

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

“Evaluación de la fototoxicidad y riesgo ecológico del antraceno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y fluoranteno utilizando *Artemia franciscana* y algunos organismos de la zona arrecifal de Puerto Morelos y del complejo lagunar Bojorquez-Nichupté en Quintana Roo, bajo condiciones de laboratorio.”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

M. en C. MA. DEL CARMEN GUZMÁN MARTÍNEZ

CODIRECTORES DE TESIS

Dra. PATRICIA RAMÍREZ ROMERO

Dra. ANASTAZIA T. BANASZAK

ASESOR

Dr. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA

México D.F., 15 de diciembre 2009

El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo con el convenio PFP-20-93.

**El jurado designado por la Comisión del Doctorado en Ciencias Biológicas  
aprobó la tesis que presentó**

**María del Carmen Guzmán Martínez**

**El día de 15 de diciembre del año 2009**

**Sinodales:**

**Dra. Patricia Ramírez Romero (Presidenta)** \_\_\_\_\_

**Dra. Anastazia T. Banaszak (Secretaria)** \_\_\_\_\_

**Dr. José Luis Arredondo Figueroa (Vocal)** \_\_\_\_\_

**Dra. Guadalupe Barrera Escorcia (Vocal)** \_\_\_\_\_

**Dra. Rosa María Flores Serrano (Vocal)** \_\_\_\_\_

# COMITÉ TUTORIAL

## Codirectores

**Dra. Patricia Ramírez Romero**  
**Profesora Investigadora Titular "C"**  
**Depto. de Hidrobiología**  
**Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa**

**Dra. Anastazia T. Banaszak**  
**Investigadora Titular "A"**  
**Unidad Académica de Sistemas Arrecifales**  
**Instituto de Ciencias del Mar y Limnología**  
**Universidad Nacional Autónoma de México**

## Asesor

**Dr. José Luis Arredondo Figueroa**  
**Profesor Investigador Titular "C"**  
**Depto. de Hidrobiología**  
**Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa**

## Sinodales

**Dra. Guadalupe Barrera Escorcía**  
**Profesora Investigador Titular "C"**  
**Departamento de Hidrobiología**  
**Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa**

**Dra. Rosa María Flores Serrano**  
**Técnico Académico Titular "B"**  
**Coordinación de Ingeniería**  
**Universidad Nacional Autónoma de México.**

**El presente trabajo se realizó en:**

**El laboratorio de Ecotoxicología**

**Depto. Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud.**

**Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.**

**Laboratorio de Fotobiología**

**Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, Instituto de Ciencias del Mar y**

**Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México.**

**Laboratorio de Genética**

**Depto. Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud.**

**Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.**

**Este trabajo fue financiado por el CONACyT:**

**Beca de Doctorado Número 164746 a María del Carmen Guzmán Martínez**

**Bajo la Co-dirección de:**

**Dra. Patricia Ramírez Romero**

**Dra. Anastazia T. Banaszak**

# **DEDICATORIA**

## **A mis padres**

Que me han ayudado y apoyado en todo momento.

## **A mis hermanos**

## **A mis sobrinas (Gaby y Mari Fer)**

## **A mi sobrino a quien siempre recuerdo (José Francisco)**

## **AGRADECIMIENTOS.**

Este trabajo ha sido el producto del apoyo y de la confianza que me brindaron las personas involucradas en este, así que quiero brindar mi reconocimiento a:

A mi directora de tesis la Dra. Patricia Ramírez Romero por sus enseñanzas, su interés en la realización de la tesis, apoyo, confianza, por impulsarme en el área de la ecotoxicología, y enriquecer mi formación académica.

A mi codirectora de tesis la Dra. Anastazia T. Banaszak por apoyarme en la realización del trabajo de campo, compartir sus conocimientos, por sus valiosos consejos y su interés para mejorar el trabajo escrito.

Un agradecimiento muy especial al Dr. José Luis Arredondo Figueroa por sus valiosos consejos y enseñanzas para la realización y el mejoramiento de la tesis.

A los sinodales: Dra. Guadalupe Barrera Escorcía, Dra. Rosa María Flores Serrano que aportaron muchas e importantes sugerencias para mejorar el trabajo escrito.

Un agradecimiento especial a la Dra. Reyna Fierro Pastrana por su apoyo e interés para que culmine con esta etapa de mi vida para así poder obtener el grado.

A la M. en C. María de los Ángeles Aguilar Santamaría por su apoyo, palabras de aliento y a la Bióloga Experimental Karla Dávalos de la Cruz porque gracias a ellas pudimos ver los cometas.

A todos los integrantes del laboratorio de Ecotoxicología por su apoyo en especial a Dra. Alma Socorro Sobrino Figueroa, Dra. Xochitl Guzmán García, Dra. Ma. Guadalupe Miranda Arce.

A la Dra. Blanca Lilia Barrón Romero por su apoyo y poder realizar una estancia en el Laboratorio de Virología de IPN.

A todo el personal académico y administrativo de la Unidad Académica de Puerto Morelos Q.R., en especial a:

Julio Nicanor Pech Cruz, Eutimio Sánchez Chan, Amador Hernández Gómez, Amauri Mendoza López, Dolores Ruíz González, Judith Elena Vázquez Enríquez, Marciana Beatriz Durán Sosa, (Marcy), María del Carmen Espinosa Rubí.

Al Dr. José Álvarez Cadena † quien siempre me apoyo, estuvo dispuesto a ayudarme a realizar el trabajo de campo.

A la Dra. Lourdes Segura † quien me ayudo a identificar a las medusas y que siempre tenía una sonrisa y palabras de apoyo y confianza.

A la M. en C. Alma Rosa Almaral Mendivil por su apoyo, confianza, por el entusiasmo para ir a capturar a los organismos, por ayudarme a tomar fotografías, quien me ayudo en todo este proceso y por su amistad.

Al ingeniero Juan Ignacio Ustarán del Laboratorio ABC por la determinación de las concentraciones de los hidrocarburos y por la descripción de método para la determinación de los HAPs.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar este trabajo.

A la WWF por el apoyo para la realización del presente, en especial a Mercedes González (Chedy).

**A todos ustedes,  
Mil Gracias.**

## LISTA DE FIGURAS

Título de figuras	Pagina
Figura 1. Estructura química de los hidrocarburos aromáticos policíclicos: Benzo[α]pireno (BaP), Fluoranteno (FL) y Antraceno (Ant). Empleados en el presente trabajo.	5
Figura 2. Ubicación geográfica de la zona de estudio: a) zona arrecifal de Puerto Morelos y b) complejo lagunar Bojorquez-Nichupté, en Quintana Roo.	19
Figura 3. (A) Cámara experimental (B) Cm= control de manipulación, Ca= control de solvente, C1= concentración 1 (fluoranteno o BaP o antraceno), C1 <sub>R</sub> = repetición de la concentración 1 C2= concentración 2 (FL o BaP o Ant) C2 <sub>R</sub> = repetición de la concentración 2.	26
Figura 4. Sistema experimental para el desarrollo de los bioensayos empleado para la exposición de los organismos a la radiación solar.	31
Figura 5. Bioensayos de larvas de <i>S. gigas</i> expuestas a fluoranteno y BAP, en placas de cultivo de tejidos cubiertas con placas de plexiglás.	33
Figura 6. Obtención de medusas de la especie <i>Cladonema radiatum</i> y los copépodos ( <i>Acartia spinata</i> ) con red de arrastre. (A) Red de zooplancton. (B) Arrastre de la red. (C y D) lavado de la red, separación del copo para recolectar los organismos y transportarlos al laboratorio.	34
Figura 7. Diseño de pruebas experimentales para <i>S. gigas</i> y <i>C. radiatum</i> C=control de manipulación agua marina, Ca= Control con solvente (Acetona), 1, 2, 3, 4= Concentraciones nominales del hidrocarburo aromático policíclico (fluoranteno o benzo[α]pireno).	35
Figura 8. Diseño de pruebas experimentales para <i>A. spinata</i> .	37
Figura 9. Colectores para postlarvas de langosta (Briones Fourzán <i>et al.</i> , 2003), A. En la laguna arrecifal. B. Los colectores se sacudieron para desprender a los organismos de los contenedores, con ellos se obtuvieron las especies de <i>Leander tenuicornis</i> y <i>Pachygrapsus gracilis</i> .	38
Figura 10. Diseño de pruebas experimentales para las especies <i>Leander tenuicornis</i> y <i>Pachygrapsus gracilis</i> , expuestas a fluoranteno y benzo[α]pireno. (A) Preparativos para realizar los bioensayos. (B) Cristalizadores de vidrio de 300 ml.	39
Figura 11. Técnica de obtención de camarones de pastos ( <i>Tozeuma carolinense</i> , <i>Hippolythe zoostericola</i> y <i>Thor manningi</i> ). A. Arrastre de la red. B. Red de arrastre de bentos. C. Red y copo con los organismos.	39
Figura. 12. Diseño experimental para <i>Tozeuma carolinense</i> , <i>Thor manningi</i> , <i>Hippolythe zostericola</i> . C=control de manipulación, Ca= Control con solvente (Acetona), 1, 2 = Concentraciones nominales de fluoranteno y benzo[α]pireno. C <sub>1R</sub> y C <sub>2R</sub> = Concentraciones nominales de fluoranteno y benzo[α]pireno (repetición).	40
Figura 13. Sitio de muestreo, e imagen obtenidas <i>in situ</i> del coral <i>Porites divaricata</i> .	41
Figura 14. <i>Porites divaricata</i> expuesto al hidrocarburo, se identifican las diferentes etapas. (A) Luz blanca; (B) Luz fluorescente.	43
Figura. 15. Diagrama de flujo del método que se empleo para realizar la evaluación de riesgo ecológico (ERE) a través del método del cociente en la laguna Bojorquez-Nichupté y la zona Arrecifal de Puerto Morelos.	46
Figura 16. Ejemplos de los diferentes niveles de daño del ADN: valoración cualitativa (visual) de la longitud del cometa de <i>A. franciscana</i> expuesta a fluoranteno, benzo[a]pireno y Antraceno.	50
Figura 17. Respuesta de los metanauplios de <i>A. franciscana</i> expuestos a fluoranteno (F) benzo[α]pireno (B). Datos compilados de más de 200 células. CTL ACE = control de acetona; F1= fluoranteno a 24 µg/L; F2= fluoranteno a 48 µg/L;	53

B1= benzo[α]pireno a 4.8 µg/L; B2= benzo[α]pireno a 9.6 µg/L.	
Figura 18. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a fluoranteno y radiación UV.	61
Figura 19. Eficiencia fotoquímica máxima del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a fluoranteno y radiación UV.	61
Figura 20. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a fluoranteno y sin radiación UV.	62
Figura 21. Eficiencia fotoquímica máxima del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a fluoranteno y sin radiación UV.	62
Figura 22. <i>Porites divaricata</i> expuestos a fluoranteno a diferentes concentraciones de fluoranteno y radiación solar. Los corales se observan con los pólipos extendidos y con la máxima concentración se observa la ausencia de los pólipos y el tejido esta necrosado.	63
Figura 23. <i>Porites divaricata</i> expuestos a diferentes concentraciones de fluoranteno y sin radiación solar. En la presente figura se observan que en todas las concentraciones y en los corales la presencia de pólipos (corales sanos).	64
Figura 24. Eficiencia fotoquímica máxima del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a benzo[α]pireno en presencia de radiación UV.	66
Figura 25. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a benzo[α]pireno en presencia de radiación UV.	66
Figura 26. Eficiencia fotoquímica máxima del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a benzo[α]pireno en ausencia de radiación UV.	67
Figura 27. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral <i>Porites divaricata</i> expuestos a benzo[α]pireno en ausencia de radiación UV.	67
Figura 28. Fotografías de <i>Porites divaricata</i> empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a benzo[α]pireno, con radiación solar. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. En la figura se observan corales blanqueados y muertos por exposición al hidrocarburo.	68
Figura 29. Fotografías de <i>Porites divaricata</i> empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a benzo[α]pireno, con radiación solar sin UV. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. Los corales se observan blanqueados por exposición al hidrocarburo.	69
Figura 30. Fotografías de <i>Porites divaricata</i> empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a antraceno y con radiación solar. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. Los corales se observan sanos y blanqueados.	71
Figura 31. Fotografías de <i>Porites divaricata</i> empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a antraceno y con radiación solar sin UV. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. Los corales se observan sanos y blanqueados.	72
Figura 32. Modelo conceptual desarrollado para el Complejo Lagunar Bojorquez-Nichupté y la zona arrecifal de Puerto Morelos.	77

## LISTA DE TABLAS

Título de tablas	Página
Tabla 1. Características fisicoquímicas del antraceno, fluoranteno y BaP.	4
Tabla 2. Condiciones de eclosión de quistes de <i>A. franciscana</i> . (NOM, Evaluación de toxicidad aguda con <i>Artemia franciscana</i> (Kellogg, 1906 Crustacea-Anostraca) – Método de prueba).	23
Tabla 3. Condiciones de cultivo para juveniles y adultos de <i>A. franciscana</i> .	24
Tabla 4. Estado fisiológico del coral después de la exposición al hidrocarburo.	42
Tabla 5. Concentración letal 50 (CL <sub>50</sub> ) para adultos y metanauplios de <i>A. franciscana</i> expuestos a fluoranteno, benzo[α]pireno y antraceno, con una intensidad de radiación UV de 55 μW/cm <sup>2</sup> . El número en paréntesis representa la desviación estándar.	49
Tabla 6. Clasificación del daño en la cadena de ADN con base en la longitud promedio de la migración del ADN.	50
Tabla 7. Porcentaje de las células por categoría de daño, de los organismos expuestos a diferentes concentraciones de HAPs.	51
Tabla 8. Longitud promedio de la cola del cometa (μm), desviación y estándar, error estándar medido para cada tratamiento experimental.	52
Tabla 9. CL <sub>50</sub> para <i>Artemia franciscana</i> expuestas a fluoranteno y BaP.	54
Tabla 10. CL <sub>50</sub> para las larvas de caracol rosado <i>S. gigas</i> expuestas a fluoranteno y BaP.	55
Tabla 11. CL <sub>50</sub> para las medusas expuestas a fluoranteno.	55
Tabla 12. CL <sub>50</sub> para las <i>A. spinata</i> expuestas a fluoranteno.	55
Tabla 13. CL <sub>50</sub> para las <i>A. spinata</i> expuestas a fluoranteno.	56
Tabla 14. CL <sub>50</sub> para <i>L. tenuicornis</i> expuestas a fluoranteno.	56
Tabla 15. CL <sub>50</sub> para <i>L. tenuicornis</i> expuestas a benzo[α]pireno.	57
Tabla 16. CL <sub>50</sub> para <i>P. gracilis</i> expuestas a fluoranteno.	57
Tabla 17. CL <sub>50</sub> para <i>H. zoostericola T. manningi</i> expuestas a fluoranteno.	58
Tabla 18. CL <sub>50</sub> para <i>H. zoostericola T. manningi</i> expuestas a benzo[α]pireno.	58
Tabla 19. CL <sub>50</sub> para <i>T. carolinense</i> expuestas a fluoranteno.	58
Tabla 20. CL <sub>50</sub> para <i>T. carolinense</i> expuestas a benzo[α]pireno.	59
Tabla 21. Número de organismos de <i>P. divaricata</i> por estado fisiológico observado después de la exposición a fluoranteno. Con radiación solar y sin radiación.	60
Tabla 22. Número de organismos de <i>P. divaricata</i> por estado fisiológico observado después de la exposición a benzo[α]pireno. Con radiación solar y sin	65

radiación. Número de organismos por estado fisiológico observado.	
Tabla 23. Número de organismos de <i>P. divaricata</i> por estado fisiológico observado después de la exposición a antraceno. Con radiación solar y sin radiación.	<b>70</b>
Tabla 24. Exposición de RUV de los organismos expuestos a fluoranteno	<b>74</b>
Tabla 25. Exposición de RUV de los organismos expuestos a BaP.	<b>75</b>
Tabla 26. Cocientes de peligro para diferentes especies expuestas a fluoranteno y RSUV.	<b>79</b>
Tabla 27. Cocientes de peligro para diferentes especies expuestas a benzo[ $\alpha$ ]pireno y RSUV.	<b>80</b>
Tabla 27. Cocientes de peligro para diferentes especies expuestas a benzo[ $\alpha$ ]pireno y RSUV.	<b>83</b>
Tabla 29. CL <sub>50</sub> de fluoranteno para diferentes especies obtenidas en el presente trabajo y otros trabajos.	<b>85</b>
Tabla 30. CL <sub>50</sub> para benzo[ $\alpha$ ]pireno para diferentes especies obtenidas en el presente trabajo y otros trabajos.	<b>86</b>
Tabla 31. CL <sub>50</sub> de organismos expuestos a fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno.	<b>93</b>

# CONTENIDO

RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	2
ANTECEDENTES	13
JUSTIFICACIÓN	20
HIPÓTESIS DE TRABAJO	21
OBJETIVOS	22
Objetivo general.	
Objetivos particulares.	
MATERIALES Y MÉTODOS	23
Bioensayos en laboratorio con <i>Artemia franciscana</i> .	
Obtención de metanauplios y adultos.	23
Ensayos de Toxicidad aguda (determinación de la CL <sub>50</sub> )	24
Ensayo Cometa.	26
Bioensayos con radiación solar en el Caribe Mexicano.	30
Obtención de los organismos y aclimatación para los bioensayos.	
Implementación de los bioensayos.	
Evaluación del riesgo ecológico.	45
RESULTADOS	49
DISCUSIÓN	81
CONCLUSIONES	95
RECOMENDACIONES	97
LITERATURA CITADA	98
ANEXOS.	109

## RESUMEN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son un grupo de tóxicos de amplia distribución ambiental, producidos por procesos de combustión incompleta antropogénica, estos compuestos representan un riesgo para los organismos acuáticos debido a su potencial para producir fototoxicidad cuando se exponen a la radiación solar UV. Los arrecifes de coral están localizados en áreas, donde la transparencia de sus aguas permite que la radiación solar UV penetre en la columna de agua y la intensa actividad turística libera HAPs en el sistema. En México el mar Caribe representa un área natural de un valor incalculable en cuanto a su biodiversidad, pero el rápido desarrollo turístico pone en riesgo este ecosistema. En el presente estudio se eligió como área de estudio la laguna Bojorquez-Nichupté y la zona arrecifal de Puerto Morelos Quintana Roo, México, por su gran actividad turística. Se realizaron bioensayos agudos con antraceno benzo[a]pireno y fluoranteno en el laboratorio con *Artemia franciscana* para calcular la CL<sub>50</sub> y bioensayos subletales para evaluar el daño en el ADN, así como bioensayos en presencia de radiación solar probando concentraciones de µg/L a ng/L en organismos arrecifales, entre ellos: *Tozeuma carolinense*, *Strombus gigas*, *Cladonema radiatum*, *Acartia spinata*, *Leander tenuicornis*, *Pachygrapsus gracilis*, *Hippolyte zoostericola*, *Thor mannigi*, *Porites divaricata* y como organismo control *Artemia franciscana*. Se observó que las especies más sensibles a fluoranteno fueron *Tozeuma carolinense* (15.2 µg/L), *Strombus gigas* CL<sub>50</sub> (17.75 µg/L) y *Cladonema radiata* (20.6 µg/L). Las especies más sensibles para benzo[α]pireno fueron las larvas de *Strombus gigas* con una CL<sub>50</sub> de 17.05 ng/L, *Acartia spinata* (1.8 µg/L) y *Porites divaricata* (2.7 µg/L). Los resultados demostraron que la exposición de los organismos marinos del Caribe a la presencia conjunta de HAPs y RSUV puede ser dañina y provocar su muerte. La evaluación de riesgo ecológico por exposición a HAPs disueltos, demostró que en la actualidad no existe riesgo por fototoxicidad en el complejo lagunar Bojorquez-Nichupté y la zona arrecifal de Puerto Morelos, debido a que las concentraciones de HAPs en la columna de agua estuvieron por debajo del límite de detección.

Palabras clave: fototoxicidad, HAPs, Caribe Mexicano, *Artemia franciscana*, arrecifes coralinos.

## ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons are a group of toxins that are widely distributed in the environment. They are produced naturally as well as by and in the incomplete combustion of fossil fuels. These compounds represent a risk for aquatic organisms due to their phototoxic potential when exposed to solar UV radiation. Coral reefs are located in areas where high water transparency allows for the penetration of solar UV radiation whereas intense touristic activities introduce PAHs into the environment. In Mexico, the Caribbean Sea due to its biodiversity is a natural area of immeasurable value however, the rapid development of tourism has put this ecosystem at risk. In this work the Puerto Morelos coral reef lagoon in Quintana Roo, Mexico was chosen as a study area due to its wide spread tourism industry. Acute bioassays with anthracene, benzo[a]pyrene and fluoranthene were run in laboratory-reared *Artemia franciscana* to calculate their LC<sub>50</sub> values and sublethal bioassays were run to evaluate DNA damage. Another series of acute bioassays were run in the presence of solar radiation, testing µg/L to ng/L PAHs concentrations with reef associated organisms like *Tozeuma carolinense*, *Strombus gigas*, *Cladonema radiatum*, *Acartia spinata*, *Leander tenuicornis*, *Pachygrapsus gracilis*, *Thor mannigi*, *Hippolythe zoostericola*, *Porites divaricata* as well as *Artemia franciscana* as the control organism. The most sensitive species to fluoranthene were *Tozeuma carolinense* (LC<sub>50</sub> 15.2 µg/L), *Strombus gigas* (LC<sub>50</sub> 17.75 µg/L) and *Cladonema radiatum* (LC<sub>50</sub> 20.6 µg/L). The most sensitive species to benzo[a]pyrene were *Strombus gigas* larvae with an LC<sub>50</sub> of 17.05 ng/L, *Acartia spinata* (LC<sub>50</sub> 1.8 µg/L) y *Porites divaricata* (LC<sub>50</sub> 2.7 µg/L). Results showed that the exposure of Caribbean coral reef organisms to PAHs and solar UV radiation can be harmful and may result in mortality. The ecological risk assessment of dissolved PAHs showed that at the present time there is no risk due to phototoxicity in the Bojorquez-Nichupte lagoon complex and the coral reef zone of Puerto Morelos, because the concentrations of PAHs in the water column are below the limits of detection.

Keywords: phototoxicity, PAHs, Mexican Caribbean, *Artemia franciscana*, coral reefs.

# INTRODUCCIÓN

En el Caribe mexicano se ubica el segundo sistema arrecifal más grande del mundo, el llamado Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM), que se extiende desde la isla Contoy en el norte de la Península de Yucatán hasta las Islas de Bahía en Honduras (Principios de manejo para las áreas marinas protegidas, 2003). En este ecosistema se han identificado alrededor de 45 especies de corales con asociaciones simbióticas de flora y fauna como son algas, anémonas, esponjas, moluscos, crustáceos, peces y corales blandos. Además el SAM es un recurso invaluable para las comunidades vecinas.

Los arrecifes de coral representan un importante recurso desde el punto de vista económico, pesquero y turístico, se localizan en zonas donde existen complejos hoteleros muy grandes que ofrecen a los visitantes actividades recreativas como el buceo, navegación con veleros, renta de motos acuáticas, pesca deportiva, etc. La conservación de estos ecosistemas es de fundamental importancia por su gran biodiversidad, alta productividad, porque tienen una alta retención de nutrientes, su riqueza y abundancia de especies son comparables a una selva tropical.

Las actividades antropogénicas han liberado al ambiente diversas sustancias tóxicas, entre éstas se han identificado los compuestos conocidos como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). Algunos HAPs exhiben un aumento en su toxicidad cuando el organismo que está en contacto con ellos se expone a la radiación ultravioleta (280 a 400 nm). Esta toxicidad está directamente relacionada con la dosis de HAPs y la intensidad de la radiación ultravioleta (Bowling *et al.*, 1983; Frank *et al.*, 1986; Newsted y Giesy, 1987; Ankley *et al.*, 1994 y 1995). La fototoxicidad solo ocurre si la radiación ultravioleta penetra el agua como es el caso de las áreas superficiales intermareales (Pelletier *et al.*, 1997). Debido al efecto de la toxicidad fotoinducida es importante realizar estudios en zonas donde la penetración de la radiación solar es mayor y donde existe gran actividad de embarcaciones tanto turísticas como pesqueras ya que estas producen y arrojan al ambiente HAPs.

En teoría, el efecto fototóxico de los HAPs puede representar un riesgo para los organismos de latitudes tropicales debido a la mayor penetración de radiación total que reciben anualmente estas áreas debido a una mayor temperatura promedio, que puede influenciar la disociación, solubilidad y estabilidad de estos contaminantes, así como la tasa metabólica de los organismos. Los estudios ecotoxicológicos son importantes porque sirven de base para diseñar acciones preventivas o dar soluciones a los problemas generados por estos compuestos.

# MARCO TEÓRICO

## Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS)

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), también conocidos con el nombre de hidrocarburos aromáticos polinucleares, son un grupo de sustancias de amplia distribución ambiental, producidos por procesos de combustión incompleta o pirólisis de materiales orgánicos (HAPs, pirogénicos) como la quema de carbón, la industria metalúrgica (producción de acero y hierro), la generación de energía y calor y las emisiones de vehículos. Los HAPs pueden formarse lentamente (millones de años) por el rearrreglo y transformación de materiales orgánicos biogénicos a temperaturas moderadas de 100 a 300 °C para formar combustibles fósiles (HAPs, petrógenicos). También pueden formarse a través de procesos relativamente rápidos (días o años), por la transformación de ciertas clases de compuestos orgánicos en suelos y sedimentos (HAPs, diagénicos) y la biosíntesis directa por organismos (HAPs, biogénicos); estos procesos han elevado la concentración de estos compuestos en el ambiente excediendo las fuentes naturales (Fazio y Howard, 1983). Se ha estimado que las descargas globales en el ambiente acuático, tanto de fuentes naturales como de origen antropogénico son de 80,000 a 230,000 toneladas por año.

Estos compuestos están constituidos de carbón e hidrógeno arreglados en forma de dos o más anillos aromáticos fusionados, algunos tienen un anillo ciclopentano y/o heteroátomos, como el nitrógeno o el azufre (Neff, 1979). Entre los HAPs se pueden mencionar el naftaleno, fenantreno, fluoreno, benzo[ $\alpha$ ]antraceno, benzo[ $\alpha$ ]pireno, benzo[ $e$ ]pireno, di-benzo[ $c,d,m$ ]pireno, perileno y coroneno. Los hidrocarburos de importancia ambiental están arreglados de acuerdo a su peso molecular del naftaleno ( $C_{10}H_8$ , PM 128.16) al coroneno ( $C_{24}H_{12}$  PM 300.26). Los HAPs más abundantes son los compuestos de bajo peso molecular y la abundancia tiende a disminuir con el aumento del peso molecular. Los hidrocarburos de alto peso molecular son poco volátiles y poco solubles.

Los HAPs entran al medio acuático y pueden permanecer en la columna de agua o ser rápidamente adsorbidos por la materia orgánica particulada que se sedimenta y así pueden ser asimilados por los organismos bentónicos a través de la ingestión del detritus en el sedimento (Frank *et al.*, 1986). La temperatura y la salinidad tienen efecto en la solubilidad de los hidrocarburos. Esta tiende a disminuir en forma lineal con el aumento de la salinidad. Cada hidrocarburo puede tener una respuesta diferente ante el contenido de sales y pueden ser más solubles en agua dulce que en agua salada.

Debido a que algunos de estos compuestos son carcinogénicos, se ha despertado el interés por entender su comportamiento en el ambiente. Pueden acumularse en la biota acuática y

llegar afectar a los seres humanos. Landrum (1982), planteó que es necesario desarrollar modelos predictivos del comportamiento de los HAPs para conocer su destino en el ambiente. Las rutas de remoción de los hidrocarburos del ambiente acuático incluyen: la volatilización de la superficie del agua (principalmente los de bajo peso molecular), la foto-oxidación, la oxidación química y la transformación biológica por bacterias, hongos y otros organismos. Los mecanismos naturales de transformación oxidativa de estos compuestos requieren oxígeno molecular, radiación solar o ambos, y por ello son bastante estables y persistentes una vez que se incorporan a sedimentos pobres en oxígeno.

La agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA; por sus siglas en inglés) reconoce 129 HAPs como contaminantes prioritarios, de los cuales solo 16 se evalúan con más frecuencia. Algunos de ellos tienen la característica de ser fototóxicos, es decir aumentan su toxicidad debido a los cambios foto-inducidos por la radiación solar o por la presencia de radiación UV. Se reconocen seis HAPs fototóxicos: antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, fluoranteno y pireno. En el presente trabajo se probaron tres de los HAPs fototóxicos: antraceno, benzo(a)pireno y fluoranteno.

El antraceno (tabla 1, fig. 1), es un hidrocarburo de bajo peso molecular de tres anillos. Este se encuentra en los productos del petróleo en grandes concentraciones, es ubicuo en el ambiente acuático, ha sido detectado en efluentes industriales, en agua superficial, en sedimentos, en agua subterránea y en agua potable. Se libera al ambiente por la combustión incompleta, por fuentes naturales y antropogénicas (Irwin *et al.*, 1997).

El benzo[ $\alpha$ ]pireno (BaP) (tabla 1, fig. 1), es un hidrocarburo de alto peso molecular de cinco anillos. La USEPA lo clasifica como un contaminante carcinogénico, es ubicuo en el ambiente, se encuentra en el petróleo y sus derivados; además es un producto de la combustión incompleta. Se reportan grandes concentraciones cerca de la fuente de origen, su presencia en lugares distantes de las fuentes indica que es estable en la atmósfera y capaz de transportarse a grandes distancias. Se ha observado que organismos de laboratorio desarrollan tumores por exposición dérmica o inhalatoria, además causa efectos a nivel endócrino y reproductivo. El BaP es lipofílico cuando los organismos son expuestos a altas concentraciones (Irwin *et al.*, 1997).

El fluoranteno (tabla 1, fig. 1), es un hidrocarburo de alto peso molecular de cuatro anillos. Es catalogado como pro-carcinogénico, es irritante, se libera en el agua y en el aire, es un producto de la combustión de la materia orgánica, está presente en petróleo y sus derivados, se produce por actividades antropogénicas en grandes concentraciones. Cuando es liberado en aire se asocia con la materia orgánica particulada y se bioconcentra en los organismos acuáticos (Irwin *et al.*, 1997).

La toxicidad de la sustancia está en función de diversos factores físicos, químicos y biológicos. Diversas sustancias tienden a acumularse en los tejidos de los organismos (bioconcentración), para calcular la bioconcentración se utilizan algunos índices como el

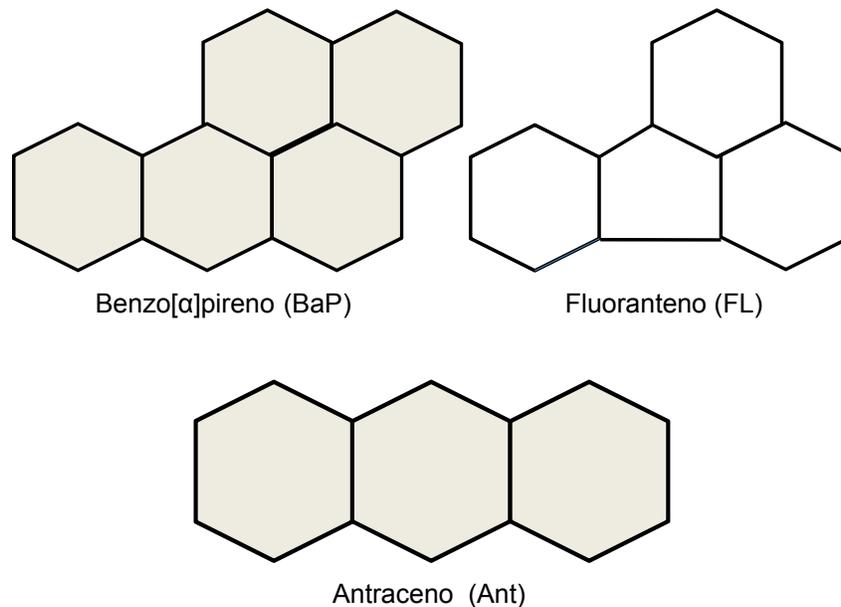
coeficiente de partición n-octanol/agua (Kow) que se determina como el cociente de la solubilidad del tóxico en (n-octanol) entre la solubilidad del mismo en agua.

El logaritmo de Kow, es la medida de la afinidad de la sustancia por los lípidos, ya que el (n-octanol, es una sustancia lipofílica o liposoluble) y es de uso nivel Internacional.

**Tabla 1. Características fisicoquímicas del antraceno, fluoranteno y BaP.**

HAP	Característica	Peso molecular (g/mol)	Solubilidad a 25 °C (mg/L)	Punto de fusión (°C)	Punto de ebullición (°C)	Log. Kow
Antraceno	Fototóxico, procarcinogénico	178.24	0.043-0.075	216-219	340	4.54
Fluoranteno	Fototóxico procarcinogénico	202.26	0.1 + 0.06	107-110	375	4.7-6.5
Benzo[α]pireno	Fototóxico carcinogénico	252.3	0.000172-0.0080	179-179.3	>360 a 760 mmHg	4.05-8.5

Log. Kow: logaritmo del coeficiente de partición n-octanol/agua



**Figura 1. Estructura química de los hidrocarburos aromáticos policíclicos: Benzo[α]pireno (BaP), Fluoranteno (FL) y Antraceno (Ant). Empleados en el presente trabajo.**

El destino del químico, es decir la acumulación y la excreción, así como la acción tóxica o adaptativa se llevan a cabo a nivel celular. Las respuestas celulares demuestran ser herramientas útiles para la detección de la exposición a un químico. Actualmente, las reacciones celulares se han empleado como biomarcadores de exposición. Su uso, sin embargo, es todavía limitado debido que existe un vacío del conocimiento de los mecanismos que intervienen en los cambios celulares inducidos por sustancias tóxicas, así como de las condiciones en que estas modificaciones se convierten en alteraciones a nivel biológico superior.

Se ha demostrado que los HAPs provocan alteraciones y rupturas en la cadena de ADN y también que estos compuestos pueden unirse a esta molécula produciendo aductos. Se ha empleado la electroforesis unicelular también conocida como el ensayo Cometa en estudios de daño y reparación, biomonitorio y toxicología genética por su facilidad de realización (Singh *et al.*, 1988; Mc Kelvey-Martin *et al.*, 1993).

#### *El efecto de la fototoxicidad en los HAPs.*

Los HAPs representan un riesgo para los organismos acuáticos debido a su potencial para producir fototoxicidad. La toxicidad de estos compuestos aumenta varios órdenes de magnitud con la presencia de radiación solar ultravioleta (RSUV) (280 a 400 nm). Esto puede ocurrir como

resultado de las transformaciones estructurales inducidas por la radiación solar. La toxicidad también puede presentarse a través de la fotosensibilización causada por la activación de químicos bioacumulados en los tejidos (Barrón *et al.*, 2000). Así la radiación solar UV puede interactuar directamente con el compuesto en la columna de agua o bien, puede afectar a los organismos que han acumulado los compuestos químicos. Por lo anterior, los hábitats superficiales como las áreas intermareales pueden estar en mayor riesgo de que este fenómeno ocurra (Pelletier *et al.*, 1997).

La naturaleza fotodinámica de los HAPs resulta de su habilidad para absorber la energía de la radiación solar ultravioleta produciendo moléculas excitadas de uno o tres radicales (Oris y Giesy, 1986; Mekenyan *et al.*, 1994). La toxicidad ocurre cuando la radiación solar ultravioleta excita los electrones en los HAPs, fotoactivándolos. La molécula fotoactivada puede transferir la energía al oxígeno molecular, lo que resulta en la formación de radicales libres de oxígeno y especies oxígeno reactivas (aniones superóxidos e hidroxilos) que pueden dañar las membranas biológicas y provocar daño oxidativo en los organismos (Ankley *et al.*, 1995; Monson *et al.*, 1995; Barata *et al.*, 2002). Estos productos oxidantes (radicales libres, oxígeno y nitrógeno reactivo) pueden producir alteraciones en las macromoléculas de las células ya que provocan en los sistemas de defensa antioxidante de la célula, una condición llamada “estrés oxidativo”, que conlleva una toxicidad subsecuente (Pompella, 2001). El efecto fototóxico de los HAPs puede representar un mayor riesgo para los organismos de latitudes tropicales, debido a que estas áreas presentan anualmente mayor penetración de la radiación solar UV total y temperatura promedio. Estas condiciones pueden influenciar la disociación, solubilidad y estabilidad de estos contaminantes, así como las tasas metabólicas de los organismos.

Con relación a la toxicidad fotoinducida en organismos bénticos, se han realizado estudios para demostrar que los HAPs aumentan su toxicidad al ser expuestos a la radiación solar UV. Al respecto, Oris *et al.*, (1984) dieron evidencias de que el antraceno es solo uno de los HAPs que puede causar toxicidad fotointensificada en la mojarra *Lepomis* spp. Así, es necesario definir su impacto, ya que con el uso de combustibles fósiles como fuente de energía se espera que se incremente la carga ambiental de HAPs, junto con el aumento en la intensidad de la radiación UV debida al deterioro de la capa de ozono. (Landrum *et al.*, 1987).

Los HAPs ejercen fototoxicidad aguda en concentraciones tres órdenes de magnitud menores a las que se requieren para la toxicidad aguda en ausencia de radiación solar ultravioleta (Landrum *et al.*, 1987). La fototoxicidad es aparentemente mayor en los HAPs con mayor peso molecular y en los que tienen grupos alquilos. Las concentraciones de HAPs fototóxicos y la penetración de la radiación solar UV son suficientes en los Grandes Lagos (EEUU) para predecir fototoxicidad, especialmente para las larvas de peces y zooplancton que viven cerca de la superficie (Landrum *et al.*, 1987)

Por otro lado se ha determinado que las tasas de fotomodificación de tres HAPs (fluoreno, pireno y naftaleno) son bastante rápidas. Los compuestos formados contribuyen también a la toxicidad siendo más tóxicos los HAPs modificados que los compuestos parentales (Ren *et al.*, 1994).

#### *El uso de Artemia franciscana como un organismo bioindicador.*

El interés principal del género *Artemia* surgió por su empleo como alimento vivo en el cultivo de algunas especies de importancia comercial como camarones y peces. En México se encuentran poblaciones de esta especie, las cuales se han identificado en los siguientes sitios: Baja California: Guerrero Negro, Pichilingue e Isla del Carmen; Sonora: Yavaros; Sinaloa: Bahía de Ceuta; Oaxaca: Salina Cruz; Chiapas: Sistema Lagunario, Laguna del Mar Muerto, La Joya, Buenavista, Los Palos, Solo Dios, Carretas, Pereyras, Chanchuta y Panzacola; San Luis Potosí; Las Salinas y Yucatán: San Crisanto (Castro *et al.*, 1991).

Mediante la utilización de técnicas bioquímicas, se ha podido confirmar la taxonomía establecida por diversos autores. Por lo anterior, se reconocen cuatro especies bisexuales de *Artemia*, las cuales son: *A. franciscana*, *A. monica*, *A. urmiana* y *A. persimilis*.

El género *Artemia* forma parte de los crustáceos braquiópodos, anostráceos caracterizados por estar dotados de apéndices torácicos en forma de hoja, portadores cada uno de una branquia y por la ausencia de un caparazón rígido. Se subdivide en seis especies bisexuales y un gran número de poblaciones partenogenéticas. Las características en común de este género son su adaptabilidad a amplios intervalos de salinidad (5-250 g/L), un corto ciclo de vida, una alta adaptabilidad a condiciones adversas y alta fecundidad. Tienen dos estrategias reproductivas, la bisexual y la partenogenética (con la producción de nauplios o quistes) (Nunes *et al.*, 2006). La *Artemia* es un crustáceo filtrador no selectivo, basa su alimentación en la captura de bacterias (*Halobacterium*, *Halococcus*), algas unicelulares (*Dunaliella salina* y *D. viridis*) y pequeños protozoos y detritos en el medio ambiente en que vive.

En términos generales, su umbral de sobrevivencia es de 6 °C y 35 °C, aunque estos límites no son fijos, y están íntimamente ligados a las características de cada raza, variedad o cepa geográfica (Amat, 1985).

La *Artemia* debido a que es un organismo que se localiza en ambientes acuáticos salinos y marinos, juega un papel importante en la cadena alimenticia. Los huevos o quistes permiten obtener nauplios, que debido a su rápido crecimiento y fácil mantenimiento en el laboratorio (Amat, 1985), permiten tener una población de edad y condición fisiológica estable. Además con los trabajos mencionados anteriormente se demuestra que puede ser usado en bioensayos para

probar diferentes compuestos tóxicos y así evaluar los efectos adversos asociados a esas sustancias.

Por lo tanto, las características intrínsecas de este género lo hacen un organismo conveniente y confiable, en la práctica de la investigación ecotoxicológica (Nunes *et al.*, 2006), y adecuado para ser empleado en pruebas de toxicidad.

### *Importancia del Caribe Mexicano.*

Debido a todo lo anteriormente mencionado, es importante realizar estudios en zonas donde la penetración de la radiación solar es mayor y donde existe gran actividad de embarcaciones tanto turísticas como pesqueras, ya que éstas producen al quemar el combustible HAPs y los arrojan al ambiente. Un ejemplo de este tipo de zonas es el Caribe Mexicano.

En el Caribe mexicano se ubica el segundo sistema arrecifal más grande del mundo: el Sistema Arrecifal Mesoamericano, que comienza en la Península de Yucatán y termina en el Golfo de Honduras. En este ecosistema se han identificado alrededor de 45 especies de corales con asociaciones simbióticas de flora y fauna como son algas, anémonas, esponjas, moluscos, crustáceos, peces y corales blandos.

Los arrecifes de coral representan un importante recurso desde el punto de vista económico, pesquero y turístico, se localizan en zonas donde existen complejos hoteleros muy grandes que ofrecen a los visitantes actividades recreativas como el buceo, navegación con veleros, renta de motos acuáticas, pesca deportiva, etc. La conservación de estos ecosistemas es de fundamental importancia por su gran biodiversidad y alta productividad, porque tienen una alta retención de nutrientes, y una riqueza y abundancia de especies que los hacen comparables a una selva tropical.

Esta área por lo tanto se encuentra sujeta a las presiones ambientales propias del desarrollo urbano y las producidas por el uso de este ecosistema para diversas actividades recreativas. Se generan sustancias que son arrojadas al ambiente, así como la quema de combustibles fósiles que producen HAPs que podrían poner en riesgo a este hábitat. Debido a la importancia de este ecosistema, como en virtud de la inminente alteración que el Caribe Mexicano y en particular de la zona conocida como la "Riviera Maya", donde se incluye la zona de estudio, se realizó esta investigación para evaluar una de las muchas sustancias que pueden ponerlo en riesgo.

La caracterización química no es suficiente para evaluar el impacto biológico y para establecer medidas de protección al ambiente, es necesario reforzar estos análisis con la evaluación toxicológica. En la actualidad se realizan además de los análisis físicos y químicos, pruebas biológicas conocidas como bioensayos. Estos se definen de manera general de acuerdo con:

- Su duración: corto, mediano o largo plazo.
- El método usado para incorporar la muestra al sistema de ensayo: estático, con renovación, de flujo continuo.
- El propósito para el cual son utilizados: control de calidad de vertidos, evaluación de compuestos específicos, toxicidad relativa, sensibilidad relativa, etc. (Ronco *et al.*, 2004).

Los bioensayos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba bajo condiciones experimentales específicas y controladas. Entre los efectos que se evalúan con los bioensayos se incluyen la muerte, el crecimiento, la proliferación y los cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos (Ronco *et al.*, 2004).

Por lo anterior, se determinó realizar bioensayos que nos permiten evaluar las condiciones ambientales y proponer los requerimientos de la calidad del agua que garanticen condiciones adecuadas para la vida acuática. Con los bioensayos se puede evaluar los efectos de la acción conjunta de los HAPs con la radiación solar con especies de la zona de estudio.

#### *Evaluación de riesgo ecológico (ERE).*

La evaluación de riesgo ecológico es un procedimiento científico útil en la toma de decisiones en materia ambiental, que evalúa y asigna probabilidades a los posibles efectos de las actividades humanas sobre el medio ambiente (Chapman, 2006). El objetivo de la evaluación de riesgo ecológico (ERE) es predecir las consecuencias de las diversas actividades antropogénicas en los ecosistemas.

La evaluación de riesgo ecológico se define como un proceso que evalúa la probabilidad de los efectos ecológicos adversos que pueden ocurrir o están ocurriendo como resultado de la exposición a uno o más estresores (USEPA, 1992), es decir identifica las interacciones de los múltiples estresores en el sistema y de los procesos que influyen sobre sus componentes. Además ayuda, a identificar problemas ambientales, establecer prioridades y proporciona una base científica para acciones regulatorias o la instrumentación de programas de restauración.

En los últimos años la ERE se ha convertido en una herramienta útil para desarrollar programas de protección ambiental, pues sirve para apoyar la toma de decisiones para el manejo del ambiente (Evans *et al.*, 2003). La ERE contribuye al desarrollo de criterios de calidad de agua, criterios de calidad de sedimento y uso de análisis de alcances. El proceso se aplica para evaluar los riesgos asociados a las actividades antropogénicas.

Como parte de la ERE, se desarrollan los modelos conceptuales que resumen los resultados de la formulación del problema, etapa de la evaluación en la que se examinan los factores causantes de estrés ambiental y los posibles efectos ecológicos, así como las

características del ecosistema en riesgo (Evans *et al.*, 2003). Los causantes del estrés y los efectos servirán de guía para la fase analítica de la evaluación de riesgo, en la que se elabora la descripción del sitio, se seleccionan los indicadores apropiados y se desarrollan las hipótesis que tratarán de ser demostradas a lo largo de la evaluación.

El modelo conceptual es una descripción gráfica o verbal del escenario de evaluación, incluye la descripción de la fuente de contaminación, del medio ambiente aledaño y de los procesos por los cuáles los receptores pueden estar expuestos directa o indirectamente a los contaminantes.

En el presente trabajo se propuso una evaluación de riesgo ecológico a través del método del cociente de peligro, en un sitio donde se sabe que las embarcaciones de transporte y recreativas requieren de combustibles de origen fósil, que al ser quemados se disponen en el ambiente hidrocarburos aromáticos policíclicos. El fluoranteno, el benzo[ $\alpha$ ]pireno y el antraceno son los hidrocarburos más abundantes producidos por la quema de combustibles, y pueden representar un riesgo para los organismos acuáticos debido a su potencial para producir fototoxicidad en presencia de radiación solar ultravioleta (UV). Es por ello que se seleccionaron como sustancias de interés potencial para este estudio.

Los organismos de ambientes arrecifales superficiales están expuestos a altos niveles de radiación UV y no existe información de la acción conjunta de los HAPs y la radiación UV sobre la biota arrecifal de México, es por ello que los organismos de estos sistemas se seleccionaron como adecuados para esta evaluación de riesgo.

La agencia de de protección de Estados Unidos (USEPA, por sus siglas en inglés) reconoce tres pasos generales para evaluar el riesgo ecológico (USEPA, 1998):

- Formulación del problema.
- Análisis.
- Caracterización del riesgo.

#### *Formulación del problema.*

En esta fase se define el problema del sitio a evaluar y el objetivo de la evaluación. Se realiza una búsqueda de información del sitio de estudio que comprende: fuentes de contaminación, tipos de receptores, tipos de contaminantes presentes y sus concentraciones en los diferentes medios. El producto final en esta etapa, es un modelo conceptual que identifica los valores ambientales a ser protegidos y las rutas de exposición (USEPA, 1998).

Para la caracterización ambiental es necesaria la búsqueda de información acerca del sitio (ubicación, fuentes de contaminación), así como el muestreo y el análisis de los medios afectados para poder conocer los contaminantes presentes y sus concentraciones. Por lo tanto es necesario

también establecer con toda la información, cuáles son los medios afectados, las rutas de exposición de los contaminantes, los tipos de receptores y la vías de exposición para cada receptor, obteniendo un modelo conceptual, el cual es una representación gráfica de lo descrito anteriormente.

#### *Análisis (caracterización de la exposición y caracterización de los efectos ecológicos).*

En esta etapa se recaba información de aspectos relacionados con la exposición ambiental y características relacionadas con el contaminante y su respuesta. Con respecto a la exposición se indica cómo puede ocurrir la exposición de los receptores a los contaminantes y en que magnitud así como los aspectos relacionados con el contaminante y su respuesta indican los potenciales efectos ecológicos que pueden esperarse si ocurre la exposición.

Para la caracterización de los efectos es recomendable obtener concentraciones o dosis toxicológicas propias de las especies del sitio de estudio, por medio de experimentos que relacionen las diferentes dosis con el o los efectos adversos, para así encontrar la dosis o concentración en la que no se presentan efectos.

#### *Caracterización del riesgo.*

En esta última etapa se relacionan la caracterización de los efectos y la exposición. El riesgo puede estimarse de una manera cuantitativa o cualitativa, dependiendo de la información con la que se cuente.

Para caracterizar el riesgo ecológico se empleó el método del cociente de peligrosidad (USEPA 1998). Que consiste en comparar exposiciones puntuales y estimaciones de los efectos, mediante a la aplicación del cociente de peligro (CP). Este cociente se expresó como la división de la concentración o dosis de exposición, dividida entre una dosis de referencia llamada valor toxicológico de referencia (USEPA, 1998).

En México existen diferentes leyes encargadas y normas oficiales mexicanas (NOM) de sitios contaminados o de sitios remediados, que establecen límites máximos permisibles para el ambiente pero no existen muchos trabajos acerca de las concentraciones máximas permisibles adecuadas a los ecosistemas mexicanos y mucho menos lo relacionado a evaluaciones de riesgo ecológico. En la Guía técnica para orientar la elaboración de estudios de evaluación de riesgo ambiental de sitios contaminados, se explica que los estudios de riesgo ambiental tienen como objetivo definir si la contaminación existente en un sitio representa un riesgo tanto para el medio ambiente como para la salud humana, así como los niveles de remediación específicos del sitio en función del riesgo aceptable. En esta guía se explican los diferentes niveles en la evaluación de

riesgo ecológico. En el presente trabajo se realiza una evaluación nivel 1, la cual se elabora cuando se trata de áreas naturales protegidas o áreas no urbanas con actividad agropecuaria (agrícola/ ganadera/piscícola), donde los posibles receptores de la contaminación puedan ser:

- Especies de uso o valor económico.
- Especies protegidas.
- Ecosistemas valiosos.

y no existe la información toxicológica necesaria para realizar la evaluación de riesgo ecológico (Ruíz, 2006).

## ANTECEDENTES

### **Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS).**

La investigación de los HAPs se ha dirigido a cuantificar su contenido en suelo y sedimentos (Blumer y Youngblood, 1975; Brannon, *et al.*, 1993), determinar el contenido de hidrocarburos en alimentos (Fazio y Howard, 1983), el desarrollo de técnicas para cuantificar e identificar su presencia (Landrum *et al.*, 1984), evaluar su entrada a sistemas acuáticos, depuración, biotransformación, biodisponibilidad y toxicocinética asociados a sedimentos (Eadie *et al.*, 1982; Landrum, 1982; Frank, *et al.*, 1986; Landrum, 1988; Landrum, 1989 y Oikari y Kukkonen, 1990), entre otros.

En México, los estudios sobre hidrocarburos se han enfocado a investigar los mecanismos de degradación de hidrocarburos saturados o parafinas y de HAPs (Lee, 1977; Oppenheimer, 1980), la eliminación o metabolismo por organismos marinos (Gould y Koons, 1980), la interacción con otros factores tales como salinidad, pH, materiales suspendidos y temperatura (Baker, 1980); los efectos en la sobrevivencia de organismos marinos, crustáceos, poliquetos, equinodermos, corales y una amplia variedad de invertebrados de agua dulce (Botello *et al.*, 2005).

#### *El efecto de la fototoxicidad de los HAPs.*

Boese *et al.* (1997) confirmaron que la exposición a la radiación UV intensifica la toxicidad del fluoranteno en cinco especies bentónicas (*Rhepoxynius abronius*, *Eohaustorius estuaris*, *Leptocheirus plumulosus*, *Grandidierella japonica* y *Corophium insidiosum*). Las especies que de manera natural están expuestas a la radiación solar (*Excireolana vancouverensis* y *Emerita analoga*) fueron menos sensibles; así concluyeron que la sensibilidad al fluoranteno de los organismos de prueba está inversamente relacionada con la exposición potencial a la radiación solar en la naturaleza, y que los organismos tienen mecanismos de protección contra el efecto directo de la radiación UV, estos tienen pigmentos que reflejan o absorben la radiación UV permitiendo que entren en acción los mecanismos de reparación del ADN.

Oris *et al.* (1998) realizaron dos experimentos en el Lago Tahoe para valorar el impacto de las emisiones de embarcaciones sobre el zooplankton y larvas de peces. El agua se colectó diariamente de lugares cercanos y otros lejanos a la orilla en sitios que representaban áreas de alta y baja actividad de lanchas. Entonces realizaron pruebas de toxicidad con el agua colectada de los diferentes sitios empleando *Ceriodaphnia dubia* y larvas de peces (*Pimephales promelas*). El análisis químico reveló una buena correlación entre el pico de actividad de las embarcaciones y las

concentraciones en el lago (rango de 5-70 ng HAPs/L). Los autores concluyeron que los materiales fototóxicos están presentes en el lago Tahoe en niveles suficientes para observar impactos negativos sobre el crecimiento de los peces y sobre la sobrevivencia y reproducción del zooplancton; demostrando así que los HAPs representan un riesgo ecológico, aún cuando sus concentraciones en agua sean del orden de los ng/L.

Existe poco conocimiento sobre el impacto combinado de los hidrocarburos y la RSUV sobre organismos arrecifales. A la fecha existe un trabajo realizado en la bahía de Kaneohe en la Isla de Oahu, Hawaií, realizado por Peachey y Crosby (1996). En este estudio se efectuaron pruebas de toxicidad en el laboratorio y en el exterior con nauplios de *Artemia salina*, *Callispongia diffusa*, plánulas de *Fungia scutatia*, *Montipora verrucosa*, *Pocillopora damicornis* y *Porites compressa*, el zoosantido *Zoanthus pacificus*, el poliqueto *Platynereis dumeralii*, el camarón *Alpheopsis* sp., el anfípodo *Amphilocus likelike*, el gasterópodo *Bittum parum* y juveniles de peces *Chanos chanos*. Los resultados demostraron que el antraceno y el pireno eran fototóxicos para la mayoría de las especies de prueba, aunque no eran tóxicos en la oscuridad; también se demostró que los organismos translúcidos o de coloración clara eran más sensibles que los que tenían coloración oscura. Así concluyeron que la bioacumulación de los hidrocarburos y la absorción de la radiación UV son necesarios para que la fototoxicidad ocurra, demostraron que esta toxicidad es dependiente de la concentración del hidrocarburo, de la intensidad y de la longitud de onda de la radiación UV. Así, el petróleo disuelto o compuestos como los HAPs, pueden ser peligrosos para la biota de aguas superficiales que están expuestas a la RSUV.

Diversos agentes físicos como la radiación solar, rayos X, y una gran variedad de sustancias químicas pueden dañar la cadena de ADN en las células de los organismos. Si estas lesiones en la moléculas de ADN no son reparadas pueden iniciar una cadena de consecuencias biológicas a todos los niveles del organismo (celular, órganos y tejidos) y finalmente a nivel de la población y la comunidad (Lee y Steinert 2003). Por este motivo es necesario desarrollar métodos sensibles y seguros para evaluar el impacto de estos compuestos a nivel celular y prevenir así los efectos a niveles superiores (Mitchelmore *et al.*, 1998).

Los HAPs y la intensidad de la radiación ultravioleta producen fototoxicidad (Bowling *et al.*, 1983; Frank *et al.*, 1986; Newsted y Giesy, 1987; Ankley *et al.*, 1994 y 1995; Monson *et al.*, 1995). Así, el mecanismo involucrado para producir daño implica la fotoionización del compuesto aromático produciendo un radical catión. Este puede unirse directamente a la cadena de ADN, dañándola, o pueden producirse especies de oxígeno reactivas (ROS) que pueden dañar el ADN al unirse a éste.

Se han desarrollado diferentes métodos para detectar daño en la cadena de ADN como el ensayo de micronúcleos, el cual se basa en detectar fragmentos de cromosomas produciendo hebras de ADN las cuales no se reincorporan al núcleo hijo y se transforman en núcleos o

miconúcleos. En el ensayo de intercambio de cromátidas hermanas hay una evaluación del intercambio de fragmentos de cromosoma entre hermanas después de la formación de hebras en el ADN. Uno de los primeros métodos para medir el rompimiento de la cadena de ADN empleado para animales acuáticos es la desnaturalización en condiciones alcalinas determinado por la incorporación de un colorante fluorescente en la doble cadena de ADN.

El método empleado más reciente es el llamado electroforesis en gel de células individuales (single cell gel electrophoresis) o ensayo cometa. Esta técnica detecta rompimientos de las hebras del ADN y sitios alkali lábiles midiendo la migración del ADN de núcleos inmovilizados en un gel. El ensayo cometa ha sido ampliamente usado en estudios con mamíferos incluyendo el hombre, por sus ventajas sobre otros métodos citogenéticos (bajo costo, rapidez, simplicidad de método, número pequeño de células <10,000) y se ha demostrado que está técnica es un buen biomarcador de daño de la cadena de ADN (Singh *et al.*, 1988; McKelvey-Martin *et al.*, 1993; Fairbairn *et al.*, 1995). Esta técnica se ha empleado en organismos acuáticos, principalmente en moluscos como ostras, mejillones, ostiones y en crustáceos; por ejemplo se ha evaluado el daño en embriones del cangrejo azul *Callinectes sapidus*, y del camarón de pastos *Palaemonetes pugio* (Steinert *et al.*, 1998; Mitchelmore *et al.*, 1998; Wilson *et al.*, 1998; Lee y Kim, 2002; Pruski y Dixon 2002; Hook y Lee 2004, Lee y Steinert, 2003; Lee, 2004).

Después de una amplia búsqueda bibliográfica no se encontraron publicaciones donde se aplique el ensayo cometa con ninguna especie del género *Artemia* como organismo experimental.

#### *El uso de Artemia franciscana como un organismo bioindicador.*

Los diferentes estadios del ciclo de vida del género *Artemia* se han empleado en diversos estudios toxicológicos que incluyen la evaluación de la calidad de agua en el Golfo Thermaikos, el Golfo Pagassitikos y la isla Skiathos en el Norte del Mar Egeo en Grecia; la calidad del agua (agua marina y de agua dulce) con *A. franciscana* se evaluó en Magnesia, Grecia (Podimata, Koutseris y Tsiropoulos, 2004; Kungolos *et al.*, 2003). Se probó la toxicidad de extractos algales solubles en agua como aldehídos 2E,4 E-decadienal, decanal, undecanal y el ácido graso eicosapentanoico, sobre el éxito reproductivo y el crecimiento larval de *Artemia salina* (Caldwell *et al.*, 2003). Se evaluó en el experimento "Biostack" a bordo del Apolo 16 (Ruther W, *et al.*, 1974; Graul, *et al.*, 1975). Bucker y Horneck, (1975) utilizaron *A. salina* para evaluar la respuesta de las partículas de alta energía (HZE por sus siglas en inglés) de radiación cósmica durante el vuelo espacial del Apolo 16 y 17 y se observó la muerte de los organismos en los diferentes estadios de desarrollo así como malformaciones en el abdomen y en las extremidades de los nauplios al ser expuestas a estas partículas. Jiménez *et al.*, (2006), observaron las respuestas letales a diferentes metales como níquel y zinc. Se han realizado bioensayos con *A. franciscana* para probar la actividad de

insecticidas como compuestos de cianohidrininas y monoterpenoides. También se ha utilizado *A. franciscana* para evaluar fungicidas (Guida, Inglese y Meric, 2008; Peterson, *et al.*, 2000) así como en la evaluación de la toxicidad y bioacumulación de compuestos organotinicos (Kungolos *et al.*, 2001). Se han evaluado los efectos del espectro de la radiación sobre la toxicidad fotoinducida de tres hidrocarburos aromáticos (Diamond *et al.* 2000). La utilidad de *A. franciscana* para pruebas de toxicidad estándar es tal que, la empresa MicroBioTests vende un kit para realizar pruebas de toxicidad aguda con *A. franciscana* que permite evaluar la toxicidad de diferentes matrices como agua y sedimento.

En México existe un proyecto para usar esta especie en la evaluación de la toxicidad aguda para cuerpos de aguas salobres y marina así como en aguas residuales industriales, municipales y agrícolas, lixiviados, sustancias puras o combinadas y extractos acuosos con salinidades mayores a 10 g/L (Norma mexicana NMX-AA110-1995-SCFI análisis de agua. evaluación de toxicidad aguda con *A. franciscana* Kellogs (crustacea-anostraca). Método de prueba.

#### *Estudios de fototoxicidad en el Caribe Mexicano.*

Para el Caribe Mexicano existe solo un estudio sobre los efectos fototóxicos de los HAPs en la laguna arrecifal de Puerto Morelos, Quintana Roo, México, el cual fue resultado del presente trabajo, en este se observaron los efectos de la relación conjunta de la radiación solar UV y el hidrocarburo aromático policíclico, fluoranteno empleando el coral *Porites divaricata*, el cual se expuso a diferentes concentraciones nominales de fluoranteno, se observó que los simbioses fotosintéticos del coral disminuyeron su eficiencia fotoquímica conforme a incrementos en la concentración de fluoranteno así que en la mayor concentración 60 µg/L se observó una disminución significativa de esta hasta causar mortalidad. Sin embargo en la misma concentración pero sin radiación UV los organismos no murieron aunque si hubo corales blanqueados. Los resultados de este trabajo demostraron que la fototoxicidad de los HAPs constituyen un factor de estrés que necesita estudiarse con más detalle en los ecosistemas arrecifales (Guzmán-Martínez *et al.* 2007).

#### *Estudios de evaluación de riesgo ecológico.*

En la actualidad no existe ningún estudio de riesgo ecológico para el Caribe Mexicano ni para la evaluación de riesgo por fototoxicidad.

## AREA DE ESTUDIO

Se seleccionaron dos zonas para el estudio de campo: a) la zona arrecifal de Puerto Morelos, Quintana Roo, la cual forma parte de la barrera arrecifal denominada “El Gran Cinturón de Arrecifes del Atlántico Occidental” considerada como la segunda barrera arrecifal más grande del mundo y b) el complejo lagunar Bojorquez-Nichupté (Fig. 2).

### *Zona arrecifal de Puerto Morelos, Q.R.*

Las principales formaciones arrecifales se desarrollan en el suroeste de la plataforma insular, formando parte del Sistema Arrecifal Mesoamericano, el cual se inicia en la Península de Yucatán y termina en el Golfo de Honduras. La laguna arrecifal de Puerto Morelos forma parte del Mar Caribe, se extiende al norte hasta la colindancia con el parque nacional Costa Occidental de Isla Mujeres, Punta Cancún y Punta Nizuc, abarcando la laguna arrecifal, que se sitúa entre la playa y las formaciones de coral, la propia barrera de arrecife coralino y la parte marina al este de la misma, hasta una profundidad aproximada de 35 metros.

Se ubica a una latitud de 21° 00'00" y 20° 48'33" Norte y una longitud de 86° 53' 14.4" y 86° 46' 38.94" Oeste, a 35 kilómetros al sur de la Ciudad de Cancún, Quintana Roo. Tiene una anchura de entre 550 y 1500 m, una profundidad promedio de 3 m (Merino y Otero, 1991) y una extensión aproximada de 9066 hectáreas (INE-SEMARNAP, 2000).

### *Complejo lagunar Bojorquez-Nichupté, Q. R.*

El complejo lagunar Bojorquez-Nichupté está ubicado entre los 86° 46' y 86° 50' de longitud oeste y los 21° 02' a los 21° 06' de latitud norte. El sistema comprende principalmente las lagunas Bojorquez esta se comunica con la Cuenca norte por dos canales, ubicados en su margen occidental (Canal Norte y Canal Sur) (González *et al.*, 1992) y Nichupté. Además existen otras dos lagunas más pequeñas (Somosaya y río Inglés), las cuales se caracterizan por sus numerosos cenotes sumergidos, estos aportan cantidades considerables de agua dulce al sistema.

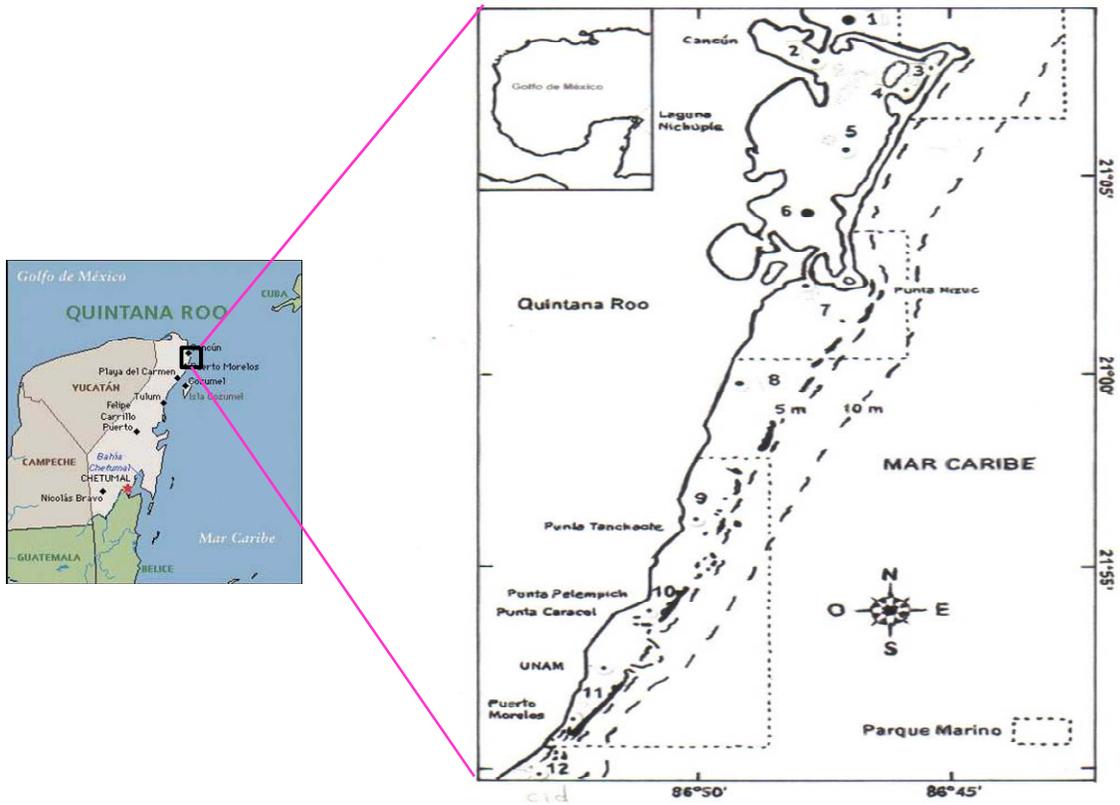


Figura 2. Ubicación geográfica de la zona de estudio: a) zona arrecifal de Puerto Morelos y b) complejo lagunar Bojorquez-Nichupte, en Quintana Roo.

## **JUSTIFICACIÓN**

Debido al aumento de sustancias de origen antropogénico que son liberadas al ambiente, es necesario realizar investigaciones de los efectos de los contaminantes como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) para construir una base de datos para los corales y organismos asociados a este tipo de ambientes y así poder establecer normas y regulaciones que protejan estos ecosistemas.

En México no existen estudios sobre los efectos fototóxicos de los HAPs en ambientes tropicales ni evaluaciones de riesgo ecológico, por lo que en este trabajo se evalúo la fototoxicidad y el riesgo ecológico en el Caribe Mexicano. Los resultados pudieran hacer necesario legislar las embarcaciones que generan los hidrocarburos aromáticos policíclicos para controlar las concentraciones en el ambiente.

## **HIPÓTESIS**

Los organismos presentes en la zona arrecifal de Puerto Morelos y el complejo lagunar Bojorquez-Nichupté expuestos al antraceno, el benzo[ $\alpha$ ]pireno y el fluoranteno en presencia de radiación solar UV, presentarán efectos de fototoxicidad (daño al ADN y mortalidad), y si los niveles ambientales son suficientes, entonces estos ecosistemas podrían estar en riesgo.

## OBJETIVOS.

### Objetivo general.

- Evaluar el efecto fototóxico y el riesgo ecológico de los hidrocarburos aromáticos policíclicos: antraceno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y fluoranteno utilizando como organismos indicadores a *Artemia* (*Artemia franciscana*) y diversos organismos de la zona arrecifal de Puerto Morelos y del complejo lagunar Bojorquez-Nichupte en Quintana Roo, bajo condiciones de laboratorio.

### Objetivos particulares.

- Evaluar la toxicidad letal media (CL<sub>50</sub>) de los hidrocarburos aromáticos policíclicos antraceno, fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno mediante el uso de radiación ultravioleta artificial (RUVA) en metanauplios y adultos de *Artemia franciscana*.
- Evaluar los efectos subletales de la toxicidad fotoinducida de los hidrocarburos aromáticos policíclicos antraceno, fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno a través de la cuantificación del daño en el ácido desoxirribonucleico (ADN) empleando el ensayo Cometa.
- Evaluar la toxicidad letal media (CL<sub>50</sub>) de los hidrocarburos aromáticos policíclicos antraceno, fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno en organismos asociados a la zona arrecifal de Puerto Morelos y complejo lagunae Bojorquez-Nichupté, Quintana Roo, México, en presencia de radiación solar ultravioleta.
- Analizar el riesgo ecológico por fototoxicidad en el zona arrecifal de Puerto Morelos y el complejo lagunar Bojorquez-Nichupte Quintana Roo, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### Bioensayos con *Artemia franciscana*.

#### *Obtención de metanauplios y adultos de Artemia franciscana.*

Para la obtención de los metanauplios se utilizaron quistes (0.5 g) de *Artemia franciscana* (Salt Creek, Salt Lake City, USA), se hidrataron con agua dulce en un vaso de precipitado de 50 ml (Pyrex) por 30 minutos. Posteriormente los quistes se remojaron en una solución 1:4 de cloro (Cloralex), mientras se agitaron con una palita en la solución de cloro; después se transfirieron a un tamiz con una malla de 50 micras, donde se lavaron con agua corriente hasta que se perdió el olor a cloro. En seguida se vaciaron a un embudo de 600 ml de capacidad y se agregaron 500 ml de agua marina artificial (Coral Life, Carson Calif.) con una salinidad de  $35 \pm 1$  g/L y se aplicó aireación continua, moderada y radiación. Después de 24 horas se obtuvo la eclosión máxima y se les suministró alimento para alevines (Wardley, small fry premium). Los nauplios se colectaron a las 48 horas de nacidos para su uso en los bioensayos. En la tabla 2 se resumen las condiciones de eclosión para *A. franciscana*, las cuales también son las especificadas en (Norma oficial mexicana NOM, proyecto de norma).

**Tabla 2. Condiciones de eclosión de quistes de *A. franciscana*. (NOM, Evaluación de toxicidad aguda con *Artemia franciscana* (Kellogg, 1906 Crustacea-Anostraca) – Método de prueba).**

Parámetros	Condiciones
Temperatura	$27 \pm 3$ °C
Salinidad	34 a 36 g/L
Oxígeno disuelto	No menor al 80% de saturación
pH	$8.5 \pm 0.5$

Los adultos de *Artemia* se compraron en el mercado de animales Emilio Carranza. De acuerdo con el proveedor los organismos provienen de una salina en Mérida, Yucatán, donde fueron embolsados en una atmósfera saturada de oxígeno y transportados en avión a la Cd. de México. Una vez en el laboratorio, estos organismos fueron transferidos a un acuario de diez litros de capacidad con agua marina artificial (Coral Life, Carson Calif.) con una salinidad de  $35 \pm 1$  g/L, donde estuvieron en aclimatación por una semana, antes de ser usados para los bioensayos. En la tabla 3 se muestran las condiciones de cultivo para juveniles y adultos de *A. franciscana*.

**Tabla 3. Condiciones de cultivo para juveniles y adultos de *A. franciscana*.**

<b>Parámetros</b>	<b>Condiciones</b>
Temperatura	27 ± 3 °C
Salinidad	34 ± 2 0/00
fotoperiodo	12:12 hrs radiación/oscuridad

*Ensayo de toxicidad aguda con metanauplios de A. franciscana.*

Para determinar el efecto de fluoranteno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno sobre los metanauplios de *A. franciscana* se realizaron pruebas de toxicidad estáticas en presencia de radiación UV artificial. Cada experimento se trabajó por cuadruplicado en placas de cultivo de tejidos (Nunc multidish) con pozos de 2 ml de capacidad; en cada pozo se colocaron de 20 a 40 organismos (metanauplios) en agua marina artificial (Coral Life, Carson Calif.) a 34 ± 2 g/L.

El fluoranteno, el benzo[ $\alpha$ ]pireno y el antraceno (grado HPLC, Sigma USA) se disolvieron en acetona (HPLC, J.T. Baker) para preparar una solución madre de cada hidrocarburo, con la cual se prepararon las diferentes diluciones. Se realizaron bioensayos presuntivos para determinar las concentraciones que se iban a probar en las pruebas de toxicidad de 48 horas. Se probaron las siguientes concentraciones nominales: para fluoranteno 24, 72, 120 y 216  $\mu\text{g/L}$ , para benzo[ $\alpha$ ]pireno 66, 198, 330 y 396  $\mu\text{g/L}$  y para antraceno 320, 640, 960, 1280  $\mu\text{g/L}$ .

Cuatro pozos de la caja se emplearon para el grupo control con acetona, (10  $\mu\text{l}$  de solvente). Otra fila de 4 pozos se usó para el grupo control de manipulación el cual solo contenía agua marina artificial (Coral Life, Carson Calif.). Una vez adicionado el hidrocarburo correspondiente, las placas de cultivo se transfirieron a la cámara de experimentación, la cual es una caja sellada (60 x 80 x 40 cm) con dos lámparas de radiación blanca (Vitalite, Duro de México de amplio espectro) las cuales tienen el 91% de la distribución espectral de la radiación natural (Ozaki y Wurtman, 1979) estas se encuentran montadas en el techo de la cámara a una distancia de 34 cm. El periodo de exposición al contaminante fue de 48 horas con un fotoperiodo de 12:12 (radiación: oscuridad), la temperatura se mantuvo entre 28 ± 3 °C. Al término de las 48 horas se registró la mortalidad con la ayuda de un microscopio estereoscópico (Zeiss). El criterio para aceptar los resultados de las pruebas fue que la mortalidad de los controles no excediera el 10 %. Se evaluó la mortalidad de los organismos considerando muertos aquellos que no se movían al ser tocados con una aguja.

#### *Determinación de la CL<sub>50</sub>.*

Para la determinación de la CL<sub>50-48h</sub> para los metanauplios de *A. franciscana* se empleó el programa multi—method LC50 program el cual determina la CL<sub>50-48h</sub> mediante el modelo probit.

#### *Toxicidad aguda con adultos de Artemia.*

Para establecer el efecto de fluoranteno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno sobre los adultos de *A. franciscana* se realizaron pruebas de toxicidad estáticas, en presencia de radiación UV artificial. Cada lote experimental se trabajó por triplicado en frascos de 100 ml de capacidad en los que se expusieron de 16 a 18 organismos. Las diferentes diluciones se realizaron a partir de la solución madre como se explicó en la sección anterior. Para antraceno se probaron 5 concentraciones: 320, 960, 1920, 4800 y 8000  $\mu\text{g/L}$ , para fluoranteno se probaron 4 concentraciones: 24, 72, 120 y 216  $\mu\text{g/L}$ , y para el benzo[ $\alpha$ ]pireno también se probaron cuatro concentraciones: 66, 198, 330 y 528  $\mu\text{g/L}$ ; en todos los casos se incluyeron dos tratamientos control uno con solvente (acetona) y el otro de manipulación (solo con agua marina artificial). Los frascos se transfirieron a la cámara de experimentación anteriormente descrita. La exposición al contaminante tuvo una duración de 48 horas con un fotoperiodo de 12:12 (horas de radiación: oscuridad), la temperatura se mantuvo entre  $28 \pm 3$  °C. Después de las 48 horas se evaluó la mortalidad de los organismos considerando muertos aquellos que no se movían al ser tocados con una aguja.

#### *Determinación de la CL<sub>50</sub>.*

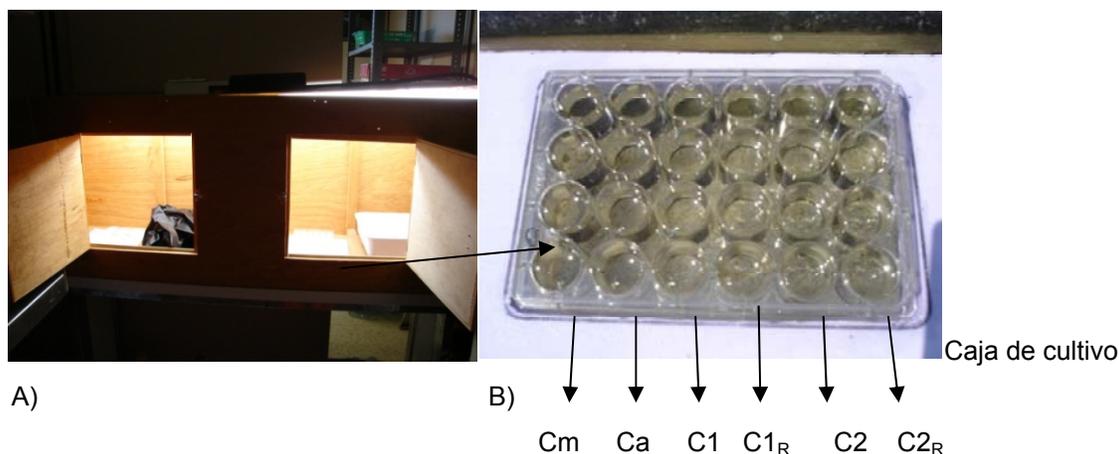
Para la determinación de la CL<sub>50-48h</sub> en los adultos de *A. franciscana*, se empleó el programa Multi—Method LC50 program el cual determina la CL<sub>50-48h</sub> mediante el modelo probit.

*Evaluación de los efectos subletales empleando el ensayo cometa en metanauplios de A. franciscana.*

Para establecer el efecto subletal del fluoranteno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno sobre los metanauplios de *A. franciscana* se realizaron pruebas de toxicidad estática en presencia de radiación UV artificial.

Se obtuvieron metanauplios de *A. franciscana* de la manera descrita anteriormente. Los bioensayos se realizaron en placas de cultivo de tejidos (Nunc multidish). Se formaron dos lotes de 8 pozos de 2 ml en los que se colocaron 100 organismos en cada pozo, estos fueron expuestos a las siguientes concentraciones nominales: 24 y 48  $\mu\text{g/L}$  para fluoranteno, para benzo[ $\alpha$ ]pireno 4.8 y 9.6  $\mu\text{g/L}$  y para antraceno 82 y 820  $\mu\text{g/L}$ . Las concentraciones probadas se eligieron, por los resultados obtenidos en las pruebas de toxicidad aguda. Se tomaron dos concentraciones por debajo de la  $CL_{50}$  donde los organismos no se murieron por la exposición a cada hidrocarburo.

Para cada hidrocarburo se preparó un control de manipulación (4 pozos) con agua marina artificial y un control de solvente con acetona (4 pozos). Las placas de cultivo se transfirieron a la cámara de experimentación, (Fig. 3) donde permanecieron por 24 horas con un fotoperiodo de 12:12 (horas de radiación: oscuridad), una intensidad de radiación UV nominal de 55  $\mu\text{W/cm}^2$  y una temperatura que se mantuvo a  $28 \pm 3$   $^{\circ}\text{C}$ .



**Figura 3. (A) Cámara experimental (B) Cm= control de manipulación, Ca= control de solvente, C1= concentración 1 (fluoranteno o BaP o antraceno), C1<sub>R</sub>= repetición de la concentración 1 C2= concentración 2 (FL o BaP o Ant) C2<sub>R</sub>= repetición de la concentración 2.**

### *Ensayo Cometa.*

En el presente trabajo se empleó el método de Singh *et al.* 1988 con algunas modificaciones adaptadas para la obtención de las células de la *A. franciscana*.

### *Obtención de la suspensión celular.*

Al concluir el periodo de exposición a los hidrocarburos antes mencionado, todos los organismos de cada lote experimental se maceraron con agua marina (4 ml) para lo que se usó un mortero de cerámica. La suspensión celular se transfirió a tubos de ensayo de 10 ml y se centrifugaron a 1500 rpm durante 10 minutos, posteriormente se retiró el sobrenadante. El lavado con agua marina se repitió y el paquete celular se resuspendió en 0.5 ml de agua marina.

### *Preparación de los geles.*

Se colocaron 110 µl de agarosa de punto de fusión normal 0.5 % (Sigma) a 37 °C en portaobjetos de superficie totalmente esmerilada (Fisher) previamente etiquetados. Una vez que se solidificó la capa de agarosa se mezclaron 50 µl de la suspensión celular de cada uno de los lotes con 150 µl de agarosa de bajo punto de fusión y se distribuyó en dos de los portaobjetos previamente preparados. Se colocó un cubreobjetos para extender la mezcla de manera uniforme y se dejaron solidificar sobre bloques de hielo. Una vez que se solidificó la segunda capa se retiró el cubreobjetos y finalmente, a cada preparación se le añadió una tercera capa de agarosa de bajo punto de fusión y se cubrió con un cubreobjetos de 30 X 24 mm y se dejó solidificar.

### *Lisis.*

La solución de lisis se preparó al inicio del experimento en un frasco coplin para ocho muestras cuya composición era: 2.5 M de NaCl (J.T.Baker) 100 µM de ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y 10 µM de tris (Hycel de México), tritón-X100 al 1 % (J.T.Baker) y dimetilsulfoxido (DMSO) al 10 % (J.T.Baker) a pH 10 en un volumen total de 50 ml. Se retiraron los cubreobjetos de los geles solidificados y se incubaron en la solución de lisis, por al menos una hora, a 4 °C.

### *Electroforesis.*

Después de la lisis, las muestras se colocaron en una cámara de electroforesis horizontal (BioRad), se les agregó el amortiguador que contenía NaOH 10 N (J.T. Baker) y 200 µM de EDTA (J.T.

Baker), a pH 10 y se dejaron reposar en la cámara por 20 minutos para permitir el desenrollamiento de la cadena de ADN. En seguida se aplicó una corriente de 25 V y 300 mA por 20 minutos.

#### *Lavado de las muestras.*

Las preparaciones se sacaron de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces con amortiguador de neutralización (Tris, Hycl de México) 0.4 M, pH 7.5, con intervalos de cinco minutos para retirar el álcali.

#### *Tinción de las Muestras.*

A cada uno de los geles se les agregó 50  $\mu$ l de bromuro de etidio (Sigma) (20  $\mu$ g/ml) y se les colocó un cubreobjetos. Los geles se almacenaron en una cámara húmeda a 4 °C en oscuridad hasta su revisión.

#### *Análisis de las preparaciones.*

Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico (Olympus) equipado con un filtro de excitación de 515-560 nm y un filtro de barrera de 590 nm. El microscopio se encontraba conectado a una computadora que tenía instalado el software VIDS, el cual permite medir la longitud en micras de la migración del ADN (cola del cometa). Para estimar el nivel de daño en el ADN los resultados de longitud se dividieron en intervalos de 20  $\mu$ m o más para así determinar la categoría del daño. Asimismo se tomaron fotografías de todas las células control y de las expuestas a los hidrocarburos aromáticos policíclicos al mismo tiempo que se observaban y median las células con una cámara Sony DSC-S600 de seis mega pixeles.

#### *Análisis estadístico.*

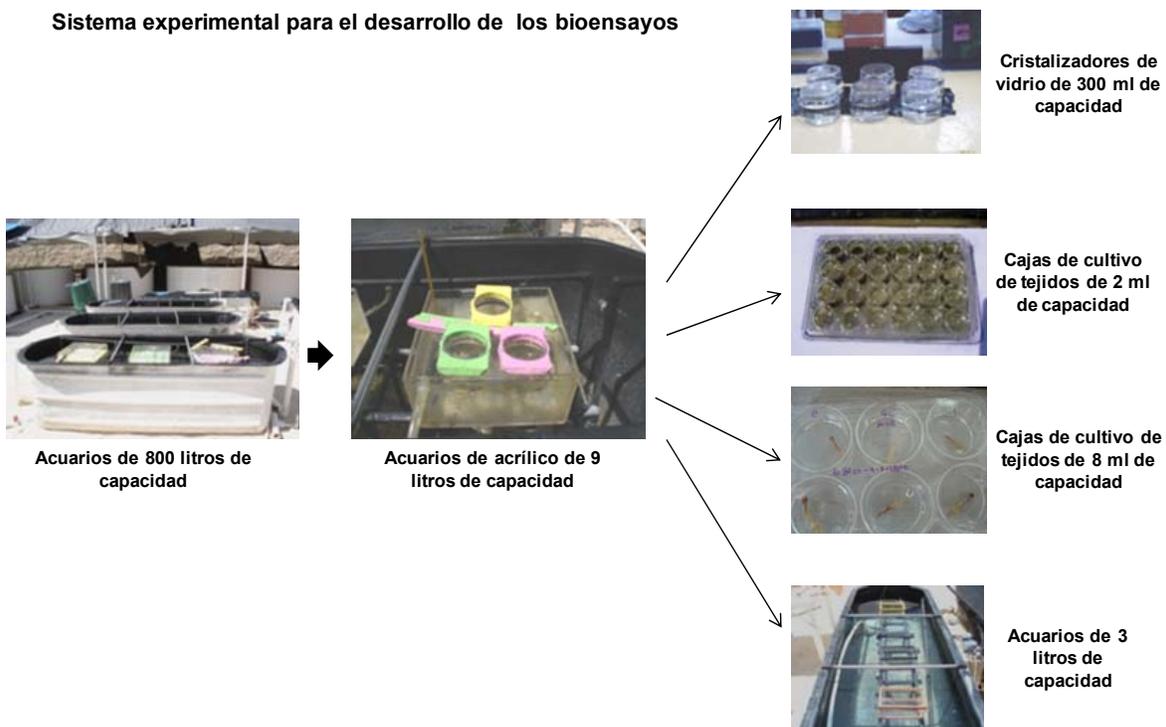
Las mediciones se expresaron como longitud en micras y se reportó la media de la población  $\pm$  el error estándar para cada tratamiento experimental. Se aplicó la prueba no paramétrica de rango múltiple de Kruskal-Wallis, la cual se aplica para datos que tienen una distribución normal, donde los tamaños muestrales no son iguales y sea  $n_i$ ,  $i= 1, \dots, k$ , el tamaño de la muestra de la  $i$ -ésima población. Con la hipótesis nula ( $H_0$ ): todas las distribuciones poblacionales son idénticas y como hipótesis alternativa ( $H_a$ ): al menos dos de las distribuciones poblacionales son diferentes respecto

al control de manipulación para así detectar si había diferencias significativas entre los lotes experimentales. Se utilizó el programa STATISTICA 6.0. (Anexo I “estadística del ensayo cometa”).

### **Bioensayos con radiación solar UV.**

En estanques de fibra de vidrio (0.7 x 2.0 x 0.6 m) de 800 litros de capacidad con flujo continuo, se colocaron acuarios de acrílico de 9 litros; que a su vez tenían flujo continuo. En estos acuarios se colocaron los contenedores experimentales de diferentes capacidades, de acuerdo al tamaño del organismo experimental (Fig. 4). Estos contenedores se suspendieron dentro de los acuarios para mantener la temperatura deseada de  $28 \pm 2$  °C. Se calculó la concentración letal 50 o media (CL<sub>50</sub>), que es la concentración del material en agua, suelo o sedimento que se estima letal al 50 % de los organismos del ensayo. La CL<sub>50</sub> y sus límites de confianza (95 %) son usualmente derivados de análisis estadístico. Se determinó la CL<sub>50</sub> a diferentes tiempos debido a que se observó que los organismos morían al cabo de algunos minutos después de ser expuestos a la acción conjunta de los HAPs y la radiación solar por lo tanto no se realizaron bioensayos con duración de 24, 48 o 96 horas como se establece en los protocolos de bioensayos. Los plazos probados fueron de 0.5, 1, y 96 h. Solo se realizaron bioensayos de 96 horas de duración, con el coral *Porites divaricata*.

Los HAPs que se probaron en campo fueron el fluoranteno y el benzo[ $\alpha$ ]pireno para todos los organismos excepto para el coral *P. divaricata* que además se trabajó con antraceno. Los bioensayos se realizaron en función de la cantidad de organismos disponibles para realizar los experimentos.



**Figura 4. Sistema experimental para el desarrollo de los bioensayos empleado para la exposición de los organismos a la radiación solar.**

Las especies que se seleccionaron fueron las de mayor abundancia después de que se realizaron las diferentes colectas.

Así se trabajó con las siguientes especies: larvas de caracol rosado *Strombus gigas*, *Cladonema radiata* (medusas), *Tozeuma carolinense* (camarón de pastos), *Hippolythe zoostericola*, *Thor mannigi* (camarón de pastos), *Leander tenuicornis* (camarón de pasto), *Pachygrapsus gracilis* (cangrejos), *Acartia spinata* (copépodos), *Porites divaricata* (coral) y *A. franciscana*.

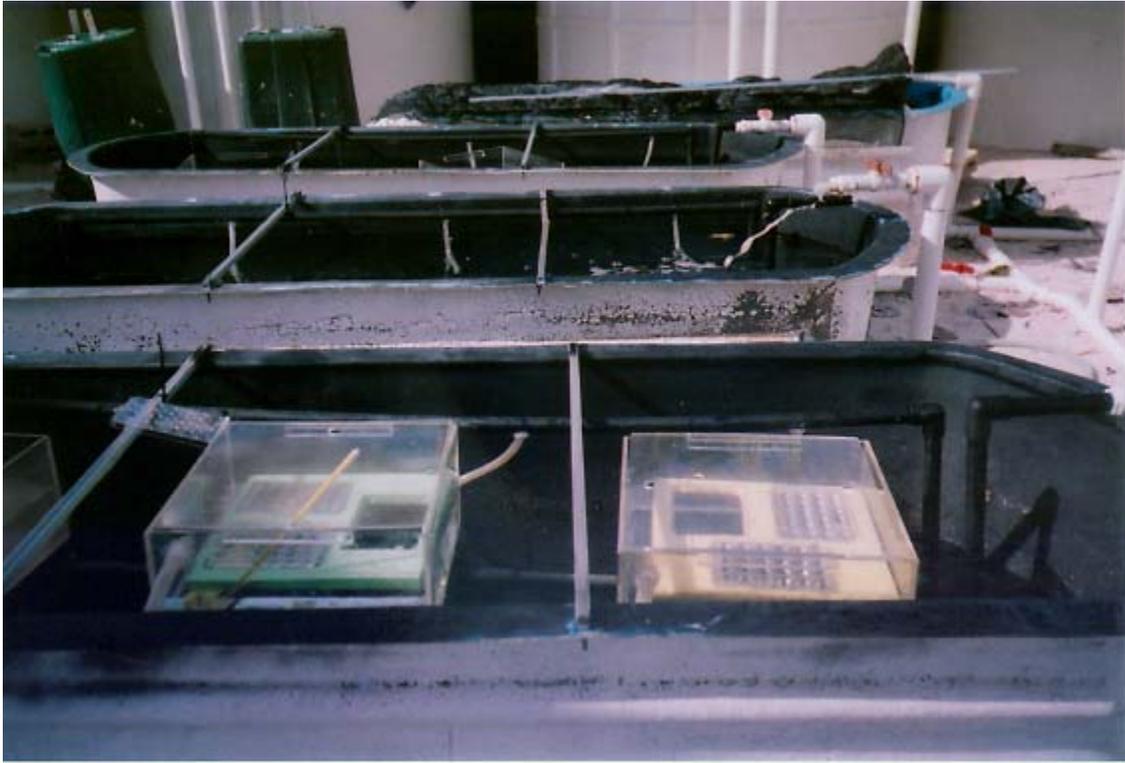
Para las especies *A. franciscana* (metanauplios), larvas de *S. gigas* y *C. radiata* se emplearon cajas de cultivo de tejidos de 2 ml. Para los camarones de pastos (*T. carolinense*, *T. mannigi*, *L. tenuicornis*) y los cangrejos (*P. gracilis*), se utilizaron cristalizadores de vidrio; mientras que para los copépodos (*A. spinata*) se emplearon cajas de cultivo de 8 ml. Finalmente, para el coral (*P. divaricata*) se emplearon acuarios de 3 litros de capacidad.

Cada grupo experimental se trabajó por cuadruplicado. Se colocaron entre 60 y 80 organismos (metanauplios) en cada pozo (2 ml) de las placas de cultivo de tejidos (Nunc multidish) (Fig. 4). Se probaron cuatro concentraciones nominales: para fluoranteno 24, 72, 120 y 216  $\mu\text{g/L}$  y 10 concentraciones para benzo[ $\alpha$ ]pireno 0.24, 2.4, 2.88, 3.96, 4.94, 6, 7.2, 10, 12 y 21.6  $\mu\text{g/L}$ . Los organismos estuvieron expuestos al contaminante en la obscuridad para permitir la bioacumulación de este por una hora, al final de este periodo, las placas se transfirieron al sistema experimental

como se describió anteriormente, los organismos estuvieron expuestos a la radiación solar por 30 minutos.

*Bioensayos con Larvas de Strombus gigas (Linneo, 1758).*

Para las larvas de *S. gigas* (caracol rosado) se trabajó en presencia de radiación solar y en ausencia de radiación, con exposición a fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno. Cada grupo experimental se trabajó por cuadruplicado en placas de cultivo de tejidos (Nunc multidish) en los que se colocaron entre 30 y 50 larvas en cada pozo de 2 ml de capacidad. Una de las cajas fue cubierta con una hoja de plexiglas de 6 mm de espesor la cual transmite el 92 % de la radiación UV (50 % de amplitud media máxima en 282 nm) y la radiación fotosintéticamente activa (PAR, 400 a 700 nm) y la otra caja fue cubierta por una lamina de plexiglás G UF-3 de 4 mm de espesor (50 % de amplitud media máxima en 390 nm) la cual transmite el 91 % de PAR y una pequeña fracción de RSUV (>380 nm). El empleo de las placas de plexiglás se usó únicamente con el fluoranteno porque se tuvo un número de larvas suficiente para realizar los bioensayos con toda la radiación solar y sin esta. Se probaron las siguientes concentraciones nominales: para fluoranteno 2.4, 14.4, 24, 40, 72 y 120  $\mu\text{g/L}$  y para benzo[ $\alpha$ ]pireno 2.4, 12, 24 y 240  $\text{ng/L}$ . Al final del periodo de incubación, las placas se transfirieron al sistema experimental descrito anteriormente, los organismos estuvieron expuestos a la radiación solar por 30 minutos (Fig. 5).



**Figura 5. Bioensayos de larvas de *S gígás* expuestas a fluoranteno y BAP, en placas de cultivo de tejidos cubiertas con placas de plexiglás.**

*Cladonema radiatum* Dujardin (1843).

*Obtención de organismos y aclimatación.*

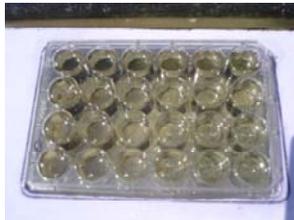
Las medusas (*Cladonema radiatum*) se obtuvieron en la laguna Bojorquez-Nichupté y los copépodos (*Acartia spinata*) se colectaron en el parque marino de Puerto Morelos (Fig. 6), cerca del muelle fiscal en una zona profunda (>20 m). Se colectaron empleando una red de arrastre para zooplancton (Fig. 6A). Se realizaron tres arrastres de cinco minutos cada uno, después de los arrastres se levantó la red, se lavó y los organismos se concentraron en el copo, este se enjuagó, los animales se transfirieron a una cubeta de veinte litros con agua del sitio, se transportaron, cubriéndolos con una malla negra para evitar la sobreexposición a la radiación solar, se instaló una bomba de aire portátil e inmediatamente se trasladaron al laboratorio donde se aclimataron durante 24 horas.



**Figura 6. Obtención de medusas de la especie *Cladonema radiatum* y los copépodos (*Acartia spinata*) con red de arrastre. (A) Red de zooplancton. (B) Arrastre de la red. (C y D) lavado de la red, separación del copo para recolectar los organismos y transportarlos al laboratorio.**

*Diseño de pruebas experimentales.*

Para las medusas (*Cladonema radiatum*), cada grupo experimental se trabajó por cuadruplicado. Se colocaron entre 6-12 organismos en pozos de 2 ml de capacidad en placas de cultivo de tejidos. Solo se realizaron bioensayos con fluoranteno porque se obtuvieron muy pocos organismos que permitían realizar bioensayos solo con un hidrocarburo. Se probaron cuatro concentraciones nominales para fluoranteno 18.7, 24, 29.3 y 34.6  $\mu\text{g/L}$ . Las medusas tuvieron un periodo de bioacumulación de 30 min a 1 hora, es decir, se permitía la entrada del contaminante sin radiación solar. Al final del periodo de bioacumulación las placas se transfirieron al sistema experimental. (Fig. 7). Se observaron cada cinco minutos para ver si estaban activos con una aguja de disección, se decidió que permanecieran expuestos por más tiempo hasta que hubo una disminución en el movimiento y los organismos comenzaban a morir.



C Ca 1 2 3 4  
Caja de cultivo de tejidos donde las especies pequeñas estuvieron expuestas al hidrocarburo



Agua de mar filtrada con Millipore 45  $\mu$ m



Estanque de 800 litros donde los organismos estuvieron expuestos a los HAPs y a la radiación solar

Figura 7. Diseño de pruebas experimentales para *S. gigas* y *C. radiatum* C=control de manipulación agua marina, Ca= Control con solvente (Acetona), 1, 2, 3, 4= Concentraciones nominales del hidrocarburo aromático policíclico (fluoranteno o benzo[ $\alpha$ ]pireno).



*S. gigas* (Larva de caracol rosado)

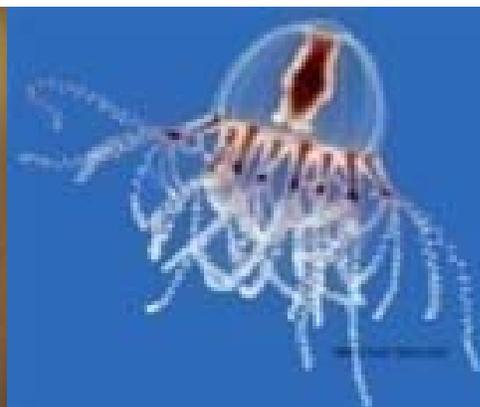


Foto de Michael Stierwald  
*C. radiatum* (medusa, adulto)

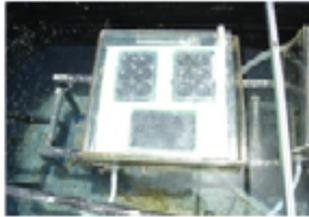
*Acartia spinata* (Esterly, 1911).

*Obtención de organismos.*

Los organismos se obtuvieron de la manera descrita en la sección anterior.

*Diseño de las pruebas experimentales.*

Para los copépodos (*A. spinata*), cada grupo experimental se trabajó por duplicado. Se colocaron entre 15 a 30 organismos en placas de cultivo de tejidos (Nunc multidish) en pozos de 8 ml de capacidad. Se probaron las siguientes concentraciones nominales: para fluoranteno 18.7, 24, 29.3 y 34.6 µg/L, y para benzo[α]pireno 0.78, 1.32, 1.59 y 2.13 µg/L. Al final del periodo de incubación, las placas se transfirieron al sistema experimental (Fig. 8).



Caja de cultivo de tejidos de 8 ml de capa de 8 ml de capacidad. Empleada para el bioensayo con *A. spinata*.



Agua de mar filtrada con millipore 45  $\mu\text{m}$



Tanques de fibra de vidrio de 800 litros de capacidad donde los organismos estuvieron expuestos a los HAPs



Tomado de <http://www.der-nordfahrer.de/images/Bilder%20des%20Zooplanktons/Acartia.jpg>

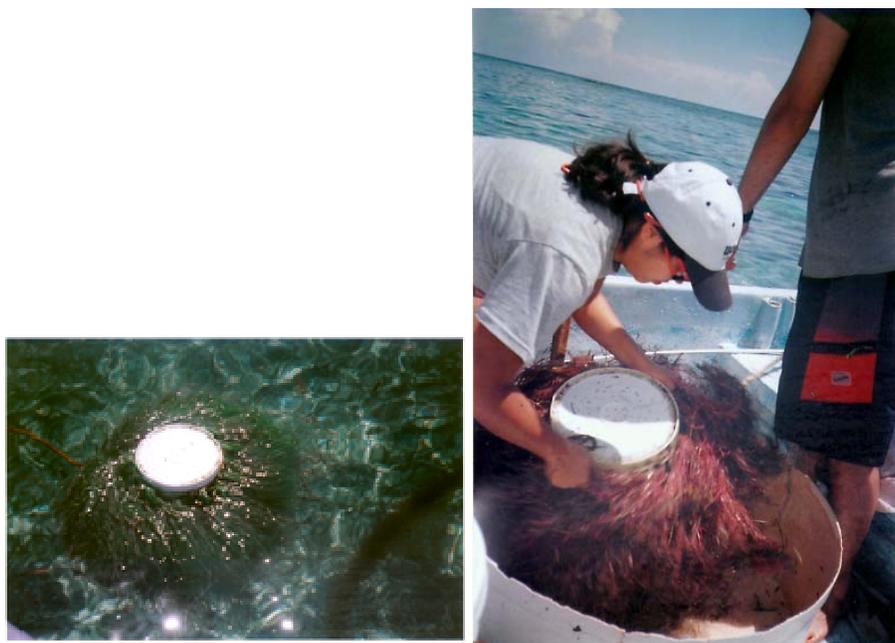
**Figura 8. Diseño de pruebas experimentales para *A. spinata*.**

*Leander tenuicornis* (Say, 1818) y *Pachygrapsus gracilis* (De Saussure, 1858).

*Obtención de organismos y aclimatación.*

Para obtener los camarones (*L. tenuicornis*) y los cangrejos (*P. gracilis*) se utilizaron colectores para postlarvas de langostas instalados a lo largo de la laguna arrecifal junto al arrecife (Briones Fourzán *et al.*, 2003). Después de cada luna llena los colectores se revisaron. Estos se sacaron del agua sacudiéndolos *in situ* para desprender todos los animales adheridos al contenedor, todos los organismos se recolectaron en una tina, se seleccionaron al pasarlos por un bastidor con radiación de malla de 5 mm. Los animales se vaciaron a una cubeta de 20 litros llena de agua de mar del

sitio de colecta (Fig. 9). Se cubrieron con una malla negra para evitar la sobreexposición a la radiación solar. Se instaló una bomba de aire portátil e inmediatamente se trasladaron al laboratorio para su identificación y separación en cubetas de 20 litros, al día siguiente se realizaron los bioensayos.



A

B

**Figura 9. Colectores para postlarvas de langosta (Briones Fourzán *et al.*, 2003), A. En la laguna arrecifal. B. Los colectores se sacudieron para desprender a los organismos de los contenedores, con ellos se obtuvieron las especies de *Leander tenuicornis* y *Pachygrapsus gracilis*.**

*Diseño de las pruebas experimentales (L. tenuicornis, P. gracilis).*

Para los camarones y cangrejos (*L. tenuicornis* y *P. gracilis*) cada lote experimental se trabajó por duplicado en cristalizadores de vidrio (Pyrex) de 300 ml de capacidad. En cada cristalizador se colocaron 4 organismos. Se probaron dos concentraciones nominales para fluoranteno (40 y 60  $\mu\text{g/L}$ ) y dos para benzo[ $\alpha$ ]pireno (1.9 y 3.8  $\mu\text{g/L}$ ). Los cristalizadores se transfirieron al sistema experimental (Fig. 10).



Figura 10. Diseño de pruebas experimentales para las especies *Leander tenuicornis* y *Pachygrapsus gracilis*, expuestas a fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno. (A) Preparativos para realizar los bioensayos. (B) Cristalizadores de vidrio de 300 ml.

*Tozeuma carolinense* Stimpson (1860), *Hippolythe zoostericola* S. I. Smith (1873) y *Thor manningi* Chace (1972).

*Obtención de organismos y aclimatación.*

Los camarones de pastos (*Tozeuma carolinense* y *Hippolythe zoostericola* y *Thor manningi*) se colectaron mediante una red de arrastre para colectar bentos; esta se tiró en una zona de pastos y se arrastró por un lapso de no más de cinco minutos. Posteriormente se levantaba para retirar el cono, revisarlo y separar los organismos. Inmediatamente los organismos se vaciaron en una cubeta de 20 litros de capacidad con agua de mar y una bomba de aire portátil donde se trasladaron al laboratorio. Se separaron por especie en acuarios de dos litros de capacidad, donde tuvieron un periodo de aclimatación de 24 horas. (Fig. 11).

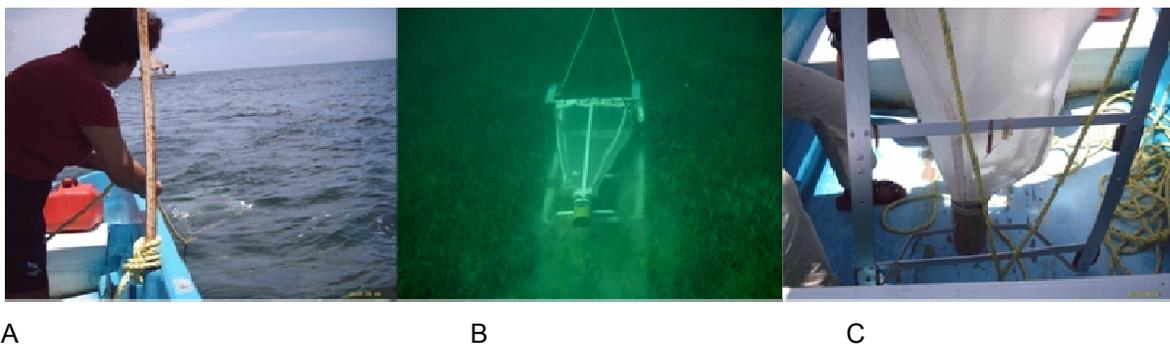


Figura 11. Técnica de obtención de camarones de pastos (*Tozeuma carolinense*, *Hippolythe zoostericola* y *Thor manningi*). A. Arrastre de la red. B. Red de arrastre de bentos. C. Red y copo con los organismos.

Diseño de las pruebas experimentales (*Tozeuma carolinense*, *Hippolythe zoostericola* y *Thor manningi*).

Para los camarones de pastos (*T. carolinense*, *H. zoostericola* y *T. manningi*), cada grupo experimental se trabajó por duplicado en cristalizadores de vidrio (Pyrex) de 300 ml de capacidad. En cada cristalizador se colocaron entre 6 y 12 organismos. Se probaron dos concentraciones nominales para fluoranteno: 6 y 60 µg/L, y dos para benzo[α]pireno: 1.9 y 3.8 µg/L, con un tiempo de bioacumulación de una hora. Los organismos estuvieron expuestos a la radiación solar por 30 minutos. (Fig. 12).

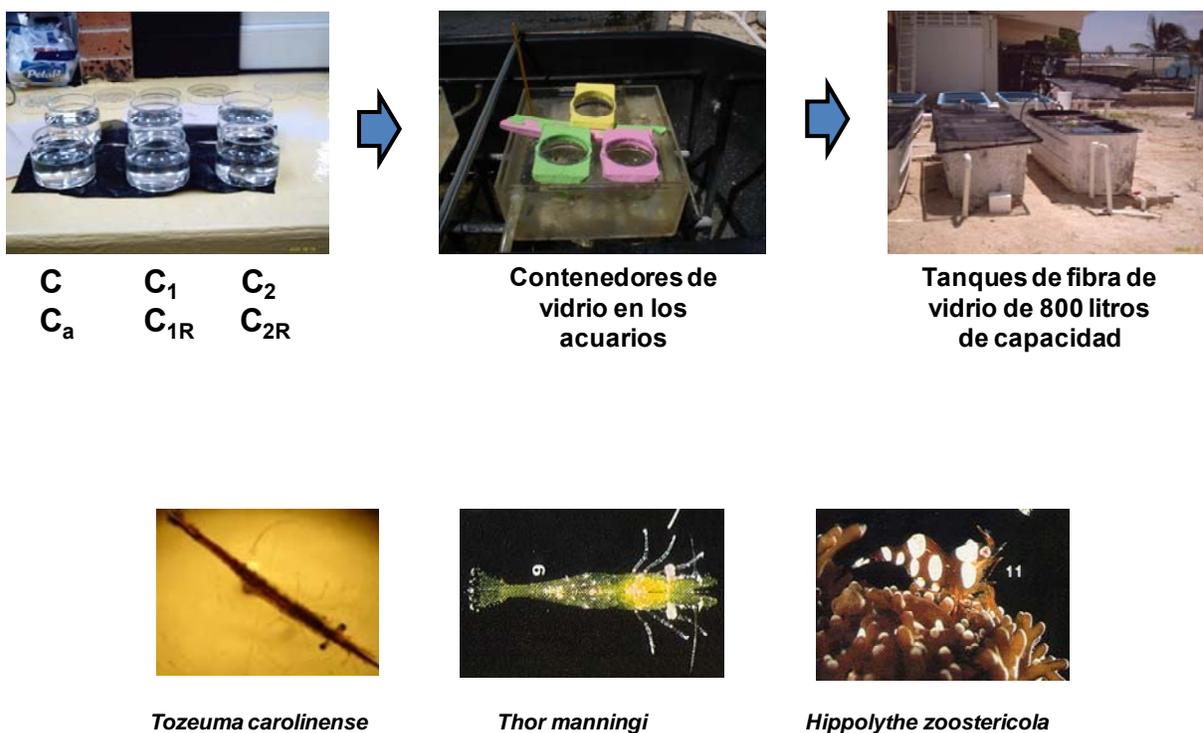


Figura. 12. Diseño experimental para *Tozeuma carolinense*, *Thor manningi*, *Hippolythe zoostericola*. C=control de manipulación, C<sub>a</sub>= Control con solvente (Acetona), 1, 2 = Concentraciones nominales de fluoranteno y benzo[α]pireno. C<sub>1R</sub> y C<sub>2R</sub>= Concentraciones nominales de fluoranteno y benzo[α]pireno (replica).

*Porites divaricata* (Le Sueur 1821).

*Colección y mantenimiento de las muestras.*

El coral (*Porites divaricata*) es una especie que habita zonas someras, su tejido vivo solo crece en la punta, lo que permite obtener pequeñas colonias de 1 a 2 cm sin dañar al organismo. Las muestras de coral *P. divaricata* (Le Sueur 1821) se colectaron por buceo libre en la laguna superficial a una profundidad de 1 m aproximadamente, en el sitio llamado “El Islote” en un arrecife cercano a Petem Pich, (20° 56´ Norte, y 86° 50´ Oeste), (Fig. 13). Los organismos fueron transportados en agua de mar, cubiertos con una malla negra para evitar la sobreexposición a la radiación solar hasta llegar al laboratorio donde los corales se colocaron en los estanques de 800 litros con flujo continuo. Para permitir su aclimatación, se cubrieron con un bastidor de malla negra y se procesaron después de 36 horas de ser recolectados.



**Figura 13. Sitio de muestreo, e imagen obtenidas *in situ* del coral *Porites divaricata*.**

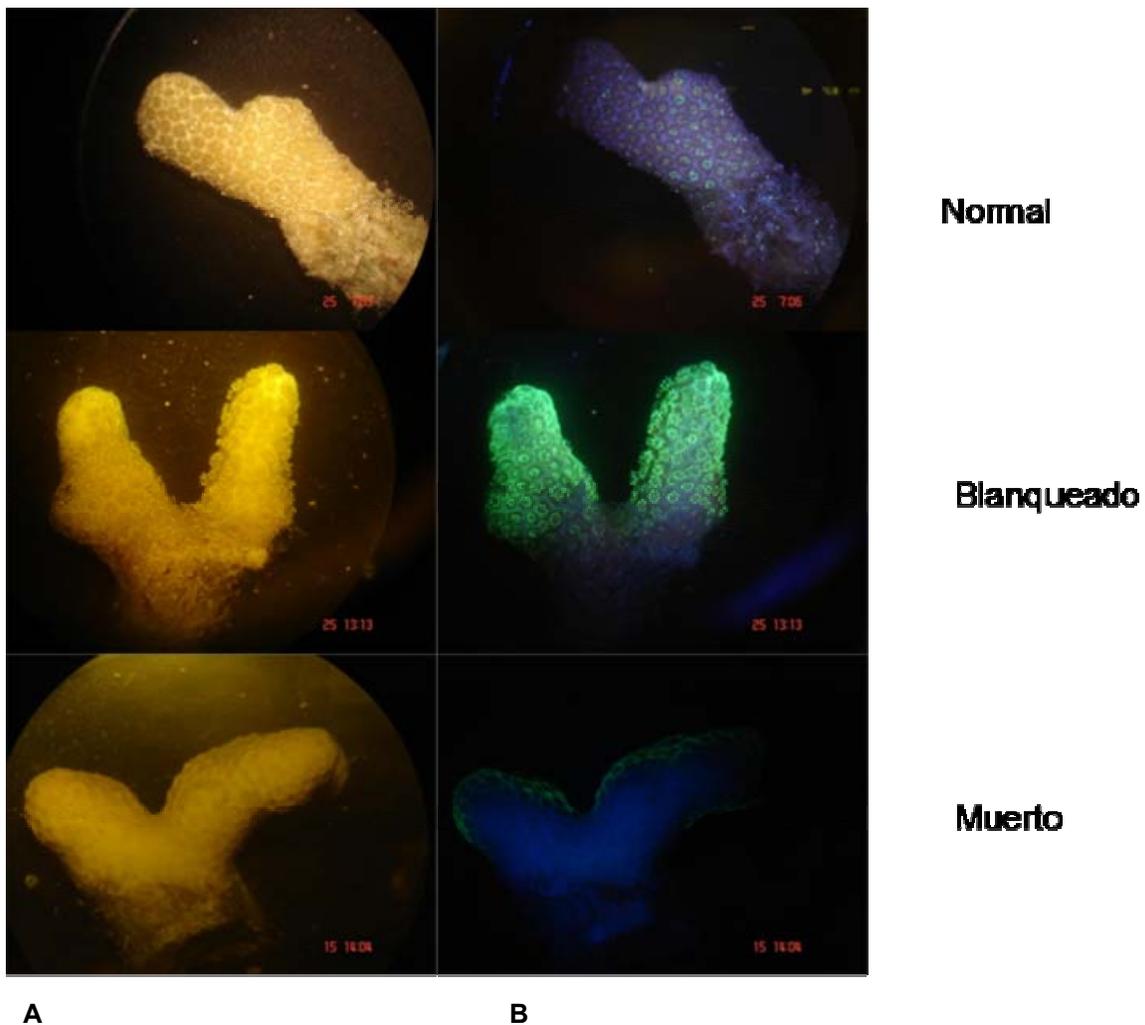
*Generalidades de las pruebas experimentales para *P. divaricata*.*

Para *P. divaricata*, se realizaron bioensayos probando los tres hidrocarburos aromáticos policíclicos fluoranteno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno, sin embargo las condiciones de las pruebas experimentales cambiaron con cada compuesto, porque al realizar el primer experimento se optimizaron las condiciones, la manipulación de las muestras, así como la hora para medir las eficiencias fotoquímica efectiva y máxima. Además, se hicieron pruebas con placas de plexiglas una de ellas permite el paso de la radiación solar total y otra que corta la radiación UV, para probar la acción conjunta de la radiación y el hidrocarburo y así demostrar el efecto sobre los corales. Al final del experimento se tomaron fotografías de los corales para tener un registro visual de los diferentes tratamientos para revisarlos y dar seguimiento al estado fisiológico del coral *P. divaricata*. Para las pruebas experimentales de benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno se tomaron fotografías de los corales *P. divaricata* a través de un filtro amarillo para verificar el estado fisiológico y así

tener un registro visual de los diferentes tratamientos para dar seguimiento del estado fisiológico. Se identificaron tres etapas: en el coral sano, que presentaba los pólipos extendidos, fluoresce en rojo lo que demuestra la presencia del alga, y fluoresce en verde; blanqueado, los pólipos carecían de la presencia de algas, no hay fluorescencia roja y solo fluoresce en verde, lo que demuestra la ausencia del endosimbionte); y muerto, que no fluoresce y el tejido se observa necrosado (tabla 4; Fig. 14).

**Tabla 4. Estado fisiológico del coral después de la exposición al hidrocarburo.**

Condición fisiológica del coral	Característica del estadio
Sano	Pólipos extendidos con la presencia de algas
Blanqueado	Pólipos extendidos sin la presencia de algas
Muerto	No se observan pólipos y el tejido esta necrosado



**Figura 14.** *Porites divaricata* expuesto al hidrocarburo, se identifican las diferentes etapas. (A) Radiación blanca; (B) Radiación fluorescente.

*Diseño de las pruebas experimentales con fluoranteno.*

En el coral *P. divaricata* se realizaron pruebas de toxicidad con renovación de agua en presencia de radiación solar y en ausencia de radiación UV. Se colocaron 120 ramas de coral de 1-2 cm en portaobjetos y se fijaron con plastilina (cuatro por portaobjetos) para que no se estresaran debido al manejo durante el bioensayo. Los organismos experimentales se dividieron en 10 acuarios de 3 litros de capacidad. El fluoranteno (grado HPLC, Sigma, USA), se disolvió en acetona (J.T.Baker) y a cada acuario se les agregaron 2 litros de agua de mar filtrada. Seis acuarios se emplearon para probar las siguientes concentraciones nominales: 15, 30 y 60 µg/L, dos acuarios se emplearon como control con solvente (acetona HPLC, J.T.Baker) y dos acuarios se emplearon como controles de manipulación sin acetona ni contaminantes, solo con agua de mar. Las muestras de coral se mantuvieron en los acuarios para permitir bioacumulación del contaminante por un periodo de 4.5

horas. Al final del periodo de biacumulación se realizó un recambio de agua para dejar a los organismos en agua sin contaminante, los acuarios se transfirieron a estanques de fibra de vidrio de 800 litros de capacidad con flujo continuo para mantener la temperatura a 28 °C en la noche y 31 °C durante el día. Cinco acuarios se cubrieron con una hoja de Plexiglás de 6 mm de espesor la cual transmite el 92 % de la radiación solar UV (50 % amplitud media máxima en 282 nm) y la radiación fotosintéticamente activa (PAR 400 a 700 nm). Los otros cinco acuarios se cubrieron con una lámina de Plexiglás G UF-3 de 4 mm de espesor (50 % amplitud media máxima en 390 nm), la cual transmite el 91 % de PAR y una pequeña fracción de RSUV (>380 nm).

Se tomaron medidas de fluorescencia, *in situ* al mediodía y al atardecer empleando un fluorómetro portátil de pulso de amplitud modulada (Diving-PAM, Walz, Germany), como un indicador de la condición fisiológica del endosimbionte fotosintético, para lo que se eligieron los siguientes parámetros: medida de intensidad = 8, amplitud de saturación= 0.8, damping = 2, ganancia = 9. Al final del experimento se tomaron fotografías de los corales para tener un registro visual de los diferentes tratamientos para revisarlos y dar seguimiento al estado fisiológico de *Porites divaricata*, asimismo se hizo una inspección visual calificando a los corales de acuerdo con su apariencia visual, así se identificaron tres categorías de estado fisiológico: sano, blanqueado y muerto.

Las mediciones de las eficiencias efectiva y máxima ( $\Delta F/F_m$  y  $F_v/F_m$ , respectivamente), automáticamente son calculadas por el fluorómetro. El experimento duró 96 horas, después de las cuales los corales se observaron para determinar la condición de los organismos. En la tabla 4 (Fig. 14) se explican los diferentes estadios identificados. Las mortalidades se registraron después del término del experimento (96 hrs). Pasado este tiempo se calculó la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) empleando el programa Multi-Method CL<sub>50</sub> que emplea el método PROBIT.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para detectar diferencias significativas entre los tratamientos con una significancia de ( $p < 0.05$ ) empleando los programas estadísticos (Statistica, versión 6) y JMP statistical discovery (SAS Institute).

#### *Diseño de pruebas experimentales para benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno.*

Para el coral *P. divaricata* se realizaron pruebas de toxicidad con renovación de agua en presencia de radiación solar y en ausencia de radiación UV. Se colocaron 120 ramas de coral de 1-2 cm en láminas de plástico. Los organismos experimentales se dividieron en 10 acuarios de 3 litros de capacidad. El benzo[ $\alpha$ ]pireno y el antraceno (grado HPLC, Sigma, USA), se disolvieron en acetona (J.T Baker) y a cada acuario se les agregaron 2 litros de agua de mar filtrada, seis de los cuales se emplearon para probar las concentraciones nominales que se indican a continuación. Para benzo[ $\alpha$ ]pireno 0.95, 1.9 y 3.8  $\mu\text{g/L}$  y para antraceno: 15, 30 y 60  $\mu\text{g/L}$ . Dos acuarios se emplearon

como control con solvente y dos acuarios se emplearon como controles de manipulación, sin acetona ni contaminante, solo con agua marina. Los corales se mantuvieron en los acuarios para permitir la bioacumulación por un periodo de 9 horas. Al final del periodo de bioacumulación se realizó un recambio de agua para dejar a los organismos en agua sin contaminante. Los acuarios se transfirieron a estanques de fibra de vidrio de 800 litros de capacidad con flujo continuo para mantener la temperatura a 28 °C en la noche y 31 °C durante el día. Cinco acuarios se cubrieron con una hoja de Plexiglás de 6 mm de espesor la cual transmite el 92 % de la radiación solar (50 % amplitud media máxima en 282 nm) y la radiación fotosintéticamente activa (PAR 400 a 700 nm). Los otros cinco acuarios se cubrieron con una lámina de Plexiglás G UF-3 de 4 mm de espesor (50 % amplitud media máxima en 390 nm), la cual transmite el 91 % de PAR y una pequeña fracción de RSUV (>380 nm).

Al final del experimento la fluorescencia del tejido se excitó con radiación azul (450 nm). Se tomaron fotografías de los organismos con una cámara Sony DSC-W5 a través de un filtro amarillo para verificar el estado fisiológico del coral para tener un registro visual de los diferentes tratamientos para dar seguimiento del estado fisiológico de *P. divaricata*. Se consideró según su respuesta como (los pólipos están extendidos fluoresce en rojo lo que demuestra la presencia del alga, el coral fluoresce en verde), blanqueado (los pólipos sin la presencia de algas, fluoresce en verde lo que demuestra la ausencia del endosimbionte) o muerto (no fluoresce y el tejido se observa necrosado) (Tabla 4).

Las mediciones de eficiencias fotoquímica máxima (6:00 am) y efectiva (12:00) ( $\Delta F/F_m$  y  $F_v/F_m$ , respectivamente) como se explicó en el diseño experimental para fluoranteno.

#### *Medidas de exposición de radiación UVA, UVB y PAR.*

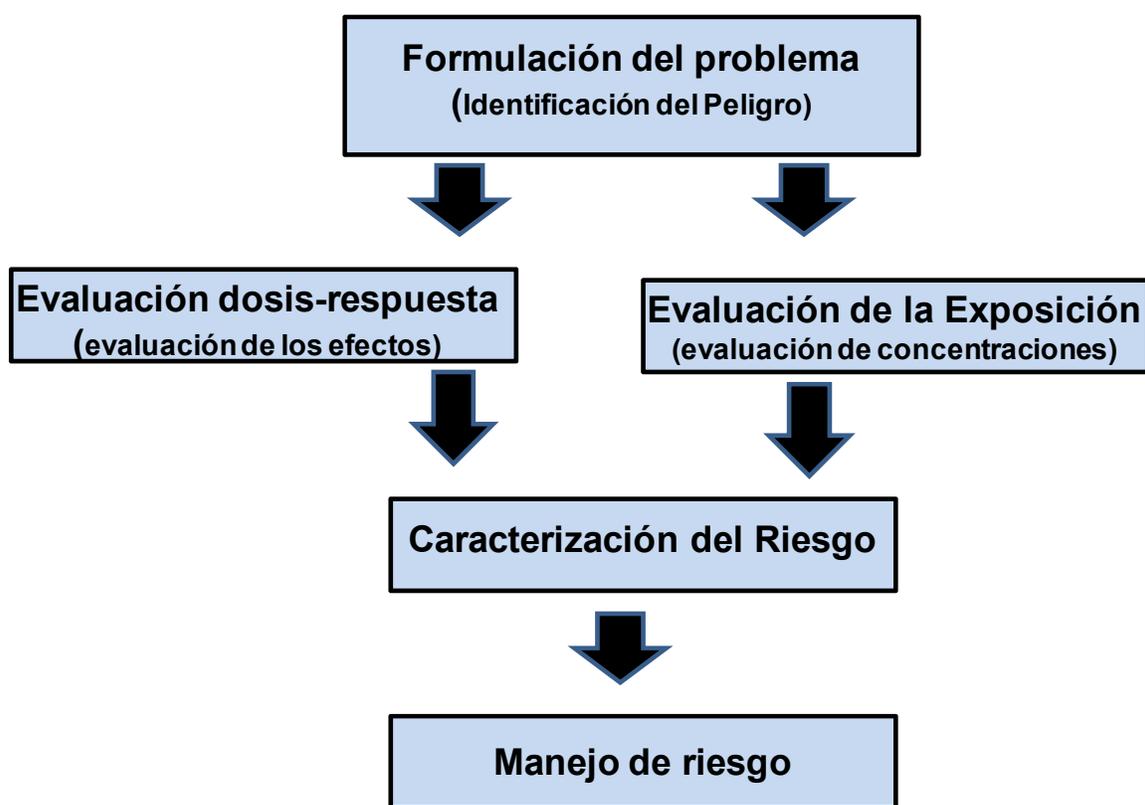
Se modelaron los espectros de radiación UVA, UVB y PAR para Puerto Morelos en el verano determinar la cantidad de radiación a la que fueron expuestos los organismos.

#### *Evaluación de riesgo ecológico (ERE).*

En el presente trabajo se propuso una evaluación de riesgo ecológico, a través de cociente de peligro. El área de estudio que se seleccionó comprende el complejo lagunar Bojorquez-Nichupté y la zona arrecifal de Puerto Morelos, localizados en la Península de Yucatán (Fig. 2). Se eligió esta zona de estudio como un ejemplo representativo del Caribe Mexicano, ya que existen actividades relacionadas al turismo donde se emplean embarcaciones de uso recreativo y de

transporte además es una zona que se caracteriza por la transparencia de sus aguas que permite una mayor penetración de la radiación UV.

Para realizar la ERE como primer etapa se desarrollo la formulación del problema (identificación del peligro), posteriormente se realizó una fase de análisis que comprende por un lado la evaluación de la dosis-respuesta (evaluación de los efectos) obtenidos de los bioensayos realizados con algunas especies representativas de la zona de estudio y con *A. franciscana*. Y por otro lado se realizó la evaluación de la exposición que comprendió las concentraciones de HAPs presentes en el agua del sitio. (Fig. 15).



**Figura. 15.** Diagrama de flujo del método que se empleó para realizar la evaluación de riesgo ecológico (ERE) a través del método del cociente de peligro en la laguna Bojorquez-Nichupte y en la zona Arrecifal de Puerto Morelos.

Para el presente trabajo se empleó la guía técnica para orientar la elaboración de estudios de riesgo ambiental de sitios contaminados (2006).

### *Selección de contaminantes críticos.*

La caracterización de los contaminantes en los medios tiene como objetivo establecer la magnitud y distribución espacial de los contaminantes presentes en un sitio (Flores Serrano, 2005). Para la determinación de los contaminantes críticos se analizaron muestras de agua tomadas a lo largo del complejo lagunar Bojorquez-Nichupte y la laguna arrecifal de Puerto Morelos (Fig. 2) (Anexo II “parametros fisicoquímicos”, Anexo III “materiales y método” y IV “cromatogramas del las muestras de agua”). En ellas se determinaron los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos que la EPA los clasifica como contaminantes prioritarios.

Se seleccionaron como contaminantes críticos aquellos que estuvieron presentes en el agua, y de los que además, existieran antecedentes de efectos tóxicos en la biota acuática. Se seleccionaron tres de los HAPs fototóxicos (antraceno, fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno).

### *Selección de especies críticas u organismo blanco.*

Durante el estudio de toxicidad fotoinducida en la que se realizaron muestreos para identificar la fauna y vegetación de la laguna Bojorquez-Nichupté y la zona arrecifal de Puerto Morelos, se eligieron las especies de prueba por su importancia ecológica, (larvas de caracol, *S. gigas*), y por su resistencia a la manipulación en condiciones de laboratorio. Se eligieron especies que después de los muestreos fueran las de mayor abundancia y asociados al arrecife de coral.

Se intentó trabajar con un tipo pez que por su abundancia sería adecuado para la pruebas de fototoxicidad; sin embargo, la captura generaba estrés por la manipulación y morían al cabo de algunos minutos.

### *Evaluación de las rutas y vías de exposición.*

Para que una sustancia o compuesto químico provoque un efecto adverso o sea tóxico para los organismos, éste debe estar en contacto y reaccionar con un sitio blanco apropiado a una concentración y por un tiempo suficiente. Este contacto-reacción entre el organismo y la sustancia química se conoce como exposición. Las rutas de exposición más conocidas son:

- 1.- Dérmica.
- 2.- Oral, la que ocurre a través del alimento.
- 3.- Respiratoria o branquial, la que ocurre a través de las vías respiratorias.

La exposición a una sustancia química se puede medir de manera directa en los tejidos de los organismos, o de una manera indirecta, con la información de las concentraciones ambientales del tóxico, y de los patrones de actividad de los organismos (Evans, *et al.*, 2003).

En esta evaluación, se hizo un análisis de las posibles rutas de exposición a los contaminantes, se colocaron los tóxicos en el agua, ya que si un compuesto se presenta en este medio, entonces está biodisponible y sus principales vías de entrada serán la oral y la branquial (White 2005; Pérez *et al.*, 2007 Barata *et al.*, 2002). Debido a que la mayoría de los organismos empleados en este trabajo son pequeños crustáceos que tienen una cubierta quitinosa que los protege de la exposición por la vía de la piel la principal, la vía principal de entrada es la branquial.

#### *Evaluación dosis-respuesta (evaluación de los efectos).*

Los efectos se evaluaron con bioensayos con especies endémicas de la zona de estudio bajo exposición a los HAPs. Se tomaron las concentraciones letales medias que se obtuvieron en el presente trabajo ( $CL_{50}$ ). Y como se describió en materiales y métodos, para el diseño de pruebas experimentales con organismos expuestos a fluoranteno y BaP se trabajó radiación solar.

#### *Caracterización del riesgo.*

Se realizó una caracterización de riesgo etapa 1 en la que se contó con información obtenida de los bioensayos de toxicidad aguda realizados en el presente trabajo y las concentraciones de agua que se obtuvieron mediante la técnica de cromatografía líquida de alta resolución.

Con estos resultados se calculó el cociente de peligro (CP) donde se compararon la dosis estimada o medida ( $CL_{50}$ ) y el límite de detección del método. En el presente trabajo se empleó este valor porque de acuerdo al análisis de agua realizado por HPLC no se detectaron HAPs. Por lo general se emplea la concentración de exposición presente en el medio. Si el cociente de peligro calculado es menor que 1 el riesgo es insignificante, y si es mayor que 1, significa que se rebasó una dosis o concentración segura y por lo tanto es posible que se presenten los efectos adversos conocidos a la sustancia.

$$\text{COCIENTE DE PELIGRO (CP)} = \text{LDM}/\text{CL}_{50}$$

Donde:

$CL_{50}$  = Concentración letal media

LDM = límite de detección del método

CP < 1 riesgo insignificante

CP > 1 posible riesgo

Este enfoque ha sido ampliamente utilizado para evaluar el riesgo de estresores químicos (Univ. de la Concepción Chile 2007; Mejía *et al.*, 2002) y depende en gran medida del juicio profesional.

## RESULTADOS

### *Bioensayos de laboratorio con A. franciscana.*

En todos los casos los organismos del grupo control de manipulación no presentaron mortalidad, por lo tanto la radiación UV artificial de las lámparas (Vitalite) no produjo efectos dañinos a los metanauplios y adultos de *A. franciscana* expuestos solo a la radiación de estas lámparas.

Los metanauplios, adultos y juveniles de *A. franciscana* presentaron mortalidad a las 48 horas después de ser expuestos a los hidrocarburos y a la radiación UV. Así, las CL<sub>50-48h</sub> calculadas para adultos y juveniles de *A. franciscana* expuestos a fluoranteno (FL) fueron de 43.35 µg/L, para benzo[α]pireno (BaP) fue 141.56 µg/L y para antraceno (Ant) fue de 1730 µg/L (Tabla 5). Para los metanauplios las CL<sub>50-48</sub> fueron, para fluoranteno de 75.45 µg/L, para BaP de 216.5 µg/L y para antraceno de 932 µg/L (Tabla 5).

La sensibilidad de los metanauplios de *A. franciscana* se comportó de la siguiente manera: FL (75.45 µg/L) < BaP (216.5 µg/L) < Ant (932 µg/L) (Tabla 4). Para el caso de los adultos y juveniles: FL (43.35 µg/L) < BaP (141.56 µg/L) < Ant. (1730 µg/L).

**Tabla 5. Concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) para adultos y metanauplios de *A. franciscana* expuestos a fluoranteno, benzo[α]pireno y antraceno, con una intensidad de radiación UV de 55 µW/cm<sup>2</sup>. El número en paréntesis representa la desviación estándar.**

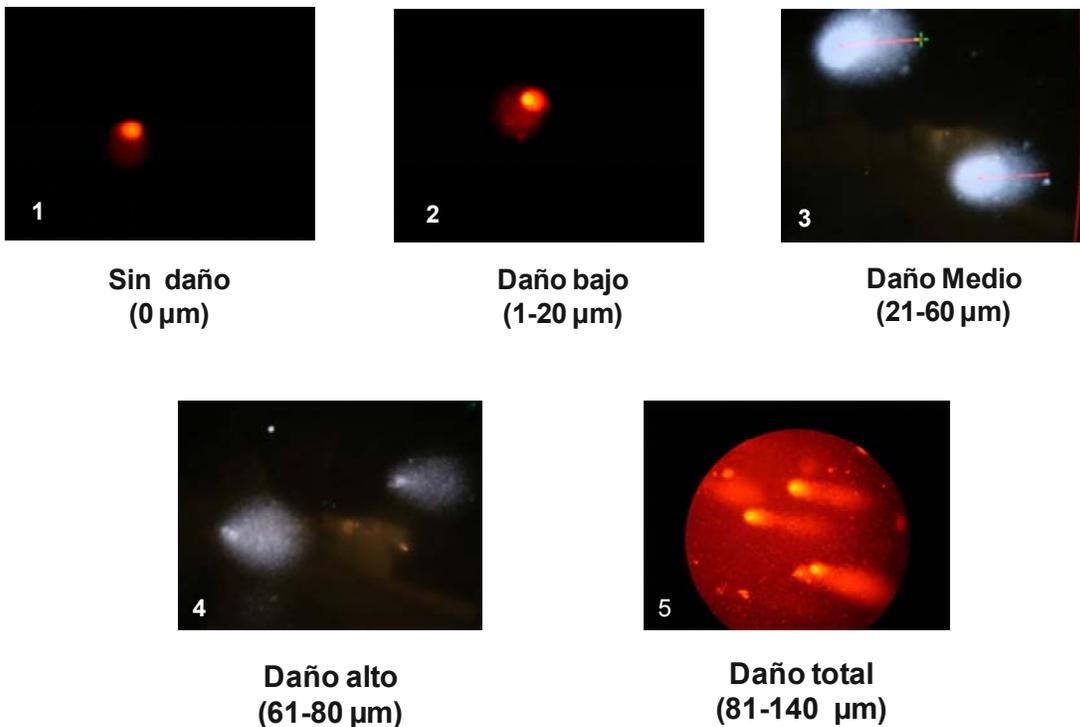
Estadio de desarrollo	HAP	CL <sub>50-48</sub> (µg/L)	Tiempo de exposición (horas)
Adultos	Fluoranteno	43.35 (20.13-65.13)	48
Metanauplios	Fluoranteno	75.45	48
Adultos	Benzo[α]pireno	141.56 (105.3-178.3)	48
Metanauplios	Benzo[α]pireno	216.5 (194.5- 238.3)	48
Adultos	Antraceno	1730 (1060-2710)	48
Metanauplios	Antraceno	932 (735.09-1539.7)	48

*Ensayo cometa A. franciscana.*

En la tabla 6 se muestran las diferentes categorías de daño en la cadena de ADN con base en la longitud promedio, en la figura 16 se presentan los diferentes niveles de daño que se identificaron visualmente.

**Tabla 6. Clasificación del daño en la cadena de ADN con base en la longitud promedio de la migración del ADN.**

Estadio	Longitud promedio ( $\mu\text{m}$ )	Categoría del daño
1	0	Sin daño
2	1-20	Bajo
3	21-60	Medio
4	60-80	Alto
5	80-140	Total



**Figura 16. Ejemplos de los diferentes niveles de daño del ADN: valoración cualitativa (visual) de la longitud del cometa de *A. franciscana* expuesta a fluoranteno, benzo[a]pireno y Antraceno.**

### Porcentaje de daño.

En los organismos expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno el mayor porcentaje de daño para la concentración de 4.8  $\mu\text{g/L}$  fue de 48 %, correspondiente a un daño medio (21-60  $\mu\text{m}$ ); para la concentración de 9.6  $\mu\text{g/L}$  el 60 % de las células presentaron daño medio (21-60  $\mu\text{m}$ ). El 37.7 % y el 31.2 % de las células presentaron daño alto (60 a 80  $\mu\text{m}$ ) en los tratamientos de 4.8  $\mu\text{g/L}$  y 9.6  $\mu\text{g/L}$ , respectivamente (tabla 7).

En los organismos expuestos a antraceno con una concentración de 82  $\mu\text{g/L}$  solo el 24 % presentaron daño medio, pero para la concentración de 820  $\mu\text{g/L}$  el 46 % de las células presentaron esta misma categoría de daño.

**Tabla 7. Porcentaje de las células por categoría de daño, de los organismos expuestos a diferentes concentraciones de HAPs.**

Tratamiento	Concentración ( $\mu\text{g/L}$ )	Bajo (1-20 $\mu\text{m}$ )	Medio (21-60 $\mu\text{m}$ )	Alto (61-80 $\mu\text{m}$ )	Total (81-140 $\mu\text{m}$ )
CTL de manipulación	----	76.4	21	2.7	----
CTL acetona*	----	50.34	43.15	4.11	2.4
Fluoranteno 1*	24	28.12	62.5	3.9	5.47
Fluoranteno 2*	48	35.2	49.81	10.49	4.49
Benzo( $\alpha$ ) pireno 1 *	4.8	6.35	48.41	37.7	7.54
Benzo( $\alpha$ ) pireno 2 *	9.6	0.97	60.49	31.22	7.32
Antraceno 1 *	82	34.6	24	2	----
Antraceno 2 *	820	25	46	6	----

CTL= control de manipulación, CTL acetona= control con solvente, \* Demuestra diferencias significativas con respecto al grupo control ( $X^2$ ,  $P < 0.05$ ).

### Longitud promedio.

En la tabla 8 se presentan los datos de longitud promedio obtenidos para cada uno de los tratamientos experimentales; el lote control de manipulación registró el menor daño ( $17.1 \pm 0.82 \mu\text{m}$ ), mientras que el control con acetona, provocó más daño (50 %, tabla 7) con una longitud promedio de  $26.2 \pm 0.11 \mu\text{m}$ . El análisis de Kruskal-Wallis demostró que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los organismos expuestos a los tóxicos y al solvente, respecto a los controles sin solvente (Anexo I). Los metanauplios expuestos a fluoranteno y antraceno tuvieron una longitud promedio que fue dos veces mayor (fluoranteno  $35.95 \mu\text{m}$  y  $37.97 \mu\text{m}$ ; antraceno  $37.07$  y  $36.02 \mu\text{m}$ ), y en el caso del benzo[ $\alpha$ ]pireno tres veces mayor ( $4.8 \mu\text{g/L} = 56.25 \text{ micras} \pm$

1.24 y 9.6 µg/L = 59 micras ± 0.99) que la de los controles representando esto diferencias significativas (p< 0.05). Fig. 17.

**Tabla 8. Longitud promedio de la cola del cometa (µm), desviación y estándar, error estándar medido para cada tratamiento experimental.**

	Control agua marina	Control* acetona	Fluoranteno* 24 µg/L	Fluoranteno* 48 µg/L	Benzo[α] pireno* 4.8 µg/L	Benzo[α] pireno* 9.6 µg/L	Antraceno* 82 µg/L	Antraceno* 820 µg/L
Promedio	17.09	26.2	35.95	37.97	56.25	58.96	37.07	36.02
Des. Std	12.3	19.05	21.2	23.31	19.66	14.22	9.25	20.71
<b>Error Std</b>	0.822	1.11	1.32	1.42	1.24	0.99	3.04	4.55

Des. Std= desviación estándar, Error Std= error estándar.

\*representa diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al control de manipulación.

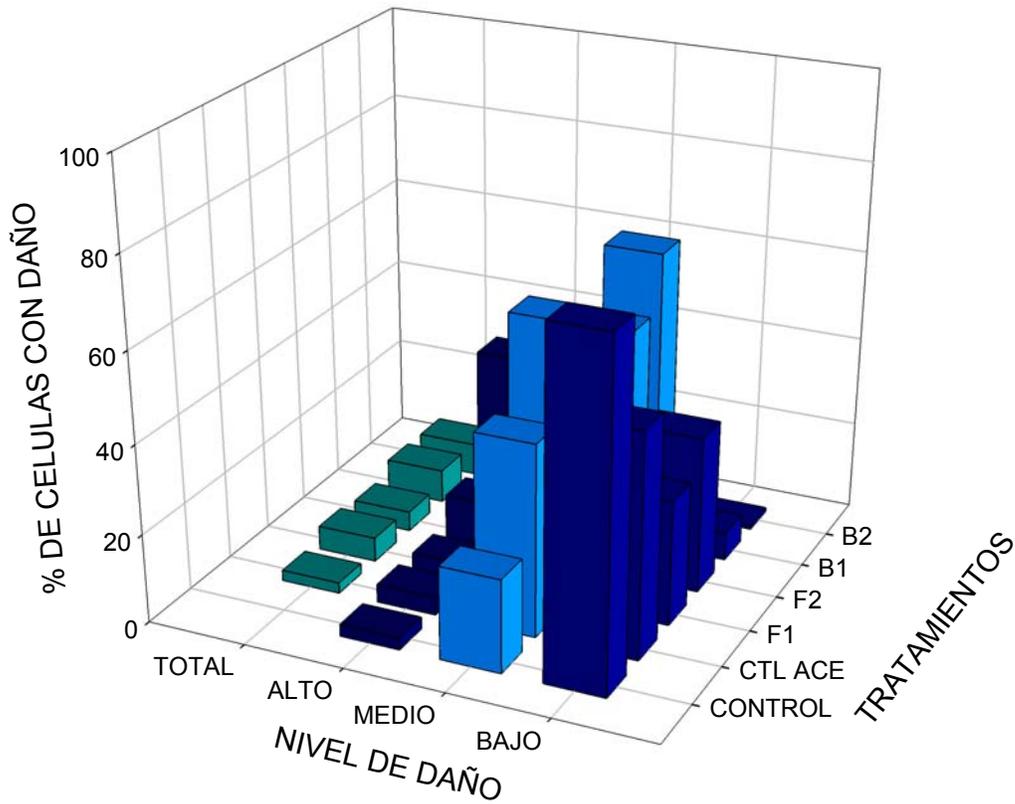


Figura 17. Respuesta de los metanauplios de *A. franciscana* expuestos a fluoranteno (F) benzo[ $\alpha$ ]pireno (B). Datos compilados de más de 200 células. CTL ACE = control de acetona; F1= fluoranteno a 24  $\mu\text{g/L}$ ; F2= fluoranteno a 48  $\mu\text{g/L}$ ; B1= benzo[ $\alpha$ ]pireno a 4.8  $\mu\text{g/L}$ ; B2= benzo[ $\alpha$ ]pireno a 9.6  $\mu\text{g/L}$ .

*Bioensayos con radiación solar en el Caribe Mexicano.*

*A. franciscana expuestas a fluoranteno.*

La  $CL_{50-0.5h}$  para fluoranteno calculada para 30 min de exposición fue de 55.47  $\mu\text{g/L}$  los intervalos de confianza calculados por el programa fueron de 46.6  $\mu\text{g/L}$  a 66.2  $\mu\text{g/L}$ . Cuando los organismos estuvieron expuestos a la radiación solar, el tiempo de muerte estuvo en función de la concentración de fluoranteno.

*A. franciscana expuesta a benzo[ $\alpha$ ]pireno.*

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a benzo[ $\alpha$ ]pireno calculada para 30 min de exposición con radiación solar ( $CL_{50-0.5h}$ ) aplicando el modelo probit fue de 3.75 con el intervalo de 1.56  $\mu\text{g/L}$  a 6.07  $\mu\text{g/L}$ . (Tabla 9).

**Tabla 9.  $CL_{50}$  para *Artemia franciscana* expuestas a fluoranteno y BaP.**

HAPs	$CL_{50-0.5h}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
Fluoranteno	55.47	30	30
BaP	(46.6 – 66.2) 3.75 (1.56 – 6.07)	30	30

*S. gigas expuestas a fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno.*

En la tabla 10 se observan las concentraciones letales media por exposición a fluoranteno ( $CL_{50-0.5h}$ ) calculada para 30 minutos de exposición a la radiación solar, la cual fue de 17.75 con un intervalo al 95 % de 0  $\mu\text{g/L}$  - 79.1  $\mu\text{g/L}$  con un tiempo de acumulación de una hora. Se determinó el tiempo de exposición en treinta minutos porque al cabo de algunos minutos las larvas comenzaban a morir.

La  $CL_{50}$  de mortalidad por exposición a BaP calculada para 30 minutos con radiación solar ( $CL_{50-0.5h}$ ) fue de 17.05 (10.91-26.25)  $\text{ng/L}$  con un tiempo de acumulación de 25 minutos y un tiempo de exposición de 30 minutos. (Tabla 10).

En la tabla 10 se observa que el hidrocarburo más fototóxico fue el BaP, porque los efectos se observaron con una concentración de un orden de magnitud menor al del fluoranteno. Se

demuestra así que la toxicidad está en función de la concentración del hidrocarburo y el tipo de hidrocarburo, así como de la presencia de radiación UV.

**Tabla 10.  $CL_{50-0.5h}$  para las larvas de caracol rosado *S. gigas* expuestas a fluoranteno y BaP.**

HAPs	$CL_{50}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
Fluoranteno con RSUV	17.75 (0-79.1)	60	30
BaP con RSUV	17.05 <b>ng/L</b> (10.91-26.25)	25	30

*C. radiatum* expuesta a fluoranteno.

La  $CL_{50}$  para fluoranteno calculada para una hora de exposición con radiación solar ( $CL_{50-1h}$ ) fue de 20.6  $\mu\text{g/L}$  (12.8-23.6). (Tabla 11).

**Tabla 11.  $CL_{50-1h}$  para las medusas expuestas a fluoranteno.**

HAPs	$CL_{50}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
Fluoranteno	20.6 (12.8-23.6)	30 a 60	60

*A. spinata* expuesta a fluoranteno.

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a fluoranteno calculada para una hora de exposición con radiación solar ( $CL_{50-1h}$ ) fue de 23.7  $\mu\text{g/L}$  con un intervalo de 21.6  $\mu\text{g/L}$  - 25.6  $\mu\text{g/L}$  con un tiempo de exposición con radiación solar de treinta minutos (Tabla 12).

**Tabla 12.  $CL_{50}$  para las *A. spinata* expuesta a fluoranteno.**

HAPs	$CL_{50-1h}$ ( $\mu\text{g/L}$ )	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
Fluoranteno	17.75 (0-79.1)	40	30

*A. spinata* expuesta a benzo[ $\alpha$ ]pireno.

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a fluoranteno calculada para una hora de exposición con radiación solar (CL<sub>50-1h</sub>) fue de 1.8 µg/L con un intervalo de 1.63 µg/L - 2.46 µg/L con un tiempo de exposición con radiación solar de treinta minutos (Tabla 13).

**Tabla 13. CL<sub>50</sub> para las *A. spinata* expuesta a fluoranteno.**

HAPs	CL <sub>50-1h</sub> (µg/L)	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
benzo[ $\alpha$ ]pireno	1.8 (1.63 - 2.46)	60	30

*L. tenuicornis* expuesto a fluoranteno.

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a fluoranteno calculada para una hora de exposición con radiación solar (CL<sub>50-1.0h</sub>) fue de 60 µg/L con un tiempo de exposición con radiación solar de una hora. Los intervalos de confianza que se calcularon, sin embargo, fueron muy grandes debido al escaso número de organismos que se emplearon para los bioensayos, se consideró que el tamaño de la muestra no fue representativo. Pese a la poca representatividad de la muestra, estos resultados pueden ser útiles ya que al menos dan un indicio de la magnitud que puede tener la CL<sub>50</sub> (tabla 14).

**Tabla 14. CL<sub>50-1h</sub> para *L. tenuicornis* expuesto a fluoranteno.**

HAPs	CL <sub>50-1h</sub> (µg/L)	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
fluoranteno	60	24	60

*L. tenuicornis* expuesto a benzo[ $\alpha$ ]pireno.

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a fluoranteno calculada para una hora de exposición con radiación solar (CL<sub>50-1.0h</sub>) fue de 1.9  $\mu\text{g/L}$  con un tiempo de exposición con radiación solar de 1:05 hora (Tabla 15). Los resultados para los camarones son poco confiables ya que solo se colectaron algunos organismos (en este caso la muestra tampoco fue representativa).

**Tabla 15. CL<sub>50</sub> para *L. tenuicornis* expuesto a benzo[ $\alpha$ ]pireno.**

HAPs	CL <sub>50-1h</sub> ( $\mu\text{g/L}$ )	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
Benzo[ $\alpha$ ]pireno	1.9	60	65

*P. gracilis* expuesto a fluoranteno.

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a fluoranteno calculada para una hora de exposición con radiación UV (CL<sub>50-1.0h</sub>) fue de 60  $\mu\text{g/L}$  con un tiempo de exposición con radiación solar de 1:15 hora (Tabla 16). Los intervalos de confianza que se calcularon fueron extremos debido al pequeño tamaño de muestra, la cual no fue representativa

**Tabla 16. CL<sub>50</sub> para *P. gracilis* expuesto a fluoranteno.**

HAPs	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/L}$ )	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
fluoranteno	60	60	75

Los resultados para *L. tenuicornis*, *P. gracilis* demuestran que el número de ejemplares que se emplearon para determinar la CL<sub>50</sub> fue muy pequeño debido y por lo tanto la variabilidad fue muy grande, sin embargo estos resultados son útiles porque nos dan una idea de la concentración que mata al 50 % de la población es un análisis presuntivo del cálculo de la concentración.

*H. zoostericola* - *T. manningi* expuestos a fluoranteno.

Los resultados para estas dos especies se presentan juntos porque al realizar los experimentos se consideraron de la misma especie, sin embargo su posterior identificación permitió determinar que los organismos pertenecían a dos especies diferentes.

La CL<sub>50</sub> para fluoranteno calculada para 30 min de exposición con radiación solar (CL<sub>50-0.5h</sub>) fue de 75.6 µg/L con un intervalo de 95 % de 26.98 µg/L -1453267 µg/L (Tabla 17). Los intervalos de confianza son muy amplios y esto se debe a que el número de organismos y de concentraciones empleados para el análisis, no fueron representativos.

**Tabla 17. CL<sub>50</sub> para *H. zoostericola* *T. manningi* expuestas a fluoranteno.**

HAPs	CL <sub>50</sub> (µg/L)	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
Fluoranteno	75.6 (26.98 – 1453267)	60	30

*H. zoostericola* -*T. manningi* expuestos a benzo[α]pireno.

La CL<sub>50</sub> por exposición a benzo[α]pireno calculada para 30 min de exposición con radiación solar (CL<sub>50-0.5h</sub>) fue de = 51.7 µg/L con un intervalo al 95 % de 21.6 µg/L -- 112.75 µg/L (Tabla 18).

**Tabla 18. CL<sub>50</sub> para *H. zoostericola* *T. manningi* expuestas a benzo[α]pireno.**

HAPs	CL <sub>50-0.5h</sub> (µg/L)	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
benzo[α]pireno	51.7 (21.6-112.75)	60	30

*T. carolinense* expuestos a fluoranteno.

La CL<sub>50-0.5h</sub> calculada para 30 min de exposición a RSUV para esta especie fue de 15.2 µg/L (6.73-30.12) (Tabla 19).

**Tabla 19. CL<sub>50</sub> para *T. carolinense* expuesto a fluoranteno.**

HAPs	CL <sub>50</sub> (µg/L)	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
fluoranteno	15.2	60	30

*T. carolinense* expuesto a benzo[α]pireno.

La concentración en la que se presentó el 50 % de mortalidad por exposición a fluoranteno calculada para 30 min de exposición con radiación solar (CL<sub>50-0.5h</sub>) fue de 3.8 µg/L (2.71-595991.9) (Tabla 20). Los intervalos de confianza son extremos porque el número de organismos fue

pequeño, no se contó con un tamaño adecuado de la muestra y esto generó una amplia variabilidad en los datos.

**Tabla 20. CL<sub>50</sub> para *T. carolinense* expuesto a benzo[α]pireno.**

HAPs	CL <sub>50-0.5h</sub> (µg/L)	Tiempo de acumulación (min)	Tiempo de exposición (min)
benzo[α]pireno	3.8 (2.71-595991.9)	60	30

Los resultados *H. zoostericola*, *T. manningi* y *T. carolinense* demuestran que el número de ejemplares que se emplearon para determinar la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) fue muy pequeño y por lo tanto la variabilidad fue muy grande, sin embargo estos resultados son útiles porque proporciona una primera aproximación de análisis de la CL<sub>50</sub>.

*Porites divaricata* Le Sueur, 1821.

*P. divaricata* expuestos a fluoranteno.

La concentración letal 50 (CL<sub>50-96h</sub>) calculada por el método probit fue de 31.4 µg/L con un intervalo al 95 % de 22.4 µg/L - 44.9 µg/L, sin embargo la CL<sub>50</sub> para los corales expuestos solo al hidrocarburo sin radiación solar fue de 435 µg/L (72.4 µg/L – α) (Tabla 21).

La exposición del coral *P. divaricata* al fluoranteno, causó una disminución en la eficiencia fotoquímica que denota el estado fisiológico del coral a partir del tercer y hasta el sexto día de exposición, además se observó la ocurrencia de blanqueamiento y mortalidad, con lo que se demuestra que la fototoxicidad está en función de la concentración del hidrocarburo y la exposición de radiación. En la tabla 21 se observan las diferentes respuestas de este coral a la exposición a fluoranteno y la radiación UV. En las figuras 18, 19, 20 y 21 se observa el comportamiento de la eficiencia fotoquímica durante el curso del experimento. En la figura 22 se observa que los controles de manipulación y con solvente se identificaron como sanos porque presentaron los pólipos extendidos. Solo se observan corales muertos en la máxima concentración (60 µg/L) porque no hay presencia de pólipos y el tejido estaba necrótico. En la figura 23 se observa que los corales expuestos al hidrocarburo sin radiación solar estaban sanos ya que se apreciaron los pólipos extendidos.

**Tabla 21. Número de organismos de *P. divaricata* por estado fisiológico observado después de la exposición a fluoranteno. Con radiación solar y sin radiación.**

Número de organismos por estado fisiológico observado						
Tratamiento	Normal		Blanqueado		Muerto	
	SIN RUV	Con RSUV	Sin RUV	Con RSUV	Sin RUV	Con RSUV
Control de manipulación	6	9	5	3	1	----
Control solvente (Acetona)	11	8	1	2	----	2
15 µg/L	12	4	2	6	3	2
30 µg/L	7	4	----	4	----	4
60 µg/L	11	----	----	1	1	11

RUV= con radiación solar sin radiación UV

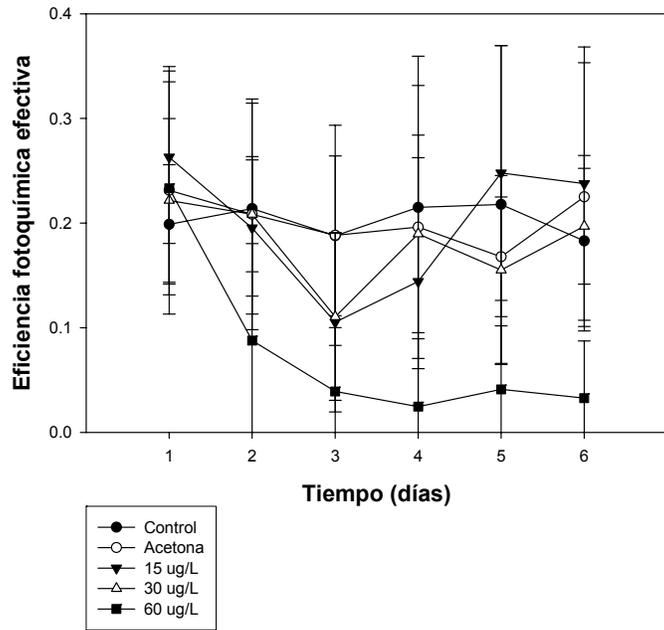


Figura 18. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral *Porites divaricata* expuestos a fluoranteno y radiación UV.

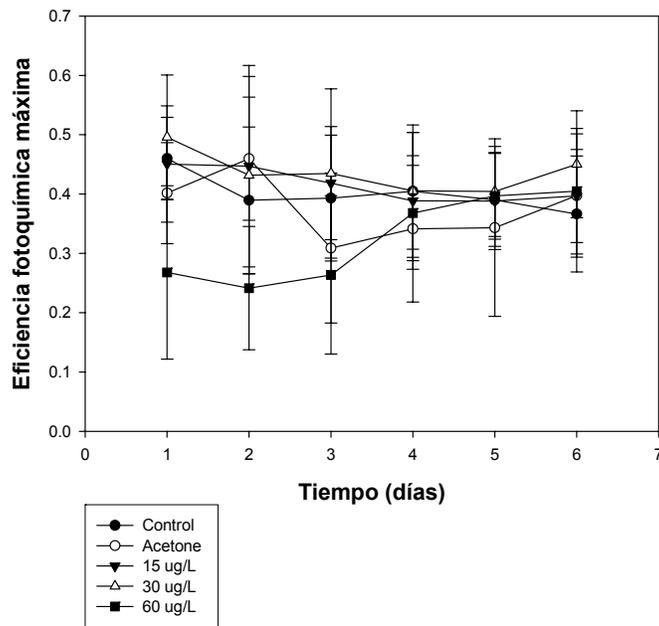


Figura 19. Eficiencia fotoquímica máxima del coral *Porites divaricata* expuestos a fluoranteno y radiación UV.

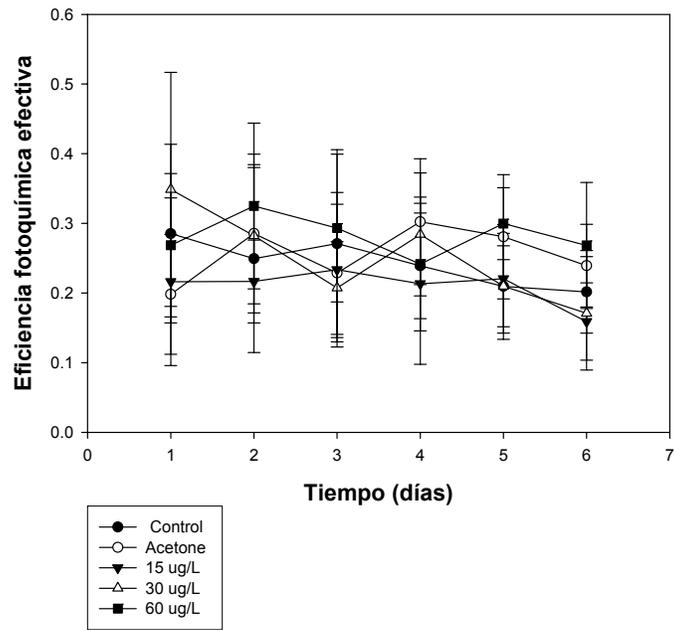


Figura 20. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral *Porites divaricata* expuestos a fluoranteno y con radiación solar sin UV.

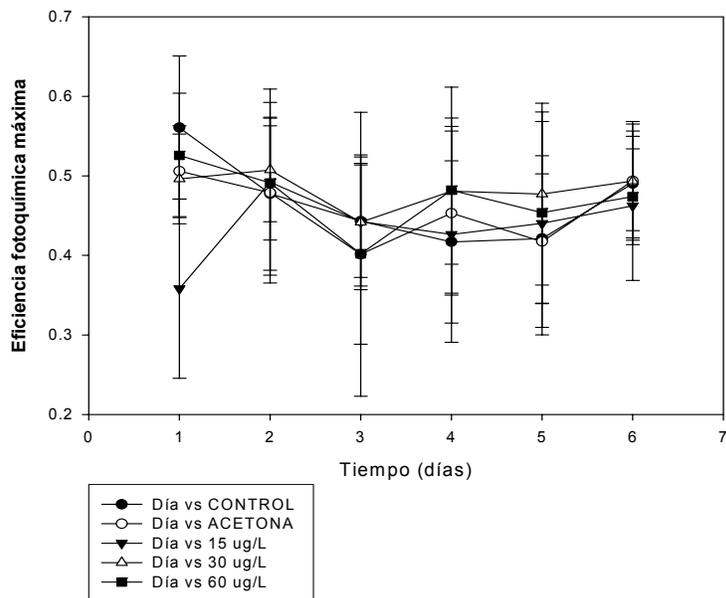
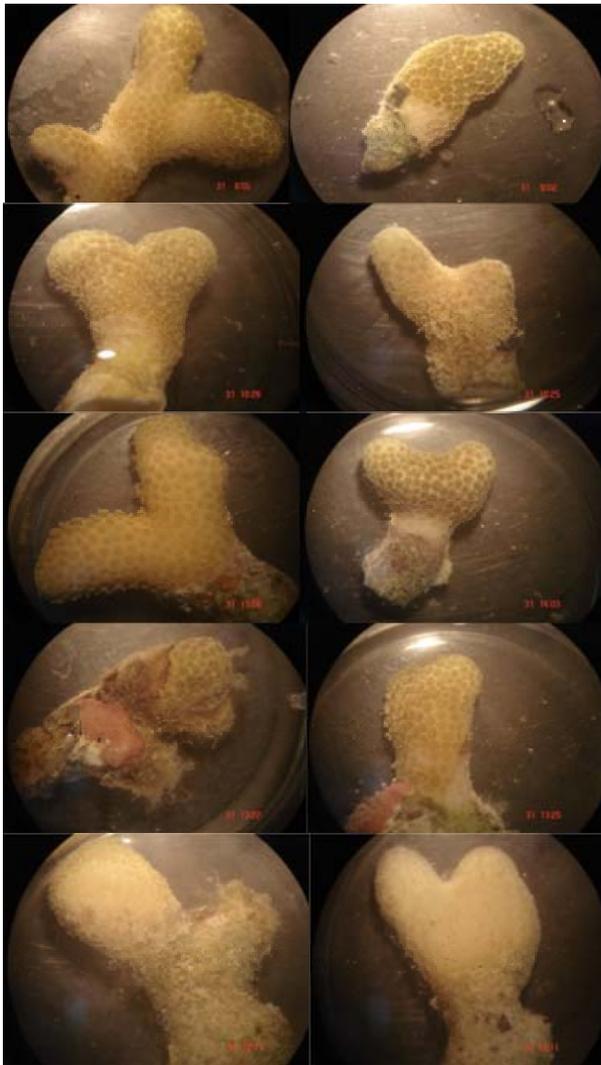


Figura 21. Eficiencia fotoquímica máxima del coral *Porites divaricata* expuestos a fluoranteno y con radiación solar sin UV.



**Control de manipulación**

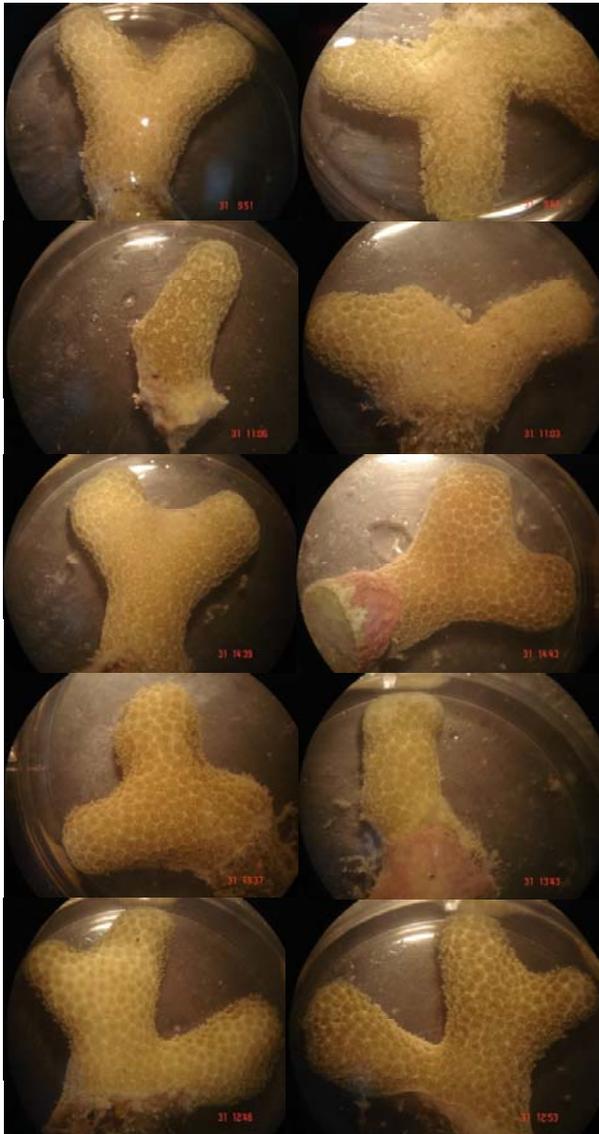
**Control con solvente (acetona)**

**15 µg/L**

**30 µg/L**

**60 µg/L**

Figura 22. *Porites divaricata* expuestos a diferentes concentraciones de fluoranteno y radiación solar. Los corales se observan con los pólipos extendidos y con la máxima concentración se observa la ausencia de los pólipos y el tejido esta necrosado.



Control de manipulación

Control de solvente (acetona)

15 µg/L

30 µg/L

60 µg/L

**Figura 23. *Porites divaricata* expuestos a diferentes concentraciones de fluoranteno y con radiación solar sin UV. En la presente figura se observan que en todas las concentraciones y en los corales la presencia de pólipos (corales sanos).**

*Porites divaricata* expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno.

El valor de concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) calculado para el coral *Porites divaricata* expuesto a benzo[ $\alpha$ ]pireno y radiación solar UV fue de 3.78 µg/L con un intervalo al 95 % de (2.36 µg/L y 218.4 µg/L). La CL<sub>50</sub> para los corales expuestos al hidrocarburo con radiación solar sin UV fue de 81.6 µg/L con un intervalo de 4.87 µg/L y el infinito.

Existieron diferencias significativas en la eficiencia fotoquímica en aquellos organismos expuestos a 1.9 y 3.8 µg/L. En las figuras 24, 25, 26 y 27 se observa el comportamiento de los

corales durante el curso del experimento, graficando la eficiencia fotoquímica a lo largo de los seis días de exposición a benzo[α]pireno así se identifica que después del segundo día no se apreciaron diferencias significativas. Además se observó blanqueamiento y mortalidad, lo que demuestra que la fototoxicidad está en función de la concentración del hidrocarburo y la cantidad de radiación UV, como lo demuestran los resultados. En la tabla 22 se presentan las diferentes respuestas de la exposición a benzo[α]pireno y la radiación UV los corales tuvieron apariencia física normal, blanqueado y muerto. En la figura 28 y 29 se muestran los resultados visuales del estado fisiológico del coral en presencia de radiación solar y con radiación solar sin UV.

**Tabla 22. Número de organismos de *P. divaricata* por estado fisiológico observado después de la exposición a benzo[α]pireno. Con radiación solar y sin radiación. Número de organismos por estado fisiológico observado.**

Número de organismos por estado fisiológico observado						
Tratamiento	Normal		Blanqueado		Muerto	
	SIN RUV	CON RSUV	SIN RUV	CON RSUV	SIN RUV	CON RSUV
Control de manipulación	6	4	6	7	----	1
Control solvente (Acetona)	6	7	5	7	1	2
0.95	7	7	4	2	1	3
1.9	7	8	4	----	1	4
3.8	9	2	----	4	3	6

RUV= con radiación solar sin UV

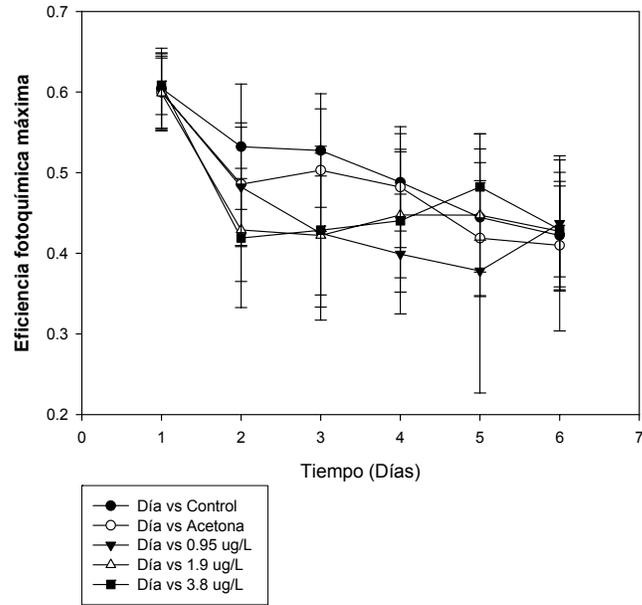


Figura 24. Eficiencia fotoquímica máxima del coral *Porites divaricata* expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno en presencia de radiación UV.

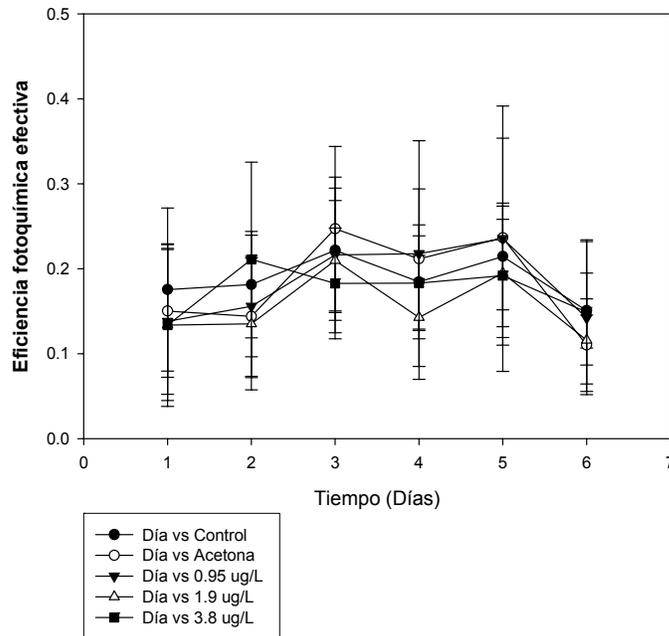


Figura 25. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral *Porites divaricata* expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno en presencia de radiación UV.

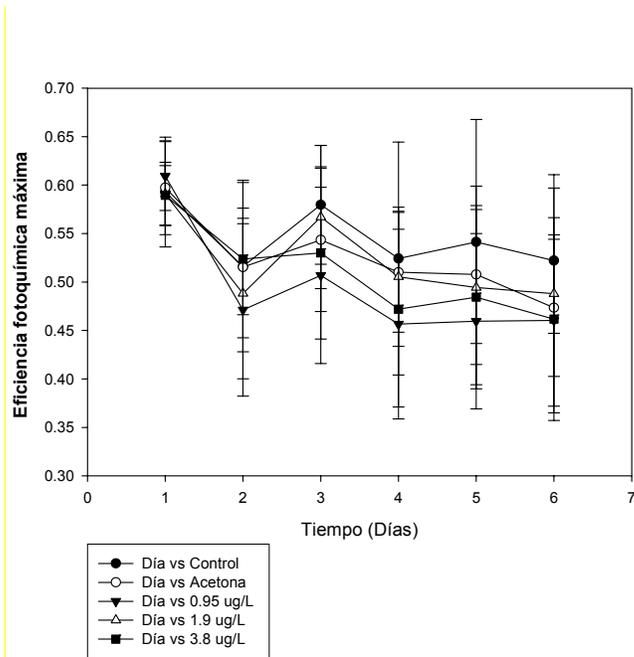


Figura 26. Eficiencia fotoquímica máxima del coral *Porites divaricata* expuestos a benzo[α]pireno con radiación solar sin UV.

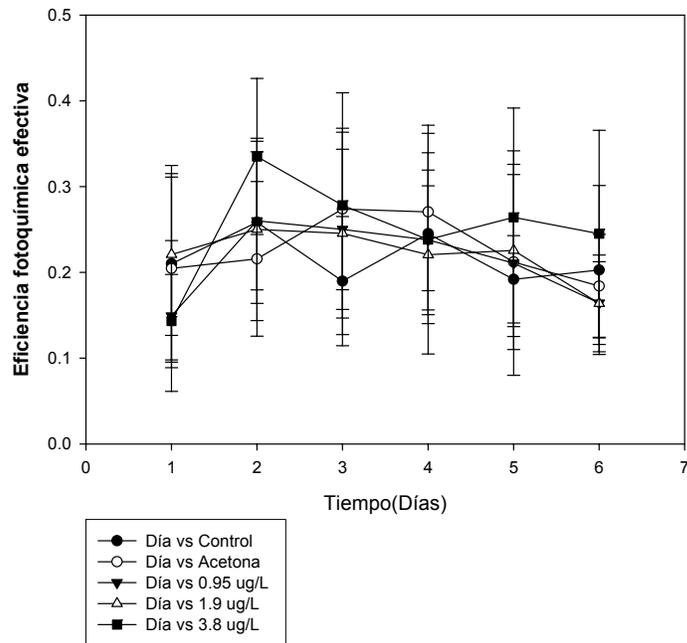
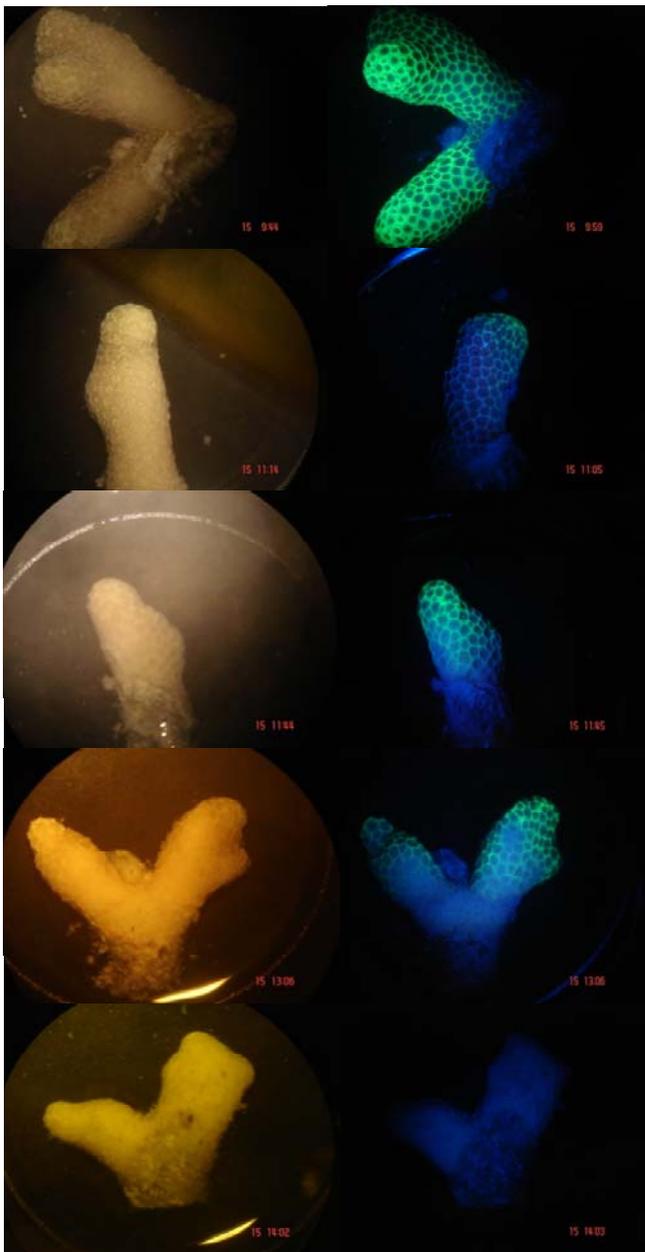


Figura 27. Eficiencia fotoquímica efectiva del coral *Porites divaricata* expuestos a benzo[α]pireno con radiación solar sin UV.



Control de manipulación

Control de solvente (acetona)

0.95 µg/L

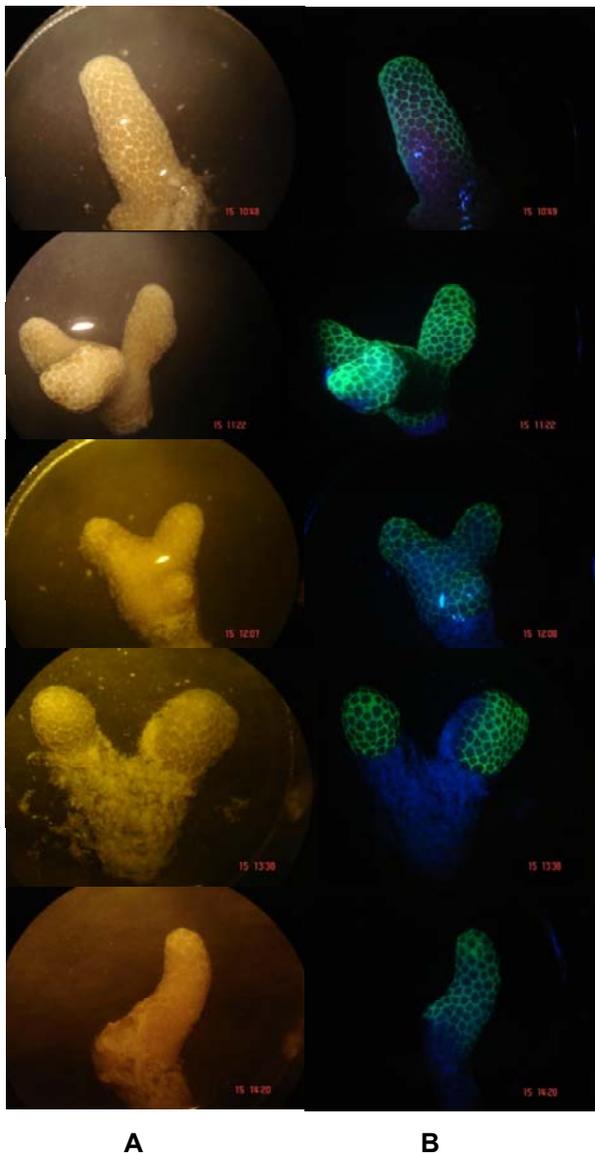
1.9 µg/L

3.8 µg/L

A

B

Figura 28. Fotografías de *Porites divaricata* empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno, con radiación solar. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. En la figura se observan corales blanqueados y muertos por exposición al hidrocarburo.



Control de manipulación

Control de solvente (acetona)

0.95 µg/L

1.9 µg/L

3.8 µg/L

A

B

**Figura 29. Fotografías de *Porites divaricata* empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno, con radiación solar sin UV. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. Los corales se observan blanqueados por exposición al hidrocarburo.**

Los corales expuestos a 1.9 y 3.8 µg/L de benzo[ $\alpha$ ]pireno mostraron diferencias significativas en la eficiencia fotoquímica efectiva en las primeras mediciones. Después del segundo día no se detectaron más diferencias, pues al parecer las algas se aclimataron o se movieron a la parte sombreada del coral (la parte de abajo). Estos resultados fueron publicados (Guzmán-Martínez *et al*, 2007) con anterioridad pero forman parte de este trabajo.

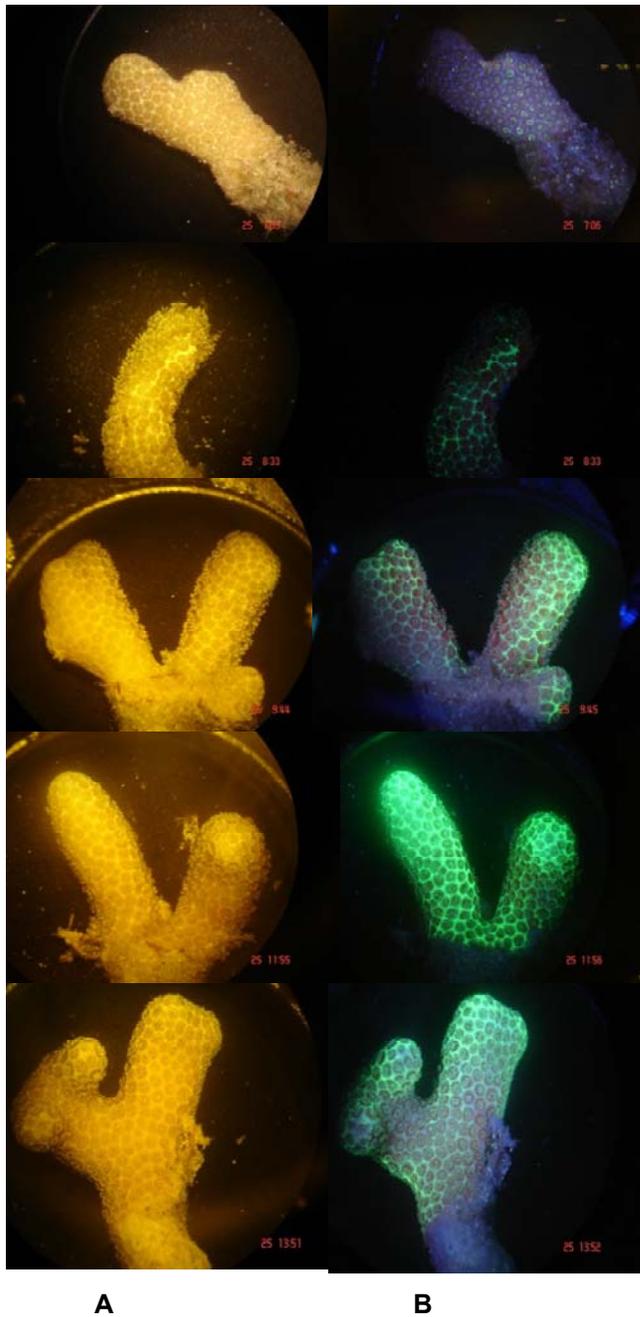
*Porites divaricata* expuestos a antraceno.

La concentración letal media según el método binomial se ubica por arriba de 60 µg/L. En la tabla 23 se presentan los resultados de *P. divaricata* expuestos a antraceno con radiación solar sin UV y con radiación solar. Se observan las diferentes respuestas de la exposición a antraceno y la radiación UV en el número de corales con apariencia normal, blanqueado y muerto. En los experimentos de la exposición del coral *Porites divaricata* a antraceno no se evaluó la eficiencia fotoquímica porque el fluorómetro se descompuso; sin embargo, al final del experimento se tomaron fotografías de los corales para verificar visualmente el estado fisiológico del coral aplicando radiación azul y empleando un filtro amarillo colocado en la cámara (figuras 30 y 31), para llevar un registro visual de los diferentes estados físicos del coral después de la exposición a antraceno.

**Tabla 23. Número de organismos de *P. divaricata* por estado fisiológico observado después de la exposición a antraceno. Con radiación solar y sin radiación.**

Número de organismos por estado fisiológico observado						
Tratamiento	Normal		Blanqueado		Muerto	
	SIN RUV	CON RSUV	SIN RUV	CON RSUV	SIN RUV	CON RSUV
Control de manipulación	11	5	1	7	0	0
Control solvente (Acetona)	6	6	6	6	0	0
15 µg/L	2	6	4	5	6	1
30 µg/L	5	5	7	6	0	1
60 µg/L	2	4	10	7	0	1

RUV= con radiación solar sin UV



Control de manipulación

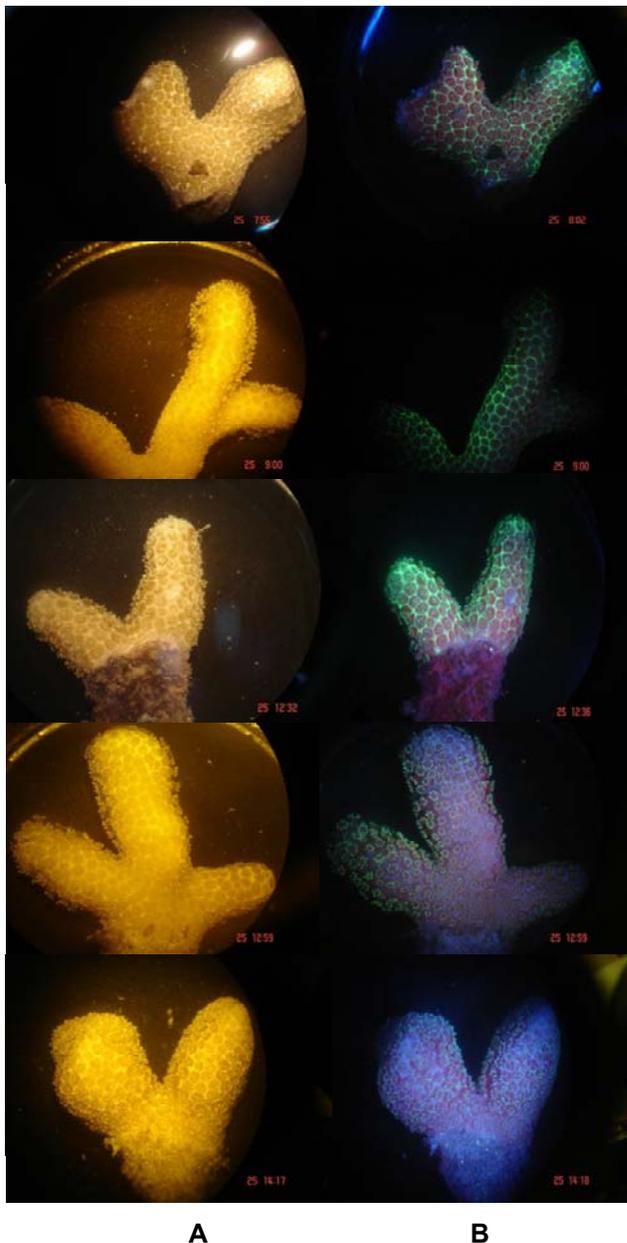
Control de solvente (acetona)

15 µg/L

30 µg/L

60 µg/L

Figura 30. Fotografías de *Porites divaricata* empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a antraceno y con radiación solar. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. Los corales se observan sanos y blanqueados.



Control de manipulación

Control de solvente (acetona)

15 µg/L

30 µg/L

60 µg/L

**Figura 31.** Fotografías de *Porites divaricata* empleando una lámpara azul y filtro amarillo expuestos a antraceno y con radiación solar sin UV. (A) Radiación blanca; (B) radiación fluorescente. Los corales se observan sanos y blanqueados.

*Exposición a la RSUV de los organismos expuestos a fluoranteno.*

En la tabla 24 se observan las diferentes exposiciones de radiación que recibieron los organismos durante la exposición de estos a los hidrocarburos, para *A. franciscana*, el tiempo de exposición a la radiación UV fue de 30 minutos y la hora de exposición entre las 12:45 del día a las 15:00 horas. Los resultados expresados en energía y fotones (cuanta) aplicando el modelo Zenith A que nos

indica que la exposición de radiación UVB, UVA que recibió cada experimento, en promedio para radiación UVBQ, fue de 358.35  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  y para UVAQ fue de 6223.52.  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$ . En *S. gigas* la exposición fue de 30 minutos y la hora de exposición entre las 15:15 del día a las 15:40 horas, la exposición de radiación UVBQ, UVAQ, fue de 154.27 y 3114.05  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  respectivamente.

Para *A. spinata* la cantidad de fotones que recibieron los experimentos (la exposición) en promedio fue de 358.35  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  de UVBQ y 6223.52  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  de UVAQ, el tiempo de exposición a la radiación UV en promedio de 32 minutos y la hora de exposición entre las 13:44 del día a las 14:15 horas.

Para *L. tenuicornis* el tiempo de exposición a la radiación UV fue de 30 minutos y la hora de exposición entre las 13:43 del día a las 14:40 horas. Aplicando el modelo Zenith A los resultados fueron expresados en energía y fotones (cuanta) estos valores nos dan la exposición de radiación UVBQ, UVAQ que recibió cada experimento, de radiación UVBQ 308.43  $\mu\text{mol}/\text{m}^2$  y de UVAQ 5246.92  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$ .

Para *Hippolythe zoostericola--Thor manningi* el tiempo exposición para estas especies fue de 27.5 minutos, la hora de exposición fue de las 13:00 a las 13:40 horas, la exposición de que recibieron fue de 635.96  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  para UVBQ y 11055.05  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  para UVAQ.

Para *Tozeuma carolinense manningi* el tiempo exposición para estas especies fue de 92.5 minutos, la hora de exposición fue de las 13:35 a las 15:15 horas, la exposición de que recibieron fue de 732.85  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  para UVBQ y 6729.38  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  para UVAQ. Estos valores nos indica que la radiación solar es varios ordenes de magnitud mayor que en el laboratorio.

**Tabla 24. Exposición a RUV de los organismos expuestos a fluoranteno**

Especie	Tiempo de exposición sin UV (min)	Tiempo de exposición con UV (min)	$\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$	
			UVBQ	UVAQ
<i>Artemia franciscana</i>	40	27.5	358.35	6223.52
<i>Strombus gigas</i>	25	30	154.27	3114.05
<i>Acartia spinata</i>	40	30	358.35	6223.52
<i>Leander tenuicornis</i>	24	60	308.43	5246.92
<i>Hippolyte zoostericola, Thor manningi</i>	27.5	65	635.96	11055.05
<i>Tozeuma carolinense</i>	92.5	45	732.85	6729.38

*Exposición a la RSUV de los organismos expuestos a BaP.*

En la tabla 25 se observan los resultados de la exposición a la radiación UV y la exposición que recibieron los organismos al estar expuestos al hidrocarburo durante el bioensayo. Se trabajó en la hora que el sol estaba en el Zenith para que recibieran la mayor cantidad de radiación, *Hippolythe zoostericola-Thor manningi* fueron los organismos que recibieron la mayor exposición de radiación expresada en cuantas (cantidad de fotones por experimento) 430.69  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  para UVBQ y 8115.04  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{experimento}$  para UVAQ.

Estos valores nos indica que la radiación solar es varios ordenes de magnitud mayor que en el laboratorio.

**Tabla 25. Exposición de RUV de los organismos expuestos a BaP.**

Especie	Tiempo de exposición sin UV (min)	Tiempo de exposición con UV (min)	$\mu\text{mol}/\text{m}^2$ / experimento	
			UVBQ	UVAQ
<i>Artemia franciscana</i>	52.71	28.28	271.46	4758.96
<i>Strombus gigas</i>	25	30	146.43	3010.54
<i>Acartia spinata</i>	37.5	32.5	270.58	4961.06
<i>Hippolythe zoostericola, Thor manningi</i>	52.5	65	430.69	8115.04
<i>Tozeuma carolinense</i>	92.5	45	732.85	6729.38

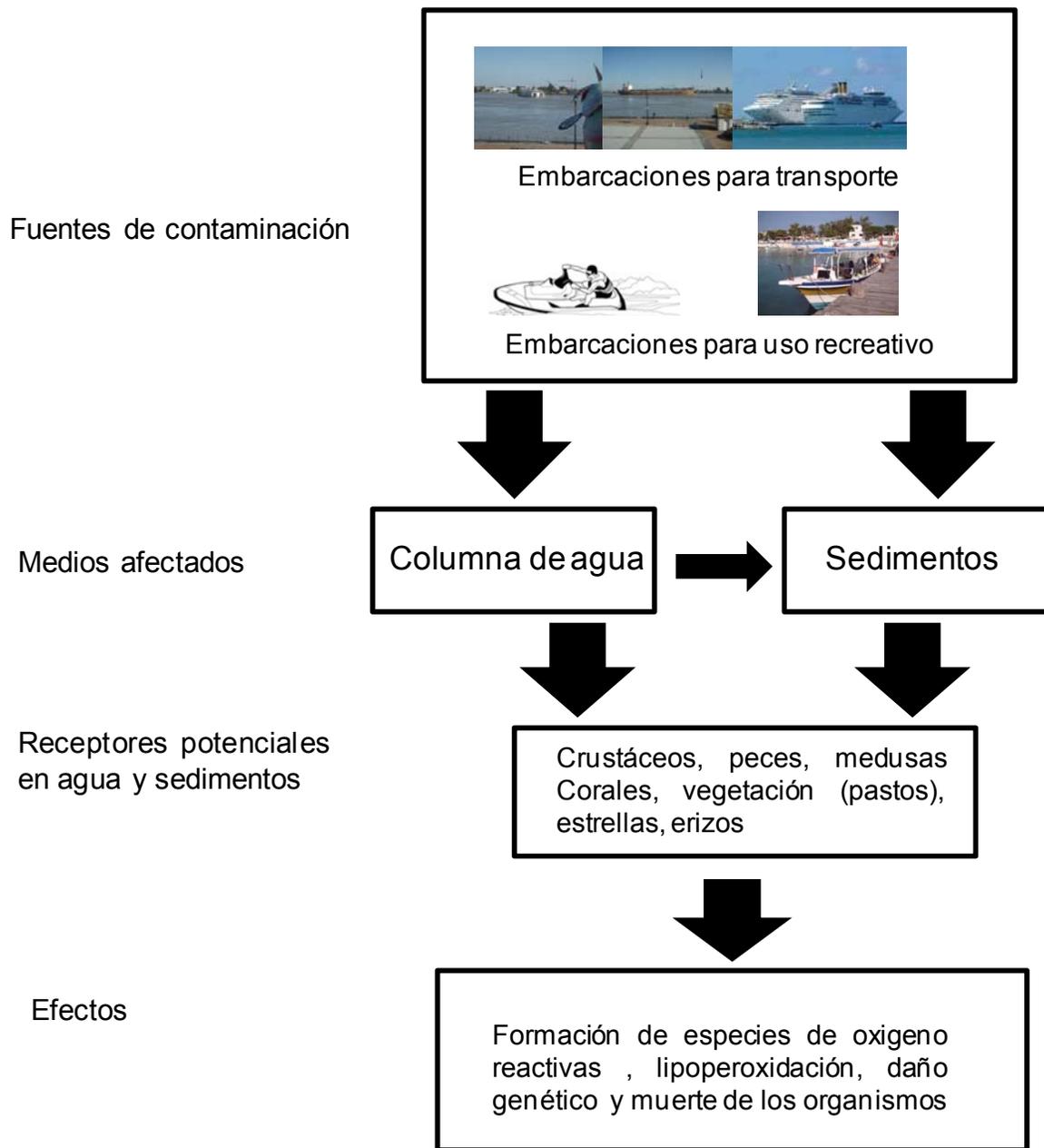
*Evaluación de riesgo ecológico (ERE).*

*Modelo conceptual*

En la figura 31 se describe el modelo conceptual propuesto para el presente caso de estudio. Se identificaron como posibles fuentes de contaminación por HAPs a las embarcaciones recreativas (lanchas y motos acuáticas) y de transporte (cruceros, transbordadores y buques de transporte), ya que estos requieren el uso de gasolina y diesel para su funcionamiento. Se sabe que la combustión incompleta de combustibles produce HAPs (Neff, 1979). Una vez en el medio acuático, una fracción importante de los hidrocarburos se asocia a la materia orgánica particulada y se deposita en los sedimentos, sin embargo, otra fracción permanece disuelta en la columna de agua donde los compuestos pueden sufrir fotodegradación (fotólisis o fotooxidación), Esta porción es órdenes

de concentración menor que la que se deposita en los sedimentos y tanto los HAPs asociados al sedimento, como los que permanecen en la columna de agua y sus foto productos pueden ser bioacumulados por los organismos, identificando como receptores potenciales los organismos asociados a la zona arrecifal y los mismos corales.

Cuando la radiación solar ultravioleta A (280 - 400 nm) está presente en el hábitat de estos organismos puede producirse fototoxicidad. Debido a la foto activación de los HAPs y al metabolismo celular se pueden formar radicales libres y especies de oxígeno reactivas (ROS por sus siglas en inglés) que dañan las membranas y al ADN, provocando finalmente la muerte de aquellos organismos cuyos sistemas de reparación hayan sido rebasados.



**Figura 32. Modelo conceptual desarrollado para el Complejo Lagunar Bojorquez-Nichupte y la laguna arrecifal de Puerto Morelos.**

*Caracterización del riesgo.*

Los resultados del cálculo de los cocientes de peligro, se presentan en las tablas 26 y 27, en ellos se observa que para todas las especies probadas los valores del cociente resultaron menores que

1, lo que significa que el riesgo actual es insignificante para fluoranteno y BaP. Esto era de esperarse ya que para que el riesgo ocurra el estresor debe tener la capacidad de causar uno o más efectos adversos, además de que debe ocurrir en conjunto con un componente ecológico, con una duración y con una magnitud suficiente para provocar el efecto adverso identificado (Chapman 2006). En los análisis de agua por HPLC no se encontraron HAPs o estaban en concentraciones muy bajas (de los 6 hidrocarburos fototóxicos solo se detectó uno en una localidad) (Anexo III).

**Tabla 26. Cocientes de peligro para diferentes especies expuestas a fluoranteno y RSUV.**

<b>Especie</b>	<b>CL<sub>50</sub></b>	<b>Cociente de peligro</b>
<i>Strombus gigas</i>	17.75	0.013
Larvas de caracol rosado	(0-79.1)	
<i>Cladonema radiatum</i>	20.6	0.010
Medusa	(12.8-23.6)	
<i>Pachygrapsus gracilis</i>	60	0.0035
Cangrejos		
<i>Acartia spinata</i>	23.7	0.009
Copépodos	(21.6-25.6)	
CAMARONES		
<i>Leander tenuicornis</i>	60	0.0035
<i>Tozeuma carolinense</i>	15.2	0.014
Camarón de pastos	(6.7-30.1)	
<i>Hippolyte zostericola</i>	75.6	0.003
<i>Thor manningi</i>	(26.98-1453267)	
<i>Porites divaricata</i>	31.4	0.007
	(22.4 – 44.9)	
<i>Artemia franciscana</i>	55.47	0.004
Campo	(46.6 – 66.2)	

\*Límite de detección para fluoranteno: 0.21

**Tabla 27. Cocientes de peligro para diferentes especies expuestas a benzo[α]pireno y RSUV.**

<b>Especie</b>	<b>CL<sub>50</sub></b>	<b>Cociente de riesgo</b>
<i>Strombus gigas</i>		0.0013
Larvas de caracol rosado		
<i>Cladonema radiatum</i>	0	0
Medusa		
<i>Pachygrapsus gracilis</i>	0	0
Cangrejos		
<i>Acartia spinata</i>	1.8	0.013
Copépodos	(1.63 - 2.46)	
CAMARONES		
<i>Leander tenuicornis</i>	1.9	0.012
<i>Tozeuma carolinense</i>	3.8	0.006
Camarón de pastos	(2.7 – 595991.9)	
<i>Hippolyte zostericola</i>	29.7	0.0008
<i>Thor manningi</i>	15.36 – 59.4	
<i>Porites divaricata</i>	2.7	0.008
	(1.86 – 5.7)	
<i>Artemia franciscana</i>	3.75	0.006
Campo	(1.56 – 6.07)	

\*Limite de detección para BaP: 0.023

## DISCUSIÓN

Se observó un efecto de la fototoxicidad del fluoranteno, benzo[*a*]pireno (BaP) y antraceno en los bioensayos realizados en el laboratorio y en el campo. Este efecto ha sido caracterizado, identificado y demostrado en diversos trabajos donde exponen a diferentes organismos como los peces (Barrón 2003; Barrón *et al.*, 2000; Choi y Oris 2000a; Choi y Oris 2000b; Oris *et al.*, 1990; Oris 1986; Goncalves *et al.*, 2008; Little *et al.*, 2000); crustáceos (Allred y Giesy 1985, Boese 1998; Barata *et al.*, 2005; Barata *et al.*, 2002, Bellas y Thor 2008; Bellas 2007; Diamond *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2009; Lampi 2005; Lampi *et al.*, 2005; Oberdortes *et al.*, 2000; Peachey Jempe 2005; Ramírez 1997, Wernersson y Dave 1997); corales (Guzmán-Martínez *et al.*, 2007; Peachey 1995; Peachey y Crosby 1996; Peters *et al.*, 1997); bivalvos (Kirby 2007; Lyons *et al.*, 2002; Pelletier 2000; Pelletier 1997; Weinsten 2001); plantas (Huang *et al.*, 1997, Kummerova 2007; Petersen 2008, anfibios Ankley 1998; Hatch y Burton 1998; Monson 1999); y otros organismos (Bellas *et al.*, 2008; Pelletier 2006; Yu *et al.*, 2006). Estos trabajos demuestran que existen efectos de fototoxicidad de los HAPs en presencia de radiación UV, esta toxicidad está en función de su concentración y de la radiación solar a la que se exponen los organismos. Este trabajo contribuye a ampliar la base de datos de fototoxicidad en organismos marinos, para los que existen pocos datos, especialmente para especies del Caribe donde prácticamente no existen reportes.

### *Bioensayos en laboratorio con A. franciscana.*

Los resultados del presente trabajo demostraron que los metanauplios fueron 1.7 veces más resistentes a la exposición de fluoranteno y 1.5 veces al efecto del BaP que los adultos de *A. franciscana*, no así para antraceno, siendo los adultos 1.8 veces más resistentes que los metanauplios. En este trabajo se demostró que los metanauplios resultaron más resistentes a la presencia de los hidrocarburos fluoranteno y BaP, a pesar de que se esperaba que los metanauplios fueran más sensibles por su intensa actividad celular y su desarrollo. Solo en el caso del antraceno se demostró que fueron más sensibles a este hidrocarburo.

Los adultos presentaron al parecer una condición fisiológica, baja tal vez provocada por la manipulación que se realiza para su obtención ya que fueron atrapados en una salina en Mérida Yucatán, embolsados, trasladados por avión y mantenidos en las bolsas saturadas de oxígeno hasta su venta en la Ciudad de México.

La toxicidad de los tres hidrocarburos, fluoranteno, BaP y antraceno así como la intensidad de la radiación UVA artificial que se probó en estos experimentos, con una lámpara de 55  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

y expuestos por 48 horas, demostró que estos hidrocarburos aromáticos policíclicos se fotoactivaron.

Se realizaron bioensayos en la oscuridad para comprobar que los organismos al ser expuestos a los HAPs sin radiación UV no morían después de 48 horas de exposición (datos no presentados). Los resultados del presente estudio demostraron que la radiación UV intensifica la toxicidad de los HAPs, fluoranteno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno y que esta toxicidad está en función de la exposición a la radiación UV y la concentración del contaminante tal como lo demuestra el trabajo de Allred y Giesy (1985). Ellos explicaron que al exponer a *Daphnia pulex* a antraceno en concentraciones por debajo del límite de solubilidad del compuesto, este produce fototoxicidad, y que cuando al usar radiación solar el tiempo de inmovilización de *D. pulex* estuvo en función de la concentración del antraceno, lo que ocurre en minutos.

En los bioensayos realizados en el laboratorio en este estudio, las concentraciones excedieron las solubilidades esperadas en agua en sitios contaminados y además rebasaron los límites de solubilidad de estos compuestos en agua marina. Los resultados son considerados razonables para cumplir el objetivo del establecimiento de la concentración letal 50 (CL<sub>50</sub>) en el laboratorio, para su posterior comparación con datos de campo.

La CL<sub>50-48h</sub> para metanauplios de *A. franciscana* fue ligeramente mayor (75.45  $\mu\text{g/L}$ ) que el límite de solubilidad del fluoranteno (60  $\mu\text{g/L}$  en agua marina a 25 °C) y la CL<sub>50</sub> para adultos fue menor (43.35  $\mu\text{g/L}$ ). Para el antraceno también se rebasó el límite de solubilidad, de 32 a 43  $\mu\text{g/L}$  en agua marina a 25 °C, la CL<sub>50</sub> fue de 932  $\mu\text{g/L}$  para metanauplios, para adultos la CL<sub>50</sub> fue de 1730  $\mu\text{g/L}$ . En el caso del BaP las concentraciones letales 50 fueron mucho mayores que el límite de solubilidad 3.8  $\mu\text{g/L}$  (la CL<sub>50</sub>= 216.5  $\mu\text{g/L}$  para metanauplios; y 141.56  $\mu\text{g/L}$  para adultos).

Los resultados de laboratorio pueden crear incertidumbre ya que en el laboratorio se controlan algunas condiciones, mientras que en el ambiente natural existen variaciones que no se pueden controlar como la exposición de radiación UV, que en el campo es varios órdenes de magnitud mayor, la atenuación de la radiación y otras, tal como lo demuestra el trabajo de Diamond *et al.*, (2000) que sugieren que la extrapolación de resultados de laboratorio introduce incertidumbres. La exposición en el laboratorio involucra el uso de fuentes artificiales de radiación UV, no hay atenuación de la radiación y los compuestos se prueban por separado. En contraste, en ambientes naturales la fuente de radiación UV es la solar y por lo tanto la exposición de radiación es mayor. Por otra parte, en la columna de agua puede haber factores de atenuación de la radiación UV (partículas suspendidas, absorción y reflexión).

Con la finalidad de comparar los resultados obtenidos en este trabajo para antraceno, se realizó una recopilación de los resultados de diferentes trabajos, demostrando que los valores de la CL<sub>50</sub> para *A. franciscana* se reportan en un rango de 37 a 4.8 veces por debajo del valor calculado en esta investigación (tabla 28). Debe mencionarse que las condiciones de exposición son muy

variables, así como los tiempos y las condiciones de bioensayo. Con respecto al ostión (*Crassostrea gigas*, Irwin 1997), la CL<sub>50</sub> (5000 µg/L) para esta especie es 5.4 veces más alta que la que se obtuvo para los metanauplios de *A. franciscana* y es 2.9 veces más alta que en los adultos, (48 horas de exposición, no se detallan las condiciones de exposición para *C. gigas*. Irwin 1997).

**Tabla 28. CL<sub>50</sub> de antraceno para diferentes especies obtenidas en el presente trabajo y en otras fuentes bibliográficas.**

Especie	CL <sub>50</sub> (µg/L)	Tiempo de exposición (horas)
<i>A. franciscana</i> (metanauplios) para el presente estudio	932	48 (lámpara vitalite)
<i>A. franciscana</i> (adultos) para el presente estudio	1730	48 (lámpara vitalite)
<i>Artemia salina</i> (Irwin 1997)	20	1
<i>Crassostrea gigas</i> (Irwin 1997)	5000	48
<i>Daphnia magna</i> (Irwin 1997)	20	1
<i>Lepomis macrochirus</i> (Oris et al., 1984)	11.9	96
<i>Rana pipiens</i> larvas	110	30 min de radiación solar
<i>Rana pipiens</i> (kagan y kagan 1984)	65	30 min de radiación solar
<i>Rana pipiens</i> (kagan y kagan 1984)	25	5 horas de radiación solar
<i>Hyallolela azteca</i> (Hatch y Burton, 1999)	5.6 (4.3-6.7)	----
<i>Chironomus tentans</i> (Hatch y Burton, 1999)	6.0 (3.9-7.7)	----
<i>Xenopus laevis</i>	193	96

En la tabla 29, se observa que la  $CL_{50-48}$  del fluoranteno para adultos y juveniles (43.35  $\mu\text{g/L}$ ) es 74 veces menor comparada con la  $CL_{50}$  para *Daphnia magna* (3200  $\mu\text{g/L}$ ); también es 42.4 veces mayor que la obtenida con los metanauplios de *A. franciscana*. En algunos otros trabajos la  $CL_{50}$  para *A. franciscana* es menor comparada con los tiempos de exposición que en muchos trabajos es mayor como en el caso de *Rana pipiens* (96 horas de exposición;  $CL_{50}= 366 \mu\text{g/L}$ ; *Xenopus laevis*, *Ambistoma maculatum* (Hatch y Burton, 1998), *Tisbe battagliai* (Barata., et al., 2002).

Con respecto al BaP, existen pocos registros de trabajos con este compuesto en condiciones de laboratorio. Irwin (1997) resume algunos trabajos donde exponen a *Daphnia pulex* y un poliqueto a BaP, ambos con un tiempo de exposición de 96 horas en donde se observa que el poliqueto es el más resistente a la presencia de este compuesto, reportando un  $CL_{50}$  mayor a 1000  $\mu\text{g/L}$ ; concentración 4.5 y 7 veces mayor que la obtenida en el presente trabajo para metanauplios, adultos y juveniles de *A. franciscana*, respectivamente.

El presente trabajo demuestra las diferentes sensibilidades de los organismos expuestos a los hidrocarburos aromáticos policíclicos antraceno, fluoranteno y benzo[ $\alpha$ ]pireno. Asimismo demuestra que la fototoxicidad está en función de la concentración del hidrocarburo y de la intensidad de la radiación UV que reciben.

**Tabla 29. CL<sub>50</sub> de fluoranteno para diferentes especies obtenidas en el presente trabajo y otros trabajos.**

Especie	CL <sub>50</sub>	Tiempo de exposición (horas)
<i>A. franciscana</i> (metanauplios)	75.45 µg/L	48 (lámpara vitalite)
<i>A. franciscana</i> (adultos)	43.35 µg/L	48 (lámpara vitalite)
<i>Artemia salina</i> U.S.EPA, 1997.	40 µg/L	1
<i>Ceriodaphnia dubia</i> U.S.EPA, 1997.	45 µg/L	24
<i>Daphnia magna</i> U.S. EPA, 1997.	4 µg/L 1300 mg/L 3200 mg/L	1 24 48
<i>Rana pipiens</i> larvas (Monson et al., 1999)	6.99 µg/L	36 sin UV
<i>Rana pipiens</i>	90 µg/L	24
<i>Hyalella azteca</i> (Hatch y Burton, 1999)	7.3 (5.5-8.7) µg/L	-----
<i>Chironomus tentans</i> (Hatch and Burton, 1999)	7.3 µg/L (5.5-8.7)	----
<i>Rana pipiens</i> (Hatch y Burton)	366 µg/L (297-449)	96
<i>Ambistoma maculatum</i> (Hatch y Burton)	247 µg/L (CL no confiable)	288
<i>Xenopus laevis</i> (Hatch y Burton)	193 (153-243)	96
<i>Tisbe battagliai</i> (Barata., et al., 2002)	Nauplios 68.3 µg/L Adultos 101.1 µg/L	96 144

En la tabla 30 se observan diferentes CL<sub>50</sub> para BaP en *A. franciscana* y otros trabajos encontrados en la literatura con tiempos mayores de exposición. Se observa que *A. franciscana* es un organismo sensible a la presencia de este hidrocarburo, ya que la mortalidad ocurre 48 horas más rápido que en las otras dos especies citados en los estudios, aunque la concentración de exposición es 43 y 28.3 veces mayor para los metanauplios y adultos de *A. franciscana* que la concentración para *Daphnia pulex*.

**Tabla 30. CL<sub>50</sub> para benzo[α]pireno para diferentes especies obtenidas en el presente trabajo y otros trabajos.**

<b>Especie</b>	<b>CL<sub>50</sub> (µg/L)</b>	<b>Tiempo de exposición (horas)</b>
<i>A. franciscana</i> (metanauplios)	216.5 (194.5- 238.3)	48 (lámpara vitalite)
<i>A. franciscana</i> (adultos)	141.56 (105.3-178.3)	48 (lámpara vitalite)
<i>Daphnia pulex</i> (Irwin <i>et al.</i> , 1997)	5	96
<i>Neanthes arenaceodentata</i> (poliqueto) (Irwin <i>et al.</i> , 1997)	<1000	96

Los resultados de laboratorio demostraron que *A. franciscana* es una especie resistente al antraceno, al fluoranteno y al BaP, por lo que no es recomendable utilizarla en pruebas de toxicidad de hidrocarburos cuyo objetivo sea proteger a las especies presentes en los ecosistemas acuáticos, particularmente del la zona del Caribe Mexicano.

#### **Ensayo cometa *Artemia franciscana*.**

##### *Porcentaje de daño.*

Todas las células de todos los lotes experimentales mostraron daño. El control de manipulación (solo agua marina) tuvo el mayor porcentaje de daño más bajo (0-20 µm). Este daño posiblemente se deba al estrés de la manipulación para la obtención de los nauplios y a la eclosión de los quistes, la cual requiere cloro. Esto pudo afectar, a pesar de que se uso en mínima concentración y pudo provocar alteraciones en el ADN. Lee y Steinert, (2003) proponen algunos factores que pueden influir en el daño basal ADN, depende del tejido y el animal, se incluyen la heterogeneidad del tipo celular, el ciclo celular, la frecuencia de cambio celular y las condiciones de cultivo y

crecimiento. Los diferentes tipos celulares pueden tener diferentes niveles de daño en el ADN debido a la variación en la actividad de ruptura y reparación, la actividad metabólica, las concentraciones antioxidantes u otros factores. Cuando se realiza el ensayo cometa se deben tomar en cuenta los diferentes tejidos, las diferencias morfológicas, las características de tinción. En la mayoría de los casos, el uso de poblaciones celulares homogéneas reduce la variabilidad entre las células. Por lo tanto, es importante obtener células por procedimientos que minimicen la disrupción. Otros estudios han demostrado un aumento en los niveles de sitios álcali-lábiles en ciertos tipos celulares que tienen alto contenido de cromatina condensada (Sigh *et al.*, 1989), sugiriendo que este porcentaje de daño es una característica del empaquetamiento del ADN produciendo hebras endógenas, es decir, no es resultado del protocolo del ensayo cometa *per se* (Mitchelmore *et al.*, 1998).

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre el control de manipulación y los diferentes tratamientos experimentales, incluyendo el control con solvente (acetona); sin embargo, este tuvo el 50 % de las células con daño bajo (0-20  $\mu\text{m}$ ), mientras que los organismos expuestos a fluoranteno (24 y 48  $\mu\text{g/L}$ ) presentaron un daño medio con un porcentaje de 62 y 50 %, respectivamente (21 a 60  $\mu\text{m}$ ).

Wilson *et al.*, 1997 reportaron un daño basal en el daño al ADN en el mejillón *Mytilus edulis* explicando que los organismos aeróbicos, están constantemente expuestos a radicales de oxígeno (endógenos, exógenos y oxidantes relacionados que pueden inducir stress oxidativo) en todos los componentes celulares, incluyendo en el ADN (Pacifici y Davies 1991), esto puede explicar porque se encontraron altos niveles de daño basal en las células de la branquia del mejillón. Con el trabajo de Wilson se puede explicar porque los organismos control de manipulación presentaron células con daño, aunque bajo, pueden producirse radicales oxígeno provocando estrés oxidativo y por lo tanto daño en la cadena de ADN. Otro factor de estrés para los organismos control es la radiación UV artificial a la que estuvieron expuestos, la cual provocó daño. Las células de todos los lotes mostraron algún tipo de daño fenómeno que ha sido observado en otros organismos marinos (Wilson *et al.*, 1998).

El ensayo cometa resultó ser un método conveniente para evaluar el daño en el ADN en ejemplares de *A. franciscana* expuestos a benzo[ $\alpha$ ]pireno, fluoranteno y antraceno. Los resultados obtenidos en los experimentos descritos en esta tesis coinciden en la capacidad para detectar daño en el ADN en experimentos realizados con moluscos y crustáceos reportados por otros autores. (Mitchelmore, *et al.*, 1998, Lee, *et al.*, 2000, Lee y Kim, 2002, Lee y Steinert 2003), demostrando que esta técnica es un buen indicador de daño del ADN en organismos acuáticos.

Se demostró que el BaP más genotóxico que el fluoranteno y el antraceno; aún en las concentraciones bajas resultaron genotóxicas. En el caso del control de manipulación de *A. franciscana*, los organismos presentaron daño porque estuvieron expuestos a radiación UV artificial

la que provoca daño a los organismos. Además de la manipulación que sufrieron los organismos en el proceso de la extracción de las células (Aguilar-Santamaría, comunicación personal).

Hook y Lee (2004) observaron los efectos de la acción conjunta de la radiación UV, el BaP (0.2  $\mu\text{M}$ ) y Cd (5  $\mu\text{M}$ ) en embriones de *Paleomonetes pugio* los resultados que obtuvieron incluyeron las lesiones del ADN por exposición a BaP y radiación UV, que provocaron un nivel alto de daño para las células de los embriones de estos organismos. Hook y Lee (2004) demostraron efectos de daño y reparación en el ADN empleando el ensayo cometa, en embriones de estadio 4 y 7 días de *Paleomonetes pugio*, expuestos a peróxido de hidrogeno, cromo hexavalente (26, 52, 104, 260 y 520 ppb) y BaP (1, 3 10 ppb). Los embriones en el estadio 4 fueron más sensibles que los del estadio 7, los autores concluyeron que las hebras del ADN medidas empleando la técnica del ensayo cometa, representan tanto daño, como reparación. Al parecer los primeros estadios disminuyen la capacidad para reparar el ADN comparado con el estadio posterior. Por otro lado Lee y Kim (2002) emplearon el ensayo cometa para evaluar el daño y reparación en embriones expuestos a compuestos fototóxicos (antraceno, azul de metileno y  $\alpha$ -tietenil) demostrando que el antraceno (3  $\mu\text{g/L}$ ) al ser expuesto a la radiación solar, tiene un momento de cola mayor ( $14.7 \pm 3.6$ ) que los que no están expuestos a la radiación solar ( $1.7 \pm 0.9$ ) y que disminuye cuando los organismos son transferidos a la oscuridad para permitir la reparación del ADN ( $6.7 \pm 1.9$ ). Concluyeron que los embriones expuestos a diferentes compuestos fototóxicos provocan daño en el ADN, dan la evidencia de que existe un proceso de reparación cuando son transferidos a la oscuridad, además que el ensayo cometa puede usarse para estudiar el daño y la reparación en animales estuarinos después de la exposición a químicos fototóxicos en el laboratorio y en el campo. Comparando los resultados de estos trabajos con los obtenidos en este estudio, se probó demuestran que, por un lado, la acción conjunta de la radiación UV y el hidrocarburo producen daño en la cadena de ADN, demostrando que los HAPs son genotóxicos para los organismos expuestos como *A. franciscana*.

Las concentraciones probadas son ligeramente mayores que las concentraciones que se pueden encontrar en sitios contaminados, donde se estima que *A. franciscana* es un organismo resistente. Sin embargo, los resultados hacen pensar acerca del impacto que estos compuestos, y otros contaminantes más, están ejerciendo sobre los organismos marinos que pueden ser más sensibles a concentraciones bajas que tal vez no los maten pero que disminuyan su condición fisiológica y reproductiva, pudiendo afectar el ecosistema en su conjunto.

Sería recomendable la aplicación de esta experiencia para realizar un experimento de mesocosmos y ensayos *in situ* en áreas contaminadas con HAPs para así esclarecer la unión entre los biomarcadores y sus posibles implicaciones ecológicas.

Con las pruebas subletales fue posible medir daño en el ADN de esta especie, lo cual es novedoso, ya que existen reportes para otras especies de crustáceos y otros tóxicos; por lo que se

recomienda el ensayo cometa como un buen biomarcador de efecto para evaluar fototoxicidad por HAPs. (Hook y Lee 2004; Steinert 2003; Lee, *et. al.*, 2000, Lee y Kim, 2002; Mitchelmore, *et al.*, 1998).

### **Bioensayos realizados con radiación solar.**

Los resultados del presente estudio demuestran que los organismos expuestos a fluoranteno, benzo[ $\alpha$ ]pireno y antraceno presentaron efectos de fototoxicidad (Tabla 31). Las diferentes concentraciones nominales probadas en cada bioensayo están por debajo del límite de solubilidad de cada uno de estos hidrocarburos y estas concentraciones disminuyeron la sobrevivencia de los organismos en presencia de niveles ecológicamente relevantes de radiación UV (UVA y UVB). La cantidad de fotones recibida para cada experimento (exposición) fue suficiente para poder provocar fototoxicidad en los organismos expuestos a estos contaminantes.

En el presente trabajo se demostró que la exposición de radiación UV es muy importante para producir fototoxicidad. Al comparar los resultados de laboratorio con los resultados de campo se demostró que la fototoxicidad ocurre 96 veces más rápido en campo que en el laboratorio, ya que la exposición de UVA, UVB y PAR en campo es tres órdenes de magnitud mayor que en el laboratorio. Así, los experimentos realizados con *S. gigas*, donde se empleó la lámina de plexiglás G UF-3 de 4 mm de espesor, que corta una fracción de la radiación UV, la CL<sub>50-96h</sub>, fue menor que al ser expuestos a toda la radiación UV demostrando que estas láminas protegen a los organismos. Además esto indica que la radiación solar UV aumenta los efectos fototóxicos, ya que reciben mayor exposición en el campo.

La atenuación de la radiación también es importante porque en el ambiente la materia orgánica disuelta, así como las nubes o los días de lluvia, disminuyen la penetración de la radiación UV.

Las CL<sub>50-96h</sub> obtenida para los organismos probados en el presente trabajo y el tiempo de bioacumulación no permite la comparación de las concentraciones letales para los organismos experimentados como lo sugiere Oris (comunicación personal), porque es necesario calcular el tiempo letal medio. Esto no fue posible de obtener, ya que la mortalidad en algunas especies fue muy rápida (*A. franciscana*, *S. gigas*, *T. carolinense*, *A. spinata*), pues comenzaban a morir al cabo de algunos minutos. Se observó que existen diferentes sensibilidades debido a que se emplearon organismos de diferentes etapas de desarrollo, con diferentes hábitos y hábitats que les permiten protegerse de los efectos de la radiación solar. Sin embargo, algunas especies fueron más resistentes se observó que las larvas de *S. gigas* con un tiempo de exposición de treinta minutos tuvieron una CL<sub>50-0.5h</sub> de 17.75  $\mu\text{g/L}$ , los metanauplios de *A. franciscana* fueron los más resistentes a la exposición de fluoranteno. En contraste, para BaP las larvas de *S. gigas* fueron más sensibles

(CL<sub>50-0.5h</sub> de 17.05 ng/L) y la más resistente fue *T. carolinense*. Esto indica que, en el caso de las larvas *S. gigas*, por encontrarse en un estadio inicial de desarrollo son más sensibles a cualquier cambio que les pueda provocar daño; en el caso de *A. spinata*, copépodos que tienen hábitos nocturnos, el riesgo de que sufran fototoxicidad es nula porque no están expuestos a radiación solar.

Diversos trabajos han probado que algunos HAPs absorben la energía solar UV (280 a 400 nm) formando moléculas de estado excitado que a través de la pérdida subsecuente de energía forman compuestos que pueden ser más tóxicos que las moléculas parentales. Barrón *et al.*, (2002), demostraron que la toxicidad fotointensificada (aumento de la toxicidad con la exposición a la radiación UV) ocurre cuando el hidrocarburo ya está presente en el organismo (fotosensibilización); el grado de toxicidad se incrementa con la exposición a la radiación UV y con el aumento en la concentración del HAP (Ankley *et al.*, 1994 y 1995). Gomes *et al.*, (2009), realizaron bioensayos de fototoxicidad con antraceno exponiendo al anfípodo de aguas superficiales *Gondogeneia antártica*, concluyendo que es importante diseñar experimentos para establecer protocolos y así realizar estudios de riesgo ecológico en áreas con gran tráfico de embarcaciones, ya que estas son fuente potencial de HAPs y de contaminación por derrames accidentales de petróleo. Con el adelgazamiento de la capa de ozono sobre la Antártida las aguas costeras del continente reciben altos niveles de RSUV, las pruebas de contaminantes fototóxicos deben ser considerados en los programas de monitoreo en donde se concentren actividades antropogénicas que puedan ser fuente de estos compuestos. También en las zonas tropicales o en zonas donde la penetración de la radiación UV es muy alta, como en el caso del área de estudio, los organismos están en riesgo no solo por la RSUV sino además por la presencia de muchas sustancias tóxicas que son arrojadas en estos ambientes por el hombre y que además son fototóxicas.

Otros trabajos han probado diferentes HAPs fototóxicos y expuesto a diferentes organismos acuáticos como el oligoqueto *Lumbriculus variegatus*, el crustáceo *Hyalella azteca* y *Daphnia magna* (Hatch, Burton, 1999), larvas de cangrejo (Peachey, 2005), larvas y juveniles del bivalvo *Mulinia lateralis* (Pelletier, *et al.*, 1997) y del camarón *Mysidopsis bahía* y larvas de rana *Rana pipiens* (Bowling *et al.*, 1983; Frank *et al.*, 1986; Newsted y Giesy 1987), los cuales han demostrado que el aumento de la concentración y la radiación UV producen fototoxicidad. Diamond *et al.*, (2000) demostraron también que solo aquellas longitudes de onda absorbidas por el compuesto tienen el potencial de iniciar los eventos fotoquímicos que provocan la fototoxicidad, y concluyen que la cuantificación de las características espectrales de los ambientes acuáticos contaminados por HAPs es importante en la evaluación del riesgo en estos sitios.

Para organismos marinos en la columna de agua existe poca información acerca de la fototoxicidad, generalmente todos los trabajos se enfocan a organismos asociados al sedimento

porque por lo general los HAPs se sedimentan y se asocian a la materia orgánica disuelta. Esto implica que los organismos asociados a estos ambientes están en mayor riesgo de sufrir fototoxicidad (Oris *et al.*, 1990; Lyons *et al.*, 2002). Existe solo un trabajo con organismos asociados a arrecifes (Peachey y Crosby, 1996), el cual se llevó a cabo en Hawái con nauplios de *Artemia salina*, la esponja *Callispongia diffusa*, plánulas de coral *Fungia scutaria*, *Montipora verrucosa*, *Pocillopora damicornis* y *Porites compresses*, un zooantido *Zoanthus pacificus*, el poliqueto *Platynereis dumeralii*, el camarón *Alpheopsis* spp., el anfípodo *Amphilocus likelike*, el braquiópodo *Artemia salina* (nauplios), el molusco gasterópodo *Bittum parum* y peces juveniles milkfish *Chanos chanos*. Después de dos horas de incubación en la oscuridad con el hidrocarburo, los organismos se irradiaron con lámparas fluorescentes con una exposición de radiación UV en un rango de 975 a 1000  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . Además, se realizaron bioensayos con radiación UV solar con una exposición de intensidad de radiación en un rango de 407  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  a 1428  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . Los resultados de este trabajo demostraron que la fototoxicidad ocurre en *F. scutaria*, *P. dumeralii* y *Alpheopsis* y los autores concluyeron que la toxicidad está en función de la intensidad de la radiación UV y de la longitud de onda. Así, con los experimentos con *A. salina* no hay efectos a 375 nm pero si ocurre toxicidad en los 312 nm. La exposición al antraceno resultó al revés, es decir, fue fototóxico en la longitud de onda mayor a 375 nm. Los autores concluyeron también que la absorción de la radiación UV es necesaria para producir toxicidad. Los autores además observaron que algunas especies de coloración oscura son más resistentes que las especies con coloración clara a la fototoxicidad, sugiriendo que la absorción de la radiación UV y la fototoxicidad ocurre solo después de la entrada del HAP.

Para *Porites divaricata*, a pesar del corto periodo de acumulación para fluoranteno (4.5 horas) y para benzo[ $\alpha$ ]pireno (9 horas) la eficiencia fotoquímica disminuyó provocando blanqueamiento y mortalidad en presencia de radiación solar UV. Para los diferentes tratamientos (sin radiación UV y con radiación UV), la fototoxicidad ocurre 14 y 21.6 veces más rápido respectivamente. Esto nos indica que la radiación solar UV acelera el proceso.

La toma de fotografías también fue una herramienta que permitió identificar la condición fisiológica por la exposición del coral al hidrocarburo y la radiación UV, D'Angelo *et al.*, (2008) proponen que la regulación del pigmento del huésped es importante para la coloración del coral, ya que puede servir como un marcador óptico intrínseco de la condición fisiológica del coral.

Las diferencias en las sensibilidades pueden atribuirse también a que cada organismo tiene procesos metabólicos que les permiten degradar los HAPs como el sistema P450 o MFO (oxigenasas de función mixta) o pueden ser degradados por un sistema de reacciones enzimáticas de dos fases: principalmente las reacciones de la fase 1 que involucran la oxidación del compuesto orgánico en presencia de oxígeno molecular catalizado por monooxigenasas. Los mecanismos de degradación en algunos casos no pueden actuar debido a que la fototoxicidad ocurre muy rápido

(30 minutos), entonces los mecanismos para degradar a los HAPs quedan rebasados por la rapidez con la que ocurre la toxicidad foto intensificada, ya que la exposición de RSUV es muy alta y ya nos es posible depurar el compuesto. En el caso de las especies probadas en el presente trabajo (*A. franciscana*, *S. gigas*, *T. carolinense*, *A. spinata*. Para *P. gracilis* y *L. tenuicornis*), se observó que los organismos tienen pigmentos oscuros que les protegen de la radiación UV, y que buscaban lugares sombreados para evitar la exposición a la radiación UV, escondiéndose en los corales, rocas y arena que les sirven de pantalla contra los efectos de la radiación; así, aunque bioacumulen los HAPs, el mecanismo de protección contra los rayos UV hace que disminuya la fototoxicidad. Asimismo, Peachey y Crosby (1996), observaron que algunas especies de pigmentación oscura son más resistentes que las especies con pigmentación clara, sugiriendo que la coloración oscura les sirve de protección contra la absorción de la radiación UV y la fototoxicidad ocurre sólo después de la entrada del HAP.

Existen otros mecanismos foto protectores. Wernersson (1998) demostró que los insectos pueden evitar los efectos de la fototoxicidad evitando la radiación y además presentan defensas bioquímicas representadas por enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y el glutatión reductasa; o bien, aumentan los niveles de antioxidantes ( $\alpha$ -tocoferol, ácido ascórbico) y limpiadores de radicales libres ( $\beta$ -caroteno) en la dieta, o aumentan el metabolismo con la ayuda de enzimas de detoxificación.

Los hábitos nocturnos también protegen a los organismos del efecto de la radiación UV. Por ejemplo el copépodo *A. spinata* sale al atardecer (Almaral, comunicación personal) por lo tanto no está expuesto a la radiación UV. Debido a esto, fueron sensibles a la acción conjunta del hidrocarburo y la radiación UV, ya que los experimentos que se hicieron se realizaron con la radiación solar, aunque los organismos fueron capturados al atardecer.

Por otra parte Zagarese *et al.*, (1998) demostraron que muchos organismos acuáticos son capaces de producir compuestos que tienen una función fotoprotectora como la *Daphnia spp.*, que produce melanina. Otros ejemplos de moléculas protectoras son los *carotenos*, presentes en los copépodos, que actúan como antioxidantes, y un grupo de sustancias conocido como MAAs (aminoácidos tipo micospolina). Los carotenos y los MAAs son producidos exclusivamente por algas y cianobacterias. Los MAAs pueden ser sintetizados a gran velocidad por ciertas especies, dependiendo, en la mayoría de los casos, de la cantidad y calidad de radiación recibida. Algunos organismos que no son capaces de sintetizar sus propios compuestos protectores pueden incorporarlos a través de la dieta. Por ejemplo, los erizos de mar acumulan MAAs en sus gónadas y posteriormente los transfieren a sus larvas. Se ha observado que las larvas de erizos de mar, cuya dieta es pobre en MAAs, son más sensibles a la radiación ultravioleta. Además, algunos organismos desarrollan una "protección externa" -una cubierta calcárea o de celulosa, que en ciertos casos, ayuda a dispersar la radiación (Zagarese *et al.*, 1998).

**Tabla 31. CL<sub>50</sub> de organismos expuestos a fluoranteno y benzo[α]pireno.**

<b>Especie</b>	<b>Fluoranteno CL<sub>50</sub> (µg/L)</b>	<b>Benzo[α]pireno CL<sub>50</sub></b>
<i>Strombus gigas</i>	17.75	17.05 ng/L
Larvas de caracol rosado	(0-79.1)	(10.91-26.25)
<i>Cladonema radiatum</i>	20.6	No mostro señales de mortalidad
Medusa	(12.8-23.6)	
<i>Pachygrapsus gracilis</i>	60	-----
Cangrejos		
<i>Acartia spinata</i>	23.7	1.8
Copépodos	(21.6-25.6)	(1.63 - 2.46)
CAMARONES		
<i>Leander tenuicornis</i>	60	1.9
<i>Tozeuma carolinense</i>	15.2	3.8
Camarón de pastos	(6.7-30.1)	(2.7 – 595991.9)
<i>Hippolyte zoostericola</i>	75.6	29.7
<i>Thor manningi</i>	(26.98-1453267)	15.36 – 59.4
<i>Porites divaricata</i>	31.4	2.7
	(22.4 – 44.9)	(1.86 – 5.7)
<i>Artemia franciscana</i>	55.47	3.75
Campo	(46.6 – 66.2)	(1.56 – 6.07)
<i>Artemia franciscana</i> LAB.		
Metanauplios	75.45	216.5
Adultos		(194.5- 238.3)
	43.35	141.56
	(20.13-65.13)	(105.3-178.3)

### **Evaluación de riesgo ecológico**

Con los resultados de evaluación de efectos ( $CL_{50}$ ) y las concentraciones de HAPs (Anexo III y IV) en la columna de agua se realizó una caracterización de riesgo, empleando el método del cociente de peligro que permite observar si existe riesgo. Así se observó que los valores calculados fueron menores que 1 por lo tanto en este momento no existe riesgo por fototoxicidad en el complejo lagunar Bojorquez-Nichupte y la laguna arrecifal de Puerto Morelos.

## CONCLUSIONES

- La sensibilidad de adultos y metanauplios de *A. franciscana* no fue significativamente diferente, a fluoranteno y a antraceno sin embargo, los adultos fueron más sensibles al benzo[α]pireno (BaP).
- Los resultados de la exposición con *A. franciscana* al antraceno, fluoranteno y benzo[α]pireno simultánea a la presencia de radiación ultravioleta artificial (RUVA) en el laboratorio puede resultar dañina y provocar su muerte.
- Los resultados de laboratorio demuestran que *A. franciscana* es una especie resistente a antraceno, fluoranteno y BaP, por lo que no es recomendable utilizarla en pruebas de toxicidad de hidrocarburos, cuyo objetivo sea proteger a las especies presentes en los ecosistemas acuáticos como los del Caribe Mexicano.
- El ensayo cometa es un método sensible para evaluar el daño en el ADN de *A. franciscana* expuesta HAPs y RUVA.
- El fluoranteno, el benzo[α]pireno y el antraceno son genotóxicos para *A. franciscana* en las concentraciones empleadas en este trabajo.
- La concentración letal 50 (CL<sub>50-24hrs</sub>) y los resultados del ensayo cometa confirman que la exposición a HAPs y RUVA dañan la cadena de ADN y puede ser letal para los metanauplios de *A. franciscana*.
- Las concentraciones de fluoranteno y benzo[α]pireno necesarias para producir fototoxicidad en el campo están en el orden de ng/L y mg/L, demostrando que la fototoxicidad puede ocurrir si el hidrocarburo está presente.
- Los resultados de campo *versus* laboratorio para *Artemia franciscana* son similares, sin embargo la toxicidad ocurre 96 veces más rápido en campo, lo que demuestra la importancia de la radiación solar.
- Existen diferencias en las sensibilidades de las especies expuestas a fluoranteno y benzo[α]pireno, así las larvas de *Strombus gigas* fueron las más sensibles a benzo[α]pireno con una CL<sub>50</sub> de 17.05 ng/L.
- Los resultados de este estudio mostraron que el coral *Porites divaricata* presentó una disminución en la eficiencia fotoquímica cuando se exponen a los HAPs en niveles ecológicamente relevantes de radiación UV, manifestada por el blanqueamiento y la mortalidad.
- Aquellos corales que no se blanquearon o que murieron, presentaron una estrategia de aclimatación en la que las algas migran a las zonas sombreadas del coral.

- En este trabajo se demuestra que la fototoxicidad de los HAPs puede representar un factor de riesgo para el coral, debido al acelerado desarrollo económico, en la zona de estudio, la concentración de estos compuestos puede aumentar y su presencia puede deteriorar este ambiente y tener una acción conjunta con la RSUV.
- La contaminación por HAPs puede ser considerada como un factor de riesgo en la susceptibilidad de los corales al blanqueamiento.
- Las diferencias en la sensibilidad de los organismos dependieron de los patrones de conducta, de los mecanismos fotoprotectores la intensidad de la radiación UV y las concentraciones de HAPs.
- Los bioensayos realizados con muestras de agua colectadas en zonas donde existe gran actividad de embarcaciones no demostró toxicidad en *A. franciscana* y larvas de *S. gigas*.
- El análisis de las muestras de agua por HPLC demostró que existen concentraciones muy bajas o no se encontraron HAPs.
- En este momento no existe riesgo por fototoxicidad en el complejo lagunar Bojorquez-Nichupte y la zona arrecifal de Puerto Morelos por la ausencia de HAPs fototóxicos en la columna de agua.

## RECOMENDACIONES

- La *Artemia A. franciscana* resultó ser un organismo resistente a la presencia de HAPs por lo que se recomienda el uso de especies más sensibles para la protección de la vida acuática. Se propone emplear larvas del caracol rosado *S. gigas* ya que fue la especie más sensible a la presencia de los HAPs.
- Debido al aumento de sustancias de origen antropogénico que son liberadas al ambiente es necesario continuar con este tipo de investigaciones, para construir una base de datos para los corales y organismos asociados a este tipo de ambientes y así poder establecer normas y regulaciones que protejan estos ecosistemas.
- Si bien en el presente estudio se determinó que no existe riesgo por fototoxicidad por la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos en la columna de agua, es necesario evaluar la exposición que pudiera ocurrir vía los sedimentos, por lo que se recomienda realizar este tipo de estudios en este medio.

## LITERATURA CITADA

Allred P. M. and Giesy J. P. 1985. Solar radiation-induced toxicity of anthracene to *Daphnia pulex*. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 4. Pp. 219-226.

Amat F. 1985. **Biología de Artemia**. Informes Técnicos del Instituto de Investigaciones Pesqueras. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, España 60 pp.

Angelo D. Cecilia, Denzel A., Vogt A., Matz V. M., Oswald F., Salih A., Ulrich N.G. and Wiedenmann J. 2008. Blue light regulation of host pigment in reef-building corals. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** Vol. 364: 97–106.

Ankley T. G., Tietge E., DeFoe L. D., Jensen N M. K., Holcombe W. G., Durhan J. E., and Diamond A. S. 1998. Effects of ultraviolet light and methoprene on survival and development of *Rana pipiens*. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 17, No. 12, pp. 2530–2542.

Ankley G.T., Erickson R.J., Phipps G.L., Mattson V.R., Kosian P.A., Sheedy R.G. and Cox J. S. 1995. Effects of light intensity on the phototoxicity of fluoranthene to a benthic macroinvertebrate. **Environ. Sci. Technol.** 29 2828-2833 pp.

Ankley G.T. Collard S. A., Monson P.D. and Kosian P.A. 1994. Influence of ultraviolet light on results of toxicity test conducted with sediments contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons **Environ. Sci. Technol.**

Baker J.M. 1980. Impact of oil pollution on living resources, International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Commission of Ecology Papers, 47 en Botello A.V., Rojas-Galaviz,

Benítez J., Zarate-Lomeli D. (Eds.) 1996. **Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias**. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX Serie Científica 5, 666 p.

Barata C., Calbet A., Saiz E., Ortiz L., and Bayona J. M., 2005. Predicting single and mixture toxicity of petrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons to the copepod *oithona davisae* **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 24, No. 11, pp. 2992–2999.

Barata C., Baird D. J., Medina M., Albalat A., Amadeu Soares M. V. M. 2002. Determining the ecotoxicological mode of action of toxic chemicals in meiobenthic marine organisms: stage-specific short tests with *Tisbe battagliai*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** Vol. 230: 183–194.

Barron M. G., 2003. **Assessment of the Phototoxicity of Weathered Alaska North Slope Crude Oil to Juvenile Pink Salmon**. Final Report Prepared for: Prince William Sound Regional Citizens' Advisory Council 3709 Spenard Anchorage, Alaska 99503. 14 p.

Barrón M. Carls M.G., Short J. W. and Rice S. D. 2002. Photoenhanced toxicity of aqueous Phase and chemically-dispersed wheatered Alaska North Slope Crude Oil Pacific herring eggs and larvae. Final report Prince William Siund Regional Citizens Advisory Council.

Barron M. G., Little E. E., Calfee R., and Diamond S. 2000. Quantifying solar spectral irradiance in aquatic habitats for the assessment of photoenhanced toxicity. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 19, No. 4, pp. 920–925

- Bellas J., Saco-Álvarez L., Nieto Ó., Beiras R. 2008. Ecotoxicological evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons using marine invertebrate embryo-larval bioassays. **Mar. Poll. Bull.** 57 493–502.
- Bellas J. and Thor P. 2007. Effects of selected PAHs on reproduction and survival of the calanoid copepod *Acartia tonsa*. **Ecotoxicology**, 16:465–474.
- Blumer M. and Youngblood W. W. 1975. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in soils and recent sediments. **Science** Vol.188.53-55.
- Boese B.L., Lamberson J.O. Swartz R.C. and Ozretich R.J. 1997. Photoinduced toxicity of fluoranthene to seven marine benthic crustaceans. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 32, 389-393 pp.
- Botello A.V., Rojas-Galaviz, Benitez J., Zarate-Lomeli D. (Eds.) 2005. **Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias**. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX Serie Científica 5, 695 p.
- Botello A.V., Rojas-Galaviz, Benitez J., Zarate-Lomeli D. (Eds.) 1996. **Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias**. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX Serie Científica 5, 666 p.
- Bowling J.W., Leverage G.J., Landrum P. J., Giesy J.P. 1983. Acute mortality of anthracene-contaminated fish exposed to sunlight. **Aquat. Toxicol.** 3. 79-90
- Brannon J.M., Price C.B., Reilly Jr. F.J., Pennington J.C. and McFarland V.A. 1993. Effects of sediment organic carbon on distribution of radiolabeled fluoranthene and PCBs among sediment, interstitial water and biota. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 51: 873-880.
- Brito-Manzano N, Aldana-Aranda D, de la Cruz-Lázaro E, Estrada-Botello MA. 2006. organogénesis larvaria de *Strombus gigas* (mesogastropoda: strombidae) en el arrecife alacranes durante el periodo máximo de su época reproductiva. **Universidad y Ciencia Trópico húmedo.** 22 (1):75-82
- Bucker H., y Horneck G. 1975. The biological effectiveness of HZE-particles of cosmic radiation studied in the Apollo 16 and 17 Biostack experiments. **Acta Astronaut,** 2 (3-4):247-264. (Editor : HOU)
- Caldwell S.G., Bentley G. M. and Olive J. W. P.2003. The use of a brine shrimp (*Artemia salina*) bioassay to assess the toxicity of diatom extracts and short chain aldehydes.
- Castro M. J. y De Lara A. R compiladores. 1991. **Manual para el manejo de quistes de Artemia sp.** Universidad Autónoma Metropolitana. Primera edición 47 p.
- Chapman P. Ramírez-Romero P. 2006. **Evaluación de riesgo ecológico bases y aplicaciones.** Curso pre congreso que se llevo en el II Congreso de la Asociación Mesoamericana de Ecotoxicología y Química Ambiental y la Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Chapter México.
- Choi J. and Oris J. T. 2000a. Evidence of oxidative stress in bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) liver microsomes simultaneously exposed to solar ultraviolet radiation and anthracene. **Environ. Toxicol. and Chem.,** Vol. 19, No. 7, pp. 1795–1799

Choi J. and Oris J. T. 2000b. Anthracene photoinduced toxicity to plhc-1 cell line (*poeciliopsis lucida*) and the role of lipid peroxidation in toxicity. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 19, No. 11, pp. 2699–2706.

Celis L., Vázquez Botello A., Mendelewicz M. Y Diaz G. 1987. Actividades del Proyecto Caripol en la Zona Costera de México: I. Hidrocarburos Disueltos. **Carib J. Sci.** 23(I): 11-18

Davenport R. and Spacie A. 1991. Acute phototoxicity of harbor and tributary sediments from lower Lake Michigan. **J. Great Lakes Res.** 17(1): 51-56.

Den Besten P.J. and Tuk C.W. 2000. Relation between responses in the neutral red retention test and the comet assay and life history parameters of *Daphnia magna*. **Mar. Environ. Res.**, 50, 513-516.

Diamond S.A. Mount D.R., Burkhard L.P., Ankley G.T., Makynen E.A. and Leonard E.N. 2000. Effect of irradiance spectra on the photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environ. toxicol.** 1389-1396.

Eadie, B.J., P.J. Landrum, and W. Faust. 1982. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments, pore water and the amphipod *Pontoporeia hoyi* from lake Michigan. **Chemosphere.** 11: 847-858.

Evans J., Fernández B. A., Gavilán G. A., Ize L. I., Martínez C.M.A., Ramírez-Romero P. y Zuk M. 2003. **Introducción al análisis de riesgos ambientales.** Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. 123 p.

Fairbairn D.W., Olive P.L. y O'Neill K. L. 1995. The comet assay: a comprehensive review. **Mut. Res.** 339, 37-59.

Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR). 2004. Compilador de la Ficha: Oscar Ramón Canul González 22 pp.

Fazio T. And Howard J. 1983. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons** In Foods Bjorseth A. 1983. Handbook of PAH. New York, N.Y. Moral Dekker Inc. 727 pp.

Flores Serrano R. M. 2005. Evaluación de riesgo ecológico en un sitio contaminado por hidrocarburos en México. Tesis para obtener el grado de Doctorado en Ingeniería. Programa de posgrado de Ingeniería (Ingeniería Ambiental) UNAM. 496 pp.

Frank A. P., Landrum P. F. And Eadie B. J. 1986. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon rates of uptake, depuration and biotransformation by lake Michigan *stylodrilus heringans*. **Chemosphere.** Vol. 15, No. 3 317-330 pp.

Furuholt E. and Kinn S.J. 1998. Regional Environmental Impact Assessment. SPE paper SPE 46470, presented at the 1998 HSE, meeting Caracas Venezuela.

Gomes V., Passos A. C. R. M. J., Leme M. P. N. Santos C. A. T., Campos Y. F. D., Hasue M.F., Ngan Phan V. 2009. Photo-induced toxicity of anthracene in the Antarctic shallow water amphipod, *Gondogeneia Antarctica*. **Polar Biol.** 32:1009–1021.

Goncalves R., Scholze M., Ferreira A. M., Martins M. and Correia A. D. 2008. The joint effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on fish behavior. **Environ. Res.** 108 205–213.

González A., Merino M. y Czitrom S. 1992. Laguna Bojórquez, Cancún: un sistema de características marinas controlado por la atmósfera. **Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología**. UNAM. México. 19 p.

Gould H.R. y Koons C. B. 1980. **Worldwide status of research on fate and effect of oil in the marine environment**, p.319-335. In Geyer R.A. (Ed). Marine environmental pollution, I, Hydrocarbons, Elsevier Oceanography Series.

Graul E., Ruther W., y Heinrich W. 1975. Radiobiological results of the Biostack experiment on board Apollo 16 and 17. **Life Sci. Space Res.**, 13:153-159.

Guida M., M. Inglese, and S. Meriç. 2008. A multi-battery toxicity investigation on fungicides **Desalination** 226 (2008) 262–270.

Guzmán- Martínez M. C., Ramírez Romero P. and Banaszak A. T. 2007. Photoinduced toxicity of the polycyclic aromatic hydrocarbon, fluoranthene, on the coral, *Porites divaricata*. **Journal of Environ. Sci. and Health Part A** 42, 1495–1502.

Hach. 1992. **Hach water analysis Handbook**. 2<sup>nd</sup>. Ed. Hach Company, Loveland, CO. 831 pp.

Hatch A. C. and Burton, G. A. 1999. Photo-induced toxicity of PAHs to *Hyalella azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixture and behavior. **Environ. Poll.** 106 157-167.

Hatch A. C. and Burton, G. A. 1999. Phototoxicity of fluoranthene to two freshwater crustaceans, *Hyalella azteca* and *Daphnia magna*: measures of feeding inhibition as a toxicological endpoint. **Hydrobiologia** 400: 243-248

Hatch A. C. and Burton, G. A. 1998. Effects of Photoinduced Toxicity of Fluoranthene on Amphibian Embryos and Larvae. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 17, No. 9, pp. 1777–1785.

Holst L. and Giesy J. P. 1989. Chronic effects of the photoenhanced toxicity of anthracene on *Daphnia magna* reproduction. **Environ. Toxicol. and Chem.** Vol. 8 pp. 933-942.

Hook S.E. and Lee R.F. 2004. Genotoxicant induced DNA damage and repair in early and late developmental stages of the grass shrimp *Palaemonetes pugio* embryo as measured by the comet assay. **Aquatic Toxicol.** 66, 1-14.

Huang X. D., McConkey J. B., Babu S. T. and Greenberg M. B. 1997. Mechanisms of photoinduced toxicity of photomodified anthracene to plants: inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plant *Lemna gibba* (duckweed). **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 16, No. 8, pp. 1707–1715.

Irwin R.J. Van Mouwerik M., Stevens L., Seese M. D. and Basham W. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. National Park Service, Water Resources Divisions, Fort Collins, Colorado. Distributed within the Federal Government as an Electronic Document (Projected public availability on the internet or NTIS: 1998).

Irwin R.J. Van Mouwerik M., Stevens L., Seese M. D. and Basham W. editors. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. **Anthracene Entry. National Park Service Water Resources Divisions, Water Operations Branch**. Fort Collins, Colorado. 53 pp.

Irwin R.J. Van Mouwerik M., Stevens L., Seese M. D. and Basham W. editors. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. **Benzo[a]pyrene (BAP) Entry. National Park Service Water Resources Divisions, Water Operations Branch**. Fort Collins, Colorado. 53 pp.

Irwin R.J. Van Mouwerik M., Stevens L., Seese M. D. and Basham W. editors. 1997. Environmental Contaminants Encyclopedia. **Fluoranthene Entry. National Park Service Water Resources Divisions, Water Operations Branch.** Fort Collins, Colorado. 53 pp.

Instituto Nacional de Ecología. 2000. **Programa de Manejo del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos México.** 1ª. Edición México. 224 pp.

Jiménez J.G., Gelabert R. y Brito R. 2006. Efectos tóxicos del níquel y el zinc en *Artemia franciscana* (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca). **Universidad y Ciencia** Junio año/Vol. 22, número 001. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa México, 65-74.

Kagan J., Kagan E.D. Kagan A. I. and Kagan A. P. 1985. The phototoxicity of non—carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic organisms. **Chemosphere** Vol. 14. No. 11/12, 1829-1834.

Kanwar A. S. 2007. Brine shrimp (*Artemia salina*). A marine animal for simple and rapid biological assays. **Journal of Chin. Clinical Med.**; 4;Vol.2,No.4.

Kennish MJ (1992) Ecology of estuaries: anthropogenic effects. CRC, Boca Raton in

Kirby M.F. , Lyons B.P., Barry J. and Law R.J. 2007. The toxicological impacts of oil and chemically dispersed oil: UV mediated phototoxicity and implications for environmental effects, statutory testing and response strategies. **Baseline / Mar. Poll. Bull.** 54 464–488.

Kummerová M., Zezulka S., Krulová J. and Tríska J. 2007. Photoinduced toxicity of fluoranthene on primary processes of photosynthesis in lichens. **The Lichenologist** 39(1): 91–100.

Kungolos A., Samaras P. y Koutseris E. 2003. Using bioassays for testing seawater quality in Greece. Journal of environmental science and health. Part A, vol. 38, n°3, pp. 533-544.

Kungolos A., Hadjispyrou S., Samaras P., Petala M., Tsiridis V., Aravossis K. and Sakellaropoulos G. P. 2001. **Proceedings of the 7th International Conference on Environmental Science and Technology**, pp. 499 – 505, Sept.

Laflamme R. E. and Hites R. A. 1978. The global distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in recent sediments. **Geochimica et Cosmochimica Acta.** Vol 42. pp. 289-303.

Lampi M. A. 2005. **Environmental Photoinduced Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Occurrence and Toxicity of Photomodified PAHs and Predictive Modeling of Photoinduced Toxicity.** Thesis presented to the University of Waterloo in fulfillment of the thesis requirement for the degree of Doctor of Philosophy in Biology Waterloo, Ontario, Canada 158 pp.

Lampi A. M., Gurska J., Mcdonald I.C. K., Xie F., Huang X.D. 2005. Photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*: ultraviolet-mediated effects and the toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon photoproducts. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 25, No. 4, pp. 1079–1087

Landrum P.F. 1982. Uptake, depuration and biotransformation of anthracene by the scud *Pontoporeia hoyi*. **Chemosphere**, Vol. 11. No. 10 1049-1057 pp.

Landrum P.F. Nihart S. R., Eadie B. J. and Gardner W. S. 1984. Reverse-Phase separation method for determining pollutant binding to Aldrich Humic Acid and Dissolved Organic carbon of natural waters. **Environ. Sci. Technol.** 18, pp.187-192.

Landrum P.F., Giesy J.P., Oris J. T. and Allred P. M. 1987. **Photoinduced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to aquatic organisms** In: Vandermeulen J. H. and Hrudey S. E. (Eds) Oil in Freshwater: chemistry, biology, countermeasure Technology. Pergamon Press.

Landrum P.F. 1988. Toxicokinetics of organic xenobiotics in the amphipod, *Pontoporeia hoyi*: role of physiological and environmental variables. **Aquat. Toxicol.** 12, pp. 245-271.

Landrum P.F. 1989. Bioavailability and toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed to sediments for the Amphipod *Pontoporeia hoyi*. **Environ. Sci. Technol.** 23, pp.588-595.

Lee E., Oh E., Lee J., Sul D. and Lee J. 2004. Use of the Tail Moment of the Lymphocytes to Evaluate DNA Damage in Human Biomonitoring Studies. **Toxicological Sciences** 81, 121–132.

Lee R.F. and Steinert S. 2003. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. **Mut. Res.** 544, 43-64.

Lee R. and Kim G.B. 2002. Comet assays to assess DNA damage and repair in grass shrimp embryos exposed to phototoxicants. **Mar. Environ. Res.**, 54, 465-469.

Lee R., Kim G.B., Maruya K.A., Steinert S.A. and Oshima Y. 2000. DNA strand breaks (comet assay) and embryo development effects in grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) embryos after exposure to genotoxicants. **Mar. Environ. Res.**, 50, 553-557.

Lee R.F. 1977. Accumulation and turnover of petroleum hydrocarbons in marine organisms, p 60-70. En Botello A.V., Rojas-Galaviz, Benitez J., Zarate-Lomeli D. (Eds.) 1996. **Golfo de México, Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias**. Universidad Autónoma de Campeche, EPOMEX Serie Científica 5, 666 p.

Lesser P. M. 2004. Experimental biology of coral reef ecosystems. **Journal of Exper. Mar. Biol. and Ecol.** 300 217– 252.

Little E. E., Cleveland L., Calfee R., and Barron M. G. 2000. Assessment of the photoenhanced toxicity of a weathered oil to the tidewater silverside. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 19, No. 4, pp. 926–932.

Lyons B.P., Pascoe C.K., McFadzen I.R.B. 2002 Phototoxicity of pyrene and benzo[a]pyrene to embryo-larval stages of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Mar. Environ. Res.**, 54 627–631

McCloskey J.T. and Oris J.T. 1993. Effect of anthracene and solar ultraviolet radiation exposure on gill ATPase and selected hematological measurements in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) **Aquat. Toxicol.** 24: 207-218 pp.

McKelvey-Martin V.J., Green M.H.L., Schmezer P., Pool-Zobel, De Méo M.P. and Collins A. 1993. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A European review. **Mut. Res.** 288: 47-63.

Mejía J., Yáñez L., Carrizales L. y Díaz-Barriga F. 2002. Evaluación Integral del Riesgo en Sitios Contaminados (una Propuesta Metodológica). **Scientiae Naturae.** 17 p.

Mekenyan O. G. Ankley G. T. Veith G. D. and Call D. J. 1994. QSARs for Photoinduced toxicity: Acute lethality of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*. **Chemosphere.** Vol. 28, No. 3 pp. 567-582.

Merino I.B. 1984. Aspectos de la circulación costera superficial del Caribe Mexicano con base en observaciones utilizando tarjetas de deriva. **Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología**. Noviembre de 1984.

Mitchelmore C. L., Hyatt S. 2004. Assessing DNA damage in cnidarians using the Comet assay. **Mar. Environ. Res.**, 58 707–711.

Mitchelmore C. L., Birmelin C., Livingstone D.R. and Chipman K. 1998. Detection of DNA strand breaks in isolated mussel (*Mytilus edulis* L.) digestive gland cells using the “comet” assay. **Ecotoxicol. and environ. safety, environ. Res. safety** 41, 51-58.

Monson P. D., Call D. J., Cox D. A., Liber K., and Ankley G. T. 1999. Photoinduced Toxicity of Fluoranthene to Northern Leopard Frogs (*Rana pipiens*) **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 18, No. 2, pp. 308–312.

Monson P.D., Ankley G.T. and Kosian P.A. 1995. Phototoxic response of *Lumbriculus variegatus* to sediments contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. **Environ. Toxicol. Chem.** 14: 891-894 pp.

Muscatine, L., 1990. The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. In: Dubinsky, Z. (Ed.), *Ecosystems of the World: Coral Reefs*. Elsevier, Amsterdam, pp. 75– 87.

National Park Service Water Resources Divisions, Water Operations Branch.1997. **Environmental Contaminants Encyclopedia Anthracene** Entry compilers/editors: Irwin R. J., Van Mouwerik M., Stevens L., Dubler Seese M., and Basham W. 53 p.

Neff J.M., 2002. **Bioaccumulation in marine organisms**. Effect of contaminants from oil well produced water. Elsevier Second impression. Amsterdam, The Netherlands 452 p.

Neff, J.M. 1979. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment. Applied Science Pub. London. 262 p.

Newsted J. and Giesy J.P. 1987. Predictive models for photoinduced acute toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon to *Daphnia magna*, Strauss (Cladocera, Crustacea). **Env. Toxicol. Chem.** 6:445-461.

Nielsen B.M. Berg K. And Goksoyr A. 1999. Induction of cytochrome P450 (CYP1A) in fish. A biomarker for environmental pollution. **Methods in Molecular Biology**, Vol. 107: Cytochrome P450 protocols. Edited by: I.R. Phillips and E.A. Shepard, Totowa N.J. 423-437 PP.

Norma mexicana NMX-AA110-1995-SCFI análisis de agua. **Evaluación de toxicidad aguda con A. franciscana Kellogs (Crustacea-anostraca)**. Método de prueba.

Nunes B. S., Carvalho F. D., Guilhermino L. M., Van Stappen G. 2006. Review Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environ. Poll.**, 1-10.

Oberdoster E., Brouwer M., Hoexum-Brouwer T., Manning S., and McLachlan A.J. Long-Term Pyrene Exposure of Grass Shrimp, *Palaemonetes pugio*, Affects Molting and Reproduction of Exposed Males and Offspring of Exposed Females. **Environ. Health Perspectives** Vol. 1081 Number 7 1 July, 2000.

Oikari A. and Kukkonen J. 1990. Bioavailability of Benzo(a)pyrene and Dehydroabietic acid from a few lake waters containing varying dissolve organic carbon concentrations to *Daphnia magna*. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** Vol. 45 pp. 54-61.

OGP. International Association of Oil & Gas Producers. 2002. Aromatics in produced water: occurrence, fate, & effects and treatment. Report No. 1.20/324, January 2002, 25 p.

Oppenheimer C.H., 1980. Oil ecology, p.21-35 In: Geyer R.A. (Ed). **Mar. Environ. Poll.**, 1, Hydrocarbons, Elsevier Oceanography Series.

Oris, J.T., Hatch A.C., Weinstein J.E., Findlay R.H., McGinn P.J., Diamond S.A. Garret R., Jackson W., Burton G.A. and Allen B. 1998. Toxicity of ambient levels of motorized watercraft emissions to fish and zooplankton in lake Tahoe, California/Nevada, USA. **Poster number 3E-P005, presented at the 8<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC-Europe), 14-18 April**, University of Bordeaux, Bordeaux, France.

Oris, J.T., Tilghman H. A., and Tilka J.D. 1990. Humic acids reduce the photo-induced of anthracene to fish and Daphnia. **Environ. Toxicol. and Chem.** Vol. 9 575-583.

Oris, J.T., J.P. Giesy, P.M. Allred, D.F. Grant, and P.F. Landrum. 1984. Photoinduced toxicity of anthracene in aquatic organisms: an environmental perspective. In: Veziroglu T.N. (ed) **The Biosphere: problems and solutions**. Elsevier Pub. Amsterdam. 639-658.

Oris J. T. and Giesy Jr. J. P. 1986. Photoinduced toxicity of anthracene to juvenile bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus* Rafinesque): Photoperiod effects and predictive Hazard evaluation. **Environ. Toxicol. and Chem.** Vol 5. Pp. 761-768.

Oris J. T. and Giesy Jr., J. P. 1985. The photoenhanced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis* spp.) **Aquat. Toxicol.** Volume 6, Issue 2. 133-146.

Ozaki Y. And Wurtman R.J. 1979. Spectral power distribution of light sources affects growth and development of rats. **Photochem. Photobiol.** 29:339-341.

Pacifi R.E., Davies K.J.A. 1991. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress: the free radical theory of ageing revisited. **Gerontology** 37 166-180.

Peachey B.J.R. 2005. The synergism between hydrocarbon pollutants and UV radiation: a potential link between coastal pollution and larval mortality. **Journal of Exper. Mar. Biol. and Ecol.** 315 103– 114.

Peachey R. L. and Crosby D. G. 1996. Phototoxicity in Tropical Reef Animals. **Mar. Environ. Res.**, Vol. 42, No. 1-4, pp. 359-362,

Peachey R. L. and Crosby D. G. 1995. **Phototoxicity in a coral reef flat community. Ultraviolet and Coral reefs**. Edited by Gulko D. y Jokiel P.L. Hawaii Institute of Marine Biology, University of Hawaii. 193-200 p.

Pelletier C.M., Burgess M. R., Cantwell G. M., Serbst R. J., Ho T. K. and Ryba A.S. 2000. Importance of maternal transfer of the photoreactive polycyclic aromatic hydrocarbon fluoranthene from benthic adult bivalves to their pelagic larvae. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 19, No. 11, pp. 2691–2698.

Pelletier C. M., Burgess M. R., HO T. K., Kuhn A., MCKinney A. R. and RYBA A. S. 1997. Phototoxicity of individual polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum to marine invertebrate larvae and juveniles . **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 16, No. 10, pp. 2190–2199.

- Pérez C., Velando A., Munilla I., López-Alonso M. y Daniel Oro. 2007. Monitoring PAH pollution in the marine environment after the *Prestige* oil-spill by means of seabird blood analysis. Reporte 25 pp.
- Peterson C. J., Tsao R., Egger A. L. and Joel R. Coats. 2000. Insecticidal Activity of Cyanohydrin and Monoterpenoid Compounds. **Molecule**. 5, 648-654.
- Peterson D., Reichenberg . Dahllöf A .2008. Phototoxicity of Pyrene Affects Benthic Algae and Bacteria from the Arctic. **Environ. Sci. Technol.**, 42, 1371–1376.
- Peters C. E., Gassman J. N., Firman C. J., Richmond H. R .and Power A. E. 1997. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. **Environ. Toxicol. and Chem.**, Vol. 16, No. 1, pp. 12–40.
- Pelletier M. C., Burgess R. M., Cantwell M.G., May A. J., Serbst J. R. And Ho K. T. 1997. Resistance of intertidal and subtidal organisms to photo-enhanced PAH toxicity. Poster No. PH138, presented at the 18<sup>th</sup> Annual Meeting of the **Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC-E.E.U.U.)**, 16-20 November, San Francisco California.
- Podimata M., Koutseris E. and Tsiropoulos N. 2004. Water Quality Assessment by Ecotoxicological AND Chemical Methods in Magnesia, Greece. **Water, Air, and Soil Pollution: Focus 4**: 179–187.
- Pompella A. 2001. **Xenobiotics, Oxidative Stress and Regulation of Cellular Processes**. International School on Environment and Health Xenobiotics- Environment-Human Health Abstracts. Università Degli Studi di Siena, Consiglio Nazionale Delle Ricerche, Certosa di Pontignano, Siena, Italy October 14-20. 77-82
- Prado F. M.G. y Covarrubias H. M.R.1996. **Introducción a la cromatografía de líquidos de alta resolución**. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. División de Ciencias de la Salud. 1<sup>a</sup>. Edición. 84 pp.
- Principios de manejo para las Áreas Marinas Protegidas. 2003. **Documento Técnico del SAM No. 2. Basado en el curso “Capacitación en los Principios de Manejo para las Areas Marinas Protegidas en la Región del Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM)”** Celebrado en Ciudad Belice, Belice, Centroamérica 13 al 15 de enero de 2003. 43 pp.
- Pruski A.M. and Dixon D.R. 2002. Effects of cadmium on nuclear integrity and DNA repair efficiency in the gill cells of *Mytilus edulis* L. **Aquat.Toxicol.** 57, 127-137.
- Ralph P.J., Gademann R. Larkum A. W. D. and Schreiber U. 1999. In *situ* underwater measurements of photosynthetic activity of coral zooxanthellae and other reef-dwelling dinoflagellate endosymbionts. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Vol. 180: 139-147.1999.
- Ramírez R.P. 1997. Evaluation of the acute and chronic toxicity of fluoranthene-spiked sediments in the presence of UV light using the amphipod *Hyalella azteca*. Thesis for the degree of Doctor Philosophy, Department of Zoology. Miami University Oxford, Ohio. 130 pp.
- Rao S.S. 1999. **Impact assessment of hazardous aquatic contaminants. Concepts and approaches**. Rao S.S. editor. Lewis Publishers, Ontario Canada. 99-122 pp.
- Ren L., Huang X. D., McConkey B.J., Dixon D.G. and Greenberg B. M. 1994. Photoinduced Toxicity of three Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Fluoranthene, Pyrene and Naphthalene) to the Duckweed Lemna gibba L. G-3. **Ecotoxicol. and Environ. safety** 2, 160-171.

Riksheim H., and Johnsen, S. 1994. Determination of produced water constituents in the vicinity of production fields in the North Sea. SPE paper 27150. Presented at the SPE conference in Jakarta.

Ronco 2004. *In* Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Gabriela Castillo ed. IMTA. 188 p.

Ruther W, Graul E, Heinrich W, et al. 1974. Preliminary results on the action of cosmic heavy ions on the development of eggs of *Artemia salina*. **Life Sci Space Res**, 12:69-74.

Sastre M., Mena L. Lebrón S., Muller R., Rivera P., Vélez Y., Collado E., Morales S., y Pérez L. DNA single strand breaks in the Caribbean Mussel *Brachiodontes Exustus*: a comet assay evaluation.

Schreiber U., Schliwa U. and W. Bilger. 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. **Photosynthesis Research** 10:51-62.

Segner H. and Braunbeck T. 1998. **Ecotoxicology. Ecological Fundamentals, Chemical Exposure, and Biological Effects**. Edited Schüürmann G. And Markert B. New York 900 pp.

Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R. and Schneider E.L. 1988. A simple technique for quantization of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp. Cell Research** 175: 184-191.

Sinha B.K. and Chignell C.F. 1983. Binding of anthracene to cellular macromolecules in the presence of light. **Photochemistry and Photobiology** Vol. 37. No. 1 pp. 33-37.

Steinert S. A., Montee R. S. y Sastre M.P. 1998. Influence of sunlight on DNA in mussels exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. **Mar. Environ. Res.**, Vol., 46, No. 1-5, 355-358 pp.

Świetlik R., Kowalczyk, D. Dojlido J. 2002. Influence of Selected Physicochemical Factors on the Degradation of PAHs in Water. Polish **Journal of Environmental Studies** Vol. 11, No. 2 (2002), 165-169.

Yu Hongtao, Qingsu Xia, Jian Yan, Diogenes Herrero-Saenz, Yuh-Shen Wu, I-Wah Tang and Peter P. Fu. 2006. Photoirradiation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with UVA Light – A Pathway Leading to the Generation of Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation, and DNA Damage. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 3(4), 348-354.

Universidad de Concepción Centro EULA-Chile. 2007. **Informe Final Proyecto: Programa de Monitoreo Ecotoxicológico de los Efluentes Industriales en el Río Cruces, Provincia de Valdivia Chile Capítulo 3**. Evaluación de Riesgo Ecológico a través del Método del Cociente. 9 p.

U.S. EPA. 1997. **Method 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons**. U.S. EPA. Washington, D.C. 144-157 pp.

U.S. EPA. 1996. **Method 3510 Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction**. U.S. EPA. Washington, D.C. 8 pp.

U.S. EPA. (United States Environmental Protection Agency). 1992. **Framework for Ecological Risk Assessment**. PB 93—102193, EPA/630/R—92/001, Environmental Protection Agency, Washington D.C.

U.S. EPA. 1986. **Method 8310 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons**. U.S. EPA. Washington, D.C. 13 pp.

Weinstein E. J. and Polk D. K. 2001. Phototoxicity of anthracene and pyrene to glochidia of the freshwater mussel *Utterbackia imbecillis* Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 20, No. 9, pp. 2021–2028.

Warshawsky D., Cody T., Radike M., Reilman R., Schuamann B., LaDow K. and Schenieder J. 1995. **Chemico—Biological Interactions** 97 131-148.

Wernersson A. S. and Dave G. Effects of different protective agents on the phototoxicity of fluoranthene to *Daphnia magna*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C** 120 373-381.

White K. E. 2005. **Bioavailability of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment**. Thesis for the degree of Doctor Philosophy, Toxicology. Faculty of North Carolina State University 220 p.

White A., Handler P., Smith E.L. Hill R.L. and Lehman I.R. 1982. **Principios de Bioquímica**. 2a. edición en español, impreso en España, McGrawHill 1582 pp.

Wilson J.T., Pascoe P. L. Parry J.M. and Dixon D.R. 1998. Evaluation of the comet assay as a method for the detection of DNA damage in the cells of a marine invertebrate, *Mytilus edulis* L. (Mollusca: Pelecypoda). **Mut. Res.**, 399, 87-95.

Zagarese H. E., Cravero W. R., Villafañe V. y Helbling W. 1998. Efectos de la Radiación Ultravioleta sobre los Ecosistemas Acuáticos. Ciencia Hoy, **Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy. Volumen 8 - N°45 - MARZO/ABRIL**.

# Anexos

# ANEXO I

(Estadística cometa)

## ESTADÍSTICA COMETA

1: Control de manipulación ( C )

2: Control con acetona (Ca)

3: Antraceno 82 µg/L (A)

4: Antraceno 820 µg/L (A)

5: Benzo[α]pireno 4.8 µg/L (B)

6: Benzo[α]pireno 9.6 µg/L (B)

7: Fluoranteno 24 µg/L (F)

8: Fluoranteno 48 µg/L (F)

# Oneway

## Descriptives

LONG

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.0	225	17.608	12.338	.823	15.987	19.229	.3	78.2
2.0	292	26.229	19.059	1.115	24.034	28.424	.5	107.0
3.0	72	37.071	17.726	2.089	32.905	41.236	.3	80.5
4.0	26	36.024	20.713	4.062	27.658	44.390	5.8	77.2
5.0	252	56.255	19.658	1.238	53.816	58.694	12.6	107.0
6.0	205	58.957	14.226	.994	56.998	60.915	13.2	111.9
7.0	256	35.954	21.175	1.323	33.348	38.560	4.5	102.4
8.0	267	37.976	23.313	1.427	35.167	40.785	3.6	132.5
Total	1595	38.140	23.487	.588	36.986	39.293	.3	132.5

## Test of Homogeneity of Variances

LONG

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
20.270	7	1587	.000

## ANOVA

LONG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	309239.140	7	44177.020	122.990	.000
Within Groups	570039.136	1587	359.193		
Total	879278.276	1594			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: LONG

Tukey HSD

(I) LOTE	(J) LOTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1.0	2.0	-8.621*	1.681	.000	-13.717	-3.525
	3.0	-19.463*	2.566	.000	-27.240	-11.685
	4.0	-18.416*	3.926	.000	-30.314	-6.517
	5.0	-38.647*	1.738	.000	-43.916	-33.379
	6.0	-41.349*	1.830	.000	-46.895	-35.802
	7.0	-18.346*	1.732	.000	-23.595	-13.097

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LONG

Tukey HSD

	(I) LOTE	(J) LOTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
	1.0	8.0	-20.368*	1.715	.000	-25.566	-15.170
CA	2.0	C 1.0	8.621*	1.681	.000	3.525	13.717
		CA 3.0	-10.842*	2.494	.000	-18.400	-3.283
		A 4.0	-9.795	3.879	.185	-21.551	1.961
		B 5.0	-30.026*	1.630	.000	-34.965	-25.087
		B 6.0	-32.728*	1.727	.000	-37.962	-27.494
		F 7.0	-9.725*	1.623	.000	-14.643	-4.807
		F 8.0	-11.747*	1.605	.000	-16.611	-6.883
A	3.0	C 1.0	19.463*	2.566	.000	11.685	27.240
		CA 2.0	10.842*	2.494	.000	3.283	18.400
		A 4.0	1.047	4.336	1.000	-12.096	14.190
		B 5.0	-19.185*	2.533	.000	-26.861	-11.509
		B 6.0	-21.886*	2.596	.000	-29.755	-14.017
		F 7.0	1.116	2.528	1.000	-6.546	8.779
		F 8.0	-.905	2.517	1.000	-8.533	6.723
A	4.0	C 1.0	18.416*	3.926	.000	6.517	30.314
		CA 2.0	9.795	3.879	.185	-1.961	21.551
		A 3.0	-1.047	4.336	1.000	-14.190	12.096
		B 5.0	-20.232*	3.904	.000	-32.064	-8.399
		B 6.0	-22.933*	3.946	.000	-34.891	-10.974
		F 7.0	6.970E-02	3.901	1.000	-11.754	11.893
		F 8.0	-1.952	3.894	1.000	-13.753	9.849
B	5.0	C 1.0	38.647*	1.738	.000	33.379	43.916
		CA 2.0	30.026*	1.630	.000	25.087	34.965
		A 3.0	19.185*	2.533	.000	11.509	26.861
		A 4.0	20.232*	3.904	.000	8.399	32.064
		B 6.0	-2.701	1.783	.799	-8.104	2.702
		F 7.0	20.301*	1.682	.000	15.204	25.399
		F 8.0	18.280*	1.665	.000	13.235	23.325
B	6.0	C 1.0	41.349*	1.830	.000	35.802	46.895
		CA 2.0	32.728*	1.727	.000	27.494	37.962
		A 3.0	21.886*	2.596	.000	14.017	29.755
		A 4.0	22.933*	3.946	.000	10.974	34.891
		B 5.0	2.701	1.783	.799	-2.702	8.104
		F 7.0	23.002*	1.776	.000	17.619	28.386
		F 8.0	20.981*	1.760	.000	15.646	26.315
F	7.0	C 1.0	18.346*	1.732	.000	13.097	23.595
		CA 2.0	9.725*	1.623	.000	4.807	14.643
		A 3.0	-1.116	2.528	1.000	-8.779	6.546
		A 4.0	-6.970E-02	3.901	1.000	-11.893	11.754
		B 5.0	-20.301*	1.682	.000	-25.399	-15.204
		B 6.0	-23.002*	1.776	.000	-28.386	-17.619
		F 8.0	-2.022	1.658	.926	-7.046	3.003

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: LONG

Tukey HSD

(I) LOTE	(J) LOTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
8.0	C 1.0	20.368*	1.715	.000	15.170	25.566
	CA 2.0	11.747*	1.605	.000	6.883	16.611
	A 3.0	.905	2.517	1.000	-6.723	8.533
	A 4.0	1.952	3.894	1.000	-9.849	13.753
	B 5.0	-18.280*	1.665	.000	-23.325	-13.235
	B 6.0	-20.981*	1.760	.000	-26.315	-15.646
	F 7.0	2.022	1.658	.926	-3.003	7.046

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

### Homogeneous Subsets

LONG

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

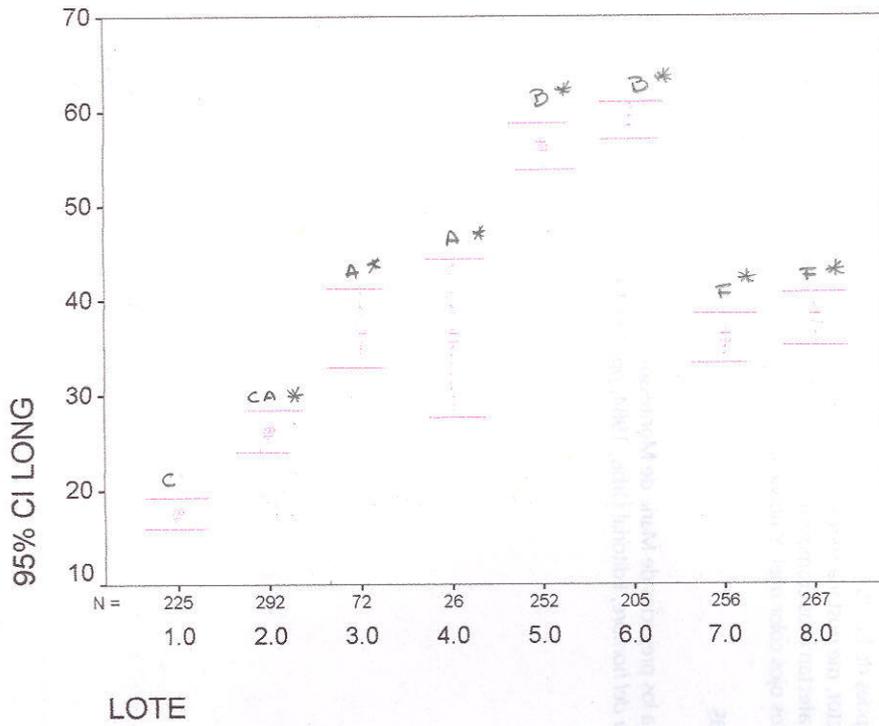
LOTE	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
1.0	225	17.608			
2.0	292		26.229		
7.0	256			35.954	
4.0	26			36.024	
3.0	72			37.071	
8.0	267			37.976	
5.0	252				56.255
6.0	205				58.957
Sig.		1.000	1.000	.995	.970

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 104.279.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

### Graph



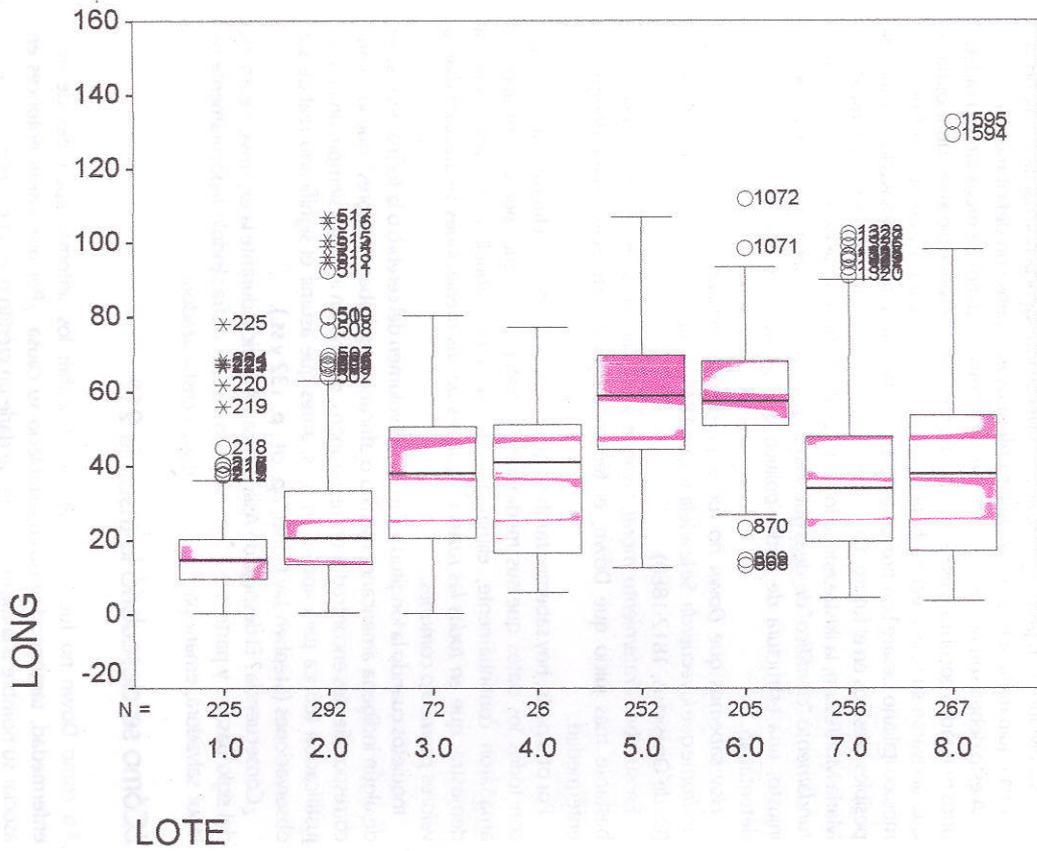
Explore

LOTE

Case Processing Summary

	LOTE	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
LONG	1.0	225	100.0%	0	.0%	225	100.0%
	2.0	292	100.0%	0	.0%	292	100.0%
	3.0	72	100.0%	0	.0%	72	100.0%
	4.0	26	100.0%	0	.0%	26	100.0%
	5.0	252	100.0%	0	.0%	252	100.0%
	6.0	205	100.0%	0	.0%	205	100.0%
	7.0	256	100.0%	0	.0%	256	100.0%
	8.0	267	100.0%	0	.0%	267	100.0%

LONG



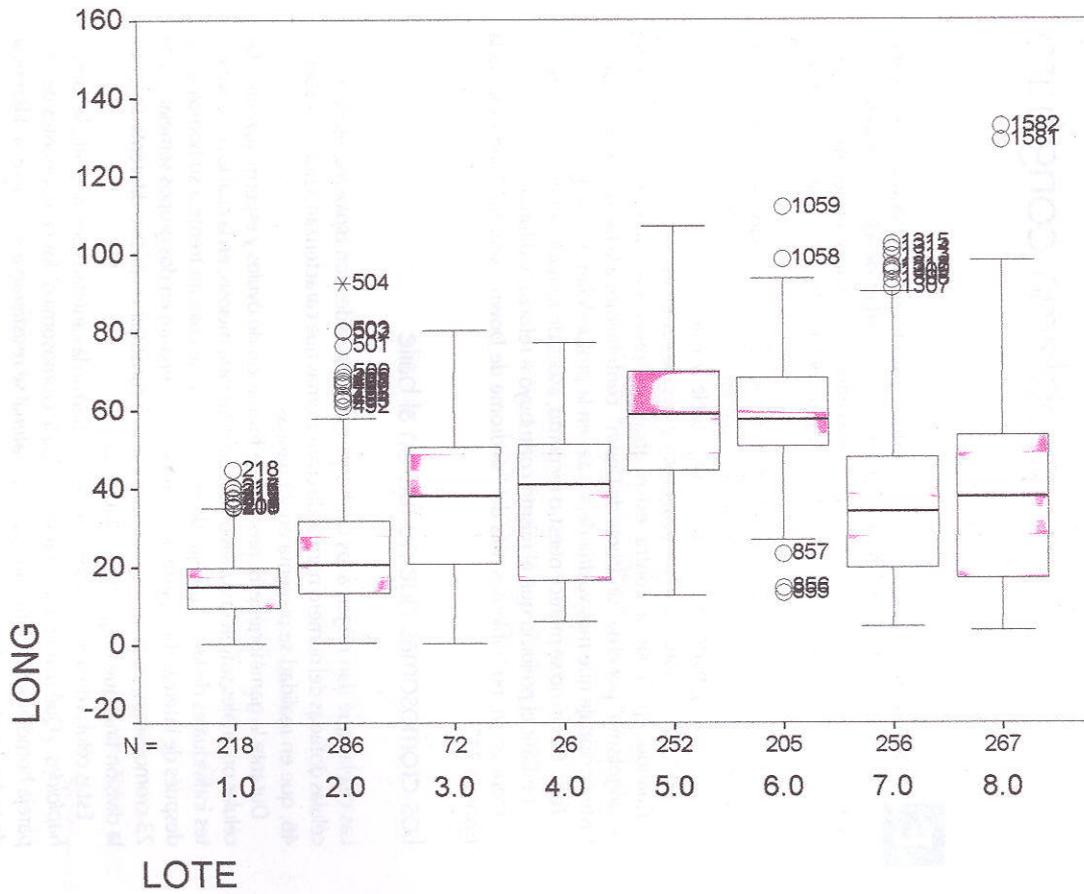
## Explore

### LOTE

Case Processing Summary

LONG	LOTE	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
	1.0	218	100.0%	0	.0%	218	100.0%
	2.0	286	100.0%	0	.0%	286	100.0%
	3.0	72	100.0%	0	.0%	72	100.0%
	4.0	26	100.0%	0	.0%	26	100.0%
	5.0	252	100.0%	0	.0%	252	100.0%
	6.0	205	100.0%	0	.0%	205	100.0%
	7.0	256	100.0%	0	.0%	256	100.0%
	8.0	267	100.0%	0	.0%	267	100.0%

### LONG



### Oneway

#### Descriptives

LONG

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1.0 C	218	16.037	8.726	.591	14.872	17.201	.3	44.9
2.0 CA	286	24.670	15.869	.938	22.823	26.517	.5	92.4
3.0 A	72	37.071	17.726	2.089	32.905	41.236	.3	80.5
4.0 A	26	36.024	20.713	4.062	27.658	44.390	5.8	77.2
5.0 B	252	56.255	19.658	1.238	53.816	58.694	12.6	107.0
6.0 B	205	58.957	14.226	.994	56.998	60.915	13.2	111.9
7.0	256	35.954	21.175	1.323	33.348	38.560	4.5	102.4
8.0	267	37.976	23.313	1.427	35.167	40.785	3.6	132.5
Total	1582	37.777	23.182	.583	36.634	38.920	.3	132.5

Test of Homogeneity of Variances

LONG

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
30.669	7	1574	.000

ANOVA

LONG

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	331148.152	7	47306.879	143.602	.000
Within Groups	518523.116	1574	329.430		
Total	849671.268	1581			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: LONG

Tukey HSD

(I) LOTE	(J) LOTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
C	CA 2.0	-8.634*	1.632	.000	-13.580	-3.688
	A 3.0	-21.034*	2.467	.000	-28.511	-13.556
	A 4.0	-19.987*	3.766	.000	-31.401	-8.573
	B 5.0	-40.219*	1.679	.000	-45.307	-35.130
	B 6.0	-42.920*	1.766	.000	-48.272	-37.568
	F 7.0	-19.918*	1.673	.000	-24.987	-14.848
	F 8.0	-21.939*	1.657	.000	-26.961	-16.918
	CA	C 1.0	8.634*	1.632	.000	3.688
A 3.0		-12.400*	2.393	.000	-19.654	-5.147
A 4.0		-11.354*	3.718	.047	-22.622	-8.539E-02
B 5.0		-31.585*	1.568	.000	-36.338	-26.832
B 6.0		-34.286*	1.661	.000	-39.321	-29.252
F 7.0		-11.284*	1.562	.000	-16.017	-6.551
F 8.0		-13.306*	1.545	.000	-17.987	-8.624
A		C 1.0	21.034*	2.467	.000	13.556
	CA 2.0	12.400*	2.393	.000	5.147	19.654
	A 4.0	1.047	4.153	1.000	-11.540	13.633
	B 5.0	-19.185*	2.425	.000	-26.536	-11.834
	B 6.0	-21.886*	2.486	.000	-29.422	-14.350
	F 7.0	1.116	2.421	1.000	-6.222	8.455
	F 8.0	-.905	2.410	1.000	-8.210	6.400

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: LONG

Tukey HSD

	(I) LOTE	(J) LOTE	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
4.0	C	1.0	19.987*	3.766	.000	8.573	31.401
	CA	2.0	11.354*	3.718	.047	8.539E-02	22.622
	A	3.0	-1.047	4.153	1.000	-13.633	11.540
	B	5.0	-20.232*	3.739	.000	-31.563	-8.900
	B	6.0	-22.933*	3.779	.000	-34.385	-11.480
	F	7.0	6.970E-02	3.736	1.000	-11.253	11.393
	F	8.0	-1.952	3.729	1.000	-13.254	9.350
5.0	C	1.0	40.219*	1.679	.000	35.130	45.307
	CA	2.0	31.585*	1.568	.000	26.832	36.338
	A	3.0	19.185*	2.425	.000	11.834	26.536
	A	4.0	20.232*	3.739	.000	8.900	31.563
	B	6.0	-2.701	1.707	.761	-7.875	2.473
	F	7.0	20.301*	1.611	.000	15.420	25.183
	F	8.0	18.280*	1.594	.000	13.448	23.111
6.0	C	1.0	42.920*	1.766	.000	37.568	48.272
	CA	2.0	34.286*	1.661	.000	29.252	39.321
	A	3.0	21.886*	2.486	.000	14.350	29.422
	A	4.0	22.933*	3.779	.000	11.480	34.385
	B	5.0	2.701	1.707	.761	-2.473	7.875
	F	7.0	23.002*	1.701	.000	17.846	28.158
	F	8.0	20.981*	1.685	.000	15.872	26.089
7.0	C	1.0	19.918*	1.673	.000	14.848	24.987
	CA	2.0	11.284*	1.562	.000	6.551	16.017
	A	3.0	-1.116	2.421	1.000	-8.455	6.222
	A	4.0	-6.970E-02	3.736	1.000	-11.393	11.253
	B	5.0	-20.301*	1.611	.000	-25.183	-15.420
	B	6.0	-23.002*	1.701	.000	-28.158	-17.846
	F	8.0	-2.022	1.588	.909	-6.834	2.790
8.0	C	1.0	21.939*	1.657	.000	16.918	26.961
	CA	2.0	13.306*	1.545	.000	8.624	17.987
	A	3.0	.905	2.410	1.000	-6.400	8.210
	A	4.0	1.952	3.729	1.000	-9.350	13.254
	B	5.0	-18.280*	1.594	.000	-23.111	-13.448
	B	6.0	-20.981*	1.685	.000	-26.089	-15.872
	F	7.0	2.022	1.588	.909	-2.790	6.834

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

### Homogeneous Subsets

LONG

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

LOTE	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
1.0	218	16.037			
2.0	286		24.670		
7.0	256			35.954	
4.0	26			36.024	
3.0	72			37.071	
8.0	267			37.976	
5.0	252				56.255
6.0	205				58.957
Sig.		1.000	1.000	.993	.962

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 103.988.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

>Warning # 6420. Text: C  
 >A variable name is missing. The variable has been dropped.

Data written to the working file.  
 2 variables and 1595 cases written.  
 Variable: LOTE Type: Number Format: F10.1  
 Variable: LONG Type: Number Format: F10.1

## NPar Tests

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		LONG
N		1595
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	38.140
	Std. Deviation	23.487
Most Extreme Differences	Absolute	.109
	Positive	.109
	Negative	-.075
Kolmogorov-Smirnov Z		4.349
Asymp. Sig. (2-tailed)		.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## NPar Tests

### Kruskal-Wallis Test

#### Ranks

	LOTE	N	Mean Rank
LONG C	1.0	225	364.46
CAE	2.0	292	556.89
A <sub>1</sub>	3.0	72	811.90
A <sub>2</sub>	4.0	26	760.10
B <sub>1</sub>	5.0	252	1163.51
B <sub>2</sub>	6.0	205	1221.60
F <sub>1</sub>	7.0	256	760.61
F <sub>2</sub>	8.0	267	792.60
Total		1595	

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	LONG
Chi-Square	613.449
df	7
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: LOTE

## Median Test

Frequencies

		LOTE					
		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0
LONG	> Median	15	64	39	15	206	198
	<= Median	210	228	33	11	46	7

## Frequencies

		LOTE	
		7.0	8.0
LONG	> Median	118	140
	<= Median	138	127

### Test Statistics<sup>b</sup>

	LONG
N	1595
Median	35.542
Chi-Square	543.954 <sup>a</sup>
df	7
Asymp. Sig.	.000

a. 0 cells (.0%) have expected frequencies less than 5. The minimum expected cell frequency is 13.0.

b. Grouping Variable: LOTE

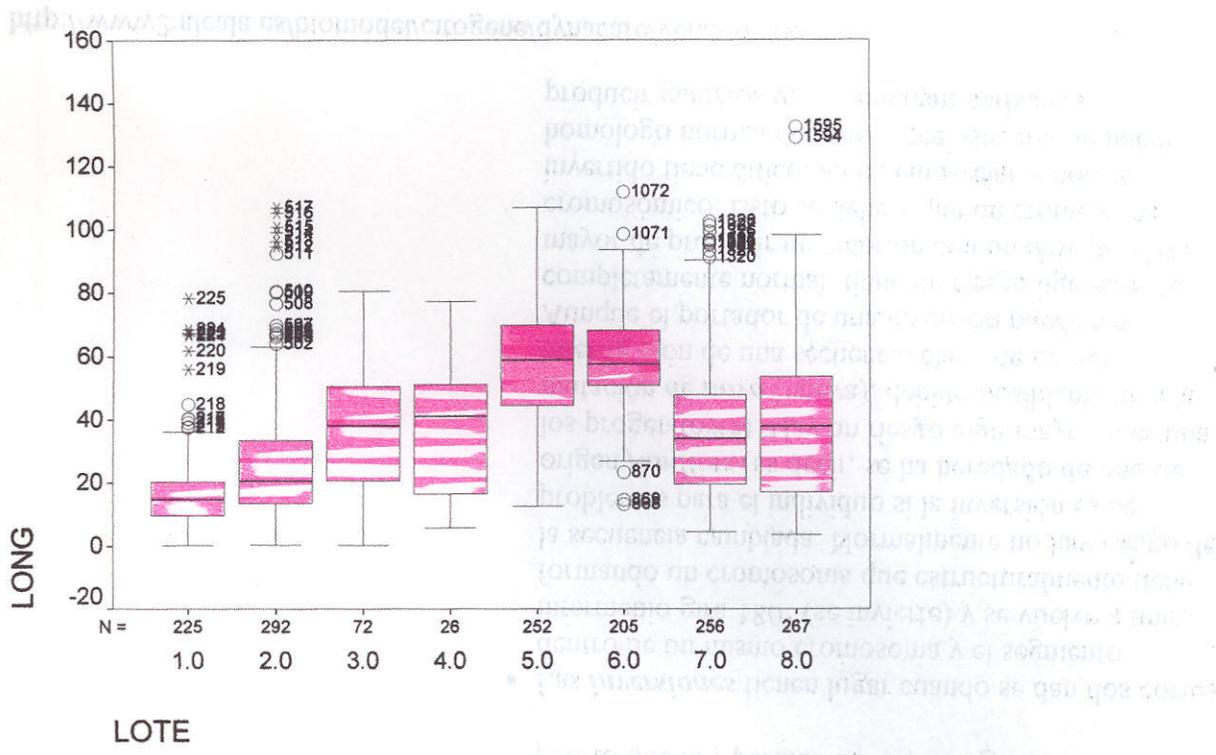
## Explore

### LOTE

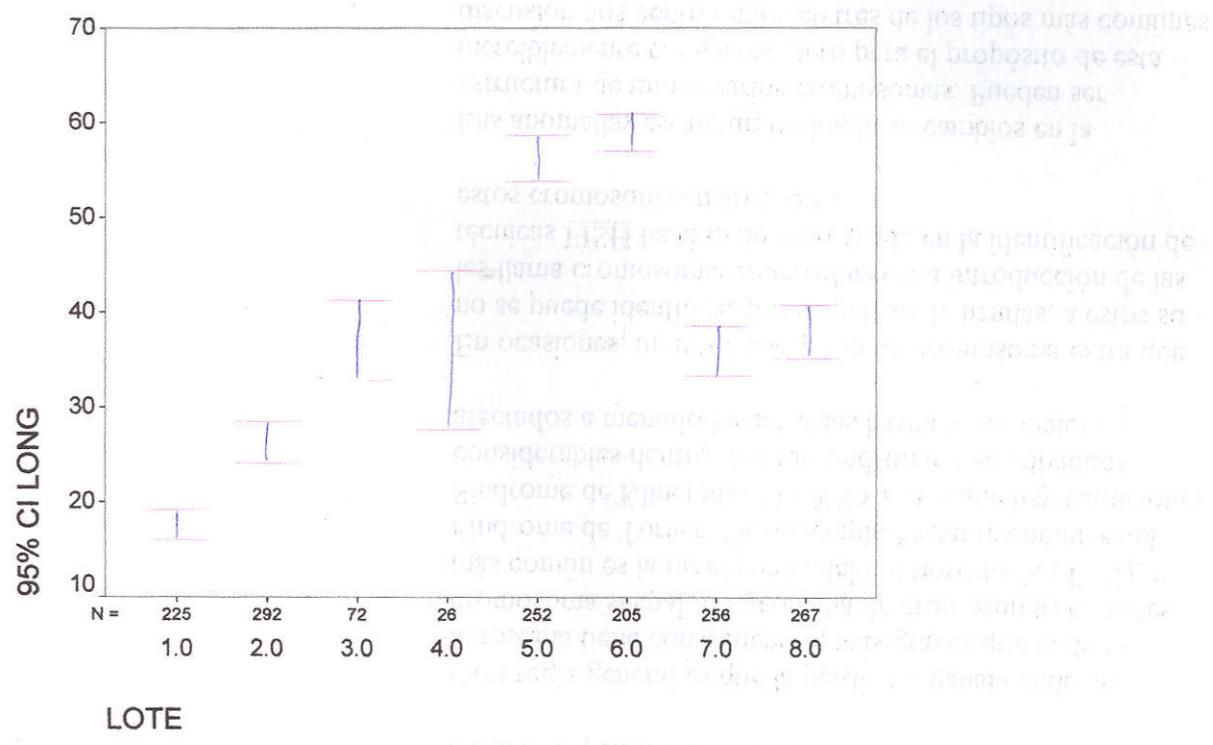
#### Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
LONG	1.0	225	100.0%	0	.0%	225	100.0%
	2.0	292	100.0%	0	.0%	292	100.0%
	3.0	72	100.0%	0	.0%	72	100.0%
	4.0	26	100.0%	0	.0%	26	100.0%
	5.0	252	100.0%	0	.0%	252	100.0%
	6.0	205	100.0%	0	.0%	205	100.0%
	7.0	256	100.0%	0	.0%	256	100.0%
	8.0	267	100.0%	0	.0%	267	100.0%

### LONG



Graph



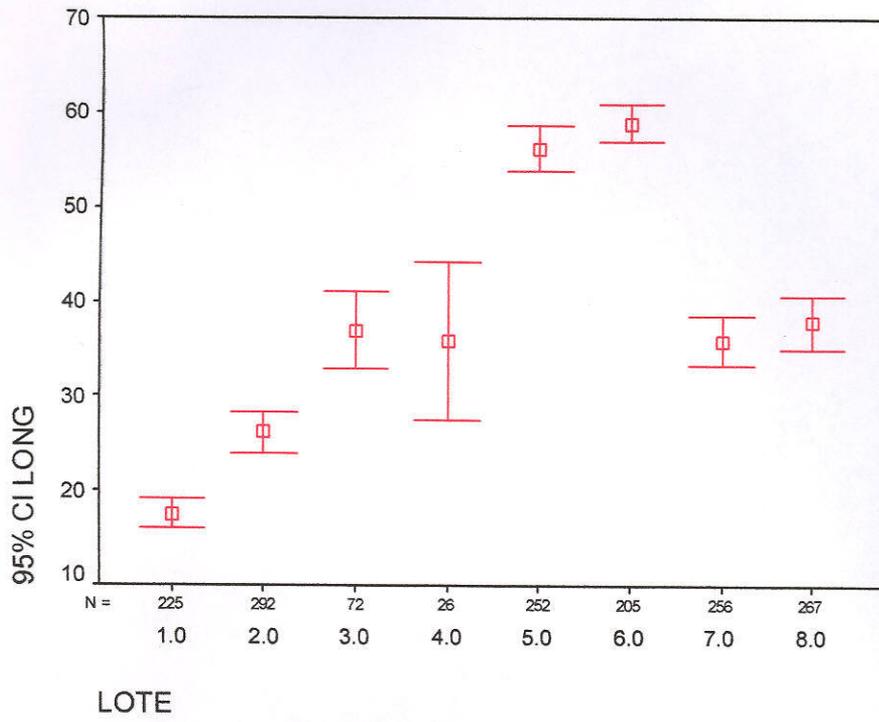
Long	Rank sum	Rank sum	U	Z	P-level	Z adjusted	P-Level	N	N
1:2	47806	86097	22381	-6.21653	0.0000	-6.21662	0.00000	225	292
1:3	28209	16044	2784	-8.38127	0.0000	-8.38143	0.00000	225	72
1:4	26882.5	4743.5	1457.5	-4.18688	0.000028	-4.18699	.000028	225	26
1:5	28688.5	85314.5	3263.5	-16.6926	0.0000	-16.6927	0.00000	225	252
1:6	26831.5	65833.5	1406.5	-16.8253	0.0000	-16.8254	0.0000	225	205
1:7	37484.5	78436.5	12059.5	-11.0059	0.0000	-11.0060	0.0000	225	256
1:8	38651.00	82627.0	13226.0	-10.7011	0.0000	-10.7012	0.0000	225	267
2:1	86097.0	47806.0	22381.0	6.216533	0.0000	6.216616	0.0000	292	225
2:3	49061.0	17369.0	6283.0	-5.28840	0.0000	-5.28844	0.00000	292	72
2:4	45520	5201	2742	-2.34616	0.018974	-2.34619	0.018973	292	26
2:5	52454	95786	9676	-14.8329	0.0000	-14.8330	0.00000	292	252
2:6	47964	75789	5186	-15.6992	0.0000	-15.6993	0.00000	292	205
2:7	68581	81845	25803	-6.25805	0.0000	-6.25809	0.00000	292	256
2:8	69604	86916	26826	-6.37295	0.0000	-6.37298	0.00000	292	267
3:1	16044.0	28209.0	2784.0	8.381272	0.0000	8.381428	0.0000	72	225
3:2	17369.0	49061.0	6283.0	5.288399	0.0000	5.288444	0.0000	72	292
3:4	3612.00	1239.00	888.00	0.386244	0.699319	0.386246	0.699317	72	26
3:5	6820.50	45829.5	4192.5	-6.96078	0.0000	-6.96079	0.0000	72	252
3:6	5175.00	33328.0	2547.0	-8.26498	0.0000	-8.26502	0.0000	72	205
3:7	12681.5	41274.5	8378.5	1.178125	0.238756	1.178131	0.238753	72	256
3:8	12523.0	45107.0	9329.0	0.383456	0.701384	0.383458	0.701383	72	267
4:1	4743.5	26882.5	1457.5	4.186880	0.000028	4.186987	0.000028	26	225
4:2	5201.0	45520.0	2742.0	2.346161	0.018974	2.346189	0.018973	26	292
4:3	1239.0	3612.0	888.00	0.386244	0.699319	0.386246	0.699317	26	72
4:5	1894.0	36887.0	1543.0	-4.44018	0.000009	-4.44018	0.000009	26	252
4:6	1359.5	25436.5	1008.5	-5.16029	0.0000	-5.16032	0.0000	26	205
4:7	3767.5	36135.5	3239.5	0.223375	0.823245	0.223376	0.823244	26	256
4:8	3664.0	39407.0	3313.0	-3.83117	0.701635	-3.83119	0.701634	26	267
5:1	85314.5	28688.5	3263.5	16.69265	0.0000	16.69272	0.0000	252	225
5:2	95786.0	52454.0	9676.0	14.83291	0.0000	14.83296	0.0000	252	292
5:3	45829.5	6820.5	4192.5	6.960777	0.0000	6.960794	0.0000	252	72
5:4	36887.0	1894.0	1543.0	4.440176	0.000009	4.440182	0.000009	252	26
5:6	56976.0	47677.0	25098.0	-5.21305	0.602158	-5.21306	0.60157	252	205
5:7	81858.5	47427.5	14531.5	10.71483	0.00000	10.71485	0.00000	252	256
5:8	81820.0	53120.0	17342.0	9.545983	0.00000	9.545999	0.00000	252	267
6:1	65833.5	26831.5	1406.5	16.82527	0.0000	16.82537	0.0000	205	225
6:2	75789.0	47964.0	5186.0	15.69920	0.0000	15.69926	0.0000	205	292
6:3	33328.0	5175.0	2547.0	8.264980	0.0000	8.265017	0.0000	205	72
6:4	25436.5	1359.5	1008.5	5.160294	0.0000	5.160325	0.0000	205	26
6:5	47677.0	56976.0	25098.0	0.521305	0.602158	0.521306	0.602157	205	252
6:7	64972.5	41518.5	8622.5	12.39416	0.0000	12.39419	0.00000	205	256
6:8	64082.5	47545.5	11767.5	10.62067	0.0000	10.62070	0.00000	205	267
7:1	78436.5	37484.5	12059.5	11.00587	0.00000	11.00596	0.00000	256	225
7:2	81845.00	68581.0	25803.0	6.258049	0.00000	6.258086	0.00000	256	292
7:3	41274.5	12681.5	8378.5	-1.17812	0.238756	-1.17813	0.238753	256	72
7:4	36135.5	3767.5	3239.5	-2.23375	0.823245	-2.23376	0.823244	256	26
7:5	47427.5	81858.5	14531.5	-10.7148	0.0000	-10.7149	0.00000	256	252
7:6	41518.5	64972.5	8622.5	-12.3942	0.0000	12.3942	0.00000	256	205
7:8	65455.00	71571.0	32559.0	-9.35965	0.349299	-9.35969	0.349296	256	267
8:1	82627.0	38651.0	13226.0	10.70106	0.00000	10.70116	0.00000	267	225
8:2	89916.0	69604.0	26826.0	6.372946	0.00000	6.372984	0.00000	267	292
8:3	45107.0	12523.0	9329.0	-3.83456	0.701384	-3.83458	0.701383	267	72
8:4	39407.0	3664.0	3313.0	0.383117	0.701635	0.383119	0.701634	267	26
8:5	53120.0	81820.0	17342.0	-9.54598	0.0000	-9.54600	0.00000	267	252
8:6	47545.5	64082.5	11767.5	-10.6207	0.0000	-10.6207	0.0000	267	205
8:7	71571.0	65455.0	32559.0	.935965	0.349299	0.935969	0.349296	267	256

Kruskall-Wallis

Median Test, Overall Median = 35.54250 (cometa.sta)

Chi-Square = 543.9536, df = 7, p = 0.000

	1	2	3	4	5	6	7	8	Total
Median Observed	210.0	228.0	33.0	11.0	46.00	7.0	138.0	127.0	800.0
expected	112.8527	146.4577	36.11285	13.04075	126.3950	102.8213	128.4013	133.9185	
obs.-exp	97.1473	81.5423	-3.11285	-2.04075	-80.3950	-95.8213	9.5987	-6.9185	
Median: observed	15.0	64.0	39.0	15.0	206.0	198.0	118.0	140.0	795.0
expected	112.1473	145.5423	35.88715	12.95925	125.6050	102.1787	127.5987	133.0815	
obs.-exp.	-97.1473	-81.5423	3.11285	2.04075	80.3950	95.8213	-9.5987	6.9185	
Total: observed	225	292	72	26	252	205	256	267	1595



# ANEXO II

(Parámetros fisicoquímicos)



## **ANEXO III**

(Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAPs).

## **Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs).**

### *Introducción.*

La cromatografía líquida de alta resolución (High performance liquid chromatography, HPLC por sus siglas en inglés) es una técnica para separar los componentes de una mezcla de sustancias cuyas ventajas son la rapidez y la alta resolución (Prado y Covarrubias, 1996) en la cromatografía de líquidos se pueden separar compuestos orgánicos, especies iónicas, macromoléculas, polímeros, productos lábiles naturales y polifuncionales de pesos moleculares entre los  $10^2$  y  $10^4$  daltones.

Los métodos desarrollados para la purificación de compuestos pueden ser concebidos como operaciones en cascada. La base fundamental de una operación en cascada es el paso de una mezcla de sustancias a través de una ordenación secuencial de etapas de purificación. Cuando una mezcla se somete a una primera etapa, solamente se obtiene una pequeña separación cuantitativa de los componentes de la misma, pero cuando continua pasando a través de cientos o miles de etapas, la mezcla es separada en sus componentes y se consigue un alto grado de purificación. Puede considerarse a las moléculas contenidas en la mezcla como moviéndose a lo largo de un canal cuyo diámetro es pequeño comparado con su longitud. El solvente ocupa el espacio del canal que no es ocupado por las moléculas. Estos son sometidos a una fuerza  $F_1$ , que las impulsa a lo largo del canal y actúa de la misma forma sobre cada molécula. Sin embargo, otras fuerzas  $F_2$  retardan las moléculas y actúan en dirección opuesta a la fuerza impulsora. Si las fuerzas de retardo son diferentes para las distintas moléculas contenidas en la mezcla, entonces cuando ésta pasa a lo largo de una distancia significativa del canal, comienza la separación y puede llegar a completarse si el proceso continúa (White et al., 1983).

Un sistema cromatográfico está formado por dos fases no miscibles una estacionaria (sólido o líquido impregnado en un soporte) y una móvil (disolvente o mezcla de disolventes). La fase estacionaria se encuentra empacada en una columna a través de la cual se hace fluir, en forma continua. En la fase móvil, los componentes de la muestra presentan un equilibrio así se determina la velocidad con la cual cada componente migra a través del sistema.

Existen diferentes tipos de HPLC uno de ellos es la cromatografía de fase normal que fue el primer tipo de HPLC empleado, principalmente se caracteriza por separar compuestos con base en su polaridad, se emplea una fase estacionaria polar y una fase móvil no polar y se utiliza cuando el compuesto de interés es polar. El compuesto polar se asocia y es retenido con la fase estacionaria.

Otro tipo de HPLC es la llamada de fase reversa que consiste en una fase móvil no polar y una fase móvil de polaridad moderada. El tiempo de retención es mayor para las moléculas de naturaleza no polar, mientras que las moléculas de carácter polar eluyen más rápidamente.

La cromatografía de exclusión molecular también conocida como cromatografía por filtración en gel separa las partículas de la muestra en función de su tamaño. Generalmente se trata de una cromatografía de baja resolución de forma que se suele utilizar en los pasos finales del proceso de purificación. También es muy útil para la determinación de la estructura terciaria y la estructura cuaternaria de las proteínas purificadas.

En la cromatografía de intercambio iónico (IEC): se utilizan columnas rellenas con resinas de intercambio iónico para separar y determinar iones. La retención se basa en la atracción electrostática entre los iones en solución y las cargas inmovilizadas en la fase estacionaria. Los iones de la misma carga son excluidos mientras que los de carga opuesta son retenidos por la columna. Algunos tipos de intercambiadores iónicos son: a) Resinas de poliestireno, b) intercambiadores iónicos de celulosa y dextranos (geles), c) Silica porosa o vidrio de tamaño de poro controlado. En general los intercambiadores iónicos favorecen la unión de iones de elevada carga y radio pequeño.

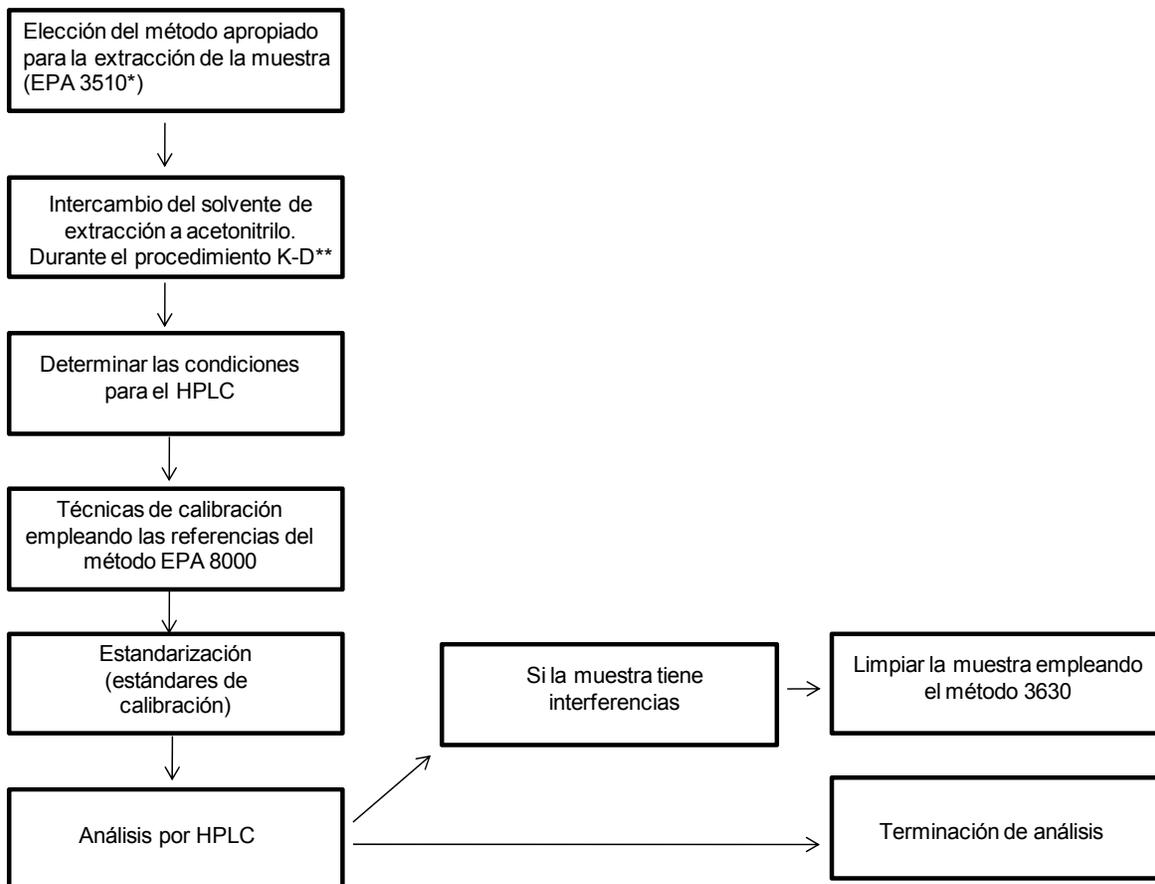
En la cromatografía de exclusión por tamaño (EC): la fase fija principalmente está formada por partículas de polímeros o de sílice que contiene una red uniforme de poros y llevan a cabo un fraccionamiento relacionado con el tamaño molecular, las moléculas de tamaño mayor son excluidas y eluyen primero, mientras que las más pequeñas penetran en los poros y son retenidas por más tiempo.

Para realizar una separación analítica se deben considerar los siguientes parámetros: el diámetro interno de una columna de HPLC determina la cantidad de muestra que se puede cargar en la columna y también influye en su sensibilidad. Las columnas de diámetro interno más grande (>10 mm) se utilizan normalmente en la purificación de compuestos para su posterior utilización. Para un análisis más sensible se emplean columnas de diámetro interno menor (4-5 mm). Estas columnas se llaman de rango analítico y normalmente están asociadas a un detector UV-VIS. La medida de las partículas de la fase estacionaria principalmente son esféricas de sílica, las cuales pueden tener diferentes medidas, se utilizan con mayor frecuencia las de 5 mm de diámetro, las más pequeñas ofrecen una mayor superficie y una mejor separación, pero la presión que se requiere por obtener una velocidad lineal óptima aumenta de forma inversamente proporcional al cubo del diámetro de la partícula. Esto significa que disminuir la medida de las partículas a la mitad, aumentaría la resolución de la columna, pero a la vez, aumentaría la presión necesaria en un factor de ocho. El tamaño del poro es una característica importante de la fase estacionaria, los poros pequeños proporcionan una mayor superficie mientras que los poros de mayor medida proporcionan una mejor cinética. La presión de la bomba es un factor importante ya que el rendimiento de esta se mide en la capacidad para generar un flujo constante, reproducible y debe producir presiones estables hasta 6000 psi.

## **MATERIALES Y MÉTODOS.**

Para cuantificar e identificar la presencia de los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos identificados por la agencia de protección ambiental de Estados Unidos (USEPA) como contaminantes prioritarios en la columna de agua se realizaron muestreos en áreas de alta y baja actividad de embarcaciones motorizadas a lo largo del complejo lagunar Bojorquez-Nichupté ubicado entre los 86° 46' y 86° 50' de longitud oeste y los 21° 02' a los 21° 06' de latitud norte. El sistema comprende principalmente las lagunas Bojorquez y Nichupté además existen otras dos lagunas más pequeñas (Somosaya y río Inglés), las cuales se caracterizan por sus numerosos cenotes sumergidos, estos aportan cantidades considerables de agua dulce al sistema. Asimismo, se tomaron muestras en la laguna arrecifal de Puerto Morelos en Quintana Roo México (latitud de 21° 00'00'' y 20° 48'33'' Norte y longitud 86° 53' 14.4'' y 86° 46' 38.94'' Oeste). En cada estación seleccionada se colectaron dos litros de agua en frascos de vidrio color ámbar a una profundidad no mayor de 1.00 m. Asimismo se tomaron los siguientes parámetros fisicoquímicos: oxígeno disuelto, temperatura, conductividad y salinidad. Las muestras se transportaron en hieleras, con refrigerantes para mantenerlas en frío y evitar su degradación, se enviaron por avión al laboratorio ABC Química Investigación y Análisis S.A. de C.V., donde se guardaron en refrigerador (4°C) hasta su análisis. En el laboratorio las muestras fueron extraídas y concentradas empleando el método EPA 8310-1986. Las muestras fueron evaluadas empleando la técnica de HPLC. (Fig. 1).

## MÉTODO EPA 8310-1986 PARA LA EXTRACCIÓN DE HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLÍCICLICOS.



**Figura. 1. Método de evaluación de hidrocarburos aromáticos policíclicos empleando el método EPA 8310-1986. \*\*K-D aparato Kuderna-Danish.**

Método	Matriz	Tipo de extracción	Analitos
*3510	Agua	Extracción con embudo de separación líquido-líquido	Orgánicos semivolátiles y volátiles

## Procedimiento

### *Extracción de la muestra.*

Para la preparación de la muestra se tomó un litro de cada muestra se ajustó a un pH dentro del intervalo de 5 a 9. Se sonicaron durante dos minutos. Este proceso se repitió tres veces. A cada matraz se le agregó 25  $\mu$ l de surrogados, 0.2 p-terfenilo y 100 ml de cloruro de metileno (grado HPLC, Sigma USA) se agitó durante tres minutos, previamente se paso por un embudo de filtración con fibra de vidrio o papel filtro No. 41 y sulfato de sodio anhidro, después de la agitación se dejó reposar para permitir la separación de las fases se recuperó el cloruro de metileno en un matraz Erlenmeyer de 250 ml. La muestra se extrajo dos veces más con 50 ml de cloruro de metileno como anteriormente se explicó y los extractos se recuperaron en el mismo matraz Erlenmeyer, posteriormente estos se concentraron empleando un Kuderna-Danish en un baño maría a una temperatura entre 60 y 89 °C la muestra permaneció en el baño hasta que el volumen aparente del extracto fue de 1 ml; se le agregó 1 ml de acetonitrilo (grado HPLC, Sigma USA), se concentró a 1 ml posteriormente se retiró la columna Snyder y con una pipeta Pasteur se recuperó el extracto en un vial de 2 ml que se utilizó para el análisis cromatográfico.

### *Método analítico.*

Para determinar la concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos se empleo un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC), se evaporó la muestra con nitrógeno, añadiendo pequeños volúmenes de acetonitrilo ajustando el volumen final de la muestra a 1 ml, el HPLC está equipado con un automuestreador y dos detectores: el detector UV con o sin arreglo de diodos (DAD) el cual permite obtener el espectro UV del compuesto para su identificación y el detector de fluorescencia (FLD) permite detectar y confirmar simultáneamente los analitos de interés además es capaz de utilizar un rango de longitud de onda de excitación de 225 a 300 nm y de emisión de 315 a 495 nm, así se tiene una mayor sensibilidad y es específico para la mayoría de los compuestos analizados por este método.

La muestra se inyecta con una jeringa de vidrio resistente al acetonitrilo de 3 ml, y se utilizó una columna de acero inoxidable Grace Vydac de fase reversa, C<sub>18</sub> enlazados utilizando silica, con tamaño de partícula de 5  $\mu$ m y tamaño de poro de 300 Å, 25 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno y micro jeringas de los siguientes volúmenes: 10, 50, 100 y 500  $\mu$ l.

Todos los reactivos empleados y el agua fueron de grado reactivo (tipo ASTM 1) libre de compuestos orgánicos, la cual no presentó interferencia en la región UV, (acetonitrilo grado HPLC Sigma, USA), se preparó una curva de calibración con los 16 hidrocarburos aromáticos policíclicos clasificados por la US EPA como contaminantes prioritarios. (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[ $\alpha$ ]antraceno, criseno,

benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, Benzo[a]pireno, dibenzo[ah]antraceno, benzo[ghi]perileno y indeno[123-cd]pireno.

*Control de calidad.*

Se analizó un punto de la curva para comprobar que los valores que se obtuvieron para cada hidrocarburo tuvieran el 15 % de variación con respecto a las concentraciones de la curva de calibración inicial, sino se cumplió lo anterior se preparaba y analizaba una nueva mezcla de verificación o curva de calibración. El blanco electrónico no presentó ningún tipo de contaminante que interfiriera con los HAPs medidos. Los resultados de los blancos de reactivos fueron menores al límite de detección del método y no se presentaron compuestos que interfirieran con la identificación y/o cuantificación de los analitos medidos. En la tabla 1 se identifican los 16 hidrocarburos analizados así como el tiempo de retención el factor de capacidad de la columna y el límite de detección del método.

**Tabla. 1. Hidrocarburos aromáticos policíclicos clasificados por la US EPA como contaminantes prioritarios analizados por HPLC.**

Límite de detección del método (µg/L)				
<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>	<b>Factor de capacidad de la columna (K')</b>	<b>UV</b>	<b>Fluorescencia</b>
1 Naftaleno	16.6	12.2	1.8	
2 Acenaftileno	18.5	13.7	2.3	
3 Acenafteno	20.5	15.2	1.8	
4 Fluoreno	21.2	15.8	0.21	
5 Fenantreno	22.1	16.6		0.64
6 Antraceno	23.4	17.6		0.66
7 Fluoranteno	24.5	18.5		0.21
8 Pireno	25.4	19.1		0.27
9 Benzo(a)antraceno	28.5	21.6		0.013
10 Criseno	29.3	22.2		0.15
11 Benzo(b)fluoranteno	31.6	24.0		0.018
12 Benzo(k)fluoranteno	32.9	25.1		0.017
13 Benzo(a)pireno	33.9	25.9		0.023
14 Dibenzo(ah)antraceno	35.7	27.4		0.030
15 Benzo(ghi)perileno	36.3	27.8		0.076
16 Indeno(123-cd)pireno	37.4	28.7		0.043

## RESULTADOS

### *ANALISIS DE AGUA*

Como se observa en la tabla 2 las concentraciones de la mayoría de los HAPs fue menor que el límite de detección del método de cuantificación utilizado lo que significa que a pesar de la presencia de actividades humanas que generan HAPs, estos aún no alcanzan concentraciones de preocupación. Se detectó fenantreno en diez de las doce estaciones muestreadas, y naftaleno en la Ensenada Sur, en la Boca Sur de Punta Nizuc, frente al Hotel Moon Palace y en Punta Tanchacte. Asimismo se detectó la presencia de antraceno el cuál es fototóxico solo en el canal Norte de Nichupté (tabla 1).

Tabla 2. Concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en la columna de agua en ng/L.

Localización	Fenantreno	Antraceno*	Naftaleno	HAPs fototóxicos* Benzo(a)antraceno, Benzo(b)fluoranteno Benzo(a)pireno, Fluoranteno, Pireno
Boca norte	<b>6.6</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Bojorquez	<b>6.97</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Bojorquez río	<b>2.93</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Nichupte	<b>6.26</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Nichupte canal norte	<b>9.78</b>	<b>7.34</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Ensenasur	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Boca sur punta Nizuc	<b>4.58</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Moon Palace	<b>ND</b>	<b>ND</b>		<b>ND</b>
Punta Tanchacte	<b>2.49</b>	<b>ND</b>		<b>ND</b>
Petempich	<b>2.95</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Muelle Puerto Morelos	<b>6.64</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>
Marina del Cid	<b>2.55</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>	<b>ND</b>

ND: no detectado, por debajo del límite de detección analítico.

En la figura 2 se observan las posibles rutas, patrones y posibles destinos de los hidrocarburos disueltos en el agua y las posibles explicaciones de por qué las concentraciones de los hidrocarburos fueron tan bajas. Los HAPs disueltos tienen dos posibles rutas principales de degradación o transformación, por un lado pueden ser ingeridos, bioacumulados y liberados en el ambiente acuático donde pueden ser absorbidos o se asocian con la materia orgánica particulada formando hidrocarburos particulados y finalmente se convierten en sedimentados. Por el otro lado, sufren diversos procesos de degradación como la fotooxidación, se disuelven en el agua, sufren evaporación, tienen interacción con compuestos disueltos y finalmente, al degradarse, sufren una transformación y producen otras moléculas que son solubles.

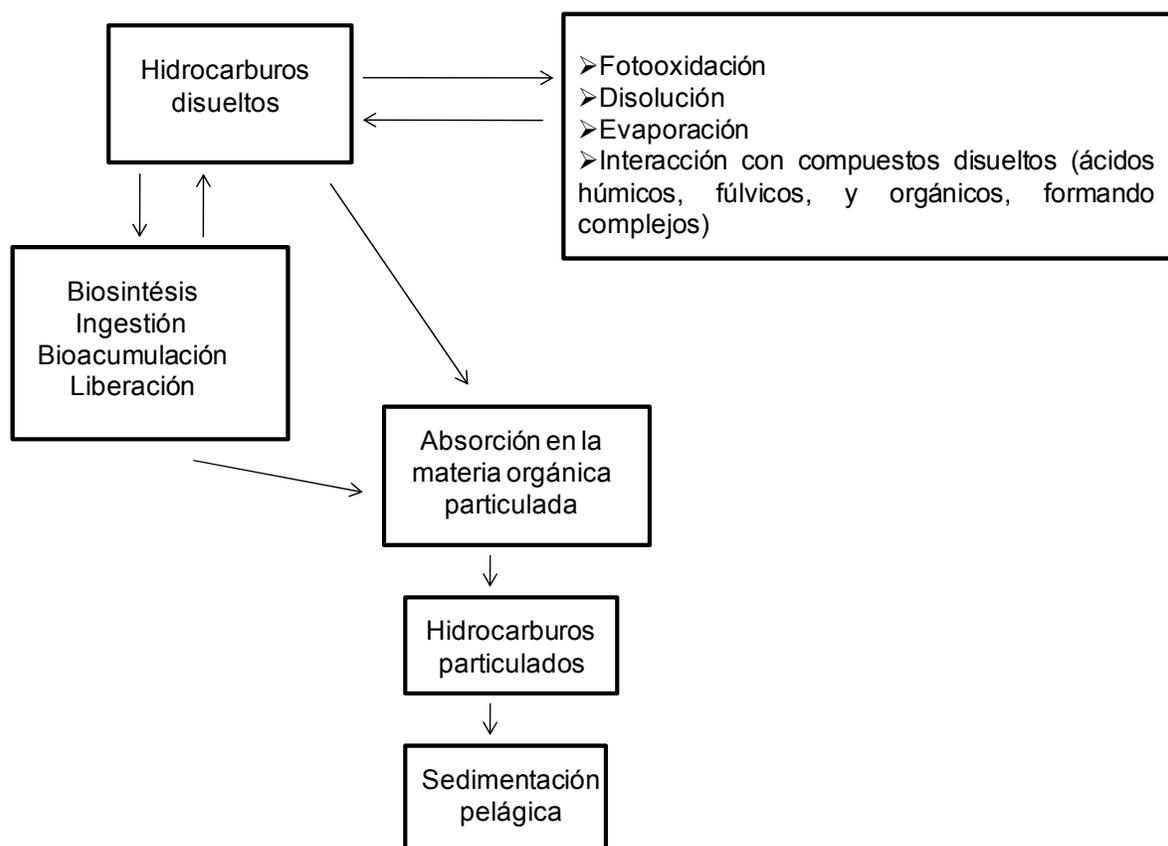


Figura 2. Esquema de los procesos de degradación de los hidrocarburos aromáticos policíclicos.

# DISCUSIÓN

## ANALISIS DE AGUA

Los resultados de la concentración de hidrocarburos en muestras de agua realizado por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), no se detectaron concentraciones de HAPs, solo se encontró fenantreno en diez de las doce estaciones muestreadas, (tabla, 2) y naftaleno en la Ensenada Sur (en la Boca Sur de Punta Nizuc, frente al Hotel Moon Palace) y en Punta Tanchacte, siendo estos compuestos marcadores de la gasolina. Solo se detectó la presencia de un hidrocarburo fototóxico (antraceno) en el canal Norte de Nichupte (tabla 2). La ausencia de hidrocarburos en la columna de agua sugiere que cuando estos son arrojados al ambiente acuático, se pierden inmediatamente por dilución y/o evaporación como lo sugiere el reporte de agua producida en pozos de extracción (OGP International Association of Oil and Gas Producers, 2002).

Los estudios sobre modelos de dispersión de hidrocarburos y medidas de campo del destino del agua producida en el Mar del Norte demostraron que existe una rápida dilución inicial de las descargas con un factor de 1000 dentro de los 50-100 metros del punto de descarga (Furuholt 1996, Riskheim y Johnsen 1994). En ambientes acuáticos los cambios en la concentración de HAPs también son un reflejo de la degradación biológica, oxidación fotoquímica y absorción a sólidos suspendidos con una subsecuente sedimentación. La sedimentación y la oxidación fotoquímica causan una disminución en la concentración de los hidrocarburos de alto peso molecular.

La vida media de los hidrocarburos en ambientes acuáticos está en el rango de 1000 a 3000 horas que equivalen a 41-125 días (Swietlik., *et al.*, 2002). En este mismo trabajo se seleccionaron factores fisicoquímicos que influyeron sobre la degradación de los HAPs en agua de río y en agua destilada, observándose que en situaciones de obscuridad la degradación del fluoranteno fue de 83 días y para el benzo[ $\alpha$ ]pireno fue de 26 días. En condiciones de radiación con 3500 Lx y aireación con aire o nitrógeno aumenta la pérdida de los HAPs, así para fluoranteno fue de 26 días y para BaP fue de 4 días. Estos autores concluyeron que la mayor degradación de los hidrocarburos ocurre después de la radiación y la aireación; esto sugiere la existencia del proceso de foto degradación y demuestra que en condiciones naturales los hidrocarburos están expuestos a radiación solar y aireación continua, lo que permite su rápida degradación en el ambiente y por lo tanto su ausencia en el ambiente.

En el trabajo de Celis *et al.*, (1987) se describen las rutas de destino de los hidrocarburos las cuales permiten explicar la falta de detección de estos compuestos en el presente trabajo. Los hidrocarburos disueltos sufren fotooxidación, evaporación, o pueden interactuar con compuestos disueltos como ácidos húmicos, fúlvicos y orgánicos, formando complejos y la disolución de estos.

Por otra parte los hidrocarburos también pueden ser transportados en el agua por las corrientes marinas, así Merino (1984) identificó para la zona del Caribe tres áreas: la primera corresponde al área dentro de la cual la deriva termina en la costa de Yucatán conocida como el área de circulación costera; la segunda región sigue el patrón de circulación oceánica y la tercera región forma parte de la corriente de Lazos. Así la influencia de las tres corrientes puede transportarlos a otros sitios lejos del punto de origen.

Otro proceso que interviene en la degradación de los hidrocarburos y que puede afectar la concentración de estos en el agua es la degradación por algunas algas como lo describe el trabajo de Warshawsky *et al.*, (1995) quienes demostraron como el metabolismo del Benzo[ $\alpha$ ]pireno (BaP) por el alga verde *Selenastrum capricornutum* produce diferentes productos, principalmente quinonas. Los datos de ese trabajo sugieren que la fototoxicidad del BaP se debe a la producción de quinonas. El 3,6-quinona de BaP es fototóxico y esto probablemente es el resultado de la producción de intermedios reactivos de vida corta por la interacción de luz con la quinona. Solo las algas verdes *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus acutus* y *Ankistrodesmus braunii* metabolizan el BaP a dihidrodioles. Los autores concluyeron que las algas son importantes por su capacidad de degradar a los HAPs pero la degradación es dependiente de la dosis de la energía de la luz emitida y absorbida, la dosis del hidrocarburo la fototoxicidad de los HAPs y sus metabolitos y el tipo de alga. Todos estos factores son importantes en la evaluación de los patrones de degradación y detoxificación de los hidrocarburos por las algas. Para la zona de estudio existe la posibilidad de que algún tipo de alga degrade los HAPs.

Los factores explicados reducen el riesgo de fototoxicidad por HAPs para los organismos marinos en la columna de agua porque no se detectaron hidrocarburos en las muestras de agua tomadas en la zona de estudio. Para futuras investigaciones es necesario realizar estudios para identificar la presencia de estos compuestos asociados a sedimentos en el sistema lagunar Bojorquez-Nichupte y la Laguna arrecifal de Puerto Morelos.

En este momento para el sistema lagunar Bojorquez-Nichupte y la zona arrecifal de Puerto Morelos no existen HAPs en la columna de agua.

## **CONCLUSIÓN**

El análisis de las muestras de agua realizado a través de cromatografía líquida de alta resolución HPLC demostró que existen concentraciones muy bajas de hidrocarburos o no se detectaron a lo largo de la laguna Bojorquez-Nichupte y la laguna arrecifal de Puerto Morelos.

## **RECOMENDACIÓN**

En este momento las concentraciones de HAPs en la columna de agua no se detectaron, pero es necesario monitorear las concentraciones de estos en el sedimento y agua ya que debido al rápido crecimiento de la industria del turismo las condiciones pueden cambiar y aumentar la concentración de estos compuestos y producir efectos nocivos a estos ecosistemas invaluable.

## LITERATURA CITADA

Celis L., Vázquez Botello A., Mendelewicz M. Y Diaz G. 1987. Actividades del Proyecto Caripol en la Zona Costera de México: I. Hidrocarburos Disueltos. **Carib J. Sci.** 23(I): 11-18.

Furuholt E. and Kinn S.J. 1998. Regional Environmental Impact Assessment. SPE paper SPE 46470, presented at the 1998 HSE, meeting Caracas Venezuela.

Merino I.B. 1984. Aspectos de la circulación costera superficial del Caribe Mexicano con base en observaciones utilizando tarjetas de deriva. **Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología.** Noviembre de 1984.

OGP. International Association of Oil & Gas Producers. 2002. **Aromatics in produced water: occurrence, fate, & effects and treatment.** Report No. 1.20/324, January 2002, 25 p.

Riksheim H., and Johnsen, S. 1994. **Determination of produced water constituents in the vicinity of production fields in the North Sea.** SPE paper 27150. Presented at the SPE conference in Jakarta.

Świetlik R., Kowalczyk, D. Dojlido J. 2002. Influence of Selected Physicochemical Factors on the Degradation of PAHs in Water. Polish **Journal of Environ. Studies** Vol. 11, No. 2 (2002), 165-169.

U.S. EPA. 1997. **Method 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons.** U.S. EPA. Washington, D.C. 144-157 pp.

U.S. EPA. 1996. **Method 3510 Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction.** U.S. EPA. Washington, D.C. 8 pp.

Warshawsky D., Cody T., Radike M., Reilman R., Schuamann B., LaDow K. and Schenieder J. 1995. **Chemico—Biological Interactions** 97 131-148.

White A., Handler P., Smith E.L. Hill R.L. and Lehman I.R. 1982. **Principios de Bioquímica.** 2a. edición en español, impreso en España, McGrawHill 1582 pp.

# ANEXO IV

(Cromatogramas de los HAPs)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.



JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx

### INFORME DE PRUEBAS

<b>No. DE ORDEN:</b> 101081	<b>No. DE LABORATORIO:</b> 101081-1	<b>FOLIO:</b> 263312	<b>FECHA DE EMISION:</b> 20/05/08
--------------------------------	--	-------------------------	--------------------------------------

#### DATOS GENERALES

<b>CLIENTE:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
<b>DIRECCION:</b>	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
<b>CONTACTO:</b>	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

<b>IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:</b>	BOCA NORTE (2)
<b>FECHA Y HORA DE MUESTREO:</b>	14 de Febrero del 2008 11:22
<b>MUESTREADO POR:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
<b>MUESTREADOR:</b>	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
<b>MATRIZ:</b>	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250605.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-1	FOLIO: 263312	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-1	FOLIO: 263312	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

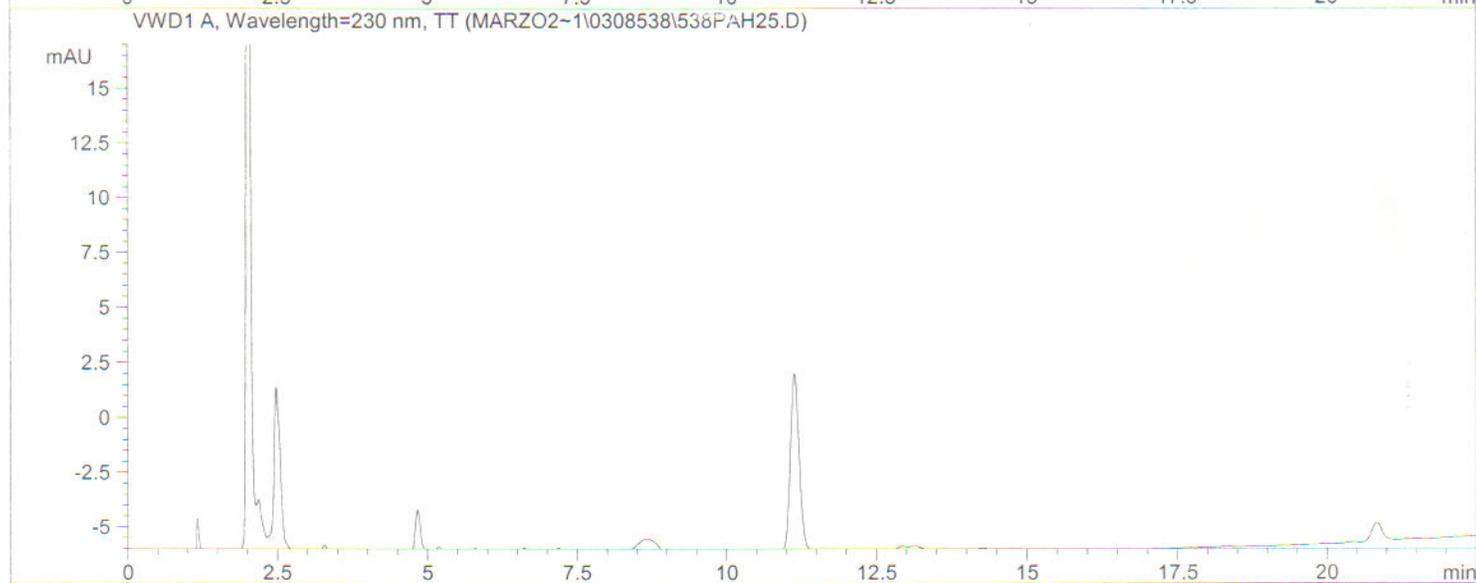
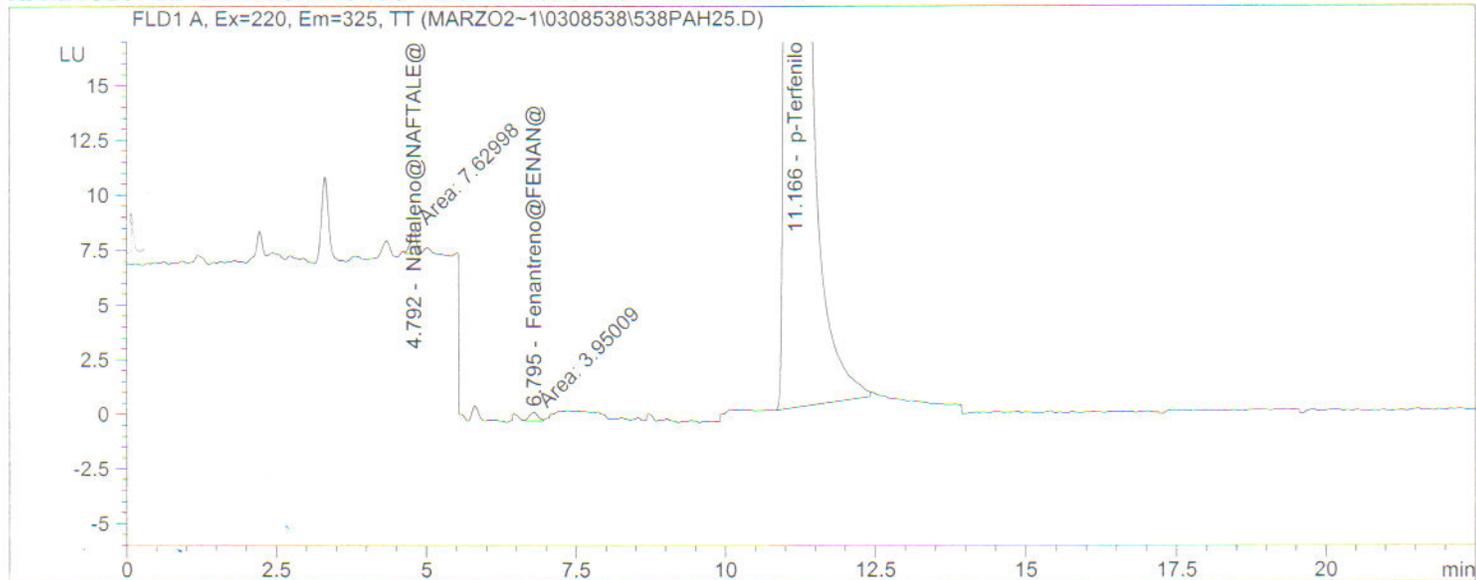
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 01:24:11 . Seq. Line : 25  
Sample Name : 101081-1 Location : Vial 22  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:03:07 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : 13/05/08 17:59:58 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.792	MM	7.62998	1.40467e-3	1.07176e-5		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.795	MM	3.95009	1.56019e-3	6.16289e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.166	PB	1.16310e4	8.78459e-4	1.02173e-2		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFL@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a,h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g,h,i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1,2,3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 1.02342e-2

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```

=====
*** End of Report ***

```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-2	FOLIO: 263313	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### DATOS GENERALES

CLIENTE:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
DIRECCION:	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
CONTACTO:	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	BOJORQUEZ (3)
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	14 de Febrero del 2008 11:54
MUESTREADO POR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
MUESTREADOR:	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
MATRIZ:	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250606.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-2	FOLIO: 263313	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
 Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-2	FOLIO: 263313	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

OBSERVACIONES ANALITICAS:

RESULTADOS ESTIMADOS EN mg/L: FLUORENO 3,43E-6 y FENANTRENO 6,97E-6

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-2	FOLIO: 263313	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

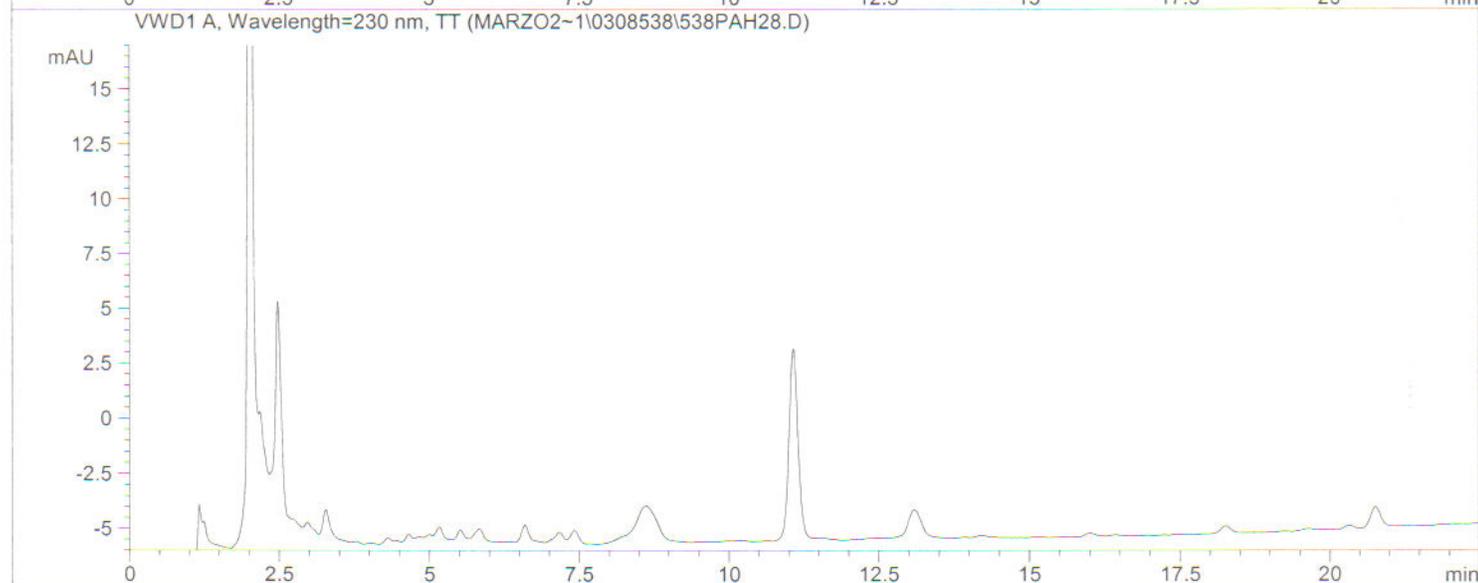
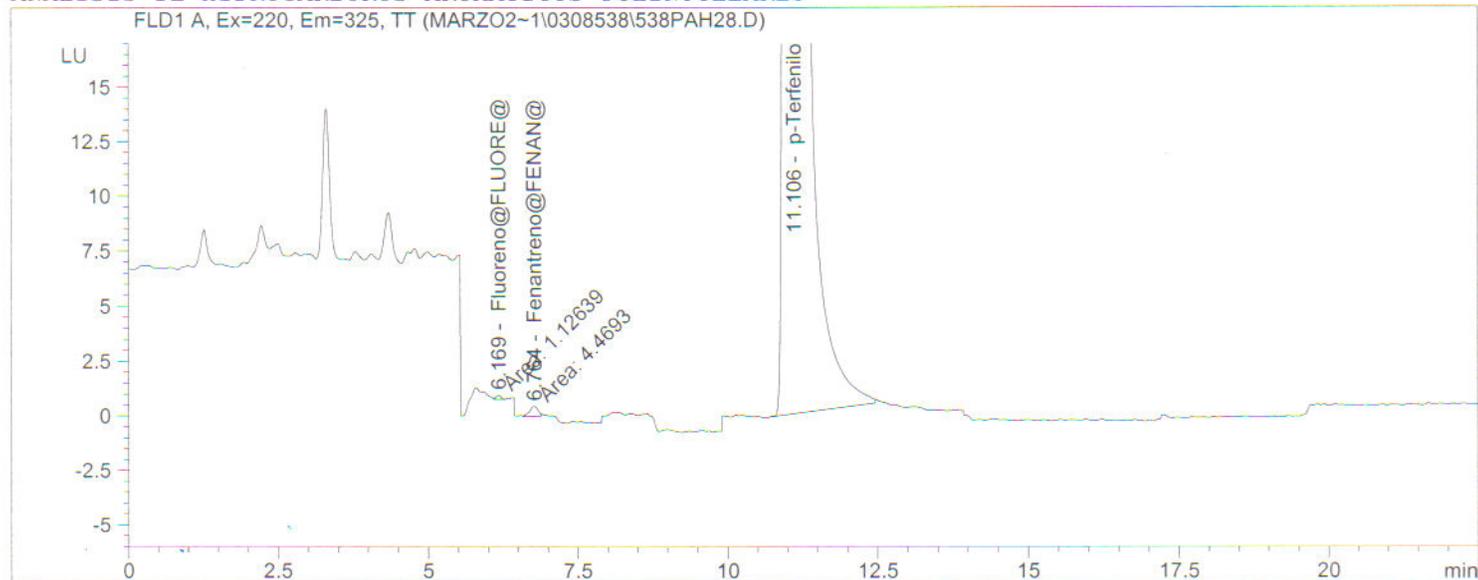
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 02:47:17 . Seq. Line : 28  
Sample Name : 101081-2 Location : Vial 23  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.800		-	-	-		Naftaleno@NAFTALE@
6.169	MM	1.12639	3.04890e-3	3.43424e-6		Fluoreno@FLUORE@
6.764	MM	4.46930	1.56019e-3	6.97296e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.106	PB	1.21176e4	8.78459e-4	1.06448e-2		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFL@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a,h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g,h,i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1,2,3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 1.06552e-2

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```

=====
*** End of Report ***

```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

<b>No. DE ORDEN:</b> 101081	<b>No. DE LABORATORIO:</b> 101081-3	<b>FOLIO:</b> 263314	<b>FECHA DE EMISION:</b> 20/05/08
--------------------------------	--	-------------------------	--------------------------------------

#### DATOS GENERALES

<b>CLIENTE:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
<b>DIRECCION:</b>	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
<b>CONTACTO:</b>	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

<b>IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:</b>	BOJORQUEZ RIO (4)
<b>FECHA Y HORA DE MUESTREO:</b>	14 de Febrero del 2008 12:06
<b>MUESTREADO POR:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
<b>MUESTREADOR:</b>	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
<b>MATRIZ:</b>	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250607.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-3	FOLIO: 263314	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-3	FOLIO: 263314	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica
Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)			
Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado			
Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC			
Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.			
Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.			

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 entidad mexicana de acreditación, a.c.	Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.	
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-10	FOLIO: 263321	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### DATOS GENERALES

CLIENTE:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
DIRECCION:	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
CONTACTO:	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	PETEMPICH (11)
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	14 de Febrero del 2008 14:28
MUESTREADO POR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
MUESTREADOR:	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
MATRIZ:	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250614.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-10	FOLIO: 263321	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN:  
101081

No. DE LABORATORIO:  
101081-10

FOLIO:  
263321

FECHA DE EMISION:  
20/05/08

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES ANALITICAS:

RESULTADOS ESTIMADOS EN mg/L: FENANTRENO 2,95E-6

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-10	FOLIO: 263321	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica
Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)			
Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado			
Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC			
Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.			
Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.			

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>entidad mexicana de acreditación, a.c.</p>	<p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>	
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia			

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

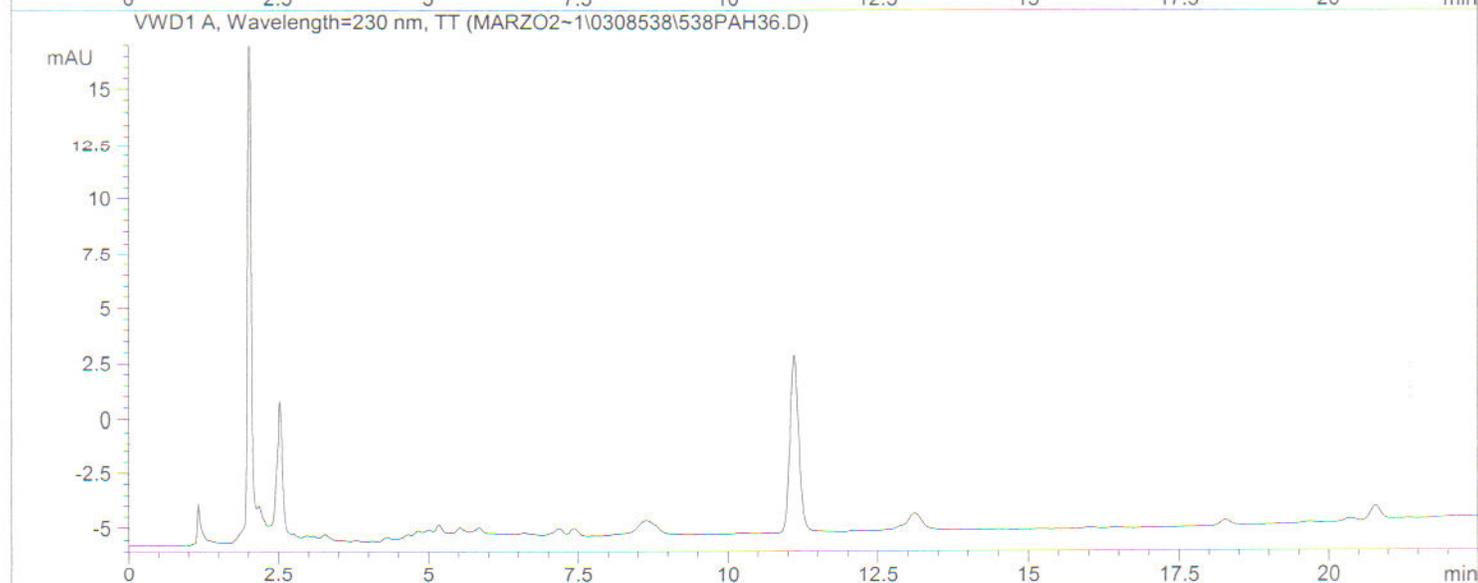
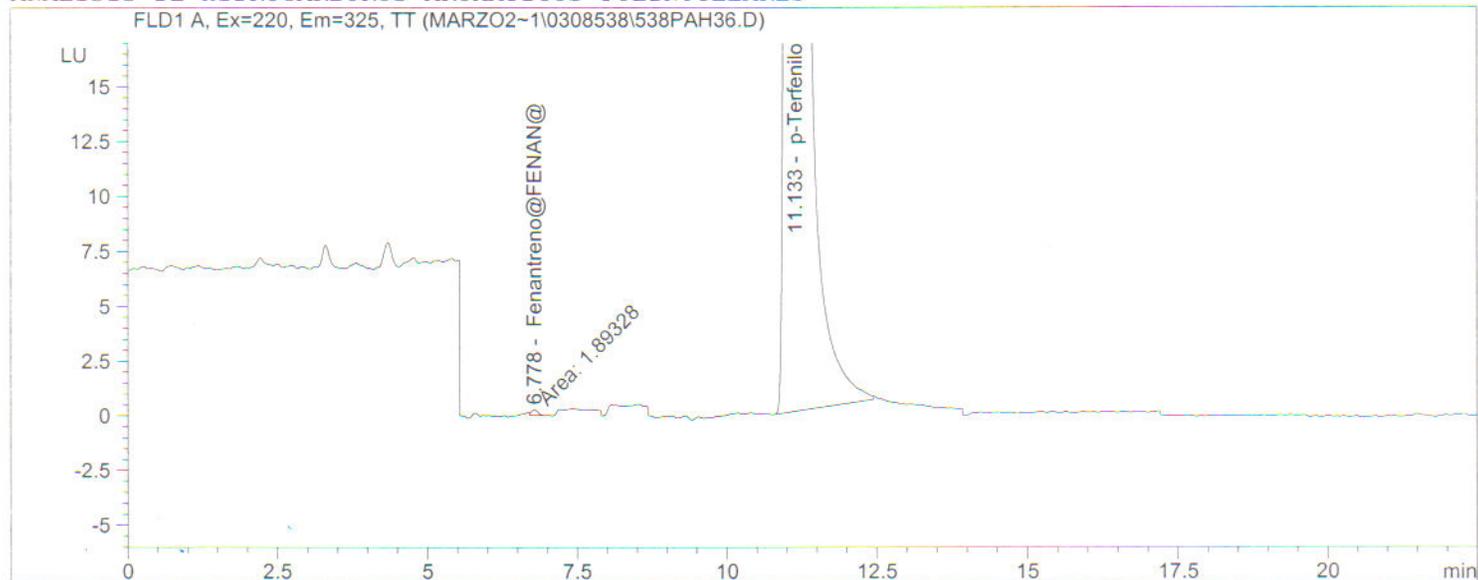
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

=====  
Injection Date : 13/03/08 06:28:42 .                   Seq. Line : 36  
Sample Name : 101081-10                                Location : Vial 31  
Acq. Operator : MEJ                                    Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100                         Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES

=====  
External Standard Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.800		-	-	-		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.778	MM	1.89328	1.56019e-3	2.95388e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.133	PB	1.12541e4	8.78459e-4	9.88622e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKF@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 9.88917e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```
=====
*** End of Report ***
```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-11	FOLIO: 263322	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### DATOS GENERALES

CLIENTE:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
DIRECCION:	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
CONTACTO:	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	MUELLE DE PUERTO MORELOS (12)
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	14 de Febrero del 2008 14:47
MUESTREADO POR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
MUESTREADOR:	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
MATRIZ:	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250615.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-11	FOLIO: 263322	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.



JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
 Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx

### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-11	FOLIO: 263322	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

OBSERVACIONES ANALITICAS:

RESULTADOS ESTIMADOS EN mg/L: FENANTRENO 6.64E-6

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-11	FOLIO: 263322	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

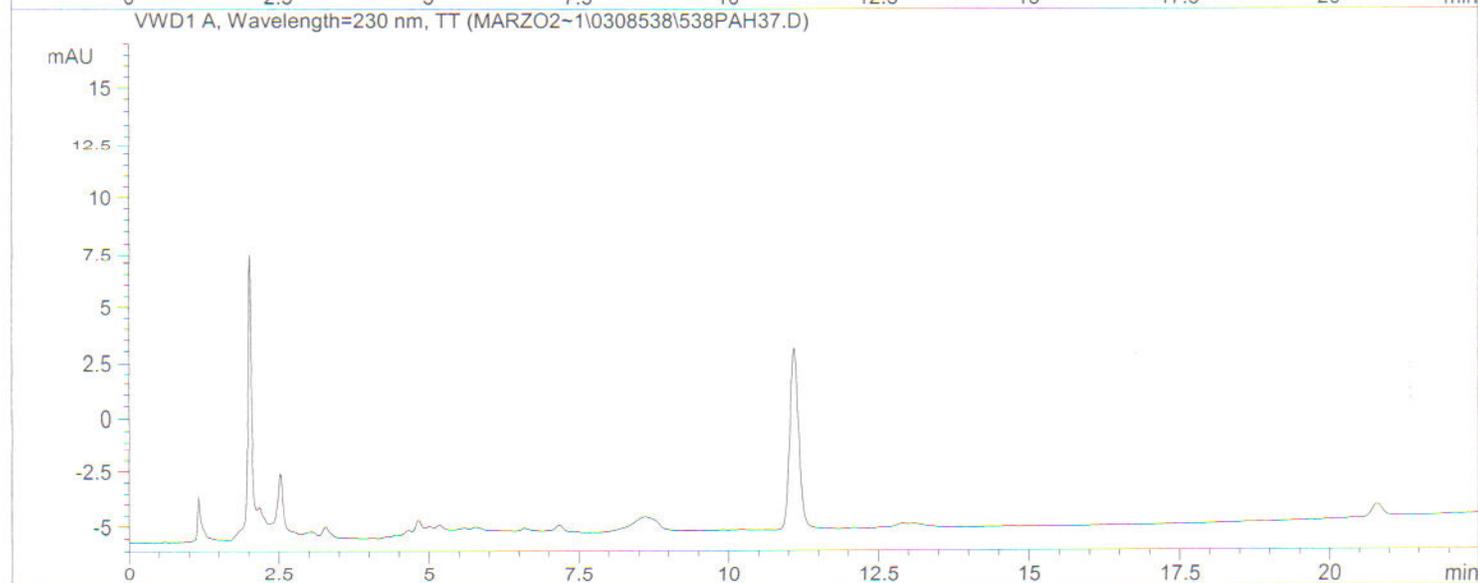
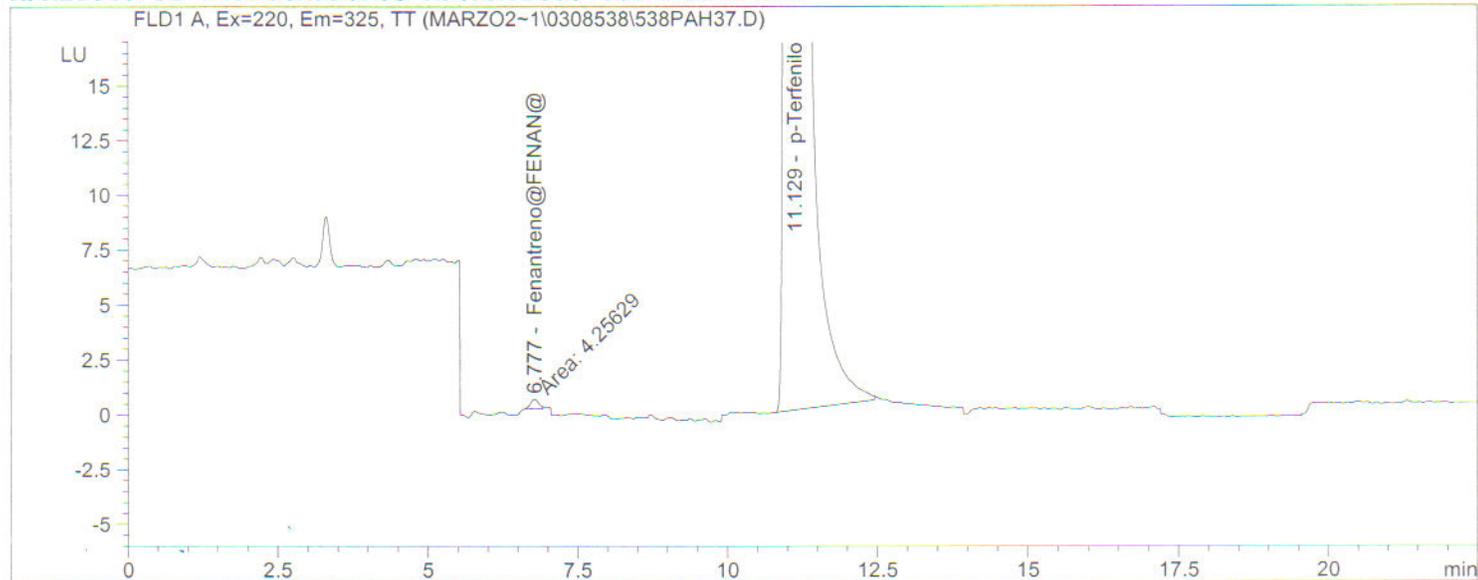
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 06:56:23 . Seq. Line : 37  
Sample Name : 101081-11 Location : Vial 32  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.800		-	-	-		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.777	MM	4.25629	1.56019e-3	6.64062e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.129	PB	1.15453e4	8.78459e-4	1.01421e-2		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFF@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 1.01487e-2

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```
=====
*** End of Report ***
```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.



JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx

### INFORME DE PRUEBAS

<b>No. DE ORDEN:</b> 101081	<b>No. DE LABORATORIO:</b> 101081-12	<b>FOLIO:</b> 263323	<b>FECHA DE EMISION:</b> 20/05/08
--------------------------------	---	-------------------------	--------------------------------------

#### DATOS GENERALES

<b>CLIENTE:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
<b>DIRECCION:</b>	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
<b>CONTACTO:</b>	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

<b>IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:</b>	MARINA EL CID (13)
<b>FECHA Y HORA DE MUESTREO:</b>	14 de Febrero del 2008 15:04
<b>MUESTREADO POR:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
<b>MUESTREADOR:</b>	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
<b>MATRIZ:</b>	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250616.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-12	FOLIO: 263323	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.



JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
 Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx

### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-12	FOLIO: 263323	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES ANALITICAS:

RESULTADOS ESTIMADOS EN mg/L: FLUORENO 2,98E-6 y FENANTRENO 2,55E-6

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-12	FOLIO: 263323	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	----------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

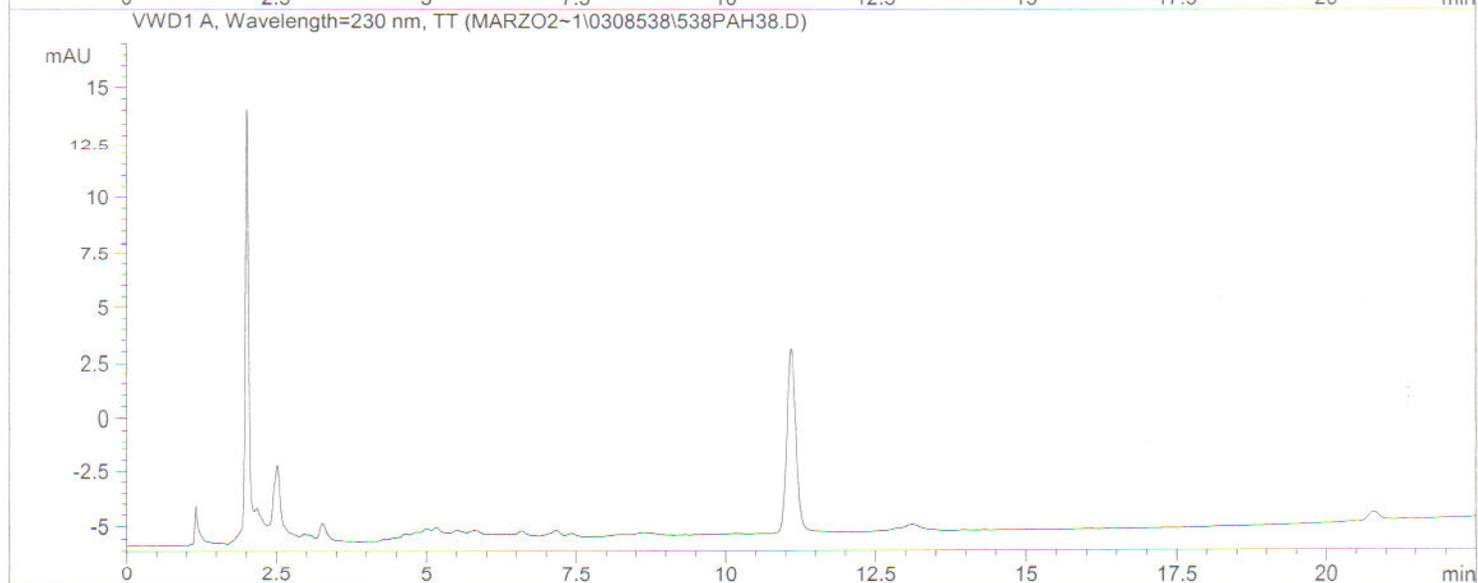
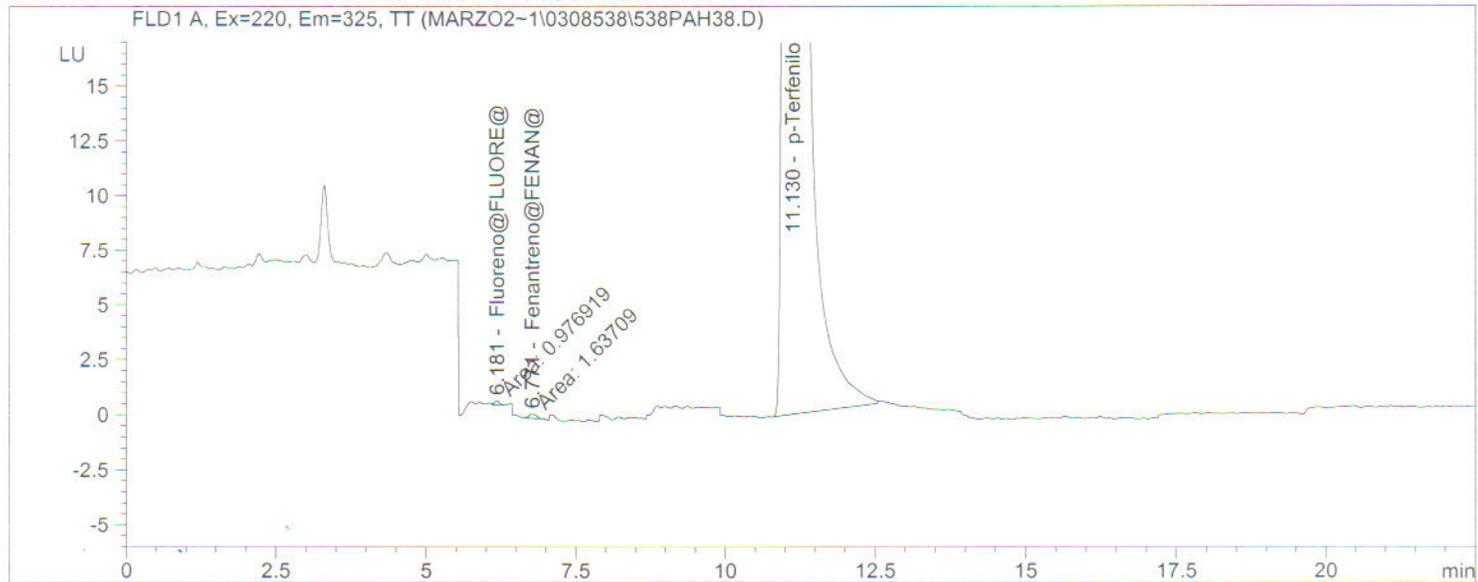
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 07:24:10 . Seq. Line : 38  
Sample Name : 101081-12 Location : Vial 33  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.800		-	-	-		Naftaleno@NAFTALE@
6.181	MM	9.76919e-1	3.04890e-3	2.97853e-6		Fluoreno@FLUORE@
6.771	MM	1.63709	1.56019e-3	2.55417e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.130	PB	1.17649e4	8.78459e-4	1.03350e-2		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFL@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 1.03405e-2

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

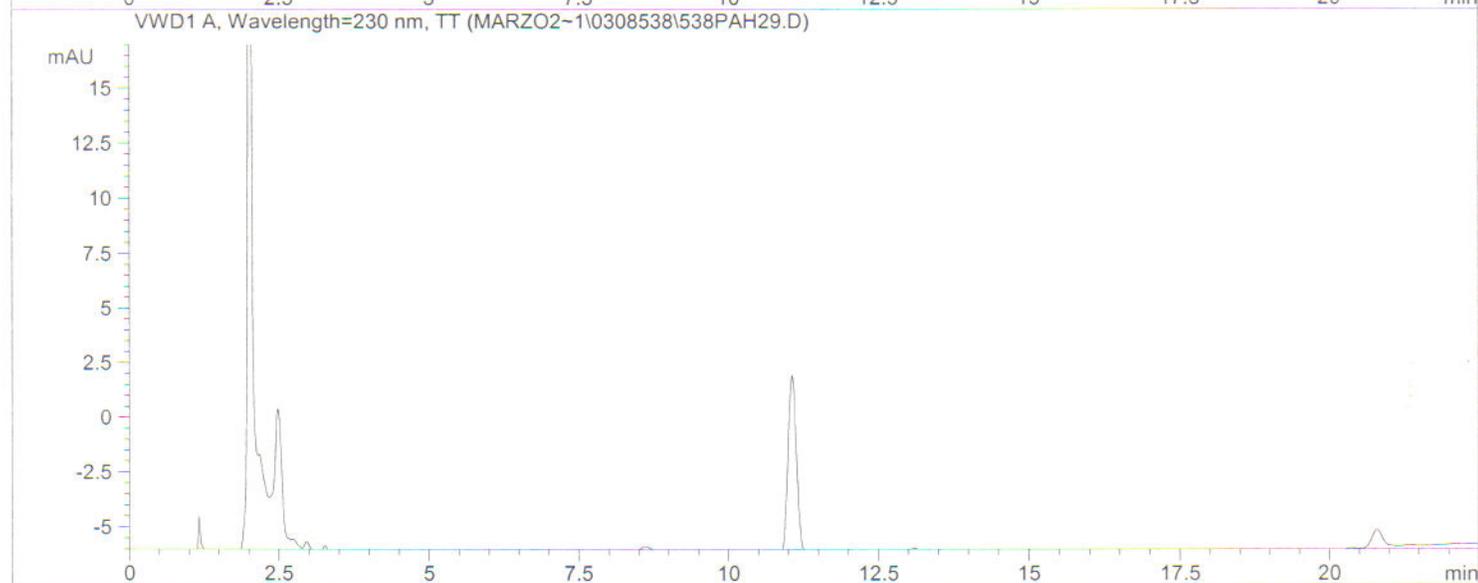
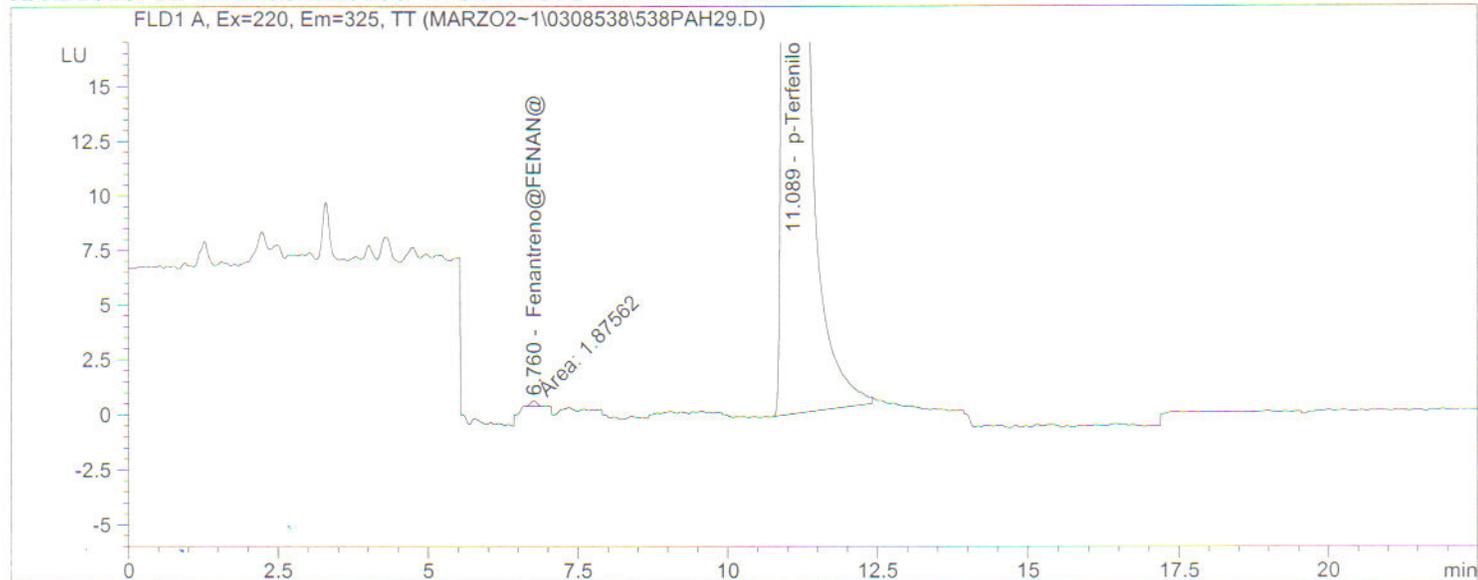
```
=====
*** End of Report ***
```

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 03:14:58 . Seq. Line : 29  
Sample Name : 101081-3 Location : Vial 24  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.800		-	-	-		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.760	MM	1.87562	1.56019e-3	2.92633e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.089	PB	1.19317e4	8.78459e-4	1.04815e-2		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFF@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 1.04844e-2

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

---

 \*\*\* End of Report \*\*\*

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

<b>No. DE ORDEN:</b> 101081	<b>No. DE LABORATORIO:</b> 101081-4	<b>FOLIO:</b> 263315	<b>FECHA DE EMISION:</b> 20/05/08
--------------------------------	--	-------------------------	--------------------------------------

#### DATOS GENERALES

<b>CLIENTE:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
<b>DIRECCION:</b>	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
<b>CONTACTO:</b>	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

<b>IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:</b>	NICHUPTTE (5)
<b>FECHA Y HORA DE MUESTREO:</b>	14 de Febrero del 2008 12:16
<b>MUESTREADO POR:</b>	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
<b>MUESTREADOR:</b>	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
<b>MATRIZ:</b>	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250608.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-4	FOLIO: 263315	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-4	FOLIO: 263315	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

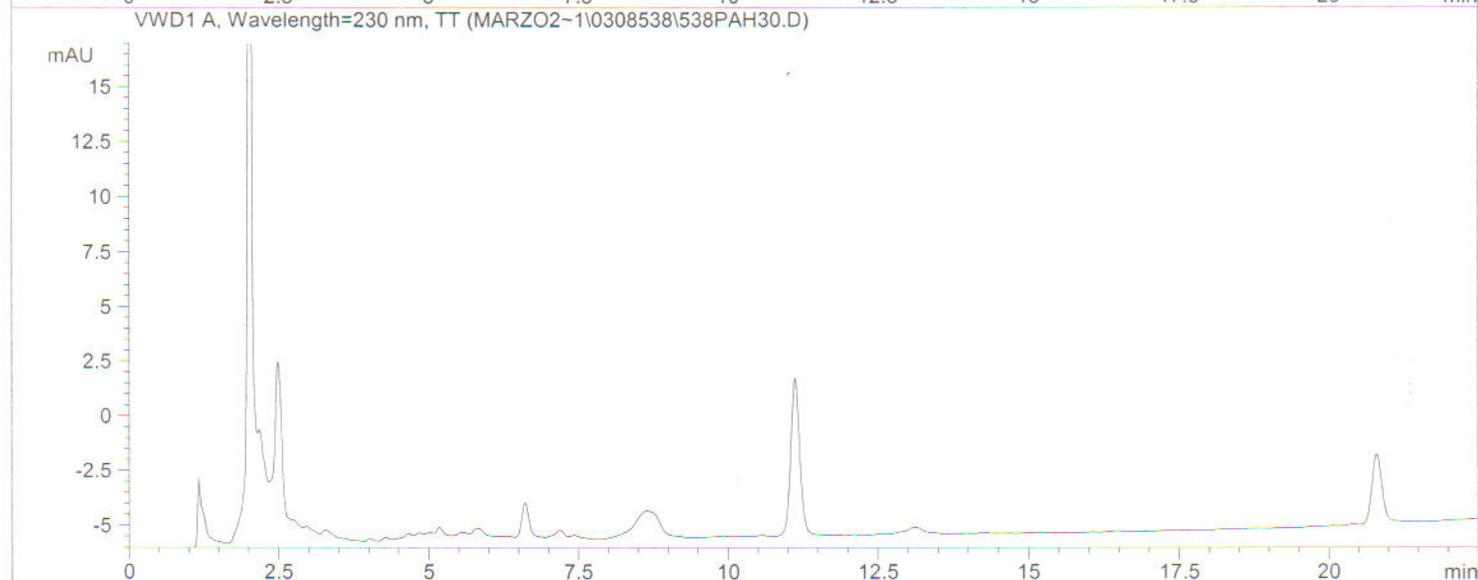
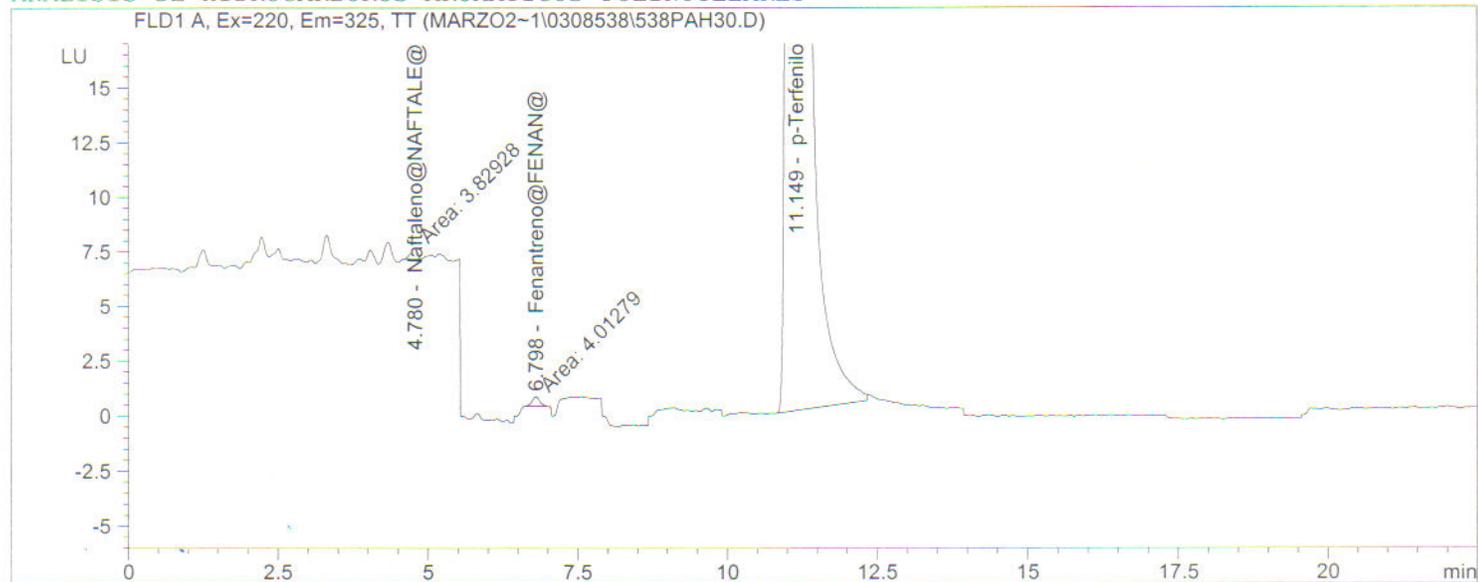
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 03:42:37 . Seq. Line : 30  
Sample Name : 101081-4 Location : Vial 25  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.780	MM	3.82928	1.40467e-3	5.37890e-6		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.798	MM	4.01279	1.56019e-3	6.26072e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.149	PB	1.01519e4	8.78459e-4	8.91800e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo(a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo(b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo(k) fluoranteno@BENZKF@
16.300		-	-	-		Benzo(a)pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo(a,h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo(g,h,i)perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno(1,2,3-cd)pireno@IND123CD@

Totals : 8.92964e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

\*\*\* End of Report \*\*\*



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-5	FOLIO: 264240	FECHA DE EMISION: 22/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-5	FOLIO: 264240	FECHA DE EMISION: 22/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Limite de Detección del Método (LDM) y menor que el Limite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaria de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

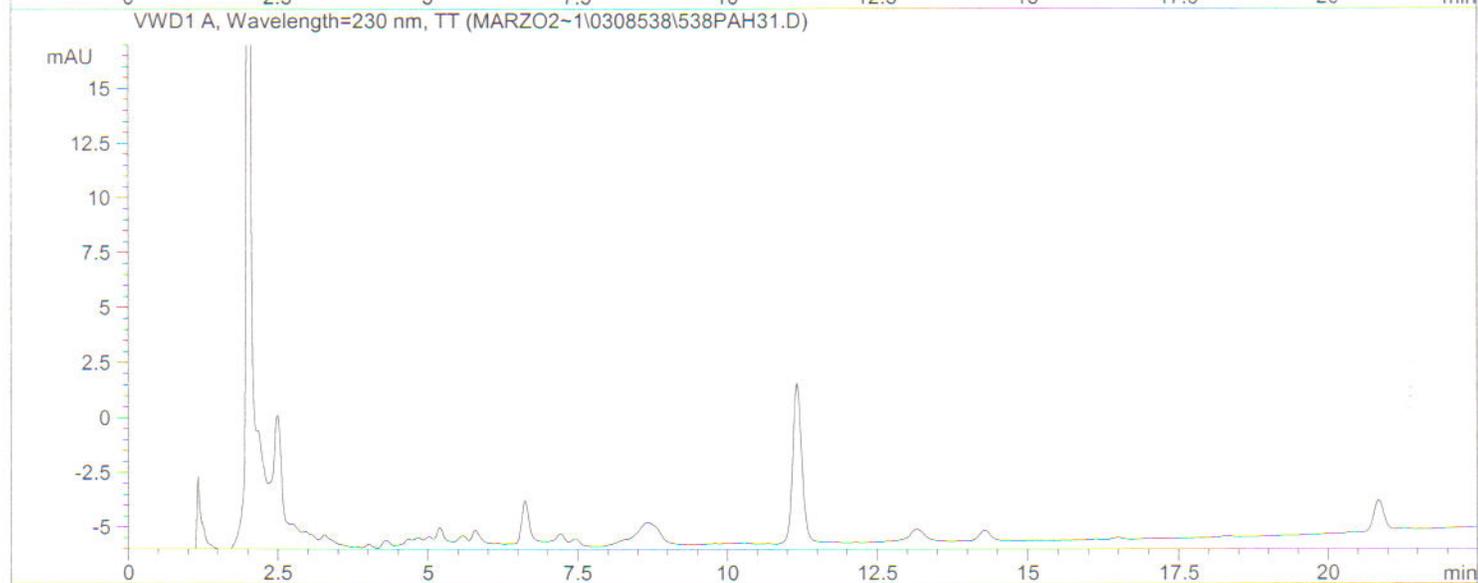
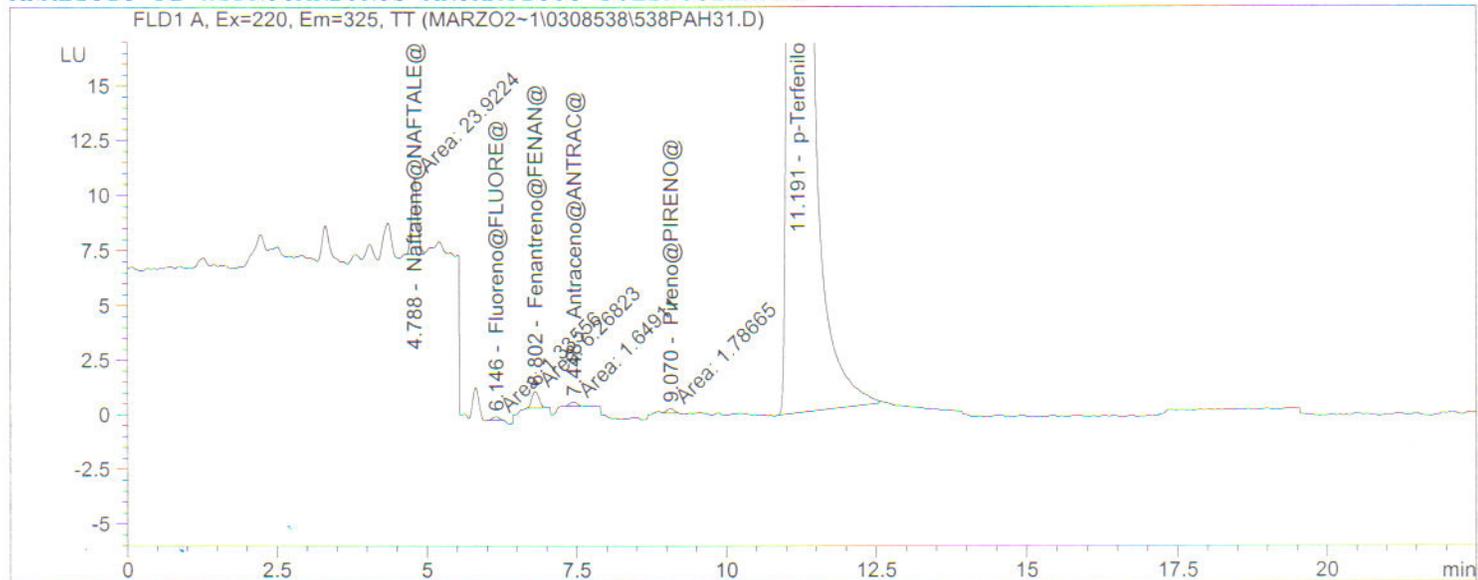
**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

```

=====
Injection Date   : 13/03/08 04:10:18 .           Seq. Line :   31
Sample Name     : 101081-5                       Location  : Vial 26
Acq. Operator   : MEJ                            Inj       :    1
Acq. Instrument : HPLC 1100                      Inj Volume: 10 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M
Last changed    : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M
Last changed    : 13/05/08 18:14:44 . by FUR
                  (modified after loading)
=====

```

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



```

=====
External Standard Report
=====

```

```

Sorted By           :      Signal
Calib. Data Modified :      Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .
Multiplier          :      1.000e-3
Dilution            :      1.0000
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.788	MM	23.92242	1.40467e-3	3.36032e-5		Naftaleno@NAFTALE@
6.146	MM	1.33556	3.04890e-3	4.07199e-6		Fluoreno@FLUORE@
6.802	MM	6.26823	1.56019e-3	9.77962e-6		Fenantreno@FENAN@
7.448	MM	1.64911	4.45206e-4	7.34193e-7		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.070	MM	1.78665	1.09020e-3	1.94781e-6		Pireno@PIRENO@
11.191	PB	1.03251e4	8.78459e-4	9.07013e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFF@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 9.12027e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```

=====
*** End of Report ***

```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
 Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-6	FOLIO: 263317	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### DATOS GENERALES

CLIENTE:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
DIRECCION:	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
CONTACTO:	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	ENSENADA SUR (7)
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	14 de Febrero del 2008 12:48
MUESTREADO POR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
MUESTREADOR:	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
MATRIZ:	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250610.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-6	FOLIO: 263317	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-6	FOLIO: 263317	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

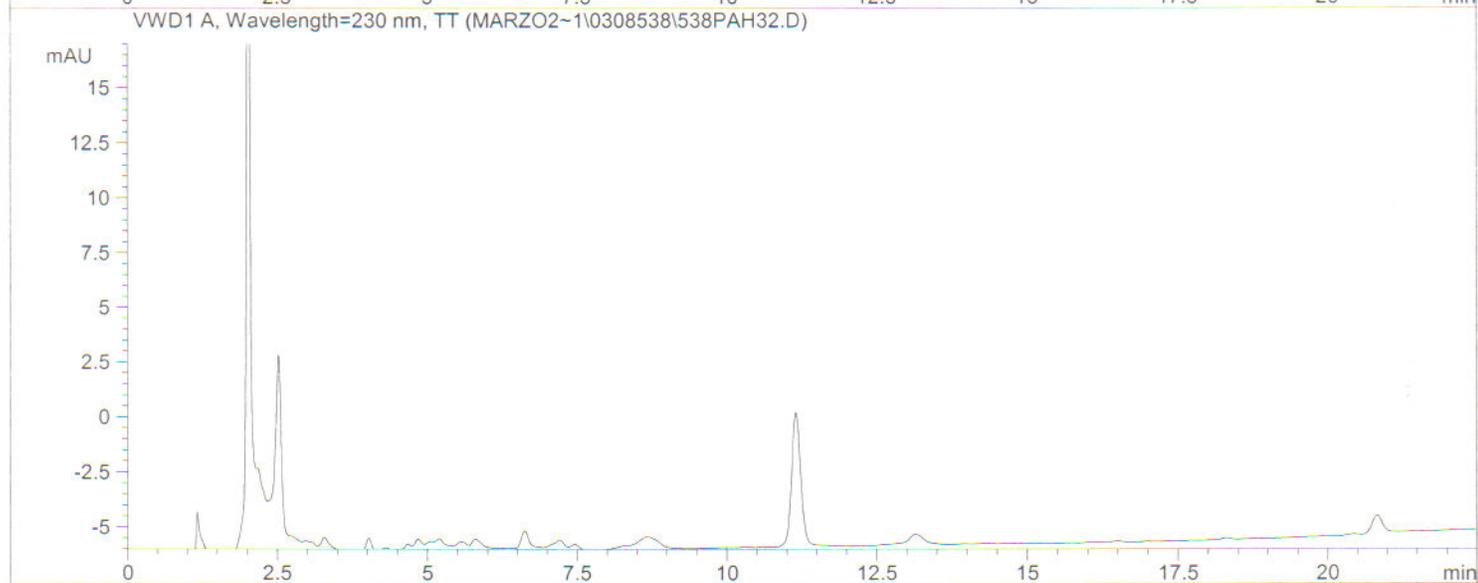
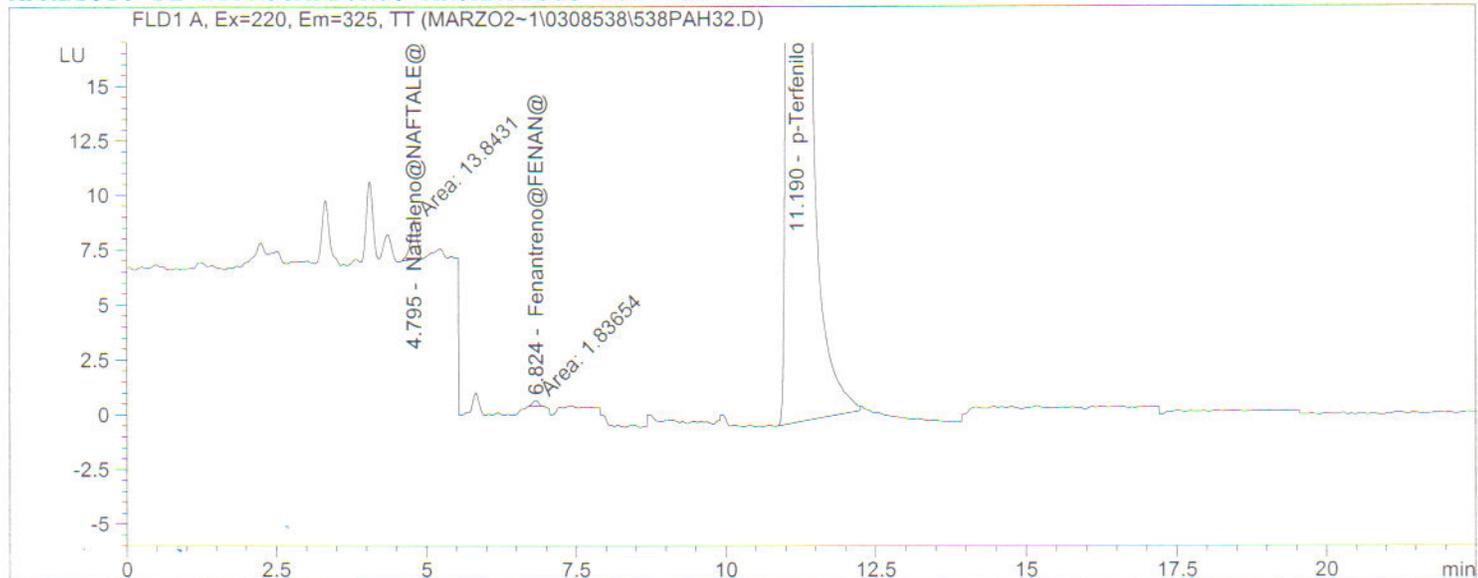
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 04:38:01 . Seq. Line : 32  
Sample Name : 101081-6 Location : Vial 27  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.795	MM	13.84313	1.40467e-3	1.94451e-5		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.824	MM	1.83654	1.56019e-3	2.86535e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.190	PB	8647.99609	8.78459e-4	7.59691e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFF@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 7.61922e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```
=====
*** End of Report ***
```



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-7	FOLIO: 263318	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALITICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-7	FOLIO: 263318	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

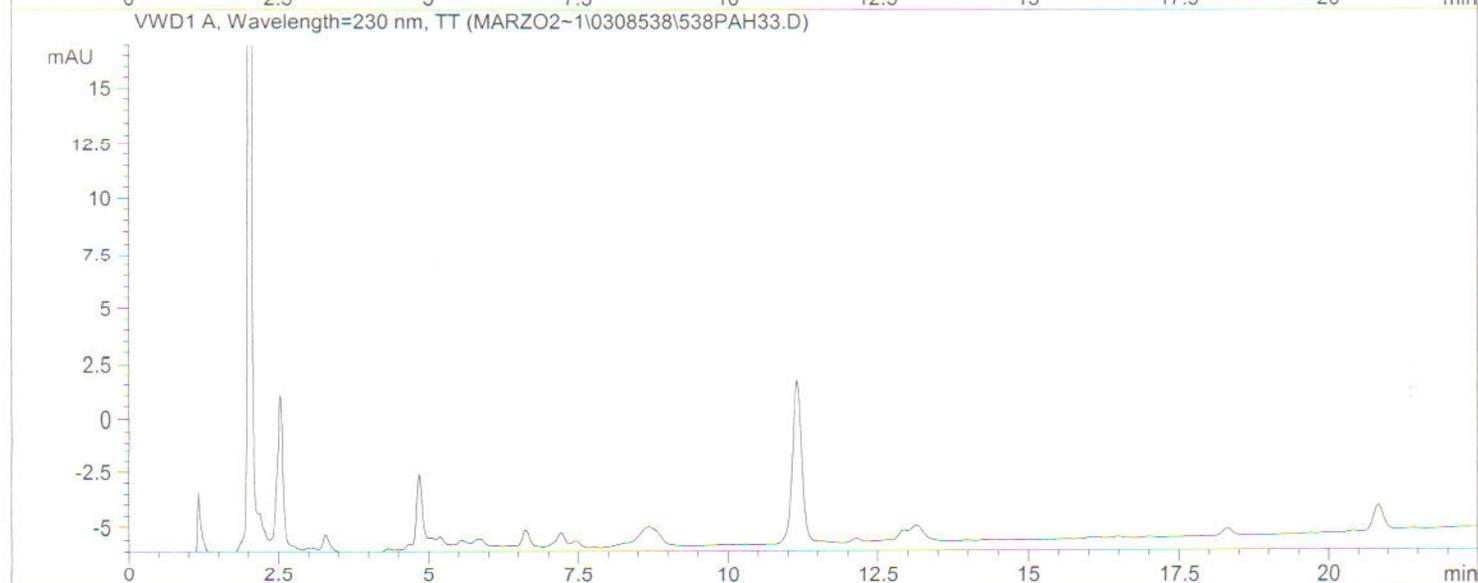
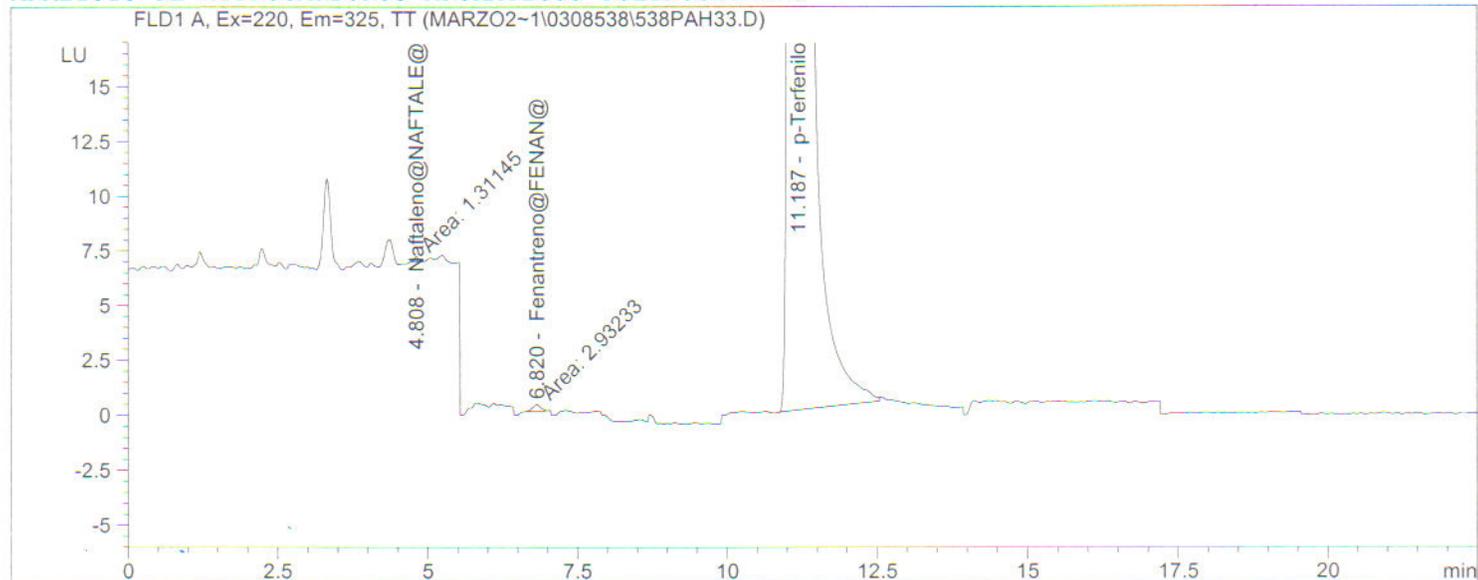
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

=====  
Injection Date : 13/03/08 05:05:38 . Seq. Line : 33  
Sample Name : 101081-7 Location : Vial 28  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES

=====  
External Standard Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.808	MM	1.31145	1.40467e-3	1.84216e-6		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.820	MM	2.93233	1.56019e-3	4.57500e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.187	PB	1.04647e4	8.78459e-4	9.19284e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo(a)antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo(b)fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo(k)fluoranteno@BENZKFF@
16.300		-	-	-		Benzo(a)pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo(a,h)antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo(g,h,i)perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno(1,2,3-cd)pireno@IND123CD@

Totals : 9.19926e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```
=====
*** End of Report ***
```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-8	FOLIO: 263319	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### DATOS GENERALES

CLIENTE:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
DIRECCION:	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
CONTACTO:	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	MOON PALACE (9)
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	14 de Febrero del 2008 13:30
MUESTREADO POR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
MUESTREADOR:	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
MATRIZ:	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250612.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-8	FOLIO: 263319	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-8	FOLIO: 263319	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaria de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

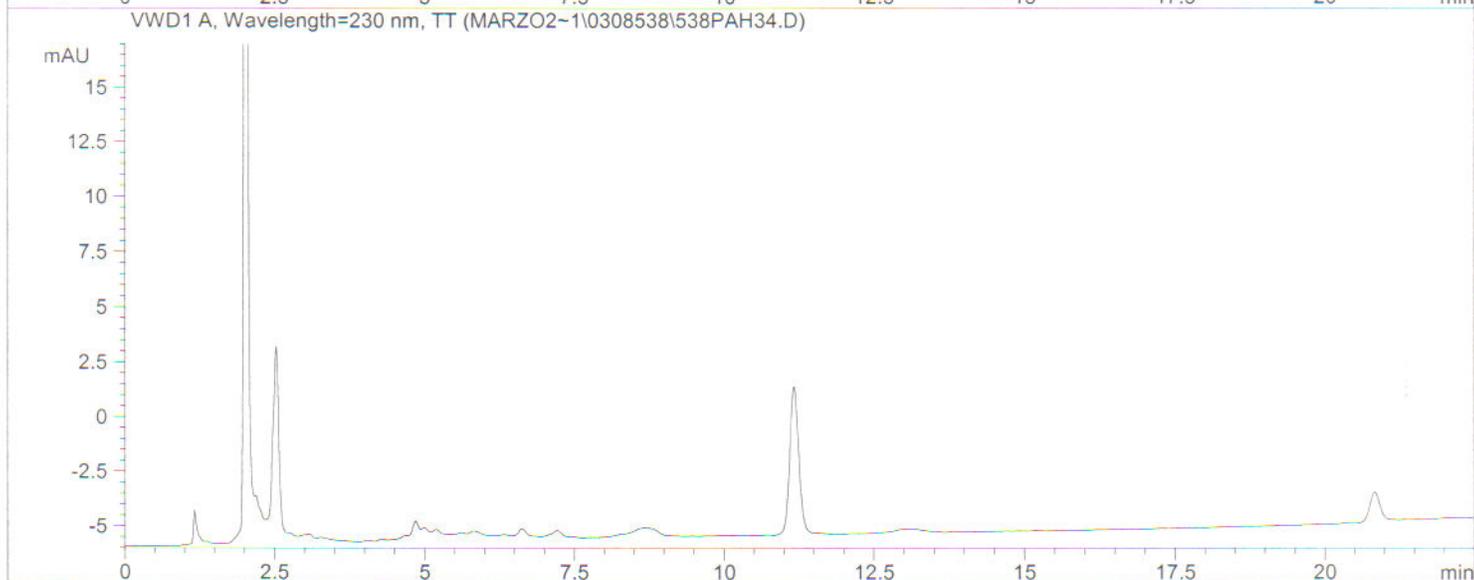
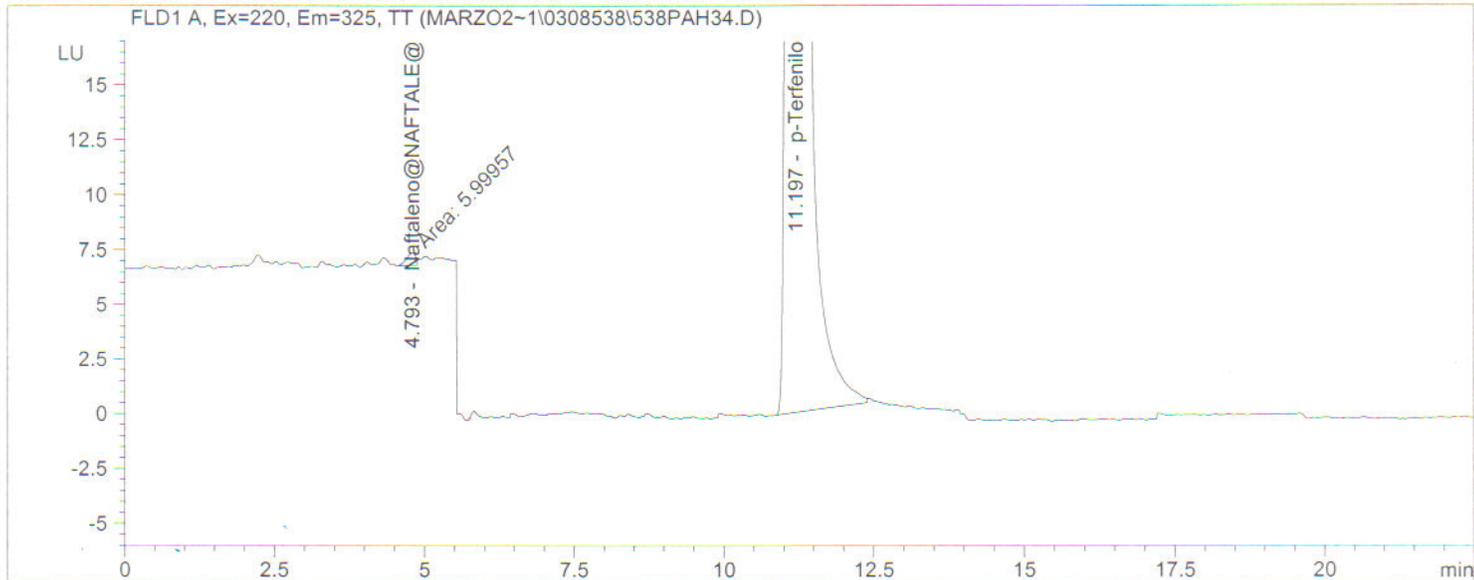
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

=====  
Injection Date : 13/03/08 05:33:18 .                   Seq. Line : 34  
Sample Name : 101081-8                                    Location : Vial 29  
Acq. Operator : MEJ                                        Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100                             Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES

=====  
External Standard Report  
=====

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.793	MM	5.99957	1.40467e-3	8.42745e-6		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.800		-	-	-		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.197	PB	9532.35449	8.78459e-4	8.37378e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFL@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a,h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g,h,i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1,2,3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 8.38221e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

```

=====
*** End of Report ***

```

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-9	FOLIO: 263320	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### DATOS GENERALES

CLIENTE:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA (PLANTEL IZTAPALAPA) ( 10283/1 )
DIRECCION:	AV. SAN RAFAEL ATLIXCO - 186 VICENTINA MEXICO , 09340
CONTACTO:	At'n: DRA. PATRICIA RAMIREZ ROMERO

#### INFORMACION DE MUESTREO

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA:	PUNTA TACHACTE (10)
FECHA Y HORA DE MUESTREO:	14 de Febrero del 2008 13:55
MUESTREADO POR:	UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA
MUESTREADOR:	MA. DEL CARMEN GUZMAN M.
MATRIZ:	Aguas Naturales

#### RESULTADOS DE ANALISIS DE CAMPO:

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN

#### OBSERVACIONES DE MUESTREO:

ESTE INFORME DE PRUEBAS SUSTITUYE AL EMITIDO EL DIA 17 DE MARZO DEL 2007 CON No. DE FOLIO 250613.

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)

# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-9	FOLIO: 263320	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### RECEPCION DE LA MUESTRA

FECHA Y HORA:	19 de Febrero del 2008 10:00
No. FRASCOS:	2
PRESERVACION ADECUADA:	SI

OBSERVACIONES DE RECEPCION DE LA MUESTRA:

--

#### RESULTADOS ANALITICOS

AA	PARAMETRO	METODO ANALÍTICO	UNIDADES	RESULTADO	D	LDM	LPC	ANALIZADO	
								FECHA	AN
	HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS								
1,2	ACENAFTENO (HPA-1)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.10E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1,2	ACENAFTILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.80E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.40E-6	0,000027	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)ANTRACENO (HPA-3)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.90E-6	0,000050	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(B)FLUORANTENO (HPA-4)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.30E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(G,H,I)PERILENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.10E-6	0,000041	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(K)FLUORANTENO (HPA-5)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	5.10E-6	0,000025	13/03/08	MEJ
1,2	BENZO(A)PIRENO (HPA-2)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	8.40E-6	0,000042	13/03/08	MEJ
1,2	CRISENO (HPA-6)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.50E-6	0,000047	13/03/08	MEJ
1,2	DIBENZO(A,H)ANTRACENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	7.50E-6	0,000037	13/03/08	MEJ
1,2	FENANTRENO	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	6.70E-6	0,000034	13/03/08	MEJ
1,2	FLUORANTENO (HPA-7)	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	9.20E-6	0,000046	13/03/08	MEJ
1	FLUORENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	1.04E-5	0,000052	13/03/08	MEJ
1,2	INDENO(1,2,3,C-D)PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.20E-6	0,000031	13/03/08	MEJ
1,2	NAFTALENO (HPA-8)	EPA 8310-1986	mg/L	VER OBS	1.0000	5.70E-6	0,000029	13/03/08	MEJ
1,2	PIRENO	EPA 8310-1986	mg/L	ND	1.0000	6.60E-6	0,000033	13/03/08	MEJ
	EXTRACCION DE HPAS	EPA 8310-1986	mg/L	REALIZADA	NA	NA	NA	11/03/08	MOM

En la 1a Columna se indica la clave del organismo de acreditación o dependencia que aprueba el método analítico utilizado (ver notas)



# LABORATORIOS • ABC

## QUIMICA INVESTIGACION Y ANALISIS S.A. de C.V.

JACARANDAS No. 19, COL. SAN CLEMENTE, DELEG. ALVARO OBREGON, MEXICO D.F. 01740  
Tels. (55) 53-371160 CON 15 LINEAS Fax (55)56-358487 e-mail: lababc@labsabc.com.mx Página Web: www.labsabc.com.mx



### INFORME DE PRUEBAS

No. DE ORDEN: 101081	No. DE LABORATORIO: 101081-9	FOLIO: 263320	FECHA DE EMISION: 20/05/08
-------------------------	---------------------------------	------------------	-------------------------------

#### NOTAS

NE	Análisis No Efectuado	AA	Prueba Acreditada o Aprobada (ver Tabla siguiente)
ND	Analito No Detectado	AN	Clave del Analista que se realizó la prueba
D	Dilución efectuada a la Muestra	NA	No aplica

Para calcular la Cantidad Mínima Detectable en la muestra analizada, se debe multiplicar el LDM por la dilución efectuada (D)

Si el resultado es mayor que el Límite de Detección del Método (LDM) y menor que el Límite Práctico de Cuantificación (LPC) debe ser tomado como estimado

Los valores de las Incertidumbres Expandidas de cada uno de los parámetros reportados en este informe se encuentran a su disposición previa solicitud a ABC

Este informe de Pruebas no podrá ser reproducido parcialmente sin la autorización escrita y firmada por la Dirección General de ABC.

Este Informe de Pruebas solo afecta a la muestra sometida a prueba.

#### ACREDITACIONES Y APROBACIONES

AA	DEPENDENCIA / INSTITUCION	No. DE ACREDITACION/ APROBACION	PRUEBAS ACREDITADAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA CONFORMIDAD DE:
1	 <p>Número de acreditación N° AG-096-029/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación A-027-001/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-14 con vencimiento 2011-09-14. Número de acreditación N° AL-0108-007/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Número de acreditación N° FF-0102-016/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-10-03 con vencimiento 2011-10-03. Número de acreditación N° R-0091-009/07. Vigencia de Acreditación a partir de 2007-09-05 con vencimiento 2011-09-05. Acreditación otorgada bajo la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 ISO/IEC 17025-2005. Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración.</p>		
2	Comisión Nacional del Agua (CNA)	CNA-GCA-543	NOM-001 SEMARNAT 1996, Lineamientos de Calidad del Agua de la LFDA, Criterios Ecológicos de Calidad del Agua del DOF
3	Gobierno del Distrito Federal, Gobierno del Estado de México y Gobierno del Estado de Querétaro	DF/MEX/QRO/REDLA060/ AAR/AEA/2008	NOM-002 SEMARNAT 1996 NOM-085 SEMARNAT 1994
4	Procuraduría Federal de Protección al Ambiente (PROFEPA)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-052-SEMARNAT-2005 NOM-004-SEMARNAT-2002 NOM-039, 040, 043 Y 053-SEMARNAT-1993 NOM-085-SEMARNAT-1994 NOM-097-SEMARNAT-1995 NOM-098-SEMARNAT-2002 NOM-133-SEMARNAT-2000 NOM-138-SEMARNAT/SS-2003
5	Secretaría del Trabajo y Previsión Social (STPS)	LPSTPS-055/07	NOM-010-STPS-1999 (17 Procedimientos) NOM-011-STPS-2001, NOM-015-STPS-2001 NOM-025-STPS-1999
6	Secretaría de Salud (SS)	EN TRAMITE DE RENOVACION	NOM-201-SSA1-2002, NOM-009-SSA1-1993, NOM-015-/1-SCFI/SSA-1994, NOM-127-SSA1-1994, Mod. 2000
	Prueba no acreditada o aprobada por alguna institución o dependencia		

Certifico que los resultados de las pruebas reportadas, fueron realizados con los métodos y procedimientos asentados.

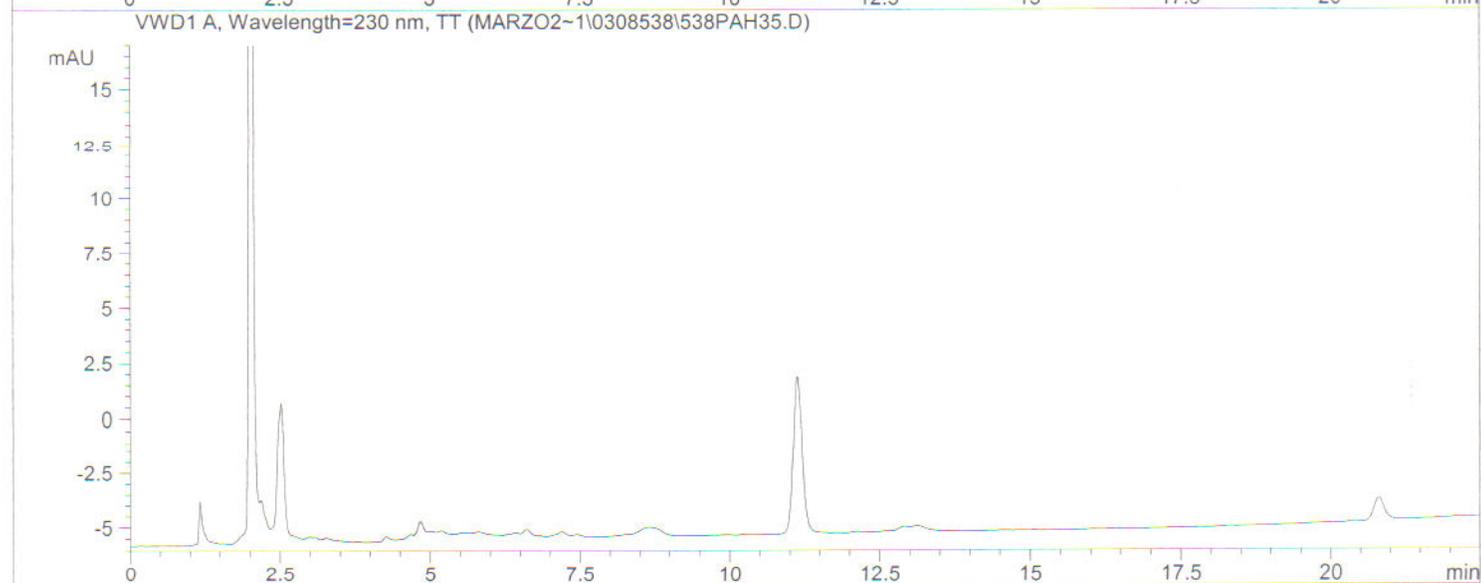
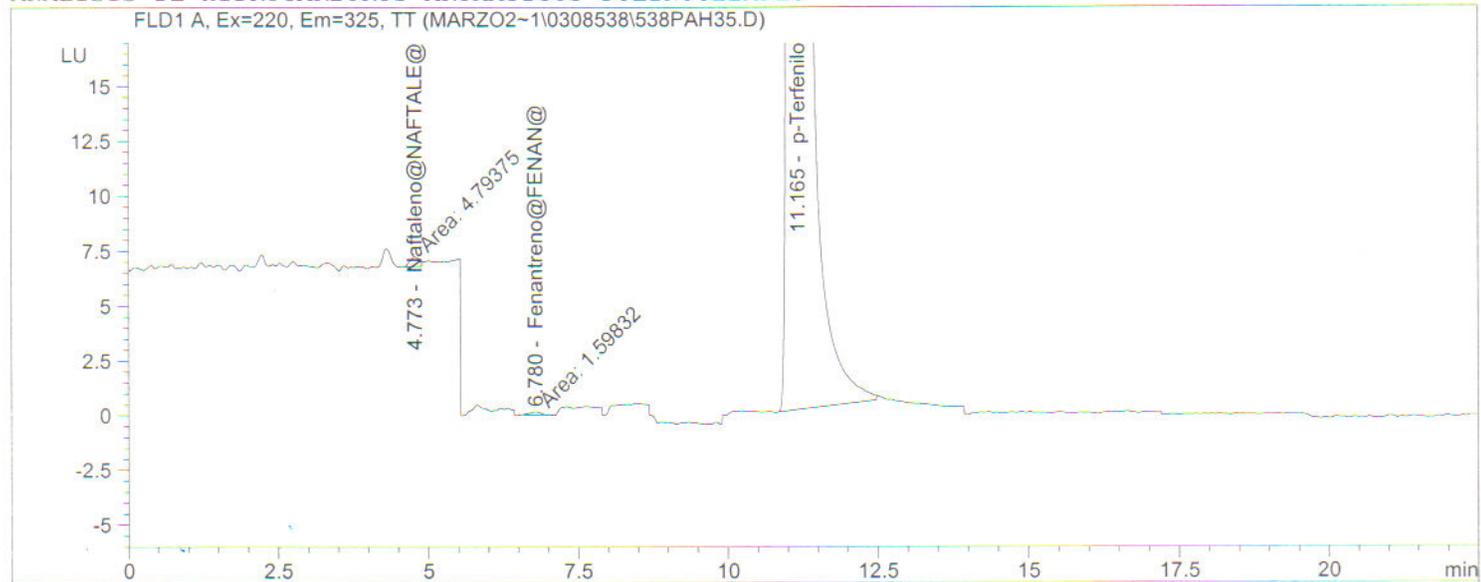
Q. JUAN IGNACIO USTARAN CERVANTES  
DIRECTOR GENERAL

# **CROMATOGRAMAS**

**HIDROCARBUROS POLIAROMATICOS  
METODO EPA 8310-1986**

Injection Date : 13/03/08 06:01:03 . Seq. Line : 35  
Sample Name : 101081-9 Location : Vial 30  
Acq. Operator : MEJ Inj : 1  
Acq. Instrument : HPLC 1100 Inj Volume : 10 µl  
Acq. Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 12/03/08 17:56:06 . by MEJ  
Analysis Method : C:\HPCHEM\1\METHODS\PAH67-AP.M  
Last changed : 13/05/08 18:14:44 . by FUR  
(modified after loading)

## ANALISIS DE HIDROCARBUROS AROMATICOS POLINUCLEARES



## External Standard Report

Sorted By : Signal  
Calib. Data Modified : Tuesday, 13 13e May 13e 2008 18:14:44 .  
Multiplier : 1.000e-3  
Dilution : 1.0000  
Do not use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: FLD1 A, Ex=220, Em=325, TT

RetTime [min]	Type	Area LU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
4.773	MM	4.79375	1.40467e-3	6.73365e-6		Naftaleno@NAFTALE@
6.150		-	-	-		Fluoreno@FLUORE@
6.780	MP	1.59832	1.56019e-3	2.49368e-6		Fenantreno@FENAN@
7.400		-	-	-		Antraceno@ANTRAC@
8.400		-	-	-		Fluoranteno@FLUORAN@
9.050		-	-	-		Pireno@PIRENO@
11.165	PB	1.00965e4	8.78459e-4	8.86940e-3		p-Terfenilo
11.600		-	-	-		Benzo (a) antraceno@BENZANT@
11.900		-	-	-		Criseno@CRISENO@
14.450		-	-	-		Benzo (b) fluoranteno@BENZBFL@
15.300		-	-	-		Benzo (k) fluoranteno@BENZKFK@
16.300		-	-	-		Benzo (a) pireno@BENZOP@
18.400		-	-	-		Dibenzo (a, h) antraceno@DIBAANT@
19.300		-	-	-		Benzo (g, h, i) perileno@BENZPER@
19.900		-	-	-		Indeno (1, 2, 3-cd) pireno@IND123CD@

Totals : 8.87863e-3

Results obtained with enhanced integrator!

Signal 2: VWD1 A, Wavelength=230 nm, TT

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [mg/L]	Grp	Name
5.200		-	-	-		Acenaftileno@ACENAFTI@
6.000		-	-	-		Acenafteno@ACENF@

Totals : 0.00000

Results obtained with enhanced integrator!

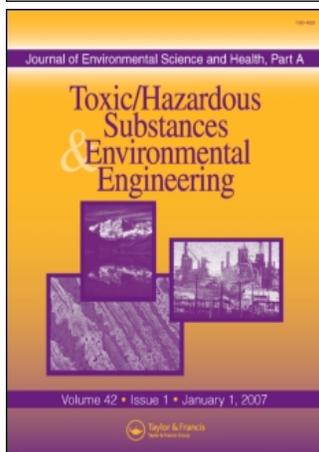
1 Warnings or Errors :

Warning : Calibrated compound(s) not found

=====  
 \*\*\* End of Report \*\*\*

**PUBLICACION**

This article was downloaded by:[Banaszak, Anastazia T.]  
On: 14 August 2007  
Access Details: [subscription number 781166296]  
Publisher: Taylor & Francis  
Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954  
Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



## Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering

Publication details, including instructions for authors and subscription information:  
<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713597268>

### Photoinduced toxicity of the polycyclic aromatic hydrocarbon, fluoranthene, on the coral, **Porites divaricata**

Online Publication Date: 01 August 2007

To cite this Article: Martínez, María Del Carmen Guzmán, Romero, Patricia Ramírez and Banaszak, Anastazia T. (2007) 'Photoinduced toxicity of the polycyclic

aromatic hydrocarbon, fluoranthene, on the coral, **Porites divaricata**', Journal of Environmental Science and Health, Part A, 42:10, 1495 - 1502

To link to this article: DOI: 10.1080/10934520701480946

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/10934520701480946>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article maybe used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

© Taylor and Francis 2007

# Photoinduced toxicity of the polycyclic aromatic hydrocarbon, fluoranthene, on the coral, *Porites divaricata*

MARÍA DEL CARMEN GUZMÁN MARTÍNEZ<sup>1</sup>, PATRICIA RAMÍREZ ROMERO<sup>1</sup>  
and ANASTAZIA T. BANASZAK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Ecotoxicología, Departamento de Hidrobiología, División de CBS, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México

<sup>2</sup>Laboratorio de Fotobiología, Unidad Académica Puerto Morelos, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, México

The synergistic effect of ultraviolet radiation (UVR) and a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) was tested on the coral *Porites divaricata*. Small branches were incubated in different concentrations of fluoranthene followed by exposure to ecologically relevant levels of natural solar radiation, with and without UVR. Exposure to the highest concentration of fluoranthene ( $60 \mu\text{g L}^{-1}$ ) resulted in decreased photochemical efficiency of corals exposed concomitantly to UVR but not in corals exposed to  $60 \mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene without UVR. After 6 days, most coral samples that were exposed to fluoranthene and UVR bleached or died (78%) on the upper side of the branches. At  $60 \mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene with UVR, 11 out of 12 samples died and the remaining sample bleached, much greater than the number of samples that bleached in manipulation or solvent controls. On the under side of the same samples, where the coral polyps are naturally protected from UVR, 11 out of 12 samples remained healthy and intact. The high UVR doses that shallow water dwelling corals receive combined with the results of this study show that photoinduced toxicity of PAHs is a stress factor that needs to be studied in more detail in coral reef ecosystems.

**Keywords:** Phototoxicity, PAH, Photochemical efficiency, UVR, Ultraviolet radiation, Coral reefs, Corals, Chlorophyll fluorescence, Coral bleaching, Symbiotic dinoflagellates

## Introduction

The photochemical conversion of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the presence of ultraviolet radiation (UVR, 280 to 400 nm) enhances the toxicity of PAHs, such that the same effects are produced by concentrations on the order of parts per million (ppm) as the combination of UVR with concentrations of PAHs on the order of parts per billion (ppb).<sup>[1,2]</sup> The enhanced toxicity may be a result of the increased solubility in water of the converted PAH thereby increasing its bioavailability<sup>[3]</sup> or due to the formation of triplet states and the subsequent transfer of the energy to molecular oxygen with the formation of the very reactive and toxic singlet oxygen molecules, hydroxyl radicals and peroxides<sup>[4–7]</sup> that lead to membrane damage.<sup>[8]</sup>

A multitude of studies on freshwater organisms have demonstrated effects that are dependent of the PAH concentration used and on the spectral quality and UVR

doses received in many species of juvenile fish,<sup>[1,9–13]</sup> frog larvae,<sup>[14]</sup> tadpoles,<sup>[15]</sup> mosquito larvae,<sup>[1]</sup> crustaceans,<sup>[16]</sup> annelids,<sup>[17]</sup> and algae,<sup>[18]</sup> such that it is now widely accepted that phototoxicity should be taken into account when assessing the potential risk of PAHs in freshwater environments. This has not been the case for marine environments because few studies exist that show a linkage between PAH exposure and UVR-enhanced effects on marine organisms. The effect of PAHs in marine systems has been largely ignored except for early studies on cultured *Artemia salina*,<sup>[19]</sup> and the only studies in which phototoxic effects in marine systems have been conducted are on various species of crab larvae<sup>[20]</sup> and of organisms, including some species of coral, associated with coral reef flats in Hawai'i.<sup>[21,22]</sup>

Environmentally relevant ultraviolet radiation (UVR, 280 to 400 nm) is an important abiotic stressor that has affected the structure and distribution of coral reef communities over evolutionary time scales.<sup>[23–25]</sup> Many coral species live in the shallow waters of tropical reefs and are potentially exposed to high UVR doses and dose rates due to the low solar zenith angles, the natural thinness of the ozone layer over tropical latitudes, as well as the high

Address correspondence to Anastazia T. Banaszak, Unidad Académica Puerto Morelos, ICMYL-UNAM, Apartado Postal 1152, Cancún, Quintana Roo, 77500, Mexico. E-mail: banaszak@mar.icmyl.unam.mx

transparency of the water column.<sup>[26,27]</sup> UVR can penetrate to 25 m in coral reef environments<sup>[25,28]</sup> although this value can change dramatically depending on the composition of the water column.<sup>[26,27]</sup> This means that much of the coral reef environment, including the Caribbean region, already affected by bleaching events (the loss of the symbiotic algae or their photosynthetic pigments)<sup>[29–31]</sup> and disease outbreaks,<sup>[32–34]</sup> is exposed to solar UV dose rates known to be responsible for PAH photoinduced toxicity.

The tourism industry in the wider Caribbean has accelerated over the last 50 years and since the 1960s has become the leading economic sector in many parts of the Caribbean with most tourism related to diving, fishing and boating.<sup>[33]</sup> The extended fringing reefs (*sensu* Jordán-Dahlgren and Rodríguez-Martínez<sup>[33]</sup>), characteristic of the northern sector of the Mesoamerican Barrier Reef System, are increasingly exposed to petroleum-based and raw sewage as well as over-exploitation and increased recreational activities due to their proximity to the coast. The coral reef system off Puerto Morelos has a shallow lagoon system (3 to 4 m depth), which means that it is under the direct influence of UVR and, as a result of the increase in boating and personal watercraft activities, it is also potentially exposed to PAHs. No studies to date have been published on the effect of PAHs in Caribbean corals. In Hawai'ian corals, the effect of the PAH, pyrene, was species dependent, ranging from 100% mortality at concentrations of  $48 \mu\text{g L}^{-1}$  on larvae of the oval mushroom coral *Fungia scutaria* to no visible effects on the finger coral *Porites compressa*.<sup>[21]</sup> Bleaching was observed in the rice coral *Montipora verrucosa* (= *capitata*) at all concentrations of pyrene, whereas in the lace coral *Pocillopora damicornis*, bleaching was only observed at the highest concentration used ( $48 \mu\text{g L}^{-1}$ ). The species-dependent responses were postulated to be a result of differing abilities to metabolize PAHs or could possibly be due to varying concentrations of MAAs that attenuate UVR in Hawai'ian coral species.<sup>[35]</sup>

The objective of this study is to present findings on the effect of the PAH, fluoranthene, in the presence of natural solar radiation on the common, shallow-water dwelling, thin finger coral *Porites divaricata* Le Sueur 1821 in the Mexican Caribbean.

## Materials and methods

### Collection and maintenance of samples

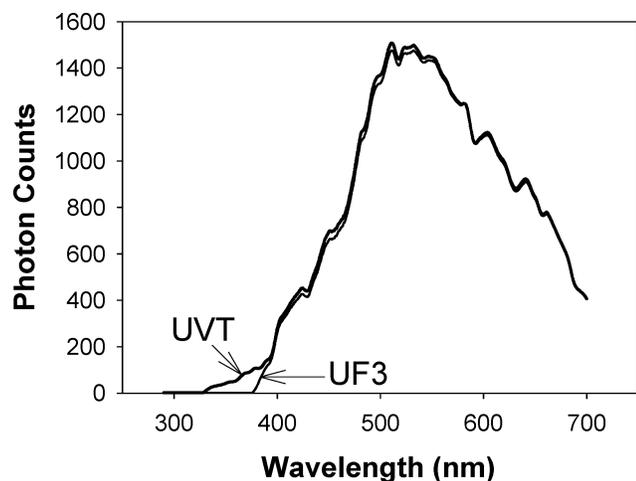
Samples of *Porites divaricata* were collected from a shallow lagoon (approximately 1 m depth) at "El Islote" reef adjacent to Petem Pich, Quintana Roo on the northeast coast of the Yucatan Peninsula, Mexico ( $20^{\circ} 56' \text{N}$ ,  $86^{\circ} 50' \text{W}$ ). The samples were transported in sea water, covered to prevent over-exposure to solar radiation and to maintain the temperature relatively constant at  $28^{\circ}\text{C}$  and brought to the laboratory within 30 minutes of collection. On arrival, the

samples were kept in a covered aquarium fitted with flowing seawater and processed within 36 hours. *P. divaricata* is a shallow-dwelling, branching species with, under some conditions, live tissue limited to the growing tip, which allows for many small pieces (2 to 3 cm long) to be trimmed without damaging the live tissue.

### Experimental procedure

To determine the effect of fluoranthene on the coral *P. divaricata* in the presence of UVR, 120 branches (1–2 cm long) were anchored individually into Plasticine on glass slides (4 per slide), which facilitated the movement of branches, without undue stress. The branches were divided into 10, 3-L glass aquaria. Fluoranthene (HPLC Grade, Sigma, USA), dissolved in acetone in 2 L of  $0.45 \mu\text{m}$  Millipore filtered sea water (FSW), was added to six of the aquaria, with two aquaria each receiving 15, 30 or  $60 \mu\text{g L}^{-1}$  nominal concentrations of fluoranthene. Two other aquaria were used as solvent controls with acetone in FSW added at an equivalent volume to that used to dissolve the fluoranthene. The last two aquaria were used as manipulation controls in FSW without the addition of PAH or acetone. The coral samples were maintained in the glass aquaria to allow for the uptake of fluoranthene over a 4.5 h period (07:00 to 11:30 am). At the end of the incubation period the fluoranthene enriched sea water was removed and replaced with fresh filtered sea water and the glass slides were placed in their appropriate groups in an outdoor seawater table within a fiber glass tank ( $0.7 \times 2.0 \times 0.6 \text{ m}$ ) equipped with flowing seawater to maintain the tanks at ambient seawater temperature, between  $28^{\circ}\text{C}$  at night and  $31^{\circ}\text{C}$  during the day. One group of each of the five different treatments was covered with a sheet of 6 mm thick Plexiglas G UVT acrylic (50% half width maximum at 282 nm), which transmitted UVR and photosynthetically active radiation (PAR, 400 to 700 nm). The UVT acrylic transmitted 92% of the ambient solar radiation (Fig. 1). The other 5 groups were covered by a 4 mm thick Plexiglas G UF-3 acrylic sheet (50% half width maximum at 390 nm), which transmits 91% of the PAR and a small fraction of UVR ( $>380 \text{ nm}$ , Fig. 1).

Fluorescence measurements were taken to serve as indicators of the physiological status of the photosynthetic endosymbionts. *In situ* chlorophyll fluorescence measurements were recorded at solar noon and after sunset using a pulse amplitude modulated fluorometer (Diving-PAM, Walz, Germany) with the following parameters chosen after optimization for this species of coral: measuring intensity = 8, saturation width = 0.8, damping = 2, gain = 9. Measurements of day-time and night-time photochemical efficiencies ( $\Delta F/F_m'$  and  $F_v/F_m$ , respectively) were taken over a 6 day period. After six days, the experiment was terminated and the corals were observed for signs of bleaching (live coral polyps without algae) or mortality (as evidenced by tissue sloughing or lack of polyps). Using the mortalities registered for the upper and the lower sides of the



**Fig. 1.** Spectra of solar radiation in the water column as received by the coral samples covered with a sheet of either 6 mm thick UVT-transmitting acrylic (Plexiglas G UVT acrylic) or a 4 mm thick Plexiglas G UF-3 acrylic sheet. The UVT acrylic transmitted 92% of the ambient solar radiation whereas the UF-3 acrylic transmitted 91%.

colony branches (Table 1), medium lethal concentrations ( $LC_{50}$ ) were calculated with the Multi-Method  $LC_{50}$  Program and the PROBIT method. Statistical analyses were conducted using JMP statistical discovery software (SAS Institute) and Statistica 6.0 (Statsoft).

### Solar radiation measurements

Surface PAR measurements were made using the cosine-corrected PAR sensor attached to the Diving-PAM and calibrated with a LICOR cosine-corrected sensor. The Diving-PAM sensor was also used to make measurements

underwater to determine the PAR values reaching the corals. UVR and PAR measurements (280 to 700 nm) were made with an Ocean Optics 2000 spectrometer both at the surface using a 2 m fiber optic cable and underwater using a 30 m submersible fiber optic cable.

### Results and discussion

The results of this study show that the shallow water coral, *Porites divaricata* suffers from diminished photochemical efficiency leading to bleaching and mortality within 3 to 6 days when exposed to the PAH, fluoranthene, in the presence of ecologically relevant levels of UVR. Fluoranthene toxicity has been shown to be a function of PAH dose and light intensity, with UVR enhancing significantly the toxic effect in the oligochaete *Lumbriculus variegatus*,<sup>[17]</sup> the crustaceans *Hyalella azteca* and *Daphnia magna*,<sup>[36]</sup> crab larvae,<sup>[20]</sup> larvae and juveniles of the bivalve *Mulinia lateralis* and of the mysid shrimp *Mysidopsis bahia*,<sup>[2]</sup> and larvae of the frog *Rana pipiens*<sup>[14]</sup> as well as phytoplankton assemblages from Lake Erie.<sup>[37]</sup>

The time allowed for the accumulation of fluoranthene, in this experiment, was relatively short (4.5 h) compared to some other studies, where aquatic organisms may be allowed to accumulate PAHs for up to 96 h.<sup>[38]</sup> Despite the short bioaccumulation period, fluoranthene at the highest concentration of  $60 \mu\text{g L}^{-1}$  and in the presence of UVR had a lethal effect on the upper sides of 11 of the 12 samples of the coral *P. divaricata* with the remaining sample having bleached, an event that preceded mortality in the other 11 samples ( $P < 0.00001$ ). The data in Table 1 register the bleaching and mortality patterns as analyzed on the 6th day (at the termination of the experiment), however, bleaching was noted within 72 hours of the initiation of

**Table 1.** The number of samples, exposed to different nominal concentrations of fluoranthene for 4.5 h and subsequently to ambient solar radiation with or without UVR for six days, of the thin finger coral *Porites divaricata* that were normal in coloration and appearance (normal), with coral polyps extended and no visual evidence of symbionts (bleached) or with no evidence of polyp extension and evidence of tissue sloughing (dead)

Treatment	Upper side of sample			Under side of sample		
	Normal	Bleached	Dead	Normal	Bleached	Dead
<b>Without UVR</b>						
Manipulation control	6	5	1	12		
Solvent control	11	1		12		
$15 \mu\text{g L}^{-1}$ fluoranthene	7	2	3	12		
$30 \mu\text{g L}^{-1}$ fluoranthene	12			12		
$60 \mu\text{g L}^{-1}$ fluoranthene	11		1	12		
<b>With UVR</b>						
Manipulation control	9	3		12		
Solvent control	8	2	2	12		
$15 \mu\text{g L}^{-1}$ fluoranthene	4	6	2	12		
$30 \mu\text{g L}^{-1}$ fluoranthene	4	4	4	11		1
$60 \mu\text{g L}^{-1}$ fluoranthene		1	11	11		1

the experiment in the UVR and fluoranthene treatment. The LC<sub>50</sub> value for the upper side of the colony branch in the presence of fluoranthene and UVR was calculated to be 31.4  $\mu\text{g L}^{-1}$  (95% confidence intervals range from 22.4 to 44.9). As a comparison, LC<sub>50</sub> values calculated for other coral reef dwelling organisms from Puerto Morelos using fluoranthene and ambient summertime solar radiation are 16  $\mu\text{g L}^{-1}$  for larvae of the queen conch *Strombus gigas* (0.5 h exposure), 23.7  $\mu\text{g L}^{-1}$  for the copepod *Arcatia esspinata* (0.5 h exposure), 67.5  $\mu\text{g L}^{-1}$  for the brine shrimp *Artemia franciscana* (0.5 h exposure) and 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  for the Sargassum shrimp *Leander tenuicornis* and for the grapsid crab *Pachygrapsus gracilis* (both with 1-hour exposures) (Guzmán-Martínez and Ramírez-Romero, unpublished data). The only published LC<sub>50</sub> value for fluoranthene and ambient solar radiation is 25.1  $\mu\text{g L}^{-1}$  for larvae of the blue crab *Callinectes sapidus* using a 4 hour exposure.<sup>[20]</sup>

In contrast to the upper sides, the LC<sub>50</sub> value for the under sides of the same *P. divaricata* branches was calculated to be 435.1  $\mu\text{g L}^{-1}$  (95% confidence intervals range from 74.2 to infinity). The under sides of the branches do not receive direct solar radiation and are shaded and, even though the branches were exposed to the same concentrations of fluoranthene, the LC<sub>50</sub> value was orders of magnitude higher than that for the upper sides of the same branches.

In almost all of the treatments there were a few replicates that bleached or died most likely due to problems with manipulation or due to differences in the doses of UVR and PAR received, even though the light field was maintained as uniform as possible throughout the experiment. For example, in the UVR solvent control treatment (no fluoranthene added), one colony was bleached by day 3 and 2 colonies were more pale than normal. In the UVR manipulation control treatment 1 sample died and 5 bleached. Some bleaching (6 out of 60 samples) and death (1 out of 60 samples) also occurred in the presence of fluoranthene without UVR treatment in the manipulation and solvent controls as well as in the 15  $\mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene treatment with 2 colonies bleached and 3 dead. One also has to consider that some UVA wavelengths were not removed because the UV opaque acrylic does not cutoff at 400 nm but rather at approximately 380 nm (Fig. 1). Fluoranthene does not absorb at these wavelengths<sup>[39]</sup> so these should not have caused a PAH-induced phototoxic effect but the presence of these wavelengths could induce the production of reactive oxygen species that account for some of the bleaching and deaths.

Bleaching can result from the expulsion of symbiotic algae from the host, loss of algal photosynthetic pigments, or by direct damage to host tissue.<sup>[29–31,40–43]</sup> However bleaching occurs, it results in the loss of the normal pigmentation of coral tissue and generally, the white calcium carbonate skeleton of the coral is visible through the transparent host tissue. The morphology of the coral skeleton plays an important role in the amplification of the internal light field of the coral and effectively increases the number of photons delivered to the resident symbiont population.<sup>[44]</sup>

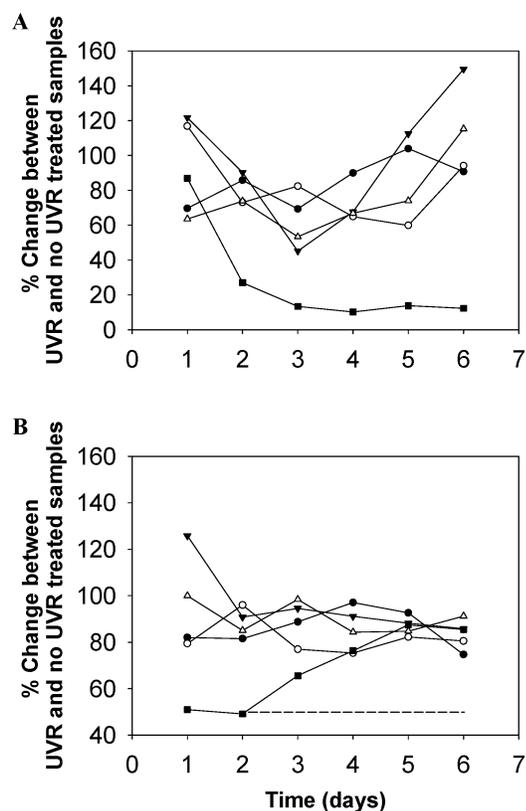
In the absence of the symbionts when the colony bleaches, the porous nature of the *Porites divaricata* skeleton allows photons to reach the symbiont population on the underside of the coral branches. On the lower sides of the branches, all of the samples appeared normal both in coloration (Table 1) and polyp extension, with the exception of 2 samples that died in the presence of fluoranthene and UVR.

There are also inherent differences in the shading patterns of the coral branches. Shade has been shown to be an important refuge for reef-dwelling motile animals such as fish and larvae<sup>[21]</sup> and in this study shade is also a very important refuge for corals. The upper and under sides of the branches received significantly different doses throughout the day such that the underside of the branch can act as a shade refuge for the symbionts under high levels of excitation pressure on photosystem II due to high light conditions. There were very obvious differences in the nighttime photochemical efficiency of coral branches taken directly from the field exposed directly to solar radiation (upper side) versus those that were in shade (under side). Values for the upper side and the lower side of the colonies differed by 16%, being  $0.541 \pm 0.057$  (Average  $\pm$  SD,  $n = 43$ ) for the upper side of the branches and  $0.644 \pm 0.030$  (Average  $\pm$  SD,  $n = 43$ ) for the underside of the branches.

The reduction in the photochemical efficiency on the upper sides of the colony could be an indication of photoacclimation rather than photoinhibition. This has also been noted between colonies of *M. alcicornis* naturally growing in high light versus low light conditions<sup>[31]</sup> where the nighttime photochemical efficiency was reduced in the high light colony in comparison to the low light colony by 37%. Maximizing the photochemical efficiency by the high light colony, or in this case, by the upper side of the *P. divaricata* branches, implies an additional cost of recovery, which is unnecessary under high light exposure and indicates photoacclimation to high light exposure in *P. divaricata* colonies.

In addition, on the upper side, the morphological irregularities in the structure of the branch resulted in variable exposure along the branch with some patches receiving less light than others. These slight differences in shading result in refuges for the symbiotic algae as noted by the variable photochemical efficiencies in shaded versus non-shaded parts of the same side of branches with uneven morphology (data not shown).

In vivo chlorophyll *a* fluorescence, as measured by the quantum yield of charge separation of electrons at photosystem II (also known as photochemical efficiency), was found to be a good bioindicator of the effect of fluoranthene on the physiological status of the dinoflagellate endosymbionts of corals. Despite the high variability as indicated by large standard deviations (not shown), there were significant differences between the fluoranthene samples that were subsequently exposed to UVR and PAR in comparison to those that were exposed to PAR without UVR. Figure 2A



**Fig. 2.** Percent change in photochemical efficiencies for UVR and PAR treated samples relative to PAR only (no UVR) treated samples at solar noon (A) and after sunset (B) for the scleractinian coral, *Porites divaricata*. The samples were exposed to different nominal concentrations of fluoranthene for 4.5 h and subsequently to ambient UVR and PAR or to PAR only over a six day period. Symbols are ● = manipulation control, ○ = solvent (acetone) control, ▽ = 15  $\mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene,  $\Delta$  = 30  $\mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene and ■ = 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene. The high photochemical efficiencies for the night time values for the samples exposed to 60  $\mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene are probably an artifact and the more likely values are indicated by a dashed line.

and B shows the percent change in photochemical efficiencies of the coral samples exposed to UVR and PAR relative to samples that were exposed in the absence of PAR.

Exposure to the highest concentration of fluoranthene (60  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) resulted in a significant decrease in photochemical efficiency within 24 hours ( $P < 0.0001$ ) for the values determined at solar noon (Fig. 2A) and in the evening (Fig. 2B) and these same samples showed signs of bleaching and tissue sloughing on the upper sides of the branches within 3 days. On the third evening, the photochemical efficiencies of these samples began to increase although during the day the yields were extremely low (Fig. 2A). These high nighttime readings are believed to be an artifact. The skeleton of *Porites* is porous (hence the name). It is very likely that the actinic pulse generated by the fluorometer that is used to measure the maximal fluorescence, one of the parameters with which the photochemical efficiency is

calculated, reaches the underside of the coral branch and the high efficiencies are due to the signal from the algae underneath the branch as the topsides of these samples contained no visually detectable algae, or even coral polyps as indicated by the lack of polyp extension and by the presence of tissue sloughing. The symbiotic algae could also have died, or perhaps, were expelled due to the tissue sloughing. Another possibility is that the algae migrated to the under side of the colony to protect themselves from the high light conditions.

In the manipulation control exposed to UVR, the noon-time photochemical efficiency values ( $\Delta F/F_m'$ ) decreased initially and then increased to normal levels by the 4th day similar to those obtained prior to exposure to fluoranthene indicating that there was no lasting physiological effect, at least on endosymbiont photochemistry. There were significantly lower readings for these samples when exposed to UVR and PAR versus PAR only during the first day ( $P = 0.044$ ) and night ( $P = 0.006$ ). Our data also indicate that UVR does not have long-term damaging effects on the coral *P. divaricata* because there were no significant differences between the samples during the day or at night after the first day indicating that the samples had recovered by the evening after exposure to UVR without fluoranthene. In the UVR control, three colonies had lower photochemical efficiencies, which increased the variability of the quantum yields in the control treatment and were the same 3 colonies that showed signs of bleaching at the end of the experiment (Table 1).

In the solvent control exposed to UVR, 1 colony was shaded by a wall of the glass aquarium during the fluoranthene incubation period and this colony had consistently higher readings throughout the 6-day experiment that also affected the standard deviations. Subsequent experiments have been designed to time the PAH accumulation period during non-daylight hours to reduce the problems associated with the shading by the walls of the aquaria. There were significant differences between the solvent control samples exposed to UVR and PAR versus no UVR on the first night ( $P = 0.0019$ ) and second day ( $P = 0.0469$ ) and again on day 4 ( $P = 0.0397$ ), night 4 ( $P = 0.0248$ ), day 5 ( $P = 0.0013$ ) and again on night 6 ( $P = 0.0161$ ). Of the solvent control samples exposed to UVR and PAR, after 6 days, 2 bleached and 2 died whereas in the samples exposed to PAR only 1 bleached and none died suggesting that UVR alone had a significant effect on the samples but that most, but not all, were able to recover. The same is true for the samples treated with 15  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 30  $\mu\text{g L}^{-1}$  fluoranthene when exposed to UVR and PAR versus PAR only. There were intermittent times when there were significant differences found (night 1 and day 3 for the lower concentration and days 1, 3 and 5 for the higher concentration) but in all cases most of the samples appeared to recover photochemical efficiency. By the end of the experiment there were more samples that had bleached or died in the UV treated versus the non-UV treated samples exposed to fluoranthene (Table 1).

Particularly at night the values of photochemical efficiency were very variable in the 60 and 30  $\mu\text{g L}^{-1}$  treatments with UVR suggesting that the symbiotic algae had variable recovery rates during the night from the UVR stress incurred during the daylight hours. In subsequent experiments this problem has been reduced by taking the night-time measurements prior to sunrise rather than at sunset. The opportunity to recover during the evening lessens the variability in these measurements (Banaszak and Guzman-Martinez, unpublished data).

Photochemical efficiency has been used previously as a potential bioindicator of PAH stress in aquatic plants<sup>[45–47]</sup> and in natural samples of phytoplankton from Lake Erie.<sup>[37,48]</sup> The natural freshwater phytoplankton assemblages that were exposed to anthracene under natural solar radiation conditions exhibited concentration-dependent decreases in photosystem II (PSII) photochemical efficiency<sup>[48]</sup> but only at concentrations ( $\text{mg L}^{-1}$ ) that are orders of magnitude greater than those occurring in surface waters.<sup>[49]</sup> Similar results have been found for the effects of anthracene on *Lemna gibba*<sup>[45]</sup> and for the effects of creosote on the aquatic plants *Myriophyllum spicatum* and *Lemna gibba*<sup>[46,47]</sup> and of various PAHs on phytoplankton.<sup>[37]</sup> PAHs have been shown to accumulate preferentially in the thylakoids of the aquatic plant *Lemna gibba* thus chloroplast membranes appear to be the most at risk from PAH damage.<sup>[50]</sup> At these concentrations, the photochemical conversion of anthracene possibly inhibits electron transport at or near photosystem I (PSI) followed by inhibition of PSII.<sup>[45]</sup>

Photochemical efficiency has also been used successfully to test a variety of stressors on symbiotic corals including thermal stress,<sup>[41–43]</sup> UV,<sup>[31]</sup> and PAR.<sup>[51,52]</sup> While the mechanisms causing bleaching have not been completely elucidated, there are a number of hypotheses as to how bleaching is initiated. Studies of symbiotic dinoflagellates in culture<sup>[40,53]</sup> and *in hospite*<sup>[41]</sup> have suggested that damage to PSII may lead to bleaching as a result of exposure to elevated temperatures or high levels of solar radiation. Damage has been shown to specifically occur at the D1 protein of PSII<sup>[41,42]</sup> and to the primary carboxylating enzyme, RUBISCO.<sup>[43]</sup> Measurements of quantum yield of charge separation at PSII are therefore useful for the detection of changes in the physiological status of the symbiotic algae of corals. Our data indicate that photoinduced PAH toxicity affects the efficiency of photosystem II electron transport in the symbiotic algae of the coral *P. divaricata*, which in turn leads to bleaching and in high concentrations, fluoranthene in concert with UVR has lethal effects on corals.

## Conclusion

Worldwide coral reef ecosystems are suffering from degradation due to coral bleaching.<sup>[29,30]</sup> Although most coral bleaching events have been related to sea water temperature

increases, some events cannot be directly related to thermal stress but to higher UVR and PAR doses<sup>[25,30]</sup> a situation that could exacerbate the phototoxic effect of PAHs. UVR has been a forcing function over evolutionary time and corals have adapted to the high levels of UVR in the tropics with photoprotectants such as mycosporine-like amino acids<sup>[35,54]</sup> and the host-derived green fluorescent proteins,<sup>[55,56]</sup> however, PAH input to aquatic environments is a relatively new stressor. The data presented here show that shallow water corals, such as *Porites divaricata* are likely to be affected by the presence of PAHs as corals in their natural UVR environment exposed to PAHs, bleach or die within 3 to 6 days. PAH contamination therefore needs to be considered as a risk factor in the susceptibility of corals to bleaching. In this experiment, the time allowed for the accumulation of the PAH was relatively short and fluoranthene is not as potent as other PAHs such as anthracene and pyrene.<sup>[38]</sup> The high UVR doses that coral reefs receive combined with the results of this study show that photoinduced toxicity of marine pollutants such as PAHs is a factor that needs to be studied in more detail in coral reef ecosystems such as those found in the Mexican Caribbean because the accelerated economic development of the area signifies that higher quantities of PAHs can enter this UVR-rich marine environment.

## Acknowledgments

This research was funded by a grant from the Dirección General de Asuntos del Personal Académico, Universidad Nacional Autónoma de México (Project no. IN204105-3) to ATB and a grant from the Universidad Autónoma Metropolitana to the Ecotoxicology Lab (Project no. 147.07.04). MCGM was funded by a doctoral grant from CONACYT-Mexico and a Russell E. Train Fellowship from the World Wildlife Fund.

## References

- [1] Oris, J.T.; Giesy, J.P.; Allred, P.M.; Grant, D.F.; Landrum, P.F. Photoinduced toxicity of anthracene in aquatic organisms: An environmental perspective. In: *The Biosphere: Problems and Solutions*, Veziroglu, T.N., Ed.; Elsevier Science Publishers: Amsterdam, 1984; 639–658.
- [2] Pelletier, M.C.; Burgess, R.M.; Ho, K.T.; Kuhn, A.; McKinney, R.A.; Ryba, S.A. Phototoxicity of individual polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum to marine invertebrate larvae and juveniles. *Environ. Toxicol. Chem.* **1997**, *16*, 2190–2199.
- [3] Ren, L.; Huang, X.-D.; McConkey, B.J.; Dixon, D.G.; Greenberg, B.M. Photoinduced toxicity of three polycyclic aromatic hydrocarbons (fluoranthene, pyrene, and naphthalene) to duckweed *Lemna gibba* L. G-3. *Ecotox. Environ. Saf.* **1994**, *28*, 160–171.
- [4] Kearns, D.R.; Khan, A.U. Sensitized photooxygenation reactions and the role of singlet oxygen. *Photochem. Photobiol.* **1969**, *10*, 193–210.
- [5] Foote, C.S. Mechanisms of photo-oxidation. In *Singlet Oxygen Reactions with Organic Compounds and Polymers*. Rauby B., Rabek, J.F., Eds.; Wiley Press, New York, 1978; Chapter 11.

- [6] Sinha, B.K.; Chignell, C.F. Binding of anthracene to cellular macromolecules in the presence of light. *Photochem. Photobiol.* **1983**, *37*, 33–37.
- [7] Björn, L.O.; Huovinen, P. Phototoxicity. In *Photobiology: The Science of Life and Light*, Björn, L.O., Ed. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 2002; 219–238.
- [8] Weinstein, J.E.; Oris, J.T.; Taylor, D.H. An ultrastructural examination of the mode of UV-induced toxic action of fluoranthene in fathead minnows, *Pimephales promelas*. *Aquat. Toxicol.* **1997**, *39*, 1–22.
- [9] Bowling, J.W.; Leversee, G.J.; Landrum, P.J.; Giesy, J.P. Acute mortality of anthracene-contaminated fish exposed to sunlight. *Aquat. Toxicol.* **1983**, *3*, 79–90.
- [10] Oris, J.T.; Hall, A.T.; Tylka, J.D. Humic acids reduce the photo-induced toxicity of anthracene to fish and *Daphnia*. *Environ. Toxicol. Chem.* **1990**, *9*, 575–583.
- [11] Oris, J.T.; Giesy, Jr., J.P. The photoenhanced toxicity of anthracene to juvenile sunfish (*Lepomis* spp.). *Aquat. Toxicol.* **1985**, *6*, 133–146.
- [12] Oris, J.T.; Giesy, Jr., J.P. Photoinduced toxicity of anthracene to juvenile bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus* Rafinesque): photoperiod effects and predictive hazard evaluation. *Environ. Toxicol. Chem.* **1986**, *5*, 761–768.
- [13] Oris, J.T.; Giesy, Jr., J.P. The photo-induced toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Chemosphere*. **1987**, *16*, 1395–1404.
- [14] Monson, P.D.; Call, D.J.; Cox, D.A.; Liber, K.; Ankley, G.T. Photoinduced toxicity of fluoranthene to northern leopard frogs (*Rana pipiens*). *Environ. Toxicol. Chem.* **1999**, *18*, 308–312.
- [15] Kagan, J.; Kagan, P.A.; Bushe, H.E. Light dependent toxicity of al- phaterthienyl and anthracene toward late embryonic stages of *Rana pipiens*. *J. Chem. Ecol.* **1984**, *10*, 1115–1122.
- [16] Allred, P.M.; Giesy, J.P. Solar radiation-induced toxicity of anthracene to *Daphnia pulex*. *Environ. Toxicol. Chem.* **1985**, *4*, 219–226.
- [17] Ankley, G.T.; Erickson, R.J.; Phipps, G.L.; Mattson, V.R.; Kosian, P.A.; Sheedy, B.R.; Cox, J.S. Effects of light-intensity on the phototoxicity of fluoranthene to a benthic macroinvertebrate. *Environ. Sci. Technol.* **1995**, *29*(11), 2828–2833.
- [18] Cody, T.E.; Radike, M.J.; Warshawsky, D. The phototoxicity of benzo[a]pyrene in the green alga *Selenastrum capricornutum*. *Environ. Res.* **1984**, *35*, 122–132.
- [19] Morgan, D.D.; Warshawsky, D. The photodynamic immobilization of *Artemia salina* nauplii by polycyclic aromatic hydrocarbons and its relationship to carcinogenic activity. *Photochem. Photobiol.* **1977**, *25*, 39–46.
- [20] Peachey, R.B.J. The synergism between hydrocarbon pollutants and UV radiation: a potential link between coastal pollution and larval mortality. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **2005**, *315*, 103–114.
- [21] Peachey, R.L.; Crosby, D.G. Phototoxicity in a coral reef flat community. In *Ultraviolet Radiation and Coral Reefs*, Gulko, D., Jokiel, P.L., Eds.; Sea Grant Cooperative Report. Hawai'i Institute of Marine Biology Technical Report Number 41, HIMB; Hawaii, 1995; 193–200.
- [22] Peachey, R.L.; Crosby, D.G. Phototoxicity in tropical reef animals. *Mar. Environ. Res.* **1996**, *42*(1–4), 359–362.
- [23] Jokiel, P.L. Solar ultraviolet radiation and coral reef epifauna. *Science* **1980**, *207*, 1069–1071.
- [24] Shick, J.M.; Lesser, M.P.; Jokiel, P.L., Effects of ultraviolet radiation on corals and other coral reef organisms. *Global Change Biol.* **1996**, *2*, 527–545.
- [25] Gleason, D.F. Ultraviolet radiation and coral communities. In *Ecosystems, Evolution and Ultraviolet Radiation*, Cockell, C.S., Blaustein, A.R., Eds.; Springer-Verlag: New York, 2001; 118–149.
- [26] Smith, R.C.; Baker, K.S. Penetration of UV-B and biologically effective dose-rates in natural waters. *Photochem. Photobiol.* **1979**, *29*, 311–323.
- [27] Baker, K.S.; Smith, R.C.; Green, A.E.S. Middle ultraviolet radiation reaching the ocean surface. *Photochem. Photobiol.* **1980**, *32*, 367–374.
- [28] Fleischmann, E.M. The measurement and penetration of ultraviolet radiation into tropical marine water. *Limnol. Oceanogr.* **1989**, *34*, 1623–1629.
- [29] Hoegh-Guldberg, O. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Mar. Freshwater Res.* **1999**, *50*, 839–866.
- [30] Glynn, P.W. Coral reef bleaching: facts, hypotheses and implications. *Global Change Biol.* **1996**, *2*, 495–509.
- [31] Banaszak, A.T.; Ayala-Schiaffino, N.; Rodríguez-Román, A.; Enriquez, S.; Iglesias-Prieto, R. The response of *Millepora alcicornis* to two bleaching events in the Mexican Caribbean. *Rev. Biol. Trop.* **2003**, *51*(6), 57–66.
- [32] Rodríguez-Martínez, R.E.; Banaszak, A.T.; Jordán-Dahlgren, E. Necrotic patches affect *Acropora palmata* in the Mexican Caribbean. *Dis. Aquat. Org.* **2001** *47*(3), 229–234.
- [33] Jordán-Dahlgren, E.; Rodríguez-Martínez, R.E. The atlantic coral reefs of Mexico. In: *Latin American Coral Reefs*, Cortéz, J. Ed.; Elsevier Science: Amsterdam, 2003; 131–158.
- [34] Jordán-Dahlgren, E.; Maladonado, M.A.; Rodríguez-Martínez, R.E. Diseases and partial mortality in *Montastraea annularis* species complex in reefs with differing environmental conditions (NW Caribbean and Gulf of México). *Dis. Aquat. Org.* **2005**, *63*, 3–12.
- [35] Banaszak, A.T.; Lesser, M.P.; Kuffner, I.B.; Ondrusek, M. Relationship between ultraviolet (UV) radiation and mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. *Bull. Mar. Sci.* **1998**, *63*(3), 617–628.
- [36] Hatch, A.C.; Burton Jr., G.A. Phototoxicity of fluoranthene to two freshwater crustaceans, *Hyalella azteca* and *Daphnia magna*: Measures of feeding inhibition as a toxicological endpoint. *Hydrobiologia* **1999**, *400*, 243–248.
- [37] Marwood, C.A.; Smith, R.E.H.; Charlton, M.N.; Solomon, K.R.; Greenberg, B.M. Photoinduced toxicity to Lake Erie phytoplankton assemblages from intact and photomodified polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Great Lakes Res.* **2003**, *29*(4), 558–565.
- [38] Ankley, G.T.; Erickson, R.J.; Sheedy, B.R.; Kosian, P.A.; Mattson, V.R.; Cox, J.S. Evaluation of models for predicting the phototoxic potency of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Aquat. Toxicol.* **1997**, *37*, 37–50.
- [39] Kochevar, I.E.; Armstrong, R.B.; Einbinder, J.; Walther, R.R.; Harber, L.C. Coal tar phototoxicity: active compounds and action spectra. *Photochem. Photobiol.* **1982**, *36*, 65–69.
- [40] Lesser, M.P. Exposure of symbiotic dinoflagellates to elevated temperatures and ultraviolet radiation causes oxidative stress and inhibits photosynthesis. *Limnol. Oceanogr.* **1996**, *41*, 271–283.
- [41] Warner, M.E.; Fitt, W.K.; Schmidt, G.W. The effect of elevated temperature on the photosynthetic efficiency of zooxanthellae in hospite from four different species of reef coral: A novel approach. *Plant Cell Environ.* **1996**, *19*, 291–299.
- [42] Warner, M.E.; Fitt, W.K.; Schmidt, G.W. Damage to photosystem II in symbiotic dinoflagellates: A determinant of coral bleaching. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 8007–8012.
- [43] Jones, R.J.; Hoegh-Guldberg, O.; Larkum, A.W.D.; Schreiber, U. Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO<sub>2</sub> fixation mechanism in zooxanthellae. *Plant Cell Environ.* **1998**, *21*, 1219–1230.
- [44] Enriquez, S.; Méndez, E.R.; Iglesias-Prieto, R. Multiple scattering on coral skeletons enhances light absorption by symbiotic algae. *Limnol. Oceanogr.* **2005**, *50*, 1025–1032.
- [45] Huang, X.-D.; McConkey, B.J.; Babu, T.S.; Greenberg, B.M. Mechanisms of photoinduced toxicity of photomodified anthracene to plants: Inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plant *Lemna gibba* (Duckweed). *Environ. Toxicol. Chem.* **1997**, *16*(8), 1707–1715.
- [46] Marwood, C.A.; Solomon, K.R.; Greenberg, B.M. Chlorophyll fluorescence as a bioindicator of effects on growth in aquatic

- macrophytes from mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Toxicol. Chem.* **2001**, *20*(4), 890–898.
- [47] Marwood, C.A.; Bestari, K.T.J.; Gensemer, R.W.; Solomon, K.R.; Greenberg, B.M. Creosote toxicity to photosynthesis and plant growth in aquatic microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.* **2003**, *22*(5), 1075–1085.
- [48] Marwood, C.A.; Smith, R.E.H.; Solomon, K.R.; Charlton, M.N.; Greenberg, B.M. Intact and photomodified polycyclic aromatic hydrocarbons inhibit photosynthesis in natural assemblages of Lake Erie phytoplankton exposed to solar radiation. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **1999**, *44*(3), 322–327.
- [49] Diamond, S.A. Photoactivated toxicity in aquatic ecosystems. In *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*, Helbling, E.W.; Zagarese, H., Eds. Royal Society of Chemistry. 2003; 219–250.
- [50] Duxbury, C. L.; Dixon, D. G.; Greenberg, B. M. Effects of simulated solar radiation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the duckweed *Lemna gibba*. *Environ. Toxicol. Chem.* **1997**, *16*, 1739–1748.
- [51] Brown, B.E.; Dunne, R.P.; Ambarsari, I.; Le Tissier, M.D. A.; Satapoomin, U. Seasonal fluctuations in environmental factors and variations in symbiotic algae and chlorophyll pigments in four Indo-Pacific coral species. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **1999**, *191*, 53–69.
- [52] Brown, B.E.; Ambarsari, I.; Warner, M.E.; Fitt, W.K.; Dunne, R.P.; Gibb, S.W.; Cummings, D.G. Diurnal changes in photochemical efficiency and xanthophylls concentrations in shallow water reef corals: evidence for photoinhibition and photoprotection. *Coral Reefs* **2000**, *18*, 99–105.
- [53] Iglesias-Prieto, R.; Matta, J.L.; Robins, W.A.; Trench, R.K. Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1992**, *89*, 10302–10305.
- [54] Banaszak, A.T., M.G. Barba Santos, T.C. LaJeunesse, M.P. Lesser. The distribution of mycosporine-like amino acids (MAAs) and the phylogenetic identity of symbiotic dinoflagellates in cnidarian hosts from the Mexican Caribbean. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **2006**, *337*, 131–146.
- [55] Salih, A.; Larkum, A.; Cox, G.; Kuhl, M.; Hoegh-Guldberg, O. Fluorescent pigments in corals are photoprotective. *Nature* **2000**, *408*, 850–853.
- [56] Dove, S.G.; Hoegh-Guldberg, O.; Ranganathan, S. Major colour patterns of reef-building corals are due to a family of GFP-like proteins. *Coral Reefs* **2001**, *19*, 197–204.

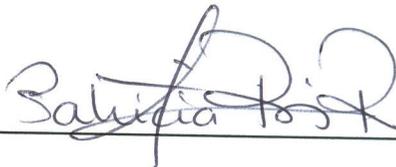
El jurado designado por la Comisión del Doctorado en Ciencias Biológicas  
aprobó la tesis que presentó

María del Carmen Guzmán Martínez

El día de 15 de diciembre del año 2009

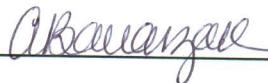
Sinodales:

Dra. Patricia Ramírez Romero (Presidenta)



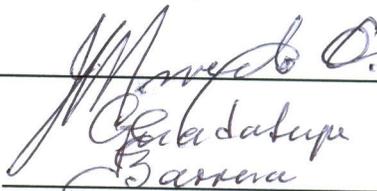
---

Dra. Anastazia T. Banaszak (Secretaria)



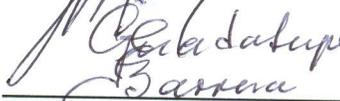
---

Dr. José Luis Arredondo Figueroa (Vocal)



---

Dra. Guadalupe Barrera Escorcía (Vocal)



---

Dra. Rosa María Flores Serrano (Vocal)



---