

Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en el fitobentos del Sistema Lagunar de Chelem, Yucatán, México.

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on the phytobenthos in Chelem Lagoon System, Yucatan, Mexico.

Mariana Álvarez^{1a}; Michelle Rubalcava^{1b}; Gerardo Cosgaya^{1c}; Griselle De la Cruz^{1d}; Diego Eguía Lis^{1e}; José Manuel Pérez^{1f}; Víctor Cobos^{1g}; Jaime Rendón²; Ileana Ortigón-Aznar^{1h}

¹Universidad Autónoma de Yucatán, Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Km15.5 carr. Mérida-Xmatkuil. A.P. 4-116. Cp 97000. Mérida, Yucatán, México. ^aalrocha98@gmail.com; ^bmichalerum@hotmail.com; ^cgerardoacs@hotmail.com; ^dgriselle_97@hotmail.com; ^ediego.eguaia.lis@live.com; ^fjosemanuelpf23@gmail.com; ^gcgasca@correo.uady.mx; ^hoaznar@correo.uady.mx.

² Laboratorio de COPs, EPOMEX. Universidad Autónoma de Campeche, México. jarendon@uacam.mx

Fecha de recepción: 1 de octubre de 2018 Fecha de aceptación: 19 de diciembre de 2018

RESUMEN. La contaminación de cuerpos de agua por derivados del petróleo ha sido alarmante en los últimos años, y los hidrocarburos son de las formas más comunes de contaminación en los sistemas acuíferos. Las comunidades vegetales han sido consideradas como bioindicadores de contaminantes, por lo que se determinó la presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP's) en el fitobentos del sistema lagunar de Chelem, por ser un sistema impactado. Se seleccionaron especímenes de *Halodule wrightii* Ascherson y *Batophora oerstedii* J. Agardh, con 4 repeticiones. Las muestras se enjuagaron eliminando organismos epifitos y se secaron durante 48 horas a 45 °C, posteriormente los hidrocarburos fueron extraídos mediante horno de microondas y purificados en una columna de alúmina eluida con Hexano (H), Diclorometano (DCM) y mezcla de H:DCM 1:1. La determinación de HAP's se realizó mediante GC-FID empleando para su identificación y cuantificación de un estándar certificado con los 16 HAP's prioritarios de la US_EPA. Los resultados mostraron como compuestos más comunes el Fluoranteno, Indeno [1, 2, 3-cd] pireno y el Criseno. *H. wrightii* es el que presentó mayor abundancia y altas concentraciones de HAP's de 4 anillos mientras que en *B. oerstedii* predominó de 3 y 5 anillos. Es de importancia determinar el tipo de HAP's y la cantidad que absorbe el fitobentos ya que son la base de la red trófica, y podrían afectar a la biota presente en el sistema lagunar de Chelem; a la vez estas especies podrían usarse como bioindicadores de contaminación en cuerpos de agua.

Palabras Clave: HAP's, Fitobentos, Bioindicador, *Halodule wrightii*, *Batophora oerstedii*.

ABSTRACT. The contamination of bodies of water by oil derivatives has been alarming in recent years, and hydrocarbons are the most common forms of pollution in aquifer systems. Plant communities have been considered as biomonitors of pollutants, so the presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) was determined in the phytobenthos of the Chelem's lagoon system, as it is an impacted system. Specimens of *Halodule wrightii* Ascherson and *Batophora oerstedii* J. Agardh were selected, with 4 replications. The samples were rinsed to eliminate epiphytic organisms, and dried for 48 hours at 45 °C, and then the

hydrocarbons were extracted by microwave oven and purified on an alumina column eluted with Hexane (H), Dichloromethane (DCM) and H: DCM mixture 1:1. The determination of PAHs was carried out using GC-FID, which was used to identify and quantify a certified standard with the 16 priority HAPs of the US_EPA. The results showed Fluoranthene, Indene [1, 2, 3-cd] pyrene and Chrysene as the most common compounds. *H. wrightii* is the one with the highest abundance and high concentrations of 4-ring PAHs, while in *B. oerstedii* it predominated with 3 and 5 rings. It is important to determine the type of PAHs and the amount absorbed by the phytobentos since they are the basis of the trophic network, and could affect the biota present in the Chelem's lagoon system; at the same time, these species could be used as bioindicators of pollution in bodies of water.

Key words: PAHs, Phytobentos, Bioindicator, *Halodule wrightii*, *Batophora oerstedii*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de cuerpos de agua por derivados del petróleo ha sido alarmante en los últimos años pues los accidentes de derrame de petróleo y el uso indiscriminado de combustibles fósiles han contaminado y afectado múltiples sistemas acuíferos. Los hidrocarburos son la forma más común de contaminación por derivados del petróleo, los cuales se dividen en disueltos o dispersos. Dentro de los disueltos tenemos las parafinas ligeras y los Hidrocarburos Aromáticos (bencenos, naftalenos o policíclicos), mientras que en los dispersos encontramos compuestos más visibles como las agrupaciones coloidales, breas y alquitranes (Sueli *et al.*, 2005).

Los HAP's son emitidos a la atmósfera por diversas actividades antropogénicas y pueden estar presentes en fases gaseosas o asociados a partículas; su dispersión es favorecida por las corrientes de aire, esto permite que las partículas puedan recorrer distancias muy largas, por lo que se ha detectado en agua y sitios alejados de la fuente que los generó (Agarwal, 2009).

El peso molecular de los HAP's juega un papel importante en cuanto a su dispersión y evidentemente a su complejidad. En los HAP's de bajo peso molecular (de dos a tres anillos aromáticos), las propiedades tanto físicas como químicas hacen de ellos candidatos ideales para su dispersión a través de la atmósfera (Daly *et al.*, 2007). Los HAP's de mayor peso molecular (de cuatro a siete anillos aromáticos), tienden a ser más afines a las partículas como las cenizas y a la materia orgánica de los suelos, debido a esto es que son más persistentes al ambiente en el cual se encuentren (Ortiz-Salinas, Cram y Sommer, 2012). Es decir, a mayor

peso molecular es mayor el número de anillos aromáticos y a su vez es mayor su persistencia en el medio, así como su toxicidad para el ser humano.

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos son compuestos orgánicos, formados por la fusión de dos o más anillos de benceno y en algunos casos un anillo pentagonal (Katiyar *et al.*, 1993 citado en Pérez-Morales, Morales y Haza, 2016). Los HAP's debido a su capacidad hidrofóbica se acumulan fácilmente en el sedimento (Sueli *et al.*, 2005), por lo que se convierten en fuentes de contaminación. Estos son considerados carcinogénicos y mutagénicos, tóxicos para los organismos acuáticos (Malins y McCan, 1984 citado en Díaz-González, Vázquez-Botello y Ponce-Vélez, 1994).

Las algas han sido consideradas como biomonitores de contaminantes, sobre todo las macroalgas (Calva y Alvarado, 2008). Especies de macroalgas como *Ulva lactuca* Linnaeus y *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) Nees, han demostrado ser buenos bioindicadores de metales pesados (Páez-Osuna *et al.*, 2000), lo que da un preámbulo sobre la asimilación de contaminantes a su metabolismo.

De los primeros precedentes de hidrocarburos en macroalgas el estudio de Binark *et al.* (2000) determinaron que de 14 HAP's presentes en la superficie de las algas *Ulva lactuca* (Linnaeus), *Enteromorpha linza* Linnaeus, *Cystoseira barbata* (Stackhouse) C.Agardh y *Ceramium rubrum* C.Agardh, ocho HAP's fueron absorbidos por estas. Por otra parte, en algas de los géneros *Ulva* Linnaeus, *Gracilaria* Greville, *Porphyra* C.Agardh, *Grateloupia* C.Agardh, *Undaria* Suringar, *Fucus* Linnaeus y *Cystoseira* C.Agardh se encontraron bajos niveles de HAP's, la mayoría de estos abajo de 0.05µg/g (Pavonii *et al.*, 2003).

En una comparación de HAP's entre algas rojas, algas verdes y pastos marinos en un estudio llevado a cabo por Calva y Alvarado (2008) en la Laguna de Sontecomapan, Veracruz, se observaron que las mayores concentraciones de HAP's fueron encontradas en pastos marinos, seguido de las algas verdes y algas rojas sucesivamente. El HAP más abundante fue el Indeno (14.5 µg/g) únicamente encontrado en las muestras de pastos marinos, de ahí, el Benzo (k) fluoranteno fue hallado en mayor cantidad en los pastos marinos, algas verdes y algas rojas sucesivamente (7.8 µg/g; 3.1 µg/g; y 1.8 µg/g respectivamente).

La laguna de Chelem presenta contaminación por hidrocarburos. Estudios realizados por Sueli *et al.*, (2005), quienes muestrearon sedimentos en tres diferentes temporadas lluvias, secas y nortes, encontraron mayores niveles de concentración de HAP's durante la época de lluvias, de los cuales: el Benzo (e) pireno fue el más abundante (62.5 µg/g). En contraparte la época de secas el HAP's más abundante fue el fluoranteno (6 µg/g) y en época de nortes el Benzo e pireno (3.7 µg/g).

Es de suma importancia la determinación y cuantificación de los hidrocarburos en pastos y macroalgas pues es sabido que son la base de la cadena en la red trófica. Por lo que una detección de la presencia de estas sustancias en el ecosistema podría indicarnos el grado de afectación de la biota presente en la laguna de Chelem. Asimismo, dicha información podría servir para un proponer a estas especies como biomonitores de contaminación en cuerpos acuáticos.

Por tales motivos, el presente tuvo como objetivo determinar tanto la composición como la concentración de los distintos tipos de HAP's en dos especies del fitobentos, el pasto marino *Halodule wrightii* Ascherson y la macroalga verde *Batophora oerstedii* J.Agardh presentes en el sistema Lagunar de Chelem, Yucatán, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

La laguna de Chelem, se encuentra ubicada al Norte de la península de Yucatán, 21°16'00" N y 89°45'00"O con un área 12 km². Esta se caracteriza por ser una laguna de tipo marino-hiperhalina, a excepción de una zona conocida como pista de canotaje, donde es oligohalina (Herrera-Silveira, 2006).

Las estaciones de muestreo se establecieron con base a los sitios con más impacto antropogénico (**Fig.1**), como el muelle de Chelem y puertos de abrigo, poseyendo a su vez manchones de praderas cercanos, seleccionados con el apoyo de una imagen satelital.

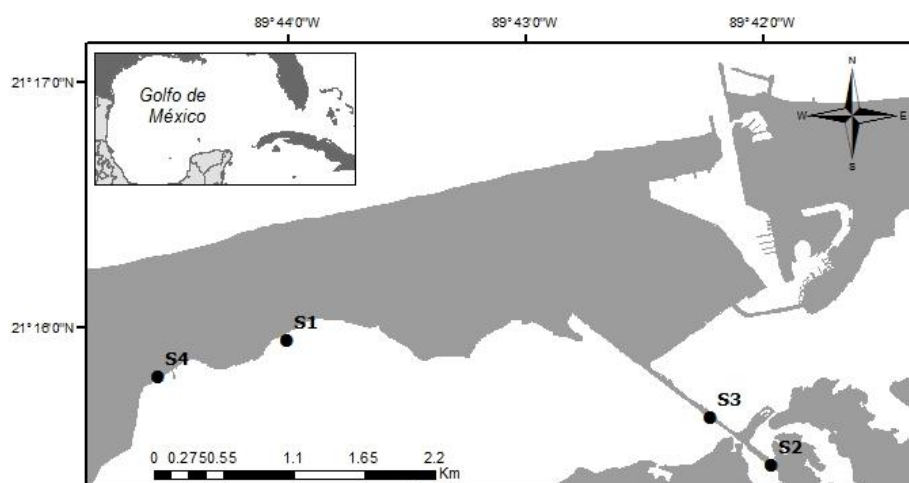


Figura 1. Mapa-esquema de ubicación de los puntos de muestreo: Sitio 1 (S1), Sitio 2 (S2), Sitio 3 (S3) y Sitio 4 (S4).

La colecta se realizó de manera manual y directa, donde se observó las especies de pastos y de macroalgas más frecuentes en la zona de estudio. De esta manera se seleccionó al pasto *Halodule wrightii* y la macroalga *Batophora oerstedii*. Para la colecta se tomó un espécimen de cada especie marcadas como muestra 1 y 2 (respectivamente), con 4 repeticiones y muestreando en cuatro sitios. Las muestras se guardaron en papel aluminio y a su vez en bolsas de plástico etiquetadas, para ser transportados con hielo al laboratorio. Una vez ahí se enjuagaron con agua destilada y se eliminó organismos epifitos, seguido se secaron en una estufa durante 48 horas a 45°C. Las muestras una vez secas se molieron y se transportaron al laboratorio de Ecotoxicología de Campeche (EPOMEX) para el análisis de los HAP's.

Para la determinación de HAP's se agregó 10 ml de Hexano: Dicloro 1:1 a cada una de las muestras en tubos de ensayo, a excepción de la muestra 4P que se le agregó 15 ml por tener más volumen que el resto; posteriormente se zonificaron, extrayendo la solución a la final de este proceso; el cual se repitió dos veces. Se dejó volatilizar la muestra para ser purificadas en una columna armada con lana de vidrio, 5 cm de alúmina y 1 cm de Sulfato de Sodio; la columna se acondicionó con 3ml de Acetona, Diclorometano y Hexano. Las muestras se corrieron con 7 ml de Hexano, Diclorometano y mezcla de Hexano: Dicloro 1:1 en la columna, para después dejar que se volatiliza en vasos de precipitado.

Las muestras se reconstituyeron con Hexano y se inyectó 1 µl de cada una en el cromatógrafo, de manera manual.

La concentración se determinó por la fórmula:

Concentración= (área muestra/área estándar) x concentración estándar x (volumen inyectado/peso de la muestra)

Los datos estándares de cada hidrocarburo fueron proporcionados por el laboratorio de EPOMEX Campeche.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En total se encontraron nueve HAP's en la Laguna de Chelem: Fenantreno, Fluoranteno, Criseno, Pireno, Benzo [k] fluoranteno, Benzo (a) antraceno, Indeno [1, 2,3-cd] pireno, Benzo (a) pireno, Benzo [ghi] perileno, sin embargo solo en 8 se pudo determinar la concentración. El Fluoranteno, Indeno [1, 2,3-cd] pireno y el Criseno, fueron los HAP's más frecuentes entre sitios (**Fig. 2**). Las concentraciones de HAP's fueron en promedio bastante bajas, a excepción del Benzo (k) fluoranteno y el Criseno, los cuales se presentaron en el pasto *H. wrightii* con una concentración de 5.67µg/g y 4.08µg/g respectivamente, los cuales rebasan el criterio de National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) de 4 µg/g para evitar daños en el sedimento (Buchman, 2008).

Cabe mencionar que los pastos absorben los HAP's directamente del sedimento mientras que las algas las absorben del medio acuático, por lo que la concentración observada en el pasto corresponde a la absorbida del sedimento, por lo que se considera que posiblemente los sedimentos puedan tener una concentración igual o mayor que las muestras. En el estudio de Sueli *et al.*, (2005) en la laguna de Chelem, detectaron de igual manera, que algunas concentraciones de HAP's se encuentran en sedimentos por arriba de 4 µg/g por lo que es necesario tomar acciones para minimizar este impacto.

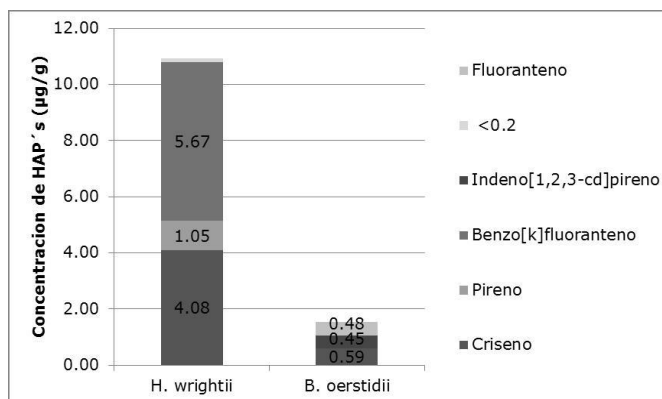


Figura 2. Concentración de HAP'S total en el alga *B. oerstedii* y en el pasto *H. wrightii*. <0.2: Indeno [1,2,3-cd], Fenantreno, Benzo (a) antraceno, Benzo [ghi] perileno.

Componentes como el fluoranteno pueden permanecer en el sedimento a lo largo de décadas (Irwin et al., 1997 citado en Sueli et al., 2005) sin embargo por su peso molecular se encuentra más comúnmente en la columna del agua, por lo que macroalgas como *B. oerstedii* absorben más frecuentemente este compuesto que pastos marinos como *H. wrightii*. Según estudios frecuentes el fluoranteno al estar presente tanto en la columna de agua, sedimento, y alimento base de muchas especies, representa una gran amenaza a los ecosistemas marinos, pues se ha detectado su bioacumulación en moluscos y efectos nocivos en el desarrollo de larvas marinas (Paul-Pont et al., 2016; Finch y Stubblefield, 2016). Por otro parte, el Benzo (k) fluoranteno y el Criseno son clasificados con potencial cancerígeno alto (Yu, Tsunoda y Tsunoda, 2012), los cuales al presentarse en las concentraciones consideradas ya dañinas por la NOAA (4 µg/g) (Buchman, 2008), como en los presentes resultados, podría desarrollar esta enfermedad en los organismos consumidores de estas especies.

El pasto *H. wrightii* es el que presentó mayor cantidad y concentración de HAP's (Fig 2), teniendo un promedio de 1.21µg/g mientras que el alga *B. oerstedii* obtuvo concentraciones menores (~0.14 µg/g) y 3 HAP's, esto fue similar a lo hallado por Calva y Torres (2008), quienes analizaron hidrocarburos fósiles en macroalgas y pasto marino, encontrando en el pasto (*Ruppia marítima* L.) en promedio, las más altas concentración de hidrocarburos.

Comparando los niveles de concentración entre *H. wrightii* y *B. oerstedii* de HAP's por peso molecular, se observa que en ambas predominan los hidrocarburos con mayor peso molecular, de 4 anillos (Criseno, Pireno, Benzo [k] fluoranteno, Benzo (a) antraceno) y 5 anillos (Indeno

[1, 2,3-cd] pireno, Benzo (a) pireno, Benzo [ghi] perileno) (**Fig. 3**). Sueli *et al.*, (2005) de igual manera, determinó que en la concentración total de HAP's para Chelem y Progreso, predominan los compuestos de 4 y 5 anillos lo que evidencia que la laguna de Chelem presenta HAP's con alta capacidad de bioacumulación y de ocasionar efectos en las especies presentes en el cuerpo de agua.

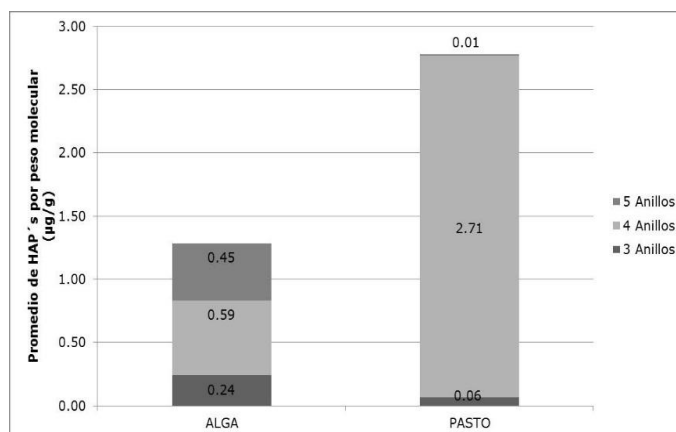


Figura 3. Concentración de HAP's promedio en Alga y Pasto. HAP's agrupado en 3 anillos: Fenantreno, Fluoranteno; 4 anillos: Criseno, Pireno, Benzo [k] fluoranteno, Benzo (a) antraceno; 5 anillos: Indeno [1, 2,3-cd] pireno, Benzo (a) pireno, Benzo [ghi] perileno.

Cabe mencionar que existen estudios en los que se ha analizado la co-toxicidad de varios HAP's y su relación con el crecimiento de las plantas. Tal es el caso del trabajo realizado por Chouychai y Somtrakoon (2010), donde, sedimento contaminado por antraceno (100 µg/g) y fluoranteno (100 µg/g) exclusivamente, combinados con 39 µg/g de Cr (III), impidió el crecimiento de la mayor parte de las especies vegetales ornamentales analizadas. En algunos casos, las plantas podían crecer pero el desarrollo de brotes y raíces se veía reducido significativamente. En el presente estudio, se pudo observar que a pesar de la presencia de HAP's en el pasto y alga, estos no se veían afectados en su crecimiento. Sin embargo, no deja de ser un resultado preocupante, puesto que se estaría enfrentando a un proceso de bioacumulación en las cadenas tróficas del ecosistema lagunar.

CONCLUSIONES

Se detecta la presencia de 9 HAP's, los cuales en promedio se presentan a baja concentración, a excepción del Benzo (k) fluoranteno y el Criseno, los cuales se encontraron en el pasto marino en concentraciones mayores a las permitidas.

La presencia de estos tipos de HAP's tanto en el pasto marino como en la macroalga presentes en la laguna de Chelem nos indican la necesidad de evaluar simultáneamente dichos compuestos en el sedimento y en otras especies de la cadena trófica, por lo que sería de gran interés para complementar los resultados, continuar con el muestreo en la laguna de Chelem y monitorear estos contaminantes en algunos consumidores primarios y secundarios de este ecosistema para poder evaluar su variación en el tiempo así como su bioacumulación.

Se considera que si no se toman las medidas necesarias para disminuir el impacto antropogénico por estas sustancias al ambiente, las concentraciones de dichos contaminantes podrían ir en aumento hasta alcanzar niveles críticos que afecten a las especies presentes en la laguna.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a las instituciones que brindaron apoyo para la realización del presente trabajo, a la Universidad Autónoma de Yucatán y al Instituto EPOMEX de la Universidad Autónoma de Campeche. En especial se agradece al QFB. Martín Memije Canepa técnico de laboratorio por su apoyo y estar al pendiente de las metodologías empleadas para la realización de los análisis cromatográficos.

REFERENCIAS

- Agarwal, T. 2009. Concentration level, pattern and toxic potential of PAHs in traffic soil of Delhi, India. *Journal of Hazardous Materials* 171: 894-900.
- Binark, N., Guven, K., Gezgin, T. y Unlu, S. 2000. Oil Pollution of Marine Algae. *Bulletin Environmental Contamination & Toxicology* 64:866-872.
- Buchman, M. F. 2008. NOAA Screening Quick Reference Tables, NOAA OR&R Report 08-1, Seattle WA, Office of Response and Restoration Division, National Oceanic and Atmospheric Administration, 34 Pp.
- Calva, L. y Alvarado, R. 2008. Macroalgas y pastos marinos, útiles bioindicadores de contaminación por hidrocarburos fósiles en sistemas acuáticos. *Contactos* 68: 38-46.

- Chouychai, W. y Somtrakoon, K. 2015. Co-toxicity of anthracene, fluoranthene and chromium in soil on growth of vegetable and ornamental seedling. *Journal of Agricultural Research and Extension*, 32(2): 1-11.
- Daly, G., Lei, Y., Castillo, L, Muir, D. y Wania, F. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Costa Rican air and soil: A tropical/temperate comparison. *Atmospheric Environment* 41: 7339-7350.
- Díaz-González, G., Vázquez-Botello, A. y Ponce-Vélez, G. 1994. Contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's) disueltos en la laguna Mecocacán, Tabasco, México. *Hidrobiológica* 4: 21-27.
- Finch, B. y Stubblefield, W. 2016. Photo-enhanced toxicity of fluoranthene to Gulf of Mexico marine organisms at different larval ages and ultraviolet light intensities. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 35(5): 1113-1122.
- Herrera-Silveira, J. 2006. Lagunas Costeras de Yucatán (Se, México): Investigación, Diagnóstico y Manejo. *Ecotropicos*. 19(2): 94-108.
- Ortiz-Salinas, R., Cram, S. y Sommer, I. 2012. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del estado de Tabasco, México. *Universidad y ciencia*. 28(2): 131-144.
- Páez-Osuna, F., M. J. Ochoa-Izaguirre, H. Bojórquez-Leyva & I. L. Michel-Reynoso. 2000. Macroalgae as biomonitors of heavy metal availability in coastal lagoons from the Pacific Subtropical of Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64 (6): 846-851
- Paul-Pont, I., Lacroix, C., González, C., Hégarret, H., Lambert, C., Le Goïc, N., Frère, L., Cassone, A., Sussarellu, R., Fabioux, C., Guyomarch, J., Albentosa, M., Huvet, A. y Soudant, P. 2016. Exposure of marine mussels *Mytilus* spp. to polystyrene microplastics: Toxicity and influence on fluoranthene bioaccumulation. *Environmental Pollution*. 216: 724-737.
- Pavoni, B., Caliceti, M., Sperti, I. y Sfriso, A. 2003. Organic micropollutants (PAHs, PCB, pesticides) in seaweeds of the lagoon of Venice. *Oceanological Acta*. 26: 585-596.
- Pérez-Morales, G., Morales, P. y Haza, A. 2016. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP's) (II): Medidas de Prevención y Control. *Complutense de Ciencias Veterinarias* 10(1): 16-34.
- Sueli, I., Gold-Bouchot, G., Ceja, V. 2005. Hidrocarburos en Agua y Sedimentos de la Laguna de Chelem y Puerto Progreso, Yucatán, México. 311- 328 Pp. En: Botello, A., Rendón-von Osten, J. Gold -Bouchot, G. y Agraz-Hernández, C. *Golfo de México Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias* 2da Edición. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología. 696 Pp.
- Yu, M., Tsunoda, H. y Tsunoda, M. 2012. *Environmental Toxicology Biological and Health Effects of Pollutants*. 3rd edition. CRC Press. United States. ISBN 9781439840382. 397 Pp.