

Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos ligeros en aguas superficiales de los ríos Almendares y Luyanó en La Habana

Jorge Luis Santana-Romero, Michel Valdés-Callado, Susana Olivares-Rieumont y Lázaro Lima-Cazorla.

Instituto Superior de Tecnologías y Ciencias Aplicadas. Ave. Salvador Allende y Luaces, Plaza de la Revolución, La Habana, Cuba. santana@instec.cu.

Recibido: 8 de noviembre de 2011.

Aceptado: 2 de julio de 2012.

Palabras clave: extracción, hidrocarburos aromáticos policíclicos, HAP, aguas.
Key words: extraction, polinuclear aromatic hydrocarbons, PAHs, waters.

RESUMEN. La determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) ligeros (naftaleno, acenaftileno, fenantreno, antraceno, fluoranteno y pireno) se realizó mediante la combinación de métodos de extracción sólido-líquido, extracción líquido-líquido y cromatografía líquida de alta resolución en régimen isocrático teniendo en cuenta la elevada probabilidad de su presencia en aguas superficiales de río debido a su relativamente gran solubilidad. Las muestras de agua fueron preconcentradas con la utilización de cartuchos C-18 a partir de volúmenes de 1 L. El eluato de interés fue previamente tratado para eliminar impurezas interferentes antes de su introducción a la columna analítica LiChrosorb C-18 en el cromatógrafo líquido. La cuantificación de los HAP ligeros se llevó a cabo por el método del estándar externo. La construcción de las curvas de calibración de cada analito, así como los ejercicios de añadido-recobrado, se realizó con un material de referencia trazable al NIST. Patrones analíticos adicionales se emplearon para la asignación de los picos en el cromatograma. El análisis de incertidumbre de las determinaciones permitió reportar las fuentes de error fundamentales en el procedimiento analítico. En el río Almendares fueron determinados: fenantreno ($0,09 \pm 0,01$) $\mu\text{g/L}$; antraceno ($0,09 \pm 0,04$) $\mu\text{g/L}$ y pireno (20 ± 5) $\mu\text{g/L}$. En el río Luyanó se determinó: acenaftileno (21 ± 4) $\mu\text{g/L}$; fenantreno ($2,5 \pm 0,2$) $\mu\text{g/L}$ y fluorantreno (26 ± 3) $\mu\text{g/L}$. La sumatoria de HAP determinados en cada uno de los puntos de muestreo presenta una elevada concentración de analitos en comparación con otros ríos del mundo donde funcionan adecuadamente estaciones depuradoras.

ABSTRACT. The determination of light polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) (naftalene, acenftilene, phenantrene, anthracene, fluorantene and pirenene) using an adequate combination of extractive methods such as solid-liquid extraction, liquid-liquid extraction and isocratic high performance liquid chromatography (HPLC) was done taking into consideration the high probability of occurrence of these compounds in river surface waters due to their relative increased solubility. Water samples were preconcentrated using C-18 solid phase extraction cartridges from 1 L volumen. The eluate of interest was previously cleaned up in order to eliminate possible analytical interferences before introducing the sample to analytical separation column LiChrosorb C-18 in a liquid chromatograph. Quantification of PAHs was carried out using the external standard method. The calibration curves of each analyte and the spiking-recovery assays were prepared using a Reference Material, traceable to NIST. Additional standard solutions were used for individual peaks assignment of analytes in the chromatogram. Uncertainty analysis gave the possibility to know the main sources of error in the proposed analytical procedure. In Almendares river waters the levels of phenantrene ($0,09 \pm 0,01$) $\mu\text{g/L}$; anthracene ($0,09 \pm 0,04$) $\mu\text{g/L}$ and pirenene (20 ± 5) $\mu\text{g/L}$ were determined. In Luyano river waters acenaftilene (21 ± 4) $\mu\text{g/L}$; phenantrene ($2,5 \pm 0,2$) $\mu\text{g/L}$ and fluorantrene (26 ± 3) $\mu\text{g/L}$ were determined. The total HAPs values for each river sampling place shows higher values in comparison with other rivers, where waste treatment plants are working properly.

INTRODUCCION

Uno de los principales problemas que enfrenta la sociedad moderna es el deterioro y creciente nivel de contaminación de los recursos naturales. Los ecosistemas se ven alterados por una gran cantidad de sustancias químicas tóxicas generadas por diversas actividades industriales, de servicios, domésticas, urbanas y agrícolas

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) constituyen sustancias de naturaleza aromática, con dos o más anillos fusionados que tienen su origen en fuentes antropogénicas o naturales de contaminación y presentan propiedades carcinogénicas y mutagénicas en humanos. Los HAP ligeros tienen en su estructura química hasta tres anillos aromáticos, son más volátiles y su presión de vapor es alta. Las propiedades físico-químicas de los distintos HAP son diferentes, y los tiempos de residencia y vidas medias en distintos compartimentos en el medio y los organismos son distintos.¹

Las fuentes antropogénicas de los HAP de mayor interés son las plantas industriales de procesamiento de petróleo y gas, así como plantas siderúrgicas que producen estos compuestos como resultado de la combustión

incompleta de los combustibles fósiles. Las aguas constituyen reservorios importantes de la contaminación por HAP desde donde estos se distribuyen hacia los sedimentos y la biota. En aguas naturales, es común encontrar concentraciones de HAP totales que van desde valores menores a 50 ng/L para sitios no contaminados hasta 6 g/L en los ríos más contaminados. En agua potable las concentraciones oscilan entre 0,02 y 1,8 ng/L.² Es por esto que son clasificados por varios autores como contaminantes orgánicos persistentes no intencionales.³

Según la Unión Europea, para las aguas superficiales empleadas como fuente de abastecimiento para agua potable, el límite establecido para la suma de fluoranteno; benzo(b)fluoranteno; benzo(k)fluoranteno; benzo(a)pireno; benzo(ghi)perileno e indeno ([cd]pireno) es de 1 mg/L.⁴

Aunque se conocen más de 2 000 HAP entre simples y sustituidos, la comunidad científica hace enfoque fundamentalmente en el análisis de 16 HAP considerados prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos. Los HAP también han adquirido una notable importancia debido a su persistencia en el medio y a que muchos de ellos son potentes tóxicos, mutágenos y teratógenos para los organismos acuáticos y el hombre.⁵ La exposición a los HAP está asociada con diferentes efectos que incluyen toxicidad cardiovascular, efectos negativos sobre la reproducción⁵ y la médula ósea, supresión del sistema inmune⁶ o toxicidad en el hígado; no obstante, el efecto tóxico más importante resultado de la exposición a los HAP es el cáncer⁷ por lo que el interés científico sobre la presencia de estas sustancias en matrices ambientales ha crecido.^{8,9} Recientemente, se ha demostrado que la compleja especiación de estas sustancias entre los diferentes compartimentos existentes en la columna de agua de fuentes de aguas superficiales como ríos, lagos y escenarios costeros se relaciona con su capacidad para penetrar las membranas de organismos vivos y ocasionar efectos tóxicos.^{9,10} La determinación de la especiación de estas sustancias de acuerdo con su origen, su concentración en estado libre, formando complejos con el material húmico presente en las fuentes de aguas o en el agua intersticial de los sedimentos constituye un reto analítico para cualquier laboratorio.

La reducida solubilidad en agua de los hidrocarburos aromáticos policíclicos pesados y su actividad química convierte su presencia en cursos de agua en poco probable, lo que se revela en sus pequeñas concentraciones en la columna de agua, dada su afinidad por los sedimentos, hacia la superficie de los cuales precipitan y desde donde difunden hacia capas más profundas.⁹

La cromatografía gaseosa (CG), debido a su gran poder de resolución, disponibilidad de fases estacionarias y experiencia científica de muchos grupos de investigación, es la técnica más utilizada en la determinación de HAP.¹¹ Los detectores más usados son el de ionización de llama (FID) y el espectrómetro de masas. Aunque es necesario apuntar que la cromatografía líquida de alta resolución cada día se impone más en estas determinaciones por el poder resolutivo que manifiesta para los isómeros de HAP.

Los métodos tradicionales para la determinación en agua de los HAP incluidos en la lista de contaminantes prioritarios publicada por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, son variaciones del Método USEPA 610. Todos ellos se basan en la extracción líquido-líquido de la muestra acuosa, seguida por evaporación del extracto orgánico, reconstitución y análisis por CG con detector de ionización de llama o espectrómetro de masas, o bien por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) con detector ultravioleta o de fluorescencia. Estos métodos son muy largos o tediosos en su ejecución, así como minuciosos e implican una continua manipulación de la muestra. La extracción en fase sólida (EFS) en sus diversas modalidades se ha convertido en una alternativa de elección para la preparación de muestras ambientales.¹²⁻¹⁴ La EFS se ha empleado para aislar y concentrar los HAP de diversas matrices acuosas, utilizando adsorbentes de fase reversa C-18 depositados en discos, en membranas, en cartuchos desechables o en barras adsorbtivas.^{14,15} El presente trabajo tuvo como objetivo presentar un método simple de determinación de los ocho HAP reconocidos como ligeros en aguas naturales, adecuado para el monitoreo frecuente de estas sustancias y que permite a los analistas dar seguimiento a posibles fuentes de contaminación con estas sustancias a partir de actividades industriales, así como dar respuestas veraces sobre su contenido con el mínimo de equipamiento disponible en los laboratorios.

MATERIALES Y METODOS

Para la determinación de las condiciones de separación cromatográfica y para la construcción de las curvas de calibración se contó con un material de referencia (MR) (Supelco, país) cat. 49156, trazable al Buró de Estándares de Estados Unidos (NIST). La muestra constituye una mezcla de HAP considerados como prioritarios por diferentes agencias ambientales en el mundo.¹ La separación cromatográfica se llevó a cabo en un cromatografía líquida equipo JASCO (firma, país). La columna empleada fue Lichrosorb C-18 (Merck), de dimensiones 120 x 4,6 mm y 5 μ m de tamaño de partícula. El detector empleado fue un espectrofotómetro ($\lambda = 254$ nm). La elución cromatográfica se realizó en régimen isocrático con el empleo de una mezcla de acetonitrilo-agua 1 : 1 (v/v). El bucle de inyección fue de 100 μ L. Fueron empleados patrones cromatográficos de calidad analítica (Merck). Las condiciones de elución descritas resultaron válidas para los ocho primeros HAP en eluir, conocidos como ligeros. Después de la elución del octavo pico, la columna fue limpiada con acetonitrilo y nuevamente equilibrada con fase móvil de trabajo. El resto de las señales de referencia correspondientes a los HAP pesados no se tomó en cuenta para este trabajo por ser ajenas a su alcance.

El muestreo se llevó a cabo con la toma de dos contenedores independientes con tres muestras de 1 L cada una.¹⁶ Las muestras fueron colectadas en frascos de vidrio ámbar, limpios, de 1 L los que se mantuvieron previamente a 400 °C durante 8 h en mufla. A cada uno de los frascos se le añadió previamente 1 mL de HCl concentrado. Una vez colectadas las muestras, se adicionó a estas 10 mL de acetonitrilo y 100 mg de metabisulfito de sodio. Las muestras de interés se tomaron del río Luyanó (Latitud: 23.108 783 N, longitud: -82.328 547 W) y del río Almendares (Latitud: 23.117 848 N, longitud -82.406 277 W) en condiciones de seca (mes de diciembre) en tramos de los ríos lejanos de la influencia de mareas. Las muestras de agua fueron conservadas a 4 °C hasta su análisis, el cual fue realizado antes de las 48 h posteriores al muestreo para evitar la posible degradación microbiana.

La exactitud de la determinación de las concentraciones de los HAP en aguas fue evaluada en sus dos componentes: veracidad y precisión. Se determinó la relación mínima en que el par de analitos fenantreno-antraceno podía ser determinado individualmente. El análisis de incertidumbre de las determinaciones se realizó según las recomendaciones de la guía Eurachem.¹⁷ Se estudió la relación de concentraciones en la que puede exceder un componente de la muestra al componente sucesivo.

Cada muestra fue pasada a través de un cartucho de preconcentración con 1 g de material C-18 como fase sólida, previamente activado. La activación de cada cartucho se ejecutó después de pasar por él de manera sucesiva 10 mL de n-hexano, 10 mL de de diclorometano, 15 mL de metanol y 15 mL de agua de elevada pureza.

Los HAP y otros compuestos apolares retenidos en los cartuchos de preconcentración fueron eluidos tres veces con 5 mL de n-hexano. Estos eluatos fueron colectados de manera conjunta y pasados por una columna que contenía 3 g de adsorbente mixto (alúmina al 3 % en sílice). Esta columna fue eluida primeramente con 10 mL de n-hexano y seguidamente con 15 mL de una mezcla de diclorometano-n-hexano 70 : 30 (v/v). El eluato de n-hexano fue desechado y el de la mezcla diclorometano-n-hexano fue sometido a cinco extracciones líquido-líquido sucesivas en embudos de separación de 500 mL con mezcla acetonitrilo-agua 3 : 10 (v/v), en una relación 10 : 1 (v/v) con respecto a la fase orgánica anterior. Los extractos acuosos mezclados fueron pasados a través de un nuevo cartucho de preconcentración en fase sólida, el cual fue posteriormente eluido con 3 mL de acetonitrilo. Esta disolución fue inyectada en el sistema cromatográfico para la obtención de los cromatogramas de elución de los HAP. Se empleó un bucle de inyección de 100 μ L y la inyección de la muestra se ejecutó por duplicado con parada de flujo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La composición de la fase móvil que se utilizó para la determinación de los HAP ligeros por CLAR en régimen isocrático fue la mezcla acetonitrilo-agua 1 : 1 (v/v), con la cual se obtuvo una adecuada separación cromatográfica de los analitos de interés. Para las muestras sintéticas multicomponentes, empleadas para obtener las mejores condiciones de separación, la resolución entre los picos sucesivos fue mayor o igual a 1, excepto para el par acenafteno-fluoreno que no se logró separar en estas condiciones y por lo tanto, no se pudo cuantificar. Se reportan dificultades para la cromatografía líquida en la separación de este par isomérico de HAP.¹⁸ La disminución del contenido de acetonitrilo en la fase móvil en búsqueda de una mejor resolución entre las señales del acenafteno y el fluoreno se tradujo en el aumento de los tiempos de retención del pireno hasta 80 min y un achatamiento del pico de este último analito que introdujo una elevada incertidumbre en su cuantificación sin logros importantes en la separación de los isómeros no resueltos. No obstante, la selección de columnas más modernas y una fase móvil más selectiva puede ser objeto de investigación posterior para resolver la separación y la posible determinación de estos dos analitos en las muestras al emplear la separación isocrática.

Se demostró que con este método la concentración de antraceno puede triplicar a la de fenantreno para su determinación en el cromatograma como picos sucesivos. El límite lo impone la obtención de un valor de resolución (R_s) de 0,63; valor cercano a 0,59, establecido como límite para la cuantificación de picos sucesivos por Schoenmakers.¹⁹ La incertidumbre de la cuantificación en estas condiciones es elevada y se acerca al 60 % por lo que en muestras reales se deberá tener especial precaución con los posibles niveles contrastantes de concentración para analitos representados en picos sucesivos.

Se realizó la identificación y asignación de los picos dentro de los cromatogramas por inyección conjunta de una dilución de la muestra de referencia (Fig. 1) y patrones de naftaleno, fenantreno antraceno y pireno. El aumento significativo del área del pico correspondiente a cada analito en cuestión fue el criterio para establecer la correspondencia plena entre los tiempos de retención (t_r) de cada una de las sustancias a analizar.

Las curvas de calibración fueron preparadas a diferentes concentraciones a partir del MR y los valores de los coeficientes de correlación fueron adecuados (Tabla 1). Cada punto de la curva de calibración fue determinado al menos tres veces y se calcularon las medias de cada punto, así como su desviación estándar. Para la evaluación de la linealidad del método se

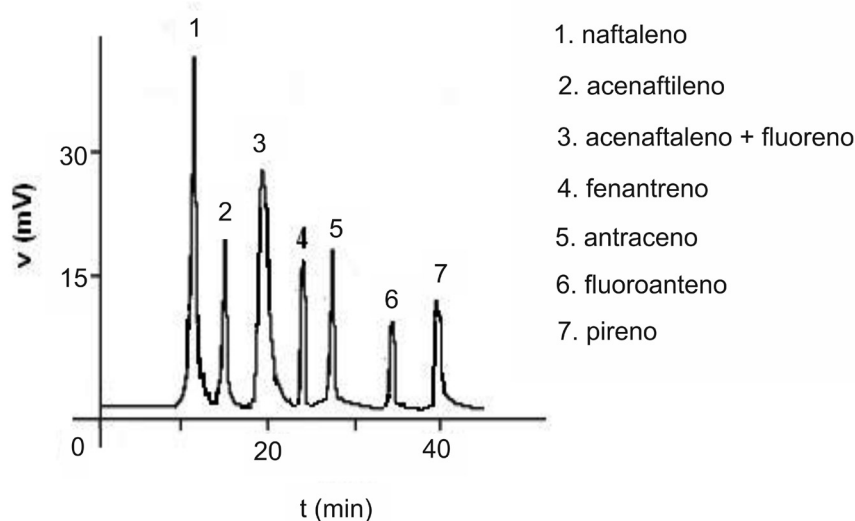


Fig. 1. Cromatograma con la adición de patrones de naftaleno, fenantreno y antraceno.

aplicó la prueba de los coeficientes de variación de los factores de respuesta CV_f . Se obtuvo una adecuada linealidad en las respuestas analíticas para cada una de las curvas con valores de CV_f por debajo del 5%.²⁰ Se determinaron los parámetros de calidad del método entre los cuales se hallaban los límites de detección y cuantificación con el empleo del criterio de Kaiser.²¹ La determinación de los límites de detección y de cuantificación se realizó mediante 10 determinaciones independientes del área base de señales sobre un blanco de agua de calidad ultrapura a partir de lo cual se estimaron las desviaciones estándar.

La precisión del método de determinación de HAP en aguas se evaluó a partir de la repetibilidad para dos puntos de las curvas de calibración, uno en la zona alta y otro en la zona baja de las curvas, en los cuales se alcanzaron coeficientes de variación entre 1,8 y 5,3%. Estos resultados son adecuados para los métodos cromatográficos en los cuales el CV puede ser cercano al 2%. Para el estudio de repetibilidad en la determinación de analitos en muestras reales se utilizaron las

Tabla 1. Intervalo de concentraciones de cada HAP en las curvas de calibración.

HAP	Concentración (mg/L)	Ecuación de la curva	r
Naftaleno	1 - 12,5	$y = 5,221 x + 4,067$	0,997
Acenaftileno	2 - 12,5	$y = 6,004 x + 2,981$	0,999
Fenantreno	0,08 - 1	$y = 86,159 x - 3,109$	0,997
Antraceno	0,04 - 0,5	$y = 247,640 x - 3,081$	0,999
Fluoranteno	0,1 - 1,25	$y = 13,082 x + 2,596$	0,997
Pireno	0,2 - 2,5	$y = 18,300 x + 3,875$	0,999

muestras de agua del río Luyanó colectadas en el mismo momento y bajo las mismas condiciones de muestreo. Los coeficientes de variación obtenidos en este estudio están entre un 5,7 y un 11,2%. Sus valores resultaron aceptables, ya que para la determinación de analitos en muestras reales a niveles de trazas los coeficientes de variación reportados llegan a ser de hasta un 30%.^{4,11} La comparación de estos valores entre sí constata el hecho de la existencia de una diferencia estadísticamente significativa (prueba T de Student) en los coeficientes de variación de las pruebas realizadas en el río y en el agua potable, lo cual indica un probable efecto matriz de las aguas reales del río que puede ser debido a la presencia de sustancias que influyen en la concentración de los analitos determinados por formación de complejos con ellos, como los ácidos húmicos,⁹ dada la elevada concentración de materia orgánica en las aguas de los ríos muestreados a juzgar por sus valores correspondientes de la demanda bioquímica de oxígeno.²² Los estudios de veracidad del método se realizaron por duplicado a través de pruebas de añadido-recobrado en blancos de agua ultrapura y en muestras del río Almendares. Se obtuvieron recobrados entre 76 y 84% para todos los analitos en el caso del primer estudio y entre 72 y 78 para el estudio en muestras reales del río Almendares.

El volumen exacto de agua colectado en las muestras se midió *a posteriori* por marcado exterior de los frascos colectores de muestra y su determinación posterior con material volumétrico para evitar pérdidas de analitos por adsorción sobre las paredes de vidrio de los recipientes de colección de muestras.²³

El adsorbente mixto empleado tuvo como objetivo realizar una limpieza previa de las muestras reales antes de su introducción a la columna cromatográfica analítica. El eluato correspondiente a la fracción de n-hexano/diclorometano seleccionada permitió la elución grupal selectiva de los HAP en las muestras de agua respectivas de los ríos.¹⁸

El proceso de extracción líquido-líquido ejecutado con la mezcla agua-acetonitrilo (3 : 10) (v/v) para las muestras disueltas en la mezcla de n-hexano-diclorometano tuvo el propósito de sustituir la preconcentración por evaporación de disolventes en corriente de nitrógeno o con el empleo de un evaporador rotatorio. Las pérdidas de analitos al ejecutar estos procedimientos fueron elevadas y en ocasiones totales, dadas por la relativamente elevada presión de vapor de los HAP ligeros. Los recobrados para la etapa de extracción líquido-líquido excedieron el 92% en todos los casos, lo que facilitó su empleo como parte del método, aspecto tenido en cuenta para el cálculo de incertidumbre en la determinación de cada analito.

Para el análisis y determinación de incertidumbre, se dividió el proceso analítico en bloques, se determinó la incertidumbre de cada bloque o paso y finalmente, se combinó para encontrar la incertidumbre total en sus partes fundamentales mediante la identificación, estimación y combinación de todas las fuentes de incertidumbre asociadas con el proceso de medición.¹⁷

$$A_{op} = \frac{I_{op} \cdot C_{ref} \cdot V_{op}}{I_{ref} \cdot Rec \cdot V_o}$$

donde:

A_o niveles de HAPs en agua [$\mu\text{g/L}$].

I_{op} intensidad del pico en las muestras reales [mm^2].

C_{ref} concentración másica del material de referencia [$\mu\text{g/L}$].

V_{op} volumen final del extracto de la muestra [L].

I_{ref} intensidad del pico en el material de referencia [mm^2].

Rec recobrado.

V_o volumen inicial de la muestra [L].

Fueron determinadas las principales fuentes de variabilidad para la realización del cálculo de la incertidumbre expandida (Fig. 2).

Los componentes individuales de incertidumbre estimados como incertidumbres estándares se combinaron según el principio de propagación de errores. Por último, se calculó la incertidumbre combinada expandida, obtenida mediante la multiplicación de la incertidumbre combinada estándar por el factor de incertidumbre k ($k = 2$).

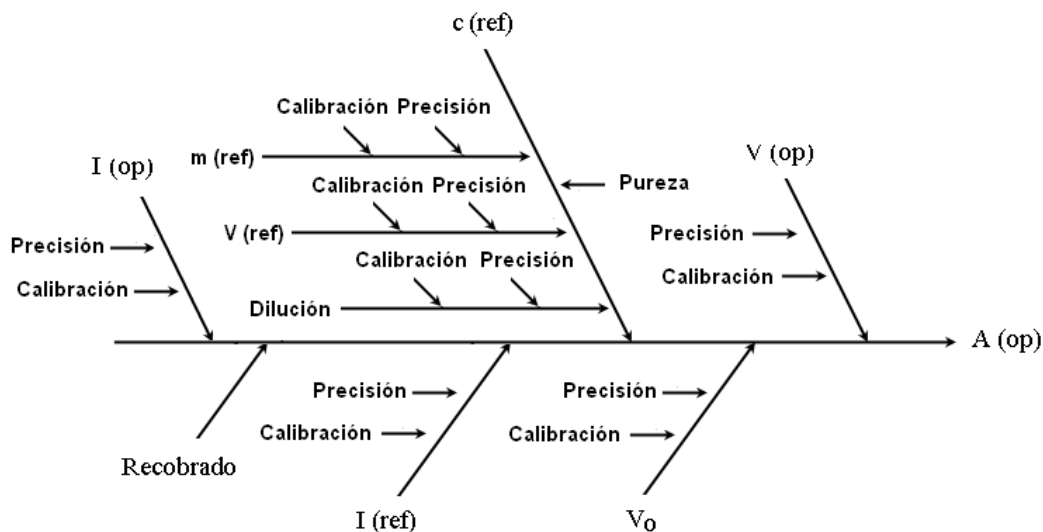


Fig. 2. Diagrama causa-efecto para el cálculo de incertidumbre.

La toma de muestras de agua en los ríos se efectuó en zonas cercanas a la desembocadura de estos, suficientemente alejadas de la influencia de las mareas para estos cursos de agua. Esto permitió contar con las determinaciones de caudal y otras características de los ríos en cuestión.^{22,24}

El análisis de las muestras reales evidenció la presencia en las aguas del río Luyanó de fenantreno, antraceno y pireno; y en las correspondientes al río Almendares se determinó acenaftileno, fenantreno y fluoranteno (Tabla 2). La elevada presencia relativa de fenantreno en las muestras indicó la posible naturaleza pirolítica del origen de esta contaminación por presentar esta sustancia una estabilidad térmica superior al antraceno,² su par isomérico, no determinado en las muestras reales. El resultado que se obtuvo para las muestras de agua del río Almendares está en concordancia con un estudio hecho recientemente en sedimentos de este propio río mediante determinaciones por CG-MS y donde la determinación del origen pirolítico de la contaminación se evidenció por la relación de concentraciones del par antraceno - fenantreno.²⁵ La presencia mayoritaria de HAP ligeros en aguas de río concuerda con trabajos de otros autores.²⁶⁻²⁸

La sumatoria de las concentración es del grupo de HAP frecuentemente es empleada para la gestión de procesos tecnológicos o ambientales relacionados con estas sustancias.^{11,26,27} De esta manera, se puede referir que a partir de la presente determinación, el río Luyanó presentó una concentración total de HAP en las aguas del punto de muestreo igual a $20,18 \mu\text{g/L}$. El río Almendares por su parte; $49,5 \mu\text{g/L}$. Estos valores se encuentran en el intervalo que establecen en trabajos europeos^{11,27-29} como presentes en

Tabla 2. Niveles de contaminación por HAP en las matrices analizadas.

HAP	Río Luyanó Concentración	Río Almendares
Naftaleno	< LD	< LD
Acenaftileno	< LD	21 ± 4
Fenantreno	$0,09 \pm 0,01$	$2,5 \pm 0,2$
Antraceno	$0,09 \pm 0,04$	< LD
Fluorantreno	< LD	26 ± 3
Pireno	20 ± 5	< LD

El valor calculado de incertidumbre en la determinación de cada analito se reporta en esta tabla como medida de dispersión de los resultados.

residuos industriales o efluentes mezclados (1,21-94,9 $\mu\text{g/L}$), lo que se explica por el posible vertimiento de residuos sin tratar o el vertimiento de aceites lubricantes y otros productos del tratamiento térmico o de la destilación del petróleo a los ríos.

De acuerdo con los resultados obtenidos por otros autores,^{28,29} las concentraciones de HAP en cursos de aguas pueden considerarse estables en aguas de ríos si no existen cambios socioeconómicos mayores en su cauce como la incorporación de nuevas fuentes de vertimientos de origen industrial o doméstico, operaciones de dragado la incorporación de estaciones depuradoras a su curso que incluyan necesariamente métodos químicos o biológicos de tratamiento.

Si se considera que la concentración de estas sustancias es conservadora o sea, que no sufre alteraciones significativas desde el lugar de la toma de muestra hasta la desembocadura de ambos cursos de agua a los ecosistemas marinos correspondientes y se tienen en cuenta los caudales determinados para ambos ríos^{22,24} en esos mismos puntos (0,53 y 0,39 m^3/s , respectivamente), se puede afirmar que el aporte diario de cada río al mar es como promedio de 749,7 g y 1668 g de HAP, respectivamente, lo cual puede tener implicaciones de importancia para los ecosistemas costeros aun después de la dilución en las aguas marinas costeras o de la bahía de La Habana.^{26,27} Estas emisiones son mayores que las reportadas en otros trabajos a partir de ríos en los cuales funcionan de manera efectiva plantas de tratamiento de agua y en cuyos sistemas costeros han sido halladas concentraciones de HAP en agua que se encuentran en el intervalo de 246 a 1930 ng/L , reconocidas con preocupación por su posible efecto contaminante.

CONCLUSIONES

La adecuación de las condiciones analíticas para la determinación de HAP ligeros en aguas mediante la combinación de métodos de extracción sólido-líquido, líquido-líquido y la cromatografía líquida de alta resolución en régimen de elución isocrático y detección ultravioleta permitió contar con un método para la determinación veraz y precisa de estos analitos en aguas con un soporte instrumental simple, propio de sistemas de monitoreo caracterizados por su accesibilidad económica.

El análisis de la incertidumbre expandida de las determinaciones permitió considerar las fuentes principales de error en la metodología analítica empleada, así como la magnitud de la dispersión de los resultados expuestos. La metodología propuesta es adecuada para el análisis periódico del comportamiento de los niveles de concentración de los analitos estudiados en aguas por su estabilidad, simplicidad y por permitir la identificación y el control de las fuentes de error fundamentales que pueden tener influencia sobre los resultados analíticos. El nivel de incertidumbre para cada determinación se expresa como medida de su dispersión.

Se demostró la presencia de HAP ligeros en las muestras ambientales analizadas en intervalos de concentración propios de efluentes industriales (20,18 $\mu\text{g/L}$ en el río Luyanó y 49,5 $\mu\text{g/L}$ en el río Almendares) lo que indica la necesidad de mantener el control de los niveles de emisión de estas sustancias por parte de las fuentes respectivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Loening K, Merritt J. Polynuclear aromatic hydrocarbons. Measurements, means and metabolism. Columbus: Battelle Press, Ohio; 2000.
- Edwards N. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the terrestrial Environment. A Review J Environ Qual. 1983; 12:427-441.
- El-Shahawi MS, Hamza A, Bashammakh A, Al-Saggaf W. An overview on the accumulation, distribution, transformations, toxicity and analytical methods for the monitoring of persistent organic pollutants. Talanta. 2010; 80:1587-1597.
- Vera LE, Covarrubias R, Camacho E. Metodología en línea para la determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en aguas al nivel de ultratrazas. Revista Internacional de Contaminación Ambiental. 2002; 18(1):5-16.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1987; suppl 7:1-42.
- Carls M, Rice S, Hose J. Sensitivity of fish embryos to weathered crude oil: Part I. Low-level exposure during incubation causes malformations, genetic damage, and mortality in larval pacific herring (*Clupea pallasii*). Environmental Toxicology and Chemistry. 1999; 18:481-483.
- Dunier M, Siwick A. Effects of pesticides and other organic pollutants in the aquatic environment on immunity of fish. Fish & Shellfish Immunology. 1993; 3:423-438.
- Spier C, Bromage E, Harris T M, Unger M, Stephen L. The development and evaluation of monoclonal antibodies for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons. Analytical Biochemistry. 2009; 387: 287-293.
- Witt G, Liehr G, Borck D, Mayer P. Matrix solid-phase microextraction for measuring freely dissolved concentrations and chemical activities of PAHs in sediment cores from the western Baltic Sea. Chemosphere. 2009; 74: 522-529.
- Navarro A, Endo S, Gocht T, Barth JAC, Lacorte S, Barcelo D, et al. Sorption of alkylphenols on Ebro River sediments: comparing isotherms with field observations in river water and sediments. Environ Pollut. 2009; 157: 698-703.
- Sánchez-Avila J, Bonnet J, Velasco G, Lacorte S. Determination and occurrence of phthalates, alkylphenols, bisphenol A, PBDEs, PCBs and PAHs in an industrial sewage grid discharging to a Municipal Wastewater Treatment Plant. Science of the Total Environment. 2009; 407: 4157-4167.
- Collins J, Brown J, Alexeeff G, Salmon A. Potency Equivalency Factors for Some Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 1998; 28: 45-54.
- Fladung NC. Optimization of automated solid phase extraction for quantitation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous media by high performance liquid chromatography UV detection. Journal Chromatogr. 1995; 692(A):21-26.
- Kiss G, Varga Z, Hlavay J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in precipitation using solidphase extraction and column liquid chromatography. Journal Chromatogr. 1996; 725(A):261-272.
- Camino-Sánchez FJ, Zafra-Gómez A, Pérez-Trujillo JP, Conde-González JE, Marques JC. Validation of a GC-MS/MS method for simultaneous determination of 86 persistent organic pollutants in marine sediments by pressurized liquid extraction followed by stir bar sorptive extraction. Chemosphere. 2011; 84: 869-881.
- Alberro N, Bedregal P, Crubellati, Stegen S. Manual de protocolos armonizados y evaluados para la toma de muestra y el análisis de agua y sedimentos para la región de América Latina y el Caribe. Lima, Perú: Litho and Arte SAC; 2011.
- Ellison SLR, Rosslein M, Williams A. Eurachem / Citac Guide Cg 4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement 2000.

18. Zhang S, Zhang Q, Darisaw S, Ehie O, Wang G. Simultaneous quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Mississippi river water, in New Orleans, Louisiana, USA. *Chemosphere*. 2007; 66:1057-069.
19. Schoenmakers PJ. Optimization of Chromatographic Selectivity. Chapter 4. Optimization Criteria. The Netherlands: Elsevier Science Publications; 1989:p.152-154.
20. ISO 8466-1:1990: Water quality. Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics. Statistical evaluation of the linear calibration function.
21. Quattrocchi OA, Laba RE. Introducción a la HPLC en aplicación y práctica. Buenos Aires: Ed. Artes Gráficas Farro SA; 1992: p.106-122.
22. Valcárcel L, Borroto J, Alberro N, Griffith J, Derivet M, Flores P, Cuesta J, Rodríguez M, Herrero Z, Rodríguez A, Domínguez J. Modelación de la calidad del agua en el segmento medio del río Luyanó. *Nucleus*. 2010; 47: 16-23.
23. Valdés M. Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) ligeros por cromatografía líquida de alta resolución en aguas. [Tesis presentada en opción del título de licenciado en Radioquímica]. La Habana; Instituto Superior de Tecnologías y Ciencias Aplicadas; julio; 2011.
24. Domínguez J, Borroto J, Pérez E, Hernández A. Use of $^{99m}\text{TcO}_4^-$ and Rhodamine as tracers and the mathematical convolution procedure to establish the alarm model in the Almendares River. *J Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2004; 260: 417-420.
25. Peña Torres L. Determinación de los contenidos de plaguicidas orgánicos persistentes e hidrocarburos aromáticos policíclicos en los sedimentos del río Almendares. [Tesis presentada en opción del título de Máster en Ciencias Químicas]. La Habana, Universidad de La Habana; enero; 2012.
26. Pérez-Carrera E, León VML, Parra AG, González-Mazo E. Simultaneous determination of pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in seawater and interstitial marine water samples, using stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2007; 1170:82-90.
27. Prieto A, Zuloaga O, Usobiaga A, Etxebarria N, Fernández L. Development of a stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry method for the simultaneous determination of several persistent organic pollutants in water samples. *J Chromatogr A*. 2007; 1174:40-9.
28. Vogelsang C, Grung M, Jantsch TG, Tollefsen KE, Liltved H. Occurrence and removal of selected organic micropollutants at mechanical, chemical and advanced wastewater treatment plants in Norway. *Water Res*. 2006; 40:3559-70.
29. Gómez-Gutiérrez A, Jover E, Bodineau L, Albaigés J, Bayona JM. Organic contaminant loads into the Western Mediterranean Sea: estimate of Ebro River inputs. *Chemosphere*. 2006; 65:224-36.