



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

# **Estudio de las concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos en matrices marinas de la bahía de Tumaco**

**Jesús Alberto Angulo Cuero**

Ingeniero Químico

Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales

Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química

Manizales, Colombia

2020

# **Estudio de las concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos en matrices marinas de la bahía de Tumaco**

**Jesús Alberto Angulo Cuero**

Ingeniero Químico

Email: jaanguloc@unal.edu.co, jesus952105@hotmail.com

Trabajo final de maestría presentado como requisito para optar al título de:

**Magister en Ingeniería – Ingeniería Ambiental**

Director (a):

Ph.D. Beatriz Helena Aristizábal Zuluaga

Codirector (a):

Ph.D. Milton Rosero Moreano

Grupo de Investigación:

Grupo de Trabajo Académico en Ingeniería Hidráulica y Ambiental – GTAIHA

Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales

Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Departamento de Ingeniería Química

Manizales, Colombia

2020

# AGRADECIMIENTOS

---

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todas las personas y a las entidades que hicieron posible la realización de este trabajo:

A mi familia por brindarme su amor incondicional, apoyo, aliento y paciencia en todo momento.

A la profesora Beatriz Helena Aristizábal, directora de este trabajo, por su disposición, conocimiento compartido, apoyo y por permitirme ser parte de su equipo de trabajo.

Al profesor Milton Rosero Moreano, codirector de este trabajo, por abrirme las puertas de su laboratorio y por haberme compartido información valiosa para este trabajo.

Al profesor Marco Tadeu Grassi y la doctora Ángela Palacio Cortés, por el apoyo brindado durante el desarrollo de este estudio, por abrirme las puertas de su hogar y por su acompañamiento durante la pasantía de investigación.

Al doctor Rafael Dolatto por compartirme su experiencia y amistad durante la pasantía de investigación.

Al ingeniero Felipe Cifuentes por sus aportes y colaboración en parte importante de este trabajo.

A los integrantes del Grupo de Investigación en Química Ambiental de la Universidad Federal do Paraná, por todo el apoyo brindado durante la pasantía de investigación.

A los integrantes al Grupo de Investigación de Calidad del Aire, por su aliento, motivación y amistad.

A la Universidad Nacional de Colombia, por ser mi Alma Máter y por el apoyo financiero y administrativo para la realización de la pasantía de investigación, con el respaldo de la Dirección de Investigaciones DIMA.

Al Grupo de Investigación en Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas, por su disposición y apoyo durante etapas importantes de este trabajo.

Al Laboratorio de Hidráulica del Grupo de Trabajo Académico en Ingeniería Hidráulica y Ambiental, por la disposición de los equipos necesarios para la recolección de muestras.

A los profesionales del Laboratorio de Química del Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico (CCCCP), especialmente a Mónica Polo, por el conocimiento y la experiencia adquirida, importante para desarrollar este trabajo.

# ESTUDIO DE LAS CONCENTRACIONES DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS EN MATRICES MARINAS DE LA BAHÍA DE TUMACO

## RESUMEN

---

Este trabajo presenta el desarrollo del estudio de las concentraciones de los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA) en matrices marinas de la bahía de Tumaco en la costa Pacífica colombiana, donde se evaluaron tres sub-áreas de estudio de interés de acuerdo a sus fuentes de contaminación. El análisis de HAPs fue realizado en muestras de sedimentos marinos y bivalvos (*Anadara tuberculosa*), adicionalmente se recolectaron muestras de agua marina para la caracterización fisicoquímica. Para el estudio de bivalvos se seleccionó la especie *Anadara tuberculosa* debido a su gran abundancia en el área de estudio y a su importancia comercial.

En total se seleccionaron trece puntos de muestreo distribuidos así: siete en el área portuaria, cuatro en el área de desembocadura del río Rosario y dos en el área residencial. En cuatro puntos se realizó muestreo combinado de sedimentos marinos, *Anadara tuberculosa* y agua marina, en ocho puntos se realizó solo muestreo de sedimentos marinos y en un punto solo se obtuvieron muestras *Anadara tuberculosa* compradas a recolectores de bivalvos del área de desembocadura. Fueron recolectadas de 3 a 5 muestras de *Anadara tuberculosa* en cada punto de muestreo, dependiendo de la cantidad que fueran encontradas.

El muestreo fue realizado el día 11 de septiembre de 2019 en dos períodos de bajamar. La metodología de muestreo para las diferentes matrices se basó en los siguientes protocolos analíticos: US-EPA 823-B-01-002, el protocolo analítico de INVEMAR y la guía de muestreo del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA).

En sedimentos marinos, las más altas concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  fueron encontradas en el área de la desembocadura del río Rosario, con un valor de  $76.2 \text{ ng g}^{-1}$  en la muestra marina y un rango de  $171.4$  a  $564 \text{ ng g}^{-1}$  en las muestras estuarinas, seguida por el área portuaria con un rango de  $15.5$  a  $77.5 \text{ ng g}^{-1}$  y finalmente el área Residencial con un rango de  $16.5$  a  $26.5 \text{ ng g}^{-1}$ . Asimismo, en *Anadara tuberculosa* las más altas concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  fueron

encontradas en el área de desembocadura del río Rosario, con un rango de 31 a 169 ng g<sup>-1</sup>, seguida por el área residencial con un rango de 78 a 157 ng g<sup>-1</sup> y por último el área portuaria con un rango de 24 a 63 ng g<sup>-1</sup>.

Ningunas de las concentraciones de  $\Sigma 16$ HAPs en las muestras de sedimentos marinos analizadas superaron la norma establecida por la Administración Oceánica y Atmosférica Nacional de los Estados Unidos (NOAA) (1684.1 ng g<sup>-1</sup>). Sin embargo, la concentración de algunos HAPs individuales como fenantreno (98.7 ng g<sup>-1</sup>), fluoranteno (160.7 ng g<sup>-1</sup>) y pireno (292.5 ng g<sup>-1</sup>) en la muestra SD5 y, acenafteno (8.6 ng g<sup>-1</sup>) y fluoreno (24.1 ng g<sup>-1</sup>) en la muestra SD6, ambas muestras en el área desembocadura, superaron la norma establecida por la guía de calidad de sedimentos (SQG, por sus siglas en inglés) para la protección de la vida acuática de Canadá (fenantreno = 87 ng g<sup>-1</sup>, fluoranteno = 113 ng g<sup>-1</sup>, pireno = 153 ng g<sup>-1</sup>, acenafteno = 6.7 ng g<sup>-1</sup> y fluoreno = 21 ng g<sup>-1</sup>).

Las concentraciones en cuatro muestras de *Anadara tuberculosa* excedieron el límite regulatorio para consumo humano colombiano (35 ng g<sup>-1</sup>) y cinco muestras el límite regulatorio de la Unión Europea (30 ng g<sup>-1</sup>). Límites reportados como la sumatoria de cuatro HAPs  $\Sigma 4$ HAPs: benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno y criseno.

Relaciones diagnósticas de algunos HAPs isómeros (fluoranteno-pireno y antraceno-fenantreno) fueron aplicadas en sedimentos marinos para estimar las posibles fuentes de contaminación. Se encontró que ambas relaciones diagnósticas para las dos muestras recolectadas en el estuario de la desembocadura del río Rosario sugieren que los HAPs provienen de fuentes petrogénicas. Para la muestra recolectada en el área desembocadura más externa (más alejada del estuario) sugieren que los HAPs provienen de combustión de biomasa, carbón o madera. Mientras que para las muestras de las áreas portuaria y residencial sugieren una combinación de fuentes petrogénicas y de combustión.

Los equivalentes carcinogénicos (EqT) y mutagénicos (EqM) fueron determinados para las muestras de sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa* para evaluar el riesgo toxicológico. En sedimentos marinos los equivalentes tóxicos variaron entre 0.07 y 7.56 EqT-BaP, por lo tanto, ninguno de los EqT-BaP obtenidos excedieron el valor recomendado por la guía canadiense de calidad de suelo para HAPs (600 EqT-BaP). Asimismo, los equivalentes mutagénicos variaron entre 0.17 y 9.45 EqM-BaP. Por su parte en *Anadara tuberculosa* los equivalentes tóxicos

variaron entre 0.11 y 5.01 EqT-BaP, de la misma manera, los equivalentes mutagénicos variaron entre 0.15 y 6.12 EqM-BaP.

Debido a la problemática ambiental por el uso de solventes orgánicos que presentan la mayoría de los métodos analíticos para la determinación de HAPs en matrices ambientales, se usaron métodos con bajo consumo de solventes orgánicos como extracción miniaturizada por ultrasonido y dispersión de la matriz en fase sólida. Con base en la eco-escala de análisis verde, se determinó que los métodos usados en este estudio presentan un análisis verde excelente (eco-escala de 80) para el análisis de sedimentos y aceptable para el análisis de *Anadara tuberculosa* (eco-escala de 58).

**Palabras claves:**

Bivalvos, sedimentos, contaminación costera, manglares, *Anadara tuberculosa*, factores de equivalencia tóxica.

# STUDY OF THE CONCENTRATIONS OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN MARINE MATRICES OF TUMACO BAY

## ABSTRACT

---

This work presents the concentrations of the 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) prioritized by the United States Environmental Protection Agency (US-EPA) in marine matrices of the Tumaco Bay on the Colombian Pacific coast. Three study sub-areas of interest were evaluated according to their sources of contamination. The analysis of PAHs was carried out in samples of marine sediments and bivalves (*Anadara tuberculosa*). Additionally, samples of marine water were collected for the physicochemical characterization. For the bivalve species, the *Anadara tuberculosa* specie was selected due to its great abundance in the study area and its commercial importance.

In total, thirteen sampling points were selected, they were distributed as follows: seven in the port area, four in the Rosario river mouth area, and two in the residential area. Combined sampling of marine sediments, *Anadara tuberculosa* and seawater were carried out at four points, at eight points only sampling of marine sediments were carried out, and at one point only *Anadara tuberculosa* samples were obtained, purchased from bivalve collectors in the mouth area. From 3 to 5 samples of *Anadara tuberculosa* were collected at each sampling point, depending on the quantity that were found.

The sampling campaign was carried out on September 11, 2019 in two periods of low tide. The methodology of the sampling, for the different matrices, was based on the following analytical protocols: US-EPA 823-B-01-002, INVEMAR analytical protocol and the sampling guide of the United Nations Environment Program (UNEP).

In marine sediments, the highest concentrations of  $\Sigma 16\text{PAHs}$  were found in the area of Rosario river mouth, with a value of  $76.2 \text{ ng g}^{-1}$  (marine sediments), and in the estuarine samples ranged from  $171.4$  to  $564 \text{ ng g}^{-1}$ ; followed by the port area ranged from  $15.5$  to  $77.5 \text{ ng g}^{-1}$  and finally the Residential area ranged from  $16.5$  to  $26.5 \text{ ng g}^{-1}$ . Likewise, in *Anadara tuberculosa* the highest concentrations of  $\Sigma 16\text{PAHs}$  were found in the Rosario river mouth, ranged from 31 to



169 ng g<sup>-1</sup>, followed by the residential area with ranged of 78 to 157 ng g<sup>-1</sup> and the port area ranged from 24 to 63 ng g<sup>-1</sup>.

No concentrations of  $\Sigma$ 16PAHs in the analyzed marine sediment samples exceeded the regulatory limit established by the United States National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) (1684.1 ng g<sup>-1</sup>). However, the concentration of individual PAHs of two samples located in the river mouth area exceeded the standard established by the sediments quality guides (SQG) for the protection of aquatic life in Canada (phenanthrene = 87 ng g<sup>-1</sup>, fluoranthene = 113 ng g<sup>-1</sup>, pyrene = 153 ng g<sup>-1</sup>, acenaphthene = 6.7 ng g<sup>-1</sup> and fluorine = 21 ng g<sup>-1</sup>). These samples are SD5 and SD6, which had higher concentrations of these congeners such as phenanthrene (98.7 ng g<sup>-1</sup>), fluoranthene (160.7 ng g<sup>-1</sup>) and pyrene (292.5 ng g<sup>-1</sup>) in the SD5 sample, and acenaphthene (8.6 ng g<sup>-1</sup>) and fluorene (24.1 ng g<sup>-1</sup>) in sample SD6.

The concentrations of four samples of *Anadara tuberculosa* exceeded the regulatory limit of Colombia for human consumption (35 ng g<sup>-1</sup>) and five samples the regulatory limit of the European Union for human consumption (30 ng g<sup>-1</sup>). Limits reported as the sum of four PAHs  $\Sigma$ 4PAHs: benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene and chrysene.

Diagnostic relationships of some isomeric PAHs (fluoranthene-pyrene and anthracene-phenanthrene) were applied in marine sediments to estimate possible sources of contamination. It was found that the diagnostic relationships, for the two samples collected in the estuary of the Rosario river mouth, suggest that the PAHs come from petrogenic sources. For the sample collected in river mouth more external (farthest from the estuary) suggest that the PAHs come from combustion of biomass, coal, or wood. While for the samples from the port and residential areas suggest a combination of petrogenic and combustion sources.

Carcinogenic (TEQ) and mutagenic (MEQ) equivalents were determined for marine sediment samples and *Anadara tuberculosa* to assess toxicological risk. In marine sediments, toxic equivalents ranged from 0.07 to 7.56 BaP-TEQ, therefore, no BaP-TEQ obtained exceeded the value recommended by the Canadian soil quality guide for PAHs (600 BaP-TEQ). Likewise, mutagenic equivalents ranged from 0.17 to 9.45 BaP-MEQ. On the other hand, in *Anadara tuberculosa* the BaP-TEQ the TEQ ranged from 0.11 to 5.01 BaP-TEQ. Additionally, the BaP-MEQ ranged from 1.5 to 61.2 BaP-MEQ.

Due to the environmental problems due to the use of organic solvents that most analytical methods present for the determination of PAHs in environmental matrices, methods with low consumption of organic solvents were used such as miniaturized extraction by ultrasound and dispersion of the matrix in solid phase. Based on the eco-scale for assessing the greenness of analytical procedures, it was determined that the methods used in this study present an excellent green analysis for sediment analysis (eco-scale 80) and acceptable for the analysis of *Anadara tuberculosa* (eco-scale 58).

**Keywords:**

Bivalves, sediments, coastal pollution, mangroves, *Anadara tuberculosa*, toxic equivalence factors.

# TABLA DE CONTENIDO

---

	Pág.
<b>INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>7</b>
<b>ESTRUCTURA GENERAL DE LA TESIS</b> .....	<b>8</b>
<b>1. CAPITULO 1 - MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>11</b>
1.1. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS .....	11
1.2. DINÁMICA EN EL MEDIO MARINO.....	13
1.3. IMPORTANCIA DE LOS MANGLARES .....	15
1.4. PROBLEMÁTICA DE LOS HAPS EN LA SALUD HUMANA Y EN EL AMBIENTE 16	
1.5. NORMATIVA INTERNACIONAL Y NACIONAL .....	17
1.6. FUENTES DE CONTAMINACIÓN.....	19
1.7. TOMA DE MUESTRAS .....	20
1.8. MÉTODO ANALÍTICO VERDE.....	22
<b>2. CAPITULO 2 - METODOLOGÍA</b> .....	<b>26</b>
2.1 MUESTREO .....	26
2.2 ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA MARINA.....	41
2.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE HAPs EN SEDIMENTO MARINO CERTIFICADO .....	44
2.4 ANÁLISIS DE HAPs EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y BIVALVOS 46	
2.5 CUANTIFICACIÓN DE HAPs.....	56
2.6 RELACIONES DIAGNÓSTICAS PARA ESTIMACIÓN DE FUENTES DE CONTAMINACIÓN .....	64
2.7 EVALUACIÓN DEL RIESGO TOXICOLÓGICO EN SEDIMENTOS MARINOS Y BIVALVOS .....	65
2.8 EVALUACIÓN DEL RIESGO ECOLÓGICO EN SEDIMENTOS MARINOS .....	66
2.9 EVALUACIÓN DEL GRADO DE QUÍMICA VERDE EN LOS MÉTODOS ANALÍTICOS.....	67
<b>3. CAPITULO 3 - RESULTADOS</b> .....	<b>69</b>
3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA.....	69
3.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE HAPs EN SEDIMENTO MARINO CERTIFICADO .....	70
3.3 CONCENTRACIONES DE HAPs.....	71
3.4 ANÁLISIS DE CLUSTERS EN MUESTRAS COMBINADAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y <i>ANADARA TUBERCULOSA</i> .....	94
3.5 ESTIMACIÓN DE FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN SEDIMENTOS .....	97
3.6 EVALUACIÓN RIESGO TOXICOLÓGICO EN SEDIMENTOS Y BIVALVOS .....	101
3.7 INDICADORES DEL RIESGO ECOLÓGICO EN SEDIMENTOS.....	104

3.8	EVALUACIÓN DEL GRADO DE QUÍMICA VERDE.....	106
	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>110</b>

# LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1.1 Estructura de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos prioritarios por la EPA (Anyakora et al., 2005) .....	12
Figura 1.2 Dinámica en el ambiente de los HAPs. Fuente: elaboración propia.....	15
Figura 1.3 Mecanismo de acción de las dragas Van Veen para toma de sedimentos marinos, adaptada de (ECOIM, 2016) .....	21
Figura 1.4 Principio básico de la técnica de MSPD, adaptado de (Camargo, 2019) .....	24
Figura 1.5 Diagrama esquemático del método RDSE - SPME para análisis de HAPs en muestras sólidas, adaptado de (Mendes et al., 2018) .....	25
Figura 2.1. Ubicación de los puntos de muestreo para determinación de HAPs en la bahía de Tumaco .....	29
Figura 2.2 Diagrama de flujo para el muestreo de agua marina para análisis fisicoquímico.....	38
Figura 2.3 Diagrama de flujo para muestreo de sedimentos marinos para análisis de HAPs .....	39
Figura 2.4 Diagrama de flujo para el muestreo de <i>Anadara tuberculosa</i> para análisis de HAPs ....	41
Figura 2.5 Registro fotográfico de la medición de parámetros fisicoquímicos en agua marina .....	44
Figura 2.6 Proceso de descontaminación de materiales. (a) limpieza asistida por ultrasonido. (b) tratamiento térmico para materiales no volumétricos y no plásticos. (c) cubrimiento de materiales descontaminados. ....	49
Figura 2.7 Registro fotográfico de la metodología analítica para la preparación de muestras de sedimentos marinos para análisis de HAPs.....	52
Figura 2.8 Registro fotográfico de la metodología analítica para la preparación de muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> para análisis de HAPs.....	54
Figura 2.9 Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas utilizado para los análisis de HAPs .....	55
Figura 3.1 Distribución por área de las concentraciones de $\Sigma 16$ HAPs en sedimentos marinos .....	74
Figura 3.2 Distribución espacial de las concentraciones de $\Sigma 16$ HAPs en sedimentos marinos en la bahía de Tumaco .....	74
Figura 3.3 Histograma de distribución de las concentraciones de $\Sigma 16$ HAPs en muestras de sedimentos marinos.....	75
Figura 3.4 Comparación de la concentración de $\Sigma 16$ HAPs en sedimentos marinos en diferentes regiones .....	77
Figura 3.5 Optimización del número de clusters para análisis de componente principales .....	78
Figura 3.6 Análisis de componentes principales para las muestras de sedimentos marinos .....	79
Figura 3.7 Clusterización de los HAPs individuales en las muestras de sedimentos marinos.....	81
Figura 3.8 Diagrama de caja para la concentración individual de cada HAPs en todas las muestras tomadas de sedimento marino.....	82
Figura 3.9 Proporción de los HAPs, agrupados por número de anillos en muestras de sedimentos marinos.....	84
Figura 3.10 Distribución por área de las concentraciones de $\Sigma 16$ HAPs en bivalvos ( <i>Anadara tuberculosa</i> ) .....	86
Figura 3.11 Histograma de distribución las concentraciones de $\Sigma 16$ HAPs en muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	86

Figura 3.12 Comparación de la concentración de $\Sigma 16$ HAPs en bivalvos de diferentes regiones ....	88
Figura 3.13 Optimización del número de clusters para análisis de componente principales en muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	89
Figura 3.14 Análisis de componentes principales para las muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	90
Figura 3.15 Clusterización de los HAPs individuales en las muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	92
Figura 3.16 Diagrama de caja para la concentración individual de cada HAPs en muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	93
Figura 3.17 Proporción de los HAPs, agrupados por número de anillos en muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	94
Figura 3.18 Optimización del número de clusters para análisis de componente principales en muestras combinadas de sedimentos marinos y <i>Anadara tuberculosa</i> .....	95
Figura 3.19 Dendograma de clusters para las muestras combinadas de sedimentos marinos y <i>Anadara tuberculosa</i> .....	96
Figura 3.20 Correlaciones de Spearman entre los HAPs en las muestras de sedimentos .....	98
Figura 3.21 Relaciones diagnósticas en sedimentos marinos para estimar las fuentes de contaminación .....	100
Figura 3.22 Comparación de las concentraciones de $\Sigma 16$ HAPs en sedimentos marinos con los límites establecidos por la NOAA (1999) .....	101
Figura 3.23 Equivalentes tóxicos y mutagénicos para las muestras de sedimentos marinos .....	102
Figura 3.24 Comparación de las concentraciones de $\Sigma 4$ HAPs en <i>Anadara tuberculosa</i> con los límites establecidos en Colombia (Resolución 122, 2012, art. 6) y Europa (Reglamento N° 835, 2011, art. 2) .....	103
Figura 3.25 Equivalentes tóxicos y mutagénicos para las muestras de <i>Anadara tuberculosa</i> .....	104
Figura 3.26 Índices de riesgo ecológico de sedimentos marinos para HAPs .....	106

# LISTA DE TABLAS

---

Tabla 1.1 Propiedades fisicoquímicas de los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA.....	13
Tabla 1.2 Clasificación por riesgo de cáncer, factores de equivalencias tóxicos y concentraciones mínimas mutagénicas para los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA.....	16
Tabla 1.3 Límites regulatorios para las concentraciones individuales de los HAPs en sedimentos marinos.....	18
Tabla 1.4 Métodos de la US-EPA para la preparación de muestras sólidas para análisis de HAPs	22
Tabla 2.1 Resumen de las características y muestras recolectadas en los puntos de muestreo.....	31
Tabla 2.2 Ficha de campo del área portuaria en la bahía de Tumaco para la toma de muestras de sedimento marino, <i>Anadara tuberculosa</i> y agua marina, año 2019.....	32
Tabla 2.3 Ficha de campo del área de desembocadura del río Rosario en la bahía de Tumaco para la toma de muestras de sedimento marino, <i>Anadara tuberculosa</i> y agua marina, año 2019.....	33
Tabla 2.4 Ficha de campo de la zona residencial en la bahía de Tumaco para la toma de muestras de sedimento marino, <i>Anadara tuberculosa</i> y agua marina, año 2019.....	34
Tabla 2.5 Metodología usada para la validación del método analítico.....	45
Tabla 2.6 Información de los 16 HAPs prioritarios y estándares internos utilizados en este estudio.....	48
Tabla 2.7. Condiciones cromatográficas para el análisis de HAPs.....	56
Tabla 2.8. Iones y tiempos de retención para la identificación y cuantificación de los HAPs.....	58
Tabla 2.9. Criterios de aceptación de factores de respuesta relativa.....	59
Tabla 2.10 Concentración de los estándares usados en la curva de calibración.....	59
Tabla 2.11 Relaciones diagnósticas para estimación de fuentes de contaminación en sedimentos marinos.....	64
Tabla 2.12 Puntos de penalidad (PP) para calcular la eco-escala analítica. Tabla adaptada de Galuszka et al. (2012).....	67
Tabla 3.1 Parámetros fisicoquímicos obtenidos para las muestras de agua marina en la bahía de Tumaco.....	70
Tabla 3.2 Parámetros de validación obtenidos para el material de referencia de sedimento marino certificado 1941b NIST.....	71
Tabla 3.3 Concentración de HAPs en muestras de sedimentos (ng g <sup>-1</sup> peso seco).....	73
Tabla 3.4 Estudios utilizados para la comparación de las concentraciones de Σ16HAPs en sedimentos marinos.....	76
Tabla 3.5 Concentración de HAPs en muestras de bivalvos ( <i>Anadara tuberculosa</i> ) (ng g <sup>-1</sup> peso seco).....	85
Tabla 3.6 Estudios utilizados para la comparación de las concentraciones de Σ16HAPs en bivalvos.....	87
Tabla 3.7 Evaluación del riesgo ecológico de HAPs en sedimentos marinos superficiales (ng g <sup>-1</sup> peso seco).....	105
Tabla 3.8 Consumo de solventes orgánicos en los métodos analíticos para análisis de HAPs.....	107
Tabla 3.9 Eco-escala analítica de los métodos usados en este estudio, comparado con otros métodos.....	108





# INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

---

La protección de los océanos y de los ecosistemas que lo conforman es uno de los temas de mayor importancia a nivel mundial, puesto que este recurso ocupa alrededor del 70% de la superficie del globo terrestre (NOAA, 2020) y por lo tanto sirve como base de la economía en muchos países.

Dentro de los ecosistemas marinos de mayor importancia se encuentran los manglares, los cuales son zonas localizadas en costas tropicales y subtropicales. Se ubican entre la tierra, el agua dulce y el agua de mar (Ghizelini et al., 2019; Ranjan et al., 2012). Estas áreas son altamente productivas, sirven como zonas de desove y cría de especies migratorias. Debido a su alta productividad primaria juegan un rol fundamental para la sostenibilidad de comunidades pesqueras.

Los manglares son áreas altamente vulnerables a actividades antropogénicas, como derrames de petróleo y sus derivados, que afectan los sedimentos, así como los organismos presentes y los dependientes que habitan en esta zona, como moluscos, crustáceos, peces, entre otros (Ghizelini et al., 2019). En vista de algunas características de estos ecosistemas, tales como: sus granos de tamaño fino, abundancia de detritos, alto contenido de carbono orgánico y condición anóxica/reducida; los convierten en una zona preferencial para la acumulación de contaminantes por entradas antropogénicas. Dentro de estos contaminantes se encuentran los provenientes del petróleo, especialmente los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Tam et al., 2001).

El petróleo y sus derivados poseen una amplia gama de compuestos químicos tales como los alcanos, BTEX, isoprenoides, HAPs, entre otros, que se pueden usar como indicadores de la contaminación (Wang, Stout, & Fingas, 2006). No obstante, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA, por sus siglas en inglés) ha determinado que dentro del grupo de los HAPs existen 16 que son prioritarios, los cuales se han estudiado por varios años por ser ambientalmente persistentes, poseer características tóxicas, carcinogénicas y mutagénicas (Lin et al., 2018).

Además de las fuentes petrogénicas, los HAPs son emitidos al medio ambiente mediante emisiones atmosféricas tales como: quema de combustibles fósiles, vehículos automotores, incineradores de residuos, refinación de petróleo, entre otras (Larsen & Baker, 2003). Por esta

razón, es común encontrar los HAPs en cualquier matriz ambiental como sedimentos, organismos, aire, agua, suelos, alimentos, entre otras.

En el ambiente marino los HAPs son introducidos por deposición directa de los derrames de petróleo o por deposición húmeda de la atmósfera. Una vez en el medio marino ellos son adheridos fuertemente a los sedimentos debido a su baja solubilidad con el agua y a sus características hidrofóbicas (Tam et al., 2001). Paralelamente, los moluscos bivalvos pueden acumular estos compuestos directamente mediante el consumo de los HAPs disueltos en el agua (generalmente HAPs de 2 a 3 anillos) a través de sus branquias, e indirectamente por ingestión de los HAPs adheridos a sedimentos de grano fino (generalmente HAPs de 4 a 6 anillos) a través del tracto digestivo.

Los bivalvos en comparación con los pescados y crustáceos tienen muy bajos niveles de actividad enzimática capaces de metabolizar contaminantes orgánicos como los hidrocarburos aromáticos (León et al., 2013). Por ende, los HAPs tienden a acumularse en estas especies a través de bioconcentración y biomagnificación, resultando en un riesgo para estos organismos y para los humanos que los consumen a través de la ingesta dietética (Wang et al., 2020).

El consumo por humanos de productos marinos tales como peces y otros mariscos se ha duplicado alrededor del mundo, con respecto a la cantidad consumida 50 años atrás, pasando de un consumo mundial de 9 kg per cápita por año en 1961 a 19 kg per cápita por año en 2013 (FAO, 2014). Análogamente, en Colombia el consumo ha aumentado considerablemente, de tal manera que en 1988 el consumo era de 1.7 kg por persona al año, mientras que en el 2018 esta cifra asciende a 8.4 kg per cápita por año (Ministerio de Agricultura, 2018).

Paralelamente al consumo, la producción de estos alimentos ha estado en auge, con un aumento de 9% en el continente americano y 13.3% a nivel nacional de 1988 a 2018 (Ministerio de Agricultura, 2018). En Colombia la recolección/pesca de mariscos fue 5097 Ton en el año 2018 y son destinados principalmente para consumo nacional y para exportación a España, Ecuador, Estados Unidos y Panamá (FAO, 2020).

Colombia es un país conformado con costas en el océano pacífico y en el atlántico, en donde se ejecutan diversas actividades antropogénicas. Dado que una de las principales actividades económicas del país es la producción de petróleo y sus derivados, en ambas costas se encuentran ubicados diversos puertos dedicados al transporte de productos del petróleo. En el caso de la

costa pacífica colombiana uno de los principales puertos petroleros (Sociedad Portuaria Regional Tumaco Pacific Port S.A.) se encuentra ubicado en la bahía de Tumaco. Adicionalmente, se encuentra ubicado el oleoducto transandino, el cual, con una longitud de 306 km, transporta petróleo desde Orito, Putumayo hasta este puerto para su exportación (CORPONARIÑO, 2017).

En los puertos en donde se lleven a cabo actividades petroleras existe el riesgo de que se generen derrames, los cuales se pueden producir por fallas en la operación/mantenimiento del oleoducto, por acciones involuntarias/accidentes ocasionados por personas, por eventos naturales o por sabotaje (CORPONARIÑO, 2017). En Tumaco y en el pacífico colombiano, la necesidad de iniciar con investigaciones sobre contaminación por hidrocarburos, comenzó a raíz del derrame de alrededor de 33000 toneladas de crudo de petróleo y 300 de fuel oil el 04 de febrero de 1976 en la bahía Ancón de Salinas, en límites fronterizos marinos entre Ecuador y Colombia (CCCP, 2011), generada por el buque petrolero de bandera liberiana "Saint Peter".

A lo largo de los años recientes, múltiples derrames de gran magnitud se han registrado en esta zona, donde se destacan el buque Daedalus en 1996, derrame del oleoducto de Ecuador en 1998, ruptura del oleoducto transandino en el río Rosario en el 2000, terminal de Ecopetrol en el 2004 y ruptura del oleoducto transandino sobre el río Rosario, río Caunapí y río Mira en 2015, estos ríos desembocan sobre el océano Pacífico (CORPONARIÑO, 2017). Uno de los derrames más recientes de gran magnitud ocurrió en 2018 en el río Caunapí, el cual posteriormente mediante un desbordamiento arrastró las manchas de petróleo hacia el río Rosario y finalmente desembocó en la bahía de Tumaco (Redacción Economía, 2018). Posterior a este evento no se ha realizado un estudio en esta área que permita evaluar el nivel de contaminación por HAPs en el área.

La bahía de Tumaco está localizada sobre la costa pacífica, en un área tropical formada por una gran cantidad de manglares costeros y estuarinos, los cuales se caracterizan por contar con gran abundancia de especies (Tejada & Afanador, 2003). En esta región, una de las principales actividades económicas es la recolección acuícola, teniendo como uno de los principales productos los organismos bivalvos. Una de las especies de bivalvos de mayor importancia es *Anadara tuberculosa*, conocidos tradicional y comercialmente como “piangua”, “concha” o “pies de mula”. Esta es una importante especie comercial recolectada a lo largo de toda la costa pacífica del continente americano (Nieves-Soto et al., 2011).

Con base en lo anterior, para la costa de Tumaco se han identificado diferentes fuentes de contaminación de hidrocarburos sobre el ecosistema marino, tales como las aguas residuales de los municipios costeros, descargas de tributarios, derrames de crudo de petróleo del oleoducto Transandino, extracción ilegal de petróleo del oleoducto, accidentes de buques, operaciones de cargue de buques con combustible, residuos de la actividad marítima y portuaria, tráfico de embarcaciones, expendio de combustibles, terminales portuarios, muelles para embarcaciones y turismo en playa (INVEMAR, 2019). Adicionalmente, los derrames off-shore los cuales son aquellos que se trasladan de un país a otro, tienen cierto impacto sobre la bahía del Tumaco, principalmente los derrames que ocurren en Ecuador, el cual es un país limítrofe con el municipio de Tumaco (Tejada & Afanador, 2003).

Sumado a lo anterior, el municipio de Tumaco es una de las principales zonas de Colombia afectadas por los cultivos ilícitos de coca y producción de base de coca, produciendo en el año 2019 el 6 % de la producción nacional (UNODC-SIMCI, 2020). Durante este proceso, para la producción de un kilogramo de base de coca se utiliza como precursor 382 litros de gasolina (Gaviria & Mejía, 2011). Por lo tanto, estas actividades al ser ilegales generan residuos de gasolina que pueden ser vertidas frecuentemente sin control a las fuentes hídricas del municipio, principalmente a los ríos ubicados en la zona rural, los cuales desembocan sobre la costa.

Los HAPs son poco solubles en el agua, por lo tanto son detectados en bajas concentraciones en esta matriz, razón por la cual para determinar la calidad de los ecosistemas marinos diversos estudios usan los sedimentos como indicadores de la contaminación tanto en manglares como en el océano (Casanova et al., 2006; Assunção et al., 2017; Cai et al., 2019; Ghizelini et al., 2019; Qu et al., 2018a) y los bivalvos como bio-indicadores (Abootalebi et al., 2020; León et al., 2013; Wang et al., 2020).

Debido a su importancia, diferentes normativas internacionales se han establecido para regular las concentraciones de HAPs en sedimentos y bivalvos, de tal manera que permitan evaluar el riesgo en ambas matrices, tanto para la salud humana como para los ecosistemas. En el área de desembocadura del río Rosario sobre el océano Pacífico en Tumaco, se han registrado concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  de  $20140 \text{ ng g}^{-1}$  (DIMAR, 2003), valor muy superior al valor máximo permisible para evitar efectos adversos a organismos bénticos ( $1684.1 \text{ ng g}^{-1}$ ) establecido por la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica de los Estados Unidos (NOAA, por sus siglas en inglés) (NOAA, 1999).

Asimismo, para bivalvos existen diferentes normativas que establecen los niveles máximos permisibles de HAPs que estas especies deben contener para ser consideradas aptas para el consumo humano. Una de las normativas más aplicadas internacionalmente es la establecida por la comisión de regulación de la Unión Europea (Unión Europea, Reglamento N° 1327, 2014, art. 1; Unión Europea, Reglamento N° 835, 2011, art. 2). Específicamente para el caso de Colombia, la concentración máxima que los bivalvos pueden tener de estos compuestos para ser aptos para consumo humano se encuentra regulada por la Resolución 122 del 2012 (Ministerio de Salud y Protección Social Colombia, Resolución 122 de 2012, art. 6).

Con base en las problemáticas mencionadas anteriormente, lo deseable es que el monitoreo en matrices ambientales se realice de manera constante. Sin embargo, para el análisis de estos compuestos comúnmente se utiliza la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés) o a otros tipos de detectores, lo que hace que este análisis no se haga rutinariamente. Previo al análisis cromatográfico se requiere de una serie de procedimientos de extracción y limpieza de las muestras que permitan obtener un extracto con los analitos, libre de interferencias para ser analizados por GC. Técnicas comúnmente usadas como la extracción soxhlet, extracción por ultrasonido y fraccionamiento mediante columna empacada con adsorbentes, son de gran complejidad y requieren el uso de una gran cantidad de solventes orgánicos como diclorometano, tolueno, hexano, isooctano, entre otros (US-EPA, 2018).

Se ha demostrado que la mayoría de los disolventes orgánicos generan efectos nocivos sobre la salud humana y algunos de ellos, como en el caso del diclorometano han sido clasificados como posiblemente cancerígeno (CCCO Madrid, 2008). Además, estos compuestos causan problemas ambientales como la generación de residuos tóxicos y emisiones a la atmósfera de compuestos orgánicos volátiles que contribuyen a problemas como calentamiento global, formación de smog fotoquímico, formación de ozono troposférico y degradación de la capa de ozono (Mancheno & Izquierdo, 2008). A causa de esto, el Protocolo de Montreal desde el año 1989 adelanta iniciativas para la eliminación gradual de sustancias que agotan la capa de ozono (PNUMA, 2009), por esta razón se deben buscar alternativas de métodos analíticos verdes, en donde el uso de estos solventes sea muy limitado.

Con base en lo anterior, en los últimos años se han investigado metodologías analíticas para determinación de HAPs en muestras sólidas, que permitan reducir el impacto ambiental y

toxicológico asociado con los métodos convencionales. Los métodos de extracción verde propuestos para este trabajo son extracción dinámica con solvente asistida por ultrasonido (DSASE) para las muestras de sedimentos y dispersión de la matriz sólida (MSPD) para las muestras de bivalvos. Para la evaluación del grado de química verde de cada método se utilizó la eco-escala analítica de Galuszka et al (2012). Adicionalmente, los métodos analíticos usados en este trabajo, fueron comparados con otras técnicas analíticas usadas para análisis de HAPs en muestras sólidas: micro extracción en fase sólida (SPME) combinada con extracción sorptiva por disco rotatorio (RDSE) (Mendes et al., 2018), extracción soxhlet (Itoh et al., 2008) y extracción por microondas (Itoh et al., 2008).

En la bahía de Tumaco, el Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico (CCCCP) ha realizado diferentes estudios publicados en modalidad de boletines científicos, tanto de HAPs en sedimentos marinos (Marrugo, 1993; Marrugo, 1995; Casanova et al., 1998; Casanova et al., 2001; Casanova et al., 2006; Casanova et al., 2008) como de bivalvos (Marrugo, 1995; Prada-Ríos & Zambrano, 2006). Sin embargo, los más recientes fueron publicados en el año 2008 para sedimentos marinos (Casanova et al., 2008) y en el año 2006 para bivalvos (Prada-Ríos & Zambrano, 2006).

Dado la importancia de un monitoreo constante de estos compuestos, se pretende en este trabajo actualizar los datos históricos presentados para estos compuestos en ambas matrices. Sumado a lo anterior, se pretende evaluar las concentraciones de estos contaminantes luego del derrame del 2018 sobre el área del río Rosario. Adicionalmente, en este estudio se pretende analizar muestras de sedimentos en áreas marinas y muestras en áreas de manglares, de tal manera que se pueda evaluar el nivel de variación entre ambas zonas. Basado en los antecedentes descritos anteriormente, el objetivo y el alcance del presente trabajo está enfocado en la determinación y análisis de los 16 HAPs prioritarios en sedimentos marinos y bivalvos (*Anadara tuberculosa*) recolectadas el 11 de septiembre de 2019 en la bahía de Tumaco. Se aplican métodos de extracción verde para análisis de HAPs en muestras sólidas y se compara con un método tradicional. Con esta información y la distribución de las muestras tomadas, se realiza una estimación de las posibles fuentes de contaminación en cada punto de muestreo.

# **OBJETIVOS**

---

## **OBJETIVO GENERAL**

---

Evaluar la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en la bahía de Tumaco, considerando dos matrices marinas un bio indicador y un indicador ambiental.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

---

1. Analizar la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos en tres zonas de la bahía de Tumaco, tomando como matrices ambientales moluscos bivalvos y sedimentos marinos.
2. Aplicar un método de extracción verde para la determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en muestras marinas y comparar su rendimiento con el método tradicional.
3. Estimar la fuente de contaminación por hidrocarburos, utilizando como trazadores antropogénicos relaciones de diagnóstico entre las concentraciones de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos isómeros.

## **ESTRUCTURA GENERAL DE LA TESIS**

---

Este trabajo se encuentra distribuido en tres capítulos, un apartado de conclusiones y recomendaciones. Inicialmente, en el capítulo 1 se describe el estado de arte, donde se incluye una revisión bibliográfica de las características de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), diferentes fuentes de contaminación, relaciones diagnósticas para estimar su posible origen, procesos químicos y físicos que ocurren en medios acuáticos, acumulación y bioacumulación en sedimentos marinos y bivalvos, riesgos en la salud humana y en los ecosistemas costeros, normatividad regulatoria de estos compuestos en Colombia y en otros países, problemática ambiental de los métodos de análisis de estos compuestos y alternativas de métodos verdes.

El capítulo 2 está enfocado en la metodología utilizada para realizar este trabajo. En el cual se explican las consideraciones que se tuvieron en cuenta para la selección de las áreas y los puntos de muestreo. Se describe el procedimiento aplicado para la toma de muestras de agua, sedimentos marinos y bivalvos (*Anadara tuberculosa*). Se detallan los métodos analíticos utilizados para la caracterización fisicoquímica de los puntos de muestreo y para el análisis de HAPs en sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa*. Asimismo, se describen los métodos usados para la cuantificación, validación de los resultados, estimación de fuentes de emisión, y evaluación de riesgos para los ecosistemas y la salud humana. Por último, se describe la estrategia utilizada para la evaluación del grado de química verde en los métodos de análisis de HAPs.

Posteriormente, en el capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos para los parámetros fisicoquímicos en el agua, concentración de HAPs en sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa*, relaciones diagnósticas para estimar fuentes de contaminación, riesgos para los ecosistemas y la salud humana y comparación del método verde con el método convencional.

Finalmente, la última parte del documento contiene las conclusiones, recomendaciones, referencias y anexos.

A continuación, se presentan los principales impactos de este estudio y su relación con proyectos y actividades de investigación.



### Participación en proyectos

“Líquenes de altas montañas como potenciales indicadores de la contaminación atmosférica”, ejecutado en cooperación entre la Universidad de Caldas, Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales y Parques Nacionales Naturales de Colombia.

“Operación y mantenimiento de las redes hidrometeorológicas, de calidad del aire y sísmicas del departamento de Caldas”, ejecutado entre CORPOCALDAS y la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.

### Participación en cursos

Seminario “bioindicadores para el seguimiento de la contaminación atmosférica”, impartido por profesores de la Universidad Federal de Paraná y la Universidad de Caldas, del 17 al 20 de junio de 2019, en la Universidad de Caldas, Manizales.

Validación y cálculo de incertidumbre en métodos espectrométricos y cromatográficos, impartidos por MetroQuímica, en el año 2018.

### Publicaciones y manuscritos

Los resultados obtenidos en este trabajo están incluidos en un manuscrito sometido en una revista internacional:

Angulo, J.A., Grassi, M.T., Dolatto R.G., Palacio A.M., Rosero-Moreano M., Aristizábal, B.H. (2020). Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine and estuarine sediments and bivalves of mangrove and coastal from Colombia.

### Congresos

Angulo, J.A., Sánchez, G.A., Rosero-Moreano, M., Aristizábal B.H., Zapata, C., Toro, D., Grassi, M.T., Carasek, E., Richter, P. Determination of PAHs in lichens from high altitude in the tropical Andes using RDSE-SPME and GC-MS. Ponencia del profesor Milton Rosero-Moreano en: Extech realizado en noviembre de 2019 en Guangzhou, China.

### Pasantía de investigación

Se realizó una pasantía de investigación en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, desde el 23 de septiembre al 01 de diciembre de 2019. La pasantía estuvo dirigida por el docente PhD Marco Tadeu Grassi y el PhD Rafael Gorrat Dolatto. Durante la ejecución de la pasantía se recibió orientación y se realizó el análisis químico para determinar hidrocarburos aromáticos policíclicos en 20 muestras de *Anadara tuberculosa* y 12 muestras de sedimentos marinos, tomadas en la bahía de Tumaco, y muestras de líquenes y PUF tomadas en el Parque Nacional Natural los Nevados en Manizales.

# CAPITULO 1 - MARCO TEÓRICO

---

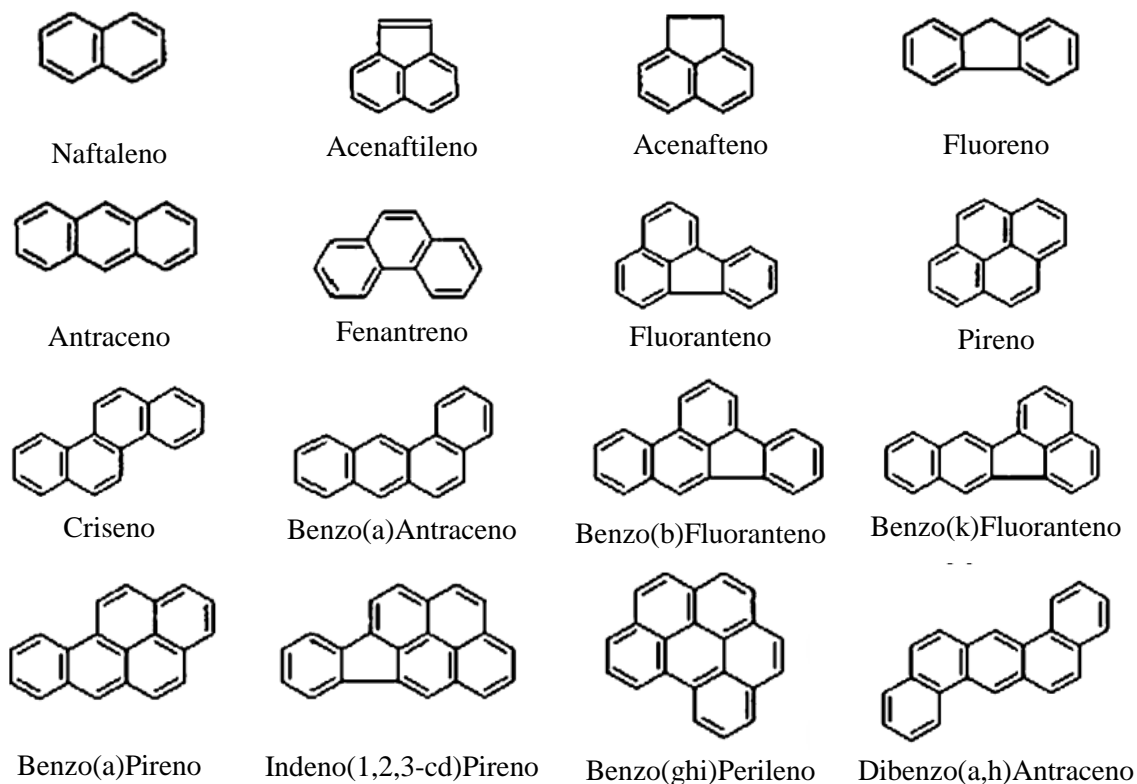
## 1.1. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

El petróleo y sus productos derivados están conformados por una mezcla compleja de miles de componentes, dentro de la cual se encuentran los compuestos orgánicos. El grupo de compuestos orgánicos a su vez se dividen en hidrocarburos saturados, hidrocarburos aromáticos, olefinas, resinas y asfaltenos (Wang, Stout, & Fingas, 2006).

Los hidrocarburos aromáticos son compuestos que se encuentran conformados por anillos de benceno, y de acuerdo con el número de anillos de benceno se clasifican como hidrocarburos monoaromáticos o hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) (Wang, Stout, & Fingas, 2006). Los HAPs por lo tanto pueden contener dos o más anillos de benceno, configurados en arreglo lineal, angular o agrupado (Abdel-Shafy & Mansour, 2016).

Los porcentajes de HAPs en los diversos productos del petróleo varían en los siguientes rangos: de 0.5-2 % en diésel, de 0.5-3 % en crudo liviano, de 1-4 % en crudo pesado, de 1-10 % en combustible marino (Fuel Oil) y de 1-10% en Bunker (Wang, Stout, & Fingas, 2006). En Colombia, el porcentaje de hidrocarburos aromáticos en gasolina regular es del 20% y para gasolina Premium del 22%. La norma establece como 28% el límite máximo para aromáticos en combustibles (Arango, 2009).

Hasta la fecha, más de 400 tipos de HAPs y sus ramificaciones han sido identificados (Mojiri et al., 2019). Sin embargo, dentro de estos compuestos existen 16 prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos por sus características persistentes, propiedades cancerígenas, mutagénicas y/o teratogénicas, su alta posibilidad de exposición a los humanos, su frecuencia de ocurrencia en sitios de residuos peligrosos y la extensa información disponible (Mojiri et al., 2019; US-EPA, 2014). En la Figura 1.1 se muestra la estructura para cada uno de los 16 HAPs prioritarios, en orden ascendente de acuerdo con el número de anillos.



**Figura 1.1 Estructura de los 16 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos prioritarios por la EPA (Anyakora et al., 2005)**

La presión de vapor de los HAPs es baja en comparación con otros compuestos orgánicos aromáticos como los bencenos, razón por la cual los convierten en compuestos persistentes (Abdel-Shafy & Mansour, 2016). Asimismo, la mayoría de los HAPs son compuestos hidrofóbicos y lipofílicos, lo que dificulta su prevalencia en el agua y favorece su sedimentación y su adsorción a partículas suspendidas (Mojiri et al., 2019). En la Tabla 1.1 se presentan algunas propiedades fisicoquímicas de los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA.

**Tabla 1.1 Propiedades fisicoquímicas de los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA**

Compuesto HAP	Abreviación	N° de anillos	Peso molecular (MW)	Presión de vapor (Pa, 25°C) <sup>a</sup>	Log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>
Naftaleno	Naf	2	128	11.14	3.30
Acenaftileno	Aci	3	152	3.87	3.94
Acenafteno	Ace	3	154	3.07	3.94
Fluoreno	Flu	3	166	1.66	4.18
Fenantreno	Fen	3	178	1.06E-01	4.46
Antraceno	Ant	3	178	8.60E-04	4.50
Fluoranteno	Fla	4	202	8.61E-04	5.10
Pireno	Pir	4	202	5.00E-05	4.88
Benzo(a)antraceno	BaA	4	228	5.43E-04	5.61
Criseno	Cri	4	228	4.00E-06	5.90
Benzo(b)fluoranteno	BbF	5	252	5.00E-07	6.12
Benzo(k)fluoranteno	BkF	5	252	5.20E-08	6.84
Benzo(a)pireno	BaP	5	252	6.00E-08	6.04
Dibenzo(a,h)antraceno	DaA	5	276	1.33E-08	6.50
Indeno(1,2,3-cd)pireno	Ind	6	278	1.27E-07	6.58
Benzo(g,h,i)perileno	Bghi	6	276	1.38E-08	6.58

<sup>a</sup> Presión de vapor a 25°C (Dat & Chang, 2017)

<sup>b</sup> Coeficiente de partición octanol – agua (INSST, 2020)

## 1.2. DINÁMICA EN EL MEDIO MARINO

Los HAPs son introducidos en un cuerpo marino mediante deposición húmeda desde la atmósfera o por descarga directa desde diferentes fuentes de contaminación (Tam et al., 2001). El comportamiento de los HAPs en el medio marino depende principalmente de dos factores: la presión de vapor y el coeficiente de partición octanol-agua ( $K_{ow}$ ).

Los compuestos con más baja presión de vapor (por ejemplo el BaP) son menos volátiles que compuestos con alta presión de vapor (como el Naf) (Abdel-Shafy & Mansour, 2016). Por lo tanto, compuestos como el Naf son más factibles a la resuspensión a la atmósfera o quedar disueltos en el agua, mientras que compuestos menos volátiles como el BaP tienen mayor facilidad de adherirse a las partículas suspendidas o sedimentar.

Por su parte, el  $K_{ow}$  es el cociente entre la concentración de solutos en octanol (el cual simula el material lipídico de la biota o sedimentos orgánicos) y la concentración de solutos en agua. Por lo tanto, a medida que el  $K_{ow}$  de los HAPs aumenta, la solubilidad de estos compuestos en el agua disminuye y la tendencia a acumularse en partículas sólidas incrementa. En este orden de

ideas, los compuestos de menor peso molecular como el Naf al tener menor  $K_{ow}$  pueden encontrarse ligeramente disueltos en el agua, en comparación con los compuestos más pesados como el Bghi que al tener un  $K_{ow}$  alto son pocos solubles en agua y tienden a sedimentar, acumularse en partículas sólidas o en el tejido graso de los organismos (Mojiri et al., 2019; Abdel-Shafy & Mansour, 2016). Consecuentemente, las partículas sólidas disueltas en el agua, juegan un papel importante en la biodisponibilidad de los HAPs en el agua.

Los HAPs pueden sufrir distintos procesos de depuración natural tales como: volatilización, fotooxidación, oxidación química, lixiviación y degradación microbiana, sin embargo a condiciones naturales no se degradan fácilmente convirtiéndose en compuestos persistentes, característica que aumenta al incrementar el peso molecular (Haritash & Kaushik, 2009). Además, otros procesos como adsorción, desorción, solubilización, resuspensión, biotransformación, hidrólisis y mineralización (SQG, 1999), generan que estas sustancias mantengan un proceso cíclico en el medio marino.

Los moluscos bivalvos son organismos invertebrados que poseen cuerpos aplanados y una concha con dos piezas o valvas, que lo cubre completamente. Están unidas por un ligamento que funciona a modo de bisagra el cual permite la apertura de la concha (Peteiro, Filgueira, & Fernández-Reiriz, 2019). Estos organismos pueden acumular los HAPs directamente por consumo de los HAPs solubilizados en el agua (generalmente HAPs con 2-3 anillos) a través de sus branquias o indirectamente por ingestión y asimilación de HAPs adheridos a los sedimentos de granos finos (generalmente HAPs con 4-6 anillos) a través de su tracto digestivo (Oros & Ross, 2005). En comparación con los peces y otros crustáceos, los bivalvos tienen muy poco nivel de actividad enzimática capaz de metabolizar los contaminantes orgánicos persistentes como los hidrocarburos aromáticos (León et al., 2013). Por lo tanto, estos compuestos tienden a acumularse a través de la bioconcentración y biomagnificación (Wang, Huang et al., 2020). De manera resumida, en la Figura 1.2 se presenta un diagrama sobre la dinámica que sufren los HAPs en el ambiente.

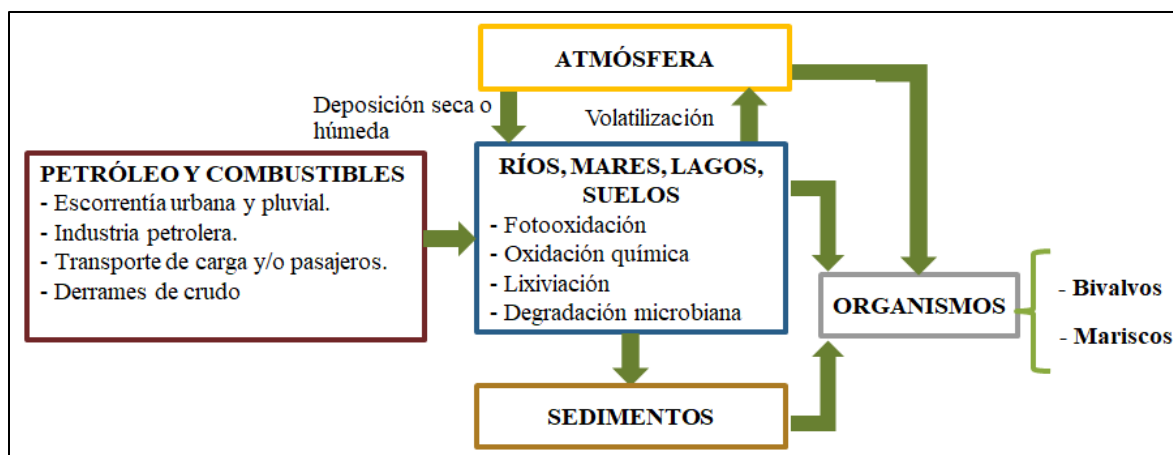


Figura 1.2 Dinámica en el ambiente de los HAPs. Fuente: elaboración propia.

### 1.3. IMPORTANCIA DE LOS MANGLARES

Dentro de los ecosistemas marinos de mayor importancia se encuentran los manglares, los cuales son zonas localizadas en costas tropicales y subtropicales. Se ubican entre la tierra, el agua dulce y el agua de mar (Ghizelini et al., 2019; Ranjan et al., 2012). Los manglares son áreas altamente vulnerables a actividades antropogénicas, como derrames de petróleo y sus derivados, que afectan los sedimentos, así como los organismos presentes y los dependientes que habitan en esta zona, como moluscos, crustáceos, peces, entre otros (Ghizelini et al., 2019).

Estas áreas son altamente productivas, sirven como zonas de desove y cría de especies migratorias. Por lo tanto, debido a su alta productividad primaria, juegan un rol fundamental para la sostenibilidad de comunidades pesqueras. Sin embargo, los manglares son áreas altamente vulnerables a actividades antropogénicas, como derrames de petróleo y sus derivados, afectando las concentraciones de HAPs sedimentos y todos los organismos presentes y dependientes (Ghizelini et al., 2019).

La recolección de mariscos en general ha estado en auge, con un aumento de 9% en el continente americano y 13.3% a nivel nacional de 1988 a 2018 (Ministerio de Agricultura, 2018). En Colombia la recolección/pesca de mariscos fue 5097 Ton en el año 2018 y son destinados principalmente para consumo nacional y para exportación a España, Ecuador, Estados Unidos y Panamá (FAO, 2020).

#### 1.4. PROBLEMÁTICA DE LOS HAPs EN LA SALUD HUMANA Y EN EL AMBIENTE

La Agencia Internacional de Investigación del cáncer (IARC) ha clasificado algunos contaminantes químicos de acuerdo con su grado de carcinogenicidad. En el grupo 1 se encuentran compuestos que se ha comprobado que son cancerígenos para los seres humanos. Por su parte, en el grupo 2A se encuentran compuestos probablemente cancerígenos para el hombre, es decir, existe evidencia limitada de que producen cáncer en seres humanos, pero existen pruebas suficientes de asociación con cáncer en animales de experimentación. Asimismo, en el grupo 2B se ubican los compuestos que posiblemente producen cáncer en humanos, lo que significa que existe evidencia limitada de asociación con cáncer en seres humanos y pruebas no concluyentes de que se puedan asociar con el cáncer en animales. Además, en el grupo 3 están los compuestos en donde aún no hay estudios suficientes y por lo tanto no se clasifican. Por último, el grupo 4 hace referencia a compuestos no cancerígenos. La clasificación de los HAPs bajo el criterio anterior se presenta en la Tabla 1.2 (IARC, 2012).

Adicionalmente, para evaluar la toxicidad de los HAPs se usan los factores de equivalencia tóxicos, que mide la toxicidad de estos compuestos mediante la asignación de un valor de factor de equivalencia tóxica (FET). El valor más alto es el del BaP con un valor de 1 y los demás tienen valores entre 0 y 1 de acuerdo con su relación de toxicidad con respecto a la del BaP. En la Tabla 1.2 se reportan los valores de FET para los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA (Nisbet & LaGoy, 1992).

De la misma manera, se han reportado factores de concentración mínima mutagénica (CMM), que miden el riesgo de generar mutaciones de estos compuestos. La técnica usada para la asignación de estos factores es similar a la usada para los FET, asignando el valor más alto de 1 para el BaP y para los demás compuestos son asignados de acuerdo con su relación de mutagenicidad con respecto a la del BaP. En la Tabla 1.2 (Durant et al., 1996) se reportan los factores CMM para los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA.

**Tabla 1.2 Clasificación por riesgo de cáncer, factores de equivalencias tóxicos y concentraciones mínimas mutagénicas para los 16 HAPs prioritarios por la US-EPA.**

Grupo	Clasificación	Compuesto	FET <sup>a</sup>	CMM <sup>b</sup>
1	Cancerígenos	Benzo(a)Pireno	1.0	1.0
2A	Probablemente cancerígenos	Dibenzo(a,h)Antraceno	1.0	0.29



Grupo	Clasificación	Compuesto	FET <sup>a</sup>	CMM <sup>b</sup>
2B	Posiblemente producen cáncer	Naftaleno	-	-
		Benzo(a)Antraceno	0.1	8.2x10 <sup>-2</sup>
		Criseno	0.01	1.7x10 <sup>-2</sup>
		Benzo(b)Fluoranteno	0.1	0.25
		Benzo(k)Fluoranteno	0.1	0.11
		Indeno(1,2,3-cd)Pireno	0.1	0.31
3	No se clasifica	Acenafteno	0.001	-
		Fluoreno	0.001	-
		Fenantreno	0.001	-
		Antraceno	0.01	-
		Fluoranteno	0.001	-
		Pireno	0.001	-
		Benzo(ghi)Perileno	0.01	0.19
4	No cancerígeno	Acenaftileno	0.001	5.6x10 <sup>-4</sup>

<sup>a</sup>Factor de equivalencia tóxico para cada HAP (Nisbet & Lagoy, 1992)

<sup>b</sup>Factor de concentración mínima mutagénica para cada HAP (Durant et al., 1996)

En los ecosistemas marinos, valores muy altos de concentración de HAPs, pueden causar efectos adversos a organismos bénticos cuando estos son expuestos a sedimentos marinos contaminados (NOAA, 1999). Asimismo, los HAPs tienden a acumularse en los organismos marinos a través de bioconcentración y biomagnificación, resultando finalmente en riesgos para la salud humana a través del consumo dietario (Wang et al., 2020). El consumo mundial de peces y otros mariscos el año 2013 fue de 19 kg per cápita por año (FAO, 2014) mientras que en Colombia esta cifra en 2018 fue de 8.4 kg per cápita por año (Ministerio de Agricultura, 2018). Lo anterior evidencia el riesgo al que muchos consumidores de peces y mariscos pueden estar expuestos.

## 1.5. NORMATIVA INTERNACIONAL Y NACIONAL

Para evaluar el riesgo que las concentraciones de HAPs en sedimentos marinos pueden causar en organismos bénticos expuestos a sedimentos marinos contaminados, la NOAA ha establecido que la concentración de la  $\Sigma 16\text{HAPs}$  no puede ser mayor que 1684.1 ng g<sup>-1</sup>. Por su parte, la guía canadiense para calidad de suelos establece los límites regulatorios con base al Equivalente Tóxico de BaP en donde este valor no puede superar los 600 ng-BaP g<sup>-1</sup>. Igualmente, para los HAPs individuales se establecen concentraciones máximas que estos compuestos deben tener para evitar riesgos a la biota (Ver Tabla 1.3) (SQG, 1999).

**Tabla 1.3 Límites regulatorios para las concentraciones individuales de los HAPs en sedimentos marinos.**

Compuesto	Concentración Límite SQG <sup>a</sup> (ng g <sup>-1</sup> )	Compuesto	Concentración Límite SQG (ng g <sup>-1</sup> )
Naftaleno	35	Benzo[a]antraceno	75
Acenaftileno	5.9	Criseno	108
Acenafteno	6.7	Benzo[b]fluoranteno	-
Fluoreno	21	Benzo[k]fluoranteno	-
Fenantreno	87	Benzo[a]pireno	89
Antraceno	47	Indeno[1,2,3-cd]pireno	-
Fluoranteno	113	Dibenz[a,h]antraceno	6.2
Pireno	153	Benzo[ghi]perileno	-

<sup>a</sup>SQG: Sediment Quality Guidelines (Directrices para la calidad de sedimentos para la protección de la vida acuática de Canadá).

Para evaluar el riesgo ecológico de HAP individual, existen normativas que permiten estimar si el efecto sobre el potencial biológico, es de rango de efectos bajo (REB) o rango de efectos medio (REM) (Cai et al., 2019; Lin, et al., 2017; Long et al., 1995). Las concentraciones de cada HAP por debajo del valor de REB indican poco o ningún efecto adverso sobre la biota, valores entre el REB y el REM indican que pueden ocasionalmente generar efectos adversos, mientras que valores por encima del REM indican que son muy probables los efectos adversos (Lin, et al., 2017; Lin et al., 2018; Qu et al., 2018b).

Para el consumo humano de organismos bivalvos, en Colombia la normativa (Ministerio de Salud y Protección Social Colombia, Resolución 122 de 2012, art. 6), establece los límites permitidos de la suma de las concentraciones de cuatro HAPs ( $\Sigma$ 4HAPs) (BaP, BaA, BbF y Cri), la cual no puede superar los 35 ng g<sup>-1</sup>. Al igual que en Colombia, la comisión de regulación de la Unión Europea establece los límites de concentración basados en la  $\Sigma$ 4HAPs mencionados anteriormente (Unión Europea, Reglamento N° 1327, 2014, art. 1; Unión Europea, Reglamento N° 835, 2011, art. 2), valor que no puede superar los 30 ng g<sup>-1</sup>. Para este estudio fue realizada la comparación con ambas normativas, con el objetivo de evaluar si las concentraciones de HAPs cumplen con las normativas nacional e internacional.

## 1.6. FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Los HAPs pueden provenir de fuentes de origen petrogénico dado el hecho que estos compuestos son constituyentes del petróleo, de origen pirolítico cuando resultan de la quema incompleta de materia orgánica o combustibles fósiles y de origen geogénico como emisiones volcánicas (Nascimento et al., 2017; Yunker et al., 2002). Estos contaminantes pueden ser introducidos al ambiente costero a través de derrames de crudo, tráfico de embarcaciones, descarga de aguas residuales, combustión de combustibles fósiles, fuentes no puntuales como escorrentías urbanas y lluvia atmosférica de los exhaustos de los vehículos (Ranjan et al., 2012; Tam et al., 2001).

Con base en la actividad portuaria y petrolera del municipio, en la bahía de Tumaco se han identificado los siguientes riesgos asociados a derrames de crudo: derrames invisibles atribuidos a pequeñas embarcaciones que transitan por el área, el terminal petrolero, derrames continentales atribuidos a posibles rupturas en el oleoducto, buques en tránsito fuera de la bahía de Tumaco que transitan de Sudamérica hacia el canal de Panamá y derrames off-shore (Tejada & Afanador, 2003). Adicionalmente, la fuerte presencia de la industria ilegal de producción de base de coca en la región (Gaviria & Mejía, 2011) generan residuos de gasolina que pueden ser vertidas frecuentemente sin control a las fuentes hídricas del municipio.

Diferentes relaciones diagnósticas de isómeros de HAPs han sido usadas en varios estudios para estimar si los HAPs en sedimentos provienen de fuentes petrogénicas, de combustión líquida o de combustión de biomasa o carbón. (Cai et al., 2019; Assunção et al., 2017; Nascimento et al., 2017). La selección de las relaciones diagnósticas adecuadas, dependen de los compuestos que sean detectados en las muestras analizadas. Dentro de las múltiples relaciones diagnósticas existentes, se ha demostrado en diferentes estudios que las relaciones Fla / (Fla + Pir) y Ant / (Ant + Fen) presentan mayor precisión en la estimación de las posibles fuentes de contaminación (Cai et al., 2019; Xue et al., 2016; Qu et al., 2018a; Montuori et al., 2016).

Adicionalmente, la relación HAPs-BPM/HAPs-APM, la cual corresponde a HAPs de bajo peso molecular (HAPs-BPM) y HAPs de alto peso molecular (HAPs-APM), permite conocer el comportamiento de la contaminación, dado que las fuentes petrogénicas tienden en general a producir HAPs-BPM, mientras que las fuentes pirogénicas producen principalmente HAPs-APM (Yunker et al., 2002).

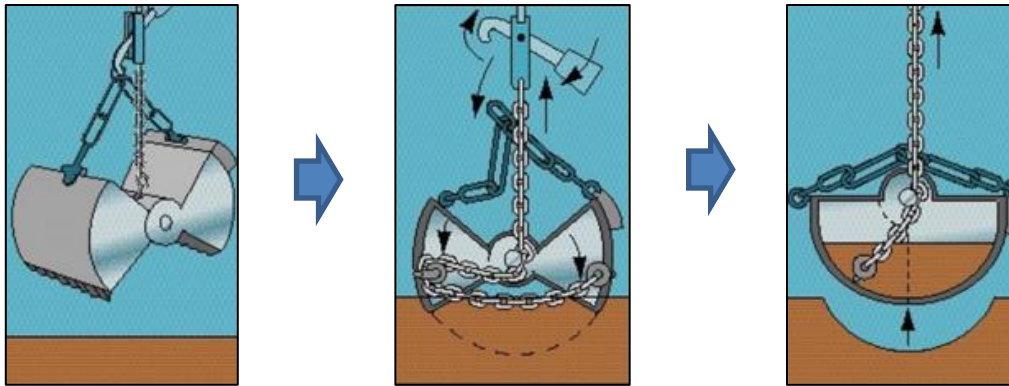
## **1.7. TOMA DE MUESTRAS**

El nivel de la marea en la costa pacífica se ve afectado por la atracción gravitacional que ejerce la luna y en menor medida el sol sobre la tierra, y por la fuerza centrífuga generada por la rotación de la tierra sobre su propio eje. La suma de estas dos fuerzas produce dos abultamientos de agua en la tierra: una en el lado de la Luna y otra en el lado opuesto. Debido a lo anterior, se producen periódicamente un ascenso y descenso de las mareas, en donde la mayor y menor amplitud alcanzada se denominan pleamar y bajamar respectivamente (Strobel, 2006). Estas condiciones varían diariamente y son pronosticadas por el IDEAM en su pronóstico de pleamares y bajamares en la costa pacífica colombiana (IDEAM, 2019).

Para la toma de muestras marinas para análisis de HAPs, generalmente se recomiendan condiciones de bajamar, dado que con estas características se favorece la deposición de la fracción fina, la cual presenta mayores concentraciones de contaminantes lipofílicos (González, Beretta, Fiscina, & Vidal, 2014; US-EPA, 2001).

Para el muestreo de aguas marinas, INVEMAR (2003) en su protocolo analítico plantea una metodología para la recolección de agua superficiales. Para el análisis de parámetros fisicoquímicos, la toma de muestra de agua marina se puede realizar de manera manual introduciendo la botella colectora bajo la superficie a una profundidad aproximada de 25 cm.

Para el muestreo de sedimentos marinos la US-EPA (2001) ha establecido un protocolo, el cual se describe en el método 823-B-01-002. Asimismo, diversas entidades nacionales como INVEMAR (2003) han establecido protocolos para la recolección de muestras. Para zonas profundas existen diversos tipos de equipos como dragas o corazonadores. Las dragas más comunes para recolección de muestras de sedimentos son las dragas Van Veen, las cuales están conformadas por dos mandíbulas que al tocar el fondo se accionan mediante un mecanismo de palanca y se cierran tomando la muestra (Instituto de Fomento Pesquero, 2009). En la Figura 1.3 se presenta una representación del mecanismo de acción de las dragas Van Veen para toma de muestras de sedimentos.



**Figura 1.3 Mecanismo de acción de las dragas Van Veen para toma de sedimentos marinos, adaptada de (ECOIM, 2016)**

Una de las ventajas de las dragas Van Veen con respecto a otros equipos de muestreo de sedimentos, es que, al estar conectadas a un sistema de polea conocido como malacate, permiten el muestreo desde una embarcación, evitando el riesgo de recurrir al muestreo directo mediante buceo, especialmente, en zonas contaminadas (Guerra-García & García-Gómez, 2008). La profundidad y el volumen de recolección de las muestras pueden variar, dependiendo del tamaño de la draga.

Por otro lado, para el caso de muestreo de sedimentos marinos en zonas poco profundas, como por ejemplo los manglares. El muestreo se realiza de manera manual, utilizando espátulas de acero inoxidable, previamente descontaminadas (INVEMAR, 2003; US-EPA, 2001).

En sedimentos marinos de la bahía de Tumaco, un estudio realizado por Tejada & Afanador (2003) estableció para la costa de Tumaco un mapa con índice de sensibilidad ambiental (ISA), el cual permite clasificar los diferentes tipos de sedimentos costeros con base en su granulometría y la sensibilidad a los derrames de hidrocarburos. El valor de ISA varía entre 1 y 10 dependiendo de la granulometría de sedimentos, siendo un ISA=1 para orillas rocosas o acantilados, ISA=3 para playas de arena de grano medio, ISA=7 para playas de arena de grano fino y un ISA=10 para manglares y pantanos los cuales tienen arena de grano muy fino.

Para el muestreo de *Anadara tuberculosa* las metodologías planteadas en el protocolo analítico de INVEMAR (2003) y en la guía de muestreo del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente PNUMA (2008), establecen que la recolección de *Anadara tuberculosa* se puede realizar de manera manual utilizando espátulas de acero inoxidable o cuchillos de ostras. Las

muestras recolectadas deben ser preservadas en papel aluminio y bolsas plásticas y, refrigeradas durante su transporte al laboratorio.

Los parámetros fisicoquímicos como pH, conductividad, turbidez, dureza y sólidos suspendidos totales (SST), generalmente se determinan con base en los métodos estipulados en el “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” de la American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) y Water Pollution Control Facility (WPCF) (APHA, AWWA, & WPCF, 1995). En el libro publicado por Londoño, Giraldo, & Gutiérrez (2010), se hace una recopilación y adaptación de estos métodos.

## 1.8. MÉTODO ANALÍTICO VERDE

Para el análisis de HAPs la US-EPA establece diferentes técnicas, las cuales se basan principalmente en cromatografía de gases (CG) acoplada a espectrometría de masa (MS), detector por ionización de llamas (FID) u otro tipo de detectores. Para el caso de compuestos orgánicos semivolátiles como los HAPs, la US-EPA (2018) mediante el método 8270 establece un método analítico para el análisis de estos compuestos mediante CG-MS.

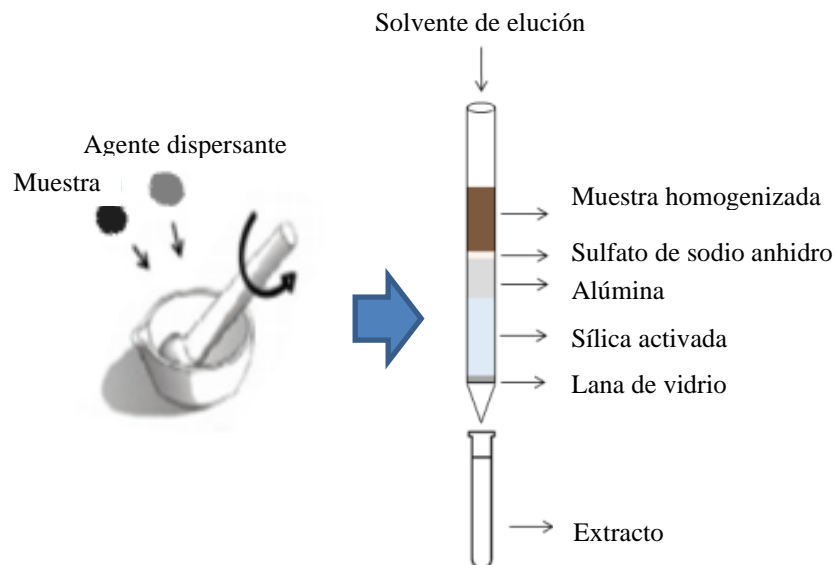
Previo al análisis por cromatografía se debe realizar una serie de técnicas de preparación de muestras y extracción que permitan obtener un extracto con los analitos objetivos. Para muestras sólidas, la US-EPA propone diversas técnicas como las que se listan en la Tabla 1.4 y su selección depende de la matriz de donde se deseen extraer los analitos.

**Tabla 1.4 Métodos de la US-EPA para la preparación de muestras sólidas para análisis de HAPs**

<b>Proceso</b>	<b>Nº Método EPA</b>	<b>Descripción</b>
Extracción	3540, 3541, 3542	Extracción soxhlet
	3545	Extracción por fluido presurizado
	3546	Extracción por microondas
	3550	Extracción ultrasónica
	3560, 3561, 3562	Extracción por fluido supercrítico
Limpieza y fraccionamiento	3580	Dilución del residuo/sólido
	3611	Columna empacada con alúmina
	3630	Columna empacada con sílica gel
	3640	Gel de permeación
	3535	Extracción en fase sólida

Dado la complejidad de estas técnicas de preparación de muestras y al impacto ambiental por el uso de solventes orgánicos, diferentes autores han desarrollado métodos modificados para la preparación de muestras de sedimentos marinos y bivalvos. Para la preparación de muestras de sedimentos, Oliveira et al. (2018), se basa en la extracción dinámica con solventes asistida por ultrasonido (DSASE) y filtración por membrana, para extraer los analitos y purificar el extracto respectivamente. Este método presenta la característica de que la extracción se realiza con una pequeña cantidad de muestra y una baja cantidad de solvente orgánico, en comparación con otras técnicas como la extracción Soxhlet.

Por otro lado, para el caso de tejidos de organismos acuáticos, Camargo (2019), utiliza un método de extracción mediante dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD). El principio de la extracción MSPD consiste en aumentar el área superficial de la muestra, mediante un material llamado agente dispersante, el cual es mezclado con la muestra, y luego la mezcla es homogenizada y pulverizada con apoyo de un mortero y mazo (Barker, Long, & Short, 1989). Diferentes agentes dispersantes como octadecilsilano (C18), florisil, alúmina, sílica ( $\text{SiO}_2$ ), nanopartículas metálicas y polímeros pueden ser usados dependiendo de la polaridad y característica de los analitos. Posteriormente, la mezcla es transferida a una columna empacada para realizar el proceso de extracción y limpieza-fraccionamiento, los cuales se realizan en una sola etapa. En comparación con los métodos tradicionales, esta técnica presenta la ventaja de que al realizar el proceso de extracción y limpieza-fraccionamiento en una sola etapa, hay ahorro de solvente orgánico que en un método tradicional se usaría en la etapa de extracción, reduciendo por lo tanto su impacto ambiental. En la Figura 1.4 se presenta un esquema del principio básico de la técnica de MSPD.



**Figura 1.4 Principio básico de la técnica de MSPD, adaptado de (Camargo, 2019)**

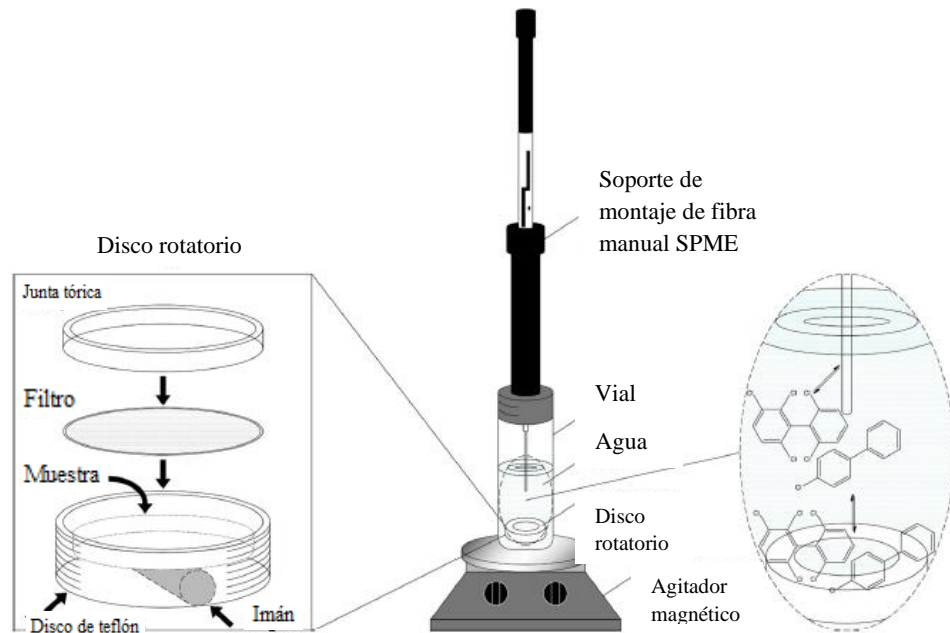
Un método analítico alternativo que permite analizar compuestos orgánicos no-polares de matrices sólidas, sin tener que recurrir al uso de solventes orgánicos, es el método híbrido acoplado de lixiviación desde RDSE y microextracción con SPME (RDSE - SPME) implementado por Mendes et al. (2018).

El método RDSE - SPME, consiste en dos etapas: en la primera una porción de muestra sólida es añadida en la cavidad de un disco rotatorio, el cual es sellado con papel filtro y anillo de teflón y es sumergido en un vial, en donde una cantidad conocida de agua desionizada mezclada con NaCl es añadida al sistema y mediante rotación los analitos son transferidos (lixiviación) hacia el medio acuoso (Mendes et al., 2018). Sin embargo, la muy baja solubilidad de algunos HAPs puede dificultar la partición sólido-agua durante esta etapa (Kronenberg et al., 2017; Kim & Lee, 2019).

En la segunda etapa, se somete el sistema a calentamiento, en donde se favorece la partición del sólido a la fase acuosa, asimismo, la alta temperatura favorece la dilución de los analitos en el agua (Smith, 2002). Posteriormente, la fibra es sumergida por inmersión directa en el medio acuoso, en donde los analitos por difusión se transfieren hacia el espacio de cabeza y la partición agua-fibra ocurre. Una vez se cumple el tiempo de extracción, la fibra es trasladada al puerto de inyección del GC el cual se encuentra a una temperatura determinada y por desorción térmica



los analitos son liberados en el equipo para su análisis cromatográfico. En la Figura 1.5 se muestra un esquema general del procedimiento RDSE - SPME.



**Figura 1.5 Diagrama esquemático del método RDSE - SPME para análisis de HAPs en muestras sólidas, adaptado de (Mendes et al., 2018)**

Para evaluar el grado de química verde de los métodos analíticos existen diferentes métodos, uno de ellos es el uso de la eco-escala analítica propuesta por Galuszka (2012). Esta escala esta basada en la asignación de puntos de penalidad a parámetros de un proceso analítico que afectan al medio ambiente. Una vez se determinan los puntos de penalidad totales, se calcula el valor de eco-escala. En esta escala se tienen en cuenta cinco parámetros: cantidad de solvente usado, nivel de peligro de los solventes usados, consumo de energía del método, riesgos ocupacionales y residuos generados.

## **CAPITULO 2 - METODOLOGÍA**

---

La metodología que se presenta a continuación muestra primero los aspectos relacionados con la toma de muestra realizada el 11 de septiembre de 2019. Luego se detallan los métodos analíticos utilizados para la determinación de parámetros fisicoquímicos, la evaluación de los parámetros de validación del método de análisis de HAPs en sedimento marino certificado, método de análisis de HAPs en muestras tanto de sedimentos marinos como bivalvos y el método de cuantificación de los HAPs. Posteriormente, se muestran las relaciones diagnósticas para la estimación de posibles fuentes de contaminación. Consecuentemente, se describe el método usado para la evaluación de los riesgos toxicológicos. Finalmente, se presenta el método usado para realizar los ensayos preliminares del método verde para análisis de HAPs en muestras sólidas.

### **2.1 MUESTREO**

Para llevar a cabo el muestreo se tuvieron en cuenta tres aspectos fundamentales: la vulnerabilidad y amenazas del área de estudio para ubicar los puntos de muestreo, la dinámica de las mareas para seleccionar la hora adecuada para realizar el muestreo y la selección de equipos y metodología para el muestreo.

#### **2.1.1 UBICACIÓN DE PUNTOS DE MUESTREO**

La bahía de Tumaco se encuentra ubicada en el municipio del mismo nombre, en el extremo sur de la costa pacífica de Colombia, frontera con Ecuador, entre las coordenadas (01°37'00"N, 79°01'00"O) y (02°09'30"N, 78°26'00"O). En la bahía existen numerosos ecosistemas marinos y costeros, con gran predominio de manglares (Tejada & Afanador, 2003). Una de las principales actividades económicas que se realizan en este municipio es el de transporte y exportación de hidrocarburos, los cuales llegan al puerto a través del oleoducto transandino. Además, gran parte de la población subsiste de la producción acuícola artesanal, dentro de la cual uno de los principales productos son los moluscos bivalvos, los cuales habitan en los manglares.

Con base en la actividad portuaria y petrolera del municipio, en la bahía de Tumaco se han identificado los siguientes riesgos asociados a derrames de crudo: derrames invisibles atribuidos a pequeñas embarcaciones que transitan por el área, el terminal petrolero, derrames continentales

atribuidos a posibles rupturas en el oleoducto, buques en tránsito fuera de la bahía de Tumaco que transitan de Sudamérica hacia el canal de Panamá y derrames off-shore que ocurren en Ecuador y que por su cercanía son arrastrados hasta la bahía de Tumaco (Tejada & Afanador, 2003).

La selección de los puntos de muestreo para HAPs en la bahía de Tumaco se basó en el interés de conocer el aporte que tienen las posibles fuentes mencionadas anteriormente, la distribución de la contaminación y el impacto en *Anadara tuberculosa* y en los ecosistemas marinos y estuarinos de la bahía.

El área de estudio se dividió en tres sub-áreas para el muestreo de sedimentos marinos y bivalvos (*Anadara tuberculosa*), cada una con riesgos diferentes por derrame de crudo. Se garantizó la presencia en cada sub-área de al menos un manglar en donde habitara la especie comercial *Anadara tuberculosa*. Dentro de cada sub-área fueron seleccionados diferentes puntos de muestreo.

Las muestras de *Anadara tuberculosa* fueron recolectadas en cuatro puntos de muestreo y en un punto adicional fueron compradas a comerciantes de la zona, con el objetivo de conocer si existe contaminación en muestras comercializadas. En los puntos en donde se recolectaron bivalvos, fueron tomadas muestras de agua y de sedimentos marinos. Adicionalmente, fueron tomadas muestras de sedimentos marinos en otros puntos de la bahía, con el objetivo de conocer la distribución espacial de la concentración de HAPs.

El área de estudio tanto para sedimentos marinos como bivalvos fue dividida en tres sub-áreas, con base en la ubicación geográfica y en las posibles fuentes de contaminación. Las sub-áreas seleccionadas se describen a continuación:

**Área portuaria de Tumaco (Isla del Morro):** El área portuaria de Tumaco se caracteriza principalmente por contar con la presencia de diversos puertos, en donde reciben barcos de hasta 6 metros de calado con marea alta y de hasta 145 metros de largo (RIMISP, 2017). Dentro de los principales productos que son transportados por los buques transeúntes, se encuentran el crudo de petróleo que llega al puerto desde Putumayo a través del oleoducto transandino para ser exportado, también combustibles líquidos derivados de petróleo que llegan al puerto mediante vía marítima desde las refinerías de petróleo para ser distribuido a las estaciones de servicio en la región.

Debido a lo anterior, en esta sub-área se identifican principalmente los siguientes riesgos por derrames: derrames asociados a actividades de carga y descargue de hidrocarburos, derrames invisibles atribuibles a pequeñas embarcaciones que transitan en la zona, buques en tránsito fuera de la bahía y derrames off-shore provenientes de Ecuador. En esta sub-área fue seleccionado un punto de muestreo (P1) en donde se recolectaron muestras de *Anadara tuberculosa*, sedimento marino y agua, y siete puntos adicionales (P2, P8, P9, P10, P11 y P12) en donde solo se recolectaron muestras de sedimento marino.

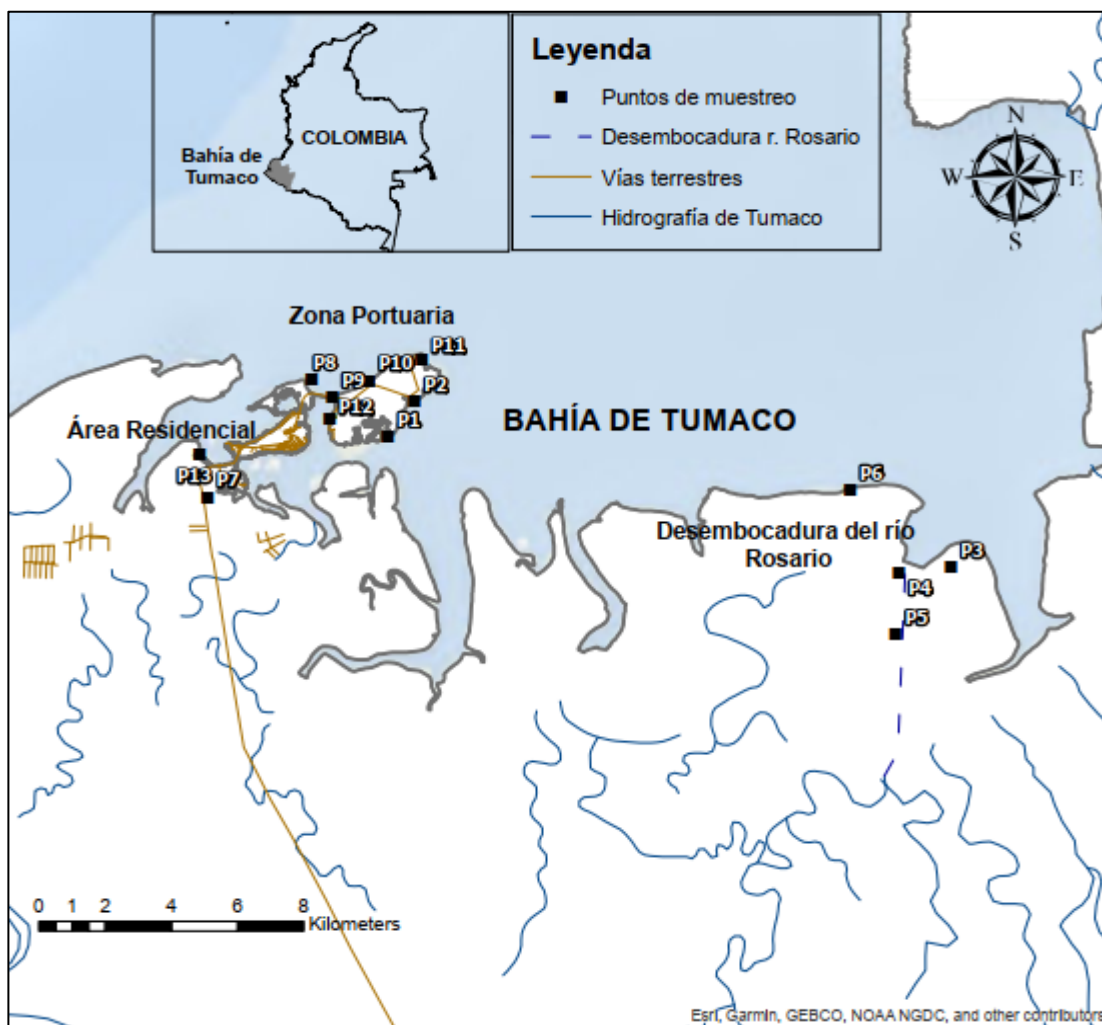
**Desembocadura del Río Rosario (Trujillo):** Esta es un área estuarina en donde desemboca el río Rosario sobre el océano Pacífico. Este río cuenta con una longitud de 75 km y es el de segunda importancia en el territorio municipal, teniendo una influencia sobre el 60 % de la ensenada de Tumaco (Alcaldía de Tumaco, 2008). Esta zona se encuentra en un área rural del municipio, alejada del casco urbano y de la zona portuaria, en donde, el flujo de embarcaciones es bajo (principalmente pequeñas lanchas de pescadores en la zona).

A lo largo de la historia, el río Rosario se ha visto afectado por derrames continentales de crudo, principalmente como consecuencia de rupturas en el oleoducto transandino. Por esta razón, en el área de Trujillo (localidad en donde desemboca el río) se han presentado concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  muy altas, llegando a registrar valores de  $20140 \text{ ng g}^{-1}$  (DIMAR, 2003). Este valor se encuentra muy por encima de  $1684.1 \text{ ng g}^{-1}$ , nivel crítico establecido por la NOAA (1999). Uno de los derrames más reciente sobre el río Caunapí el cual desemboca en el río Rosario se presentó en el año 2018 (Redacción Economía, 2018). Posterior a este último evento no se han evaluado los niveles de concentración de HAPs en la zona.

Con base en las consideraciones anteriores, en esta sub-área fueron identificados principalmente los siguientes riesgos de derrames: derrames continentales atribuidos a posibles rupturas en el oleoducto, derrames invisibles de pequeñas embarcaciones que transitan en la zona y derrames Offshore (Tejada & Afanador, 2003). Para este estudio fueron seleccionados en esta sub-área dos puntos de muestreo (P4 y P5) en el área interna del estuario, en ambos fueron recolectadas muestras de *Anadara tuberculosa*, sedimento marino y agua, un punto de control (P3) en donde fueron obtenidas *Anadara tuberculosa* que eran comercializadas por recolectores/vendedores de esta especie en la zona y un punto de muestreo (P6) en el área externa (zona marina) en donde solo fue muestreado sedimento marino y

**Zona residencial (Sector del Pindo):** Esta zona se encuentra ubicada en la zona continental del municipio de Tumaco, conformada por un gran número de barrios densamente poblados y por una gran cantidad de esteros y manglares. En esa zona hay un alto flujo de embarcaciones pequeñas que se dedican a transportar pasajeros. En esta sub-área fue seleccionado un punto de muestreo de manglar (P13) en donde fueron recolectadas muestras de *Anadara tuberculosa*, sedimento marino y agua, y un punto adicional (P7) en donde solo se muestreó sedimento marino.

En la Figura 2.1, se presenta la ubicación de los puntos de muestreo seleccionados para este estudio en la bahía de Tumaco.



**Figura 2.1.** Ubicación de los puntos de muestreo para determinación de HAPs en la bahía de Tumaco

En la Tabla 2.1 se presenta un resumen de las características de los puntos de muestreo y se muestra el número de muestras de sedimentos y bivalvos recolectados en cada uno de ellos.

De la Tabla 2.2 a la Tabla 2.4 se presentan las principales características en cada área de muestreo, se describen las matrices recolectadas en cada punto y se muestra un registro fotográfico del área de estudio y del procedimiento de muestreo.

**Tabla 2.1 Resumen de las características y muestras recolectadas en los puntos de muestreo**

Punto de muestreo	Área	Índice de sensibilidad ambiental (ISA)		Flujo de embarcaciones	Latitud	Longitud	Muestras recolectadas		
		Valor ISA	Tipo sedimento				Sedimento	Bivalvo	Agua
1	Portuaria	3	Arena grano medio	Alto	01°48'29"N	78°44'23"O	1	3	1
2	Portuaria	7	Arena grano fino	Alto	01°49'03"N	78°43'57"O	1	0	0
3	Desembocadura	10	N/A	N/A	Bivalvos comprados a vendedores de la zona		0	3	0
4	Desembocadura	10	Lodo de manglar	Bajo	01°49'55"N	78°43'52"O	1	5	1
5	Desembocadura	10	Lodo de manglar	Bajo	1°45'12"N	78°36'6"O	1	4	1
6	Desembocadura	7	Arena grano fino	Medio	1°47'36"N	78°36'50"O	1	0	0
7	Residencial	7	Arena grano fino	Medio	1°47'28"N	78°47'19"O	1	0	0
8	Portuaria	3	Arena grano medio	Medio	1°49'25"N	78°45'37"O	1	0	0
9	Portuaria	3	Arena grano medio	Medio	1°49'7"N	78°45'17"O	1	0	0
10	Portuaria	3	Arena grano medio	Medio	1°49'24"N	78°44'41"O	1	0	0
11	Portuaria	3	Arena grano medio	Medio	1°49'46"N	78°43'49"O	1	0	0
12	Portuaria	3	Arena grano medio	Medio	1°48'46"N	78°45'20"O	1	0	0
13	Residencial	10	Lodo de manglar	Medio	1°48'12"N	78°47'27"O	1	5	1

**Tabla 2.2 Ficha de campo del área portuaria en la bahía de Tumaco para la toma de muestras de sedimento marino, *Anadara tuberculosa* y agua marina, año 2019**

ÁREA PORTUARIA DE TUMACO		
Característica	Detalle	
<b>Datos básicos y ubicación</b>		
Nombre	Área Portuaria	
Ubicación	Isla el Morro	
Ambiente	Urbano	
Municipio	Tumaco	
Departamento	Nariño	
Georreferenciación	Latitud	01°48'29"N
	Longitud	78°44'23"O
	Altitud (msnm)	0
Principales actividades económicas	Actividad portuaria y recreación (playas turísticas).	
Fecha de muestreo	11/09/2019	
<b>Riesgo asociado con las principales amenazas</b>		
Carga y descarga de hidrocarburos	Alto	
Derrames continentales (ruptura oleoducto)	Bajo	
Flujo de embarcaciones	Medio	
Buques en tránsito fuera de la bahía	Medio	
Derrames Off-shore (Ecuador)	Bajo	
<b>Puntos de muestreo</b>		
Muestreo de sedimentos, bivalvos y agua	P1	
Muestreo solo de sedimentos	P2, P8, P10, P11 y P12	
<b>Registro fotográfico</b>		



Tabla 2.3 Ficha de campo del área de desembocadura del río Rosario en la bahía de Tumaco para la toma de muestras de sedimento marino, *Anadara tuberculosa* y agua marina, año 2019


DESEMBOCADURA DEL RÍO ROSARIO		
Característica		Detalle
<b>Datos básicos y ubicación</b>		
Nombre		Desembocadura del Río Rosario
Ubicación		Ensenada de Tumaco (vereda Trujillo)
Ambiente		Rural
Municipio		Tumaco
Departamento		Nariño
Georreferenciación	Latitud	01°49'55.4"
	Longitud	78°43'52.8"
	Altitud (msnm)	0
Principales actividades económicas		Pesca y recolección de moluscos
Fecha de muestreo		11/09/2019
<b>Riesgo asociado con las principales amenazas</b>		
Carga y descarga de hidrocarburos		Medio
Derrames continentales (ruptura oleoducto)		Alto
Flujo de embarcaciones		Bajo
Buques en tránsito fuera de la bahía		Medio
Derrames Off-shore (Ecuador)		Bajo
<b>Puntos de muestreo</b>		
Muestreo de sedimentos, bivalvos y agua		P4 y P5
Muestreo solo de sedimentos / solo bivalvos		P6 / P3
<b>Registro fotográfico</b>		
 <p>The 'Registro fotográfico' section contains two images. On the left is a satellite map from Google Earth titled 'Desembocadura del río Rosario'. The map shows the river's path through a green, hilly landscape. Four sampling points are marked with yellow arrows and labeled: P6 is at the northern end of the river mouth; P4 and P3 are in the middle section; P5 is further south. A legend in the top right corner of the map area indicates that the yellow arrows represent 'Puntos de muestreo'. On the right is a photograph showing a person wearing a red life vest and a blue shirt, leaning over the side of a boat to collect a sample from the river water. The background shows dense vegetation and trees along the riverbank.</p>		

Tabla 2.4 Ficha de campo de la zona residencial en la bahía de Tumaco para la toma de muestras de sedimento marino, *Anadara tuberculosa* y agua marina, año 2019

ZONA RESIDENCIAL		
Característica	Detalle	
<b>Datos básicos y ubicación</b>		
Nombre	Zona Residencial	
Ubicación	Sector del Pindo	
Ambiente	Urbano	
Municipio	Tumaco	
Departamento	Nariño	
Georreferenciación	Latitud	1°48'12.06"N
	Longitud	78°47'27.69"O
	Altitud (msnm)	0
Principales actividades económicas	Pesca y zona residencial	
Fecha de muestreo	11/09/2019	
<b>Riesgo asociado con las principales amenazas</b>		
Carga y descarga de hidrocarburos	Medio	
Derrames continentales (ruptura oleoducto)	Bajo	
Flujo de embarcaciones	Medio	
Buques en tránsito fuera de la bahía	Medio	
Derrames Off-shore (Ecuador)	Bajo	
<b>Puntos de muestreo</b>		
Muestreo de sedimentos, bivalvos y agua	P13	
Muestreo solo de sedimentos	P7	
<b>Registro fotográfico</b>		

### 2.1.2 SELECCIÓN DE DÍA Y HORA DE MUESTREO

Para el muestreo de sedimentos y suelos, existen diferentes tipos de muestreo (muestreo de identificación, muestreo de detalle, muestreo de nivel de fondo y muestreo de comprobación) (Ministerio de Ambiente Perú, 2014). El muestreo de identificación es de carácter exploratorio

y en él solo se realiza una campaña de muestreo, en la cual se busca identificar si una zona se encuentra contaminada o no. En estudios en donde se recolectan muestras marinas de zonas muy apartadas, este tipo de muestreo es muy común dado que es difícil el acceso continuo a esos lugares. Asimismo, las muestras simples (tomadas en un tiempo y un lugar particular), permiten representar las condiciones puntuales de una muestra y son aplicables para compuestos orgánicos volátiles, hidrocarburos y los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xilenos) (Ministerio de Ambiente Perú, 2014). En este estudio se realizaron muestreos simples de identificación, con el objetivo de conocer el nivel de contaminación en los puntos de muestreo seleccionados.

Cuando se desea realizar muestreo de sedimentos para análisis de contaminantes, es recomendado tomar las muestras en un periodo de bajamar, debido a que a estas condiciones se favorece la deposición de la fracción fina las cuales presentan mayores concentraciones de contaminantes lipofílicos (González, Beretta, Fiscina, & Vidal, 2014; US-EPA, 2001). Asimismo, esta condición favorece el ingreso a los manglares para la búsqueda y recolección de *Anadara tuberculosa*.

Con base al pronóstico del IDEAM (2019) fue determinado que para el día 11 de septiembre de 2019 (día en el cual se realizó el muestreo), ocurría pleamar a las 01h55min disminuyendo hasta bajamar a las 08h04min aumentando nuevamente hasta pleamar a las 14h14min y disminuyendo nuevamente hasta bajamar a las 20h29min. Con base en lo anterior, fue llevado a cabo el muestreo desde las 06h00min - 12h00min y desde las 17h00min – 19h00min del 11 de septiembre de 2019, horas en las cuales los niveles de marea se encontraban en estado de bajamar.

### **2.1.3 EQUIPOS Y METODOLOGÍA DE MUESTREO**

Para el muestreo de aguas marinas fue utilizada la metodología planteada en el protocolo analítico de INVEMAR (2003). El muestreo de agua marina fue realizado de manera manual debido a que las muestras fueron superficiales.

Para el muestreo de sedimentos marinos fueron utilizadas las metodologías planteadas en el método 823-B-01-002 de la US-EPA (2001) y el protocolo analítico de INVEMAR (2003). Para zonas profundas (> 1 m) se utilizó una draga Van Veen de acero inoxidable, anclado a un malacate el cual permite introducir la draga hasta el fondo del mar. Este equipo fue

proporcionado por el laboratorio de Hidráulica del GTA en Ingeniería Hidráulica y Ambiental de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. La profundidad de las muestras recolectadas no superó los 4 m. Por otro lado, para zonas poco profundas (< 1 m) como el caso de los manglares, el muestreo fue realizado de manera manual utilizando espátulas.

Para el muestreo de *Anadara tuberculosa* fueron utilizadas las metodologías planteadas en el protocolo analítico de INVEMAR (2003) y en la guía de muestreo del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente PNUMA (2008). Con base en estos protocolos, la recolección de *Anadara tuberculosa* fue realizada de manera manual utilizando espátulas y cuchillos de ostras.

#### **2.1.4. PREPARACIÓN DE MATERIALES**

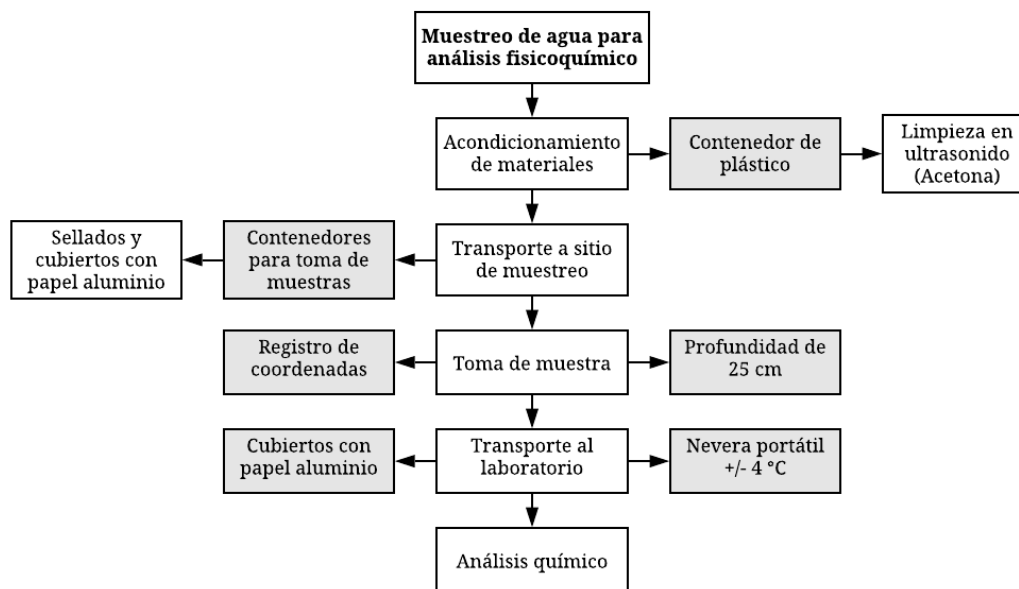
Todos los materiales usados para el muestreo (papel aluminio, pinzas, contenedores) pasaron previamente por un proceso de pretratamiento. El papel aluminio fue lavado con hexano, secado en un horno a 60 °C por 1 hora y calcinado en una mufla a 400 °C por 4 horas, ambos procesos fueron realizados en el laboratorio de Procesos Productivos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Los demás materiales fueron sometidos a un proceso de extracción con solvente asistido por ultrasonido durante 30 minutos, empleando agua ASTM Tipo I, obtenida con equipos de la compañía Millipore (milli-Q) como solvente de extracción (limpieza) y un equipo de baño ultrasónico Branson 3510, procedimiento realizado en el laboratorio de Calidad del Aire de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Las ondas ultrasónicas permiten formar burbujas microscópicas que al colapsar producen un efecto llamado cavitación, el cual aumenta la presión y la temperatura en el solvente, el aumento de presión facilita el ingreso de solvente a los poros de los materiales y el aumento de temperatura permite remover más fácilmente los contaminantes presentes. Posteriormente, los materiales fueron secados en un horno a 105 °C y lavados con acetona para remover los posibles contaminantes remanentes.

Una vez culminado el pretratamiento, todos los materiales fueron cubiertos con papel aluminio tratado y almacenados hasta su uso. Asimismo, el papel aluminio usado para la recolección de muestras fue almacenado en bolsas ziploc.

## ***MUESTREO DE AGUA MARINA***

Para el muestreo de aguas marinas fue usada la metodología planteada en el protocolo analítico de INVEMAR (2003). Se tomaron 50 mL de muestras de agua en contenedores plásticos, cubiertos con papel aluminio para evitar la exposición a la radiación solar, transportadas bajo refrigeración en una nevera portátil con pilas de gel refrigerantes a una temperatura aproximada de 4 °C y utilizadas para la determinación de parámetros fisicoquímicos, estas muestras fueron tomadas en los puntos en donde se tomaron muestras de *Anadara tuberculosa*. En vista de que el agua muestreada fue superficial, el muestreo se realizó de manera manual, introduciendo el contenedor plástico bajo la superficie a una profundidad aproximada de 25 cm.

Dado las limitaciones para el traslado de equipos para la medición de parámetros in-situ y reactivos para la conservación de parámetros no conservativos, de acuerdo a lo sugerido por el protocolo de INVEMAR (2003), todas las muestras de agua recolectadas fueron transportadas bajo refrigeración en una nevera portátil con pilas de gel refrigerantes a una temperatura aproximada de 4 °C y todos los parámetros fueron medidos inmediatamente se llevaron las muestras al laboratorio de Procesos Productivos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales. Para el análisis de dureza no fue posible realizar el acondicionamiento in situ de la muestra, debido a problemas logísticos para transportar los reactivos necesarios hasta el municipio de Tumaco. En la Figura 2.2 se muestra el diagrama de flujo del procedimiento utilizado para el muestreo de agua marina.



**Figura 2.2 Diagrama de flujo para el muestreo de agua marina para análisis fisicoquímico**

## ***MUESTREO DE SEDIMENTOS***

Para el muestreo de sedimentos marinos fueron utilizadas las metodologías planteadas en el método 823-B-01-002 de la US-EPA (2001) y el protocolo analítico de INVEMAR (2003). Para zonas profundas (profundidad mayor a 1 m) el muestreo fue realizado con un muestreador de sedimentos tipo draga Van Veen de acero inoxidable, anclado a un malacate el cual permite introducir la draga hasta el fondo del mar. Por otro lado, para zonas poco profundas como manglares (profundidad menor a 1 m) el muestreo fue realizado de manera manual utilizando espátulas.

Los materiales de muestreo como espátulas y pinzas previamente acondicionados fueron transportados hasta el sitio de muestreo almacenados en bolsas ziploc para evitar contaminación durante el transporte. De acuerdo con la profundidad del sitio de muestreo se seleccionó el método de recolección adecuado (manual o sistema draga/malacate), se registró la coordenada geográfica del sitio de muestreo y se realizó el muestreo.

Las muestras recolectadas manualmente con espátulas fueron depositadas en papel aluminio tratado, selladas y almacenadas en bolsas ziploc. Por otra parte, las muestras recolectadas con draga se dejaron escurrir el agua, se les extrajo una porción de la parte central de la draga para evitar la contaminación por parte de la superficie de la draga, fueron depositadas en papel

aluminio tratado, selladas y almacenadas en bolsas ziploc. Solo fueron conservadas como muestras de sedimentos aquellas que tuvieran mayoritariamente materiales finos (US-EPA, 2001; PNUMA, 2008), por lo tanto, las muestras con gran cantidad de materiales rocosos fueron descartadas. Tanto durante el muestreo como en el transporte hacia el laboratorio de Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas en Manizales, las muestras fueron mantenidas bajo refrigeración en una nevera portátil con pilas de gel refrigerantes, a una temperatura aproximada de 4 °C. Una vez en el laboratorio de Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas las muestras fueron almacenadas en un congelador a una temperatura aproximada de -20°C hasta su transporte hacia el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná en Brasil, para el análisis de HAPs. En la Figura 2.3 se describe el procedimiento empleado para la recolección de muestras de sedimentos.

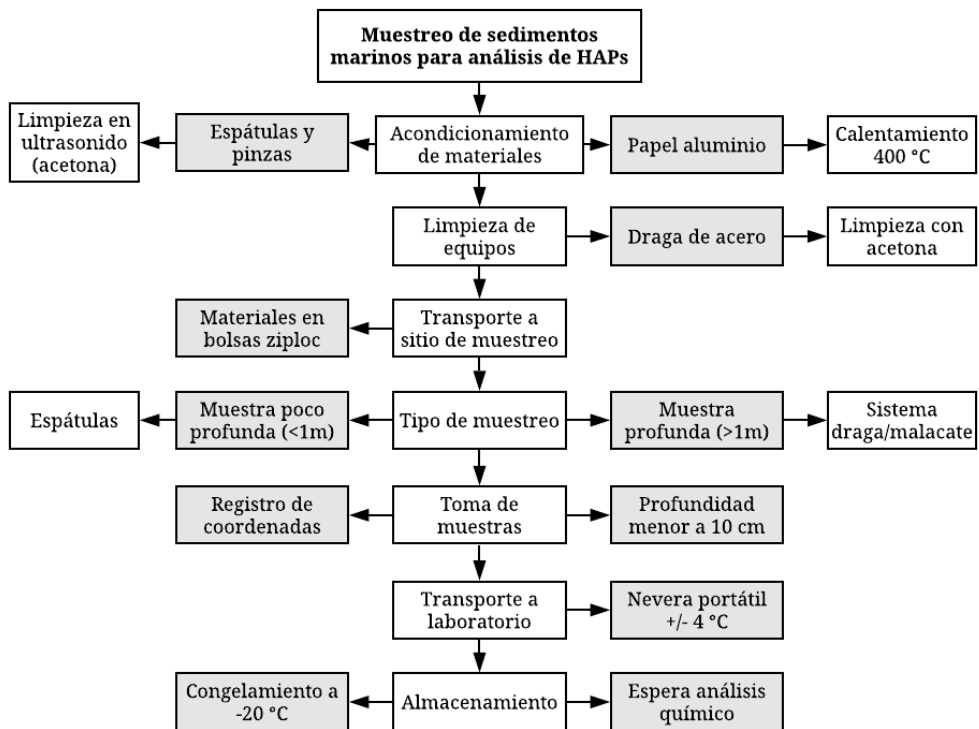


Figura 2.3 Diagrama de flujo para muestreo de sedimentos marinos para análisis de HAPs

### ***MUESTREO DE BIVALVOS***

Para el muestreo de organismos bivalvos (*Anadara tuberculosa*) fueron utilizadas las metodologías planteadas en el protocolo de INVEMAR (2003) y PNUMA (2008). Inicialmente,

en el sitio de muestreo previo a la recolección de la muestra se registró la coordenada geográfica. De acuerdo a la abundancia en el sitio de muestreo, fueron recolectadas de tres a cinco muestras por cada punto. *Anadara tuberculosa* es una especie que se encuentra aglomerada sobre las raíces de los mangles, por lo tanto para su recolección las muestras fueron buscadas en las raíces y separadas utilizando un cuchillo de ostras o espátulas. Una vez retirada de las raíces la muestra fue almacenada en bolsa ziploc, luego tanto durante el muestreo como en el transporte hacia el laboratorio de Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas en Manizales, las muestras fueron mantenidas bajo refrigeración en una nevera portátil con pilas de gel refrigerantes, a una temperatura aproximada de 4°C.

Una vez en el laboratorio de Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas, se midieron las diferentes longitudes de las valvas de cada muestra (longitud de ligamento, longitud estándar, longitud posterior, longitud anterior y altura), luego se realizó la separación de todo el cuerpo del molusco de las valvas, fue depositado en papel aluminio, colocado en bolsa ziploc y almacenado en el congelador a una temperatura aproximada de -20°C hasta su transporte hacia el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná en Brasil, para el análisis de HAPs. En la Figura 2.4 se detalla el procedimiento utilizado para el muestreo de *Anadara tuberculosa*.

En el laboratorio las conchas fueron medidas y posteriormente fue realizada la separación del tejido el cual fue almacenado hasta su análisis.



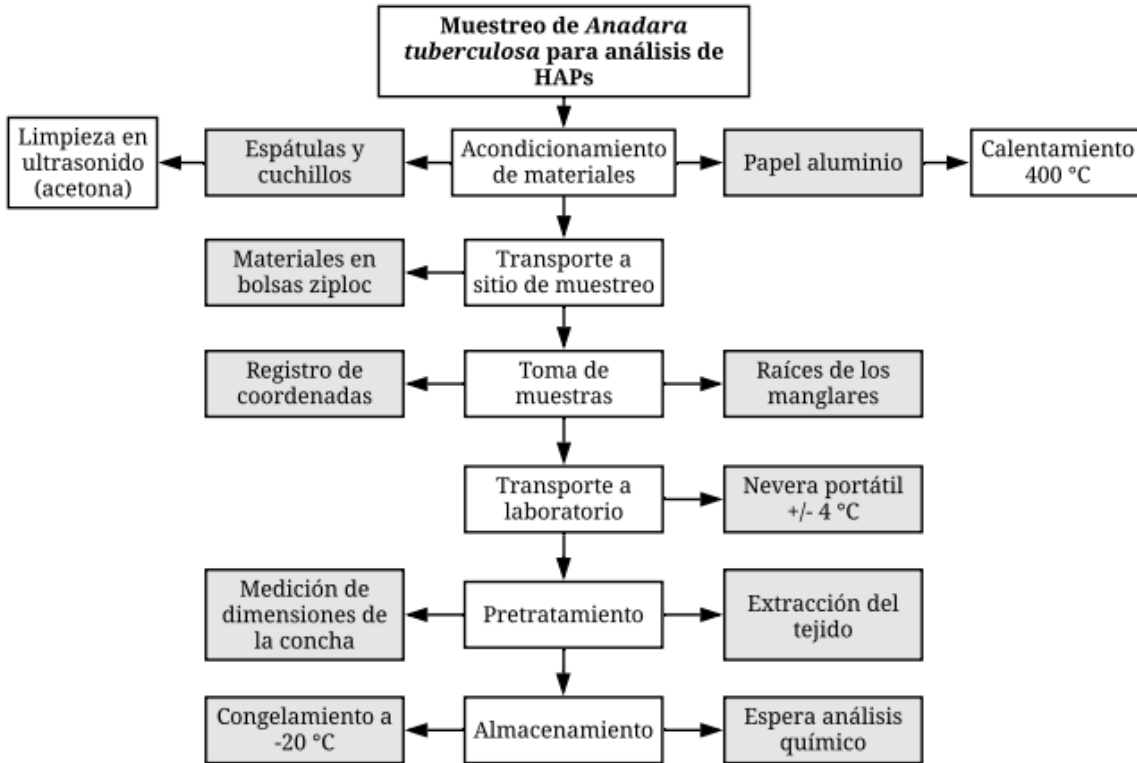


Figura 2.4 Diagrama de flujo para el muestreo de *Anadara tuberculosa* para análisis de HAPs

## 2.2 ANÁLISIS DE MUESTRAS DE AGUA MARINA

En las muestras de agua marina fueron determinados los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, conductividad, turbidez, dureza y sólidos suspendidos totales. Todos los métodos utilizados para estos análisis fueron planteados por Londoño, Giraldo, & Gutiérrez (2010), los cuales están basados en el “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (APHA, AWWA, & WPCF, 1995). El análisis de todos los parámetros fisicoquímicos fue realizado en el laboratorio de Procesos Productivos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.

### 2.2.1 pH

El pH fue determinado aplicando el método potenciométrico, para lo cual fue usado un pH-metro de marca SI Analytics. Previo al análisis, el electrodo estuvo sumergido en solución de KCl 3M verificando que no hubiese presencia de burbujas de aire atrapadas, después el bulbo de vidrio fue retirado del electrodo, lavado con agua desionizada y eliminado el exceso de agua. Posteriormente, el equipo fue calibrado con soluciones buffer de pH = 7 y pH = 10. Una vez calibrado el equipo, fue determinado el pH de las muestras de agua sumergiendo el bulbo del

electrodo sobre el contenedor con la muestra. El análisis de pH fue realizado por triplicado en todas las muestras para evaluar la repetibilidad del método. En la Figura 2.5a se muestra la medición de pH en muestras de agua.

## **2.2.2 CONDUCTIVIDAD**

La conductividad fue determinada aplicando el método conductivimétrico, para lo cual fue usada una sonda de medición de marca HoneForest. Previo al análisis, el equipo fue calibrado con solución estándar de KCl 0,01 M. Una vez calibrado el equipo fue determinada la conductividad de las muestras de agua sumergiendo la sonda en un beaker con la muestra de agua. El análisis de conductividad fue realizado por triplicado en todas las muestras para evaluar la repetibilidad del método. En la Figura 2.5b se muestra la medición de conductividad en muestras de agua.

## **2.2.3 TURBIDEZ**

La turbidez fue determinada aplicando el método nefelométrico, para lo cual se utilizó un turbidímetro Lamotte 2020e. Previo al análisis, una muestra de blanco (agua desionizada) fue adicionada a una celda y leída en el turbidímetro con el objetivo de calibrar el equipo. Posteriormente, en otra celda (previamente purgada tres veces con la muestra), fue adicionada la muestra de agua (aproximadamente 25 mL), luego la celda fue secada externamente con un paño libre de algodón para evitar interferencias en la lectura y las burbujas de aire en la celda fueron eliminadas. Finalmente, la celda fue colocada en el turbidímetro en donde se leyó la turbidez. El análisis de turbidez fue realizado por triplicado en todas las muestras, con el objetivo de evaluar la repetibilidad del método. En la Figura 2.5c se muestra la medición de turbidez en muestras de agua.

## **2.2.4 DUREZA**

La dureza cálcica fue determinada aplicando el método titulométrico. En primer lugar, debido a los altos valores de dureza que posee el agua de mar, se diluyó 1 mL de muestra en 50 mL de agua destilada. Luego se subió el pH de la muestra diluida hasta 12 para precipitar el  $Mg^{2+}$  y acomplejar únicamente el  $Ca^{2+}$ , añadiendo solución de hidróxido de sodio (NaOH). Finalmente, se adicionaron dos gotas de indicador murexida y se tituló la muestra con una solución de EDTA de 0,014 M. De la misma manera, el procedimiento descrito anteriormente fue aplicado en

muestra de blanco (agua desionizada). En la Figura 2.5d se muestra la medición de dureza en muestras de agua.

La concentración de dureza cálcica fue determinada con base en los datos de titulación de la muestra y el blanco, mediante la ecuación (2.1).

$$Dureza_{\left(\frac{mg\ CaCO_3}{L}\right)} = \frac{(A - B) \times M \times 100\ 000}{mL_{muestra}} \quad (2.1)$$

Donde:

A = Volumen de EDTA utilizados en la titulación de la muestra (mL)

B = Volumen de EDTA para la titulación del blanco (mL)

M = Molaridad de la solución EDTA

### 2.2.5 SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES (SST)

Los SST fueron determinados aplicando el método gravimétrico. Primero, 30 mL de muestra fueron filtrados en un papel filtro previamente secado por 1 hora a 105 °C, pesado e insertado en un embudo de filtración con la cara rugosa hacia arriba. En el filtro se retienen las partículas de sólidos suspendidos de la muestra. Posteriormente, el papel filtro con el sólido retenido se secó por 1 hora a 105 °C, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó. El procedimiento de secado se repitió hasta finalmente obtener peso constante y el peso final fue registrado. En la Figura 2.5e se muestra la medición de SST en muestras de agua.

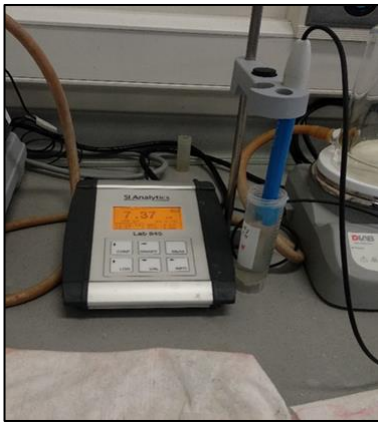
La concentración de SST fue determinada graviméricamente por diferencias entre los pesos del filtro seco, antes de la filtración y después de la filtración, mediante la ecuación (2.2).

$$Sólidos\ suspendidos\ totales\ (SST)\ \left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{(B - A) \times 1000}{mL} \quad (2.2)$$

Donde:

A = Peso del filtro secado a 105 °C, antes de la filtración (mg)

B = Peso del filtro secado a 105°C, después de la filtración (mg)



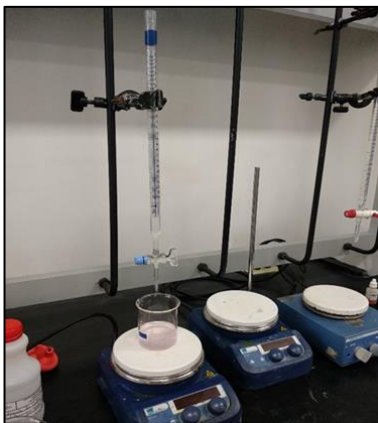
(a) pH



(b) Conductividad



(c) Turbidez



(d) Dureza



(e) Sólidos Suspendedos Totales



**Figura 2.5 Registro fotográfico de la medición de parámetros fisicoquímicos en agua marina**  
En el Anexo 1 se presenta de manera detallada los cálculos de la caracterización de los puntos de muestreo.

### **2.3 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE HAPs EN SEDIMENTO MARINO CERTIFICADO**

Para validar que los resultados obtenidos sean confiables, se determinaron una serie de parámetros de validación los cuales debieron cumplir unos criterios para la aceptación del método.

Para el caso de sedimentos marinos, el método de análisis de HAPs se validó mediante un análisis por triplicado de un material de referencia de sedimento marino 1941b de la NIST. Los

parámetros, el método utilizado para su determinación y los criterios de aceptación se describen en la Tabla 2.5.

En el Anexo 2 se presentan de manera detallada los cálculos usados para la determinación de la linealidad, precisión y veracidad. De la misma manera, en el Anexo 3 se presenta de manera detallada los cálculos de los límites de detección y cuantificación.

**Tabla 2.5. Metodología usada para la validación del método analítico**

<b>Parámetro<sup>a</sup></b>	<b>Método<sup>a</sup></b>	<b>Criterio de aceptación<sup>b</sup></b>
Linealidad	La linealidad se evaluó mediante una inspección de la curva de calibración, determinando los coeficientes de correlación lineal (r) y de determinación (r <sup>2</sup> ). Además, se determinó el coeficiente de variación para los factores de respuesta relativo promedio para cada compuesto.	r <sub>cal</sub> ≥ 0,997, r <sup>2</sup> <sub>cal</sub> ≥ 0,995, CV < 20%
Precisión (repetibilidad)	Se realizó un análisis por triplicado de material certificado de sedimento marino y se determinó la concentración de cada analito.  A partir de las concentraciones (x) obtenidas en cada replica (i), fueron determinadas: la concentración promedio ( $\bar{x}$ ), la desviación estándar (DE) y la desviación estándar relativa (DER), con las siguientes ecuaciones:  $\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$	%DER < 30,0

	$DE = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$ $DER = \frac{DE}{\bar{x}} \times 100\%$	
Veracidad (recuperación relativa)	<p>El valor medio (<math>\bar{x}</math>) obtenido en los resultados del análisis de material certificado, fue comparado con el valor real del material de referencia (<math>x_{ref}</math>). A partir de estos valores se determinó la recuperación relativa en porcentaje.</p> $R (\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \times 100\%$	70 < %R < 130
Límites de detección	<p>Los límites de detección y cuantificación fueron determinados a partir de una curva de calibración con patrones de concentraciones muy bajas (2.5, 5, 10 y 50 ppb), mediante análisis quimiométrico.</p> $LOD = Y_B + 3 S_{y/x}$ $LOQ = Y_B + 10 S_{y/x}$	Los valores de concentración por debajo del límite de detección no se deben considerar en el análisis.
Límites de cuantificación		

<sup>a</sup>Guía para validación de métodos (Magnusson & Ömemark, 2016)

<sup>b</sup>EPA 8000; EPA 8270E

## 2.4 ANÁLISIS DE HAPs EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y BIVALVOS

El análisis de HAPs en sedimentos marinos y bivalvos fue realizado en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná en Brasil. En matrices ambientales la ruta analítica para el análisis de HAPs se divide en tres grandes grupos: 1) descontaminación los materiales usados durante el análisis, 2) preparación de las muestras y 3) análisis

cromatográfico. La etapa de preparación de muestras varía dependiendo del tipo de matriz e incluye diferentes procesos como liofilización, homogenización, molienda, extracción, limpieza-fraccionamiento y concentración de las muestras.

Para el control de calidad del método analítico, el solvente de extracción fue utilizado como blanco analítico y analizado por triplicado durante cada lote de muestras. Este blanco tuvo como objetivo demostrar que no hubo problema de contaminación en el laboratorio. Asimismo, una muestra de material certificado fue analizada por triplicado para evaluar la repetibilidad del método. Adicionalmente, en todas las muestras fueron adicionados surrogados (estándares de extracción) para evaluar la recuperación durante los análisis.

### ***ESTÁNDARES ANALÍTICOS Y SOLVENTES***

Una mezcla de estándares de alta pureza de los 16 HAPs prioritarios por la EPA de EE.UU (descritos en la Tabla 2.6) de  $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$  en benceno/diclorometano, fue suministrada por Supelco/SigmaAldrich (código: 48418, lote: XA201530V). Una mezcla de alta pureza de HAPs deuterados (descritos en la Tabla 2.6) utilizados como surrogados / estándares de extracción de  $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$  en diclorometano, fue suministrada por Supelco/SigmaAldrich (código: CRM5M07296, lote: XA15781V). Asimismo, una solución de p -terfenil-d14 (utilizado como estándar interno de inyección) de  $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$  en diclorometano, fue suministrado por Supelco/SigmaAldrich (código: 48418, lote: XA20945V).

**Tabla 2.6 Información de los 16 HAPs prioritarios y estándares internos utilizados en este estudio**

Mezcla	Compuesto	Abreviación	Número CAS	Pureza (%)
Estándares de HAPs	Naftaleno	Naf	91-20-3	99.7
	Acenaftileno	Aci	208-96-8	99.4
	Acenafteno	Ace	83-32-9	99.3
	Fluoreno	Flu	86-73-7	98.7
	Fenantreno	Fen	85-01-8	98.0
	Antraceno	Ant	120-12-7	99.0
	Fluoranteno	Fla	206-44-0	99.5
	Pireno	Pir	129-00-0	99.2
	Benzo[a]antraceno	BaA	56-55-3	98.5
	Criseno	Cri	218-01-9	97.4
	Benzo[b]fluoranteno	BbF	205-99-2	97.3
	Benzo[k]fluoranteno	BkF	207-08-9	99.5
	Benzo[a]pireno	BaP	50-32-8	96.7
	Indeno[1,2,3-cd]pireno	Ind	193-39-5	99.0
	Dibenz[a,h]antraceno	DbA	53-70-3	98.3
	Benzo[ghi]perileno	Bghi	191-24-2	99.4
Surrogados / Estándares de extracción	Fenantreno-d10	Fen-d10	1517-22-2	99.2
	Criseno-d12	Cri-d12	1719-03-5	98.9
	Perileno-d12	Per-d12	1520-96-3	99.4
Estándar interno de inyección	p-Terfenil-d14	p-Ter-d14	1718-51-0	99.3

Los solventes acetona con pureza > 99.9% (código: 650501, lote: MKBZ8707V de SigmaAldrich), acetonitrilo con pureza > 95.0%, diclorometano con ~ 20 ppm de amileno (código 361254, lote: 16153 de Panreac), y hexano con pureza de 95.0% (código H487-10, lote: K37E13 de MacronChemicals), fueron todos de grado HPLC y GC. Sulfato de sodio anhidro fue suministrado por Vetec (código: V000121, lote: DCBD0422V), sílica gel 0.063 – 0.2 mm, malla 70 – 230 para cromatografía en columna, fue obtenida de Macherey – Nagel (código: 815330.1, lote: 17528.1010), alúmina neutra fue proporcionada por J.T.Baker (código: 0540-05), filtros chromafil® Xtra de poliéster con tamaño de poro de 0.20 µm fueron provistos por Macherey – Nagel (código: 729221) y material de referencia certificado 1941b (compuestos orgánicos en sedimento marino) fue adquirido de NIST.

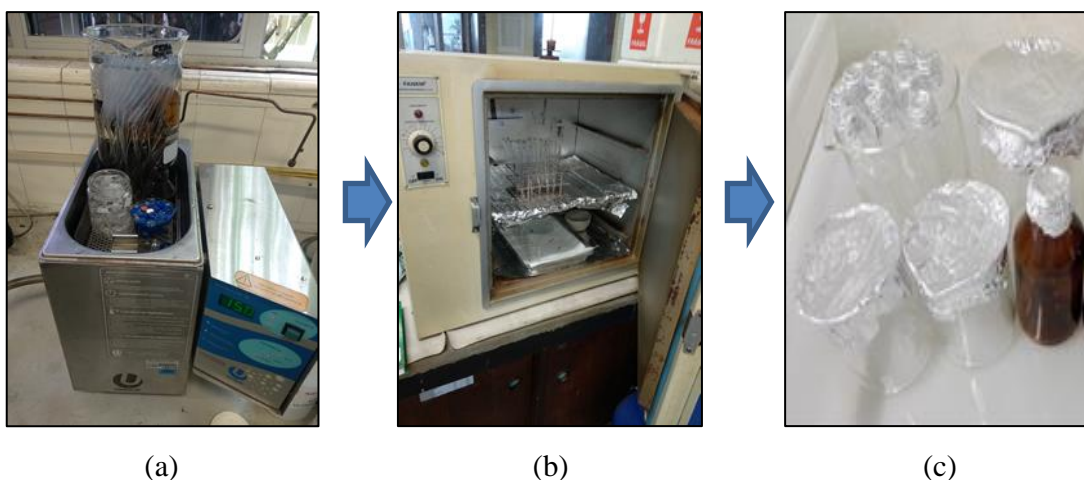
Montmorillonita modificada con bromuro de 1-hexadecil, 3-metilimidazolío (MMT-HDMIM-Br) (Fiscal-Ladino et al., 2017) fue suministrada por el grupo de investigación GICTA de la Universidad de Caldas en Colombia.



## 2.4.1 DESCONTAMINACIÓN DE MATERIALES

Todos los materiales de laboratorio usados para los análisis fueron sometidos a un riguroso proceso de limpieza el cual se describe a continuación:

Se realizaron tres lavados mediante extracción asistida por ultrasonido, de 10 minutos cada uno, el primer lavado fue con agua de grifo, el segundo con agua destilada y el último con agua tipo I (ultrapura) Milli-Q. Posteriormente, todos los materiales de vidrio no volumétricos y el papel aluminio fueron sometidos a 400 °C por 4 horas, con el fin de remover cualquier traza de materia orgánica presente. Mientras que los materiales de vidrio volumétricos y los materiales plásticos fueron lavados con acetona y se dejaron secando en una campana de flujo laminar. Finalmente, todos los materiales fueron cubiertos con papel aluminio calcinado y almacenados hasta su uso. En la Figura 2.6 se muestra una secuencia fotográfica del procedimiento de descontaminación de los materiales.



**Figura 2.6** Proceso de descontaminación de materiales. (a) limpieza asistida por ultrasonido. (b) tratamiento térmico para materiales no volumétricos y no plásticos. (c) cubrimiento de materiales descontaminados.

## 2.4.2 PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS

La preparación de muestras de sedimentos marinos fue realizada en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná con base en una adaptación del método propuesto por Oliveira et al. (2018), el cual se basa en la extracción miniaturizada con solventes asistida por ultrasonido y filtración por membrana, para extraer los analitos y purificar el

extracto respectivamente. En la Figura 2.7 se muestra un registro fotográfico de la metodología analítica para la preparación de muestras de sedimentos marinos para análisis de HAPs, esta se explica a continuación:

### ***PRETRATAMIENTO***

Previo al transporte de las muestras de sedimentos marinos hacia Brasil, las muestras fueron deshidratadas en un liofilizador (marca: Biobase, modelo: Clean Vac 8) en el laboratorio de Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas a una temperatura de  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  y a presión de vacío.

Luego en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná las muestras fueron molidas y homogenizadas en un mortero de ágata, con el objetivo de obtener partículas finas y homogéneas, y de esta manera mejorar la eficiencia en la extracción.

Posteriormente, 0.5 g de muestra fue pesada en pedazos de papel de aluminio previamente calcinado a  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  y fue transferida a un tubo de ensayo de vidrio cónico. Inmediatamente fue adicionada la mezcla de estándares surrogados, garantizando que la concentración final de estos estándares fuera de  $100\text{ ng g}^{-1}$ . Estos estándares permiten evaluar la recuperación del método. El solvente se dejó secar a temperatura ambiente.

### ***EXTRACCIÓN***

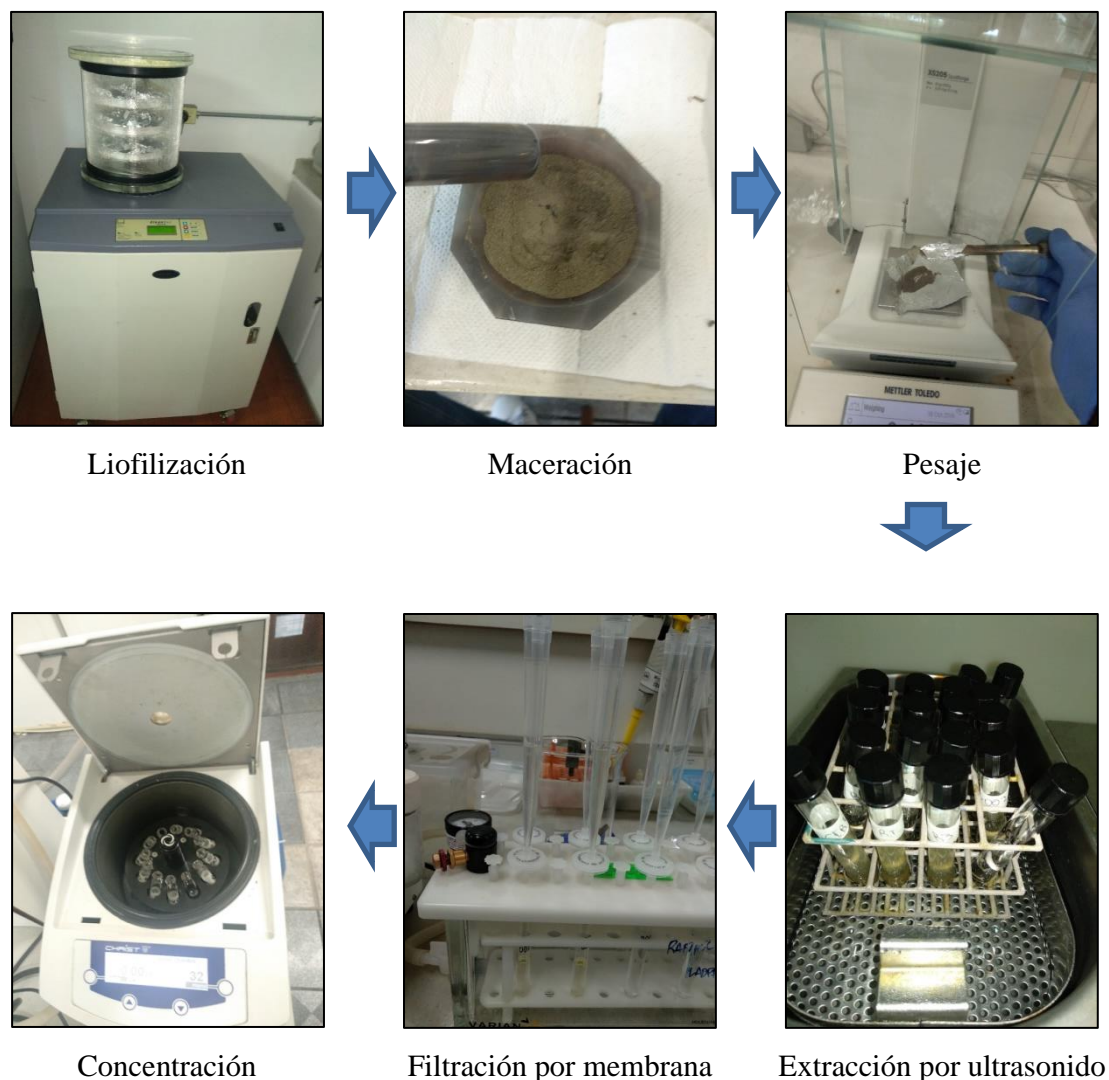
El proceso de extracción de HAPs de las muestras de sedimentos fue realizado mediante extracción asistida por ultrasonido, utilizando un baño ultrasónico (marca: Unique, modelo: USC 2800), el cual tiene una frecuencia de 40 a 60 kHz, 5 mL del solvente de extracción (mezcla de acetonitrilo/diclorometano al 18%) fueron adicionados al tubo de ensayo con la muestra y se dejó extraer por un tiempo de 20 min. Una vez culminada la primera extracción, el tubo fue dejado en reposo con el objetivo de decantar el material sólido en suspensión y luego el extracto fue separado y recolectado en un tubo de ensayo. Luego de separar el extracto, se adicionaron nuevamente 5 mL del solvente de extracción en el tubo con la muestra y se realizó un segundo proceso de extracción en la muestra, el segundo extracto obtenido fue combinado con el obtenido en la primera extracción.

## ***PURIFICACIÓN***

El extracto obtenido fue purificado en un sistema de filtración, el cual consiste en una punta de transferpipeta de 10 mL conectada a un filtro de 0.20  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, el cual a su vez está ligado a un sistema manifold (marca Varian) acoplado a una bomba de vacío (marca Technal, modelo TE-0581). El proceso de filtración fue realizado pasando el extracto a través del filtro y aplicando vacío con el objetivo de que el extracto atravesase fácilmente la membrana del filtro y obtener mayor eficiencia. El extracto fue recolectado en tubos de ensayos y el volumen recuperado fue medido.

## ***ADICIÓN DEL ESTÁNDAR INTERNO DE INYECCIÓN***

Los extractos obtenidos fueron sometidos a un proceso de concentración, utilizando un concentrador al vacío rotativo (marca: Christ, modelo: RVC 2 – 18CD) a 60 °C y 1350 rpm. Luego fue adicionado el estándar interno (p-terfenil-d14) y resuspendido en 150  $\mu\text{L}$  de hexano, garantizando que la concentración final del estándar interno sea de 102.4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , inmediatamente el extracto fue transferido a un vial con inserto de vidrio. Por último, el extracto fue inyectado en el CG-MS para el análisis cromatográfico.



**Figura 2.7 Registro fotográfico de la metodología analítica para la preparación de muestras de sedimentos marinos para análisis de HAPs**

### 2.4.3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE BIVALVOS

La preparación de muestras de bivalvos fue realizada en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná con base en una adaptación del método implementado en la tesis de maestría de Camargo (2019), dirigida por el profesor Marco Tadeu Grassi del grupo de investigación de Química Ambiental de la misma universidad, el cual está basado en la extracción de HAPs en tejido de peces mediante dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD, por sus siglas en inglés). En la Figura 2.8 se muestra un registro fotográfico de la metodología analítica para la preparación de muestras de *Anadara tuberculosa* para análisis de HAPs, la cual se explica a continuación.

## ***PRETRATAMIENTO***

Previo al transporte de las muestras de *Anadara tuberculosa* hacia Brasil, las muestras fueron deshidratadas en un liofilizador (marca: Biobase, modelo: Clean Vac 8) en el laboratorio de Cromatografía y Técnicas Afines de la Universidad de Caldas en Manizales a una temperatura de  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  y a presión de vacío.

Luego en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná las muestras fueron molidas y homogenizadas en un mortero de ágata, con el objetivo de obtener partículas finas y homogéneas, y de esta manera mejorar la eficiencia en la extracción.

Posteriormente, 0.1 g de muestra homogenizada fue pesada en un trozo de papel de aluminio previamente calcinado a  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  y fue transferida nuevamente a un mortero. Inmediatamente fue adicionada la mezcla de estándares surrogados, garantizando que la concentración final de estos estándares fuera de  $500\text{ ng g}^{-1}$ . Estos estándares permiten evaluar la recuperación del método. El solvente se dejó secar a temperatura ambiente.

Finalmente, 0.1 g de agente dispersante (MMT-HDMIM-Br) fue pesado en un pedazo de papel aluminio previamente calcinado a  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  y fue adicionado en el mortero que contiene la muestra, en donde una segunda maceración de la muestra fue realizada por 3 minutos.

## ***EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN***

Columnas de vidrio (7 mm d.i. x 30 cm) fueron empacadas, introduciendo primero lana de vidrio, que sirve para retener la fase sólida, luego fueron adicionados como adsorbentes 2 g de sílica gel previamente activada ( $160\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 4 h), 1 g de alúmina neutra previamente calcinada ( $400\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 4 h) y activada ( $160\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 4 h), y 0.5 g de sulfato de sodio  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Para el empacado de la columna fueron adicionados 10 mL de n-hexano y se ejerció presión con nitrógeno ultrapuro sobre el solvente, repitiendo este proceso por triplicado para garantizar el correcto empacado de la columna. Después del empacado, se realizó un acondicionamiento de la columna, eluyendo 10 mL del solvente de extracción (ACN). Todos los extractos usados para empacar y acondicionar la columna fueron descartados.

Justo antes de que se secara la columna, fue adicionada la muestra de *Anadara tuberculosa* pre-tratada e inmediatamente fueron adicionados 10 mL del solvente de elución (ACN), en donde se extrajeron los analitos y se purificó el extracto.

### ADICIÓN DEL ESTÁNDAR INTERNO DE INYECCIÓN

Los extractos obtenidos fueron sometidos a un proceso de concentración, utilizando un concentrador al vacío rotativo (marca: Christ, modelo: RVC 2 – 18CD) a 60 °C y 1350 rpm. Luego fue adicionado el estándar interno (p-terfenil-d14) y resuspendido en 250 µL de hexano, garantizando que la concentración final del estándar interno fuera de 102.4 µg mL<sup>-1</sup>, inmediatamente el extracto fue transferido a un vial con inserto de vidrio. Por último, el extracto fue inyectado en el CG-MS para el análisis cromatográfico.

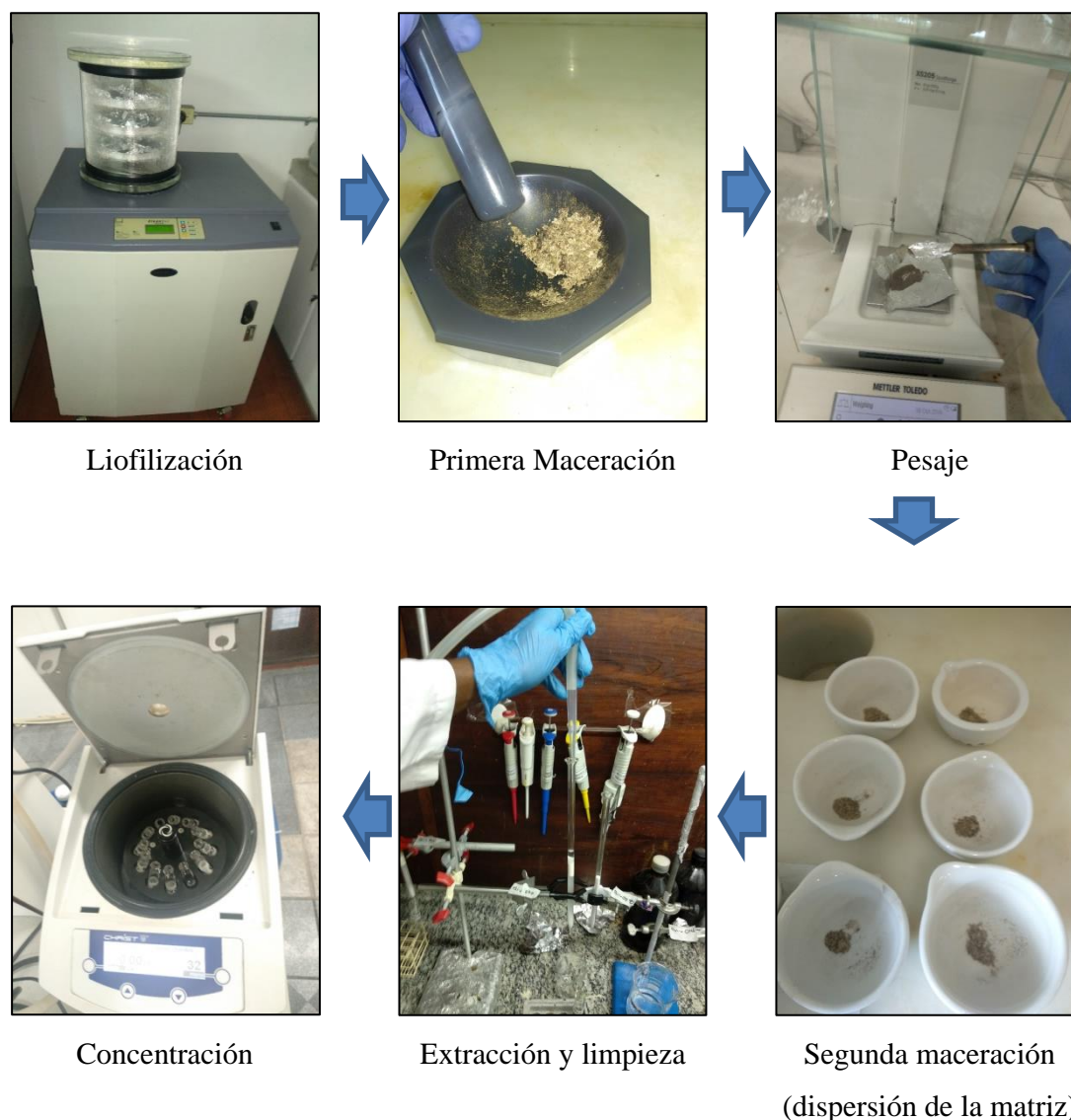


Figura 2.8 Registro fotográfico de la metodología analítica para la preparación de muestras de *Anadara tuberculosa* para análisis de HAPs

## 2.4.4 . ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

El análisis de HAPs fue realizado en el laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Federal de Paraná mediante la técnica cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), la cual permite separar los analitos de acuerdo con su polaridad y fragmentarlos para identificarlos de acuerdo a la relación masa-carga ( $m/z$ ) de los iones generados durante la ruptura de los compuestos y es característica para cada mensurando.

La determinación de HAPs fue realizada en un cromatógrafo de gases (marca: Shimadzu, modelo GC2010 Plus) acoplado a un espectrómetro de masas triple cuadrupolo (marca: Shimadzu, modelo TQ8040). La inyección de los patrones y extractos fue realizada por medio de un muestreador automático (marca: Shimadzu, modelo: AOC-5000 Plus) y la separación cromatográfica fue realizada en una columna (marca: SH-Rtx-5MS) con dimensiones de 30 m x 0.25 mm x 0.25  $\mu\text{m}$ . Como gas de arrastre fue usado helio 5.0. En la Figura 2.9 se muestra el equipo CG-MS utilizado para análisis de HAPs.



**Figura 2.9** Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas utilizado para los análisis de HAPs

Las condiciones cromatográficas empleadas fueron seleccionadas con base en trabajos anteriores del grupo de investigación en química ambiental de la Universidade Federal do Paraná y se describen en la Tabla 2.7.

**Tabla 2.7. Condiciones cromatográficas para el análisis de HAPs**

Inyector	
Temperatura de inyección:	270°C
Modo de inyección:	Splitless (4 min)
Volumen de inyección:	1 µL
Cromatógrafo de gases	
Flujo del gas de arrastre:	1.2 mL min <sup>-1</sup>
Programa del horno:	Temperatura inicial = 40 °C mantener por 2 min Rampa 1 = 50 °C min <sup>-1</sup> hasta 80°C Rampa 2 = 10 °C min <sup>-1</sup> hasta 240 °C, mantener por 2 min Rampa 3 = 4 °C min <sup>-1</sup> hasta 260 °C, mantener por 5 min Rampa 4 = 20 °C min <sup>-1</sup> hasta 300 °C, mantener por 7 min
Tiempo total de corrida:	39.8 min
Espectrómetro de masas	
Temp. línea de transferencia:	280 °C
Temp. fuente de ionización:	230 °C
Energía de ionización:	70 eV
Analizador de masas:	Triple cuadrupolo
Modo de adquisición:	SCAN, SIM
Rango de adquisición:	m/z 40 a 500

## 2.5 CUANTIFICACIÓN DE HAPs

La identificación de los diferentes analitos y estándares internos fue realizada con base en los iones de fragmentación característicos para cada compuesto y en los tiempos de retención en los cuales eluyen del cromatógrafo cada uno de los analitos. Los iones principales y secundarios y, los tiempos de retención utilizados para la identificación y cuantificación de los analitos y estándares internos se muestran en la Tabla 2.8.

En el Anexo 4 y el Anexo 5 se presentan de manera detallada todos los cálculos para la cuantificación de HAPs en sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa* respectivamente.



Asimismo, en el Anexo 6 y el Anexo 7 se presentan de manera detallada los cálculos estadísticos y gráficos en sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa* respectivamente.

**Tabla 2.8. Iones y tiempos de retención para la identificación y cuantificación de los HAPs**

Compuesto	Tipo de compuesto	M/Z principal	M/Z secundarios	Tr (min)
Naftaleno	A	128	127-129	7.92
Acenaftileno	A	152	151-150	11.32
Acenafteno	A	153	154-152	11.72
Fluoreno	A	166	165-164	12.93
Fenantreno-d10	S	188	187-184	15.11
Fenantreno	A	178	176-152	15.16
Antraceno	A	178	176-179	15.29
Fluoranteno	A	202	200-203	17.99
Pireno	A	202	200-201	18.50
p-Terfenil-d14	PI	244	243-245	19.05
Benzo[a]antraceno	A	228	226-229	22.29
Criseno-D12	S	240	236-241	22.32
Criseno	A	228	226-229	22.42
Benzo[b]fluoranteno	A	252	250-253	26.77
Benzo[k]fluoranteno	A	252	250-253	26.91
Benzo[a]pireno	A	252	250-253	28.34
Perileno-D12	S	264	260-265	28.66
Indeno[1,2,3-cd]pireno	A	276	277-274	33.39
Dibenz[a,h]antraceno	A	278	279-276	33.56
Benzo[ghi]perileno	A	276	277-274	34.12

**A:** Analito; **PI:** Patrón Interno; **S:** Surrogado; **NA:** No Aplica.

Con base en el método EPA-TO-13A y el método EPA-8270E, fueron considerados los siguientes criterios para garantizar la calidad del análisis:

Para cada mensurando, el factor de respuesta relativa (FRR) en cada patrón inyectado debe ser mayor o igual al factor de respuesta relativo mínimo aceptable para cada compuesto, los cuales se listan en la Tabla 2.9.

Para cada mensurando, el porcentaje de desviación estándar relativa (% DER) del FRR sobre el rango de calibración inicial debe ser menor o igual al valor máximo requerido (30 %).

Para cada mensurando, el tiempo de retención relativo en cada nivel de calibración debe estar dentro de  $\pm 0.06$  unidades de tiempo de retención relativo medio para el compuesto.

Para cada estándar interno, el cambio de tiempo de retención sobre el rango de calibración inicial debe estar dentro de  $\pm 20.0$  segundos en comparación con el tiempo de retención promedio  $((TR)_{\bar{}})$ .

**Tabla 2.9. Criterios de aceptación de factores de respuesta relativa**

<b>Compuesto</b>	<b>FRR</b>	<b>% DER Máximo</b>	<b>% Diferencia Máximo</b>
Naftaleno	0.700	30	30
Acenaftileno	1.200	30	30
Acenafteno	0.800	30	30
Fluoreno	0.900	30	30
Fenantreno	0.700	30	30
Antraceno	0.700	30	30
Fluorantreno	0.600	30	30
Pireno	0.600	30	30
Benzo(a)Antraceno	0.800	30	30
Criseno	0.700	30	30
Benzo(b)Fluoranteno	0.700	30	30
Benzo(k)Fluoranteno	0.700	30	30
Benzo(a)Pireno	0.700	30	30
Indeno(1,2,3-cd)Pireno	0.500	30	30
Dibenzo(a,h)Antraceno	0.400	30	30
Benzo(g,h,i)Perileno	0.500	30	30

### ***CURVA DE CALIBRACIÓN***

Para la construcción de la curva de calibración fueron preparadas soluciones estándares de calibración en ocho concentraciones conocidas, la cuales contienen los analitos y los patrones internos utilizados durante el método. Los estándares de calibración variaron desde 1 ng mL<sup>-1</sup> (CS1) a 500 ng mL<sup>-1</sup> (CS8). Para la preparación de los estándares fue usado hexano como solvente. Las concentraciones de los estándares de calibración se muestran en la Tabla 2.10.

**Tabla 2.10 Concentración de los estándares usados en la curva de calibración**

<b>Nivel</b>	<b>Concentración (ng mL<sup>-1</sup>)</b>
CS1	1.0
CS2	2.5
CS3	5.0
CS4	10.0
CS5	50.0
CS6	96.0
CS7	250.0
CS8	500.0

La curva de calibración fue realizada por triplicado. Previo a la inyección de los extractos, un patrón intermedio (CS4) fue inyectado y se verificó que el tiempo de retención de cada analito estuviera dentro de  $\pm 20.0$  segundos en comparación con el tiempo de retención de la curva de calibración.

### ***CÁLCULO DE FRR***

A partir de la curva de calibración, para cada compuesto y en cada estándar de calibración fue determinado el FRR para cada compuesto, el cual permite confirmar el rango lineal de los analitos. Para el cálculo del FRR fue usada la ecuación (2.3).

$$FRR = \frac{A_x C_{ei}}{A_{ei} C_x} \quad (2.3)$$

Donde:

$A_x$  = Respuesta para el compuesto x

$A_{ei}$  = Respuesta para el estándar interno

$C_x$  = Concentración del compuesto x

$C_{ei}$  = Concentración del estándar interno

### ***FACTORES DE RESPUESTA RELATIVOS PROMEDIO ( $\overline{FRR}$ )***

Para cada compuesto, los FRR obtenidos en cada estándar de calibración fueron promediados usando la ecuación (2.4), obteniendo el factor de respuesta relativo promedio ( $\overline{FRR}$ ). Este parámetro es usado para el cálculo de la concentración de los analitos de interés.

$$\overline{FRR} = \frac{\sum_{i=1}^n FRR_{x_i}}{n} \quad (2.4)$$

Donde:

$FRR_{x_i}$  = Factor de respuesta para el compuesto x en el punto  $i$  de la curva de calibración.

$n$  = Número total de estándares en la curva de calibración

**PORCENTAJE DE DESVIACIÓN ESTÁNDAR  
RELATIVA (% DER).**

El  $\overline{FRR}$  se considera aceptable cuando en el rango de trabajo, la desviación estándar relativa no supera el 20%. Por lo tanto, a partir de los FRR de la calibración, fue calculado % DER para todos los mensurando y estándares utilizados, utilizando las ecuaciones (2.5) y (2.6).

$$\%DER = \frac{DE_{FRR}}{\bar{x}} \times 100 \quad (2.5)$$

$$DE_{FRR} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (2.6)$$

Donde:

$DE_{FRR}$  = Desviación estándar de los factores de respuesta (por compuesto).

$\bar{x}$  = Media de los FRR (por compuesto).

$x_i$  = FRR en el estándar  $i$  de la curva de calibración.

$n$  = Número de determinaciones.

**TIEMPOS DE RETENCIÓN RELATIVOS (TRR).**

Los TRR fueron determinados para cada mensurando y estándar interno en todo el rango de calibración inicial mediante la ecuación (2.7):

$$TRR = \frac{TR_x}{TR_{ei}} \quad (2.7)$$

Donde:

$TR_x$  (min) = Tiempo de retención del compuesto  $x$ .

$TR_{ei}$  = Tiempo de retención del estándar interno, minutos.

## **TIEMPOS DE RETENCIÓN RELATIVOS PROMEDIOS ( $\overline{TRR}$ )**

Para cada compuesto, los TRR obtenidos en cada estándar de calibración fueron promediados usando la ecuación (2.8), obteniendo el tiempo de retención relativo promedio ( $\overline{TRR}$ ).

$$\overline{TRR} = \frac{\sum_{i=1}^n TRR_{xi}}{n} \quad (2.8)$$

Donde:

$TRR_i$  (min) = Tiempo de retención relativo para el compuesto x en el punto  $i$  de la curva de calibración.

$n$  = Número total de estándares en la curva de calibración.

## **RESPUESTA DE ÁREA MEDIA ( $\bar{Y}$ ) PARA EL ESTÁNDAR INTERNO**

El área de respuesta promedio ( $\bar{Y}$ ) fue calculado para la cuantificación primaria de cada compuesto estándar interno sobre el rango de calibración inicial, utilizando la ecuación:

$$\overline{TRR} = \frac{\sum_{i=1}^n Y_i}{n} \quad (2.9)$$

Donde:

$\bar{Y}$  = Área de respuesta promedio, conteo

$Y_i$  = Área de respuesta para el ion de cuantificación primario, para el estándar interno en cada estándar de calibración, conteo.

## **CUANTIFICACIÓN**

Los analitos fueron cuantificados mediante el método del estándar interno, los cuales permiten estimar el error asociado a la variación del equipo y ajustados mediante la adición de estándares externos (surrogados).

### **CÁLCULO DE CONCENTRACIÓN.**

La concentración de cada analito en las muestras sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa* fue calculada mediante la ecuación (2.10).

$$\text{Concentración} \left( \frac{\text{ng}}{\text{g}} \right) = \frac{A_x \times W_{\text{istd}} \times D}{A_{\text{istd}} \times W_m \times \overline{FRR} \times \%R} \quad (2.10)$$

Donde:

$\overline{FRR}$  = Factor de respuesta relativo promedio, del Estándar x

$A_x$  = Respuesta del analito, x, detectado en la muestra

$A_{\text{istd}}$  = Respuesta del estándar interno detectado en la muestra

$W_{\text{istd}}$  = Cantidad de estándar interno adicionada (102.5 ng/mL x volumen final del extracto)

$\%R$  = Porcentaje de recuperación promedio de los surrogates

$D$  = Factor de Dilución, si existe, de lo contrario es 1

$W_m$  = Peso de muestra en gramos (g).

### **PORCENTAJE DE RECUPERACIÓN PATRÓN SURROGADO (% R)**

Los porcentajes de recuperación para cada surrogado (fenantreno-d10, criseno-d12 y perileno-d12) fueron calculados utilizando la siguiente ecuación (2.11):

$$\%R = \frac{Q_d}{Q_a} \times 100 \quad (2.11)$$

Donde:

$Q_d$  (ng) = Cantidad de surrogado en el extracto final de cada análisis (ng).

$Q_a$  = Cantidad de surrogado adicionado antes de la extracción (ng).

El porcentaje de recuperación del surrogado debe estar entre 60-120% para ser aceptable.

## 2.6 RELACIONES DIAGNÓSTICAS PARA ESTIMACIÓN DE FUENTES DE CONTAMINACIÓN

Diferentes relaciones diagnósticas de isómeros de HAP han sido usadas en varios estudios para estimar las posibles fuentes de contaminación de HAP en sedimentos marinos. La selección de las relaciones diagnósticas adecuadas, dependen de los compuestos que sean detectados en las muestras analizadas y teniendo en cuenta que estos compuestos presenten una buena correlación. Para verificar estadísticamente que estos compuestos presenten correlaciones positivas, se utilizó el método de correlación de Spearman debido a que los datos no presentan una distribución normal.

En este estudio, se aplicaron las relaciones  $\text{Fla} / (\text{Fla} + \text{Pir})$  y  $\text{Ant} / (\text{Ant} + \text{Fen})$  en las muestras de sedimentos marinos, las cuales se han aplicado en diferentes estudios (Cai et al., 2019; Xue et al., 2016; Qu et al., 2018a; Montuori et al., 2016). Adicionalmente, se utilizó la relación HAPs-BPM/HAPs-APM, la cual corresponde a HAPs de bajo peso molecular (HAPs-BPM) y HAPs de alto peso molecular (HAPs-APM) (Yunker et al., 2002). Estas correlaciones permiten estimar si los HAPs provienen de fuentes petrogénicas, de combustión líquida o de combustión de biomasa o carbón. Para el caso de bivalvos no se aplicaron relaciones diagnósticas debido a que la acumulación de HAPs en estas especies depende del metabolismo que puede alterar las concentraciones de los HAPs isómeros. En la Tabla 2.11 se presentan las relaciones diagnósticas utilizadas en sedimentos marinos y los criterios para estimación de fuentes de contaminación. En el Anexo 8 se presenta de manera detallada los cálculos de relaciones diagnósticas y gráficos en sedimentos marinos.

**Tabla 2.11 Relaciones diagnósticas para estimación de fuentes de contaminación en sedimentos marinos**

Relación	Valor	Fuente	Referencia
Fla/(Fla + Pir)	< 0.4	Petrogénica	(Cai et al., 2019).
	0.4 – 0.5	Combustión líquida	
	> 0.5	Combustión biomasa/carbón	
Ant/(Ant + Fen)	< 0.1	Petrogénica	(Nascimento et al., 2017; Cai et al., 2019)
	> 0.1	Pirogénica	
$\Sigma\text{BPM}/\Sigma\text{APM}$	< 1	Pirogénica	(Yunker et al., 2002)
	> 1	Petrogénica	



## 2.7 EVALUACIÓN DEL RIESGO TOXICOLÓGICO EN SEDIMENTOS MARINOS Y BIVALVOS

Para evaluar el nivel toxicológico de las concentraciones de HAPs obtenidas en sedimentos marinos, se compararon las concentraciones de HAPs con los límites máximos permisibles establecidos por NOAA (1999). Adicionalmente, se determinaron las concentraciones de equivalentes carcinogénicos y mutagénicos; fueron comparadas con los valores límites recomendados por la guía canadiense de calidad de sedimentos para la protección del ambiente y la salud humana (CCME, 2010).

Las concentraciones de equivalentes carcinogénicos (EqT-BaP) y mutanogénicos (EqM-BaP) fueron determinados para sedimentos marinos y bivalvos a partir del factor de equivalencia tóxico (FET) (Nisbet & Lagoy, 1992) y el factor de la concentración mínima mutagénica (CMM) (Durant et al., 1996) respectivamente, asociados con cada HAP. Los valores de ambos factores (FET y CMM) se muestran en la Tabla 1.2. Las concentraciones equivalentes fueron calculadas a partir de las ecuaciones (2.12) y (2.13) (Bortey-Sam et al., 2014; Xia et al., 2012).

$$EqT - BaP = \sum (FET - HAP_i) x ([HAP_i]) \quad (2.12)$$

$$EqM - BaP = \sum (CMM - HAP_i) x ([HAP_i]) \quad (2.13)$$

Donde:

$FET - HAP_i$  = Factor de equivalencia tóxica para el HAP  $i$

$CMM - HAP_i$  = Concentración mínima mutagénica para el HAP  $i$

$[HAP_i]$  = Concentración del HAP  $i$ , en la muestra

Para el consumo humano de organismos bivalvos, en Colombia la normativa (Ministerio de Salud y Protección Social Colombia, Resolución 122 de 2012, art. 6), establece los límites permitidos de la suma de las concentraciones de cuatro HAPs ( $\Sigma 4HAPs$ ) (BaP, BaA, BbF y Cri), la cual no puede superar los 35 ng g<sup>-1</sup>. Al igual que en Colombia, la comisión de regulación de la Unión Europea (Unión Europea, Reglamento N° 1327, 2014, art. 1; Unión Europea, Reglamento N° 835, 2011, art. 2), establece los límites de concentración basados en la  $\Sigma 16HAPs$  mencionados anteriormente, valor que no puede superar los 30 ng g<sup>-1</sup>. Para este estudio fue

realizada la comparación con ambas normativas, con el objetivo de evaluar si las concentraciones de HAPs cumplen con las normativas nacional e internacional (como contexto si estos se exportan a esta región).

En el Anexo 9 se presenta de manera detallada los cálculos de los equivalentes tóxicos y mutagénicos en sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa*.

## 2.8 EVALUACIÓN DEL RIESGO ECOLÓGICO EN SEDIMENTOS MARINOS

Para evaluar el riesgo ecológico de cada HAP individual en sedimentos marinos y de manglares, fue utilizado el método de las guías de calidad de sedimento (SQGs, por sus siglas en inglés) (Cai et al., 2019; Lin, et al., 2017; Long et al., 1995). Las concentraciones de cada HAP fueron comparadas con los valores límites que permiten estimar el efecto sobre el potencial biológico. Los límites usados fueron el rango de efectos bajo (REB) y el rango de efectos medio (REM). Las concentraciones de cada HAP por debajo del valor de REB indican poco o ningún efecto adverso sobre la biota, valores entre el REB y el REM indican que pueden ocasionalmente generar efectos adversos, mientras que valores por encima del REM indican que son muy probables los efectos adversos (Lin, et al., 2017; Lin et al., 2018; Qu et al., 2018b).

Para evaluar el riesgo ecológico combinado de los HAPs totales en sedimentos superficiales, fue adoptado el método de cociente del rango de efectos medianos promedio (C-REM-P), conocido en inglés como mean effects range-median quotient (M-ERM-Q). El M-ERM-Q fue determinado mediante la ecuación (2.14) y clasificado en cuatro categorías, las cuales son las siguientes: área de baja prioridad ( $M-REM-Q < 0.10$ ), área de media-baja prioridad ( $0.11 < M-REM-Q < 0.5$ ), área de media-alta prioridad ( $0.51 < M-REM-Q < 1.50$ ) y área de alta prioridad ( $M-REM-Q > 1.50$ ) (Lin et al., 2018).

$$C - REM - P = \frac{\sum \frac{C_i}{ERM_i}}{n} \quad (2.14)$$

## 2.9 EVALUACIÓN DEL GRADO DE QUÍMICA VERDE EN LOS MÉTODOS ANALÍTICOS

Para evaluar el grado de química verde de los métodos analíticos se usó la eco-escala analítica de Galuszka et al (2012). Para lo anterior se tuvieron en cuenta cinco parámetros: cantidad de solvente usado, nivel de peligro de los solventes usados, consumo de energía del método, riesgos ocupacionales y residuos generados. Para cada parámetro se asignan unos puntos de penalidad los cuales se presentan en la Tabla 2.12.

**Tabla 2.12 Puntos de penalidad (PP) para calcular la eco-escala analítica. Tabla adaptada de Galuszka et al. (2012)**

Parámetro	Categorías	PP sub-total	PP total
Cantidad de solventes	< 10 mL	1	Número de pictogramas x PP cantidad de solvente x PP nivel de peligro
	10 – 100 mL	2	
	> 100 mL	3	
Nivel de peligro de solventes	Ningún peligro	0	
	Poco peligroso	1	
	Muy peligroso	2	
Consumo de energía (por muestra)	≤ 0.1 kWh		0
	≤ 1.5 kWh		1
	> 1.5 kWh		2
Riesgos ocupacionales	Hermetización proceso		0
	Emisión de gases		3
Residuos generados	Ninguno		0
	< 1 mL		1
	1-10 mL		3
	> 10 mL		5
	Reciclaje		0
	Degradación		1
Pasivación		2	
Ningún tratamiento		3	

Debido a que para la extracción de los HAPs se usan diferentes tipos de solventes, se tuvieron en cuenta los puntos de penalidad para cada uno de estos. Los cuales se determinan teniendo en cuenta el nivel de peligro de solventes (ningún peligro, poco peligroso y muy peligroso) y el número de pictogramas (acetona (2), acetonitrilo (2), diclorometano (2), hexano (5), tolueno (3) y acetato de etilo (2)). La información para cada solvente fue tomada de las fichas técnicas de cada uno de ellos. Por su parte, los puntos de penalidad asociados con el consumo de energía son: GC-MS (2) y consumo de calor (2).

Una vez se determinaron los puntos de penalidad totales, se calculó el puntaje total de analítica eco-escala, mediante la ecuación (2.15).

$$\text{Eco - escala analítica} = 100 - \text{puntos totales de penalidad} \quad (2.15)$$

Con base en los valores de eco-escala analítica, se evaluó en grado de química verde de los métodos analíticos, así:

Eco-escala > 75 representa excelente análisis verde.

Eco-escala > 50 representa aceptable análisis verde

Eco-escala < 50 representa inadecuado análisis verde

En el Anexo 10 se presentan de manera detallada los cálculos de la eco-escala analítica para evaluación del método verde.

## CAPITULO 3 - RESULTADOS

---

### 3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA

En la Tabla 3.1 se presentan los parámetros fisicoquímicos obtenidos en las muestras de agua marina de la bahía de Tumaco ( $n=4$ ). De manera general se puede observar que los valores de pH no tuvieron una variación considerable entre los distintos puntos de muestreo, con un rango de 7.4 a 7.9, además, todos los valores obtenidos se encuentran dentro del límite establecido para preservación de flora y fauna de 6.5 a 8.5 unidades de pH (Ministerio de Agricultura, Decreto 1594, 1984). Por su parte la concentración de SST varió entre 13.3 a 143.3 mg L<sup>-1</sup>, las muestras del área portuaria y desembocadura tuvieron valores menores a 25 mg L<sup>-1</sup> por lo que se consideran aguas no contaminadas, mientras que para el caso del área residencial al tener un valor entre 75 a 150 mg L<sup>-1</sup> se la considera con indicio de contaminación (INVEMAR et al., 2016).

Los parámetros de conductividad, turbidez y dureza cálcica en agua del mar no se encuentran regulados por la normativa. Los valores de conductividad encontrados en este estudio tuvieron un rango entre 7090 y 7621  $\mu\text{s cm}^{-1}$ , sin embargo, en agua de mar comúnmente la conductividad tiene valores cercanos a 50000  $\mu\text{s cm}^{-1}$ , por lo tanto, es posible que los bajos valores obtenidos en este estudio se deba al hecho de no haber podido medir este parámetro in-situ. La turbidez de las muestras en este estudio tuvo un rango entre 1.20 y 24.88 UNT, el valor más alto (24.88 UNT) se obtuvo en la muestra del área residencial (RES-P13), la cual tiene gran cantidad de asentamiento urbano, mientras que la muestra de menor concentración se tomó en el área portuaria (POR-P1) la cual fue recolectada en un área con poca afluencia de personas. Por su parte, la dureza total en agua de mar (conformada principalmente por  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^{+}$ ) normalmente varía entre 4500 y 7500 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$  (Mahmoud & Obada, 2014), en este estudio solo fue determinada la concentración de dureza cálcica ( $\text{Ca}^{2+}$ ) la cual varió entre 1800 a 2250 mg  $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ . Al tener en cuenta que normalmente la contribución de la dureza cálcica ( $\text{Ca}^{2+}$ ) a la dureza total es alrededor de la cuarta parte, se puede tener un estimativo de que los niveles de dureza total en la bahía de Tumaco podrían encontrarse con valores cercanos al rango encontrado en otros estudios (4500 y 7500 mg L<sup>-1</sup>).

**Tabla 3.1 Parámetros fisicoquímicos obtenidos para las muestras de agua marina en la bahía de Tumaco**

Parámetro	Estadístico	Área - Punto de muestreo			
		POR-P1	DES-P4	DES-P5	RES-P13
pH (unidades)	<b>Promedio</b>	<b>7.9</b>	<b>7.6</b>	<b>7.6</b>	<b>7.4</b>
	Desviación Estándar	$6 \times 10^{-3}$	$6 \times 10^{-3}$	$1 \times 10^{-2}$	$6 \times 10^{-3}$
	Nº de lecturas	3	3	3	3
Conductividad ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ )	<b>Promedio</b>	<b>7621</b>	<b>7565</b>	<b>7090</b>	<b>7613</b>
	Desviación Estándar	7	8	8	8
	Nº de lecturas	3	3	3	3
Turbidez (UNT)	<b>Promedio</b>	<b>1.20</b>	<b>12.98</b>	<b>2.78</b>	<b>24.88</b>
	Desviación Estándar	0.14	0.49	0.21	0.49
	Nº de lecturas	4	4	4	4
Dureza cálcica ( $\text{mg L}^{-1}$ )	<b>Concentración obtenida</b>	<b>2250</b>	<b>1950</b>	<b>1800</b>	<b>2100</b>
SST ( $\text{mg L}^{-1}$ )	<b>Concentración obtenida</b>	<b>13.3</b>	<b>26.7</b>	<b>23.3</b>	<b>143.3</b>

### 3.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS DE HAPs EN SEDIMENTO MARINO CERTIFICADO

En la Tabla 3.2 se presentan los resultados obtenidos para la validación del método en material de sedimento certificado 1941b NIST. Se puede observar que los coeficientes de correlación ( $R^2$ ) y de determinación (R) para todos los HAPs cumplieron el criterio de linealidad  $>0.995$  y  $>0.997$  respectivamente, por lo tanto, en el intervalo de trabajo establecido se pueden realizar la cuantificación de estos analitos mediante interpolación lineal. Asimismo, los  $\overline{FRRs}$  tuvieron desviaciones menores al 20% para todos los analitos, lo que indica que dentro del intervalo de trabajo seleccionado se puede utilizar el método de cuantificación mediante el  $\overline{FRR}$ .

Por su parte, la precisión del método expresada como la repetibilidad del método, para los compuestos más livianos (Naf, Aci y Ace) presentan una DER por encima del 30% y para los demás compuestos a partir del Flu en la mayoría de los casos menor al 10%. El problema para los compuestos más livianos radica en que durante la concentración estos compuestos pueden volatilizarse, generando mayor variación durante el análisis.

Por otro lado, la veracidad del método, reportada como la recuperación relativa para algunos compuestos, para la mayoría de los compuestos se encuentran entre el 70 y el 130%, valor recomendado por la US-EPA. Cabe resaltar que la recuperación relativa reportada es con base en la comparación de las concentraciones obtenidas para cada compuesto durante el análisis del

material certificado y las concentraciones reales. Los resultados indican, que el ajuste realizado con base en los porcentajes de recuperación de los surrogados permite obtener concentraciones más cercanas de las concentraciones reales.

Los límites de detección y cuantificación en general fueron bajos, lo que permite tener un buen grado de sensibilidad durante el análisis.

**Tabla 3.2 Parámetros de validación obtenidos para el material de referencia de sedimento marino certificado 1941b NIST**

Compuesto	Linealidad			Precisión	Veracidad	Límites	
	Coef. Cor. R <sup>2</sup>	Coef. Det. R	Coef Var. del FRR	Repet. DER	Recuper. %R	LOD ng g <sup>-1</sup>	LOQ ng g <sup>-1</sup>
Criterio de aceptación	>0.995	>0.997	<20%	<30%	70-130%	N/A	N/A
Naf	0.996	0.998	6.5	55.2	20±11	0.151	0.50
Aci	0.998	0.999	13.3	34.4	133±46	0.187	0.62
Ace	0.996	0.998	12.3	44.8	125±56	0.171	0.57
Flu	0.998	0.999	10.7	7.0	93±7	0.167	0.56
Fen	0.996	0.998	10.3	10.6	79±8	0.179	0.60
Ant	0.998	0.999	10.8	10.7	88±10	0.274	0.91
Fla	0.998	0.999	9.1	10.2	109±11	0.210	0.70
Pir	0.999	0.999	10.1	4.8	74±4	0.149	0.50
BaA	0.999	0.999	7.5	5.3	99±5	0.166	0.55
Cri	0.998	0.999	9.3	1.9	125±2	0.178	0.59
BbF	0.999	1.000	8.5	7.6	139±11	0.232	0.77
BkF	1.000	1.000	13.8	8.8	93±8	0.460	1.53
BaP	1.000	1.000	12.0	7.0	73±5	0.314	1.05
Ind	0.999	1.000	10.1	8.1	81±7	0.525	1.75
DbA	0.999	1.000	11.8	6.1	127±8	0.671	2.24
Bghi	0.999	1.000	7.8	9.8	78±8	0.355	1.18

### 3.3 CONCENTRACIONES DE HAPs

#### 3.3.1 SEDIMENTOS MARINOS

En la Tabla 3.3 se muestran las concentraciones de los HAPs en sedimentos marinos en ng g<sup>-1</sup> de peso seco de sedimento. También se presentan los valores de equivalente tóxico expresados en ng-BaP g<sup>-1</sup>.

Las concentraciones totales de HAPs en sedimentos, están reportadas como la sumatoria de los 16 HAPs prioritarios por la U.S.EPA ( $\Sigma 16\text{HAPs}$ ). Asimismo, la Figura 3.1 representa las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en las muestras de sedimentos marinos, considerando las zonas de muestreo en la bahía de Tumaco. Las más altas concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  fueron encontradas en el área de la desembocadura del río Rosario, con un valor de  $76.2 \text{ ng g}^{-1}$  en la muestra marina y un rango de  $171.4$  a  $564 \text{ ng g}^{-1}$  en las muestras estuarinas, seguida por el área portuaria con un rango de  $15.5$  a  $77.5 \text{ ng g}^{-1}$  y finalmente el área Residencial con un rango de  $16.5$  a  $26.5 \text{ ng g}^{-1}$ .

Las elevadas concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en la desembocadura del río Rosario son posiblemente atribuidas al hecho que esta área ha sido previamente clasificada como una zona de alto riesgo de derrames de crudo (Tejada & Afanador, 2003). Uno de los eventos más recientes, ocurrió en abril de 2018, donde alrededor de 10,000 barriles de petróleo se derramaron en el río Caunapí, un afluente del río Rosario y, posteriormente trazas de crudo fueron arrastradas hacia el área de la desembocadura. Adicionalmente, los sedimentos en la desembocadura SD4 y SD5 presentan las concentraciones más altas de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  con valores de  $171.4$  y  $564.6 \text{ ng g}^{-1}$  respectivamente los cuales son clasificados como tipo lodosos ( $\text{ISA}=10$ ) conformados principalmente de partículas muy finas (Tejada & Afanador, 2003), las cuales pueden acumular mayor cantidad de HAPs que sedimentos arenosos (Nascimento et al., 2017). Sumado a lo anterior, los sedimentos (SD4 y SD5) se encuentran en un área interna del estuario, en donde la hidrodinámica del agua es baja, hecho que favorece la acumulación de contaminantes, en comparación con la muestra marina SD6 que tuvo una concentración de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  de  $76.2 \text{ ng g}^{-1}$ , menor que SD4 y SD5, en esta muestra la fuerte hidrodinámica de las mareas pueden incrementar la dilución de contaminantes disminuyendo su concentración.

Por otro lado, las áreas portuaria y residencial que tuvieron un rango de concentración más bajo con valores entre  $15.5$  y  $77.5 \text{ ng g}^{-1}$ , están clasificadas como zonas de riesgo medio de derrames de crudo (Tejada & Afanador, 2003). En estas dos áreas, la mayoría de los sedimentos tienen  $\text{ISA} = 3$  y  $\text{ISA} = 7$ , las cuales están compuestas principalmente por arenas de grano medio y arenas de grano fino respectivamente. Estas partículas al tener mayor diámetro de partículas que los sedimentos lodosos de los manglares, tienden a acumular menor cantidad de HAPs (Nascimento et al., 2017).



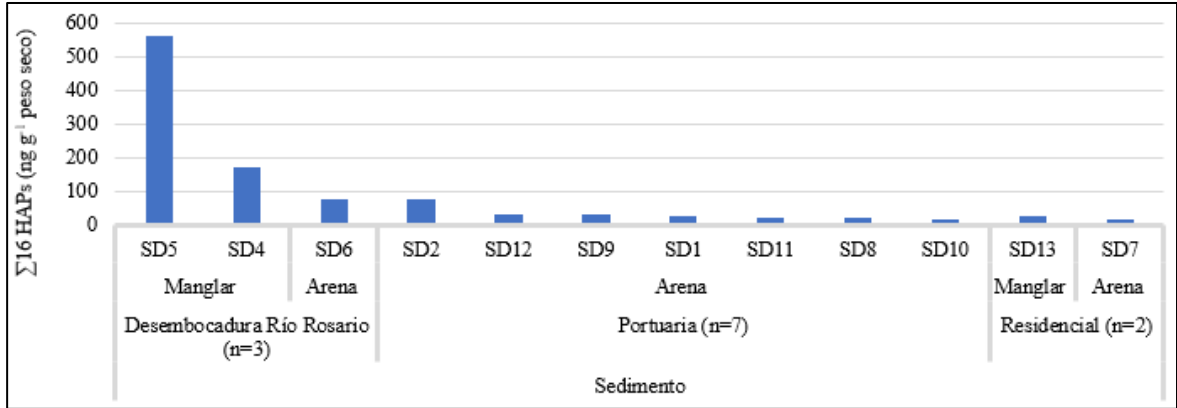
Cabe resaltar que la muestra del área portuaria SD2 a pesar de tener una concentración menor que las muestras del área desembocadura SD4 y SD5, presenta equivalentes tóxicos y mutagénicos mayores que todas las muestras. Lo anterior es atribuido al hecho que la muestra SD2 presenta mayor concentración de los HAPs más pesados, los cuales presentan mayores características tóxicas y mutagénicas.

Los EqT-BaP variaron entre 0.07 y 7.56 EqT-BaP, mientras que los EqM-BaP variaron entre 0.17 y 9.45 EqM-BaP. El análisis de estos valores se realiza en la sección 3.6 de evaluación del riesgo toxicológico.

**Tabla 3.3 Concentración de HAPs en muestras de sedimentos (ng g<sup>-1</sup> peso seco)**

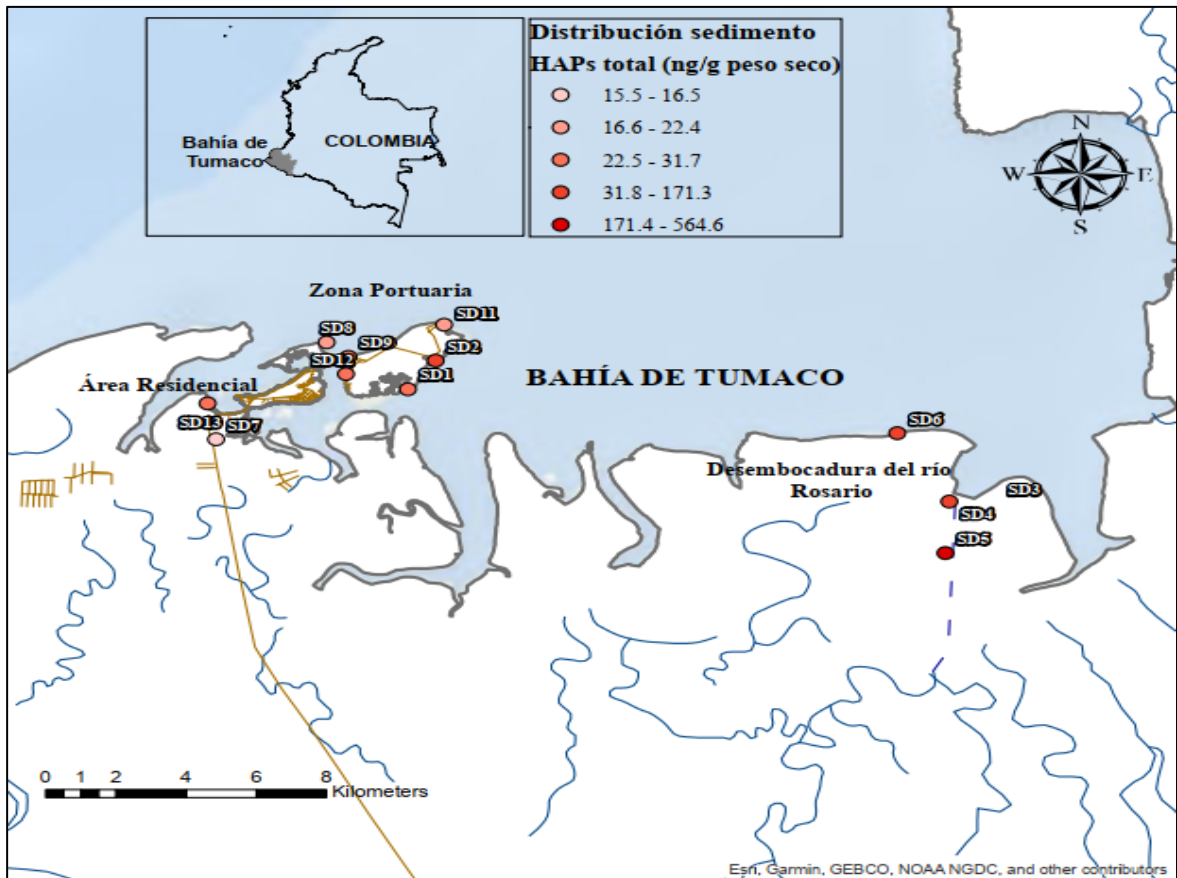
Compuesto	POR (n=7)							DES (n=3)			RES (n=2)	
	SD1	SD2	SD8	SD9	SD10	SD11	SD12	SD4	SD5	SD6	SD7	SD13
Naf	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15	<0.15
Aci	5.2	5.7	<0.19	5.0	4.9	<0.19	7.1	<0.19	<0.19	<0.19	2.0	2.6
Ace	<0.17	1.6	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	8.6	<0.17	1.5
Flu	6.1	3.5	<0.17	12.7	<0.17	6.7	10.4	9.1	10.6	24.1	5.8	5.0
Fen	5.4	9.9	9.9	5.1	4.4	4.6	5.6	37.0	98.7	9.2	4.8	5.2
Ant	0.6	1.9	0.9	0.4	<0.27	0.9	0.9	2.5	<0.27	2.4	<0.27	<0.27
Fla	2.7	9.1	3.9	2.7	2.0	2.7	2.5	38.0	160.7	5.8	2.1	3.8
Pir	2.8	12.6	3.8	2.5	2.0	2.3	2.7	78.8	292.5	4.2	1.3	2.4
BaA	<0.17	4.8	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	<0.17	3.2	<0.17	1.7
Cri	<0.18	5.4	<0.18	<0.18	<0.18	<0.18	<0.18	<0.18	<0.18	2.0	<0.18	1.5
BbF	1.7	7.0	<0.23	1.5	1.3	1.8	1.5	1.8	2.1	2.7	<0.23	1.6
BkF	0.5	2.2	<0.46	<0.46	<0.46	1.1	<0.46	<0.46	<0.46	2.5	<0.46	<0.46
BaP	1.0	4.7	1.1	0.8	<0.31	<0.31	<0.31	<0.31	<0.31	2.5	<0.31	<0.31
Ind	1.3	4.0	1.8	0.9	0.8	1.5	1.2	1.3	<0.52	3.9	0.5	1.3
DbA	<0.67	0.9	<0.67	<0.67	<0.67	0.8	<0.67	<0.67	<0.67	2.4	<0.67	<0.67
Bghi	1.6	4.3	<0.35	<0.35	<0.35	<0.35	<0.35	2.9	<0.35	2.7	<0.35	<0.35
∑16HAPs	29.0	77.5	21.4	31.6	15.5	22.4	31.7	171.4	564.6	76.2	16.5	26.5
EqT-BaP	1.4	7.6	1.3	1.1	0.2	1.3	0.3	0.5	0.8	6.3	0.1	0.5
EqM-BaP	2.2	9.4	1.7	1.5	0.6	1.3	0.7	1.4	0.5	6.2	0.2	1.0

\*Los valores reportados como < X hace referencia a que son menores al límite de detección para cada compuesto.



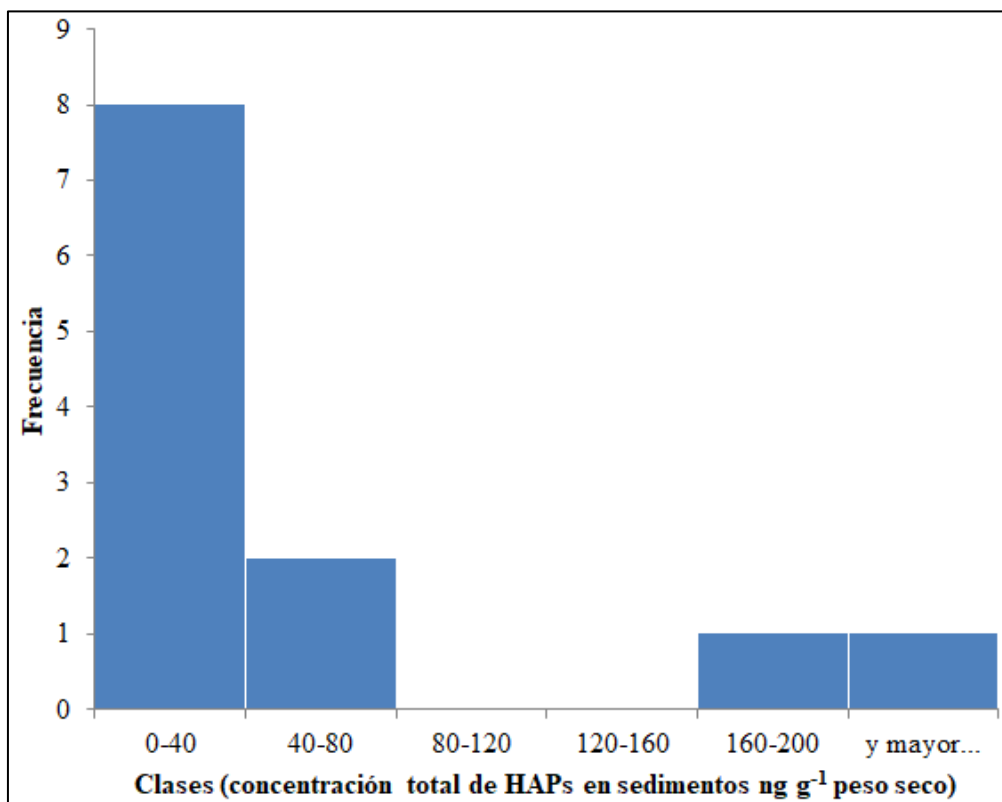
**Figura 3.1 Distribución por área de las concentraciones de Σ16HAPs en sedimentos marinos**

En la Figura 3.2 se muestra la distribución espacial de las concentraciones de Σ16HAPs en las muestras de sedimentos marinos; en donde se puede apreciar que las zonas de mayor concentración se encuentran en el área de desembocadura del río Rosario, seguida por el área portuaria y por último el área residencial.



**Figura 3.2 Distribución espacial de las concentraciones de Σ16HAPs en sedimentos marinos en la bahía de Tumaco**

La Figura 3.3 muestra el histograma de distribución de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en muestras de sedimentos marinos. En el histograma se puede observar que las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  no siguen una distribución normal, además las muestras SD4 y SD5 tienen valores con concentraciones de 171.4 y 564.6  $\text{ng g}^{-1}$  muy desviadas al rango de concentración de las demás muestras (entre 15.5 y 77.5. 6  $\text{ng g}^{-1}$ ). Esto se debe al hecho que las muestras (SD4 y SD5) se encuentran en un área estuarina (desembocadura de río sobre el mar), por lo tanto, tienen gran influencia de los fenómenos continentales como derrames por rupturas del oleoducto que ocurren sobre el río (por ejemplo, derrames) y son transportados hasta estos puntos de muestreo (SD4 y SD5).



**Figura 3.3** Histograma de distribución de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en muestras de sedimentos marinos

Las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  obtenidas en sedimentos en este estudio fueron comparadas con estudios realizados en otras regiones. Para la comparación fueron seleccionadas áreas de estudio en Colombia y en otros países, las cuales se muestran en la Tabla 3.4.

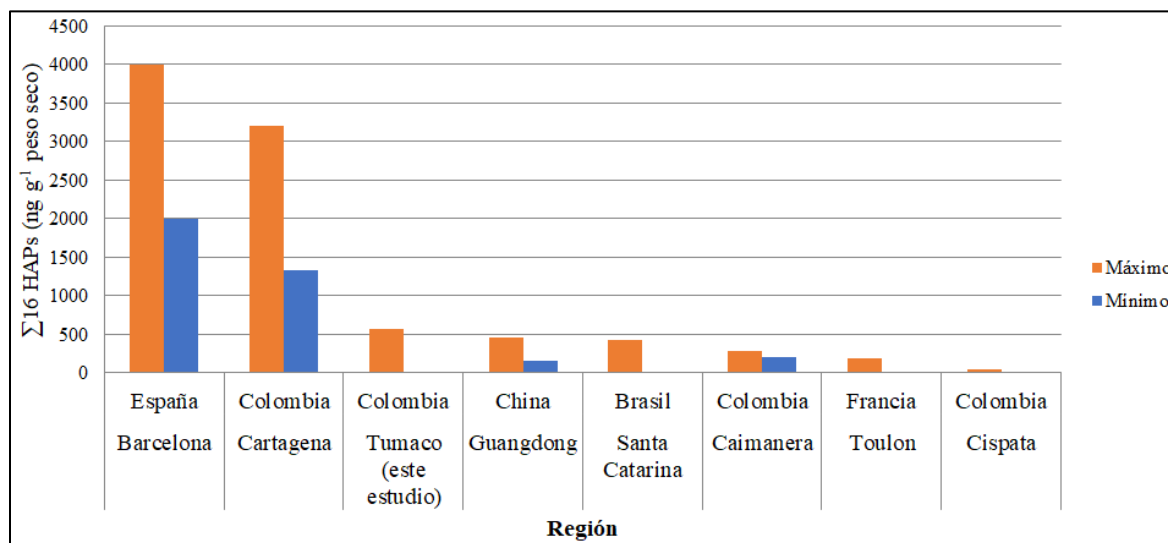
En la Figura 3.4 se muestra la comparación entre las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  obtenidas en los estudios citados. Al comparar las concentraciones totales de HAP con otras regiones de Colombia, se observa que el rango de concentración obtenido en la bahía de Tumaco (entre 15 y 565  $\text{ng g}^{-1}$ ) es más alto que áreas poco pobladas y con bajo grado de actividad económica como es el caso de la bahía de Cispata (entre 6 y 41  $\text{ng g}^{-1}$ ), que está ubicada en el departamento de Córdoba en la costa atlántica colombiana. Las concentraciones de este estudio son similares a las obtenidas en puertos con actividad petrolera intermedia como la ciénaga Caimanera (entre 209 y 282  $\text{ng g}^{-1}$ ) que está ubicada en el departamento de Sucre en la costa atlántica colombiana y fue menor que áreas con alta actividad petrolera e industrial como la bahía de Cartagena (entre 1330 y 3210  $\text{ng g}^{-1}$ ).

Por otra parte, al comparar con otras regiones del mundo, se observa que el rango de las concentraciones de la bahía de Tumaco (entre 15 y 565  $\text{ng g}^{-1}$ ) es similar al obtenido para Santa Catarina en Brasil (entre 6 y 434  $\text{ng g}^{-1}$ ), el cual es un área protegida que recibe efluentes de áreas urbanas, para la Provincia de Guangdong en China (entre 151 y 453  $\text{ng g}^{-1}$ ), donde hay presente alta actividad antropogénica (principalmente desarrollo industrial y transporte marino) y, para la bahía Toulon en Francia (entre 22 y 182  $\text{ng g}^{-1}$ ) en donde hay alto nivel de actividades antropogénica (marina francesa, tráfico comercial, aguas residuales de áreas urbanas e industrias). Por otro lado, el rango de concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en este estudio (entre 15 y 565  $\text{ng g}^{-1}$ ), está muy por debajo que el obtenido en el puerto de Barcelona en España (entre 2000 y 4000  $\text{ng g}^{-1}$ ), el cual es uno de los más grandes puertos industriales en el mar Mediterráneo en términos de carga, transporte de pasajeros y tráfico de buques.

**Tabla 3.4 Estudios utilizados para la comparación de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en sedimentos marinos**

País	Región	Característica del área de estudio	Referencia
Colombia	Bahía de Tumaco (costa Pacífica)	Puerto de exportación de petróleo, transporte de pasajeros, comercial y pesquero.	Este estudio
Colombia	Bahía Cispata (costa Atlántica)	Zona de manglares, desembocadura de ríos afectados por derrames y otros contaminantes peligrosos.	(Burgos et al., 2017)
Colombia	Ciénaga Caimanera (costa Atlántica)	Lago costero ubicado entre el pueblo de Coveñas y Tolú, por donde se encuentra el oleoducto Caño Limón.	(Johnson et al., 2008)
Colombia	Bahía de Cartagena (costa Atlántica)	Zona afectada por aguas residuales, entradas de refinerías de petróleo, plantas petroquímicas y tráfico de embarcaciones.	(Johnson et al., 2008)

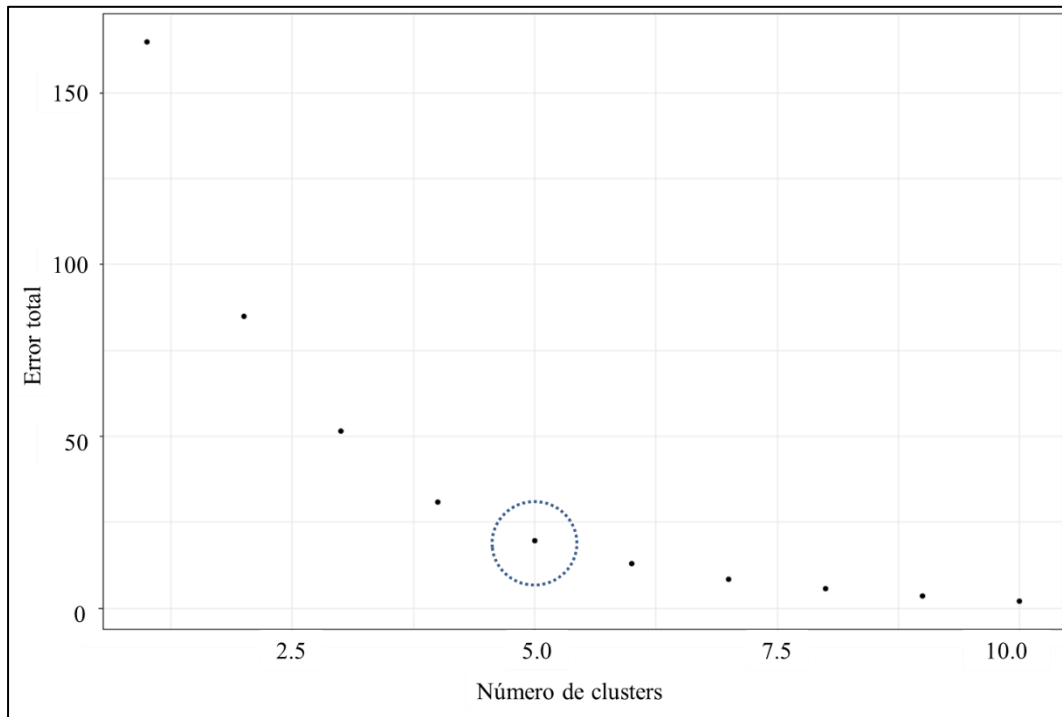
País	Región	Característica del área de estudio	Referencia
Brasil	Santa Catarina	Área protegida en donde sus principales fuentes de contaminación son la desembocadura de ríos afectados principalmente por efluentes de áreas urbanas.	(Assunção et al., 2017)
China	Provincia de Guangdong (Puerto Zhanjiang)	Alto desarrollo urbano, industrial y transporte marino.	(Sun et al., 2018)
Francia	Bahía Toulon	Zona afectada principalmente por tráfico comercial, tráfico de la armada francesa, efluentes aguas residuales y por actividad industrial.	(Guigue et al., 2017)
España	Barcelona	El puerto de Barcelona es uno de los mayores a nivel mundial en términos de carga (>34 millones de toneladas en 2003), transporte de pasajeros (1.870.000 pasajeros en 2003) y tráfico de buques (9000 arribos en 2003).	(Martínez et al., 2007)



**Figura 3.4 Comparación de la concentración de Σ16HAPs en sedimentos marinos en diferentes regiones**

Para analizar los perfiles de distribución de los HAPs individuales en muestras de sedimentos marinos se realizó un análisis de componentes principales, para este análisis no se tuvo en cuenta el compuesto Naf, debido a que no fue detectado en ninguna muestra. Para lo anterior primero fue determinado el número de clusters óptimo que permita obtener el menor error posible, el número de clusters fue determinado con base en la gráfica de error total vs número de clusters

la cual se muestra en la Figura 3.5. Se observó que a mayor número de clusters se obtiene un menor error total asociado con la agrupación, sin embargo, al tener en cuenta que el número de muestras totales es 12, se seleccionó un número de clusters bajo, con el cual se pudiera agrupar un número considerable de las muestras y que el error total fuera bajo. Con base en lo anterior se estableció un número de cinco clusters como el óptimo.



**Figura 3.5 Optimización del número de clusters para análisis de componente principales**

En la Figura 3.6 se muestra la agrupación de las muestras con base en los clusters determinados. Se encontró que la mayoría de las muestras ( $n=8$ ) del área portuaria y residencial (SD1, SD7, SD8, SD9, SD10, SD11, SD12 y SD13) comparten un perfil similar. La muestra SD2 que también está ubicada en el área portuaria presenta un perfil atípico que el resto de las muestras de esta área y no presenta alguna agrupación, posiblemente asociado a que fue recolectada muy cerca al muelle petrolero de la zona. Por su parte cada una de las tres muestras del área de desembocadura (SD4, SD5 y SD6) presentan perfiles característicos diferentes a los obtenidos en las áreas portuaria y residencial, lo cual está posiblemente influenciado por los eventos de contaminación continentales que ocurren sobre el río Rosario y son transportados a la desembocadura del río. Cabe resaltar que las muestras del área de desembocadura (SD4, SD5 y

SD6) no se encuentran agrupadas entre sí, presentando cada una un perfil característico, sin embargo, las muestras SD4 y SD5 presentan una similitud en los componentes principales.

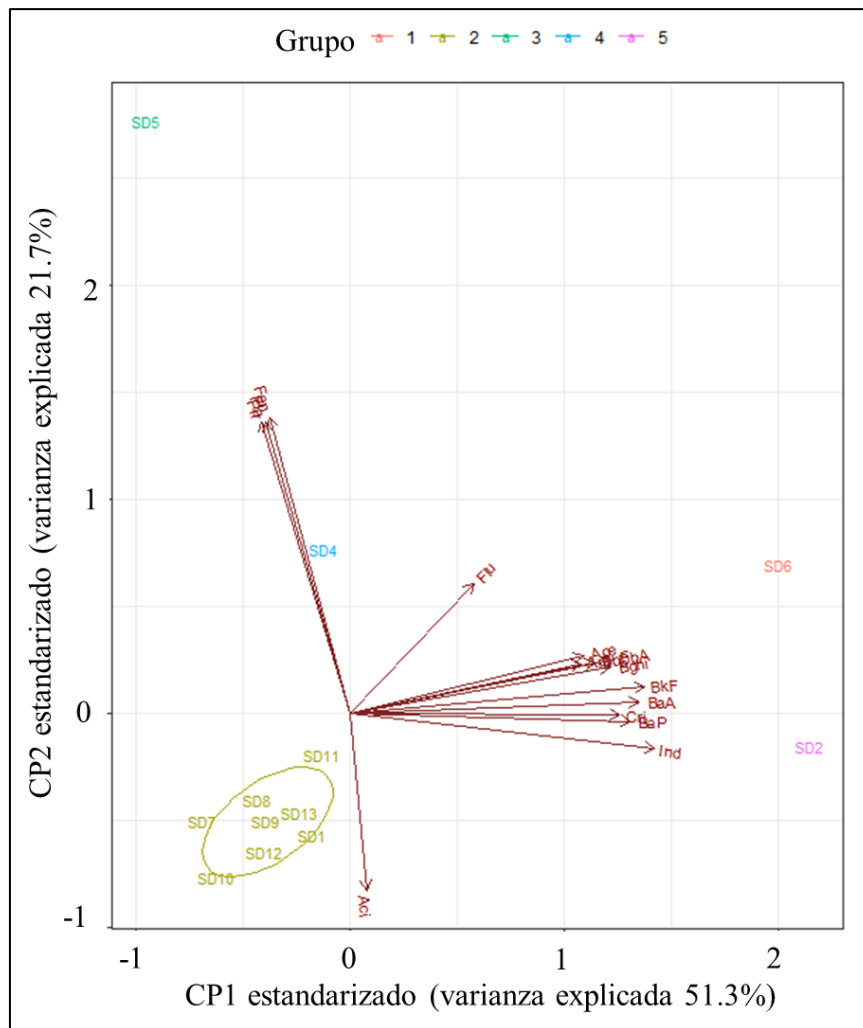


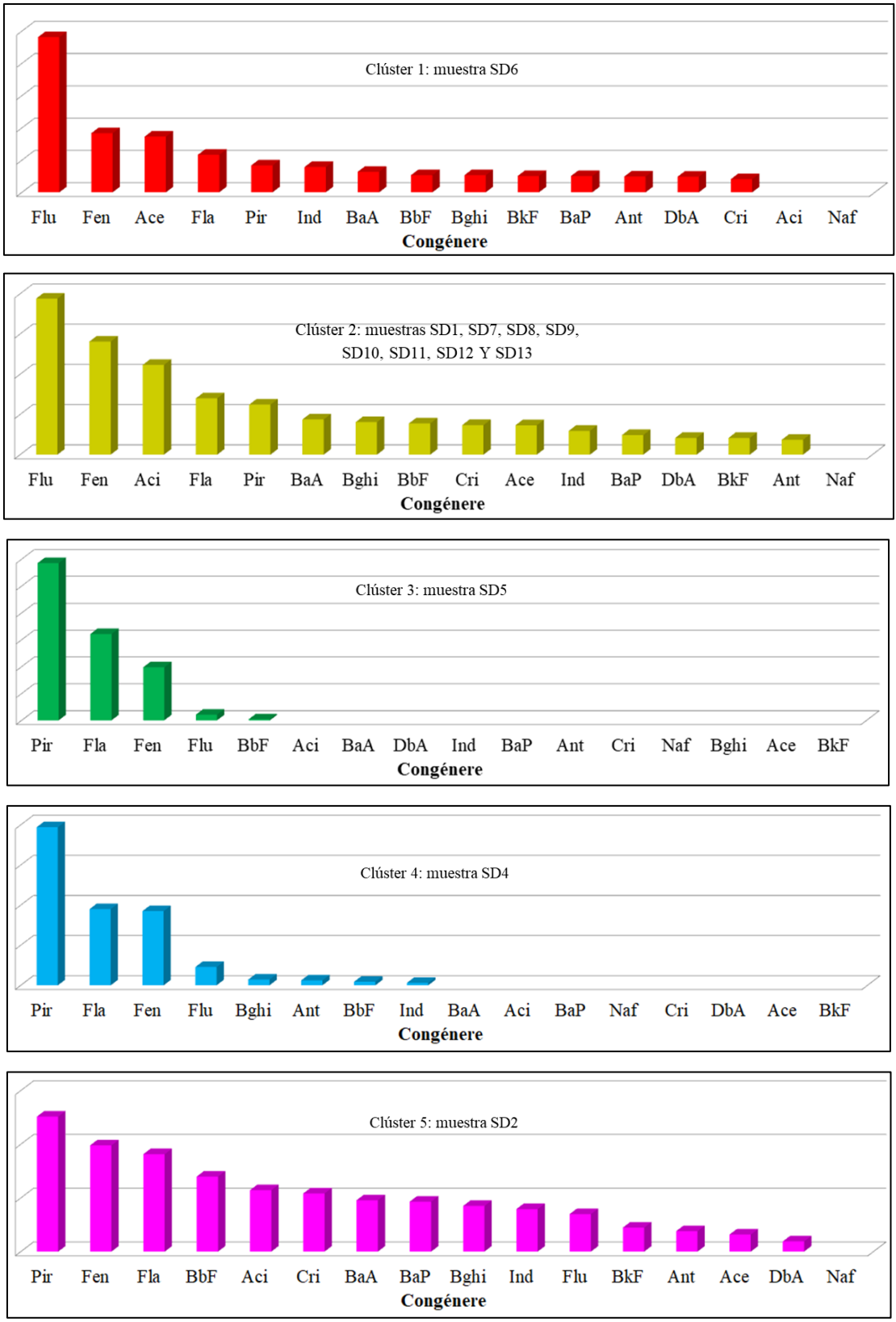
Figura 3.6 Análisis de componentes principales para las muestras de sedimentos marinos

La Figura 3.7 muestra los perfiles de distribución para los HAPs individuales. Al tener en cuenta todos los HAPs, cinco clusters diferentes fueron observados, sin embargo, al considerar únicamente los tres o cuatro HAPs más abundantes en cada muestra, se identificaron principalmente dos perfiles. En el primer perfil conformado por los clusters 1 y 2 los cuatro compuestos más abundantes son Flu, Fen, Ace y Aci, mientras que en el segundo perfil conformado por los clusters 3, 4 y 5 los compuestos más abundantes son Pir, Fla y Fen.

El primer perfil, conformado por los clusters 1 y 2, se presentó en las muestras (SD1/SD8/SD9/SD10/SD11/SD12 en el área portuaria, SD6 en el área desembocadura y SD7/SD13 en el área residencial), las cuales tienen mayor abundancia de HAPs de tres anillos como Flu y Fen. Estas muestras se caracterizan por presentar bajas concentraciones de  $\Sigma 16$ HAPs, lo cual indican que no han sufrido de eventos de contaminación de hidrocarburos de gran magnitud y las concentraciones de HAPs encontradas pueden ser atribuidas a pequeños derrames como flujo de lanchas o quema de biomasa, leña o carbón, las cuales se emiten de manera periódica. Debido al hecho que los hidrocarburos se emiten periódicamente, los HAPs de tres anillos llevan menos tiempo de degradación y tienen mayor concentración que los de cuatro anillos.

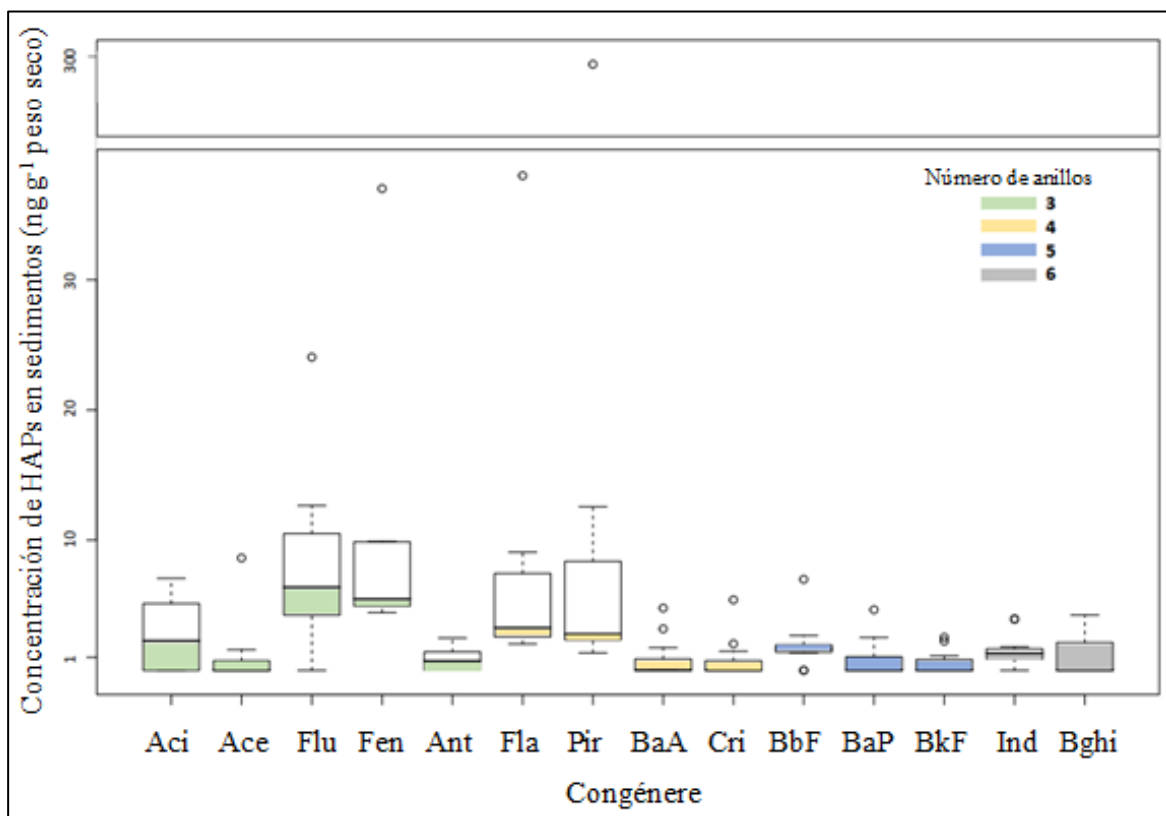
Por otra parte, el segundo perfil, conformado por los clusters 3, 4 y 5 tiene mayor abundancia de HAPs de cuatro anillos en comparación con los HAPs de tres anillos y se presentó en las tres muestras con más altas concentraciones de  $\Sigma 16$ HAPs (muestras SD2 en el área portuaria y SD4/SD5 en el área desembocadura). Estas muestras al tener altas concentraciones de  $\Sigma 16$ HAPs, pero menores concentraciones de HAPs de tres anillos, sugiere que este fenómeno puede ser atribuido al hecho que estos compuestos son más factibles a la degradación fotoquímica y biológica (Nascimento et al., 2017; Wagener et al., 2010) y a la resuspensión del sedimento a la columna de agua (Nandini & Menon, 1999). Por consiguiente, los compuestos de tres anillos tienden a degradarse con mayor velocidad que los compuestos de cuatro anillos. Lo anterior puede generar que la concentración de los HAPs de tres anillos se acumule lentamente, mientras que la concentración de los HAPs de cuatro anillos aumente a mayor velocidad.





**Figura 3.7 Clusterización de los HAPs individuales en las muestras de sedimentos marinos**

En la Figura 3.8 se presenta un diagrama de cajas para HAPs individuales, se observan que existen algunos valores atípicos para Flu, Fen y Pir, asociados con las muestras estuarinas, en las cuales como se ha explicado anteriormente presentan gran influencia de los fenómenos continentales como derrames que ocurren sobre el río Rosario y los residuos de hidrocarburos generados en la industria ilegal de producción de base de coca. Los compuestos de peso molecular intermedio como Flu, Fen y Pir tienen capacidad de solubilizarse parcialmente en el agua y transportarse hacia el área estuarina del río Rosario. Por su parte, los HAPs de mayor peso molecular (cinco y seis anillos), presentan menor dispersión, debido al hecho que en la mayoría de las muestras estos compuestos no fueron encontrados o sus concentraciones fueron muy bajas.

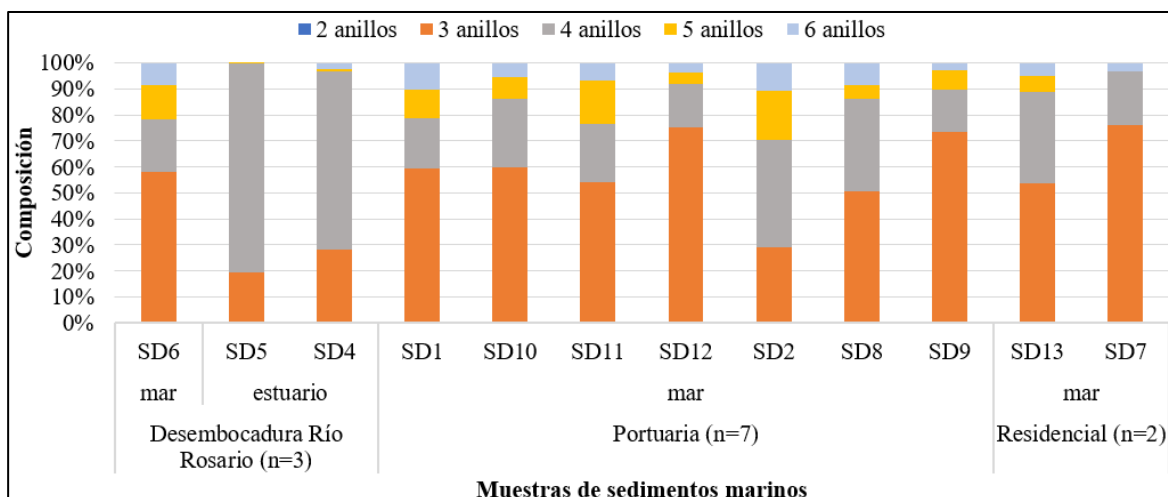


**Figura 3.8 Diagrama de caja para la concentración individual de cada HAPs en todas las muestras tomadas de sedimento marino**

La Figura 3.9 muestra la proporción de HAPs agrupados por número de anillos en muestras de sedimentos marinos, se observa que en todas las muestras analizadas la contribución es

mayoritariamente de HAPs de tres y cuatro anillos. La baja presencia de los HAPs más pesados (cinco y seis anillos) está posiblemente asociada con su baja capacidad de dilución en el agua, lo que limita su transporte a largas distancias (León et al., 2013). En los sedimentos estuarinos (SD4 y SD5) la suma de los HAPs de cinco y seis anillos es muy bajo (menor al 2%), mientras que en las muestras marinas el porcentaje de estos compuestos varía entre el 3 y el 30%. Lo anterior está posiblemente asociado con el hecho que los sedimentos estuarinos se encuentran en el área de desembocadura del río Rosario, la cual tiene como principales amenazas de contaminación los derrames continentales sobre el río Rosario (productos de la ruptura del oleoducto) (Tejada & Afanador, 2003), los cuales ocurren a más de 10 km de distancia de la bahía de Tumaco, dificultando el transporte de los compuestos más pesados (de cinco y seis anillos) hacia el área de desembocadura del río Rosario.

Por otro lado, las muestras de sedimentos recolectadas en zonas marinas fueron principalmente tomadas de las áreas portuarias y residencial, en donde las principales amenazas de contaminación están asociadas con derrames invisibles pequeños (causados por embarcaciones pequeñas), el terminal petrolero y los buques en tránsito (Tejada & Afanador, 2003), los cuales se encuentran relativamente más cercanos a los puntos de muestreo. La muestra SD6, fue recolectada en el área de desembocadura del Río Rosario, pero a diferencia de las demás muestras de esta área que fueron seleccionadas en zonas estuarinas, esta fue tomada en una zona marina (área más externa), en donde las amenazas de contaminación por derrames invisibles y buques en tránsito del área portuaria tienen un grado de influencia. Lo anterior se debe al hecho de que las olas del área portuaria se dirigen en dirección sudeste (Tejada & Afanador, 2003), las cuales mediante arrastre pueden transportar contaminantes hasta este punto de muestreo. En esta muestra fue observada mayor proporción de HAPs de cinco y seis anillos en comparación con las muestras estuarinas.



**Figura 3.9** Proporción de los HAPs, agrupados por número de anillos en muestras de sedimentos marinos

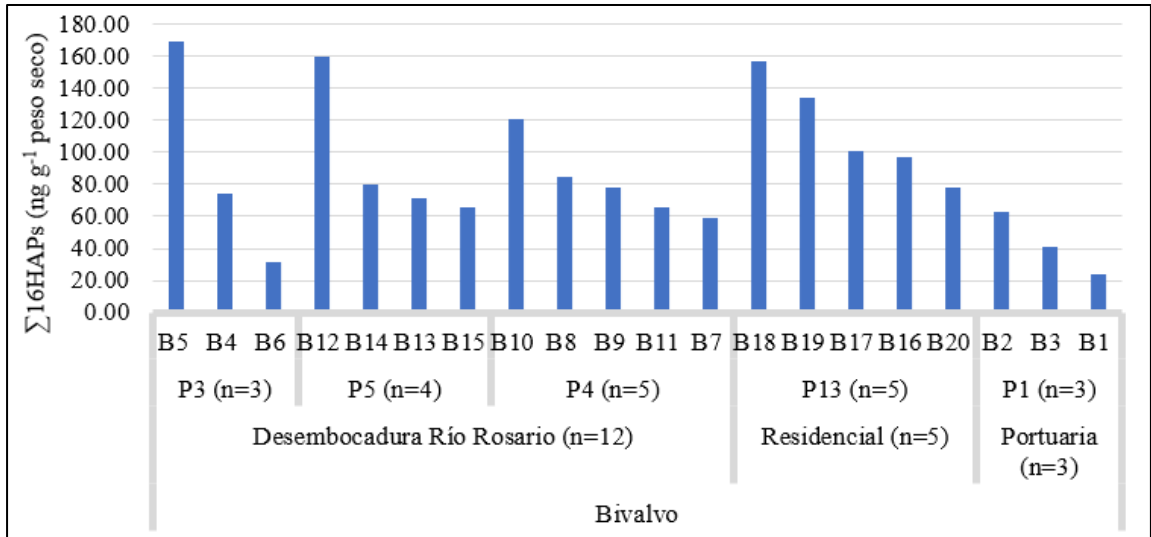
### 3.3.2 BIVALVOS

En la Tabla 3.5 se muestran las concentraciones de los HAPs en *Anadara tuberculosa*. Las concentraciones totales de HAPs en *Anadara tuberculosa*, están reportadas como la sumatoria de los 16 HAPs prioritarios por la U.S.EPA ( $\Sigma 16\text{HAPs}$ ). Asimismo, la Figura 3.10 representa las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en las muestras de *Anadara tuberculosa*, distribuidas por sectores en la bahía de Tumaco. Al igual que en las muestras de sedimentos marinos, las más altas concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en *Anadara tuberculosa* fueron encontradas en el área de desembocadura del Río Rosario, con un rango de 31 a 169 ng g<sup>-1</sup>, seguida por el área residencial con un rango de 78 a 157 ng g<sup>-1</sup> y por último el área portuaria con un rango de 24 a 63 ng g<sup>-1</sup>. A diferencia de sedimentos marinos, en las muestras de *Anadara tuberculosa* los rangos de concentración entre áreas tuvieron menor variación.

Los EqT-BaP variaron entre 0.11 y 5.01 EqT-BaP, por su parte, los EqM-BaP variaron entre 0.15 y 6.12 EqM-BaP, el análisis de estos valores se encuentra en la sección 3.6 de evaluación del riesgo toxicológico.

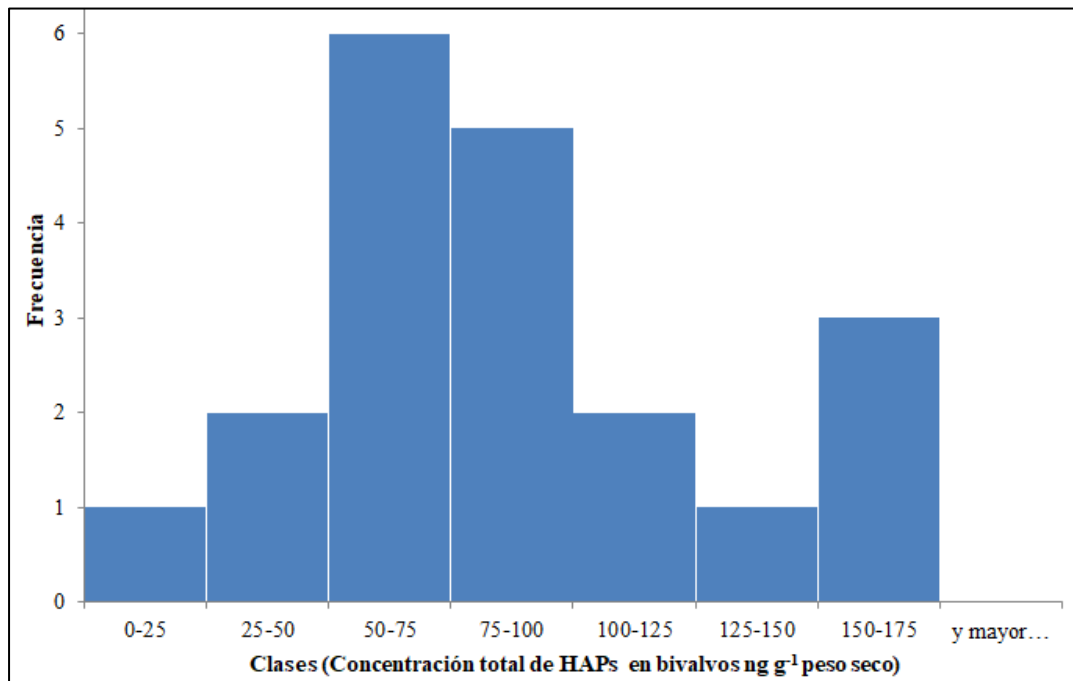
Tabla 3.5 Concentración de HAPs en muestras de bivalvos (*Anadara tuberculosa*) (ng g<sup>-1</sup> peso seco)

Compuesto	POR (n=3)			DES (n=12)											RES (n=5)						
	P1			P3			P4					P5				P13					
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12	B13	B14	B15	B16	B17	B18	B19	B20	
Naf	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	
Aci	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	<1.6	
Ace	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	4.4	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	2.7	<1.4	1.5	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	<1.4	
Flu	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	<1.1	
Fen	<1.2	5	4.0	8.5	1.3	3.5	1.8	<1.2	10.7	16.29	<1.2	57.53	<1.2	1.3	8.9	10.3	11.8	26.5	7.7	12.6	
Ant	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	4.24	2.3	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	<1.9	
Fla	9.3	16.8	13.7	20.3	59.3	8.7	12.2	6.2	24.1	41.0	21.3	43.9	20.5	24.0	16.3	30.2	36.0	46.6	37.1	25.0	
Pir	6.9	25.8	17.2	30.7	33.8	10.3	16.5	11.5	28.4	42.0	15.0	28.2	26.2	22.6	24.2	31.1	30.8	37.9	34.3	22.0	
BaA	<1.1	<1.1	<1.1	2.2	31.5	<1.1	5.7	<1.1	2.7	<1.1	<1.1	1.9	<1.1	16.2	<1.1	<1.1	<1.1	5.3	6.4	<1.1	
Cri	5.5	9.7	4.2	12.2	23.9	9.1	6.3	56.9	9.5	14.4	14.5	11.0	15.1	13.4	13.2	18.2	15.6	28.3	27.4	12.8	
BbF	2.1	5.8	2.1	<1.6	10.4	<1.6	4.4	1.8	2.5	4.0	1.5	<1.6	4.3	2.1	<1.6	2.7	2.3	2.3	10.0	1.8	
BkF	<3.1	<3.1	<3.1	<3.1	4.8	<3.1	8.1	<3.1	<3.1	3.1	10.4	<3.1	3.8	<3.1	3.3	4.9	4.4	9.7	11.5	3.5	
BaP	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	<2.1	
Ind	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	17.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	<3.6	
DbA	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	<4.6	
Bghi	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	<2.4	
∑16HAPs	23.8	63.0	41.3	73.9	169.3	31.6	59.1	84.8	77.8	120.7	65.4	160.2	71.4	79.7	65.9	97.5	101.0	156.6	134.4	77.7	
EqT-BaP	0.3	0.7	0.3	0.4	5.1	0.1	2.0	0.9	0.7	1.0	1.5	2.2	1.1	2.0	0.5	1.0	0.9	2.1	3.1	0.7	
EqM-BaP	0.6	1.6	0.6	0.4	6.1	0.2	2.6	2.6	1.0	1.6	1.8	5.8	1.7	2.1	0.6	1.5	1.3	2.6	4.8	1.0	



**Figura 3.10** Distribución por área de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en bivalvos (*Anadara tuberculosa*)

La Figura 3.11 muestra el histograma de distribución de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en muestras de *Anadara tuberculosa*. En el histograma se puede observar que en *Anadara tuberculosa* las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  a diferencia de las muestras de sedimentos tienen un rango de concentración más agrupado, obteniendo valores menos dispersos entre sí.



**Figura 3.11** Histograma de distribución las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en muestras de *Anadara tuberculosa*

Las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  obtenidas en bivalvos en este estudio fueron comparadas con estudios realizados en otras regiones. Para la comparación fueron seleccionadas áreas de estudio en otros países, las cuales se listan en la Tabla 3.6. En la Figura 3.12 se muestra la comparación entre las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  obtenidas en los estudios citados.

Al comparar las concentraciones totales de HAP en bivalvos de Tumaco con las de otros países, se observa que el rango de concentración obtenido en la bahía de Tumaco (entre 23 y 170 ng g<sup>-1</sup>) fue ligeramente más alto que los obtenidos en delta del Níger en Nigeria (entre 6 y 16 ng g<sup>-1</sup>), Cartagena en España (entre 26 y 80 ng g<sup>-1</sup>) y el golfo Pérsico en Persia (entre 14 y 85 ng g<sup>-1</sup>). Sin embargo, al comparar con los estudios en San Francisco en USA (entre 21 y 1093 ng g<sup>-1</sup>) y la isla Hainand en China (entre 817 y 2154 ng g<sup>-1</sup>), el rango de concentraciones en la bahía de Tumaco estuvo muy por debajo. Las zonas del delta del Níger y el golfo Pérsico son zonas con alta actividad petrolera y con alto riesgo de derrame de crudo, sin embargo, presentaron concentraciones por debajo que las obtenidas en este estudio. El puerto de Cartagena por su parte es un puerto comercial, deportivo, turístico, de transporte de pasajeros, militar y pesquero, por lo tanto, es de esperarse que presente bajas concentraciones. Por otro lado, el puerto de San Francisco y la isla Hainand son áreas altamente pobladas, con alto flujo de transporte de pasajeros, alto comercio y con alto nivel de actividad antropogénica.

**Tabla 3.6 Estudios utilizados para la comparación de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en bivalvos**

<b>País</b>	<b>Región</b>	<b>Características del área de estudio</b>	<b>Referencia</b>
Colombia	Bahía de Tumaco (costa Pacífica)	Puerto de exportación de petróleo, transporte de pasajeros, comercial y pesquero y en la zona rural alta producción de drogas ilícitas que usan gasolina como insumo	Este estudio
Nigeria	Delta del Níger	Zona petrolera con alto riesgo de derrames de crudo.	(Moslen et al., 2019)
España	Cartagena	Puerto comercial, deportivo, turístico, transporte de pasajeros, militar y pesquero	(León et al., 2013)
Persia	Golfo pérsico	Zona petrolera con continuos derrames de petróleo.	(Abootalebi et al., 2020)
USA	San Francisco	Puerto marítimo altamente comercial, turístico, de transporte de pasajeros y con alto nivel de actividad antropogénica.	(Oros et al., 2005)
China	Isla Hainand	Isla altamente poblada, con alta actividad turística, de transporte de pasajeros y alto nivel de actividad antropogénica.	(Wang et al., 2020)

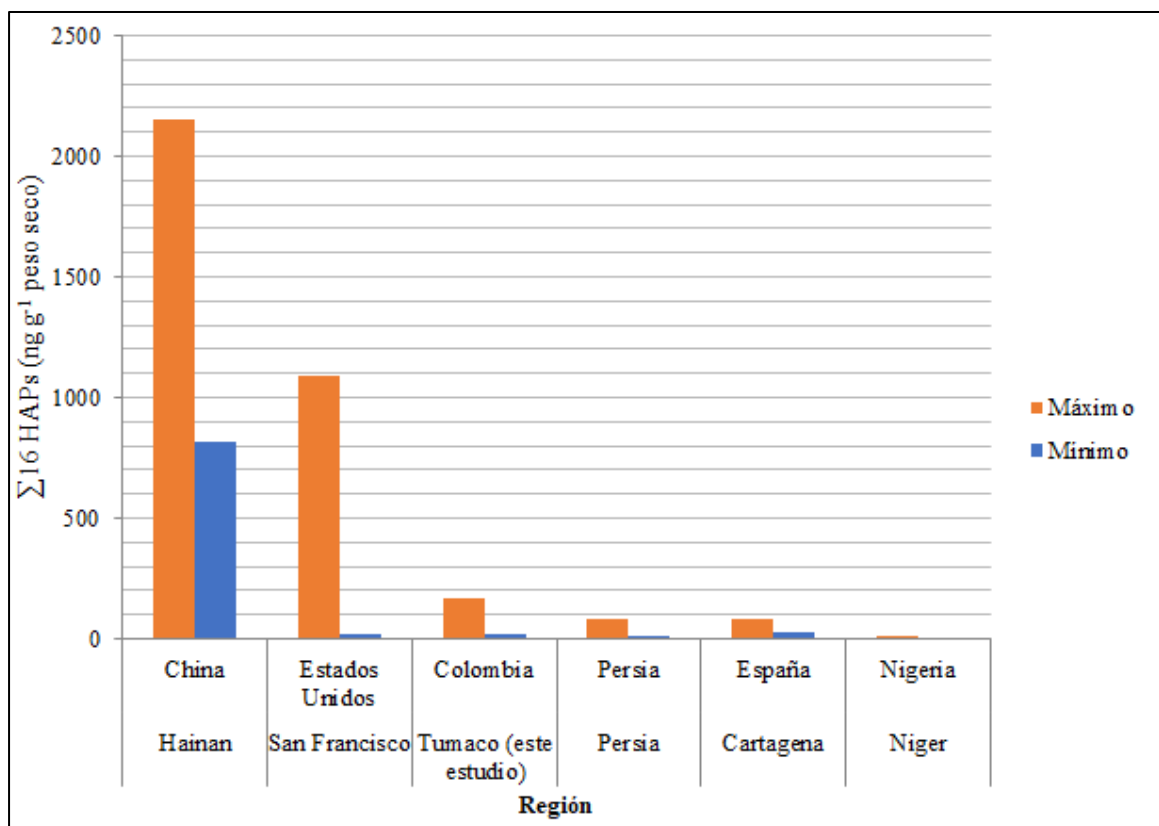
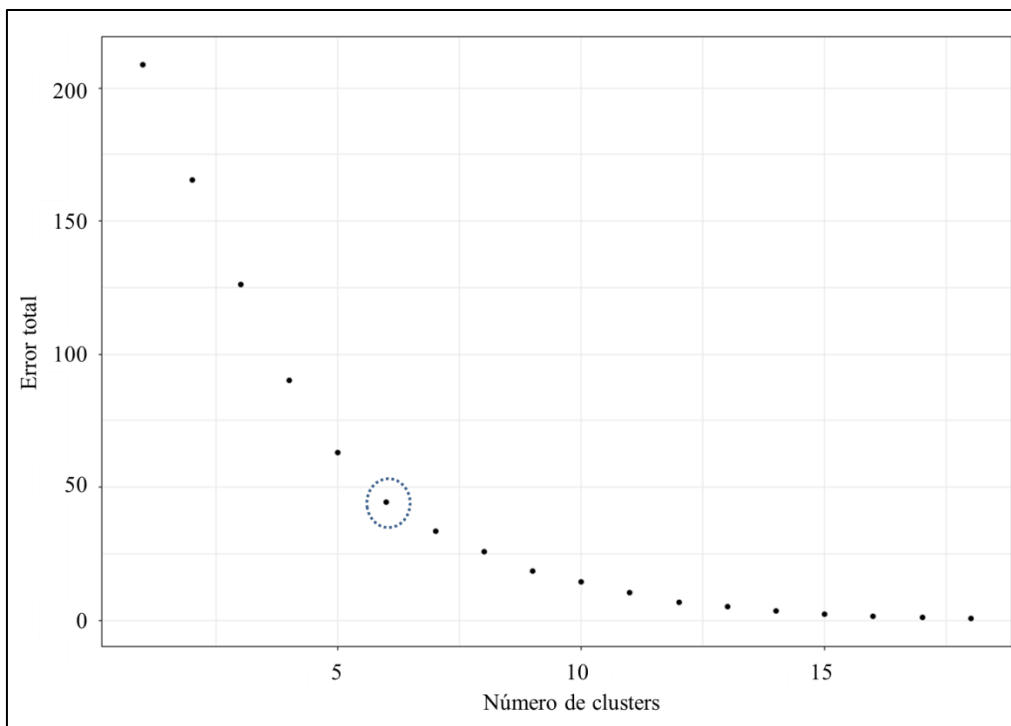


Figura 3.12 Comparación de la concentración de  $\Sigma 16$ HAPs en bivalvos de diferentes regiones

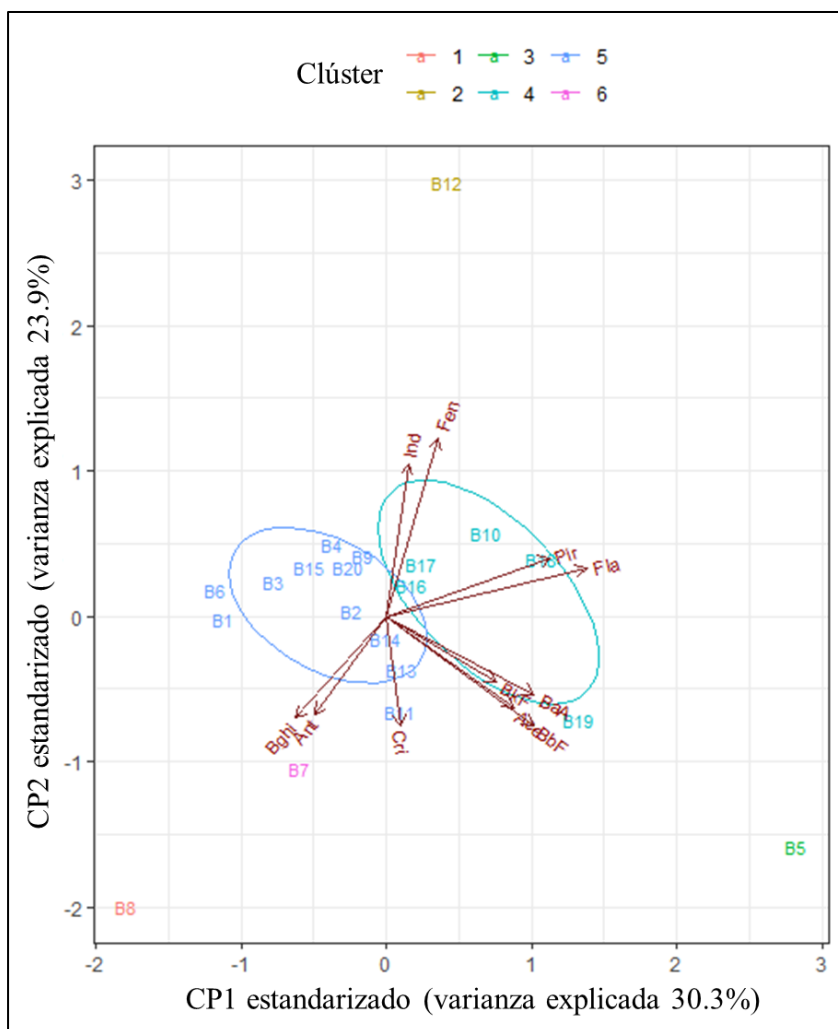
Para analizar los perfiles de distribución de los HAPs individuales en muestras de *Anadara tuberculosa* se realizó un análisis de componentes principales. Para lo anterior primero fue determinado el número de clusters óptimo que permita obtener el menor error posible, el número de clusters fue determinado con base en la gráfica de error total vs número de clusters la cual se muestra en la Figura 3.13. Se observó que a mayor número de clusters se obtiene un menor error total asociado con la agrupación, sin embargo, al tener en cuenta que el número de muestras totales es 20, se seleccionó un número de clusters con el cual se pudiera agrupar un número considerable de las muestras y que el error total fuera bajo. Con base en lo anterior se estableció un número de seis clusters como el óptimo.





**Figura 3.13 Optimización del número de clusters para análisis de componente principales en muestras de *Anadara tuberculosa***

En la Figura 3.14 se muestra la agrupación de las muestras con base en los clusters determinados. Se encontraron dos principales agrupaciones de las muestras, la primera agrupación corresponde al cluster 4 y está conformada principalmente por las muestras del área residencial (B16, B17, B18 y B20) y una muestra del área desembocadura (B10), mientras que la segunda agrupación corresponde al cluster 5 y está conformada principalmente por muestras del área portuaria (B1, B2 y B3) y el área desembocadura (B4, B6, B9, B11, B13, B14 y B15). Los demás clusters (1, 2, 3 y 6) corresponden a las muestras B8, B12, B5 y B7 respectivamente y son aquellas muestras que presentan concentraciones atípicas de algunos HAPs y no presentan ninguna agrupación entre ellas.

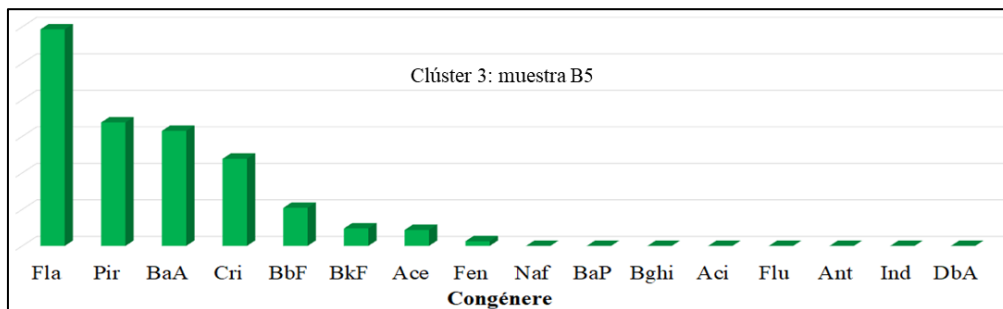
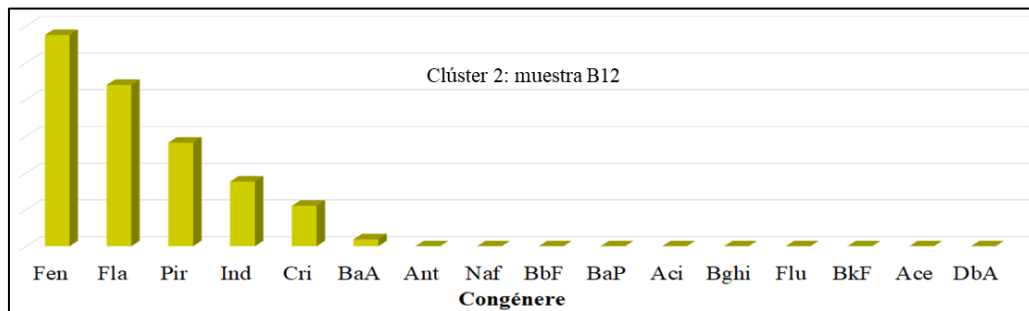
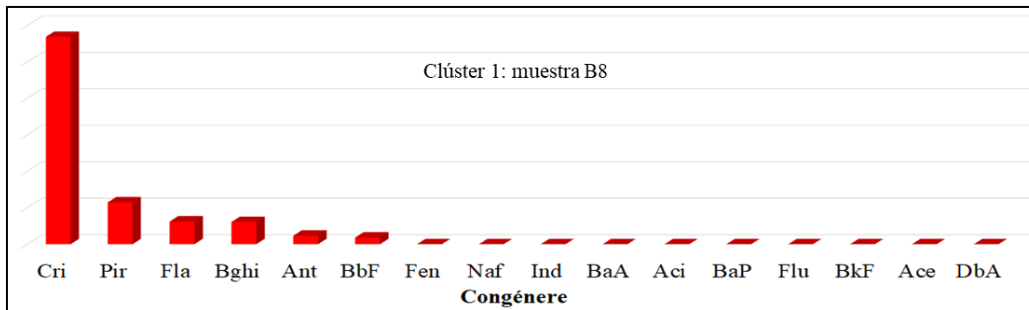


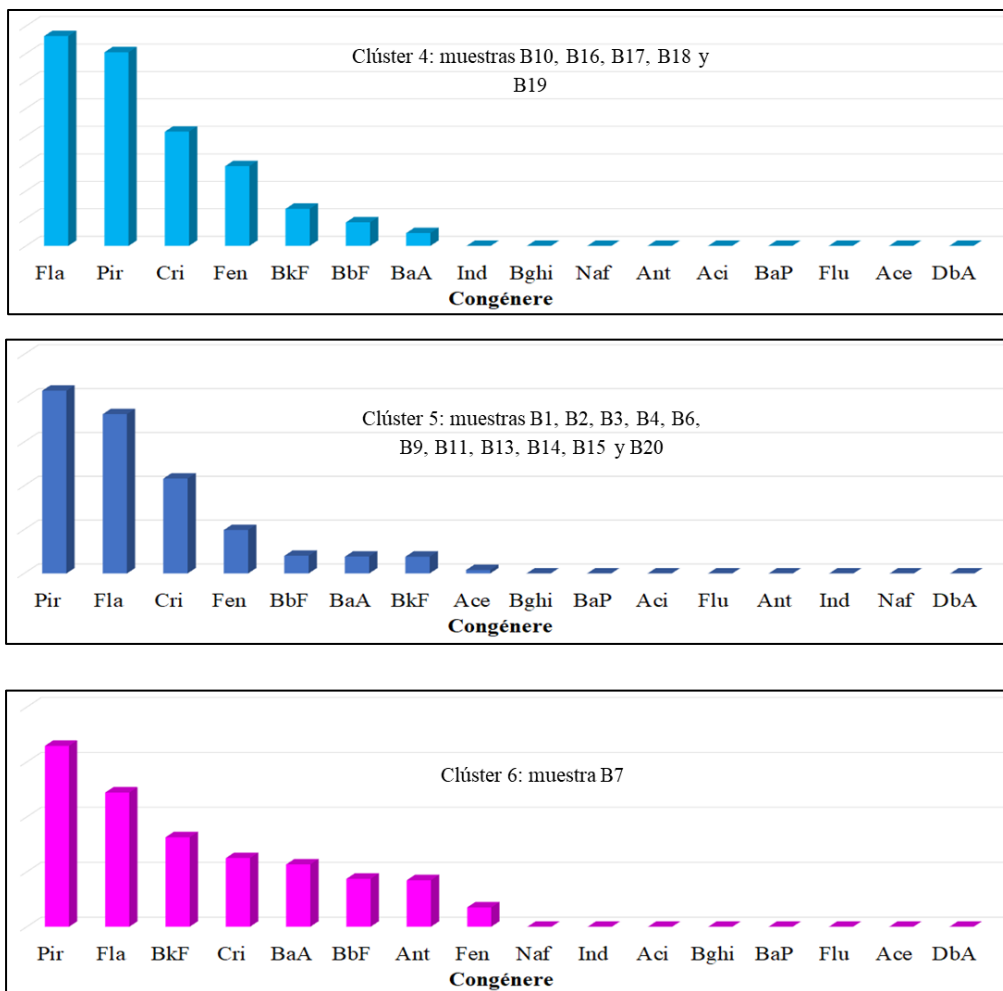
**Figura 3.14** Análisis de componentes principales para las muestras de *Anadara tuberculosa*

La Figura 3.15 muestra los perfiles de distribución para los HAPs individuales en cada cluster de las muestras de *Anadara tuberculosa*. De las veinte muestras de *Anadara tuberculosa* 16 se agruparon en los clusters 4 y 5, los cuales comparten el mismo perfil de distribución de los cuatro HAPs más abundantes, los cuales fueron Fla, Pir, Cri y Fen. El perfil de los cuatro HAPs más abundantes obtenidos en este estudio fue similar al obtenido en otros estudios, como es el caso de los bivalvos de la laguna del mar Menor en España (León et al., 2013). La solubilidad de los HAPs disminuye a medida que incrementa el peso molecular, por lo tanto, para los congéneres más hidrofílicos (menor peso molecular) se les favorece su biodisponibilidad y transporte a largas distancias (León et al., 2013). Por esta razón, los HAPs de peso molecular intermedio son los que mayoritariamente se acumulan en organismos, al igual que en sedimentos

(Porte et al, 1993, Baumard et al., 1998); un hecho que incrementa la predominancia de estos compuestos en muestras de bivalvos.

Por su parte las muestras B8, B12, B5 y B7 corresponden a los clusters 1, 2, 3 y 6, los cuales presentan un perfil de los 16 HAPs diferente al de las demás muestras. Sin embargo, al igual que los otros clusters comparten la característica que dentro de los componentes más abundantes se encontraron Pir, Fla, Cri y Fen, con algunos valores atípicos de algunos HAPs como Ace, BaA, BkF, Ind and Bhi.





**Figura 3.15 Clusterización de los HAPs individuales en las muestras de *Anadara tuberculosa***

En la Figura 3.16 se muestra un diagrama de caja para las concentraciones de HAPs individuales en *Anadara tuberculosa*. En general los HAPs de cuatro anillos (Fla, Pir y Cri) son los que presentan un mayor rango de concentración. Se presentan concentraciones atípicas de algunos HAPs, principalmente de los HAPs de cuatro anillos (Fla, Pir y Cri), sin embargo, estos valores atípicos no se encuentran tan desviados como los encontrados en sedimentos.

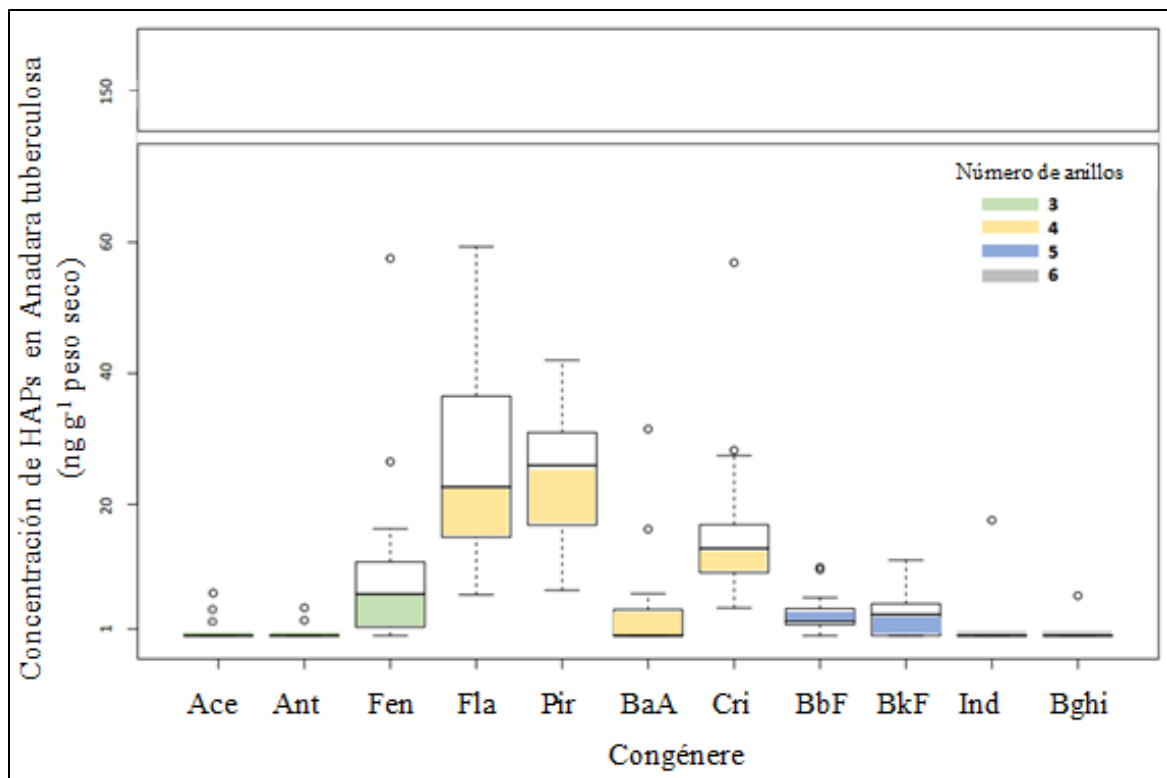


Figura 3.16 Diagrama de caja para la concentración individual de cada HAPs en muestras de *Anadara tuberculosa*

La Figura 3.17 muestra la proporción de HAPs agrupados por número de anillos en muestras de *Anadara tuberculosa*. Se puede observar que, en todas las muestras colectadas, la suma de los HAPs de cuatro anillos presenta una contribución por encima del 70 %, lo cual está posiblemente asociado con el hecho que *Anadara tuberculosa* al igual que otros bivalvos, acumulan los HAPs en su tejido graso, por lo tanto, tienden a acumular los compuestos más hidrofóbicos. Los HAPs de cuatro anillos al tener polaridad intermedia, tienen característica polar que les permite aumentar su biodisponibilidad en el agua y característica apolar que favorece su acumulación en tejidos grasos de organismos.

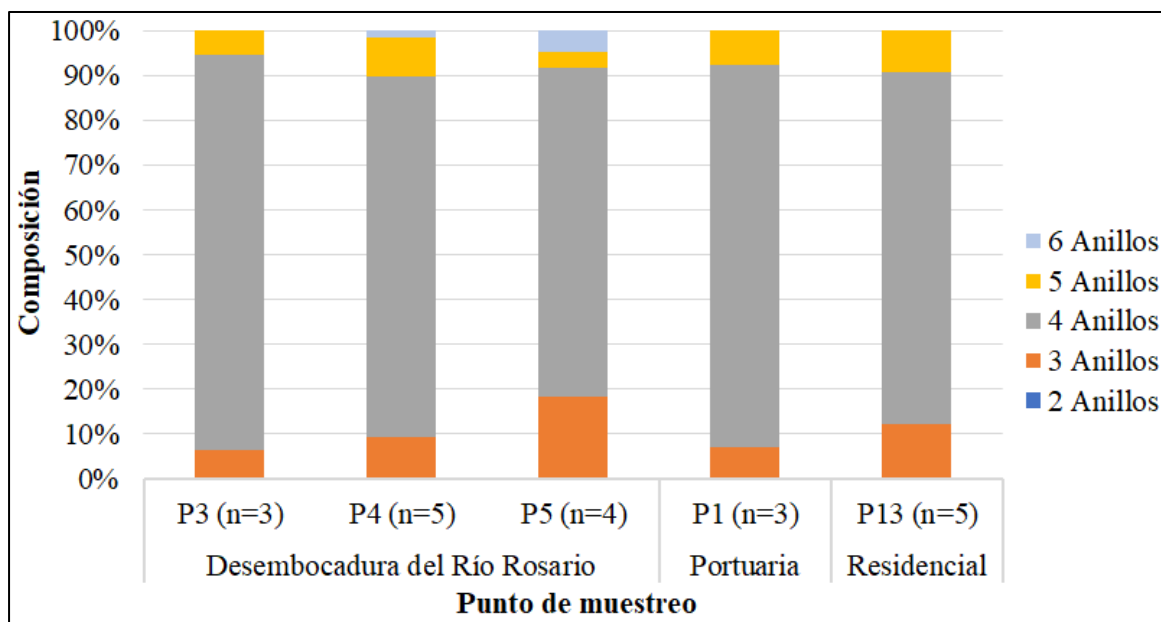
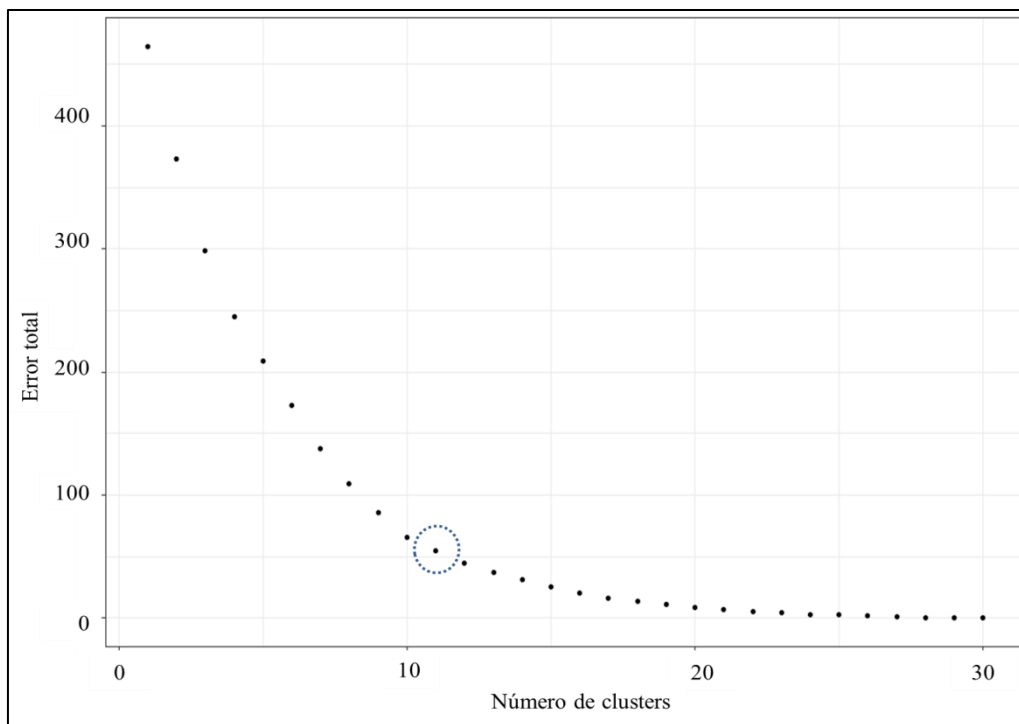


Figura 3.17 Proporción de los HAPs, agrupados por número de anillos en muestras de *Anadara tuberculosa*

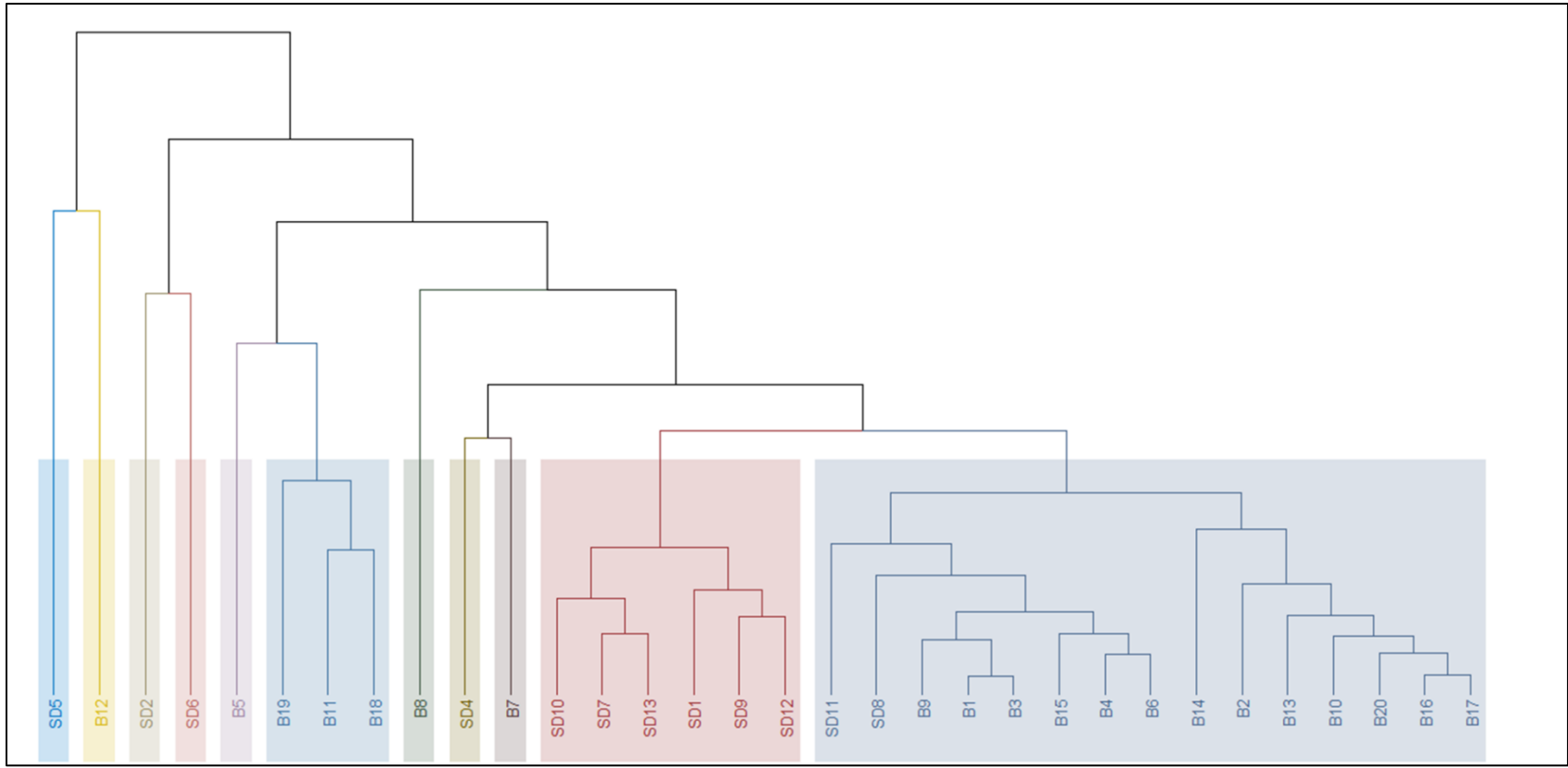
### 3.4 ANÁLISIS DE CLUSTERS EN MUESTRAS COMBINADAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y *ANADARA TUBERCULOSA*

Al igual que se realizó con las muestras de sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa* por separado, se efectuó un análisis de componentes principales en muestras combinadas de sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa*, con base en las concentraciones de HAPs individuales. Para lo anterior primero fue determinado el número de clusters óptimo que permita obtener el menor error posible con base en la gráfica de error total vs número de grupos realizada en Rstudio, mostrada en la Figura 3.18. Se observó que a mayor número de clusters se obtiene un menor error total asociado con la agrupación, sin embargo, al tener en cuenta que el número de muestras totales es 32, se seleccionó un número de clusters con el cual se pudiera agrupar un número considerable de las muestras y que el error total fuera bajo. Con base en lo anterior se estableció un número de once clusters como el óptimo.



**Figura 3.18 Optimización del número de clusters para análisis de componente principales en muestras combinadas de sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa***

En la Figura 3.19 se muestra la agrupación de las muestras en forma de dendograma con base en los once clusters determinados. Se encontró que en general las muestras de sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa* no presentaron ninguna agrupación en común entre ellas. Lo anterior puede ser atribuido al hecho que la acumulación de los HAPs en tejidos de organismos filtradores como los bivalvos ocurre en mayor proporción a los HAPs biodisponibles en el agua que por los HAPs adsorbidos en sedimentos (Nandini & Menon, 1999). Se encontraron dos grandes clusters en las muestras, en uno se encuentran trece muestras de *Anadara tuberculosa* (B1, B2, B3, B4, B6, B9, B10, B13, B14, B15, B16, B17 y B20) y dos muestras de sedimentos marinos (SD8 y SD11), en el otro cluster se encuentran seis muestras de sedimentos marinos (SD1, SD7, SD9, SD10, SD12 y SD13). Otra agrupación encontrada estuvo conformada por tres muestras de *Anadara tuberculosa* (B11, B18 y B19). Las demás muestras no presentan ninguna agrupación entre ellas (B5, B7, B8, B12, SD2, SD4, SD5, y SD6).



**Figura 3.19** Dendrograma de clusters para las muestras combinadas de sedimentos marinos y *Anadara tuberculosa*



### **3.5 ESTIMACIÓN DE FUENTES DE CONTAMINACIÓN EN SEDIMENTOS**

La estimación de fuentes de contaminación mediante relaciones diagnósticas entre HAPs isómeros solo fue realizada en muestras de sedimentos marinos, debido a que en bivalvos no han sido muy comunes estos cálculos.

Para verificar que exista una dependencia lineal entre los HAPs usados para las relaciones diagnósticas (Fla – Pir, Ant – Fen y HAPs–BPM - HAPs-APM) se determinaron los coeficientes de correlación de Spearman calculados en Rstudio, estos se muestran en la Figura 3.20. Estos coeficientes de correlación ayudan a verificar si las fuentes de los compuestos son similares (correlación positiva) o no (correlación negativa) (Jomolca, et al., 2020), y así tener mayor confiabilidad para los cálculos de las relaciones diagnósticas. Se puede observar que Fla – Pir presentan correlación positiva con un valor de coeficiente de correlación de 0.88, asimismo los compuestos Ant – Fen presentan correlación positiva con un valor de coeficiente de correlación de 0.53, de la misma manera entre HAPs-BPM y HAPs-APM existe una correlación positiva con un valor de coeficiente de correlación de 0.64. Lo anterior sugiere que esos compuestos provienen de la misma fuente.

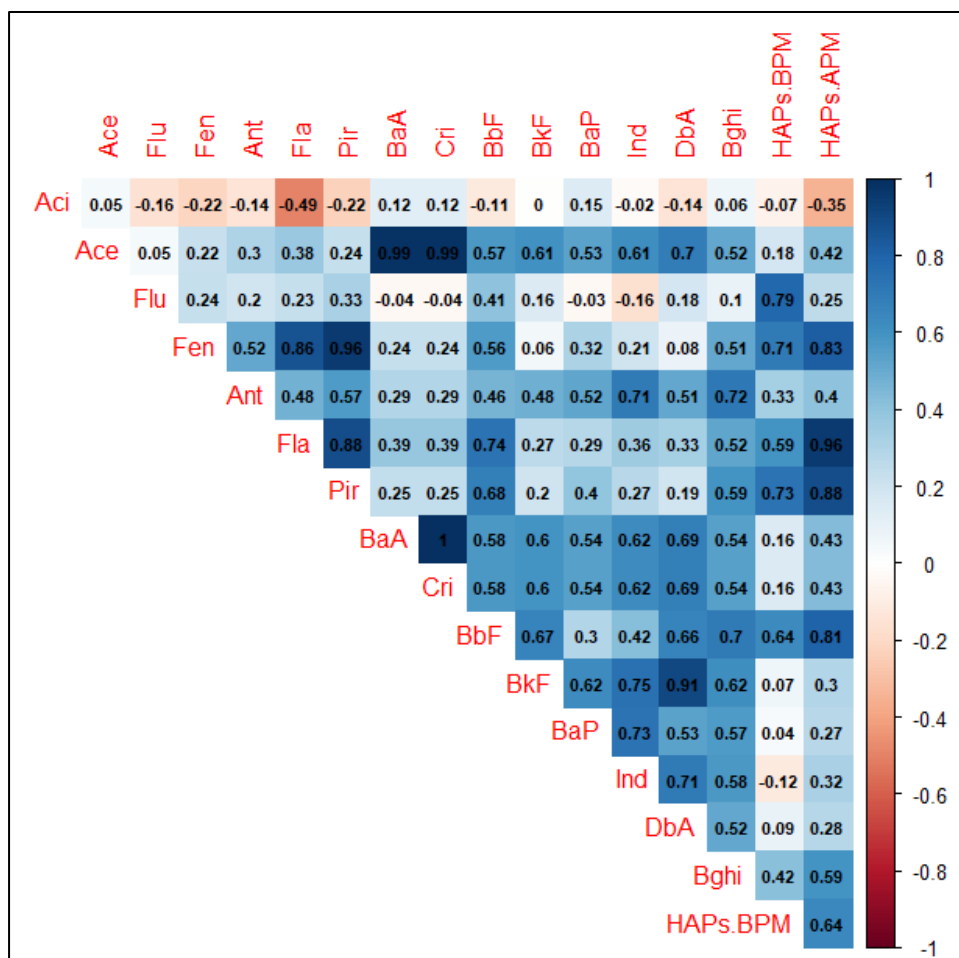


Figura 3.20 Correlaciones de Spearman entre los HAPs en las muestras de sedimentos

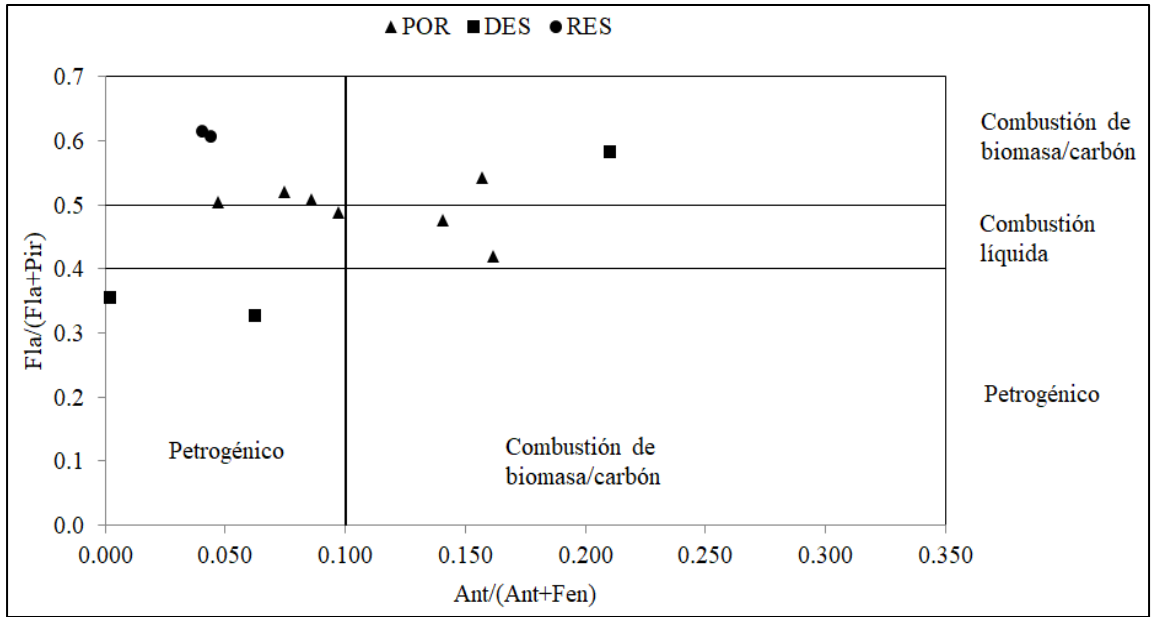
Las relaciones de diagnóstico Fla / (Fla + Pir) y Ant / (Ant + Fen) calculadas para las muestras de sedimentos se muestran en la Figura 3.21a. Las relaciones de Fla / (Fla + Pir) menores que 0.4 sugieren una fuente petrogénica, entre 0.4 a 0.5 sugieren combustión líquida y mayores que 0.5 combustión de biomasa (Cai et al., 2019). Por otro lado, las relaciones de Ant / (Ant + Fen) menores que 0.1 sugieren fuente petrogénica y mayores que 0.1 origen pirolítico (Nascimento et al., 2017; Cai et al., 2019). Las fuentes pirogénicas emiten principalmente HAPs de cuatro, cinco y seis anillos (alto peso molecular), contrariamente fuentes petrogénicas tienden a emitir HAPs de dos y tres anillos (bajo peso molecular) (Yunker et al., 2002). Consecuentemente, las relaciones HAPs-BPM / HAPs-APM menores que 1.0 indican mayor contribución de fuentes pirogénicas o degradación fotoquímica de HAPs-BPM; inversamente relaciones de HAPs-BPM / HAPs-APM mayores que 1.0 sugieren principalmente fuentes petrogénicas.

En el área desembocadura, para las muestras SD4 y SD5 ambas relaciones diagnósticas sugieren fuente petrogénica, esto se debe posiblemente a que fueron colectadas en el área interna del estuario, en donde hay influencia directa de los derrames de petróleo que ocurren en el río Rosario. En cambio, para la muestra SD6 las relaciones diagnósticas sugieren combustión de biomasa, atribuido posiblemente a que esta muestra fue colectada en un área externa (marina), más alejada del estuario y por lo tanto la influencia del río Rosario es menor. Cabe resaltar que esta área se encuentra rodeada por pequeñas poblaciones rurales, en donde en la mayoría de los hogares no cuentan con acceso a servicios de electricidad ni gas, por lo tanto subsisten mediante quema de carbón o madera.

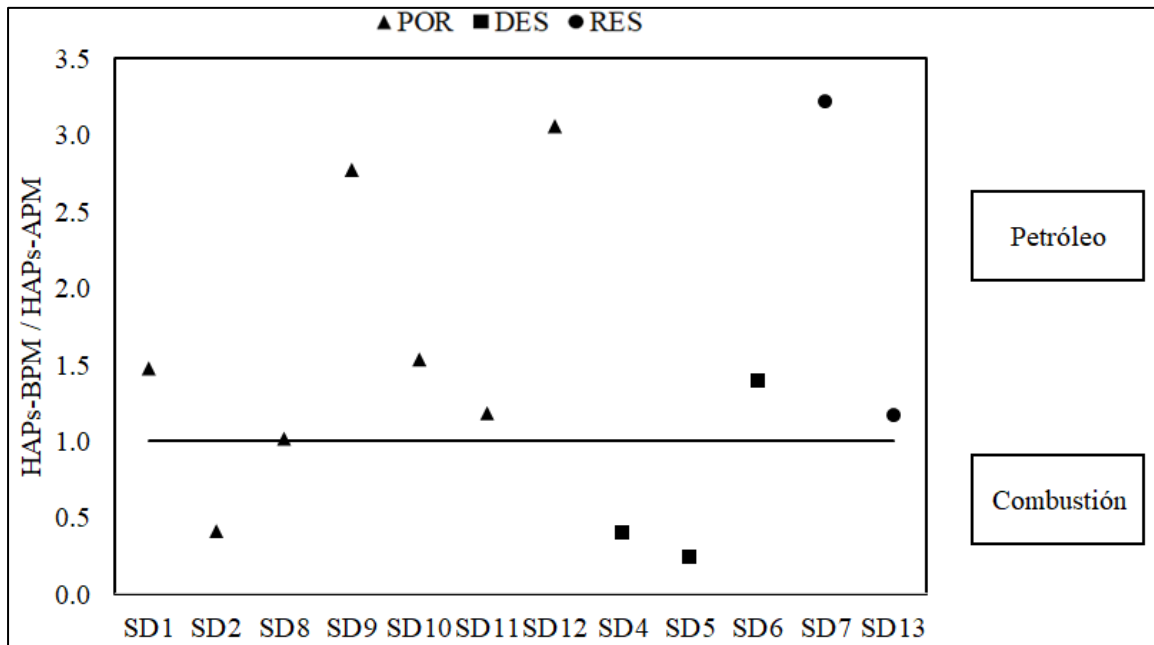
Por otro lado, en el área portuaria ambas relaciones isoméricas sugieren que los HAPs pueden estar asociados con una mezcla de fuentes petrogénicas, combustión líquida y quema de carbón/madera. Esto es posiblemente atribuido a las diferentes actividades que se llevan a cabo en esta área, tales como: transporte de petróleo, alto flujo de embarcaciones, alta densidad poblacional, entre otras.

Paralelamente, en el área residencial ambas relaciones isoméricas sugieren una mezcla de fuentes petrogenicas y combustión de biomasa/carbón. Esta es un área con gran parte de población de bajo nivel económico, en donde en muchos casos utilizan quema de carbón y madera para actividades domésticas.

En la mayoría de las muestra la relación HAPs-BPM / HAPs-APM fue mayor que 1.0, sugiriendo una contribución de fuentes petrogénicas, con excepción de la muestra SD2 en el área portuaria y SD4 y SD5 en el área de desembocadura del Río Rosario, en donde la relación HAPs-BPM / HAPs-APM fue menor que 1.0. Las relaciones isoméricas en las muestras estuarinas del área de desembocadura indican principalmente fuentes petrogénicas, mientras que HAPs-BPM / HAPs-APM menor que 1.0 en estas muestras indican fuentes pirolíticas. Lo anterior puede estar atribuido a la alta velocidad de degradación fotoquímica de los HAPs-BPM en ambientes tropicales (Nascimento et al., 2017; Wagener et al., 2010), lo que genera que la relación HAPs-BPM / HAPs-APM se altere con el paso de tiempo.



a)



b)

Figura 3.21 Relaciones diagnósticas en sedimentos marinos para estimar las fuentes de contaminación

### 3.6 EVALUACIÓN RIESGO TOXICOLÓGICO EN SEDIMENTOS Y BIVALVOS

En los manglares y ecosistemas marinos habitan gran diversidad de especies, que juegan un rol fundamental en las comunidades de peces y plantas, con alta productividad primaria (Lin et al., 2018; Assunção et al., 2017). En la Figura 3.22 se muestra una comparación con el límite de concentración total de HAP establecidos por la NOAA (1999), que muestran efectos adversos a organismos bénticos cuando se exponen a sedimentos marinos contaminados ( $1684.1 \text{ ng g}^{-1}$ ). Ninguna de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en las muestras de sedimentos marinos analizadas superó la norma. Sin embargo, la concentración de algunos HAPs individuales como Fen ( $98.7 \text{ ng g}^{-1}$ ), Fla ( $160.7 \text{ ng g}^{-1}$ ) y Pir ( $292.5 \text{ ng g}^{-1}$ ) en la muestra SD5 y, Ace ( $8.6 \text{ ng g}^{-1}$ ) y Flu ( $24.1 \text{ ng g}^{-1}$ ) en la muestra SD6 superaron la norma establecida por la SQG (1999) para la calidad de sedimentos para la protección de la vida acuática de Canadá: Fen ( $87 \text{ ng g}^{-1}$ ), Fla ( $113 \text{ ng g}^{-1}$ ), Pir ( $153 \text{ ng g}^{-1}$ ), Ace ( $6.7 \text{ ng g}^{-1}$ ) y Flu ( $21 \text{ ng g}^{-1}$ ). Ambas muestras se encuentran ubicadas en el área de desembocadura.

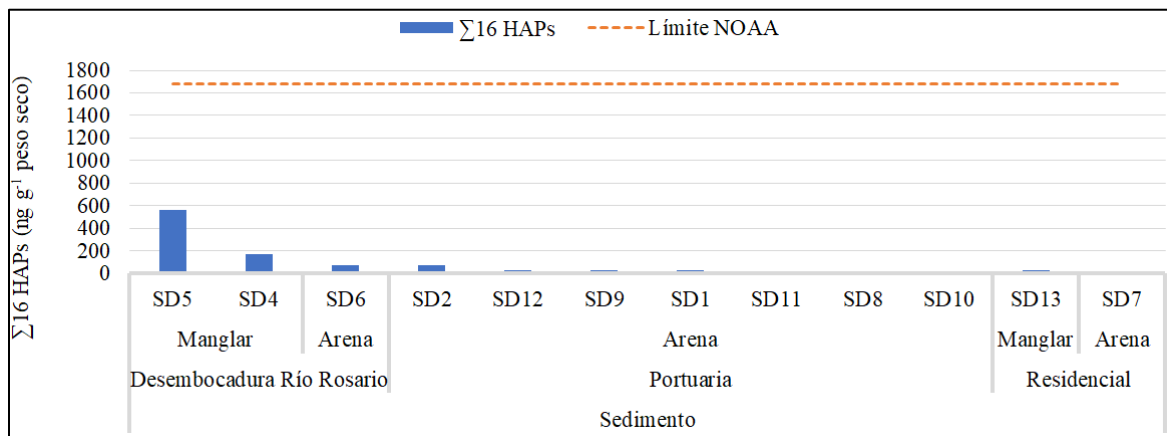
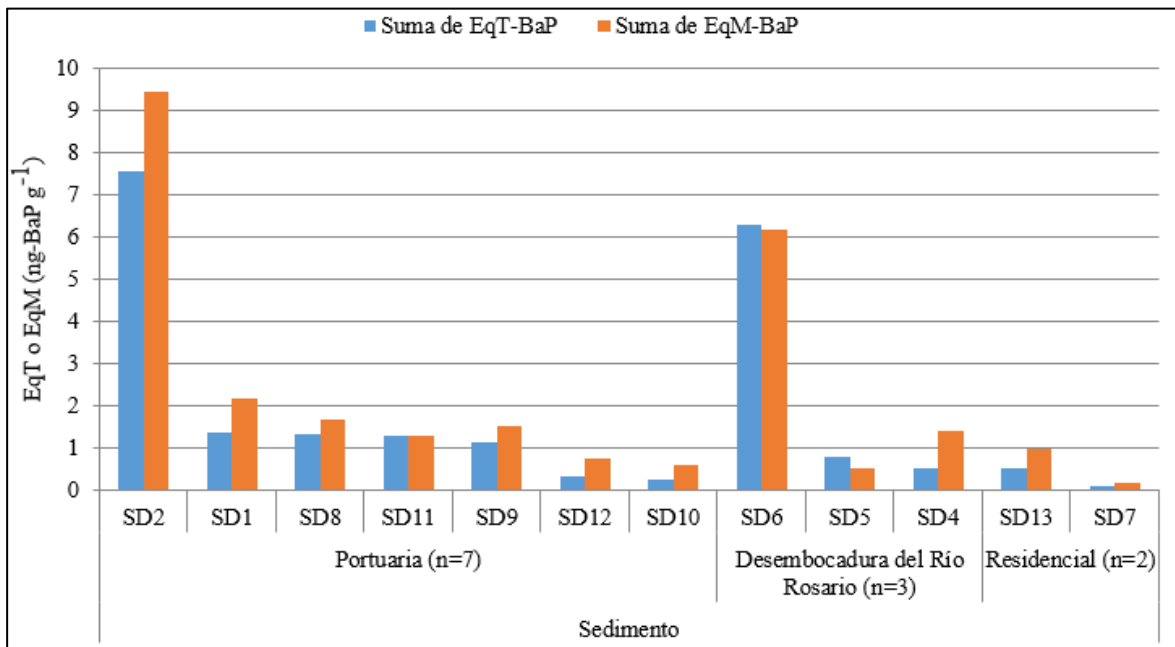


Figura 3.22 Comparación de las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en sedimentos marinos con los límites establecidos por la NOAA (1999).

En la Figura 3.23 se muestran los equivalentes carcinogénicos con base en benzo(a)pireno (EqT-BaP) y mutagénicos (EqM-BaP) para las muestras de sedimentos marinos. Los equivalentes tóxicos variaron entre 0.07 y 7.56 EqT-BaP, por lo tanto, ninguno de los EqT-BaP obtenidos excedieron el valor recomendado por la guía canadiense de calidad de suelo para HAPs (600 EqT-BaP). Por su parte, los equivalentes mutagénicos variaron entre 0.17 y 9.45 EqM-BaP. La baja presencia de HAPs de cinco y seis anillos juega un rol importante en la toxicidad de los

sedimentos. Se observa que en los sedimentos estuarinos (SD4 y SD5), a pesar de que tuvieron las más altas concentraciones de HAPs de todas las muestras, la presencia de HAPs de cinco y seis anillos es casi nula, reduciendo considerablemente su riesgo carcinogénico y mutagénico. Por otro lado, muestras como SD2 en el área portuaria y SD6 en el área desembocadura tuvieron menos concentración de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  que las muestras SD4 y SD5, sin embargo, debido a que la proporción de HAPs de cinco y seis anillos fue más alta, la toxicidad y mutagenicidad por gramo de muestras fueron las más altas.

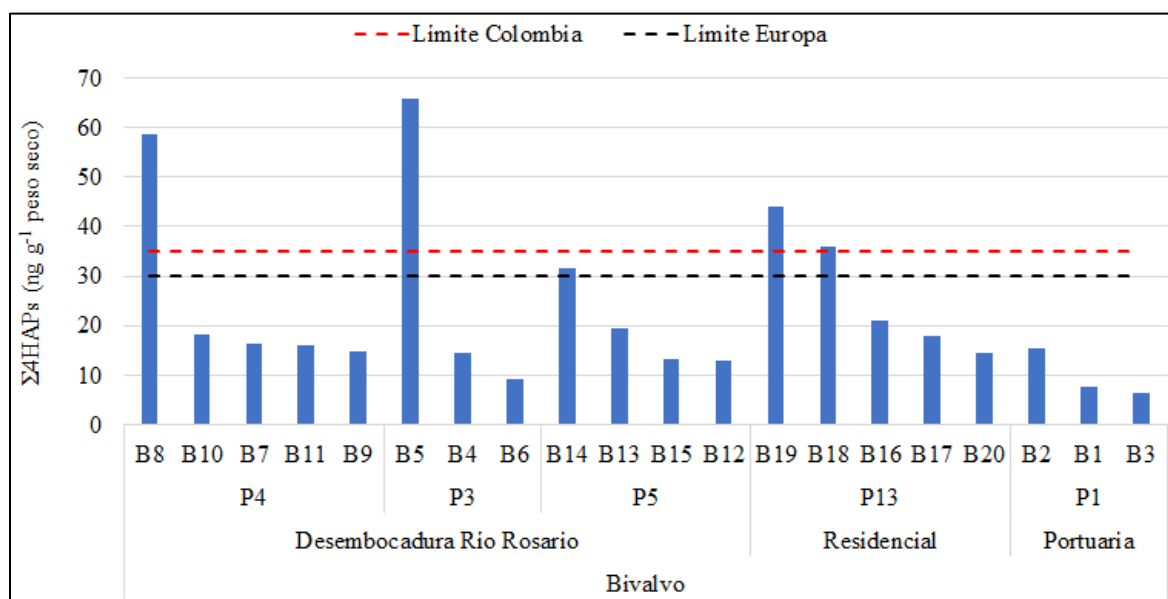


**Figura 3.23 Equivalentes tóxicos y mutagénicos para las muestras de sedimentos marinos**

A diferencia de las muestras de sedimentos marinos, en donde las concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  estuvieron por debajo de los límites normativos; en algunas de las muestras de *Anadara tuberculosa*, las concentraciones excedieron el límite regulatorio para consumo humano (ver Figura 3.24), tanto colombiano ( $35 \text{ ng g}^{-1}$ ) (Ministerio de Salud y Protección Social Colombia, Resolución 122 de 2012, art. 6) como de la Unión Europea ( $30 \text{ ng g}^{-1}$ ) (Unión Europea, Reglamento N° 1327, 2014, art. 1; Unión Europea, Reglamento N° 835, 2011, art. 2) reportados como la suma de 4 HAPs ( $\Sigma 4\text{HAPs}$ ) (BaP, BaA, BbF y Cri). La  $\Sigma 4\text{HAPs}$  para las muestras de *Anadara tuberculosa*, variaron entre  $6.3$  a  $65.8 \text{ ng g}^{-1}$ , en donde dos muestras del área desembocadura (B5 y B8) y dos muestras del área portuaria (B18 y B19) superaron el límite regulatorio colombiano, asimismo tres muestras del área desembocadura (B5, B8 y B14) y dos

muestras del área portuaria (B18 y B19) estuvieron por encima del límite regulatorio europeo. Estas muestras por lo tanto no son aptas para su procesamiento, preparación, envase, transporte, exportación, almacenamiento, distribución y comercialización con destino al consumo humano tanto en territorio nacional como extranjero.

Lo anterior, evidencia la importancia de hacer un monitoreo periódico de las concentraciones de HAPs en estos organismos, debido a que, en muchos territorios, especialmente costeros, el consumo de mariscos forma parte de la dieta de muchos de sus habitantes. Por ejemplo, en Colombia para el año 2018 el consumo de peces y otros mariscos alrededor de 8.4 kg por persona al año (Ministerio de Agricultura, 2018). Por lo tanto, es importante el monitoreo constante de estas especies, que permitan garantizar que sean aptos para el consumo humano.



**Figura 3.24 Comparación de las concentraciones de Σ4HAPs en *Anadara tuberculosa* con los límites establecidos en Colombia (Resolución 122, 2012, art. 6) y Europa (Reglamento N° 835, 2011, art. 2)**

En la Figura 3.25 se muestran los equivalentes carcinogénicos (EqT) y mutagénicos (EqM) para las muestras de *Anadara tuberculosa*. Los EqT-BaP variaron entre 0.11 y 5.01 EqT-BaP, por su parte, los EqM-BaP variaron entre 0.15 y 6.12 EqM-BaP. La baja presencia de HAPs de cinco y seis anillos juega un rol importante en la toxicidad de las muestras de *Anadara tuberculosa*. De manera general, se pudo observar que en la mayoría de las muestras el riesgo mutagénico es mayor que el riesgo carcinogénico. En las muestras recolectadas en el área de desembocadura y residencial los equivalentes tóxicos y mutagénicos fueron más altos en comparación con las del área portuaria.

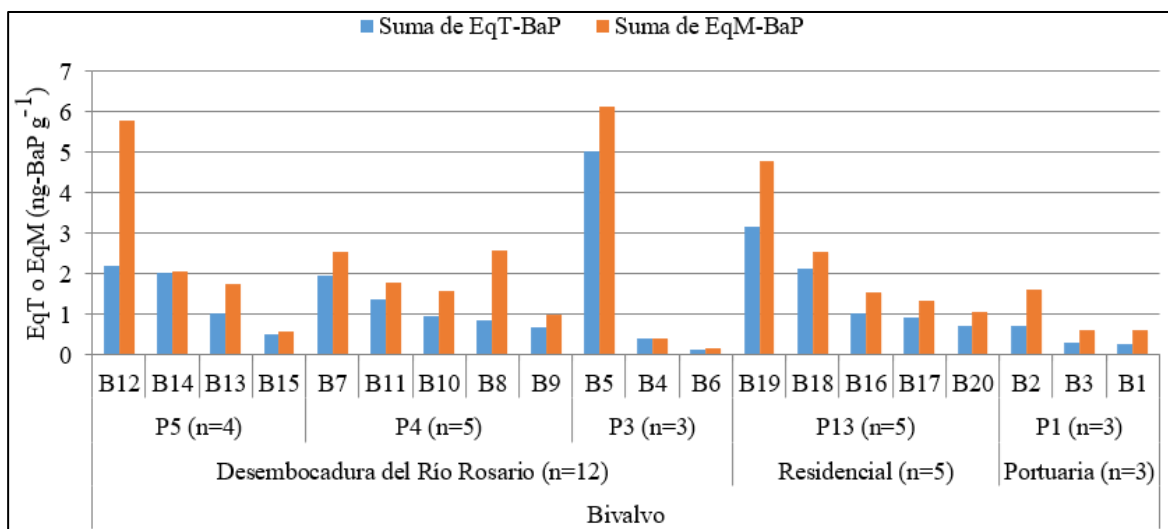


Figura 3.25 Equivalentes tóxicos y mutagénicos para las muestras de *Anadara tuberculosa*

### 3.7 INDICADORES DEL RIESGO ECOLÓGICO EN SEDIMENTOS

El método de las guías de calidad de sedimentos (SQGs, por sus siglas en inglés) fue usado para evaluar el riesgo ecológico de los HAPs individuales en los sedimentos marinos y de manglares (Cai et al., 2019; Lin, et al., 2017; Long et al., 1995). Las concentraciones de HAPs fueron comparadas con los valores límites que permiten estimar el potencial de efectos biológicos que pueden tener cada HAPs. Para lo anterior se usaron el rango de efectos bajos (REB) y el rango de efectos medio (REM) los cuales se presentan en la Tabla 3.7. Las concentraciones con valores debajo del REB pueden tener poco o ningún efecto sobre la biota, valores entre REB y REM pueden generar ocasionalmente efectos adversos, mientras que valores por encima del REM indican efectos probables efectos adversos (Lin, et al., 2017; Lin et al., 2018; Qu et al., 2018b). En este estudio, las concentraciones de la mayoría de las muestras estuvieron significativamente por debajo de los valores REB, indicando bajos efectos adversos sobre la biota. Solo la concentración del Flu en una muestra del área de desembocadura del Río Rosario (SD6) tuvo un valor entre REB y REM, indicando ocasionales efectos adversos sobre la biota.



**Tabla 3.7 Evaluación del riesgo ecológico de HAPs en sedimentos marinos superficiales (ng g<sup>-1</sup> peso seco)**

HAPs	Rango	REB	REM	Número de muestras	
				>REB y <REM	>REM
Naf	0	160	2100	0	0
Aci	2 – 7.1	44	640	0	0
Ace	1.5 – 8.6	16	500	0	0
Flu	3.5 – 24.1	19	540	1	0
Fen	4.4 – 98.7	240	1500	0	0
Ant	0.4 – 2.5	85.3	1100	0	0
Fla	2.0 – 160.7	600	5100	0	0
Pir	1.3 – 292.5	665	2600	0	0
BaA	1.7 – 4.8	261	1600	0	0
Cri	1.5 – 5.4	384	2800	0	0
BbF	1.3 – 7.0	320	1880	0	0
BkF	0.5 – 2.5	280	1620	0	0
BaP	0.8 – 4.7	430	1600	0	0
DaA	0.5 – 4.0	63.4	260	0	0
Ind	0.8 – 2.4	240	950	0	0
Bghi	1.6 – 4.3	430	1600	0	0

Los índices de riesgo ecológico se muestran en la Figura 3.26 y fueron calculados a partir del cociente del rango de efectos medianos promedio para cada muestra y clasificados de acuerdo con la prioridad por el riesgo asociado (Lin et al., 2018). Todas las muestras de sedimentos marinos tuvieron baja prioridad con base en la concentración total de HAPs, es decir que el riesgo ecológico es bajo. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el fluoreno se encontró que presenta un riesgo ecológico ocasional.

	Baja prioridad	Media-baja prioridad	Media-alta prioridad	Alta prioridad
Rango C-REM-P	0.0 – 0.10	0.11 – 0.50	0.51 – 1.50	> 0.50

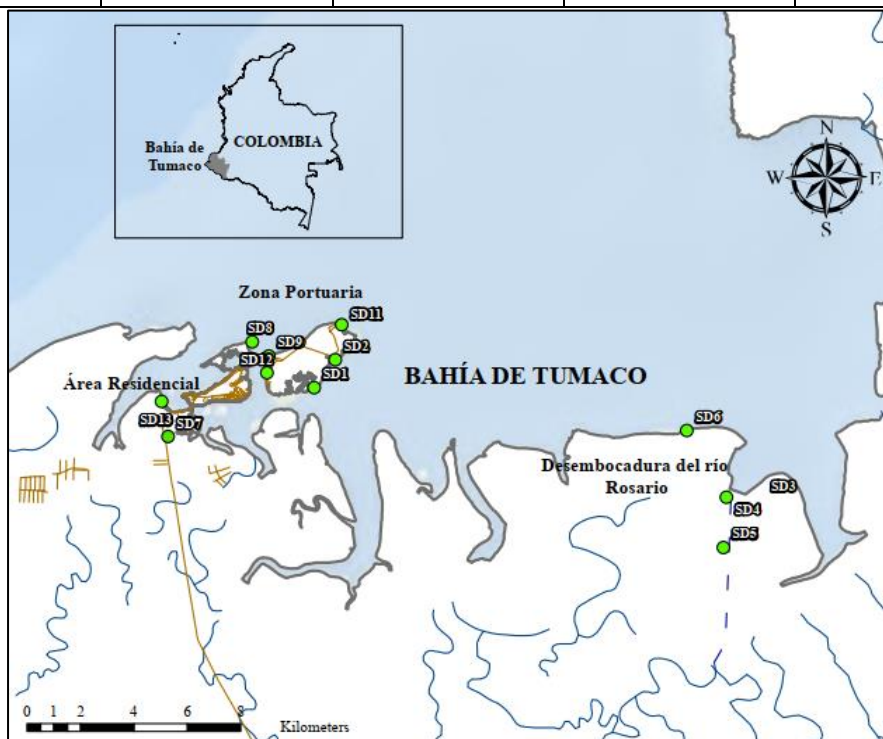


Figura 3.26 Índices de riesgo ecológico de sedimentos marinos para HAPs

### 3.8 EVALUACIÓN DEL GRADO DE QUÍMICA VERDE

#### 3.8.1 CONSUMO DE SOLVENTES ORGÁNICOS EN LOS MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS

En la Tabla 3.8 se muestra el consumo aproximado de solvente orgánico en los métodos analíticos usados en este trabajo por cada muestra analizada y se compara con el de métodos analíticos convencionales como la extracción soxhlet y la extracción asistida por microonda. Se observa que los métodos analíticos usados en este estudio para análisis de HAPs mediante extracción miniaturizada con ultrasonido para sedimentos marinos y dispersión de la matriz en fase sólida para *Anadara tuberculosa*, tienen un bajo consumo total de solventes orgánicos durante toda la ruta analítica, con valores aproximados de 15.5 y 35.25 mL respectivamente. Por su parte, en el método propuesto preliminarmente de RDSE – SPME, no hay uso de solvente orgánico para la extracción de los analitos, solo hay un mínimo uso de 5 mL correspondiente a la etapa de limpieza de materiales.

En técnicas de extracción convencionales como soxhlet o extracción asistida por microondas, el uso total de solventes orgánicos es mucho más elevado con valores de 166.1 y 106.1 mL respectivamente (Itoh et al., 2008). Al comparar el consumo de solventes orgánicos de la técnica soxhlet con los métodos empleados en este estudio, se encontró 970 % mayor con respecto a la extracción miniaturizada con ultrasonido, 371 % mayor con respecto a dispersión de la matriz en fase sólida y 3222 % mayor con respecto a RDSE – SPME. Asimismo, al comparar el consumo de solventes orgánicos de la técnica de extracción asistida por microonda con los métodos empleados en este estudio, se encontró 584 % mayor con respecto a la extracción miniaturizada con ultrasonido, 200 % mayor con respecto a dispersión de la matriz en fase sólida y 2022 % mayor con respecto a RDSE – SPME. Con base en lo anterior, se observa que el consumo de solventes orgánicos de los métodos utilizados en este estudio es bajo y por lo tanto hay poco impacto ambiental.

**Tabla 3.8 Consumo de solventes orgánicos en los métodos analíticos para análisis de HAPs**

Etapa del método	Métodos analíticos de este estudio			Otros estudios	
	RDSE – SPME <sup>a</sup>	Extracción miniaturizada con ultrasonido en sedimentos marinos	Dispersión de la matriz en fase sólida (MSPD)	Extracción soxhlet (Itoh et al., 2008)	Extracción asistida por microonda (Itoh et al., 2008)
Consumo de solvente orgánico para análisis de una muestra (mL)					
Limpieza de materiales	5	5	5	10	10
Extracción de los analitos	0	10	0	450	90
Limpieza y purificación del extracto	0	0	30	6	6
Resuspensión del extracto	0	0.15	0.25	0.1	0.1
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>15.15</b>	<b>35.25</b>	<b>466.1</b>	<b>106.1</b>

<sup>a</sup>Extracción sorptiva por disco rotatorio acoplada con microextracción en fase sólida

### 3.8.2 ECO-ESCALA ANALÍTICA DE QUÍMICA VERDE

Para evaluar el grado de química verde de los métodos analíticos, se usó la eco-escala analítica de Galuszka et al (2012). Para lo anterior se tuvieron en cuenta cinco parámetros: cantidad de solvente usada, nivel de peligro de los solventes usados, consumo de energía del método, riesgos

ocupacionales y residuos generados. Los valores de eco-escala analítica de los métodos usados en este estudio, comparados con otros métodos se presentan en la Tabla 3.9.

Con base en los valores de eco-escala analítica obtenidos en este estudio, se observa que el método DSASE usado para análisis de muestras de sedimentos presenta un valor de eco-escala de 80, lo cual representa un análisis verde excelente. Por otra parte, el método MSPD, presenta un valor de eco-escala de 58, lo cual representa un análisis verde aceptable. Sin embargo, es importante recalcar que en el método DSASE usado para sedimentos, no se hizo uso de etapa de clean-up por columnas empacadas, como lo fue en el caso método MSPD para bivalvos, factor que afecta considerablemente el consumo de solventes. Por su parte, el método RDSE-SPME, el cual es un estudio que se encuentra en etapa de desarrollo para análisis de HAPs en muestras sólidas, presenta un valor de eco-escala de 89, el cual indica un análisis verde excelente.

Al comparar con técnicas convencionales, se observa que la técnica de extracción por soxhlet (Itoh et al., 2008), presenta un valor de eco-escala de 40, lo cual se asocia con un análisis verde inadecuado. La extracción por microondas por su parte presenta un valor de eco-escala de 56, que representa un análisis verde aceptable.

Con base en los resultados se observa que los métodos aplicados en este estudio tienen buen nivel de análisis verde, teniendo valores más favorables que técnicas tradicionales como extracción por soxhlet.

**Tabla 3.9 Eco-escala analítica de los métodos usados en este estudio, comparado con otros métodos**

Parámetro	Método analítico				
	DSASE <sup>a</sup>	MSPD <sup>b</sup>	RDSE-SPME <sup>c</sup>	Soxhlet <sup>d</sup>	Microonda <sup>e</sup>
Puntos de penalidad					
<b>Cantidad reactivos (mL):</b>					
Acetona	4	4	4	12	4
Acetonitrilo	4	8	0	0	0
Diclorometano	2	0	0	0	4
Hexano	0	20	0	30	10
Tolueno	0	0	0	6	6
Acetato de etilo	0	0	0	0	8
<b>Consumo de energía:</b>					
Calor	2	0	2	2	2
GC-MS	2	2	2	2	2

<b>Riesgos ocupacionales</b>	3	3	0	3	3
<b>Generación de residuos (mL)</b>	3	5	3	5	5
<b>Total puntos de penalidad</b>	20	42	11	60	44
<b>ECOESCALA ANALÍTICA</b>	<b>80</b>	<b>58</b>	<b>89</b>	<b>40</b>	<b>56</b>

<sup>a</sup>Extracción dinámica con solvente asistida por ultrasonido (este estudio). <sup>b</sup>Dispersión de la matriz en fase sólida (este estudio). <sup>c</sup>Extracción sorptiva por disco rotatorio con microextracción en fase sólida (estudio en desarrollo). <sup>d</sup>Extracción soxhlet (Itoh et al., 2008). <sup>e</sup>Extracción por microondas (Itoh et al., 2008).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

---

Se determinó la concentración, composición, perfil de distribución, fuentes potenciales y toxicidad en sedimentos y *Anadara tuberculosa* en manglares y ecosistemas costeros de la bahía de Tumaco, Colombia. Este estudio mostró que la concentración de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  y HAPs individuales en sedimentos superficiales varía significativamente de acuerdo con el área en la que se recolecten. En los manglares estuarinos se observaron concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  más altas (valores de 171.4 y 564.6 ng g<sup>-1</sup>) que en las áreas marinas (valores entre 15.5 y 77.5 ng g<sup>-1</sup>). En el caso de las muestras de *Anadara tuberculosa*, se observó una menor variación en las concentraciones entre las diferentes áreas de muestreo, con un rango entre 31 y 169 ng g<sup>-1</sup> en el área desembocadura, entre 78 y 157 ng g<sup>-1</sup> en el área residencial y entre 24 y 63 ng g<sup>-1</sup> en el área portuaria.

En sedimentos, a pesar que se obtuvieron concentraciones de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  significativamente más altas en las muestras recolectadas en manglares estuarinos (valores de 171.4 y 564.6 ng g<sup>-1</sup>), la baja presencia de HAPs de cinco y seis anillos (menor al 2%) los cuales tienen mayores factores de equivalencia tóxicos y mutagénico, generó que las muestras en manglares estuarinos presentaran un menor riesgo toxicológico (0.52 y 0.77 EqT-BaP) en comparación con los riesgos de las muestras tomadas en zonas marinas (entre 0.07 y 7.56 EqT-BaP). En los sedimentos tomados en zonas marinas la presencia de HAPs de cinco y seis anillos varió del 3 al 30 %, factor que incrementa los riesgos toxicológicos y mutagénicos.

Las concentraciones obtenidas de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en sedimentos marinos en este estudio (entre 15.5 y 564.6 ng g<sup>-1</sup>) estuvieron por encima de zonas con bajos niveles de contaminantes provenientes de fuentes antropogénicas, con valores comparables a zonas con actividad petrolera intermedia y por debajo de zonas con alta actividad petrolera, comercial, turística y con alto flujo de embarcaciones. En *Anadara tuberculosa* se obtuvo un comportamiento similar, las concentraciones obtenidas de  $\Sigma 16\text{HAPs}$  en este estudio estuvieron por encima de zonas poco desarrolladas con baja actividad antropogénica, y por debajo de zonas altamente pobladas, con alto flujo de embarcaciones de transporte y alto nivel de actividad antropogénica.

Al estudiar el perfil de distribución de los HAPs individuales en las muestras de sedimentos marinos se encontró que la mayoría de las muestras de las áreas portuaria y residencial (n=8) comparten perfiles similares entre ellas, mientras que las muestras del área desembocadura

presentan un perfil diferente al de las otras áreas. Esta diferencia puede estar atribuida por los eventos de contaminación por derrames continentales que ocurren sobre el río Rosario y por los residuos de gasolina generados durante la producción ilegal de cocaína en la región que se pueden vertir en los ríos de la zona y posteriormente son transportados a la desembocadura del río. En bivalvos se encontró que el 80% de las muestras del área residencial comparten un perfil similar entre ellas, mientras que todas las muestras del área portuaria (n=3) y muestras del área desembocadura (n=8) comparten un perfil similar. Las muestras de sedimentos y *Anadara tuberculosa* no presentan una agrupación en común. Lo anterior se debe al hecho de que los bivalvos pueden digerir los HAPs mediante filtración tanto de agua como sedimentos, alimentándose principalmente de la filtración del agua.

Asimismo, las concentraciones de  $\Sigma 16$ HAPs estuvieron por debajo de las pautas de ERM y del límite establecido por la NOAA. Sin embargo, algunos HAPs individuales (Fla, Pir, Fen, Ace y Flu) en sedimentos de manglares estuarinos, excedieron los límites establecidos por la SQG, lo que sugiere posibles efectos adversos sobre la biota. Por otro lado, en bivalvos el 25% de las muestras superaron los límites establecidos por la comisión reguladora europea ( $30 \text{ ng g}^{-1}$ ), lo que puede provocar efectos en la salud de las personas. Por lo tanto, estas muestras no son aptas para consumo humano y se debe realizar un monitoreo periódico de muestras del área para un control sanitario. Con base en lo anterior, dado que existen muchas áreas de manglares con riesgo de contaminación a lo largo del municipio de Tumaco, en las cuales se recolectan especies de *Anadara tuberculosa* para su comercialización, se recomienda realizar análisis periódicos para reducir los riesgos al consumir esta especie y realizar un estudio en los múltiples manglares que no fueron cubiertos por este trabajo.

El perfil de los HAP revela el predominio de los HAP de 3 y 4 anillos en los sedimentos y el predominio de los HAP de 4 anillos en los bivalvos.

En sedimentos las relaciones diagnósticas en las muestras del estuario del río Rosario sugieren que los HAPs provienen de fuentes petrogénicas, las cuales se asocian principalmente a los derrames continentales que ocurren sobre este río. Las áreas portuaria y residencial en la mayoría de las muestras presentan un aporte de fuentes combinadas entre petrogénicas y combustión, asociadas principalmente por los flujos de embarcaciones de la zona, la combustión de carbón/madera y las actividades de los puertos petroleros.

Teniendo en cuenta que investigaciones recientes como la de Andersson & Achten (2015) demostraron que el monitoreo de los 16 HAPs prioritarios de la EPA pueden subestimar el potencial tóxico de estas sustancias alrededor del 70%, se recomienda ampliar el número de HAPs analizados, incluyendo derivados alquílicos de HAPs, dibenzopirenos, dibenzofluorenos y compuestos heterocíclicos. Al ampliar el número de HAPs se tendría de manera más precisa el riesgo toxicológico asociado con matrices ambientales.

Los métodos aplicados en este estudio presentaron buenos resultados en términos de química verde, teniendo para el método DSASE un puntaje de eco-escala (80) categorizado como excelente y el método MSPD un puntaje de eco-escala (58) categorizado como aceptable. Al comparar con técnicas como extracción por soxhlet, se observó que esta presenta un puntaje de eco-escala de (40), el cual se categoriza como análisis verde inadecuado.



# REFERENCIAS

---

- Abdel-Shafy, H., & Mansour, M. (2016). A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environment impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25, 107-123. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.03.011>
- Abootalebi, F., Moore, F., Keshavarzi, B., Mohebbi, S., Mohammadi, Z., Sorooshian, A., & Abbasi, S. (2020). Bisphenol A (BPA) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the surface sediment and bivalves from Hormozgan Province coastline in the Northern Persian Gulf: A focus on source apportionment. *Marine Pollution Bulletin*, 152, 110941. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110941>
- Alcaldía de Tumaco. (2008). *Plan de Ordenamiento Territorial 2008 - 2019*. Tumaco.
- Andersson, J., & Achten, C. (2015). Time to Say Goodbye to the 16 EPA PAHs? Toward and Up-to-Date Use of PACs for Environmental Purposes. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 35:2-4, 330-354.
- Anyakora, C., Ogbache, P., Palmer, P., & Coker, H. (2005). Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in marine samples of Siokolo Fishing Settlement. *Journal of chromatography*, 323-330.
- APHA, AWWA, & WPCF. (1995). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. Washington D.C.: American Public Health Association.
- Arango, J. (2009). Calidad de los combustibles en Colombia. *Revista de Ingeniería. Universidad de los Andes*, 29, 100-108.
- Assunção, M., Frena, M., Stein, A., & dos Santos, L. (2017). Aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments collected from mangroves with different levels of urbanization in southern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 119, 439-445. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.071>
- Barker, S., Long, A., & Short, C. (1989). Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. *Journal of Chromatography*, 475, 353-361.
- Baumard, P., Budzinski, H., Garrigues, P., Sorbe, J., Burgeot, T., & Bellocq, J. (1998). Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, 77-90. doi:<https://doi.org/10.1006/ecss.1998.0337>
- Bortey-Sam, N., Ikenaka, Y., Nakayama, S., Akoto, O., Yohannes, Y., Baidoo, E., . . . Ishizuka, M. (2014). Occurrence, distribution, sources and toxic potential of polycyclic aromatic

- hydrocarbons in surface soils from the Kumasi Metropolis. *Sci. Total Environ.*, 496, 471-478. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.07.071
- Burgos, S., Navarro, A., Marrugo, J., Enamorado, G., & Urango, I. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the Cispatá Bay, Colombia: A marine tropical ecosystem. *Marine Pollution Bulletin*, 120, 379-386. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.016>
- Cabrera, E., & Reyna, J. (1997). Evaluación del impacto por derrames de hidrocarburos en la ensenada de Tumaco. Comprobación de la efectividad de los planes de contingencia. *Boletín científico CCCP*, 139-145. Retrieved from <https://ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/332>
- Cai, Y., Wu, J., Zhang, Y., Lin, Z., & Peng, Y. (2019). Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove wetlands in Shantou, South China. *Journal of Geochemical Exploration*, 205, 106332. doi:<https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2019.106332>
- Camargo, M. (2019). *Extração de HPA de tecido de peixe empregando montmorilonita modificada com líquido iônico e dispersão da matriz em fase sólida (DISERTACÃO)*. Curitiba, Brazil: Universidade Federal do Paraná.
- Casanova, R., Betancourt, J., & Castro, L. (2001). Evaluación de los niveles de hidrocarburos aromáticos en sedimentos marinos de la ensenada de Tumaco. *Boletín Científico CCCP*, 8, 22-26. Obtenido de [https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/17410/dimarcccp\\_2001\\_boletincccp\\_08\\_22-26.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://www.oceandocs.org/bitstream/handle/1834/17410/dimarcccp_2001_boletincccp_08_22-26.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Casanova, R., Castellón-Castrillón, E., & Zambrano, M. (2006). Evaluación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos superficiales de los esteros el Pajal y Cándamo de la bahía de Tumaco. *Boletín Científico CCCP*, 13, 85-96. Obtenido de [ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/384/301](https://ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/384/301)
- Casanova, R., Celis, C., & Bastidas, G. (2008). Evaluación de los niveles de hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos de las principales bahías del Pacífico colombiano. *Boletín Científico CCCP*, 15, 47-59. Obtenido de <https://ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/399>
- Casanova, R., Timarán, H., & Betancourt, J. (1998). Evaluación de los niveles de hidrocarburos aromáticos totales en sedimentos de la ensenada de Tumaco. *Boletín científico CCCP*, 7, 78-82. Obtenido de [oceandocs.org/handle/1834/17626](https://www.oceandocs.org/handle/1834/17626)
- CCCO Madrid. (2008). *Exposición laboral a disolventes*. Madrid: Secretaría de Salud Laboral y Medio Ambiente.
- CCCP. (16 de Junio de 2011). *Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Pacífico*. Recuperado el 13 de Mayo de 2019, de [cccp.org.co/index.php/component/content/article/91-minerales-hidrocarburos/1002-](https://cccp.org.co/index.php/component/content/article/91-minerales-hidrocarburos/1002-)

derrame-de-hidrocarburos-en-tumaco-fue-simulado-usando-un-modelo-hidrodinamico-durante-investigacion-de-la-dimar-ccc

- CCME. (2010). *Canadian Council of Ministers of the Environment*. Recuperado el 05 de 02 de 2020, de <http://ceqg-rcqe.ccme.ca/>
- Comisión Europea. (19 de agosto de 2011). *Artículo 2. Reglamento (UE) N° 835/2011*.
- CORPONARIÑO. (2017). *Guía para la prevención de derrames de hidrocarburos*. Pasto: Corporación Autónoma de Nariño.
- Dat, N., & Chang, M. (2017). Review on characteristics of PAHs in atmosphere, anthropogenic sources and control technologies. *Sci. Total Environment*, 609, 682-693. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.204>
- Defew, L., Mair, J., & Guzman, H. (2005). An assessment of metal contamination in mangrove sediments and leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 547-552. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.047>
- DIMAR. (2003). *Aportes al Entendimiento de la Bahía de Tumaco*. Bogotá: Dirección General Marítima, Centro de Control Contaminación del Pacífico.
- Durant, J., Busby, W., Lafleur, A., Penman, B., & Crespi, C. (1996). Human cell mutagenicity of oxygenated, nitrated and unsubstituted polycyclic aromatic hydrocarbons associated with urban aerosols. *Mutation Research*, 371, 123-157. doi:[https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90103-2](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90103-2)
- ECOIM. (2016). *Programa de Vigilancia Ambiental*. Atacama, Chile: ECOIM Consultoría Ambiental.
- European Commission (EC). (2014). Commission Regulation (EU), No 1327/2014 of 12 December 2014 Amending Regulation (EC) No 1881/2006 As regards Maximum Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Traditionally Smoked Meat and Meat Products and Traditionally Smoked Fish and Fishery.
- FAO. (2014). *Food and agriculture organization of the United Nations*. Recuperado el 15 de Abril de 2020, de <http://faostat.fao.org/site/354/default.aspx>
- FAO. (2020). *Fishery stastical collections, fishery and aquaculture department*. Retrieved 05 20, 2020, from [http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso\\_colombia/en](http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_colombia/en)
- Fiscal-Ladino, J., Obando-Ceballos, M., Rosero-Moreano, M., Montano, D., Cardona, W., Giraldo, L., & Richter, P. (2017). Ionic liquids intercalated in montmorillonite as the sorptive phase for the extraction of low-polarity organic compounds from water by rotating disk sorptive extraction. *Analytica Chimica Acta*, 953, 23-31. doi:10.1016/j.aca.2016.11.067

- Galuszka, A., Konieczka, P., Migaszewski, Z., & Namiesnik, J. (2012). Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. *Trends in Analytical Chemistry*, 37, 61-72. doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>
- Gaviria, A., & Mejía, D. (2011). *Políticas antidroga en Colombia: éxitos, fracasos y extravíos*. Bogotá: Ediciones Uniandes.
- Ghizelini, A., Martins, K., GieBelmann, U., Santoro, E., Pasqualette, L., Mendonça-Hagler, L., . . . Macrae, A. (2019). Fungal communities in oil contaminated mangrove sediments - Who is in the mud? *Marine Pollution Bulletin*, 139, 181-188. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.12.040>
- González, P., Beretta, M., Fiscina, A., & Vidal, E. (2014). Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en sedimentos del río San Francisco - estado de Bahía - Brasil. *Revista electrónica de gestión y tecnologías ambientales (GESTA)*, 122-137.
- Guerra-García, J., & García-Gómez, J. (2008). Core manual versus draga Van Veen en sedimentos intraportuarios: Estimación de sus eficiencias en el estudio de comunidades macrobentónicas. *Zool. baetica*, 19, 57-69.
- Guigue, C., Tedetti, M., Huy, D., Mullot, J., Garnier, C., & Goutx, M. (2017). Remobilization of polycyclic aromatic hydrocarbons and organic matter in seawater during sediment resuspension experiments from a polluted coastal environment: Insights from Toulon Bay (France). *Environmental Pollution*, 229, 627-638. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.06.090>
- Haritash, A., & Kaushik, C. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169, 1-15. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>
- IARC. (12 de Marzo de 2012). *International Agency for Research on Cancer*. Recuperado el 13 de marzo de 2019, de (IARC, 2012) International Agency for Research on Cancer, IARC, 2012. Agents Classified by the IARC Monographs, vol. 1-103. Retrieved March 12, 2012 from: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>
- IDEAM. (2019). *Pronóstico de pleamares y bajamares en la costa pacífica colombiana*. Bogotá: IDEAM.
- INSST. (2020). *Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo*. Recuperado el 13 de Mayo de 2020, de <https://www.insst.es/>
- Instituto de Fomento Pesquero. (2009). *Manual de Procedimientos para Toma de Muestras de Macrofauna*. Puerto Montt, Chile: Innova Chile.
- Invemar. (2003). Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos. *Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras*.

- Invemar. (2003). *Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos (aguas, sedimentos y organismos)*. Santa Marta: Precolombi - David Reyes.
- INVEMAR. (2016). *Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras del caribe y pacífico colombianos*. Santa Marta: Red de Vigilancia para la Conservación y Protección de las Aguas Marinas y Costeras de Colombia.
- INVEMAR. (2019). *Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras del caribe y pacífico colombianos*. Santa Marta, Colombia: Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andrés".
- Itoh, N., Numata, M., Aoyagi, Y., & Yarita, T. (2008). Comparison of low-level polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment revealed by Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction, and pressurized liquid extraction. *Analytica Chimica Acta*, *612*, 44-52. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.012>
- Johnson, B., Olivero, J., Lu, S., Guette, J., Baldiris, R., O'Byrne, I., . . . Kannan, K. (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in fish bile and sediments from coastal waters of Colombia. *Environmental Pollution*, *151*, 452-459. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.04.011>
- Kim, H., & Lee, D. (2019). Proximity to chemical equilibria among air, water, soil, and sediments varied with partition coefficients: A case study of polychlorinated dibenzodioxins furans, polybrominated diphenyl ethers, phthalates, and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Science of Total Environment*, *670*, 760-769. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.286>
- Kronenberg, M., Trably, E., Bernet, N., & Patureau, D. (2017). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: using microbial bioelectrochemical systems to overcome an impasse. *Environmental Pollution*, *231*, 509-523. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.048>
- Larsen, R., & Baker, J. (2003). Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Urban Atmosphere: A Comparison of Three Methods. *Environmental Science & Technology*, *37*(9), 1873-1881. doi:<https://doi.org/10.1021/es0206184>
- León, V., Moreno-González, R., González, E., Martínez, F., García, V., & Campillo, J. (2013). Interspecific comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons and persistent organochlorines bioaccumulation in bivalves from a Mediterranean coastal lagoon. *Science of the Total Environment*, *463-464*, 975-987. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.06.075>
- Lin, F., Han, B., Ding, Y., Li, Q., Gao, W., & Zheng, L. (2018). Distribution characteristics, sources, and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Qinhuangdao coastal wetland, China. *Marine Pollution*, *127*, 788-793. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.09.054>

- Lin, Y., Deng, W., Li, S., Li, J., Wang, G., Zhang, D., & Li, X. (2017). Congener profiles, distribution, sources and ecological risk of parent and alkyl-PAHs in surface sediments of Southern Yellow Sea, China. *Science Total of environmental*, 580, 1309-1317. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.094
- Londoño, A., Giraldo, G., & Gutiérrez, Á. (2010). *Métodos analíticos para la evaluación de la calidad fisicoquímica del agua*. Manizales, Colombia: Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.
- Long, E., & MacDonald, D. (1998). Recommended uses of empirically derived, sediment quality guidelines for marine and estuarine ecosystems. *Human and Ecological Risk Assessment*, 4 (5), 1019-1039. doi:https://doi.org/10.1080/10807039891284956
- Long, E., MacDonald, D., Smith, S., & Calder, F. (1995). Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *The Journal of Environmental Management*, 19, 81-97. doi:https://doi.org/10.1007/BF02472006
- López-Landavery, E., Amador-Cano, G., Alejandri, N., Ramirez-Álvarez, N., Montelongo, I., Díaz, F., & Galindo-Sánchez, C. (2019). Transcriptomic response and hydrocarbon accumulation in the eastern oyster (*Crassostrea virginica*) exposed to crude oil. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 225, 108571. doi:https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108571
- Magnusson, B., & Ömemark, U. (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos - Una guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. Eurolab. Obtenido de www.eurachem.org
- Mahmoud, M., & Obada, M. (2014). Improved sea water quality by removal of the total hardness using static step-by-step deposition and extraction technique as an efficient pretreatment method. *Chemical Engineering Journal*, 252, 355-361. doi:https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.04.064
- Mancheno, M., & Izquierdo, M. (2008). *Exposición laboral a disolventes*. Madrid: Ambarpack.
- Marrugo, A. (1993). Estudio de la contaminación marina por hidrocarburos en el pacífico colombiano - fase III. *Boletín científico CCCP*, 4, 47-60.
- Marrugo, A. (1995). Estudio de la contaminación marina por hidrocarburos en áreas críticas de la costa pacífica colombiana. *Boletín científico CCCP*, 5, 121-144.
- Martínez, X., Gilbert, O., Martí, V., Díez, S., Romo, J., Bayona, J., & de Pablo, J. (2007). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and tributyltin (TBT) in Barcelona harbour sediments and their impact on benthic communities. *Environmental Pollution*, 149, 104-113. doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.11.020
- Mejía, G. (2015). Hidrocarburos aromáticos policíclicos en la costa caribe colombiana y posibles fuentes de contaminación (TESIS DE MAESTRÍA). *Universidad de Cartagena*.

- Mendes, L., Frena, M., Madureira, A., Ritchter, P., Rosero-Moreano, M., & Carasek, E. (2018). Development of an eco-friendly method for the determination of total polychlorinated biphenyls in solid waste by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Envir. Chem. Eng*, 6, 5042-5048. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.07.037>
- Ministerio de Agricultura. (15 de marzo de 2018). *Ministerio de Agricultura de Colombia*. Recuperado el 14 de mayo de 2020, de <https://www.minagricultura.gov.co/noticias/Paginas/M%C3%A1s-de-700-toneladas-de-pescado%20y-mariscos-se%20comercializadas-en-Corabastos-en%20Semana-Santa-.aspx>
- Ministerio de Salud. (1984). *Decreto No. 1594 del 26 de junio de 1984*. Bogotá: Ministerio de Salud de Colombia.
- Ministerio de Salud y Protección Social Colombia. (26 de enero de 2012). *Artículo 6. Resolución 122. DO. 48.329*.
- Mojiri, A., Zhou, J., Ohashi, A., Ozaki, N., & Kindaichi, T. (2019). Comprehensive review of polycyclic aromatic hydrocarbons in water sources, their effects and treatments. *Science of The Total Environment*, 696, 133971. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133971>
- Montagut, E., & Cabrera, E. (1997). Situación de riesgo en la ensenada de Tumaco. *Boletín científico CCCP*, 6, 7-28. Retrieved from <https://ojs.dimar.mil.co/index.php/CCCP/article/view/319>
- Montuori, P., Aurino, S., Garzonio, F., Sarnacchiaro, P., Nardone, A., & Triassi, M. (2016). Distribution, sources and ecological risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediments from Tiber River and estuary, Italy. *Sci. Total Environ.*, 566-567, 1254-1267. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.183>
- Moslen, M., Miebaka, C., & Boisa, N. (2019). Bioaccumulation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) in a bivalve (*Arca senilis* - blood cockles) and health risk assessment. *Toxicology Reports*, 6, 990-997. doi:<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.09.006>
- Nandini, N., & Menon, N. (1999). Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons from suspended oil borne sediments by the marine bivalve *Sunetta scripta*. *Aquatic Toxicology*, 45, 63-69. doi:[https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(98\)00092-7](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00092-7)
- Nascimento, R., de Almeida, M., Escobar, N., Ferreira, S., Mortatti, J., & Queiroz, A. (2017). Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and organic matter in surface sediments of an estuary under petroleum activity influence, Todos os Santos Bay, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 119, 223-230. doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.069>
- Nieves-Soto, M., Enriquez-Ocaña, F., Piña-Valdez, P., Maeda-Martínez, A., Almodóvar-Cebreros, J., & Acosta-Salmón, H. (2011). Is the mangrove cockle *Anadara tuberculosa* a candidate for effluent bioremediation? Energy budgets under combined conditions of temperature

- and salinity. *Aquaculture*, 318, 434-438.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.041>
- Nisbet, I., & Lagoy, P. (1992). Toxic Equivalency Factors (TEFs) for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 16, 290-300.  
doi:[https://doi.org/10.1016/0273-2300\(92\)90009-X](https://doi.org/10.1016/0273-2300(92)90009-X)
- NOAA. (1999). *National Oceanic and Atmospheric Administration*. Recuperado el 20 de May de 2019, de <https://response.restoration.noaa.gov/cpr/sediment/squirt/squirt.html>
- NOAA. (1999). *Office of Response and Restoration*. Recuperado el 12 de Marzo de 2020, de <https://response.restoration.noaa.gov/sites/default/files/SQuiRTs.pdf>
- NOAA. (03 de marzo de 2020). *National Oceanic and Atmospheric Administration*. Recuperado el 16 de mayo de 2020, de <https://oceanservice.noaa.gov/facts/oceanwater.html#:~:text=About%2097%20percent%20of%20Earth's,in%20glaciers%20and%20ice%20caps.>
- Oliveira, L., Gomes, A., & de Andrade, J. (2018). Methodology to examine polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) nitrated PAHs and oxygenated PAHs in sediments of the Paraguaçu River (Bahia, Brazil). *Marine Pollution Bulletin*, 136, 248-256.
- Oros, D., & Ross J. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in bivalves from the San Francisco estuary: Spatial distributions, temporal trends, and sources (1993–2001). *Marine Environmental Research*, 60(4), 466-488.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2005.02.001>
- Pawliszyn. (2000). Theory of Solid-Phase Microextraction. *Journal of Chromatographic Science*.
- Pawliszyn, J. (2009). *Handbook of Solid Phase Microextraction*. Beijing: Chemical Industry Press of China.
- Peteiro, L., Filgueira, R., & Fernández-Reiriz, M. (2019). *Consejo superior de investigaciones científicas*. Recuperado el 23 de Marzo de 2019, de [http://digital.csic.es/bitstream/10261/116192/1/moluscos\\_2.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/116192/1/moluscos_2.pdf)
- PNUMA. (2008). *Guía para el muestreo, preparación y análisis de contaminantes orgánicos en muestras ambientales (agua, suelos/sedimentos y biota)*. Kingston, Jamaica: Programa ambiental del caribe.
- PNUMA. (2009). *Manual del protocolo de Montreal relativo a las sustancias que agotan la capa de ozono*. Montreal: UNON.
- Porte, C., & Albaigés, J. (1993). Bioaccumulation patterns of hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bivalves, crustacean and fishes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26, 273-281. doi:<https://doi.org/10.1007/BF00203552>



- Prada-Ríos, J., & Zambrano, M. (2006). Toxicidad aguda y bioacumulación de dos hidrocarburos aromáticos policíclicos (naftaleno y fluoranteno) en un molusco bivalvo. *Boletín Científico CCCP*, 13, 53-64.  
doi:[https://cecolodigital.dimar.mil.co/418/1/dimarcccp\\_2006\\_boletincccp\\_13\\_53-64OK.pdf](https://cecolodigital.dimar.mil.co/418/1/dimarcccp_2006_boletincccp_13_53-64OK.pdf)
- Qu, C., Li, J., Albanese, S., Lima, A., Wang, M., Sacchi, M., . . . De Vivo, B. (2018a). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the sediments of the Gulfs of Naples and Salerno, Southern Italy: Status, sources and ecological risk. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 161, 156-163.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.077>
- Qu, C., Sun, Y., Albanese, S., Lima, A., Sun, W., Di Bonito, M., . . . De Vivo, B. (2018b). Organochlorine pesticides in sediments from Gulfs of Naples and Salerno, Southern Italy. *Journal of Geochemical Exploration*, 195, 87-96.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.12.010>
- Ranjan, R., Routh, J., Ramanathan, A., & Val, J. (2012). Polycyclic aromatic hydrocarbons fingerprints in the Pichavaram mangrove-estuarine sediments, southeastern India. *Organic Geochemistry*, 53, 88-94. doi:<https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2012.08.007>
- Redacción Economía. (26 de Abril de 2018). *El Espectador*. Recuperado el 06 de Abril de 2020, de <https://www.elespectador.com/noticias/economia/refuerzan-labores-de-contencion-de-crudo-en-tumaco-por-atentado-terrorista/>
- Resolution-122. (31 de January de 2012). Social Protection Ministry. Bogotá D.C., Colombia.
- Richter, P., Leiva, C., Choque, C., Giordano, A., & Sepúlveda, B. (2009). Rotating-disk sorptive extraction of nonylphenol from water samples. *J. Chromatogr. A*, 1216, 8598-8602.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.10.044>
- RIMISP. (2017). *Lectura Territorial de San Andrés de Tumaco*. Bogotá: Bitácora & Territorio. Centro Latinoamericano para el Desarrollo Rural.
- Smith, R. (2002). Extraction with superheated water. *Journal of Chromatography A*, 975, 31-46.  
doi:[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01225-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01225-6)
- Souza-Silva, É., Jiang, R., Rodríguez-Lafuente, A., Gionfriddo, E., & Pawliszyn, J. (2015). A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices I. Environmental analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 71, 224-235.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.016>
- SQG. (1999). *Canadian sediment quality guidelines for the protection of aquatic life: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)*. Winnipeg: Canadian environmental quality guidelines, Canadian Council of Ministers of the Environment.
- Strobel, D. (2006). Gravitational tidal waves in Titan's upper atmosphere. *Icarus*, 182, 251-258.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.icarus.2005.12.015>

- Sun, R., Sun, Y., Li, Q., Zheng, X., Luo, X., & Mai, B. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and marine organisms: Implications of anthropogenic effects on the coastal environment. *Science of the Total Environment*, 640-641, 264-272. doi:https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.320
- Sun, T. (2004). Excessive trust in authorities and its influence on experimental design. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 5, 577-581.
- Tam, N., Ke, L., Wang, X., & Wong, Y. (2001). Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environmental Pollution*, 114, 255-263. doi:https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00212-8
- Tejada, C., & Afanador, F. (2003). Evaluación del riesgo debido a derrame de hidrocarburos en la bahía de Tumaco. *Boletín Científico CCCP*, 10, 56-82.
- UNODC-SIMCI. (2020). *Monitoreo de territorios afectados por cultivos ilícitos 2019*. Bogotá: Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito - Sistema Integrado de Monitoreo de Cultivos Ilícitos.
- US-EPA. (2001). *Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual*. EPA 823-B-01-002. Washington, DC: U.S Environmental Protection Agency, Office of Water.
- US-EPA. (2014). Priority Pollutant List. *Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos*.
- US-EPA. (2018). *United States Environmental Protection Agency*. Recuperado el 12 de Febrero de 2020, de epa.gov/esam/epa-method-8270e-sw-846-semivolatile-organic-compounds-gas-chromatographymass-spectrometry-gc
- Wagener, A., Hamacher, C., Farias, C., Godoy, J., & Scofield, A. (2010). Evaluation of tools to identify hydrocarbon sources in recent and historical sediments of a tropical bay. *Mar. Chem.*, 121, 67-79. doi:https://doi.org/10.1016/j.marchem.2010.03.005
- Wang, H., Huang, W., Gong, Y., Chen, C., & Zhang, T. (2020). Occurrence and potential health risks assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different tissues of bivalves from Hainan Island, China. *Food and Chemical Toxicology*, 136, 111108. doi:https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.111108
- Wang, Z., Stout, S., & Fingas, M. (2006). Forensic Fingerprinting of Biomarkers for Oil Spill Characterization and Source Identification. *Environmental Forensics*, 7(2), 105-146. doi:https://doi.org/10.1080/15275920600667104
- Xia, Z., Wei, S., Jiang, Q., Wang, Y., Qiu, W., Tao, S., . . . Hu, X. (2012). Pollution level, inhalation exposure and lung cancer risk of ambient atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. *Environ. Pollut.*, 173, 150-156. doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.10.009

- Xue, R., Chen, L., Lu, Z., Wang, J., Yang, H., Zhang, J., & Cai, M. (2016). Spatial distribution and source apportionment of PAHs in marine surface sediments of Prydz Bay, East Antarctica. *Environmental Pollution*, 219, 528-536. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.084>
- Yunker, M., Macdonald, R., Vingarzan, R., Mitchell, R., Goyette, D., & Sylvestre, S. (2002). PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org. Geochem.*, 33, 489-515. doi:[https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00002-5](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00002-5)

## **ANEXOS. BASES DE DATOS DIGITAL**

---

- Anexo 1 Caracterización de los puntos de muestreo
- Anexo 2 Cálculos de validación del método HAPs en sedimento certificado
- Anexo 3 Cálculos límites de detección y cuantificación
- Anexo 4 Cálculos de concentración de HAPs en sedimentos
- Anexo 5 Cálculos de concentración de HAPs en bivalvos
- Anexo 6 Cálculos estadísticos HAPs en sedimentos
- Anexo 7 Cálculos estadísticos HAPs en bivalvos
- Anexo 8 Cálculos relaciones diagnósticas
- Anexo 9 Cálculos factores equivalentes tóxicos y mutagénicos
- Anexo 10 Eco-escala analítica para evaluación del método verde