad de obtener valores de concentración precisos cuando se repite la determinación del analito en la muestra con el mismo método analítico, con los mismos reactivos, instrumentos, persona, día y laboratorio; mientras que la reproducibilidad es la capacidad de obtener valores de concentración precisos cuando se

repite la determinación del analito en la muestra con el mismo método analítico, pero con distintos reactivos, instrumentos, persona, día y laboratorio.

Para evaluar la precisión de un método analítico se estudia la fluctuación de la señal analítica correspondiente a una serie de disoluciones con distintas concentraciones. El valor de la precisión será estimada por el valor de la desviación estándar relativa (*DER*) de la señal emitida (Fernández-Ramos, 2011). Se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$DER = \left(\frac{s}{y} \right) \times 100$$

Donde:

S = desviación estándar de la señal analítica

y = la señal analítica medida

Exactitud.

Grado de concordancia entre el valor de la concentración de la sustancia problema, que se ha determinado en una técnica analítica, y el valor real de esa concentración. Se considera como valor real de concentración de un analito en una muestra, al valor medio de los obtenidos con esa técnica en varios laboratorios de acreditada calidad o al que se repite veinte veces tras un análisis reiterado con una técnica de referencia (una técnica de referencia es aquella que ha sido elegida por consenso de un grupo de personas especializadas, debido a su demostrada exactitud).

Se conoce como sesgo o error sistemático a la existencia de una inexactitud constante. La exactitud se puede calcular mediante la siguiente formula:

$$E\% = [V - (V_R/V_R)] \times 100$$

E% = Exactitud expresada en forma de porcentaje

V= valor de concentración obtenido en la determinación

V_R= valor real de concentración

Límite de detección y límite de cuantificación.

El límite de detección de un método analítico se define como la menor concentración (C_L) o cantidad del compuesto (q) que puede ser detectada a un nivel de confianza determinado. Se debe considerar la desviación estándar de los residuales $S_{y/x}$, la pendiente b y estimar S_0 por extrapolación de la desviación estándar del blanco (Fernández-Ramos, 2011)

$$S_0 = \sqrt{(S_{y/x}/b) \cdot ((n-2)/(n-1))}$$

n = número total de valores utilizados en la regresión lineal.

La desviación estándar de la regresión lineal se calcula:

$$S_{y/x} = \sqrt{\left(\frac{1}{n-2} \sum (y_i - \hat{y}_i)^2\right)}$$

y_i = la señal analítica experimental obtenida para cada valor de concentración

\hat{y}_i = valor de la señal calculada en la recta de regresión correspondiente a la concentración.

n = número total de pares de puntos usados para el cálculo de la recta calibrada

Con esos datos se calculan los límites de detección y de cuantificación aplicados a la siguiente ecuación:

$$LD = 3 \times S_0$$

$$LQ = 10 \times S_0$$

Linealidad. Es la capacidad del método analítico para obtener resultados directamente proporcionales a la concentración del analito en un rango definido. Se obtiene mediante el tratamiento matemático de los resultados obtenidos en el análisis del compuesto a diferentes concentraciones (Lodoño-Carbajal *et al.*, 2010).

Recuperación. Evalúa la capacidad de método de determinar todo el analito presente en la muestra, según el alcance del método, y la mejor manera para determinar la eficiencia de extracción del método es adicionar diferentes concentraciones del compuesto a las muestras y procesarlas. Aunque la más común no resulta ser la óptima, ya que el analito puede no enlazarse tan fuerte a la matriz como el compuesto presente de manera natural. La manera

más adecuada es emplear un material de referencia de la matriz analizada (Lodoño-Carbajal *et al.*, 2010)

Robustez. Es la insensibilidad frente a pequeñas variaciones de las condiciones experimentales de trabajo, como: reactivos, analista, equipos.

El principal objetivo del estudio de la validación de un método analítico es corroborar que los datos que se obtienen al realizar un análisis sean lo más exactos posibles, en el caso de realizar estudios de monitoreo ambiental en el que esté involucrado el análisis de compuestos que son considerados peligrosos para los ecosistemas y para el mismo ser humano, la veracidad de los resultados obtenidos será la que permita tomar decisiones acertadas y no subestimar o sobreestimar el problema a trata.

13.2 Anexo 2.

En el presente estudio como parámetros de calidad analítica se analizaron blancos de reactivos, material de referencia biológico (de la IAEA-417) y curvas de calibración. En la tabla 7 se presentan los parámetros de control de calidad obtenidos.

Tabla 6. Principales parámetros de control de calidad.

Compuesto	LMD (µg/g)	LDC (µg/g)	CV (%)	Curva de calibración (<i>r</i> , <i>p</i> <0.05)	IAEA-417 promedio	IAEA-417 Desviación estándar	Laboratorio contaminación marina	Laboratorio contaminación marina desviación estándar	Recuperación
Naf	0.01	0.02	4	0.9932	0.150	0.110	0.123	0.090	82
Ace	0.01	0.02	11	0.9926	0.042	0.035	0.041	0.028	97
Acen	0.01	0.02	7	0.9927	0.180	0.062	0.176	0.059	98
Fl	0.01	0.02	9	0.9926	0.230	0.110	0.223	0.120	97
Fen	0.01	0.02	18	0.9886	3.900	1.500	3.900	1.300	100
Ant	0.01	0.01	11	0.9886	0.630	0.240	0.630	0.220	100
Flu	0.01	0.01	14	0.9917	7.700	3.000	7.700	2.900	100
Pir	0.01	0.01	8	0.9903	6.000	2.200	6.000	2.000	100
B(a)A	0.01	0.02	14	0.9810	3.200	1.200	3.200	1.100	100
Cri	0.01	0.02	17	0.9878	3.600	1.700	3.600	1.500	0
B(b)F	0.01	0.01	14	0.9859	4.100	2.000	4.020	1.800	98
B(k)F	0.01	0.01	15	0.9854	2.000	0.300	1.940	0.250	97
B(a)P	0.01	0.02	16	0.9854	2.800	1.200	2.800	0.900	100
IP	0.01	0.02	17	0.9895	2.700	0.370	2.727	0.450	101
D(ah)A	0.01	0.02	16	0.9890	1.100	1.100	1.089	0.890	99
B(ghi)P	0.01	0.02	16	0.9895	2.300	1.300	2.346	1.600	102

13.3 Anexo 3.

CROMATOGRAMAS.

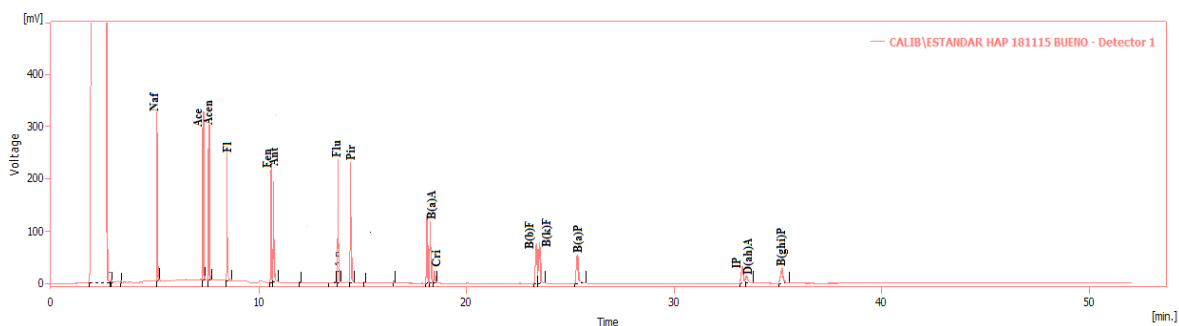


Figura 16. Cromatograma del estándar empleado para la calibración del equipo.

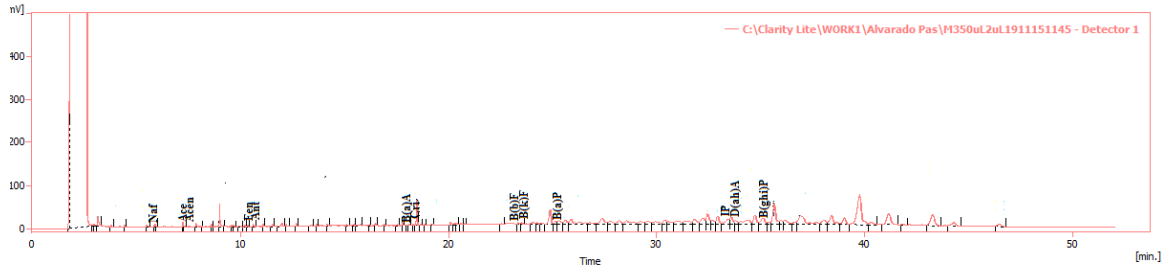


Figura 17. Cromatograma de las almejas de la estación Barra vieja.

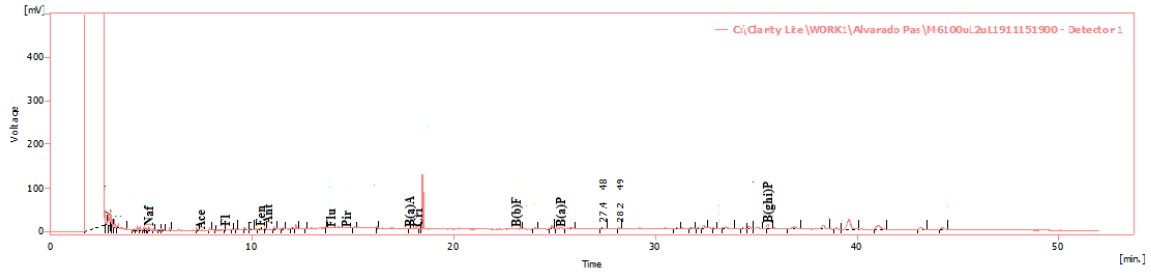


Figura 18. Cromatograma de los ostiones de la estación Boca