



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

"La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra"



**OXIDACIÓN DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS POLICÍCLICOS PRESENTES EN
LA LAGUNA DE MANDINGA APLICANDO LA
ENZIMA MANGANESO PEROXIDASA**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

LOURDES ANIMAS SERRANO

Director de tesis:

Dr. Eduardo Torres Ramírez

Octubre 2018



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA**

INSTITUTO DE CIENCIAS

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

“La Tierra no es de nosotros, nosotros somos de la Tierra”



**OXIDACIÓN DE HIDROCARBUROS
AROMÁTICOS POLICÍCLICOS PRESENTES EN
LA LAGUNA DE MANDINGA APLICANDO LA
ENZIMA MANGANESO PEROXIDASA**

TESIS

Que para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

Presenta

LOURDES ANIMAS SERRANO

Comité tutorial:

Director	Dr. Eduardo Torres Ramírez
Integrante Comité Tutorial	Dra. Sonia Emilia Silva Gómez
Integrante Comité Tutorial	Dr. Miguel Ángel Valera Pérez
Integrante Comité Tutorial	M.C Constantino Gil Juárez

Diciembre 2018



BUAP

C. LOURDES ANIMAS SERRANO

Por este conducto me permito comunicarle que los miembros del jurado integrado por:

<i>Dra. Cristina Torres Duarte</i>	<i>Presidente</i>
<i>Dra. Anabella Handal Silva</i>	<i>Secretario</i>
<i>Dra. Amparo Mauricio Gutiérrez</i>	<i>1er. Vocal</i>
<i>Dr. Alejandro Isaías A. Alonso Calderón</i>	<i>2do. Vocal</i>
<i>Dra. Elsa I. Castañeda Roldán</i>	<i>Suplente</i>

Designado para la defensa de su tesis "Oxidación de hidrocarburos aromáticos Policíclicos presentes en la laguna de Mandinga aplicando la enzima manganoso peroxidasa" han manifestado mediante su voto que ésta cumple con los méritos suficientes para ser defendida como tesis de grado de Maestría en Ciencias Ambientales, por lo que este Posgrado le autoriza la impresión de la misma.

Sin otro asunto en lo particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE

"PENSAR BIEN, PARA VIVIR MEJOR"

H. PUEBLA DE Z; NOVIEMBRE 30 DE 2018.

E. Torres R.
DR. EDUARDO TORRES RAMÍREZ
COORDINADOR



ETR/app
c.c.p. Archivo
c.c.p. Minitario

Posgrado en Ciencias Ambientales
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio IC6,
Ciudad Universitaria,
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00 Ext. 7056

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, al Posgrado de Ciencias Ambientales y al Instituto de Ciencias (ICUAP) por el apoyo otorgado durante mis estudios de Posgrado y para la realización de este proyecto.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada, para la realización de este proyecto.

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrado para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad, establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2017-2021.

Agradezco al Laboratorio Bodega Marine Laboratory de la Universidad de California DAVIS por el apoyo brindado durante mi estancia para elaborar el análisis toxicológico de este proyecto.

Agradezco al Dr. Eduardo Torres Ramírez por el apoyo brindado durante esta investigación.

Agradezco a mi comité tutorial por el apoyo brindado para la realización de esta investigación.

Agradezco a la Dra. Anabella Handal Silva por su paciencia, disposición y por todas sus enseñanzas en este proyecto; por el tiempo brindado y por la atención que siempre ha tenido conmigo.

Agradezco a la Dr. Cristina Torres Duarte por todo el apoyo académico y personal que me brindó sin conocerme, por compartir conmigo sus experiencias y por hacer mucho más fácil mi estancia en Bodega Bay.

Agradezco a todos los amigos que hice durante estos dos años de aprendizaje, en el laboratorio, en el aula de posgrado, en cursos, y a los que conocí por suerte. Hicieron que este periodo en la universidad fuera una experiencia muy grata y divertida.

Dedicatorias.

Quiero agradecer con mucho cariño a mi familia y amigos que siempre están conmigo.

Dedico este esfuerzo a mis padres y mi familia que siempre me apoyan y me dan buenos consejos, que me dejan ser libre y construirme cada día.

Mamita gracias por entenderme y estar junto a mi siempre, por llamarme a diario en los días difíciles, y por aguantar mi genio.

Papito gracias por todos los consejos que sin darte cuenta siempre me das, por impulsarme a hacer bien las cosas y reconocer mis logros.

A mi flaca, mi hemanita changuita bonita, quién me jala las orejas y me hace rabiarse. Te amo Vero, sabes que eres el engranaje de este motorcito.

Con mucho cariño también a mi madrina Coco, quién siempre ha estado conmigo de una u otra forma apoyandome, siempre pendiente de nosotras, gracias por todo Tía.

A toda mi familia, mis abuelitos, mis tías, mis tíos, mis primas, mis primos y a mis sobrinos.

A la familia Flores-Meza por despertar en mi la curiosidad e impulsarme a perder el miedo, gracias por las pláticas y el apoyo de siempre.

A Marco por brindarme todo su apoyo siempre y por los momentos compartidos.

A Oscar, por tanto rock y amistad sincera.

A Beto por ser mi amigo por tantos años, su apoyo y por todas las experiencias.

A Samy, Maguito y Danae por tantos años de amistad loca, por ser tan chidas y por crecer juntas.

A Daniel, Eric, Eduardo, Erika, Itzel, Aline, Gaby, Karen, Selene, José Luis, Rodrigo y Juan, porque me tuvieron paciencia y siempre me ayudaron.

A todos mis demás amigos, todos han aportado algo a mi vida.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.	8
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	9
ABREVIATURAS.	10
1. INTRODUCCIÓN	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	15
3. JUSTIFICACIÓN	18
4. ANTECEDENTES.....	20
4.1 El agua en la ecosfera.....	20
4.2 Ecosistemas marinos y costeros de México.....	21
4.3 Lagunas costeras.....	24
4.4 Laguna de Mandinga.....	28
4.5 Problemática ambiental de la Laguna de Mandinga	33
4.6 Contaminantes Orgánicos Persistentes.....	41
4.7 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.....	43
4.8 Estructura legal sobre HAPS.....	54
4.9 Biocatálisis Ambiental	56
5. FORMULACIÓN DE LAS PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	64
6. HIPÓTESIS.....	64
7. OBJETIVO.....	65
7.1 Objetivo General.....	65
7.2 Objetivos Específicos.....	65
8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	65
8.1 Localización.....	65
8.2 Fase de campo.....	66
8.2.1 Establecimiento del experimento	66
8.2.2 Muestreos de campo.....	67
8.3 Fase de laboratorio.....	67
8.3.1 Establecimiento del experimento.....	67
8.3.2 Análisis del agua de la Laguna de Mandinga.....	69
8.3.3 Pruebas de oxidación enzimática de HAPS.....	71
8.3.4 Pruebas toxicológicas.....	76
9. RESULTADOS.....	81
9.1 Análisis del agua de la Laguna de Mandinga.....	81
9.2 Pruebas de oxidación enzimática de HAPS.....	86
9.3 Pruebas toxicológicas.....	99
10. CONCLUSIONES.....	104
11. REFERENCIAS.....	105

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Servicios Ecosistémicos que brindan los ecosistemas lagunares costeros (Landers y Nahlik, 2013)..	26
Tabla 2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos denominados contaminantes prioritarios por la EPA (Pubchem, 2017).....	44
Tabla 3. Sitios contaminados por HAPs en México.	49
Tabla 4. Aplicaciones ambientales de las peroxidasas (Husain y col., 2008).	63
Tabla 5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos denominados contaminantes prioritarios por la EPA (Elaboración propia, 2017).	68
Tabla 6. Kits utilizados en la caracterización de las muestras de agua de la Laguna de Mandinga.	70
Tabla 7. Diseño Factorial Completo 2^3 para el estudio de la transformación biocatalítica de Pireno.	73
Tabla 8. Morfologías más comunes en embriones de “Lytechinus pictus” expuestos a HAPs (Pillai, Vines, Wikramanayake, y Cherr, 2003).	79
Tabla 9. Resultados del análisis fisicoquímico del agua de la Laguna de Mandinga con relación a diferentes normas vigentes y aplicables.	83
Tabla 10. Oxidación del pireno por la manganeso peroxidasa en ensayos preliminares.	87
Tabla 11. Aplicación del Diseño Factorial Completo 2^3 para optimizar las condiciones de oxidación del pireno por la enzima manganeso peroxidasa.	88
Tabla 12. Análisis de Varianza del Diseño Factorial Completo 2^3	89
Tabla 13. Cambios de Temperatura de reacción en la oxidación enzimática de la mezcla de HAPs en sistemas modelo.	95
Tabla 14. Conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en el sistema modelo de reacción.	97
Tabla 15. Conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en muestras de agua de la Laguna de Mandinga.	99
Tabla 16. Concentración media efectiva (CE_{50}) y bondad de ajuste (R^2) de las curvas dosis-respuesta del antraceno, fenantreno y pireno (HAPs) durante el desarrollo embrionario de erizos de mar (Lytechinus pictus) en dos tiempos distintos de inicio de exposición (post-fertilización y post-eclosión).....	101
Tabla 17. Porcentaje de desarrollo normal de los embriones de erizo de mar (Lytechinus pictus) expuestos a HAPs sin transformar y a HAPs tratados enzimáticamente con manganeso peroxidasa.	102
Tabla 18. Efecto morfológico en el desarrollo embrionario del erizo de mar (Lytechinus pictus) expuestos a HAPs sin transformar y a HAPs tratados enzimáticamente con manganeso peroxidasa.	103

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Fotografía aérea panorámica de Manglares de Mandinga, Veracruz. CONABIO – SEMAR (Acosta, 2013).....	30
Figura 2. Ubicación del Sistema Lagunar de Mandinga (Elaboración propia).	31
Figura 3. Distribución de manglar en la Laguna de Mandinga, CONABIO (Lara y col., 2009).	33
Figura 4. Problemática Ambiental en el ecosistema “Laguna de Mandinga” (Elaboración propia, 2018)	38
Figura 5. (a) Ilustración del sitio activo de una enzima y estructura tridimensional (b). (Elaboración propia, 2016).....	57
Figura 6. Aplicación de biocatalizadores en diversos sectores económicos	59
Figura 7. Localización del sitio de muestreo (Elaboración propia,2017).	66
Figura 8. Diseño de la estrategia experimental (Elaboración propia,2017).	67
Figura 9. Desarrollo experimental para evaluar la toxicidad de HAPs y sus productos de transformación enzimática durante el desarrollo embrionario del erizo de mar “Lytechinus pictus”	76
Figura 10. Morfología del erizo de mar (Elaboración propia, 2018).	78
Figura 11. Puntos de muestreo en la Laguna de Mandinga (Elaboración propia, 2017).	82
Figura 12. Cromatograma de los 15 HAPs analizados por el Método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons.	85
Figura 13. Cromatograma de HAPs en muestra de agua de la Laguna de Mandinga contra cromatograma de estándares de los 15 HAPs.....	86
Figura 14. Gráficas de efectos principales (a) y de interacción (b) para la Conversión de HAPs por la manganeso peroxidasa.	90
Figura 15. Espectro de fluorescencia de la mezcla de HAPs antes y después del tratamiento biocatalítico. ...	94
Figura 16. Cromatograma de oxidación catalítica de Antraceno por manganeso peroxidasa	96
Figura 17. Curvas dosis-respuesta del antraceno, fenantreno y pireno (HAPs) durante el desarrollo embrionario de erizos de mar (Lytechinus pictus) en dos tiempos distintos de inicio de exposición: post-fertilización (A) y post-eclosión (B).	100

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Velocidad de reacción de la enzima manganeso peroxidasa a diferentes pH en sistemas modelos de reacción (Elaboración propia, 2018).....	92
Gráfica 2. Velocidad relativa de reacción de la enzima manganeso peroxidasa a diferentes Temperaturas en sistemas modelos de reacción (Elaboración propia, 2018).	93

ABREVIATURAS.

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AMF: Agua de mar filtrada

ATSDR: Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades

BPC: Bifenilos policlorados

B[a]P: Benzo(a)pireno

CEMDA: Centro Mexicano de Derecho Ambiental, A.C.

CE50: Concentración media efectiva

COANBIO: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad

COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

CONAGUA: Comisión Nacional del Agua

COPs: Contaminantes Orgánicos Persistentes

DBO: Demanda biológica de oxígeno

Delta-HCH: delta-hexaclorociclohexano

DOF: Diario Oficial de la Federación

DQO: Demanda química de oxígeno

DyP: Peroxidasa decolorante de pigmento

ELISA: Enzima ligada a ensayos de inmunoabsorción

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

GC/MS: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa

HAPs: Hidrocarburos aromáticos policíclicos

HPLC: Cromatografía de líquidos de alta resolución

HRP: Peroxidasa de rábano picante

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

Lac: Lacasa

LC: Cromatografía líquida

LiP: Lignina peroxidasa

MnP: Manganese peroxidasa

NMP: Número más probable

NOM: Norma Oficial Mexicana

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

ODS6: Objetivo de Desarrollo 6

ODS14: Objetivo de Desarrollo 14

ONU: Organización de las Naciones Unidas

PEMEX: Petróleos Mexicanos

PCF: Pentaclorofenol

PNUD: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo

ppb: Partes por billón

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

SEDESOL: Secretaría de Desarrollo Social

SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SEPESCA: Secretaría de Pesca y Acuicultura

TNT: Trinitrofurano

UE: Unidades de Enzima

USEPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

1. INTRODUCCIÓN

Los océanos y mares son ecosistemas acuáticos muy importantes debido a su tamaño, su influencia en el clima global y su papel en la economía humana. Los ecosistemas costeros y marinos son un bien común natural que se han convertido en un factor del crecimiento socioeconómico en relación con las actividades pesqueras, el desarrollo turístico, la extracción de minerales e hidrocarburos, entre otras. La industria pesquera posee una gran importancia a escala global debido a que genera múltiples beneficios como puestos de trabajo, fuente de alimentos altos en proteína, fuente de medicamentos, etc. La acuicultura actualmente crece con mayor rapidez que todos los demás sectores de producción de alimentos de origen animal. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) más de la mitad de la producción acuícola mundial que supone unos 73 millones de toneladas, se obtiene en aguas costeras marinas o salobres. En México la pesca es un sector muy relevante en la microeconomía, según el INEGI en el país hay alrededor de 300 000 pescadores de profesión, pero si se consideran empleos indirectos y las familias de estos empleados, se estima que alrededor de 12 millones de mexicanos están directa o indirectamente ligados a las actividades del sector pesquero.

Las lagunas costeras se encuentran entre los ecosistemas más productivos del planeta dado al intercambio de agua dulce y de mar que se efectúa en estos sistemas, esta transición e influencia de materia y energía estimula altos niveles de producción primaria y amplía el espectro de refugios y hábitats, lo que promueve la proliferación de comunidades de organismos y proporciona una amplia gama de servicios ecosistémicos y recursos. El aumento en la población humana y la concentración demográfica en lagunas costeras ha llevado a la explotación de los recursos costeros y de sus hábitats. La mala planificación del desarrollo industrial, la agricultura a gran escala y la alta densidad poblacional generan vertimientos de desechos químicos, aguas residuales domésticas, plásticos, nutrientes, sedimentos, residuos sólidos, microorganismos patógenos, metales pesados, y más contaminantes en las lagunas costeras, donde, debido a sus características

morfológicas, geológicas e hidrológicas los efectos son más graves. Estos contaminantes al acumularse en los sedimentos de los cuerpos de agua son ingeridos por pequeños organismos marinos, por lo que se introducen a la cadena alimentaria global. Los ecosistemas tienen una capacidad natural de absorción y autolimpieza, no obstante, si se sobrepasa su capacidad, se reduce la calidad del agua, la biodiversidad es afectada, los medios de subsistencia disminuyen y las fuentes naturales de alimento se deterioran.

Entre los contaminantes de las lagunas costeras originados por las actividades humanas se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), que por sus propiedades fisicoquímicas resisten la degradación fotoquímica, química y bioquímica en el ambiente, motivo por el cual persisten en los diferentes compartimientos ambientales. Los HAPs pueden ser de origen natural, aunque la gran mayoría son de origen antropogénico; son además bioacumulables, tóxicos y son propensos al transporte atmosférico e hídrico de largo alcance. Actualmente el tratamiento de estos compuestos empleando métodos convencionales (químicos, fisicoquímicos y biológicos) resulta no del todo satisfactorio, ya que los HAPs persisten aún después de aplicar tratamientos secundarios y/o terciarios en plantas de tratamiento de agua, por lo que se requiere el desarrollo de métodos especiales para removerlos. Debido a esto es importante identificar y evaluar la eficiencia de otras tecnologías para el tratamiento del agua, con el fin de proponer alternativas que permitan minimizar la presencia de HAPs a bajo costo económico, energético y ambiental, es decir, es necesario desarrollar e implementar tecnologías sustentables en el tratamiento de estos contaminantes.

Entre las tecnologías sustentables potenciales de aplicación se encuentran los procesos de oxidación avanzada como la fotodegradación, la electrodegradación y procesos biológicos como la biocatálisis ambiental. La biocatálisis ambiental es la aplicación de enzimas o biocatalizadores para la transformación de sustancias contaminantes, con el fin de lograr la reducción o eliminación del impacto ambiental de dichas sustancias. Se ha demostrado que la oxidación biocatalítica de contaminantes persistentes como los HAPs ha dado como resultado una

disminución notable de la toxicidad de estos compuestos, así como un aumento en la biodegradabilidad. Dada las condiciones de trabajo amigables con el ambiente, la biocatálisis ambiental representa una alternativa potencialmente atractiva para la eliminación de HAPs en los ecosistemas costeros.

El presente trabajo consistió fundamentalmente en una investigación realista (experimental) y constructivista (elucidar la compleja problemática asociada a la contaminación por HAPs en lagunas costeras), que tuvo como objetivo evaluar la capacidad oxidativa de la enzima manganeso peroxidasa (MnP) en la transformación de los HAPs, en muestras de agua de la Laguna Costera Mandinga, ubicada en el estado de Veracruz. Esta laguna comprende los municipios de Alvarado, Medellín y Boca del Río, se comunica con la cuenca del Río Jamapa y Cotaxtla, la cual tiene una correspondencia del 12% con el estado de Puebla; estos ríos tienen un patrón de escurrimiento sobre la laguna por los alineamientos físicos, lo que promueve la captación del agua de las cuencas hídricas. Los principales impactos ambientales registrados en la Laguna de Mandinga provienen del cambio de uso de suelo, el desarrollo urbano, las alteraciones del flujo hidrológico y la producción y exploración petrolera cercanas a la zona costera, lo que ha provocado entre otras cosas, la contaminación de aguas y sedimentos por HAPs.

Para elaborar esta investigación se documentaron las fuentes de contaminación relacionadas a las actividades socioeconómicas de la zona, se identificaron los efectos o impactos ambientales reportados en la laguna, se analizaron fisicoquímicamente muestras de agua de la laguna, se realizaron pruebas de oxidación enzimática de HAPs en muestras de agua de la laguna y finalmente se efectuaron pruebas toxicológicas de los HAPs y de sus productos de oxidación enzimática en el erizo de mar (*Lytechinus pictus*) utilizado como bioindicador. Por lo anteriormente señalado, se presenta un panorama de la problemática ambiental asociada a los HAPs en la Laguna de Mandinga.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El interés del hombre sobre los ecosistemas costeros como fuente de alimentos y recursos, como zonas para desarrollar actividades recreativas y de transporte ha incrementado la concentración poblacional y de industrias en las zonas costeras, este desarrollo ha tenido como consecuencia el incremento de la degradación de estos ecosistemas. México cuenta con una zona económica exclusiva de 3,144,793 km² y 12,500 km² lagunas costeras y esteros, por lo tanto, la actividad pesquera en nuestro país tiene un alto valor económico, social y alimentario (INEGI, 2009). Alrededor de 270 mil personas dependen de la pesca y la producción pesquera es altamente diversa, incluyendo cientos de especies de peces, crustáceos, moluscos, equinodermos y hasta algas (INEGI, 2009). Por otro lado, la actividad turística en México es de especial importancia como motor del desarrollo regional, así como instrumento de captación de divisas y generación de empleos (SAGARPA, 2014). Adicionalmente, las actividades agrícolas, ganaderas e industriales como la extracción y el refinamiento del petróleo han contribuido en el desarrollo social y económico de zonas costeras (Padilla y Sotelo, 2000). Sin embargo, a pesar de su impacto favorable en el ámbito económico, estas actividades tienen también efectos desfavorables de tipo social, cultural, económico y ambiental. Los ecosistemas costeros influenciados por actividades económicas resultan en la contaminación y pérdida de los hábitats, debido a que el desarrollo del sector se conduce con prácticas que distan mucho de la sustentabilidad y la ordenación integrada (Pampanin y Sydnés, 2013; Martínez y col., 2009; Caddy y Griffiths, 1996).

Entre los compuestos contaminantes que son constantemente dispersados en el ambiente se encuentran los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAPs) de los cuales los más abundantes y frecuentes son los de origen petrogénico y pirogénico. En nuestro país, la principal producción de hidrocarburos se realiza en la zona marina del Golfo de México donde actualmente se cuenta con dos regiones marinas de producción de crudo: la Región marina noroeste y la Región marina sureste,

donde se obtuvieron 1,303.6 y 592.9 miles de barriles de crudo diarios respectivamente en el 2012 (PEMEX, 2014). En la parte del litoral del Golfo de México, también se realiza una intensa explotación de hidrocarburos en dos regiones, la Región Sur y la Región Norte, que abarcan los estados de Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y Campeche, en estas zonas se obtuvieron 480.8 y 144.9 miles de barriles diarios de crudo respectivamente (PEMEX, 2014).

Las actividades de producción de petróleo en esta región han provocado serios problemas de contaminación tanto en los sitios de extracción como en los sistemas estuarinos conectados con ellos. De acuerdo con Botello (2011), las concentraciones de hidrocarburos en las regiones lagunares del Estado de Veracruz superan las 18 ppm. En general, el daño biológico del petróleo o sus componentes es mucho más severo si este se presenta en una zona costera o un ambiente estuarino, siendo las zonas intermareales las más afectada debido a que en estas áreas hay una mayor biodiversidad y abundancia de especies, así como la presencia de estadios juveniles de muchas especies oceánicas (Botello y col., 1996). Además de que estos organismos (peces, crustáceos, moluscos, etc.) son capaces de bioacumular sustancias tóxicas, y en ocasiones los procesos metabólicos magnifican los efectos dichas sustancias en los organismos, todo esto puede producir daños severos en la salud de los consumidores de estos alimentos.

Veracruz cuenta con una extensión de 71 820 km², el 3.7% del territorio nacional y 745 km de litorales, lo que representa el 6.42% del total nacional. Su producción pesquera en el 2011 fue de 79,268 peso vivo en toneladas, ocupando el quinto lugar a nivel nacional (SAGARPA, 2011). La Laguna de Mandinga es un ecosistema costero ubicado en el estado de Veracruz, esta zona se considera hábitat para la alimentación, refugio, reproducción y anidación de diversas especies; está caracterizada como Sitio de Manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica según la CONABIO (2009). Los principales problemas de contaminación en esta laguna son debido a las descargas de aguas residuales, el cambio de uso de suelo, la producción y exploración petrolera cercanas a la zona

costera y la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos, metales pesados, plaguicidas y otros contaminantes orgánicos persistentes (Paniagua y col., 2018). En el 2001, Botello documentó la concentración, caracterización y distribución de HAPs en sedimentos de diferentes lagunas costeras del estado de Veracruz, entre ellas la Laguna de Mandinga con 10 estaciones de mediciones, la cual fue la laguna con mayor concentración de HAPs (2.2 a 18.2 ppm) de todas las lagunas evaluadas. Guzmán y col., (2009) determinaron concentraciones de metales pesados (Cr, Cd y Pb) en agua, suelo y tejido de ostras de *Crassostrea virginica* frescas y desintoxicadas. Él estudió reportó la presencia de los metales en agua y sedimentos, aunque sus concentraciones estaban dentro de los límites legales mexicanos; sin embargo, los niveles de metales detectados en las ostras excedieron los límites máximos permisibles para Cd y Pb, y las ostras no pudieron eliminar las concentraciones de los metales bioacumulados durante la etapa de desintoxicación. El 47% de las ostras presentaron lesiones histopatológicas relacionadas con concentraciones de metales pesados. Respecto a la contaminación por plaguicidas, Aragón y col. (2017), reportaron la presencia de lindado y endosulfan en ostras de los bancos ostrícolas de la Laguna de Mandinga en concentraciones de hasta 8.69 ± 5.15 ng/g y de 24.68 ± 1.20 ng/g respectivamente. Asimismo, Lango y col. (2013), realizaron análisis en diferentes organismos bentónicos de 6 lagunas ubicadas a lo largo del Golfo de México, entre los hallazgos reportados, las concentraciones promedio más altas de pesticidas organoclorados (por ejemplo, delta-hexaclorociclohexano (delta-HCH), con una concentración promedio de 1466.65 ± 8.29 ng/g), fueron las obtenidas de las muestras de ostras recolectadas de la Laguna de Mandinga, evidenciando así un problema de contaminación y riesgo para la salud pública.

Estudios realizados en la Laguna de Mandinga revelan la presencia de diferentes patógenos en productos acuícolas del sistema lagunar, los cuales pueden estar asociados a la transmisión de bacterias patógenas y representan un riesgo potencial de enfermedades gastrointestinales. Reyes y col., (2010) determinaron las concentraciones de *Vibrio parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* en ostras *Crassostrea virginica* en la Laguna de Mandinga a través de una caracterización bioquímica de

las colonias encontradas, cuyos valores fueron de 3 a 150 NMP/g (número más probable/gramo). Por otro lado, López y col., (2015) evaluaron la densidad estacional de *Vibrio cholerae* (non-O1/non-O139 ompW y patógenos ctxA y chxA) en ostras americanas (*Crassostrea virginica*) de la Laguna de Mandinga, las densidades medias más altas de *V. cholerae* non-O1/non-O139 ompWp / chxAp fueron observadas durante el verano (11.53/2.29 MPN/g) y otoño (97.76/5.19MPN/g), esta variación estacional indica que los patógenos fueron distribuidos de manera desigual durante el ciclo anual y que tuvieron una rápida rotación en la población. Estos hallazgos proporcionan una perspectiva de la importancia de implementar medidas preventivas y correctivas que permitan mejorar la calidad del agua de la Laguna de Mandinga y así proteger la salud de los consumidores de los productos cultivados en la laguna.

Es por todo lo anterior, que es importante estudiar la contaminación del agua de la Laguna de Mandinga, así como desarrollar tecnologías sustentables que permitan minimizar los impactos ambientales que afectan a la laguna y que han sido provocados por las diversas actividades antropogénicas que se desarrollan alrededor de la zona donde se encuentra ubicada la laguna.

3. JUSTIFICACIÓN

En este trabajo se plantea articular los diferentes conocimientos necesarios para el estudio de la contaminación de lagunas costeras, ya que México posee extensas áreas de estos sistemas en el Pacífico, el Golfo de México y el Caribe, y son de gran importancia en su patrimonio natural, ecológico, cultural y económico. Para ello, se propuso estudiar un sistema costero con influencia de la industria petrolera como modelo de estudio, la Laguna de Mandinga ubicada en el Estado de Veracruz, donde los principales impactos ambientales registrados provienen del cambio de uso de suelo, el desarrollo urbano, las alteraciones del flujo hidrológico y la producción y exploración petrolera cercanas a la zona costera (Paniagua y col., 2018; Lara y col., 2009; López y col., 2012). En esta investigación se propone

documentar la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos y desarrollar una herramienta tecnológica sustentable que contribuyan al tratamiento de la contaminación por HAPs en lagunas costeras.

Las tecnologías sustentables para el tratamiento de contaminantes persistentes juegan un papel primordial en la recuperación de los ecosistemas al proponer métodos y herramientas amigables con el ambiente. Estas tecnologías se distinguen de los métodos convencionales de tratamiento por no producir residuos secundarios como lodos de desecho, por no utilizar químicos agresivos y por no demandar cantidades elevadas de energía; además pueden resultar altamente eficientes en la transformación de sustancias tóxicas y así disminuir las alteraciones que estas sustancias inducen en los organismos.

La biocatálisis ambiental es una herramienta potencialmente aplicable que se puede definir como la aplicación de enzimas para la transformación o degradación de compuestos contaminantes con el fin de lograr la reducción o eliminación de la toxicidad y aumentar la biodegradabilidad de los compuestos contaminantes. Por lo tanto, puede formar parte de procesos limpios y eficientes para la prevención, control y remediación de la contaminación de lagunas costeras contaminadas por HAPs. El empleo del biocatalizador o enzima manganeso peroxidasa en la oxidación de contaminantes persistentes ha sido reportado como prometedor dada las altas velocidades de transformación, las altas conversiones, las suaves condiciones de reacción empleadas, y la capacidad versátil de la enzima de transformar una amplia variedad de compuestos tóxicos hacia compuestos más biodegradables y menos tóxicos. Lo cual, coloca a la biocatálisis ambiental como una tecnología ambientalmente atractiva para la eliminación de contaminantes orgánicos en sistemas acuosos.

Realizar este trabajo permitirá cierto beneficio social, ya que contribuirá en el tratamiento de la contaminación por HAPs en lagunas costeras. Eventualmente, al mejorar la calidad del agua de la laguna mediante el tratamiento biocatalítico, el funcionamiento ecológico se vería mejorado y por consecuencia mejoraría la salud

de los organismos de importancia comercial y así disminuiría el riesgo a la salud de los consumidores. Así mismo al promover la conservación y restauración de los hábitats y la biodiversidad de estos ecosistemas, permitirá mantener la calidad de los servicios ecosistémicos del sistema lagunar.

4. ANTECEDENTES

4.1 El agua en la ecosfera.

El agua es el líquido más abundante de la Tierra, el 70 % de la superficie terrestre está cubierta por los océanos. El agua existió en nuestro planeta mucho antes que cualquier forma de vida y debido a que la vida evolucionó en el agua, esta sustancia ejerce una gran influencia sobre la mayoría de procesos bioquímicos y fisiológicos que están involucrados en los organismos vivos.

El agua es un recurso esencial de los ecosistemas naturales del que están compuestos los mares, lagos, ríos, manantiales, lagunas y más. Se encuentra naturalmente en forma de vapor, líquido y sólido, y se mantiene en constante movimiento en los diferentes reservorios terrestres. El sol hace que el agua se evapore desplazándola hacia la atmósfera, una vez ahí, bajo la influencia de ciertos cambios en la temperatura y presión, la humedad se condensa y vuelve a la tierra en forma de lluvia, granizo, aguanieve o nieve en diferentes ubicaciones geográficas, en donde, las áreas costeras reciben la mayor cantidad de agua. Los bosques y selvas también tienen un papel importante en la regulación de los flujos de humedad atmosférica sobre las zonas terrestres ya que promueven la evapotranspiración y las pautas de precipitación. Este circuito es la forma de distribución del agua entre las distintas superficies terrestres, necesario para el sostenimiento de los ecosistemas (Ciclo hidrológico global).

Un recurso ecológico, estratégico y necesario para el ejercicio de la mayoría de las actividades humanas es el agua. Debido a su importancia en las ciencias de la vida,

la industria química, la agricultura y otras actividades socioeconómicas, ha influido inestimablemente en la vida humana y en los ecosistemas. Las complejas interrelaciones de los fenómenos sociales asociados al agua se han constituido como un tema fundamental de análisis y debate transversal en múltiples disciplinas, tanto científicas, tecnológicas, sociales y ambientales (Ávila, 2008; CONAGUA, 2015; Damonte y Lynch, 2016; OCDE, 2016; Peña, 2016). En la ecología política el agua adquiere cada vez más importancia desde perspectivas culturalistas, ecológicas y políticas, desarrollando conceptos y marcos explicativos que dan cuenta de la interacción entre ambiente y sociedad en términos de distribución, acceso y control a los recursos ecológicos, los discursos, los conflictos y los sistemas políticos y de autoridad. Tal ha sido el trabajo, que entre los resultados podemos encontrar el Informe sobre Desarrollo Humano (PNUD, 2006) “Más allá de la escasez: poder, pobreza y crisis mundial hídrica”; y la agenda 2030 Objetivos de Desarrollo Sostenible “ODS6: Agua limpia y saneamiento” y “ODS14: Conservar y utilizar sosteniblemente los océanos, los mares y los recursos marinos para el desarrollo sostenible”.

Desde procesos dentro de las células hasta el funcionamiento de sistemas biológicos en ambientes acuáticos, el agua es sin duda el telón de fondo en el que los componentes de la vida están organizados, compuestos y coordinados.

4.2 Ecosistemas marinos y costeros de México.

Los océanos y mares son los ecosistemas acuáticos más importantes a escala planetaria, principalmente en función de su gran tamaño e influencia en el patrón del clima global. Los sistemas marinos poseen una enorme y poco conocida pluralidad de regiones, ecosistemas, especies, genes y moléculas orgánicas, que claramente los dotan de una amplia diversidad biológica (Lara y col., 2008). Los rasgos más característicos de los ambientes marinos son la salinidad y la ligera alcalinidad del agua, pH básico de 8 a 8.3 (Smith, 1980). De igual forma, estos ecosistemas son reconocidos por ser altamente dinámicos, pues están interconectados por una red de corrientes superficiales y profundas, las cuales, crean heterogeneidad vertical y lateral en los ambientes marinos, y facilitan el

transporte e intercambio de especies, masas de agua y materia orgánica en las diferentes zonas marinas (pelágicas, bentónicas, neríticas y oceánicas).

Los ecosistemas marinos y costeros brindan múltiples servicios ecosistémicos que son esenciales para preservar la vida. Servicios de aprovisionamiento como, alimentos, fármacos, minerales, fibras, materiales para la construcción, recursos energéticos, etc. Servicios de soporte y regulación como, hábitat, productividad primaria, reciclado de nutrientes, secuestro de gases invernadero, etc. Asimismo, nos ofrece servicios culturales como, belleza escénica, recreación, ciencia, educación, etc., que nos permiten disfrutar de experiencias y espectáculos en el medio acuático e intervienen en nuestro desarrollo con la naturaleza y los demás seres vivos.

La República Mexicana tiene una extensión territorial de 1 964 375 km² y cuenta con 231 813 km² de mar territorial y cerca de 3 149 920 km² de zona económica exclusiva. La zona costera terrestre cubre una extensión de alrededor de 430 000 km² limitada por el Océano Pacífico, el Golfo de California, el Golfo de México y el Mar Caribe (Lara y col., 2008). Su plataforma continental es de aproximadamente 394 603 km² (Bezaury y Torres, 2010), siendo mayor en el Golfo de México (INEGI-SEPESCA 1987; Castañeda y Contreras, 1994). Está compuesta por 32 entidades federativas, de las cuales 17 poseen frente litoral (263 municipios costeros).

La ubicación geográfica (latitud intertropical y zonas de transición biogeográficas neártica y neotropical), las influencias oceánicas, la amplia extensión de litorales, y la superficie marina con que cuenta México, explican en gran medida la enorme diversidad biológica y ecosistémica que posee nuestro país. Desde las aguas del Pacífico hasta el Caribe mexicano se tienen registro de grandes arrecifes de coral, como Cabo Pulmo en Baja California Sur, el Sistema Arrecifal Veracruzano, o el Banco Chinchorro (la segunda reserva más grande del mundo) en Quintana Roo. Cuenta además con 371 islas distribuidas a lo largo del territorio, todas ellas con una amplia variedad de microhábitats y especies singulares, lo que implica un alto grado de endemismo (Instituto de los recursos mundiales, 1997).

La fauna marina mexicana se reconoce como una de las más ricas del mundo con 4 100 especies descritas de moluscos marinos como caracoles, babosas, pulpos y calamares; 152 especies de corales de las cuales 13 corresponden a los llamados hidrozoarios coloniales (con esqueleto de carbonato de calcio) y 139 a antozoarios (corales pétreos); 503 especies de equinodermos comúnmente conocidos como pepinos y estrellas de mar, y más de 4 020 registros de decápodos, ostrácodos y crustáceos (CONABIO, 1998). En las aguas continentales mexicanas también existe un importante endemismo de especies marinas (75 especies), se estima que 20% de las especies del Golfo de California son endémicas, y cerca de 15% en el Caribe mexicano, Golfo de Tehuantepec y el norte del Golfo de México (Espinosa y col., 1993). En cuanto a mamíferos marinos (focas, delfines, ballenas y manatíes, etc.), el país cuenta con 41 especies que pertenecen a aproximadamente 31 géneros de 12 familias (Salinas y Ladrón de Guevara, 1993). En contraste con estas cifras, la diversidad de la flora algal marina es casi desconocida, se tienen pocos registros, entre los que podemos mencionar está el de Pedroche y col. (1993) de aproximadamente 1 006 especies en el Pacífico y 553 en el Atlántico.

Los ecosistemas costeros son espacios dinámicos de interacción entre el medio acuático, el medio terrestre y la atmósfera, debido a lo cual, son ampliamente reconocidos como los ecosistemas con mayor productividad primaria de la biosfera; el fitoplancton es mucho más productivo en los ecosistemas lagunares-estuarinos, pues dispone de mayor cantidad de nutrientes alóctonos, provenientes de los ríos, escurrimientos terrestres y mantos freáticos, y autóctonos provenientes del reciclamiento de estos por la degradación microbiana (Whittaker y Linkens, 1975; Odum y Heald, 1975). La zona costera mexicana alberga una plural riqueza de especies y complejos ecosistemas como son los manglares, los estuarios, las lagunas costeras y los humedales. Los cuerpos lagunares-estuarinos y manglares más importantes del país se localizan en el Golfo de México (Laguna Madre en Tamaulipas y Laguna Términos en Campeche); sin embargo, en algunos manglares y lagunas costeras de menores dimensiones, podemos encontrar una amplia diversidad biológica, ejemplo de esto serían las importantes poblaciones de cocodrilos "*Crocodylus acutus*" en el occidente de México (Sinaloa, Jalisco y

Colima), y los caimanes "*Caiman crocodilus*" en la región costera de Chiapas (Lara y col., 2008).

Se estima que del 60% al 75% de las costas de regiones tropicales están bordeadas por manglares (McGill, 1959), y que en el país la extensión cubierta por manglares es de 6 600 km² (Blasco, 1988). Los manglares tienen la capacidad de crecer en suelos sujetos a inundaciones periódicas y presentan adaptaciones para tolerar altas concentraciones de salinidad, lo que implica que usualmente, los manglares sean la vegetación dominante que bordea las lagunas costeras y estuarios. Los ecosistemas de manglar son de vital importancia como zonas de amortiguamiento contra inundaciones y erosión (provocada por huracanes y tormentas tropicales), como biofiltro ya que remueven importantes cantidades de nutrientes provenientes de las descargas urbanas y agrícolas, manteniendo de esta forma (con ayuda de las mareas), la calidad del agua de diversas lagunas costeras. Por otro lado, proveen protección a los estadíos juveniles de peces y crustáceos contra depredadores, por lo que se utilizan como zonas pesqueras (Flores, González y Zaragoza, 1998; López y Ezcurra, 2002; Noruddin, 1987). Es importante destacar que 70% de las especies de importancia pesquera lo constituyen organismos que algún período de su vida lo transcurren en un ecosistema lagunar estuarino, en su mayoría están asociados a manglares en zonas tropicales y a pantanos de macrófitas emergentes de regiones templadas (McHugh, 1976; Yañez, 1978).

4.3 Lagunas costeras.

Las lagunas costeras son cuerpos salobres o marinos poco profundos conectados al menos de forma intermitente al océano por una o más entradas de marea restringida (bocas, canales o pasajes) y que en su porción más interna permiten la transición de agua dulce (escorrentía superficial y filtraciones subterráneas). Estas depresiones en la zona costera se encuentran limitadas y protegidas por algún tipo de barrera hidrodinámica o física como vegetación (manglar), bancos de arena, islas barreras, cordones litorales, arrecifes, etc. La circulación del agua está originada por el ir y venir de la marea, cambios estacionales, precipitaciones, condiciones del

viento, eventos climáticos (por ejemplo, huracanes, ciclones, etc.) y la descarga fluvial (Whitfield, 2011). Este intercambio restringido permite que ocurran rápidos cambios en la salinidad, temperatura, carga de sedimentos y nutrientes. Debido a que son el resultado del encuentro entre dos masas de agua, existen diferentes ecosistemas afines (estuarios, esteros, marismas, bahías, etc.), que están escasamente diferenciados y son incluidos en la designación común de “lagunas costeras”. Por su origen y evolución, las características morfológicas, geológicas e hidrológicas difieren considerablemente entre cada laguna costera, pueden estar conformadas por varios cuerpos de agua comprendiendo el propio estuario y uno o varios esteros que se originan como lechos abandonados, formando un rosario de cuerpos de agua cegados por modificación del cauce de un río o de una laguna, de baja o somera dinámica e inundada por la marea (De la Lanza y col., 2012). La clasificación de los cuerpos de agua costeros varía entre diferentes autores e instituciones gubernamentales, esto debido a las numerosas características, como: composición de materiales, dinámica y evolución, función del comportamiento tectónico, estructura geológica, productividad biológica y ecológica, importancia geográfica o estratégica, red fluvial, intercambio energético, geología, clima, vegetación, localización económica y sociológica, evolución antropológica, etc. Por este motivo las cifras en los inventarios nacionales sobre el número de lagunas costeras varían dependiendo del autor; por ejemplo, Lankford^b (1977) señaló 125 Lagunas, Castañeda y Contreras (2003) 600, y Ortiz y de la Lanza (2006) 164 lagunas.

Las lagunas costeras son ecosistemas que destacan por su importancia económica y ecológica, ya que son sitios con alta actividad biológica, trampas de carbono (acumulan gran cantidad de materia orgánica en los sedimentos), y hábitats ricos en nutrientes; de tal modo, que estas áreas frecuentemente son utilizadas para la pesca artesanal, y, en consecuencia, son el medio de vida de miles de pescadores (Contreras, 2000; CONABIO, 2011). Los sistemas lagunares costeros ofrecen múltiples servicios ecosistémicos (Tabla 1), entre los que podemos destacar la protección contra fenómenos naturales, la estabilización de microclimas y su alta productividad primaria, la cual concede a estos ecosistemas ser un lugar de

anidación, crianza, reproducción y refugio de fauna acuática y terrestre regional y migratoria, permitiendo así, concentrar un gran espectro de la biodiversidad (Contreras y col. 2002; CONABIO, 2011). Debido a su activa dinámica de intercambios físicos, químicos y biológicos, estos ecosistemas acuáticos representan situaciones especiales y están sujetos a diversos controladores y patrones de variabilidad ambiental (Smith, 1980), de modo que son susceptibles al enriquecimiento de nutrientes y otros contaminantes, a las alteraciones antropogénicas, a las modificaciones hidrológicas, así como, al cambio climático, por ejemplo, cambios en frecuencias e intensidades de tormentas, inundaciones, sequías y aumentos de temperatura (Whitfield, 2011).

Tabla 1. Servicios Ecosistémicos que brindan los ecosistemas lagunares costeros
(Landers y Nahlik, 2013).

Servicios Ecosistémicos que brindan los ecosistemas lagunares costeros	
Sección	Descripción
Aprovisionamiento	Agua costera y marina utilizada como fuente de energía, nutrición y materiales.
	Sustancias minerales utilizadas para la nutrición, materiales o energía.
	Sustancias no minerales o propiedades del ecosistema utilizadas para nutrición, materiales o energía.
	Energía eólica, solar, geotérmica y otras.
	Plantas acuáticas cultivadas (incluyendo hongos, algas), cultivadas con fines nutricionales, materiales o energía
Aprovisionamiento	Fibras y otros materiales de plantas cultivadas, hongos, algas y bacterias para uso directo o procesamiento
	Animales acuáticos criados para nutrición, materiales o energía.
	Fibras y otros materiales de animales acuáticos criados para uso directo o procesamiento

Aprovisionamiento	Material genético de plantas, algas u hongos. Semillas, esporas y otros materiales vegetales recolectados para mantener o establecer una población
Regulación y Mantenimiento	Mediación, transformación y regulación de residuos, tóxicos y otras alteraciones por procesos no vivos (medios químicos o físicos: filtración, secuestro, almacenamiento y acumulación).
	Transformación, mediación y regulación de aportes bioquímicos o físicos de origen antropogénico a los ecosistemas, por estructuras o procesos abióticos.
	Mediación, transformación y regulación por procesos químicos o físicos bióticos (Biorremediación mediante filtración, secuestro, almacenamiento y acumulación por microorganismos, algas, plantas y animales).
	Mantenimiento y regulación por procesos químicos y físicos naturales inorgánicos. Ciclo hidrológico y regulación del flujo de agua (incluido el control de inundaciones y la protección costera); control de las tasas de erosión; y amortiguamiento y atenuación del movimiento de masas.
Regulación y Mantenimiento	Otro tipo de regulación y servicio de mantenimiento por procesos abióticos.
	Mantenimiento del ciclo de vida, hábitat y protección de la reserva genética. Polinización (o dispersión de 'gameto' en un contexto marino); dispersión de semillas; y control de plagas (incluyendo especies invasoras).
	Regulación de la condición química de las aguas saladas por procesos vivos.
	Regulación de la temperatura y la humedad, incluyendo ventilación y transpiración de las condiciones y composición atmosférica por contribución del sistema o el entorno ambiental
Cultural	Regulación de la composición química de la atmósfera y los océanos (regulación del clima global por reducción de las concentraciones de gases de efecto invernadero), por contribución del sistema o el entorno ambiental.
	Interacciones directas, in situ y al aire libre con sistemas físicos naturales que dependen de la presencia del entorno ambiental natural. Características naturales, abióticas de la naturaleza que permiten interacciones físicas y experienciales activas o pasivas.

Cultural	Interacciones físicas y experienciales con componentes bióticos y abióticos naturales del medio ambiente que permiten actividades que promueven la salud, la recuperación o el disfrute a través de interacciones pasivas o de observación.
	Interacciones intelectuales y representativas con componentes bióticos y abióticos del entorno natural que permiten la investigación científica o la creación de conocimientos ecológicos tradicionales.
	Interacciones intelectuales y representativas de los sistemas bióticos y abióticos del entorno natural que posibilitan la educación y la formación.
	Interacciones espirituales, simbólicas y de otro tipo con los componentes bióticos y abióticos del entorno natural que permiten interacciones espirituales, simbólicas y otras.
	Otras características bióticas y abióticas de la naturaleza que tienen un significado cultural: que son resonantes en términos de cultura o patrimonio, que posibilitan experiencias estéticas, y que tienen un valor de existencia o legado.

4.4 Laguna de Mandinga.

Veracruz es un estado abundante en recursos hidrológicos, administrados en dos regiones hidrológicas (Región IX Golfo Norte y Región X Golfo Centro) que fluyen en una amplia planicie costera correspondiente al 73% (53 155 km²) del total del territorio Veracruzano. Se ha estimado que por el estado escurre aproximadamente el 30 % (121 000 hm³) del total nacional; además, cuenta con 18 acuíferos con una recarga media anual de 3 085 hm³ (CONABIO, 2011). En el área territorial se ubican al menos 16 lagunas costeras, así como cuatro ríos o estuarios que descargan directamente a la zona marina adyacente, constituida por la plataforma continental, el talud y la llanura abisal (López y col., 2012).

El sistema lagunar Mandinga (figura 1 y 2), conocido como “Laguna de Mandinga”, se encuentra ubicada en el estado de Veracruz, entre los 18° 94' y 19° 10' de latitud norte y los meridianos 95° 99' y 96° 16' de longitud oeste (Lara y col., 2009); y comprende los municipios de Alvarado (23 128 hab), Medellín (59 126 hab) y Boca del Río (138 058 hab) (SEDESOL 2010). Corresponde a un conjunto de lagunas

costeras intercomunicadas entre sí, separadas del mar por una barrera de médanos que colindan con el sitio Ramsar 1346, Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano; y comunicadas con éste por el estuario del río Jamapa (Carrillo, 2016; Contreras, 1985). El sistema está comunicado con la cuenca de los ríos Jamapa y Cotaxtla (pertenecientes a la Región Hidrológica - Administrativa Golfo Centro, caracterizada por la presencia de numerosos ríos de régimen permanente), estos ríos tienen un patrón de escurrimiento sobre la laguna por los alineamientos físicos, lo que promueve la captación del agua de las cuencas hídricas; sin embargo, el escurrimiento natural se ha ido reduciendo año con año (López y col. 2012). La población total de la cuenca hidrológica para el año 2010 era de 374 390 habitantes, distribuidos en 1 234 localidades, de las cuales 21 localidades son urbanas, con 155 460 habitantes; y 1 213 localidades rurales, que en conjunto albergan a 218 930 habitantes. La población indígena se encuentra asentada en las áreas rurales y comprende un total de 15,892 habitantes (Diario oficial de la Federación, 2014). El grado promedio de escolaridad de los habitantes establecidos dentro de la cuenca es de 6.13, lo que significa poco más de la primaria concluida. Se calcula que la población que genera influencia en las dinámicas del recurso hídrico es de 415 606 habitantes, de los cuales 38% se dedica a actividades agropecuarias, 32% al comercio y servicios, 16% son trabajadores en la industria y el 14% son profesionistas, técnicos y administrativos (Diario oficial de la Federación, 2014). La cuenca Jamapa inicia desde la zona occidental, nace en la sierra de Huatusco con los deshielos del Pico de Orizaba, recorre 150 km; corre de oeste a este y recibe varios afluentes de los ríos Huatusco, Cotaxtla, Totolapan, desembocando en el Golfo de México, en el lugar conocido como Boca del Río próximo a la Ciudad de Veracruz. (Márquez, 1992). La cuenca Cotaxtla, se localiza hacia el oriente, con la mayor influencia y aportación que se genera en la zona de la Sierra de Atoyac; tiene su origen a una elevación de 5,700 metros sobre el nivel del mar, con el nombre de Barranca de Chocamán, con rumbo al sureste en cuyo tramo se le unen los ríos Seco, Atoyac, Paso del Macho y Tizapa, modificando su rumbo al noreste, a partir de la confluencia de este último en las inmediaciones de la población Cotaxtla, hasta unirse con el Río Jamapa a la altura de Paso del Toro; a partir de aquí continua hasta su desembocadura en el mar (Diario oficial de la Federación, 2014).



Figura 1. Fotografía aérea panorámica de Manglares de Mandinga, Veracruz.
CONABIO – SEMAR (Acosta, 2013).

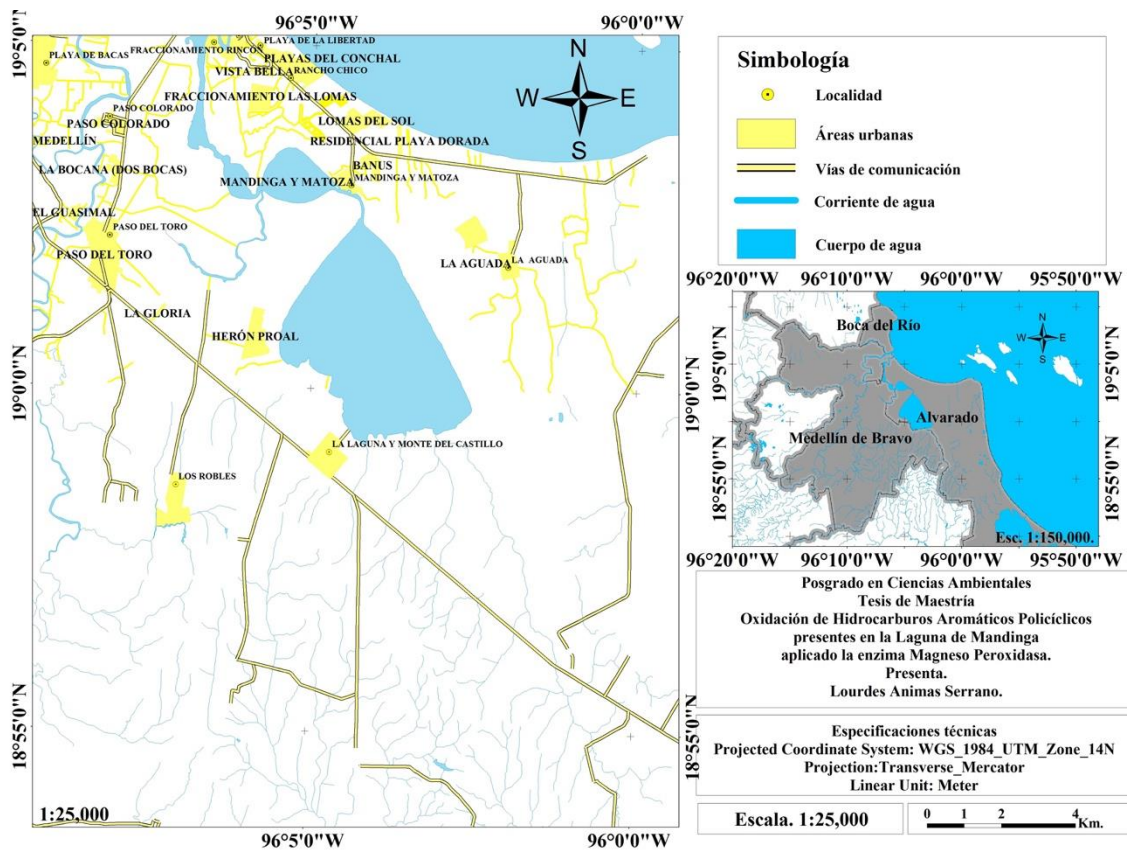


Figura 2. Ubicación del Sistema Lagunar de Mandinga (Elaboración propia).

El sistema corresponde a un ambiente tropical, en el cual predominan las bajas salinidades (aunque existe una variación ligera dependiendo de la época del año) debido a que no existe una comunicación directa con el mar, ejerciendo el río Jamapa la influencia principal. De acuerdo con la caracterización de la CONABIO (Lara y col., 2009) el clima es cálido subhúmedo (Aw2), la temperatura media anual es mayor de 22°C y la temperatura del mes más frío es mayor a 18°C. El tipo de suelo Vertisol es el de mayor abundancia (70.0%), seguido por el Regosol (15.2%) y el Gleysol (14.8%). La concentración de oxígeno es generalmente alta como consecuencia de la acción de los vientos y la actividad fotosintética, presentándose en algunas zonas sobresaturación de este gas (Arreguin, 1982).

La fauna y especies características de la laguna son: el pato real, el ostión, la jaiba y la medusa de cañón (cuando aumenta la salinidad). Existen registros de diferentes invertebrados entre los que destacan artrópodos, malacostráceos y maxilópodos; y

vertebrados tales como peces, anfibios y reptiles. Además, cuenta con una amplia lista de especies de aves y mamíferos entre ellos el Tamandúa mexicana (que se encuentra en peligro de extinción) y el murcielaguito narigón "*Rhynchonycteris naso*" sujeto a protección especial; asimismo, un extenso número de hongos y plantas (Carrillo, 2016; De la cruz, 1985; Lara y col., 2009).

La vegetación relacionada con el sistema lagunar y de los médanos se caracteriza en los siguientes tipos: vegetación pionera de la costa, matorral y selva baja subcaducifolia de los médanos, espartales, selva baja subperinnifolia, selva baja perinnifolia de *Pachira aquatica*, manglares, vegetación acuática, asociaciones de halófitas, palmares (Vázquez , 1971). Está caracterizada como Sitio de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica según la CONABIO (Lara y col., 2009). La superficie del manglar (arbóreo bajo) es de 428 hectáreas (figura 3), siendo el mangle rojo (*Rhizophora mangle*), el mangle blanco (*Laguncularia racemosa*) y el mangle negro (*Avicennia germinaus*) sus principales especies, con una altura promedio de 8.6 m, estas especies se encuentran bajo la categorización de amenazadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (Rodríguez y col., 2013; SEMARNAT, 2010).

Entre los servicios ecosistémicos que ofrece los manglares están la utilización de la zona para alimentación, refugio, reproducción y anidación de una gran variedad de peces, moluscos y crustáceos; brindan sustrato para el desarrollo de especies bentónicas; aportan nutrientes a los arrecifes de coral y detienen el aporte de sedimento excesivo; la fauna de los manglares ayuda a controlar las poblaciones de mosquitos que transmiten enfermedades graves como la malaria, el paludismo o el dengue; favorecen la carga y recarga del manto freático; favorecen la regulación microclimática del área; y se consideran áreas de amortiguamiento ante los efectos de ciclones, huracanes y tormentas tropicales (CONABIO, 2011; Flores y col., 2011; López y col., 2012).

Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica Mandinga, Veracruz.

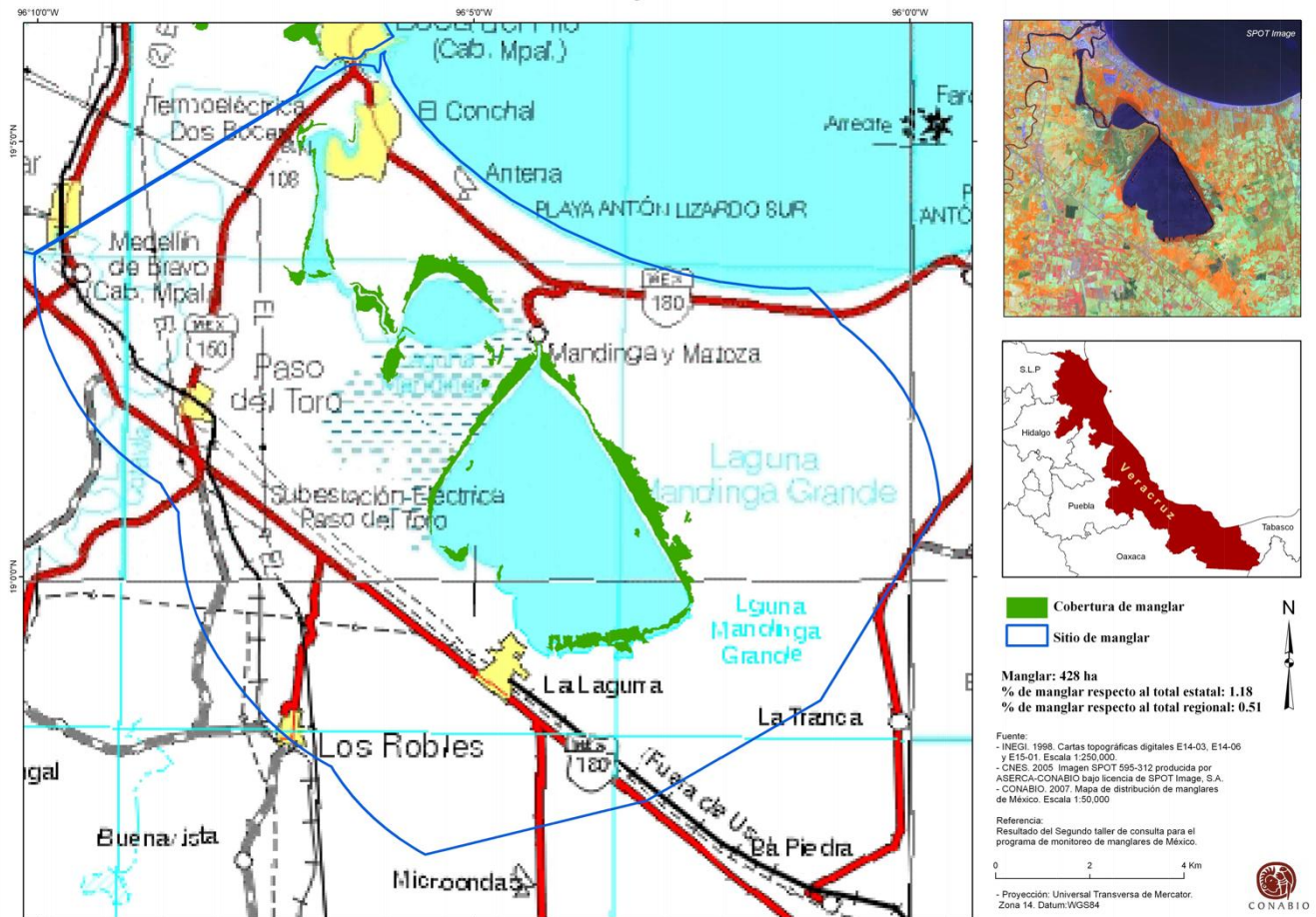


Figura 3. Distribución de manglar en la Laguna de Mandinga, CONABIO (Lara y col., 2009).

4.5 Problemática ambiental de la Laguna de Mandinga

El entorno natural revela y permite comprender tanto el pasado como el presente de los procesos ecológicos, económicos, sociales y políticos que se desarrollan dentro y fuera de este (solo cuando se delimita el sistema). Ya que no son espacios separados o protegidos, sino por el contrario, el ambiente es el sostén de la existencia de la diversidad biótica (donde los humanos estamos incluidos) y abiótica del planeta; es la base de una amplia gama de recursos materiales, y a la vez, es el reflejo del actuar social.

Como se mencionó anteriormente, las lagunas costeras son ecosistemas complejos donde interaccionan y convergen heterogéneos sistemas naturales y sociales, en múltiples dinámicas y procesos; por lo cual ofrecen abundantes y plurales servicios ecosistémicos; lo que implica que usualmente estos ecosistemas estén sujetos a diversos impactos antropogénicos negativos.

Como es sabido, los problemas ambientales pueden ser explicados de forma integral y con un enfoque ecosistémico (red de interacciones) desde 5 esferas: ambiental o ecológico, socio-cultural, salud pública, ingeniería y político-económico (Batterman y col., 2009). Con la intención de representar la problemática ambiental con una perspectiva integral (como un sistema complejo), la figura 4 ha sido perfilada.

El ecosistema costero “Laguna de Mandinga” se ubica en la zona metropolitana del Estado de Veracruz, una región con creciente desarrollo urbano y económico (Morales y Damián, 2006; Secretaría de Economía, 2014). En los municipios alrededor de la laguna se puede percibir el avance de la mancha urbana, el aumento de áreas destinadas para las actividades agropecuarias (potreros, cultivos de naranja y vainilla, procesadoras de cítricos, ingenios azucareros, beneficios de café, tenerías, invasión de especies exóticas como los pastos “mejorados”, rellenos, etc.), las actividades industriales (petrolera, mineras, química, metalúrgica, maderera, etc.), y la creación de infraestructuras (transporte, energéticas, hidráulicas, telecomunicaciones y edificación). Por mencionar algunos ejemplos, en los últimos años, en el municipio de Alvarado se construyen desarrollos residenciales y se operan unidades de manejo forestal (Comisión Nacional Forestal, 2009). Por otro lado, por la cercanía que tiene Boca del Río con el Puerto de Veracruz, se han desarrollado corredores industriales y turísticos, además de centros comerciales en la zona (Del Ángel y Villagómez, 2014).

Para lograr el creciente desarrollo urbano y económico en la zona, el ambiente natural ha sido sometido a una fuerte presión antropogénica, el proceso de

transformación socioambiental es claramente evidente. Los graves problemas que existen en Mandinga se deben mayormente al uso intensivo que la población humana ha hecho del ecosistema y su área de influencia, esto ha puesto en riesgo el funcionamiento ecológico del ecosistema (servicios de soporte, los cuales son la base para la generación de los demás servicios ecosistémicos), trayendo como consecuencia la reducción de las poblaciones de especies, la disminución de productos pesqueros, la contaminación de los ríos, la deforestación de la zona, el azolvamiento de la laguna, etc. (Agencia Imagen del Golfo, 2013; Formatosiete, 2018; Gruposiete, 2013). Todo esto aunado al ineficiente tratamiento del agua en plantas de tratamiento de agua residual, las deficientes políticas de desarrollo gubernamental, la falta de respeto a las leyes (habitantes y sector económico) y la disminución de la inversión pública para proyectos de mantenimiento, saneación, construcción y rehabilitación de la estructura hidráulica (Diario de Xalapa, 2018; Jornada Veracruz, 2013; Veracruz en red, 2007); ponen en riesgo la integridad ecológica del ecosistema y por lo tanto, la provisión de los servicios ecosistémicos de los que la sociedad se ve beneficiado (Landers y Nahlik, 2013). Entre los principales impactos ambientales de Mandinga, aquellos registrados y documentados se describen a continuación:

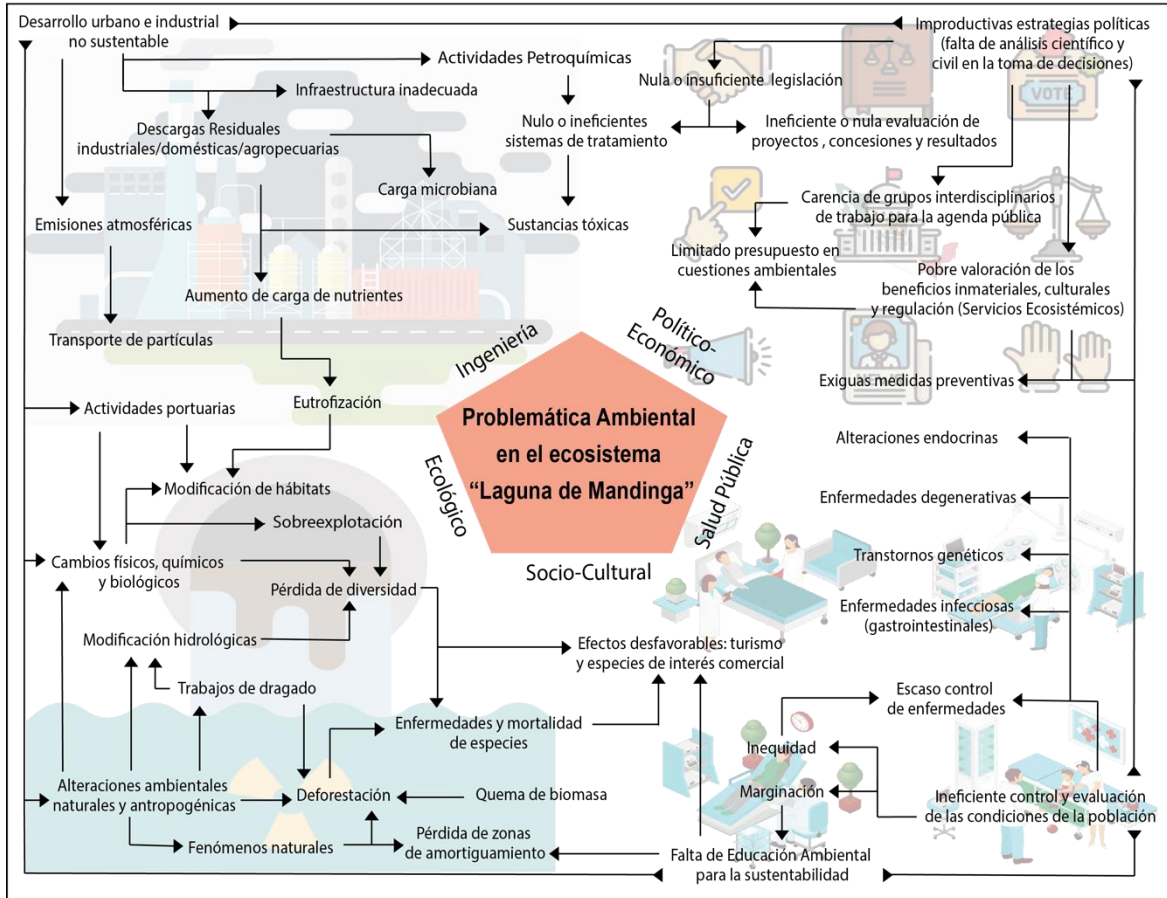
La deforestación de bosques tropicales y el agotamiento de especies vegetales y forestales: La madera de manglar en general es utilizada para el sector agropecuario y como materiales para la construcción de herramientas, viviendas, infraestructura turística y para la obtención de carbón; el desmonte y despalle del suelo para la modificación de la estructura y microbiología de la cobertura vegetal para el desarrollo de actividades agrícolas o ganaderas, la construcción de caminos o de asentamientos humanos (urbanos e industriales). En consecuencia, disminuye la calidad del agua, incrementa la vulnerabilidad a las inundaciones, huracanes, plagas y transmisión de enfermedades entre otros (Casas, 2017; CEMDA, 2012; CONABIO, 2011; Flores y col., 2011; Lara y col., 2009; Paniagua y col., 2018).

La modificación del flujo y funcionamiento de los recursos hídricos superficiales y subterráneos: los ríos son utilizados como vertederos o como sistemas reguladores de las condiciones fisicoquímicas de las descargas residuales (domésticas, industriales, agricultura y ganadería), a través de todo su recorrido hasta llegar a la laguna costera, donde, después de la acción del viento y el oleaje, parte de esta carga de nutrientes y sustancias químicas finalmente se incorpora al mar. Como resultado la carga microbiana, nutrientes, sustancias tóxicas y sedimentos; aumentan las enfermedades (alteraciones genéticas, efectos endócrinos, daños o disminución de las funciones de órganos o sistemas) y la mortalidad de especies; se pierde la diversidad de hábitats y especies; crece la producción de fitoplancton y las floraciones monoespecíficas, por lo que, las condiciones anóxicas y de eutrofización se hacen presentes (Cervantes, 1997; CONABIO, 2011; Farías, 1991; Guzmán y col., 2009; Lara y col., 2009; López, Tinoco, Pérez y Velasco, 1992; López y col., 2011; López y col., 2012; Paniagua y col., 2018).

Las expansivas actividades económicas de la región: Se centran en las actividades petroquímicas, agrícolas, la pesca, la ganadería, la minería, y recientemente la acuicultura. El desempeño de actividades agrícolas y ganaderas, fomentan altas concentraciones y acumulación de nutrientes, antibióticos y hormonas (contaminación orgánica, bacteriológica y química) en todos los reservorios terrestres: agua, suelo y atmósfera. La industria petrolera, en cuanto a la exploración, descargas y derrames accidentales de hidrocarburos; y la interrupción de flujos hidrológicos por el desarrollo de infraestructura (ductos, presas, transporte), amenaza la diversidad de especies e incrementa la concentración de contaminantes químicos no biodegradables. En los desarrollos industriales el problema se centra en el insuficiente o ineficiente tratamiento y saneamiento de los residuos y las descargas (falta de control, inapropiada operación, y falta de mantenimiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales) (Guzmán y col., 2009; López y col., 2012; CONABIO, 2011; Olguín, Hernández y Sánchez-Galván, 2007; Paniagua y col., 2018; Secretaría de Economía, 2014).

Trabajos de limpieza y dragado en la Laguna: En mayo de 1979 se iniciaron los primeros trabajos de dragado de la laguna, consistiendo principalmente en la tala de manglar, para la construcción de nuevos canales e incremento de la profundidad de los ya existentes; y la destrucción de las grandes praderas de *Ruppia marítima* *Linnaeus*, que además eran zonas de protección y crianza de varias especies, tanto bentónicas como nectónicas. Este tipo de acciones trajeron como consecuencia cambios hidrológicos y ecológicos en la comunidad de especies de la laguna. Se observaron sustituciones de desplazamientos en la dominancia de las especies; la producción planctónica media anual disminuyó; incremento la salinidad y disminuyó el oxígeno disuelto; y los sedimentos por su naturaleza fueron resuspendidos en el cuerpo de agua (reincorporación de compuestos tóxicos y xenobióticos). Es importante considerar que cuando los suelos de manglares son drenados, removidos o dragados, los depósitos de azufre (en forma de piritita) son liberados y, por tanto, oxidados a ácido sulfúrico, causando mayor acidez en el medio (Cruz, Rocha y De la Cruz, 1980; De la Cruz, 1985; Lara y col., 2009; Olguín, Hernández y Sánchez-Galván, 2007).

Figura 4. Problemática Ambiental en el ecosistema “Laguna de Mandinga”
(Elaboración propia, 2018)



Algunos autores sugieren que evaluar la concentración de contaminantes en la biota es un mejor indicador del impacto ambiental, ya que los organismos incorporan los contaminantes en su metabolismo o en sus órganos. Estudios realizados en la Laguna de Mandinga revelan la presencia de diferentes patógenos en productos acuícolas del sistema lagunar, los cuales pueden estar asociados a la transmisión de bacterias patógenas y representan un riesgo potencial de enfermedades gastrointestinales. Reyes y col., (2010) determinaron las concentraciones de *Vibrio parahaemolyticus* y *V. alginolyticus* en ostras *Crassostrea virginica* en la Laguna de Mandinga a través de una caracterización bioquímica de las colonias encontradas, cuyos valores fueron de 3 a 150 NMP/g (número más probable/gramo). López y col., (2015) evaluaron la densidad estacional de *Vibrio cholerae* (non-O1/non-O139

ompW y patógenos ctxA y chxA) en ostras americanas (*Crassostrea virginica*) de la Laguna de Mandinga, las densidades medias más altas de *V. cholerae* non-O1/non-O139 ompWp / chxAp fueron observadas durante el verano (11.53/2.29 MPN/g) y otoño (97.76/5.19MPN/g), esta variación estacional indica que los patógenos fueron distribuidos de manera desigual durante el ciclo anual y que tuvieron una rápida rotación en la población.

Por otro lado, el estudio de Merino y col. (2002) evidenció el hermafroditismo protándrico en los peces "*Centropomus parallelus*" mediante el análisis histológico realizado a 281 especímenes, siendo el primer reporte de hermafroditismo en el género *Centropomus* en México. Asimismo, Guzmán y col., (2009) determinaron concentraciones de metales pesados (Cr, Cd y Pb) en agua, suelo y tejido de ostras de *Crassostrea virginica* frescas y desintoxicadas. Él estudió reportó la presencia de los metales en agua y sedimentos, aunque sus concentraciones estaban dentro de los límites legales mexicanos; sin embargo, los niveles de metales detectados en las ostras excedieron los límites máximos permisibles para Cd y Pb, y las ostras no pudieron eliminar las concentraciones de los metales bioacumulados durante la etapa de desintoxicación. El 47% de las ostras presentaron lesiones histopatológicas relacionadas con concentraciones de metales pesados.

Respecto a la contaminación por plaguicidas, Aragón y col. (2017), reportaron la presencia de lindano y endosulfan en ostras de los bancos ostrícolas de la Laguna de Mandinga en concentraciones de hasta 8.69 ± 5.15 ng/g y de 24.68 ± 1.20 ng/g respectivamente. Asimismo, Lango y col. (2013) realizaron análisis en diferentes organismos bentónicos de 6 lagunas ubicadas a lo largo del Golfo de México, entre los hallazgos reportados, las concentraciones promedio más altas de pesticidas organoclorados (por ejemplo, delta-hexaclorociclohexano (delta-HCH), con una concentración promedio de 1466.65 ± 8.29 ng/g), fueron las obtenidas de las muestras de ostras recolectadas de la Laguna de Mandinga, evidenciando así un problema de contaminación y riesgo para la salud pública.

La evaluación en sedimentos de las lagunas sugiere que las actividades antropogénicas tienen amplia influencia sobre los sistemas costeros y es una de las principales causas de contaminación de en estos sistemas (Paniagua y col., 2018). El estudio de Botello y col. (2001) evaluó la concentración, caracterización y distribución de HAPs en sedimentos de diferentes lagunas costeras del estado de Veracruz, entre ellas la Laguna de Mandinga con 10 estaciones de mediciones, los HAPs más relevantes en orden decreciente fueron: criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, indeno(1,2,3-c,d)pireno y benzo(a)antraceno (mayor presencia de HAPs con 2, 4 y 5 anillos bencénicos). Cabe señalar que el benzo(a)pireno es un potente mutágeno y carcinógeno, está considerado como un problema de salud pública debido a sus posibles efectos en los trabajadores industriales, como contaminante ambiental y como componente del tabaco. Mandinga fue la laguna con mayor HAPs de todas las evaluadas con concentraciones de 2.2 a 18.2 µg/g, en su mayoría de origen pirogénico y petrogénicos, provenientes de los efluentes que cruzan zonas industriales, derrames de gasolina y crudo de los botes utilizados para el turismo y la pesca, la quema de vegetación y el transporte atmosférico.

Estos hallazgos proporcionan importante evidencia sobre la necesidad de realizar estudios profundos e integrales, que evalúen los posibles efectos ligados a los cambios en el ambiente y sus servicios ecosistémicos, antes de que cualquier tecnología, innovación, práctica o actividad que pretenda modificar el ambiente sea autorizada. La implementación de proyectos o el desarrollo económico debe estar fundamentado en el bienestar social y ecológico, y no sobre bases débiles que busquen únicamente satisfacer necesidades de la sociedad moderna, que sigue un modelo de desmesurado consumo y continua competitividad por el acceso y posesión de los bienes de la naturaleza, que acarrearán en la mayoría de los casos daños irreparables a los ecosistemas (Leff, 2000).

Debido a la presencia de HAPs y otros contaminantes determinados en los estudios mencionados se considera importante monitorear y evaluar los cambios en el ecosistema, para así implementar medidas preventivas y correctivas que permitan mejorar la calidad del agua de la Laguna de Mandinga, rehabilitar el ecosistema y

así proteger la salud de los consumidores de los productos cultivados en la laguna. Por lo cual ofrecer alternativas sustentables para el tratamiento de contaminantes orgánicos persistentes, específicamente los hidrocarburos policíclicos aromáticos, por el evidente riesgo ecológico para los organismos acuáticos y terrestres presentes en el sistema lagunar Mandinga resulta valioso, ya que estos además de ser un riesgo para la salud de los pobladores de manera directa o por consumo de especies, afectan las actividades socioeconómicas como la pesca y el turismo.

Como parte de la solución, es necesario abordar de manera multi e interdisciplinaria la problemática ambiental de la Laguna de Mandinga. Esta investigación auxilia en la búsqueda de tratamientos sustentables, los cuales consideran las oportunidades y los retos del uso de tecnologías de tratamiento, por lo que es necesaria y parte importante en la solución del problema ambiental de la Laguna de Mandinga.

4.6 Contaminantes Orgánicos Persistentes.

Los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) son compuestos que, por sus características físico químicas, resisten en grado variable la degradación fotoquímica, química y biológica, lo que causa que su vida media en el ambiente sea larga. Aunque existen COPs de origen natural, la gran mayoría son compuestos xenobióticos (SEMARNAT, 2016; UNEP-ONU^{a,b}, 2008). Sus principales características son:

a) Persistentes: son muy estables, a los distintos tipos de degradación posibles, lo que supone una larga vida de los mismos en el medio. Por ejemplo, el Mirex persiste durante 600 años en el suelo, el Hexclorobenceno por más de 100 años en el agua (ATSDR, 2016; Weinberg, 2009).

b) Bioacumulables: son contaminantes químicos que se disuelven fácilmente en las grasas (lipofílicos) por lo que se acumulan en los tejidos corporales de los organismos vivos a concentraciones mucho más altas que las del medio ambiente circundante, y se incorporan en sus cadenas alimentarias, provocando consecuencias en las especies superiores de la cadena trófica como los seres

humanos (Yarto, Gavilán, y Barrera, 2003; Weinberg, 2009).

c) Móviles: Se desplazan a largas distancias, pueden moverse a grandes distancias de la fuente de emisión y distribuirse ampliamente por el planeta a través del aire, el agua, o mediante especies migratorias, depositándose especialmente en las regiones más frías de la Tierra. Debido a esto pueden causar contaminación peligrosa en lugares muy lejanos de aquellos en donde la sustancia química entró originalmente al medio ambiente, se han identificado COPs en todos los compartimientos ambientales, aire, agua, sedimentos, y suelo de diversas regiones del mundo, incluyendo aquellas como los océanos, los desiertos y las zonas polares, remotas al sitio original de su liberación (Cortinas, 2003; Weinberg, 2009).

d) Tóxicos: Tienen el potencial para causar efectos negativos, los COPs son contaminantes químicos con el potencial para causar daños a la salud humana y/o a los ecosistemas, entre los daños que ocasionan a los diferentes seres vivos se encuentran alteraciones del sistema endocrino, trastornos congénitos, daño del sistema inmunológico y respiratorio, alteraciones dermatológicas, pérdida de fertilidad, deformaciones, desórdenes de índole sexual, periodos de lactación humana más cortos, además de ser potencialmente carcinógenos (SEMARNAT, 2016; Yarto, Gavilán, y Barrera, 2003; Weinberg, 2009).

Muchos COPs han sido importantes durante este siglo en diversos procesos industriales, la agricultura y para el control de enfermedades endémicas, pero también son productos indeseables de reacciones que ocurren a altas temperaturas, ya sea durante procesos industriales, en incineradores, o a causa de incendios o accidentes industriales. Ya sea de forma planeada o involuntaria estamos introduciendo continuamente nuevos productos químicos en el ambiente sin una noción clara de sus efectos futuros. Y entre las decenas de miles de productos químicos que están en circulación, sólo se han estudiado los efectos ambientales y en la salud de unos pocos. Por consiguiente, nadie sabe exactamente cuántos COPs existen y más allá de su número están sus efectos a la salud y los impactos ambientales a largo plazo que se desconocen, además de la falta de entendimiento de la interacción sinérgica que producen la exposición de los COPs con otros productos químicos.

En mayo del 2001, los gobiernos adoptaron un tratado mundial llamado Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes, con el fin de proteger la salud humana y el medio ambiente de los efectos de los COPs. El Convenio es el primer tratado mundial legalmente vinculante que exige que los gobiernos controlen, con la meta de eliminarlos, una clase de productos químicos que causa contaminación tóxica. El convenio estableció una primera lista con las doce sustancias químicas que cumplían con las características COPs y durante los años siguientes se han llevado a cabo Conferencias de las Partes del Convenio de Estocolmo sobre COPs, donde han surgido otros productos químicos nominados para su incorporación al Convenio debido a sus características. Estos productos químicos están controlados por el Convenio y están incluidos en uno o más de los siguientes tres anexos del Convenio (UNEP-ONU^{a,b}, 2008):

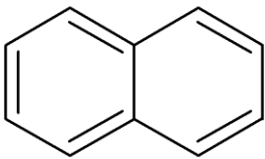
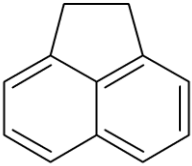
- Anexo A: Prohibir la producción y uso de los productos incluidos en la lista.
- Anexo B: Sobre restricciones y prohibición, utilización exclusiva para los fines permitidos con el Convenio y cumpliendo ciertas condiciones (Control de vectores de enfermedades, recomendaciones de la OMS, de forma segura y efectiva a nivel local, y cuando no haya alternativas asequibles disponibles).
- Anexo C: Producción no intencionada, minimización continua y cuando sea posible su eliminación final.

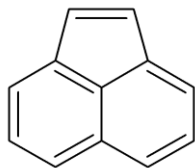
4.7 Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.

Además de los compuestos incorporados a la lista de sustancias controladas por el Convenio, existen otros compuestos no considerados en él, que presentan características de toxicidad, movilidad, bioacumulación y persistencia, similares a los del Convenio de Estocolmo. Entre ellos los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs), los cuales son compuestos orgánicos que consisten en dos o más anillos aromáticos (los anillos pueden estar en forma recta, angulados o racimados) y / o moléculas pentacíclicas que están dispuestos en diversas configuraciones químicas (Mastandrea y col., 2005; Acevedo y col., 2010). Se

presentan como sólidos incoloros, blanco / amarillo pálido con baja solubilidad en agua, altos puntos de fusión y de ebullición, y baja presión de vapor (Kadri y col., 2016). Estos compuestos se forman principalmente por la combustión incompleta o la pirolisis de material orgánico (carbón, aceites, madera, residuos domésticos, combustibles, etc.) (Thiele y Brummer 2002; Cram y col., 2004); y 16 de ellos son denominados “contaminantes prioritarios” (Tabla 2) por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos debido a su amplia distribución en el ambiente y por sus propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas (Penning, 2014; Mastandrea y col., 2005; Morrillo y col., 2008; Sen y Field, 2013; Zhang y col., 2006).

Tabla 2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos denominados contaminantes prioritarios por la EPA (Pubchem, 2017).

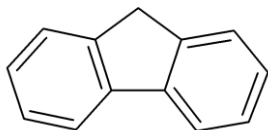
HAPs	USOS	RIESGOS A LA SALUD
 <p>Naftaleno</p>	<p>Utilizado para fabricar anhídrido ftálico, pero también se usa en repelentes de polillas, insecticidas carbamatos, agentes tensoactivos y resinas, como colorante intermedio, como agente bronceador sintético, como repelente de polillas y en productos químicos orgánicos diversos. Está presente en muchos aceites esenciales.</p>	<p>La exposición a naftaleno se asocia con anemia hemolítica, daño al hígado y al sistema neurológico, cataratas y hemorragia retiniana. Se prevé razonablemente que el naftaleno es un carcinógeno humano y puede estar asociado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer laríngeo y colorrectal.</p>
 <p>Acenafteno</p>	<p>Derivado del alquitrán de hulla y utilizado para fabricar colorantes, productos farmacéuticos, insecticidas, fungicidas y plásticos.</p>	<p>Puede irritar la piel y las membranas mucosas. Emite humo acre y humos irritantes cuando se calienta hasta la descomposición.</p>
Continúa en la siguiente página		



Acenafthileno

Usado en la síntesis de colorantes, insecticidas, fungicidas y en la producción de plásticos.

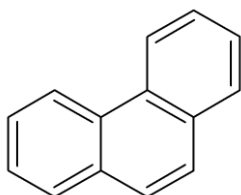
Toxicidad oral aguda, irritación cutánea y ocular severa, provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas, carcinógeno ocupacional potencial.



Fluoreno

Componente del petróleo.

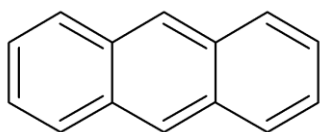
Causa irritación en piel, ojos y en vías respiratorias, muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.



Fenantreno

Es el segundo constituyente de alquitrán de hulla más abundante junto a naftaleno. La destilación de alquitrán de hulla concentra fenantreno en la fracción de aceite de antraceno.

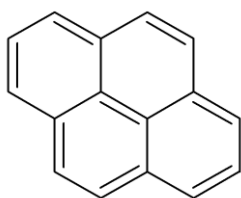
Causa irritación en piel, ojos y en vías respiratorias, muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.



Antraceno

Se utiliza principalmente como producto intermedio en la producción de tintes, pantallas de humo, contracratales de centelleo, en la investigación de semiconductores orgánicos y en la producción de insecticida, acaricida, herbicida, rodenticida.

Carcinógeno ocupacional potencial, provoca irritación de ojos, nariz, tracto y piel. Causa daño en el ADN de diferentes organismos.

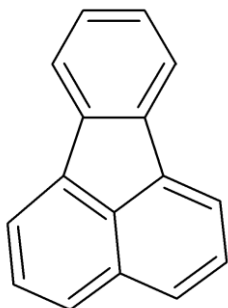


Pireno

Presente en el alquitrán mineral, el humo del tabaco, colorantes sintéticos, productos de cuidado automotriz, lavandería y lavavajillas, cuidado personal, tratamiento de agua, productos derivados del petróleo.

Causa irritación en piel, ojos y en vías respiratorias, muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

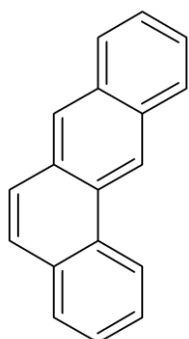
Continúa en la siguiente página



Fluoranteno

El fluoranteno es un componente del alquitrán de hulla y del asfalto derivado del petróleo. Se puede producir por pirólisis a alta temperatura de materias primas orgánicas como el carbón y el petróleo.

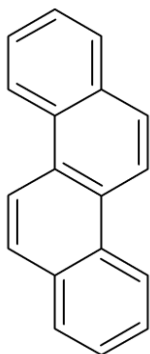
Propiedades toxicológicas por todas las rutas (inhalación, ingestión, contacto dérmico), los efectos de la exposición pueden incluir quemaduras por contacto en la piel y los ojos, náuseas, taquicardia, arritmias cardíacas, daño hepático, edema pulmonar y paro respiratorio, carcinógeno ocupacional.



Benzo(a)antraceno

Se encuentra principalmente en gases de escape de gasolina y diésel, tabaco y humo de cigarrillos, alquitrán de hulla y alquitrán de hulla, emisiones de carbón, alimentos a base de carbón, aminoácidos, ácidos grasos y productos de pirólisis de carbohidratos, humo de hollín y madera, y creosota, asfalto y aceites minerales.

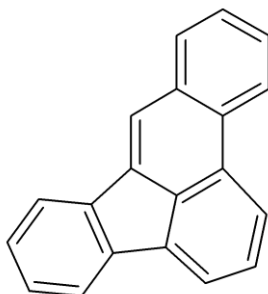
Razonablemente anticipado para ser un carcinógeno humano, se sospecha que causa defectos genéticos (mutagenicidad de células germinales), muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.



Criseno

Utilizado para fabricar otros productos químicos.

El peligro principal es la amenaza para el medio ambiente. Deben tomarse medidas inmediatas para limitar la propagación al medio ambiente. Tóxico por ingestión.

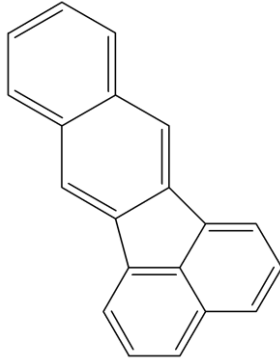


Benzo(b)fluoranteno

Se encuentra principalmente en gases de escape de gasolina, tabaco y cigarrillos, alquitrán de hulla, hollín, aminoácidos y productos de pirólisis de ácidos grasos.

Está clasificado como posible carcinógeno en humanos, muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos, estudios en animales han demostrado causar cáncer y tumores en la piel.

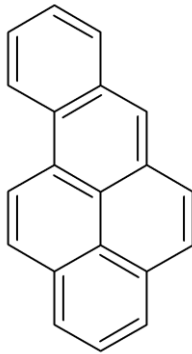
Continúa en la siguiente página



Benzo(k)fluoranteno

Se encuentra principalmente en gases de escape de gasolina, tabaco y cigarrillos, alquitrán de hulla, hollín, aminoácidos y productos de pirólisis de ácidos grasos.

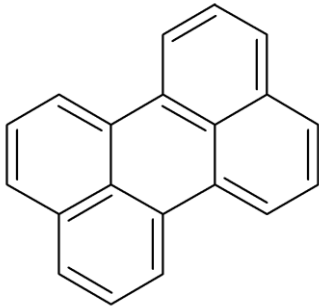
Está clasificado como posible carcinogénico en humanos, muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos, estudios en animales han demostrado causar cáncer y tumores en la piel.



Benzo(a)pireno

Adhesivos, productos químicos sellantes, combustibles y aditivos de combustibles.

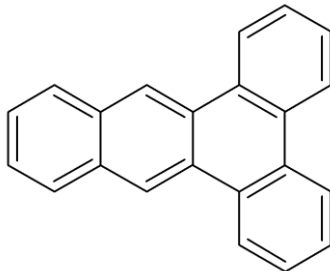
Es un potente mutágeno y carcinógeno. Es un problema de salud pública debido a sus posibles efectos en los trabajadores industriales, como contaminante ambiental y como componente del tabaco.



Perileno

Se utiliza como sonda de lípidos fluorescentes en la citometría de las membranas y en la fabricación de semiconductores orgánicos. Se ha identificado en el humo de cigarrillo, las emisiones de la quema de carbón, los aceites de motor nuevos y usados y las gasolinas.

La exposición puede ocurrir por inhalación, la ingestión de alimentos y agua potable, y el contacto dérmico. Mutagénico, tiene propiedades bioacumulativas potencial.



Dibenzo(a,c) antraceno

Utilizado para fabricar otros productos químicos.

Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación, carcinogénico, mutagénico, tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos, contaminante tóxico del aire.

Los HAPs, han estado presentes en el medioambiente desde los inicios de la vida del hombre, ya que además son compuestos naturales. Sin embargo, las actividades industriales intensas han provocado un aumento importante de la cantidad de HAPs en los compartimientos ambientales. Los HAPs emitidos al ambiente por diversas actividades antropogénicas pueden estar presentes en la atmósfera en fase gaseosa o asociados a partículas, su bajo peso molecular favorece a que las corrientes de aire faciliten su dispersión a grandes distancias, depositándolos así en aguas y suelos alejados de la fuente que los originó.

Los HAPs se clasifican según su origen en: biogénicos, pirogénicos y petrogénicos. Usualmente los HAPs con menos de 6 anillos aromáticos se consideran pequeños (mayormente biogénicos y pirogénicos) y cuando son mayores a este número de anillos son llamados grandes (comúnmente petrogénicos) (Haritash y Kaushik, 2009). Los HAPs biogénicos son producto de procesos metabólicos de organismos microscópicos, entre estos los de las termitas, los cuales han evidenciado que aportan naftaleno al suelo (Wilcke y col., 2005). Los HAPs pirogénicos son producto de la combustión incompleta de todo material orgánico, incluyendo: hidrocarburos y carbón mineral. Actualmente, la combustión de materiales orgánicos (quema agrícola o de biomasa, incineración de residuos, centrales termoeléctricas, prácticas domésticas de cocina, procesamiento de alimentos, escapes de automóviles de combustión interna, etc.), se reconoce como la principal fuente de HAPs en los diferentes compartimientos ambientales, esto como consecuencia del transporte atmosférico a larga distancia que pueden tener estos contaminantes antes de su deposición atmosférica (Thiele y Brummer 2002; Cram y col., 2004; Sudip, Singh, y Jain, 2002). Los HAPs petrogénicos son derivados del petróleo, sus principales compuestos incluyen homólogos alquilados (con radicales) y no sustituidos (compuestos padres) de naftalenos, fluorenos, fenantrenos, dibenzotiofenos y crisenos (Johnsen y Karlson 2007).

En las refinerías de petróleo, mediante diversos procesos el petróleo crudo se convierte en diferentes productos tales como éter de petróleo, combustible para aviones, gasolina, combustible diesel, combustible para calefacción, queroseno,

asfalto, aceite lubricante, ceras y gas licuado de petróleo (GLP), etc. Estos procesos de refinamiento causan la liberación de diferentes contaminantes en el ambiente, entre ellos los HAPs (Varjani, Gnansounou, y Pandey, 2017). Siendo un país dependiente del petróleo y sus derivados para la gran mayoría de sus actividades productivas, la contaminación por HAPs es un asunto prioritario por atender (Olivares, Salazar, Nájera, Godínez, y Vega, 2018; A. C. F. Ruiz y col., 2016; Salazar, Schifter, y González, 2010; Schifter, González, Salazar, Sánchez, y González, 2015). En la tabla 3, se muestra como la contaminación por estos compuestos se encuentra presente tanto en zonas de extracción y refinerías petroquímicas, como en sitios remotos a las zonas petroleras, como puede observarse, y debido a las propiedades fisicoquímicas de los HAPs, el compartimiento más afectado son los sedimentos donde son adsorbidos fuertemente. En menor proporción, y a pesar de la poca solubilidad de los HAPs, el agua superficial también ha sido impactada por estos compuestos (Río González, Tabasco; Estero Urias, Sinaloa; Lago Tecocomulco, Hidalgo; Cenotes, Quinta Roo). Particularmente, resalta el hecho de que sitios rurales y turísticos ajenos a la actividad petrolera han sido diagnosticados con contaminación por HAPs (Ruíz-Fernández y col., 2014; Piazza y col., 2009; Romo y col., 2010; Botello y col., 2015; Medina y col., 2014).

Tabla 3. Sitios contaminados por HAPs en México.

Sitio de Estudio	Clasificación	Tipo de muestra	Concentraciones HAPs Totales	Referencias
Lago de Santa Elena y El Tule, Jalisco	Zona Rural	Suelo	24 -139 ng/g	Ruiz-Fernández y col., 2014
Lago de Santa Elena y El Tule, Jalisco	Zona Rural	Sedimentos	50 - 853 ng/g	Ruiz-Fernández y col., 2014
Lago Espejo de los Lirios, Estado de México	Zona Urbana	Sedimentos	122 ng/g	Piazza y col., 2009
Laguna Las Matas, Veracruz	Humedal	Sedimentos	259 -1 176 ng/g	Ruiz-Fernández y col., 2012

Lago de Chalco, Valle de México	Zona urbana, Vertedero	Sedimentos	287 ng/g	Piazza y col., 2008
Lago de Texcoco, Valle de México	Zona Urbana	Sedimentos	95 ng/g	Piazza y col., 2008
Río Coatzacoalcos, Veracruz	Zona Petroquímica	Sedimentos	6 - 84 ng/g	Ruiz-Fernández y col., 2016
La Ventosa, Oaxaca	Zona Petroquímica	Sedimentos	22 - 6 850 µg/kg	Salazar, Schifter y González, 2010
Terminal Dos bocas y Río González, Tabasco	Puerto Petrolero	Agua	35.48 -164.24 µg/L	Schifter y col., 2015
Estero Urias, Sinaloa	Zona Urbana	Agua	9 - 347 ng/L	Jaward y col., 2012
Estero Urias, Sinaloa	Zona Urbana	Sedimentos	27 - 418 ng/g	Jaward y col., 2012
Río Lerma, Guanajuato	Zona Industrial	Sedimentos	2 935 - 28 430 µg/kg	Brito y Col., 2015
Lago Tecocomulco, Hidalgo	Zona Rural y Zona Urbana	Agua	1.5 - 2.4 mg/L	Romo y Col., 2010
Golfo de México	Plataforma continental	Sedimentos	0.01 - 0.070 µg/g	Botello y Col., 2015
Cenotes, Quintana Roo	Zona Turística	Agua	0.53 - 9.67 mg/L	Medina y col., 2014
Sonora, Sinaloa, Oaxaca y Veracruz	Zonas Costeras	Sedimentos	14.9 - 287 ng/g	Piazza y col., 2008
Sonora, Sinaloa, Nayarit y Jalisco	Lagunas Costeras y Bahía natural	Tejido de Ostras de Manglar	120 - 3520 ng/g	Páez y col., 2002
Veracruz	Lagunas Costeras	Sedimentos	1.1 - 18.2 µg/g	Botello, Calva, y Ponce, 2001

Entre los numerosos daños a la salud por HAPs reportados, diferentes artículos sugieren que existe una significativa relación entre la presencia de refinерías de petróleo y el incremento de efectos adversos a la salud en trabajadores y personas que viven en áreas cercanas a estas industrias, particularmente enfermedades respiratorias y cáncer (Calderon, 1993; Ewa y Danuta, 2017; Montañó y Garza, 2014; Pruneda y col., 2016; Sánchez y col., 2012; Schifter y col., 2015). Sin embargo, un amplio número de estudios realizados en México han demostrado que no solo la exposición ocupacional debido a la industria petroquímica se ve relacionada con los daños a la salud causados por los HAPs, por ejemplo, la exposición a los HAPs producidos en la producción de aluminio y cobre ha sido relacionada con daños en el ADN de niños de diferentes áreas del país (Jasso, Díaz,

Yáñez, Pérez, y Pérez, 2015); la contaminación del aire por HAPs en zonas urbanas por el intenso tráfico vehicular, fue ligada a la formación de aductos de ADN (Barradas y col., 2017; García y col., 2011); la exposición a humos por la quema de material orgánico para diferentes fines, principalmente para la cocción de alimentos, está asociado a disfunciones o enfermedades cardiovascular y metabólicas causadas por HAPs (Ochoa, Ruíz, Almendarez, Orta, y Pérez, 2017; Ruiz y col., 2015); y la ingesta de alimentos contaminados por HAPs (pescados, mariscos, leche, agua, etc.), la cual es una de las principales rutas de exposición (Balcioğlu, 2016; Gutiérrez, Vega, Ortiz, Pérez, y Schettino, 2015; Santonicola y col., 2017; Sarma, Blais, y Chan, 2017; Vega y col., 2011; Zelinkova y Wenzl, 2015) está relacionada con la formación de aductos de ADN y el aumento del riesgo de cáncer (Nasher, Heng, Zakaria, y Surif, 2016; Penning, 2014; Sushmita y Field, 2013). Por otro lado, estudios en otros países sugieren que la exposición prenatal a altas concentraciones de HAPs aéreos afecta el desarrollo cognitivo en niños menores de 5 años con implicaciones potenciales para el desempeño escolar (Perera y col., 2006; Edwards y col., 2010). Asimismo, Sarma y col. (2017), demostraron daño celular neuronal inducido por HAPs en células humanas.

En el medio acuático, diferentes organismos han sido utilizados como modelos experimentales para estudiar los efectos toxicológicos de los HAPs y como biomonitores para evaluar su impacto en el ambiente y la biota. Utilizando pez cebra "*Danio rerio*" como sistema modelo, ensayos *in vivo* demostraron que estos organismos al ser expuestos a diferentes HAPs disminuían su capacidad respiratoria, aumentando la respiración no mitocondrial y disminuyendo la respiración mitocondrial (Raftery, Jayasundara, y Di Giulio, 2017). Otro estudio que tuvo por objetivo evaluar el efecto de exposición a Benzo[a]Pireno (B[a]P) en la herencia transgeneracional, evaluó 3 generaciones de pez cebra, la exposición durante el desarrollo dio lugar a una disminución de los niveles globales de metilación del ADN y en general redujo la expresión del ADN Metiltransferasa, evidenciando así, que la exposición a B[a]P durante el desarrollo dio como resultado la herencia transgeneracional de deficiencias neuroconductuales y fisiológicas (Knecht y col., 2017). El estudio de Gao y col. (2015), tuvo como objetivo determinar

si la exposición crónica a dosis bajas de B[a]P causaría síndromes similares a enfermedades neurodegenerativas en el pez cebra, los efectos observados de la exposición fueron la disminución de la relación entre el peso del cerebro y el peso corporal, la actividad locomotora y la capacidad cognitiva; indujo la pérdida de neuronas dopaminérgicas; y dio lugar a la neurodegeneración. Además, se encontró una apoptosis de células obvias en el cerebro, por lo que estos hallazgos sugieren que la exposición crónica a dosis bajas de B[a]P podría causar las características de comportamiento, neuropatológicas, neuroquímicas y genéticas de las enfermedades neurodegenerativas. De forma similar, para evaluar la toxicidad del B[a]P en el desarrollo, embriones de pez cebra fueron expuestos a B[a]P y utilizando el sistema Zebbox de Viewpoint se evaluó la respuesta fotomotora de larvas, obteniendo como resultado un fenotipo de respuesta fotomotora hiperactivo; además, para determinar si la exposición a B[a]P en el desarrollo produciría deficiencias en el comportamiento, un subgrupo de organismos modelo se llevaron a la edad adulta, donde se les hizo una prueba de estímulos mediante “shuttleboxes”, el pez cebra expuesto a B[a]P durante el desarrollo exhibió disminución del aprendizaje y de memoria, de este modo los resultados demuestran que la exposición a B[a]P durante el desarrollo tiene un impacto adverso en el comportamiento de las larvas y el aprendizaje en el pez cebra adulto (Knecht, Truong, Simonich, y Tanguay, 2017). En la investigación de Huang y col. (2014) se utilizaron patrones transcripcionales globales para estudiar los efectos potencialmente tóxicos de B[a]P, así como sus mecanismos toxicológicos subyacentes. Los resultados mostraron que el B[a]P podría afectar los procesos de mantenimiento y fototransducción de los fotorreceptores, las larvas expuestas mostraron una disminución de respuesta a la luz y de densidad celular de la capa de células ganglionares. Estos resultados sugieren que la exposición a B[a]P induce defectos y disfunciones en el desarrollo del sistema visual por la perturbación de genes relacionados con el desarrollo de fotorreceptores. Por otro lado, en el estudio de Pillai y col. (2003), se utilizaron embriones de erizo de mar “*Lytechinus anémesis*” como sistema experimental para investigar los mecanismos de toxicidad de diversos HAPs y la creosota durante el desarrollo embrionario, los datos sugieren que los HAPs y la creosota afectan el desarrollo axial y los patrones en los embriones de

erizo de mar al interrumpir la regulación de la β -catenina, un coactivador transcripcional crucial de genes diana específicos en la vía de señalización Wnt/wg.

En organismos filtradores, como los moluscos bivalvos, los mejillones "*Mytilus galloprovincialis*" se han utilizado para monitorear la cinética de bioconcentración de los mejillones después de la exposición de corto plazo a HAPs y a la mezcla de estos, los resultados toxicológicos sugieren que hay un efecto aditivo y sinérgico cuando los HAPs se encuentran en mezcla, ya que hubo una mayor bioconcentración de los HAPs en mezcla, que de los HAPs individuales (Rey, Martínez, Cid, y Simal, 2017). El estudio de Fabbri y col. (2006), determino la bioacumulación de HAPs en mejillones "*Mytilus galloprovincialis*" trasplantados en una laguna costera, la concentración de HAPs aumentó de niveles indetectables en mejillones de referencia a 60 ± 1 ng/g peso seco de pireno en los mejillones trasplantados, los resultados sugieren que existe contaminación por HAPs pirogénicos en la laguna costera. Otra investigación evaluó la concentración de HAPs en tejido de peces y crustáceos silvestres del golfo de Tehuantepec en México, encontrando concentraciones de hasta 83.5 ng/g peso seco de acenaftileno en tejido muscular de peces y crustáceos, los resultados obtenidos de la investigación pueden utilizarse para establecer una referencia de los niveles de contaminación por HAPs en la biota de la zona y considerarse para futuros biomonitoreos (Rodríguez, Espinosa, y Flores, 2015). Desde otro punto de vista, macroalgas y pasto marino fueron utilizados como bioindicadores de contaminación por HAPs en una laguna costera mexicana, se detectaron los HAPs totales en un intervalo de <0.01 hasta 16.03 μ g/g, siendo los compuestos principales de origen pirogénicos. Se concluye que el pasto marino acumuló una mayor concentración de HAPs que las macroalgas y que ambas especies pueden ser utilizadas como bioindicadores útiles para evaluar la contaminación por HAPs en sistemas costeros (Calva y Alvarado, 2008).

Conforme a lo anteriormente mencionado, se puede afirmar que los HAPs tienen efectos graves en los ecosistemas y la salud humana, y debido a su alta persistencia y distribución en el ambiente, el amortiguamiento natural (foto-oxidación, oxidación

química y biotransformación) no es suficiente, por lo que para disminuir los efectos adversos de estos contaminantes es necesario implementar novedosos tratamientos. La biocatálisis ambiental es la aplicación de enzimas o biocatalizadores para la transformación de sustancias contaminantes, con el fin de lograr la reducción o eliminación del impacto ambiental de dichas sustancias (Torres y Albores, 2014). Dada las bondades de la biocatálisis ambiental (las enzimas son biodegradables y su uso no requiere de equipos especializados ni de consumo energético), esta tecnología sustentable representa una alternativa potencialmente atractiva para la eliminación de HAPs en los ecosistemas costeros.

4.8 Estructura legal sobre HAPS.

Los HAPs son uno de los contaminantes orgánicos más extendidos en el ambiente, sus características fisicoquímicas los hacen persistentes, móviles, bioacumulables y tóxicos, por lo que representan un riesgo potencial para la salud humana y los ecosistemas (Balcioğlu, 2016; Ewa y Danuta, 2017; Wu y col., 2014). Considerando que existen múltiples fuentes de contaminación por HAPs en los ecosistemas costeros y marinos (por ejemplo, contaminación por derrames de petróleo procedentes de buques y accidentes de transporte marítimo; contaminación del aire por la combustión de material orgánico o combustibles y su deposición atmosférica; escorrentía terrestre, ya sea por vertidos municipales o de aguas residuales industriales, etc.) (Hylland, 2006; Lienig, 1980), resolver la problemática en la Laguna de Mandinga, involucra múltiples esfuerzos y compromisos tanto de investigadores, tomadores de decisiones, políticos, economistas, inversionista, ingenieros, organizaciones no gubernamentales, la comunidad del área de influencia y más.

Desde el ámbito político, en los años 80's, dentro de la política general de ecología se consideraba de significativa importancia el aprovechamiento racional y la prevención y control de la contaminación del agua, así como la protección de la flora y la fauna acuáticas. Por lo que se contaba con dos instrumentos políticos que precisaban a los HAPs (individuales y totales) dentro de sus parámetros y limitaban

los niveles permisibles de estos contaminantes en el agua (para diversos usos) y en los ecosistemas acuáticos: los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89 (D.O.F. 13 Diciembre 1989); y el Reglamento de Prevención y Control de la Contaminación del Agua (D.O.F. 29 Marzo 1973). Estos instrumentos, con el paso del tiempo sufrieron cambios y terminaron derogados, aunque, esto no significa que actualmente no se cuente con un marco legal que busque la protección de los ecosistemas y el control de la contaminación, evidencia de esto la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, Límites Máximos Permisibles de Contaminantes en las descargas de Aguas Residuales en Aguas y Bienes Nacionales (D. O. F. el 6 de enero de 1997); y los Indicadores de la Calidad del Agua en México de CONAGUA. Sin embargo, estos instrumentos legales no consideran dentro de sus parámetros a los HAPs, y en mi opinión, son estructuras políticas demasiado flexibles porque no toman en cuenta contaminantes que anteriormente si se estimaban (como el caso de los HAPs) y por ignorar a los nuevos tipos de contaminantes.

Por otro lado, en el sector de hidrocarburos la Norma Oficial Mexicana NOM-016-CRE-2016-Especificaciones de calidad de los petrolíferos, establece el porcentaje en volumen de hidrocarburos aromáticos y naftalenos permitido en productos como la gasolina, el diésel y la turbosina con valores de 25 al 35 % vol., y los métodos de prueba para la verificación del cumplimiento. Análogamente en territorio internacional, la Unión Europea cuenta con la norma 16143:2013 - Productos petrolíferos. Determinación del contenido de benzo(a)pireno (BaP) y determinados hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en aceites diluyentes, lubricantes y fracciones de petróleo [Procedimiento con doble limpieza LC y análisis GC/MS], donde se considera que se respetan los límites permisibles si el extracto de HAPs es inferior al 3 % en peso.

Relativo a la calidad del agua destinada al uso y consumo humano, México no considera a los HAPs dentro de sus parámetros de calidad, por el contrario EE.UU., la Unión Europea, Canadá, Polonia, Noruega y Gales evalúan la concentración (ng/L) de 10 HAPs prioritarios (Consejo de la Unión Europea, 1998; World Health

Organization, 1998). Y en el caso de los alimentos obedecen a lo mismo, mientras que nuestras normas no consideran entre sus criterios de sanidad, inocuidad y calidad el contenido máximo de HAPs en productos alimenticios, la Unión Europea, EE.UU., Canadá, China y Brasil si establecen regulaciones para diferentes HAPs en productos como leche, fórmulas para lactantes, aceite de oliva, moluscos bivalvos, vegetales, frutos secos, carne y cereales (Zelinkova y Wenzl, 2015). En contraste, de acuerdo con la COFEPRIS (2017), en el territorio nacional (Baja California, Colima, Chiapas, Sinaloa, Sonora y Yucatán) existen empresas procesadoras de moluscos bivalvos certificadas para exportar a los EE.UU., Canadá y la República Popular China, las cuales cumplen con los límites máximos de HAPs establecidos en dichos países.

Todo lo anterior manifiesta la fundamental necesidad de crear una estructura legal (leyes, normas, reglamentos, etc.), que regule y gestione integralmente las emisiones y descargas de los HAPs en el ambiente; y que de forma preventiva evalúe y monitoree los cambios en las condiciones ambientales para con esto proteger a la sociedad contra riesgos sanitarios e impedir la irreparable degradación ambiental de la Nación.

4.9 Biocatálisis Ambiental

Las enzimas son moléculas de proteína que tienen la capacidad de facilitar y acelerar las reacciones químicas, es decir, sustancias que sin consumirse se combinan de modo transitorio con los reactivos para alcanzar un estado de transición de menor energía de activación, y una vez formados los productos quedar libres. La conformación tridimensional nativa de la enzima resulta indispensable para que esta desempeñe su función (Figura 5b). Las enzimas presentan un centro activo, cavidad existente en la superficie de la enzima compuesta por una serie de aminoácidos, los cuales interactúan con el sustrato mediante un acoplamiento espacial y químico (Figura 5a). Las enzimas suelen ser mucho más grandes que sus sustratos y en ocasiones requieren la participación de otras moléculas más

pequeñas no polipeptídicas como las coenzimas o los iones metálicos llamados cofactores.

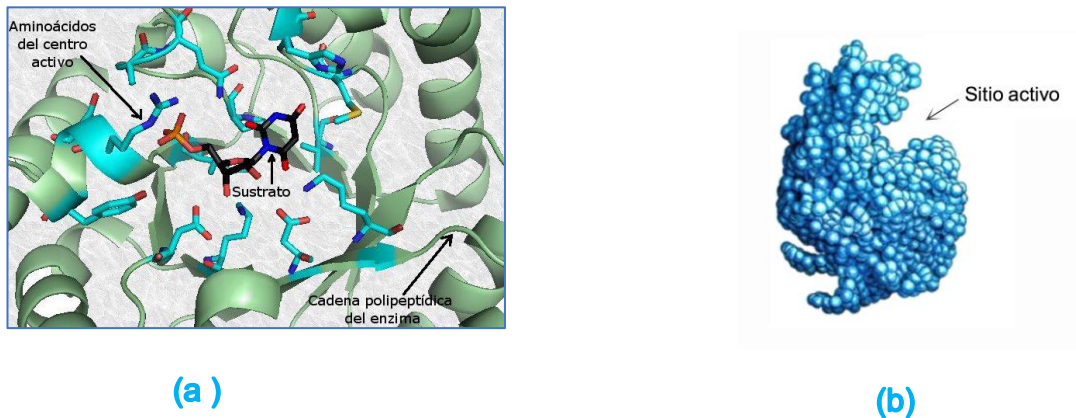


Figura 5. (a) Ilustración del sitio activo de una enzima y estructura tridimensional (b). (Elaboración propia, 2016).

Las enzimas son catalizadores muy potentes en cuatro aspectos: Son muy eficaces, catalizando reacciones frecuentemente 10^8 - 10^{11} veces más rápidas que los catalizadores no enzimáticos correspondientes. Estas velocidades pueden alcanzarse incluso aunque las reacciones catalizadas por enzimas requieran condiciones mucho menos extremas de temperatura, pH y presión, y las reacciones se produzcan en el solvente más barato, seguro y abundante, el agua.

En segundo lugar, el rango de las reacciones catalizadas es extremadamente amplio, pudiéndose catalizar muchos más tipos de reacciones que con los catalizadores químicos. En tercer lugar, las enzimas son muy específicas en cuanto al tipo de reacción catalizada, las enzimas pueden ser específicas para las estructuras del sustrato y el producto formados, de tal forma que frecuentemente solo un compuesto químico presente en una mezcla de compuestos muy similares se transforma con total fidelidad en un único producto, lo que puede dar lugar a rendimientos más altos y potencialmente a menos contaminantes producidos por reacciones laterales. Por último, las enzimas están sujetas naturalmente a diversos controles como el de la velocidad de síntesis y degradación.

La actividad enzimática se caracteriza por la formación de un complejo enzima-sustrato y por la naturaleza polifuncional de la catálisis, ya que aparecen combinados grupos activos, junto con algunos iones metálicos ligados. Cada grupo es individualmente un reactivo pobre pero su acción se ve facilitada primeramente por el medio ambiente hidrofóbico local, creado porque el centro activo de la enzima tiende a excluir el agua de él aumentando las reacciones orgánicas que se producen, y en segundo lugar, por la capacidad de la enzima para concentrar las moléculas de sustrato, aumentando así su concentración local y por tanto la velocidad de reacción.

La actividad de una enzima se determina a partir de la concentración de la enzima, la concentración del sustrato y su disponibilidad, la concentración de los cofactores, la presencia, concentración y tipo de inhibidores, y la función iónica, el pH y la temperatura del medio. La cinética enzimática estudia la forma en que todos estos parámetros influyen en la actividad enzimática.

El conocimiento profundo de las enzimas se ha alcanzado hasta años recientes, gracias a los conocimientos aportados de distintas disciplinas como son la química de proteínas, la biofísica y la biología molecular, etc. La investigación de las enzimas ha permitido combatir diversos aspectos como la baja actividad, la frágil naturaleza, la disponibilidad y la desactivación de la proteína. Esto con el fin de alcanzar niveles suficientemente altos de estabilidad, actividad, selectividad y la funcionalidad operativa, para así lograr la completa aplicación de la biotecnología enzimática en procesos productivos.

El uso de biocatalizadores ha incrementado en diferentes sectores económicos que se detallan en la figura 6, esto debido a que representan una alternativa eficaz y sustentable a la que ofrecen los catalizadores químicos. La sustentabilidad de un proceso se vincula con la demanda de energía y materia prima, la producción de residuos, la estabilidad y seguridad de los procesos, y la calidad de los productos. La industria química es uno de los sectores económicos más grandes del mundo,

actualmente la aplicación de enzimas en este sector corresponde al 2% del mercado, tan sólo 25 billones de dólares. Bioprocesos como el de la nitrilasa para producir acrilato de amonio, de Ciba en Reino Unido; el de D-Amino ácido oxidasa, glutaril amidasa para producir 7-aminocefalospolánico de Biochemie en Alemania.

Por mencionar algunos ejemplos de los diferentes sectores económicos está el de la L-asparaginasa en el tratamiento de ciertas leucemias para eliminar el ácido aspártico de la sangre, la enzima se administra de forma inmovilizada como cápsulas de ácido poliláctico (Guilleme, Delgado, y Navarro, 2013). En los procedimientos analíticos desarrollados para la determinación de proteínas de leche en los alimentos, ELISA (Enzima ligada a ensayos de inmunoabsorción) es el método más comúnmente utilizado tanto para detectar y cuantificar los alérgenos de proteínas ocultos. Respecto a los combustibles, el “bioetanol” procede de la fermentación de la glucosa obtenida previamente por hidrólisis enzimática del almidón (normalmente de maíz, aunque presente en otras fuentes vegetales), proceso biocatalizado por distintas enzimas como las amilasas, las glucoamilasas y las pululanases (Arroyo y col., 2014).



Figura 6. Aplicación de biocatalizadores en diversos sectores económicos

El complejo deterioro ambiental ocasionado por las diferentes actividades humanas sobre los ecosistemas es uno de los principales retos a los que se enfrenta la humanidad en la actualidad. El desarrollo y el progreso de la sociedad están vinculados con la capacidad de generar nuevas y renovables fuentes de energía, así como con el mejoramiento de los procesos productivos con relación al ambiente. Sin embargo, tan solo la producción anual de contaminantes peligrosos de Estados Unidos es de 8 billones de libras, los cuales sólo el 10% de estos son dispuestos de forma segura. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) ha clasificado numerosos contaminantes químicos como contaminantes prioritarios, esto debido a sus efectos tóxicos en el ambiente y la salud humana. Entre estos compuestos se encuentran los hidrocarburos policíclicos aromáticos policíclicos (HAPs), como el antraceno y el pireno, los bifenilos policlorados (BPC), los retardantes de flama, como el hexabromobifenilo, el pentaclorofenol (PCF), el trinitrotolueno (TNT), los plaguicidas organoclorados, como el Aldrín y la clordecona, etc.

En México estudios realizados en los últimos años describen afectaciones de especies y de seres humanos expuestos a compuestos orgánicos persistentes. En la Bahía de Chetumal se presentó en 1996 un evento de mortalidad masiva en bagres en los que se detectó una acumulación de diversos plaguicidas organoclorados, bifenilos policlorados, e hidrocarburos aromáticos policíclicos en el hígado y lesiones a nivel histológico en diferentes órganos. La bahía resultó en un ecosistema tan impactado que ahí se encontraron peces con cáncer por primera vez en México (Olvier y col., 2002) .

En muchas ocasiones los tratamientos ambientales convencionales no son del todo satisfactorios, al punto que se ha detectado que muchos compuestos persisten sin alteración alguna aún después de aplicar métodos físicos y químicos. Recientemente los tratamientos por métodos biológicos han mostrado efectiva degradación en una amplia variedad de contaminantes. La versatilidad metabólica de las bacterias les permite degradar compuestos aromáticos (Anjaneyulu y col.,

2005), la remoción y decoloración de colorantes en aguas residuales (Pearce y col., 2003; Rai y col., 2005; Parshetti y col., 2006), y la degradación de contaminantes orgánicos y compuestos xenobióticos (Hatakkay y col., 2001; Rigas y col., 2005; Kornilowicz-kowalska y col., 2006; Soares y col., 2006).

Con el afán de resolver los problemas asociados con los métodos de tratamiento tradicionales, las enzimas están siendo desarrolladas como herramientas biotecnológicas que formen parte de procesos limpios y eficientes energéticamente para la prevención, el control y la remediación de contaminaciones ambientales. La transformación enzimática de abundantes compuestos contaminantes tiene como propósito reducir su toxicidad e incluso hacerlos inocuos como alternativa para la completa degradación.

Se han explorado diversas fuentes de enzimas en la naturaleza, cada una con características particulares con relación a la función biológica que realizan. Considerables enzimas oxidativas como las peroxidasas y las fenoloxidasas han sido reportadas como catalizadores en la transformación de un amplio rango de compuestos contaminantes. Las peroxidasas son enzimas que se encuentran ampliamente distribuidas en plantas, animales y microorganismos. Catalizan la oxidación de una gran variedad de sustratos orgánicos e inorgánicos (donadores de hidrógeno) utilizando como uno de sus sustratos al peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Recientemente enzimas peroxidasas como la lignina peroxidasa (LiP), la manganeso peroxidasa (MnP), la peroxidasa de rábano picante (HRP), el citocromo P450, el citocromo c y la hemoglobina han sido utilizadas como biocatalizadores en la transformación de HAPs. Estudios sobre la manganeso peroxidasa obtenida del hongo "*phanerochaete chrysosporium*" han demostrado una completa degradación del antraceno en una mezcla de solventes orgánicos. De forma *in vitro* la degradación del fenantreno, el antraceno, el fluoranteno y el pireno a diferentes concentraciones por la manganeso peroxidasa fue probada (Baborova y col., 2006). Usando el citocromo P450 en una reacción en presencia de peróxido de hidrógeno, fenantreno, fluoranteno, pireno y benzo(a)pireno fueron oxidados, dando

fundamentalmente productos hidroxilados y quinonas (Bogan y col., 1996). Como resultado estos productos oxidados son más fáciles de degradar, menos tóxicos, significativamente menos mutagénicos e incluso no mutagénicos.

Los fenoles y sus compuestos son contaminantes ubicuos del agua que están presentes en los efluentes de una gran variedad de industrias químicas como las refinerías de carbón, las productoras de fenoles, la industria farmacéutica, y las industrias de resinas, pinturas, textiles, peleteras, petroquímicas y celulosas (Nicell y col., 1993). Los fenoles son conocidos por ser compuestos tóxicos y algunos de ellos son peligrosos cancerígenos además de que pueden acumularse en las cadenas alimenticias. La enzima peroxidasa de rábano ha sido evaluada como oxidante de diversos fenoles entre estos el mecanismo de reacción del 2,6-diclorofenol fue caracterizado con espectrofotometría y espectrometría de masas (Laurenti y col., 2003). Una solución acuosa de 5 fenoles diferentes tratada con esta enzima dio como resultado el 95% de remoción de los fenoles dentro de las primeras 3 horas (Wagner y Nicell 2002).

Los colorantes sintéticos son esencialmente compuestos orgánicos aromáticos y pueden ser clasificados como catiónicos (colorantes básicos), aniónicos (colorantes directos, ácidos y reactivos) y no iónicos (colorantes dispersos) (Kaushik y Malik, 2009). Los colorantes sintéticos son especialmente usados en la industria textil, pero también tienen otras muchas aplicaciones como en la industria del papel, la peletera y alimenticia (Torres y col., 2003). La decoloración catalizada por enzimas peroxidadas de ocho colorantes sintéticos como los colorantes azo, colorantes antraquinónicos y colorante índigo fue examinada en cultivos del hongo de pudrición blanca, se determinó que cerca del 80% del color fue removido por la lignina peroxidasa y el rango de decoloración incrementó linealmente de acuerdo a la dosificación de la misma (Young y Yu, 1997). En otro caso se evaluó la acción catalítica de la manganeso peroxidasa en la degradación in vitro de colorantes con estructuras complejas con dos formas diferentes de suministrar el peróxido de hidrógeno, una por lote cada hora y otra semicontinua cada cinco minutos. El

tratamiento enzimático no sólo catalizó la transformación de los grupos cromóforos sino que también rompió notablemente las estructuras químicas de los colorantes.

Así como estos ejemplos, en la tabla 4 (Husain y col., 2008) se mencionan otros estudios sobre la aplicación de diversas peroxidasas para el tratamiento ambiental de diferentes contaminantes orgánicos.

Tabla 4. Aplicaciones ambientales de las peroxidasas (Husain y col., 2008).

Sustratos	Enzimas
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	MnP, LiP, Mn LiP, MnP + lac
Bifenilos policlorados y diferentes congéneres de bifenilos policlorados	HRP + lacasa, HRP + citocromo C
Fenoles y sus derivados	HRP
Colorante azo, colorantes sintéticos y antraquinonas	MnP, LiP, MnP + Lac, DyP
Compuestos xenobióticos	DyP

La información presentada fue tomada de Husain y colaboradores 2008. MnP, manganeso peroxidasa; LiP, lignina peroxidasa; Mn LiP, manganeso lignina peroxidasa; MnP + lac, manganeso peroxidasa y lacasa; HRP, peroxidasa de rábano picante; HRP + lacasa, Peroxidasa de rábano picante y lacasa; HRP + citocromo C, peroxidasa del rabano picante y citocromo c; DyP, peroxidasa decolorante de pigmento

5. FORMULACIÓN DE LAS PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.

La falta de atención al problema de la contaminación por HAPs, por la escasa estructura política y legal; la deficiente implementación y el incumplimiento de las regulaciones existentes; así como la ausencia de medidas para la mitigación y rehabilitación en los planes y proyectos públicos y privados; ha traído como consecuencia que el problema se incremente en los años recientes. Por lo que es necesario la implementación de propuestas de estudio para poder comprender y atender el problema de manera más integral, las propuestas deberán contener necesariamente la implementación de medidas de mitigación con tecnologías sustentables. Para este trabajo, se formularon las siguientes preguntas de investigación:

¿Cuál es la eficiencia de la oxidación de HAPs de la Laguna de Mandinga aplicando la tecnología de biocatálisis ambiental?

¿Cuál es el efecto del tratamiento biocatalítico usando la enzima manganeso peroxidasa en la toxicidad de los HAPs?

6. HIPÓTESIS.

La enzima manganeso peroxidasa tiene la capacidad de oxidar a los HAPs en muestras de agua de la Laguna de Mandinga en condiciones ambientales hacia compuestos menos tóxicos, mejorando así la calidad del agua.

7. OBJETIVO.

7.1 Objetivo General.

Determinar la eficiencia de la oxidación enzimática de HAPs en muestras de agua de la Laguna de Mandinga y evaluar la toxicidad de los HAPs y sus productos de oxidación enzimática como un parámetro de calidad del agua.

7.2 Objetivos Específicos.

- 1) Identificar la contaminación por HAPs en muestras de agua de la Laguna de Mandinga
- 2) Determinar la capacidad de oxidación de la enzima manganeso peroxidasa que tiene sobre los HAPs en sistemas modelos y en muestras de agua de la laguna.
- 3) Evaluar la toxicidad de algunos HAPs y de sus productos de oxidación enzimática utilizando como organismos modelos experimentales a los embriones de erizo de mar (*Lytechinus pictus*).

8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

8.1 Localización.

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Química-ICUAP, en el laboratorio de Bioinorgánica Aplicada, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Edif. IC 8, Ciudad Universitaria, Col. Jardines de San Manuel 72570, Puebla Pue., México.

Los muestreos se realizaron en la Laguna de Mandinga ubicada en el estado de Veracruz, entre los 19° 00' y 19° 06' de latitud norte y los meridianos 96° 02' y 96° 06' de longitud oeste, abarca los municipios de Alvarado, Medellín y Boca del Río (Figura 7).

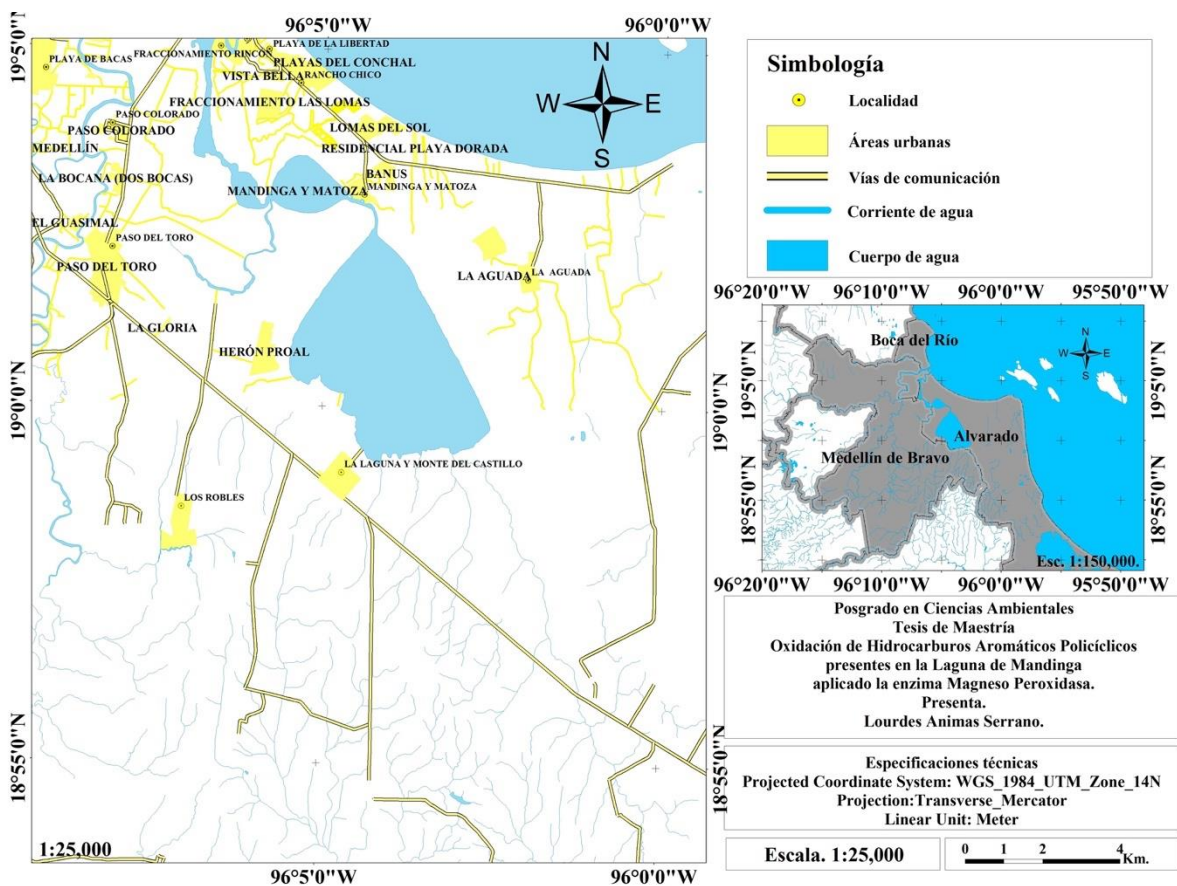


Figura 7. Localización del sitio de muestreo (Elaboración propia, 2017).

8.2 Fase de campo.

8.2.1 Establecimiento del experimento

Se recopiló información socioambiental del área geográfica de estudio para detectar las posibles fuentes de la contaminación por hidrocarburos aromáticos policíclicos. Así mismo se tomaron muestras de agua de la Laguna de Mandinga para su posterior análisis en el laboratorio.

8.2.2 Muestreos de campo

Se recolectaron muestras de agua en la Laguna de Mandinga en diferentes temporadas (temporada de lluvia y temporada seca). De la superficie del cuerpo de agua se colectó un volumen de aproximadamente 4 L de muestra en frascos de vidrio de color ámbar, de boca ancha y tapa de cubierta de politetrafluoroetileno, etiquetados e identificados. En caso de que existiera presencia de aceites emulsionados en el agua, la muestra se tomó de 20 cm a 30 cm de profundidad para asegurar una mayor representatividad, las muestra se preservaron a 4°C hasta su caracterización en el laboratorio.

8.3 Fase de laboratorio.

8.3.1 Establecimiento del experimento.

El siguiente esquema describe la estrategia experimental general realizada en este estudio (Figura 8).

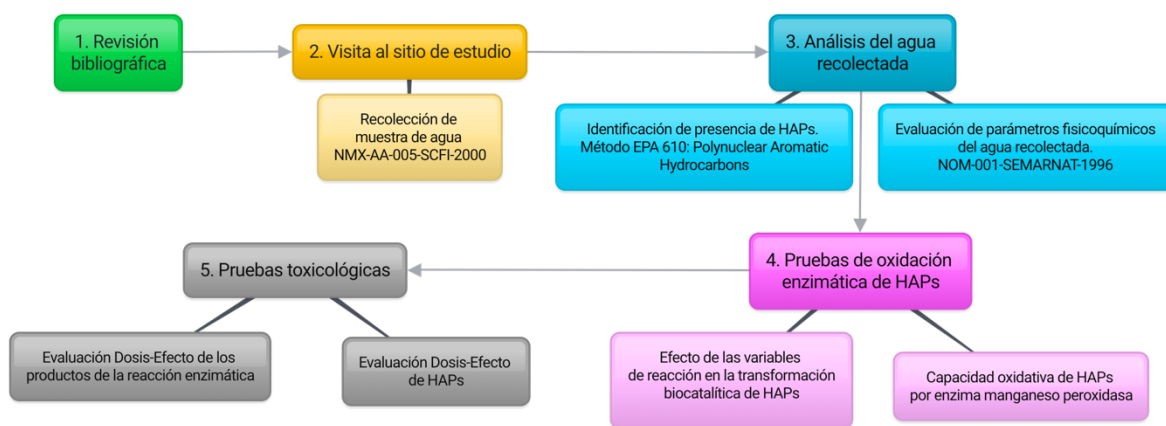
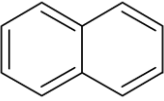
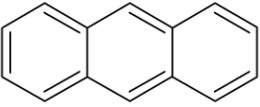
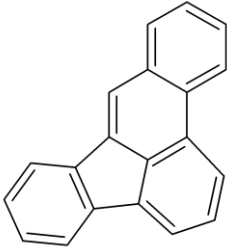
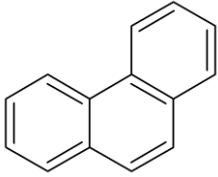
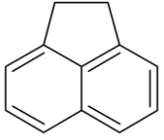
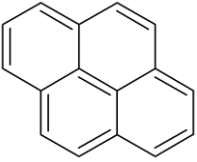
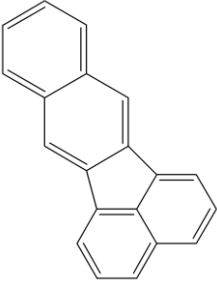
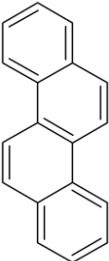
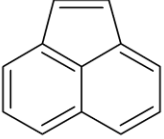
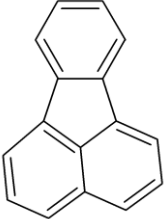
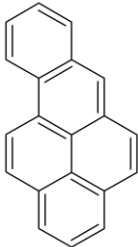
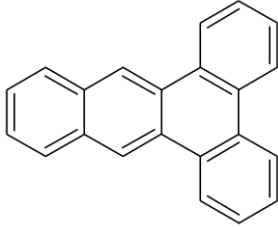
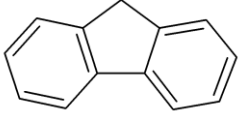
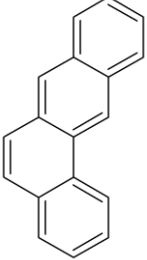
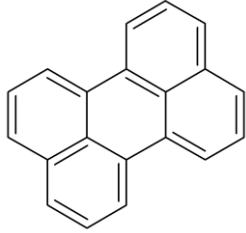


Figura 8. Diseño de la estrategia experimental (Elaboración propia,2017).

La Tabla 5 enumera los HAPs ensayados en este trabajo, estos se prepararon individualmente en isopropanol a una concentración de 200 μM (soluciones stock), para su posterior ensayo en las reacciones de transformación.

Tabla 5. Hidrocarburos aromáticos policíclicos denominados contaminantes prioritarios por la EPA (Elaboración propia, 2017).

Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)			
			
Naftaleno	Antraceno	Benzo(b)fluoranteno	Fenantreno
			
Acenafteno	Pireno	Benzo(k)fluoranteno	Criseno
			
Acenaftileno	Fluoranteno	Benzo(a)pireno	Dibenzo(a,c)antraceno
			
Fluoreno	Benzo(a)antraceno	Perileno	

8.3.2 Análisis del agua de la Laguna de Mandinga.

8.3.2.1 Evaluación fisicoquímica de las muestras de agua de la Laguna de Mandinga.

El análisis de las muestras de agua colectadas de la Laguna de Mandinga consistió en evaluar los parámetros fisicoquímicos que se consideran en la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 y en los indicadores de calidad del agua superficial de CONAGUA, estos son: conductividad, pH, sólidos disueltos totales, nitratos y fosfatos presentes. Además de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5), que mide la cantidad de oxígeno que requiere una población microbiana heterogénea para oxidar la materia orgánica de una muestra de agua en un periodo de 5 días (NMX-AA-028-SCFI-2001); y la demanda química de oxígeno (DQO), que se usa para medir el oxígeno equivalente a la materia orgánica oxidable mediante un agente químico oxidante, e indica el contenido de materia orgánica en muestras de agua (NMX-AA-030/1-SCFI-2012).

Asimismo, mediante el Fotómetro HANNA Instruments HI83099 y los kits HANNA (Tabla 6), se llevó a cabo una caracterización de las muestras para determinar los siguientes parámetros fisicoquímicos: cationes y aniones de Ca^{2+} , Fe, SO_4^{2-} y Mg^{2+} , además de P, Níquel y cloro libre.

Tabla 6. Kits utilizados en la caracterización de las muestras de agua de la Laguna de Mandinga.

PARÁMETRO MEDIDO	KIT UTILIZADO	MÉTODO	LONGITUD DE ONDA (NM)
Hierro	HI 93746-01	Adaptación del método TPTZ (2,4,6-Tri-(2-piridil) 5 triazina)	575
Sulfato	HI 93751-01	El sulfato es precipitado con cristales de cloruro de bario	466
Fosfato RB	HI 93713-01	Adaptación del método de ácido ascórbico	610
Nitrato	HI 93728-01	Adaptación del método de reducción de cadmio	525
Magnesio	HI 937520-01	Adaptación del método calmagita	466
Cloro libre	HI 93701-01	Adaptación del método EPA DPD 330.5	525
Calcio	HI 937521-01	Adaptación del método Oxalato	466
DQO ₅	HI 93754C-25	Adaptación del método USEPA 410.4	610

8.3.2.2 Identificación de la presencia de HAPs en agua de la Laguna de Mandinga mediante el Método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons.

Se identificó la presencia de los HAPs en muestras de agua de la Laguna de Mandinga por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) implementando el método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons. Para esto se utilizó el equipo de HPLC Perkin Elmer serie 200 acoplado a un detector UV, con una columna C₁₈ de fase reversa de 25 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, con un tamaño de partícula de 5 µm y a una longitud de onda de 254 nm. El flujo de 1.8 ml/min utilizando como fases de elución ácido fosfórico-acetonitrilo en la siguiente proporción: elución isocrática de 60% de acetonitrilo - 40% de ácido

fosfórico durante 5 minutos, gradiente de elución lineal de acetonitrilo de 50% a 100% durante 25 minutos, elución isocrática de 100% de acetonitrilo durante 10 min.

Los HAPs se separaron de la muestra de agua de Mandinga (250 ml) por medio una extracción líquido-líquido con cloruro de metileno (60 ml) en un embudo de separación y utilizando sulfato de sodio (100 g) para eliminar los residuos de agua. El cloruro de metileno (fase orgánica) se concentró a un volumen de 1.0 ml en un evaporador rotatorio con bomba de vacío.

8.3.3 Pruebas de oxidación enzimática de HAPs

8.3.3.1 Evaluación de la capacidad de oxidación de los HAPs por la enzima manganeso peroxidasas en sistemas modelos.

Se evaluó la capacidad oxidativa de la enzima manganeso peroxidasa en sistemas modelos de reacción por espectrofotometría de fluorescencia para determinar si la enzima tenía la capacidad de transformar a los HAPs, las reacciones fueron analizadas mediante el instrumento de marca Varian, modelo Cary Eclipse con software Cary Eclipse. Las muestras modelo (3 ml) se prepararon en amortiguador de malonatos de pH 4.5, con una concentración inicial de pireno 2 μM en isopropanol al 5 %v/v, estas se sometieron a oxidación enzimática adicionando diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y de unidades de enzima (UE) de la manganeso peroxidasa, una unidad de enzima se definió como la cantidad de enzima necesaria para transformar 1 μmol de sustrato en 1 minuto. Las pruebas se realizaron bajo temperatura controlada y por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los datos.

La ecuación (1) que se utilizó para determinar el porcentaje de conversión fue la siguiente:

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{(I_F \times 100)}{I_0} \right] \quad \text{Ecuación 1.}$$

Donde:

I_F : es la intensidad medida después de adicionar la enzima en el tiempo final de reacción.

I_0 : es la intensidad medida antes de adicionar la enzima en el tiempo cero de reacción.

8.3.3.2 Efecto de las variables de reacción en la transformación biocatalítica de HAPs en sistemas modelos.

La optimización de las condiciones de ensayo se elaboró a través de un Diseño Factorial Completo de efectos principales (Tabla 7). El cual consistió de 24 experimentos, las variables de entrada en 2 niveles (inferior y superior) y 3 factores: pH (4.5 y 6) temperatura (20 y 30 °C) y tiempo de reacción (10 y 30 minutos) en un solo bloque, siendo el porcentaje de conversión del pireno (HAP modelo) la variable respuesta. El estudio del efecto de cada factor sobre la variable respuesta, así como el efecto de las interacciones entre factores sobre dicha variable, se realizó utilizando el software Minitab 17.

Tabla 7. Diseño Factorial Completo 2³ para el estudio de la transformación biocatalítica de Pireno.

Orden Estadístico	Orden Corrida	Bloques	pH	Temp (C)	Tiempo (min)
7	1	1	4.5	30	30
20	2	1	6	30	10
22	3	1	6	20	30
13	4	1	4.5	20	30
2	5	1	6	20	10
19	6	1	4.5	30	10
18	7	1	6	20	10
16	8	1	6	30	30
23	9	1	4.5	30	30
14	10	1	6	20	30
17	11	1	4.5	20	10
4	12	1	6	30	10
11	13	1	4.5	30	10
10	14	1	6	20	10
9	15	1	4.5	20	10
3	16	1	4.5	30	30
5	17	1	4.5	20	10
1	18	1	4.5	20	10
12	19	1	6	30	30
21	20	1	4.5	20	30
15	21	1	4.5	30	30
6	22	1	6	20	30
24	23	1	6	30	30
8	24	1	6	30	10

La oxidación catalítica del pireno se siguió utilizando la técnica de espectroscopia de fluorescencia, las muestras modelo (3 ml) se prepararon en amortiguador de malonato de sodio pH 4.5 con una concentración inicial de pireno de 2 µM en isopropanol al 15% v/v, estas se sometieron a oxidación enzimática adicionando 0.50 µM de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y 0.23 unidades de enzima (UE) de manganeso peroxidasa (MnP). Las pruebas se realizaron bajo temperatura controlada y por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los datos. La ecuación 1 se utilizó para determinar el porcentaje de conversión.

8.3.3.3 Evaluación de la conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en sistemas modelos de reacción determinada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

La transformación catalítica de los HAPs se monitoreó por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), utilizando el equipo de HPLC Perkin Elmer serie 200 acoplado a un detector UV, con una columna C₁₈ de fase reversa de 25 cm de longitud y 4.6 mm de diámetro interno, con un tamaño de partícula de 5 µm y a una longitud de onda de 254 nm. El flujo de 1.8 mL/min utilizando como fases de elución ácido fosfórico-acetonitrilo en la siguiente proporción: elución isocrática de 60% de acetonitrilo - 40% de ácido fosfórico durante 5 minutos, gradiente de elución lineal de acetonitrilo de 50% a 100% durante 25 minutos, elución isocrática de 100% de acetonitrilo durante 10 min.

El sistema modelo de reacción consistió en amortiguador de malonato de sodio pH 4.5, con la mezcla de los 15 HAPs 1.5 µM en isopropanol al 15% (v/v), sometiendo a oxidación enzimática adicionando 25 µM H₂O₂ y 0.064 UE de MnP. La reacción se realizó a 20 °C por 30 minutos y por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los datos. Una vez completada la reacción, los productos de reacción se extrajeron siguiendo el Método 610 de la EPA para Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares. Brevemente descrito, 650 µL de la mezcla de reacción se extrajeron con 1 ml de cloruro de metileno, la fase orgánica se secó bajo flujo de nitrógeno y los productos de reacción secos se disolvieron nuevamente en 30 µL de isopropanol.

El porcentaje de la conversión de los HAPs se calculó tomando el área bajo la curva después de la reacción (A_F) respecto al área bajo la curva antes de la reacción (A_0), expresado de la siguiente forma (Ecuación 2):

$$\% \text{ Conversión} = 100 - \left[\frac{(A_F \times 100)}{A_0} \right] \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde:

A_F : es el área bajo la curva medida después de adicionar la enzima en el tiempo final de reacción.

A_0 : es el área bajo la curva medida antes de adicionar la enzima en el tiempo cero de reacción.

8.3.3.4 Evaluación de la conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en muestras de agua de la Laguna de Mandinga determinada por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Siguiendo el mismo procedimiento que en la determinación de la conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en el sistema modelo de reacción, se evaluó la conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en muestras de agua de la Laguna de Mandinga. El sistema de reacción (1mL) consistió principalmente en agua de la Laguna de Mandinga con la mezcla de los 15 HAPs a una concentración de 1.5 μM en isopropanol al 15% (v/v), adicionados intencionalmente para obtener una señal adecuada en el equipo HPLC-UV. La reacción se realizó a 20 °C por 30 minutos y por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los datos. Una vez completada la reacción, los productos de reacción se extrajeron siguiendo el Método 610 de la EPA para Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares, antes mencionado.

El porcentaje de la conversión de los HAPs se calculó tomando el área bajo la curva después de la reacción (A_F) respecto al área bajo la curva antes de la reacción (A_0), expresado en la Ecuación 2.

8.3.4 Pruebas toxicológicas.

Para evaluar la toxicidad de los HAPs y sus productos de transformación enzimática en organismos acuáticos se propuso utilizar embriones de erizo de mar (*Lytechinus pictus*) como organismos modelos experimentales. Se seleccionó este modelo experimental debido a que los procesos de desarrollo son diferentes en relación a estructura morfológica, por lo cual son fáciles de identificar durante las diferentes etapas del desarrollo; y porqué estos organismos detectan inmediatamente las diferentes presiones (contaminantes), ya que tienen un alto grado de sensibilidad en las primeras etapas del desarrollo. Además de que poseen determinadas características como: rangos de tolerancia estrechos, alta sensibilidad en la detección de cambios en el medio ambiente, fácil manejo y costos bajos en pruebas toxicológicas.

Las pruebas toxicológicas se llevaron a cabo en la Universidad de California Bodega Marine Laboratory, Estados Unidos, durante los meses de marzo, abril y mayo del presente año. La figura 9 describe la estrategia experimental realizada durante la evaluación toxicológica de los HAPs y sus productos de transformación enzimática durante el desarrollo embrionario del erizo de mar "*Lytechinus pictus*".

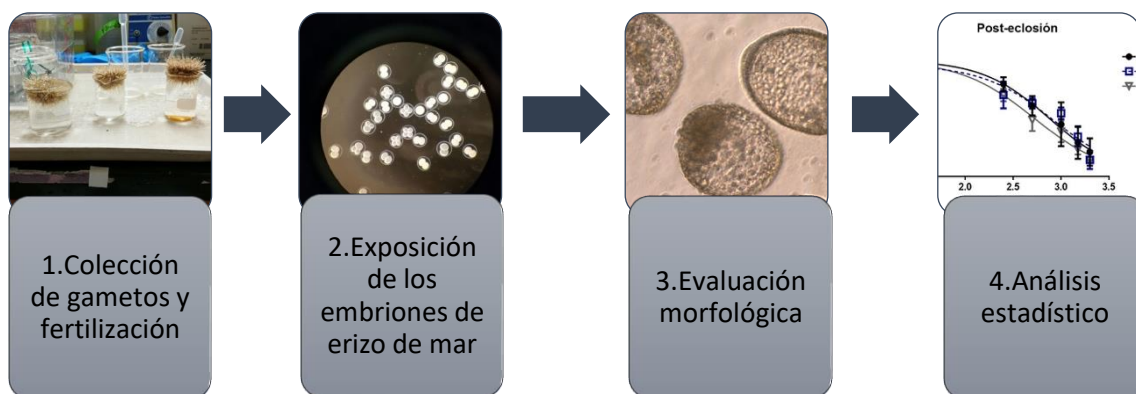


Figura 9. Desarrollo experimental para evaluar la toxicidad de HAPs y sus productos de transformación enzimática durante el desarrollo embrionario del erizo de mar "*Lytechinus pictus*".

1. Colección de gametos y fertilización.

Los erizos de mar blancos adultos (*Lytechinus pictus*) fueron proporcionados por la Universidad de California Bodega Marine Laboratory, Estados Unidos. Para coleccionar los gametos de los erizos de mar adultos, a estos se les inyectó de 0.3 a 0.5 ml de KCl 0.5 M en tres lugares diferentes de la cavidad del cuerpo a través de la membrana peristomial (lado oral del animal) (figura 10). Los animales se colocaron en vasos que contenían 0,45 μ M de agua de mar filtrada (AMF) en un baño de hielo. Los gametos masculinos (espermatozoides) se recogieron del fondo del vaso de precipitados con ayuda de una pipeta y se mantuvieron en hielo aproximadamente 90 minutos (hasta asegurar la fertilización) en un tubo de cultivo y en un vaso pequeño se coleccionaron los gametos femeninos (huevos). Los huevos se lavaron tres veces en 0.45 μ M de agua de mar filtrada (AMF) antes de llevar a cabo la fertilización.

Los huevos fueron fertilizados en una proporción de 1:10 de huevo a espermatozoides. El éxito de la fertilización se determinó con ayuda de un microscopio binocular a 10X. Solamente fueron utilizados aquellos lotes donde al menos el 90% de los huevos estaban fertilizados. Después de la fertilización, los embriones se lavaron dos veces con AMF 0,45 μ M y se mantuvieron en la incubadora por 40 minutos a 16 ° C antes de la exposición.

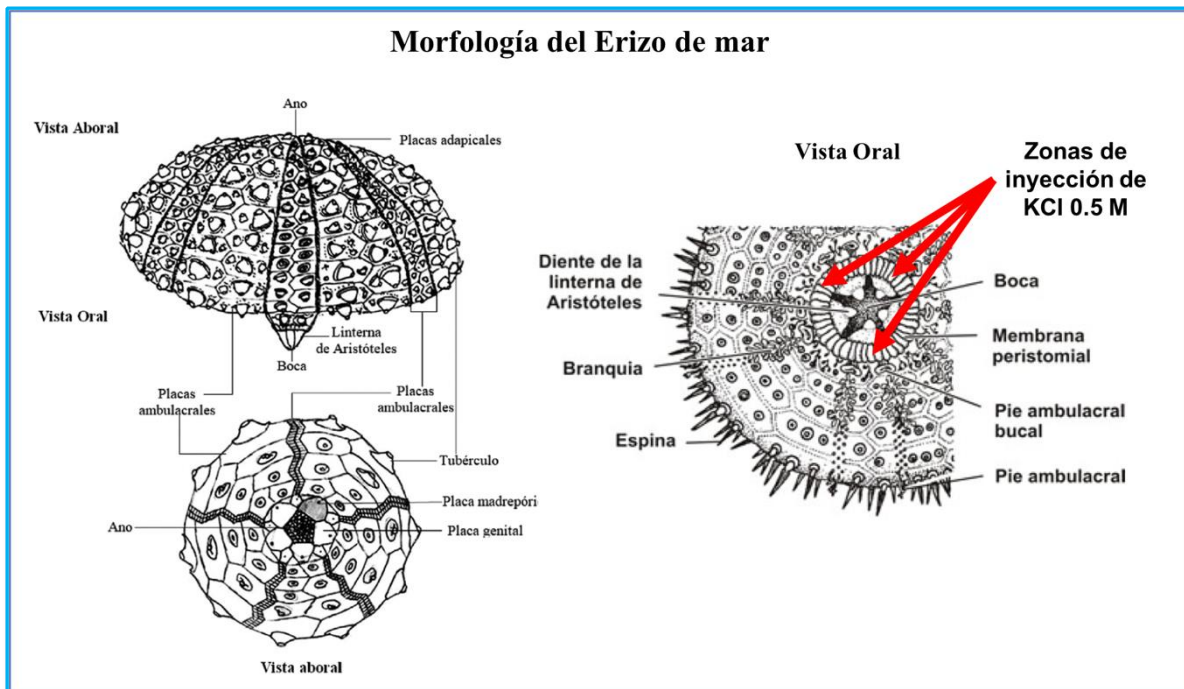


Figura 10. Morfología del erizo de mar (Elaboración propia, 2018).

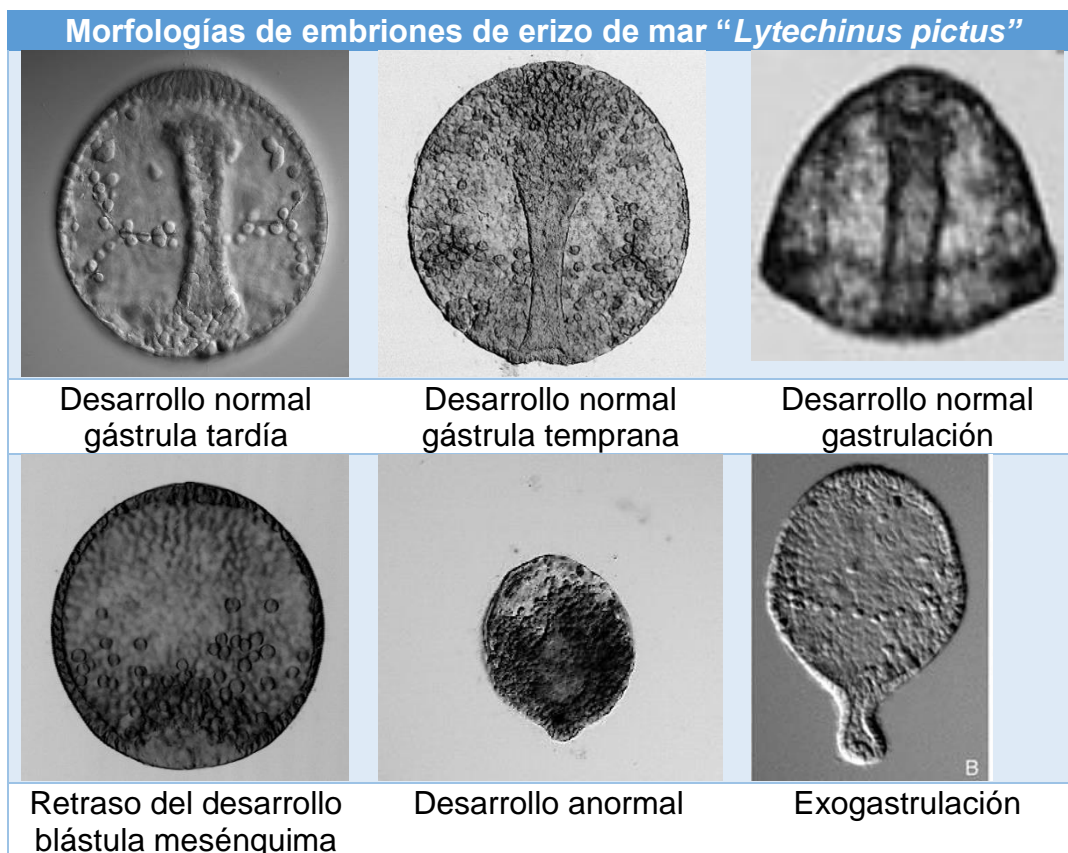
2. Exposición de los embriones de erizo de mar.

Los embriones se expusieron en viales de vidrio (5 ml / vial, 100 embriones / ml) a 16 ° C en dos diferentes tiempos de inicio de exposición, el primer grupo a 45 minutos después de la fertilización (post-fertilización) y un segundo grupo cuando los embriones se encontraban en el estadio de blástula ciliada (post-eclosión, al cabo de dieciséis horas después de la fertilización). Los embriones fueron expuestos hasta que los tratamientos del grupo control alcanzaron la etapa de gástrula desarrollada (aproximadamente 36 horas después de la fertilización). Las muestras se fijaron en una concentración final de glutaraldehído al 0,1% en AMF. Las etapas fueron evaluadas con un microscopio binocular a 10X.

3. Evaluación morfológica de los embriones.

En cada réplica fueron evaluados 100 embriones para observar su desarrollo normal y se utilizó un microscopio estéreo marca macrozoom Nikon AZ100. Las morfologías de los embriones fueron observadas y se clasificaron según las categorías descritas en la Tabla 8 (Pillai, Vines, Wikramanayake, y Cherr, 2003).

Tabla 8. Morfologías más comunes en embriones de “*Lytechinus pictus*” expuestos a HAPs (Pillai, Vines, Wikramanayake, y Cherr, 2003).



4. Análisis Estadístico.

Todos los datos se expresaron como una proporción del total de los embriones contados. Se elaboraron curvas de dosis-respuesta para los HAPs y los datos se ajustaron usando la regresión logística de cuatro parámetros (Ecuación 3):

$$\% \text{ desarrollo normal} = \min + \frac{\max - \min}{1 + 10^{(\log EC_{50} - \log [PAH]) * HS}} \quad \text{Ecuación 3.}$$

Todos los datos fueron analizados mediante el programa GraphPad Prism 6.

8.3.4.1 Evaluación Dosis-Efecto de los HAPs en el desarrollo embrionario del erizo de mar “*Lytechinus pictus*”.

Se realizaron bioensayos por triplicado para evaluar el efecto causado de la exposición a HAPs en el desarrollo embrionario del erizo de mar “*Lytechinus pictus*”. Cada bioensayo de exposición a HAPs constó de un grupo control y cinco grupos experimentales, los embriones del grupo control estuvieron expuestos a tratamientos con dimetilsulfóxido 0.5% volumen final (solvente) y los cinco grupos experimentales estuvieron expuestos a 5 concentraciones diferentes (0.25-2 mg /L) de los HAPs correspondientes (pireno, fenantreno y antraceno) en dos diferentes tiempos de inicio de exposición (post-fertilización y blástula ciliada).

8.3.4.2 Evaluación morfológica del efecto de los productos de oxidación enzimática de HAPs por la manganoso peroxidasa en el desarrollo embrionario del erizo de mar “*Lytechinus pictus*”.

Se realizaron bioensayos por triplicado para evaluar el efecto causado de la exposición a productos de oxidación enzimática de los HAPs por la manganoso peroxidasa en el desarrollo embrionario del erizo de mar “*Lytechinus pictus*”. Los bioensayos de exposición a productos de oxidación enzimática de HAPs (pireno oxidado, fenantreno oxidado y antraceno oxidado) constaron de un grupo control y un grupo experimental, los embriones del grupo control estuvieron expuestos a tratamientos con dimetilsulfóxido 0.5% volumen final (solvente) y el grupo experimental estuvo expuesto a una concentración (1 mg/L) de los HAPs tratados enzimáticamente con manganoso peroxidasa; todos los grupos se expusieron 45 minutos después de la fertilización (post-fertilización). Los productos de oxidación enzimática se extrajeron de la reacción con 1 ml de cloruro de metileno, la fase orgánica se secó bajo flujo de nitrógeno y los productos de reacción secos se disolvieron nuevamente en dimetilsulfóxido.

9. RESULTADOS.

9.1 Análisis del agua de la Laguna de Mandinga.

9.1.1 Caracterización fisicoquímica del agua de la Laguna de Mandinga.

Durante la elaboración de esta investigación se realizaron dos visitas y recorridos en el sitio de estudio con apoyo de la Sociedad Cooperativa de Pescadores de Mandinga del municipio de Alvarado. La primera visita correspondió a la temporada de estiaje y se realizó en el mes de marzo del 2017. La recolección de la muestra se llevó a cabo en 3 diferentes puntos de muestreo alrededor de la draga (4). La segunda visita se efectuó en el mes de noviembre del 2017, después de la temporada de lluvias; los puntos de muestreo fueron en la zona restaurantera (1), al inicio de Laguna grande (2) y en la zona profunda de la misma laguna (3). La figura 11 muestra los sitios donde las muestras de agua fueron recolectadas.

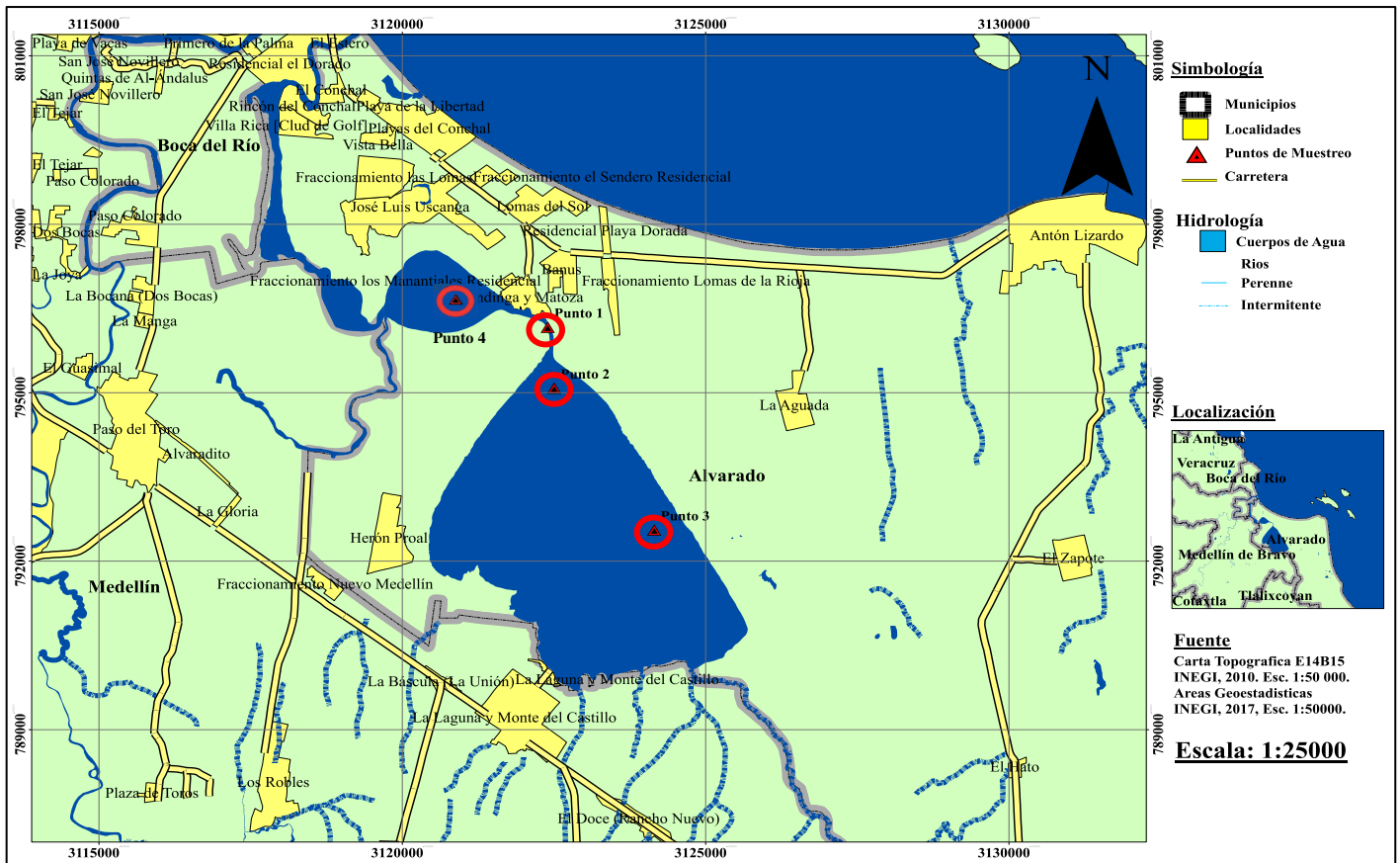


Figura 11. Puntos de muestreo en la Laguna de Mandinga (Elaboración propia, 2017).

Una vez recolectadas las muestras, se conservaron en refrigeración a 4° C hasta su posterior caracterización. Eventualmente, en el laboratorio se realizó el análisis fisicoquímico de la mezcla compuesta del agua de Mandinga para determinar los siguientes parámetros: pH, conductividad, temperatura, Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la Demanda Bioquímica de Oxígeno 5 (DBO₅) y sólidos disueltos totales; además de las diferentes pruebas para determinar cationes y aniones: Ca²⁺, Fe, SO₄²⁻, Mg²⁺, NO₃⁻, PO₄³⁻, P, y cloro libre. La Tabla 9 resume los resultados obtenidos en ambas visitas y los límites máximos permisibles de las normatividad vigente y aplicable: la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996, Límites Máximos Permisibles de Contaminantes en las descargas de Aguas Residuales en Aguas y Bienes Nacionales (D. O. F. el 6 de enero de 1997); los Criterios Ecológicos

de Calidad del Agua CE-CCA- 001/89; y los Indicadores de la Calidad del Agua en México de CONAGUA.

Tabla 9. Resultados del análisis fisicoquímico del agua de la Laguna de Mandinga con relación a diferentes normas vigentes y aplicables.

ANÁLISIS FISCOQUÍMICO DEL AGUA DE LA LAGUNA DE MANDINGA			MONITOREO DE LA CALIDAD DEL AGUA (CONAGUA)	NOM-001-SEMARNAT-1996: LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN AGUAS Y BIENES NACIONALES.						CRITERIOS ECOLÓGICOS DEL CALIDAD DEL AGUA (CE-CAA-001/89)	
Parámetros	1ra. Visita (30/03/17)	2da. Visita (1/11/17)		AGUA SUPERFICIAL (RÍOS, ARROYOS, LAGOS, LAGUNAS, PRESAS Y	AGUAS COSTERAS						
					EXPLOTACIÓN PESQUERA		RECREACIÓN		ESTUARIOS		
			P.M.		P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.		
Temperatura °C	26.8	26.6	-	40	40	40	40	Condiciones naturales ± 1.5	Condiciones naturales ± 1.5	Protección Vida Acuática: Agua Marina (Áreas Costeras)	
PH	8.04	7.68	-	-	-	-	-	-	-	No podrá haber variaciones mayores a 0.2 unidades de pH, tomando como base el valor natural estacional	
Conductividad (mS/cm)	38.4	12.68	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cloro libre (mg/L)	0.058	0.062	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hierro (mg/L)	50.33	111	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sulfato (mg/L) SO ₄ ²⁻	1200	500	-	-	-	-	-	-	-	-	
Nitrato (mg/L) NO ₃ ⁻	57.2	0.75	-	-	-	-	-	-	-	0.04	
Calcio (mg/L) Ca ²⁺	171.66	113.34	-	-	-	-	-	-	-	-	
Magnesio (mg/L)	668.66	72.5	-	-	-	-	-	-	-	-	
Fosfatos (mg/L) PO ₄ ³⁻	0.151	0.378	-	-	-	-	-	-	-	0.002	
Fosforo (mg/L)	0.05	0.135	-	-	-	-	-	5	10	*Fósforo 0.05 - 1 mg/L *Fosfatos totales 0.05 - 0.25 mg/L	
Niquel (mg/L)	0.148	0.021	-	2	4	2	4	2	4	0.008	
DQO (mg/L)	2350.21	460	> 200 fuertemente contaminada	150	200	75	150	75	150	-	
DBO5 (mg/L)	0.746	165	> 30, contaminada	-	-	-	-	-	-	-	
SDT	-	7900	> 2,000 salobre	-	-	-	-	-	-	-	

En la tabla anterior se resaltan en rojo los parámetros fisicoquímicos analizados que sobrepasan los niveles máximos permisibles de la legislación vigente y aplicable, estos fueron los sulfatos y fosfatos, los cuales podrían estar asociados con prácticas agrícolas (uso de fertilizantes, plaguicidas, desechos de animales, etc.), descargas de aguas domésticas y el empleo de productos químicos (detergentes, fosfatos hidrosolubles y aditivos alimenticios) (Casas, 2017; CEMDA, 2012; CONABIO, 2011; Flores y col., 2011; Lara y col., 2009; Miller, 2007; Paniagua y col., 2018).

De igual forma, la demanda biológica de oxígeno (DBO₅) y la demanda química de oxígeno (DQO), rebasaron los niveles máximos permisibles en las muestras

tomadas, lo que podría indicar que la cantidad de materia orgánica que se incorpora al cuerpo lagunar superan las funciones de regulación y mantenimiento del ecosistema. La DQO alta también sugiere posible contaminación por compuestos orgánicos persistentes en la Laguna de Mandinga (Aragón, Castañeda, Barba, Monreal, y Sánchez, 2017; Botello, Calva, y Ponce, 2001; Paniagua y col., 2018).

Por otro lado el níquel que se considera una sustancia tóxica se encontró durante el análisis del agua, el cual puede estar ligado a las operaciones de dragado que se realizan en la laguna (ya que reincorporan los sedimentos suspendidos al cuerpo de agua, ocasionando la resuspensión de compuestos tóxicos, la oxidación de los sulfuros y la liberación de metales) (Cruz, Rocha y De la Cruz, 1980; De la cruz, 1985; Lara y col., 2009; Manahan, 2007; Olguín, Hernández y Sánchez, 2007); la descarga de residuos industriales (fabricación de baterías, joyas e intercambiadores de calor); y la deposición de partículas o compuestos volátiles provenientes de fuentes móviles (plantas de energía que utilizan combustibles fósiles e incineradores de residuos) (ATSDR, 2017; Cervantes, 1997; CONABIO, 2011; Farías, 1991; Guzmán y col., 2009; Lara y col., 2009; López, Tinoco, Pérez y Velasco, 1992; López y col., 2011; López y col., 2012; Paniagua y col., 2018).

9.1.2 Identificación de la presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) utilizando el Método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons.

Primeramente, se implementó el Método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, a través de estándares de los 15 HAPs y utilizando el equipo HPLC-UV. La figura 12 muestra el cromatograma obtenido de la mezcla de los 15 estándares de los HAPs analizados (concentración de la mezcla 7.5 mM), donde el número de picos corresponde al número de componentes de la mezcla.

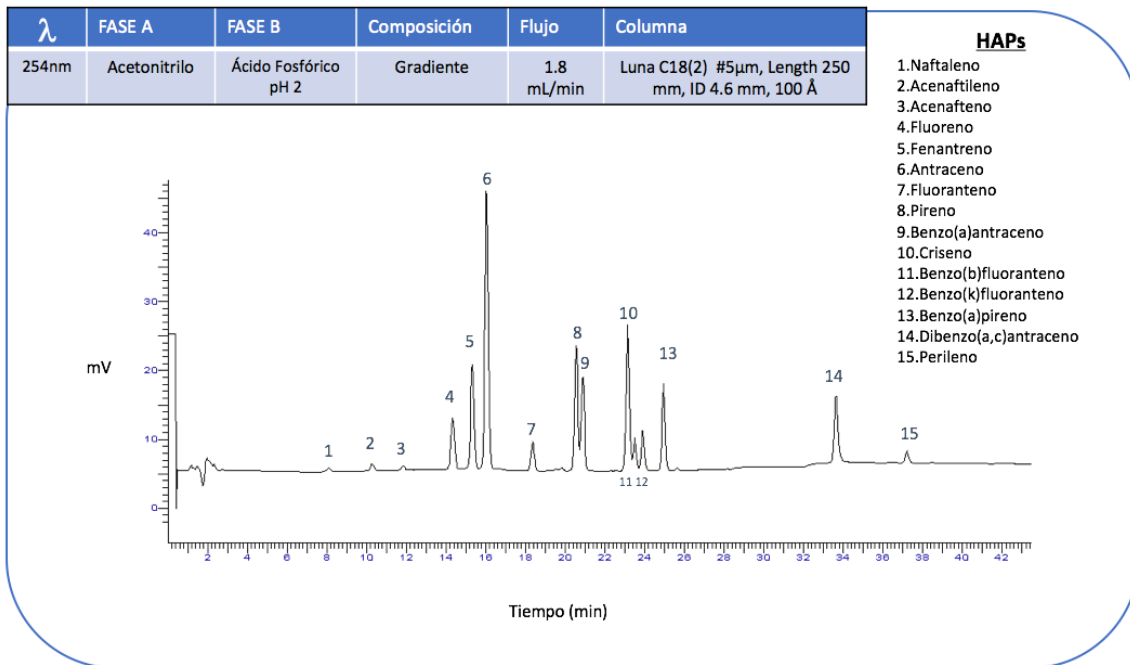


Figura 12. Cromatograma de los 15 HAPs analizados por el Método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons.

Posteriormente, una vez implementado el método EPA 610: Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, se identificó la presencia de HAPs en muestras de agua de la Laguna de Mandinga. Los HAPs se separaron de la muestra de agua por medio una extracción líquido-líquido. La figura 13, ilustra el cromatograma resultante de los HAPs extraídos del agua de Mandinga contra el cromatograma obtenido de los 15 estándares de los HAPs analizados durante la implementación del método. Se puede observar algunas diferencias entre las áreas de los picos de los HAPs de la muestra real y las áreas de los picos de los estándares, esto se debió a que la concentración de los estándares fue significativamente alta con respecto a la concentración de los HAPs encontrados en las muestras de agua de la Laguna de Mandinga. Sin embargo, es necesario confirmar posteriormente por otra técnica analítica la naturaleza de estos compuestos detectados con el método aplicado. De acuerdo con el estudio de Botello y col. (2001), las concentraciones evaluadas en la Laguna de Mandinga van de 2.2 a 18.2 μ g/g de sedimento, lo que indica que las

concentraciones en agua (solubles y en suspensión) deberán ser al menos un orden de magnitud menor.

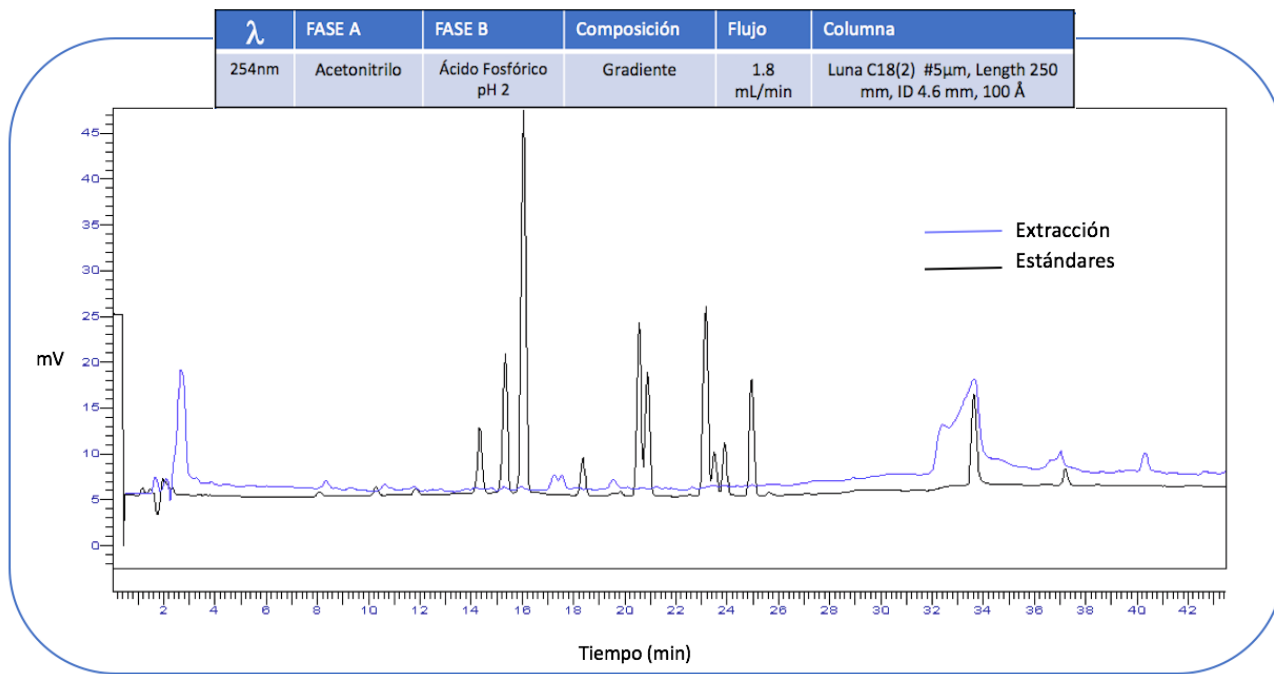


Figura 13. Cromatograma de HAPs en muestra de agua de la Laguna de Mandinga contra cromatograma de estándares de los 15 HAPs.

9.2 Pruebas de oxidación enzimática de HAPs

9.2.1 Determinación de la capacidad de oxidación de los HAPs por la enzima manganeso peroxidasas en sistemas modelos.

En un primer acercamiento se evaluó preliminarmente la capacidad oxidativa de la enzima manganeso peroxidasas para transformar los HAPs mediante espectrofotometría de fluorescencia. Se eligió al pireno como HAP modelo y en la Tabla 10 se pueden observar las condiciones de reacción de los ensayos y los correspondientes porcentajes de conversión.

Tabla 10. Oxidación del pireno por la manganeso peroxidasa en ensayos preliminares.

SOLUCIÓN	UNIDADES	Concentraciones	
Amortiguador pH4 Malonato de Sodio	mM	41	41
MnSO4	mM	1.1	1.1
Isopropanol	%	5	5
Pireno en Isopropanol	μM	2.0	2.0
H2O2	mM	2.0	0.5
MnPO	Unidades Enzima	0.09	0.14
% CONVERSIÓN		39.04	73.3

9.2.2 Efecto de las variables de reacción en la transformación biocatalítica de HAPs en sistema modelo.

Con el propósito de optimizar la conversión de los HAPs se elaboró un Diseño Factorial Completo de efectos principales (Tabla 11). El pireno se utilizó como HAP modelo y el porcentaje de conversión del pireno se empleó como la variable respuesta. Como puede observarse, las conversiones alcanzadas son claramente dependientes de las condiciones de reacción, con un valor menor de conversión de 6.6% (ensayo número 21), y un máximo de 88.5 % (ensayo número 20).

La relación entre la conversión y las variables independientes se ajustó a un modelo de regresión lineal múltiple (Ecuación 4), que se muestra a continuación:

$$\% \text{ Conversión} = 35.15 - 14.20 \text{ pH} - 15.53 \text{ Temp} - 0.62 \text{ Tiempo} + 10.55 \text{ pH} * \text{Temp} + 3.03 \text{ pH} * \text{Tiempo} - 4.12 \text{ Temp} * \text{Tiempo} + 5.53 \text{ pH} * \text{Temp} * \text{Tiempo}$$

Ecuación 4.

Tabla 11. Aplicación del Diseño Factorial Completo 2^3 para optimizar las condiciones de oxidación del pireno por la enzima manganeso peroxidasa.

Orden Estadístico	Orden Corrida	Bloques	pH	Temp (C)	Tiempo (min)	% Conversión
7	1	1	4.5	30	30	6.986
20	2	1	6	30	10	12.921
22	3	1	6	19	30	22.516
13	4	1	4.5	19	30	85.449
2	5	1	6	19	10	16.129
19	6	1	4.5	30	10	12.876
18	7	1	6	19	10	35.326
16	8	1	6	30	30	24.877
23	9	1	4.5	30	30	16.275
14	10	1	6	19	30	21.945
17	11	1	4.5	19	10	74.757
4	12	1	6	30	10	10.622
11	13	1	4.5	30	10	84.164
10	14	1	6	19	10	23.344
9	15	1	4.5	19	10	65.955
3	16	1	4.5	30	30	12.688
5	17	1	4.5	19	10	70.363
1	18	1	4.5	19	10	67.589
12	19	1	6	30	30	12.905
21	20	1	4.5	19	30	88.489
15	21	1	4.5	30	30	6.667
6	22	1	6	19	30	36.304
24	23	1	6	30	30	13.604
8	24	1	6	30	10	20.891

El estudio del efecto de cada factor sobre la variable respuesta, así como el efecto de las interacciones entre factores sobre dicha variable, se realizó utilizando el software Minitab 17, los resultados del análisis de varianza se pueden ver a continuación en la Tabla 12.

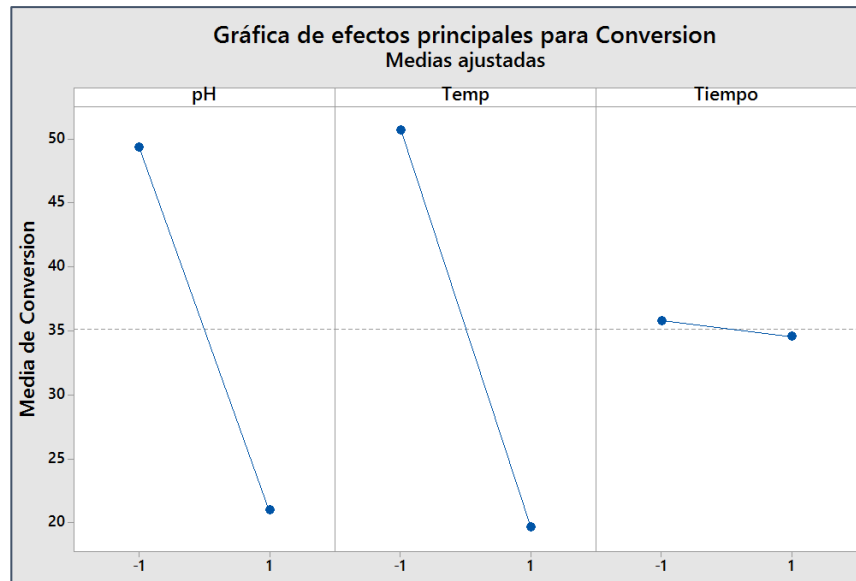
Tabla 12. Análisis de Varianza del Diseño Factorial Completo 2³ .

Análisis de Varianza					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	7	14671,0	2095,86	8,22	0,000
Lineal	3	10638,1	3546,04	13,91	0,000
pH	1	4841,5	4841,46	19,00	0,000
Temp	1	5787,4	5787,41	22,71	0,000
Tiempo	1	9,3	9,26	0,04	0,851
Interacciones de 2 términos	3	3298,5	1099,51	4,31	0,021
pH*Temp	1	2671,3	2671,30	10,48	0,005
pH*Tiempo	1	220,2	220,16	0,86	0,366
Temp*Tiempo	1	407,1	407,07	1,60	0,224
Interacciones de 3 términos	1	734,4	734,36	2,88	0,109
pH*Temp*Tiempo	1	734,4	734,36	2,88	0,109
Error	16	4077,9	254,87		
Total	23	18749,0			
Resumen del modelo					
	S R-cuad.		R-cuad.		
	15,9647		78,25%		

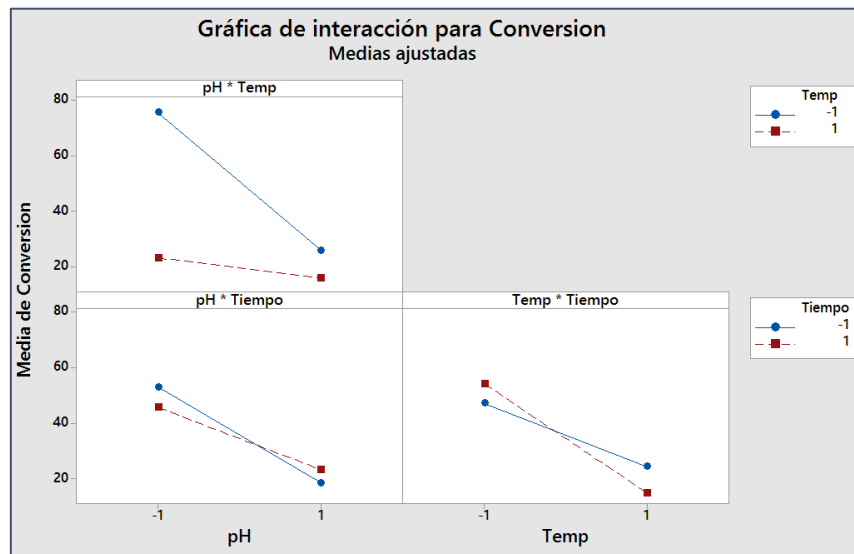
El R² (0.78) indica un ajuste adecuado al predecir con un 78% de certeza la respuesta del modelo. El análisis de varianza indica también lo apropiado del modelo (valor de p 0.000, Tabla 12).

Los resultados también se pueden analizar con la gráfica de efectos principales y la gráfica de interacción (medias ajustadas) para la conversión (Figuras 14). En la figura 14 (a) podemos observar que las variables pH y temperatura tienen fuerte efecto sobre la conversión ($p = 0.000$, Tabla 12), mientras que el tiempo de reacción por el contrario no tiene un efecto significativo ($p = 0.851$, Tabla 12). En cuanto a las interacciones, en la figura 14 (b) se puede advertir que la interacción pH–Temperatura tiene un efecto significativo sobre la conversión ($p = 0.005$, Tabla 12), mientras que las demás interacciones de dos y tres términos no tienen un efecto significativo en la conversión ($p > 0.109$, Tabla 12). Además, podemos apreciar que el mayor porcentaje de conversión se obtiene a un pH bajo (4.5) y temperatura baja

(20 °C) sin que el tiempo de reacción influya en el porcentaje de conversión (figura 14 b).



(a)



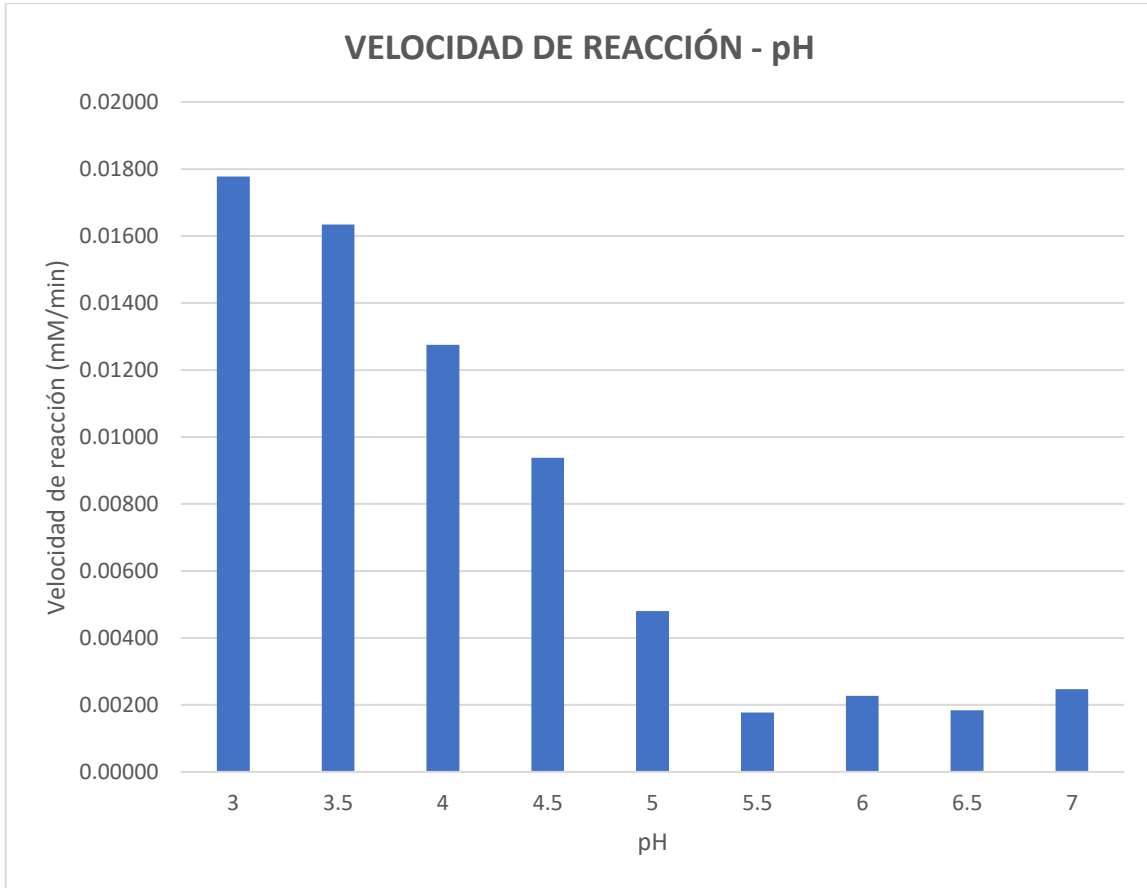
(b)

Figura 14. Gráficas de efectos principales (a) y de interacción (b) para la Conversión de HAPs por la manganoso peroxidasa.

Conforme a los resultados obtenidos del modelo de regresión lineal, las condiciones óptimas para la degradación del pireno por la enzima manganeso peroxidasa fueron: pH: 4.5, Temperatura: 20 °C y Tiempo de reacción: 30 minutos.

Sin embargo, dado que en la laguna solo podría controlarse el tiempo de reacción, y con el propósito de conocer a más detalle el efecto de las condiciones de reacción, se hicieron cambios de pH y temperatura en el sistema modelo de reacción. La gráfica 1, muestra la velocidad de reacción de la enzima manganeso peroxidasa a diferentes pH (con diferentes amortiguadores); puede observarse que la velocidad de reacción más alta se logra a pH 3 (17.9 $\mu\text{M}/\text{min}$), lo que significa que la enzima tiene una mayor actividad catalítica en medio ácido, a pH 4.5 (condición óptima de acuerdo con el modelo estadístico) se observa una velocidad de reacción de 9.376 $\mu\text{M}/\text{min}$, esta velocidad representa aún alta actividad catalítica en la conversión de HAPs.

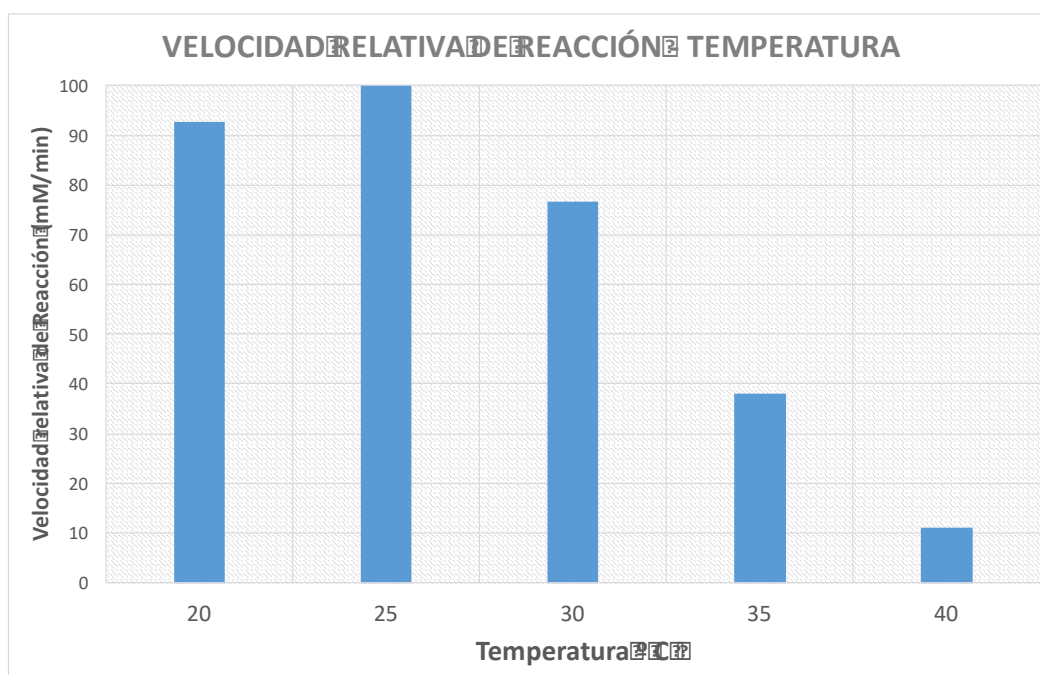
Gráfica 1. Velocidad de reacción de la enzima manganeso peroxidasa a diferentes pH en sistemas modelos de reacción (Elaboración propia, 2018).



De igual forma se evaluó la actividad catalítica a diferentes temperaturas, la gráfica 2 muestra las diferentes velocidades de reacción de la enzima a diversas temperaturas de reacción (20 °C a 40 °C). Para dicha evaluación se utilizó el amortiguador a pH 3, ya que fue el que presentó mejor actividad catalítica en las pruebas de pH. Se puede observar que a 20 °C y a 25 °C la actividad catalítica es mayor, y que a partir de los 35 °C hay una disminución pronunciada de la actividad catalítica. Este efecto de la temperatura se considera realmente bueno ya que la temperatura promedio anual en la Laguna de Mandinga es de 25.5 °C (Lara y col., 2009). Por otro lado, el pH tiene un efecto contrario a lo esperado, ya que la actividad catalítica más alta se logró a un pH ácido, y en los muestreos realizados el pH

registrado en la laguna fue de 7.6 a 8.0, lo que resulta en una disminución de la actividad catalítica esperada.

Gráfica 2. Velocidad relativa de reacción de la enzima manganeso peroxidasa a diferentes Temperaturas en sistemas modelos de reacción (Elaboración propia, 2018).



A continuación se realizaron nuevos ensayos de oxidación enzimática en el sistema modelo de reacción (amortiguador de malonato de sodio pH 4.5, mezcla de HAPs 0.125 μ M, 25 μ M H₂O₂ y 0.69 UE), en diferentes tiempos de reacción (10, 15 y 30 minutos) y a 20 °C; la mayor conversión obtenida (79.29 %, obtenido por el cambio en la intensidad de fluorescencia en la longitud de máxima emisión) fue a un tiempo de reacción de 10 minutos, confirmando que no existe un efecto considerable del tiempo de reacción en la conversión de los HAPs en mezcla. La figura 15 muestra el espectro de fluorescencia obtenido de la mezcla de los 15 HAPs (estándares) antes y después del tratamiento biocatalítico en un tiempo de reacción de 10 minutos.

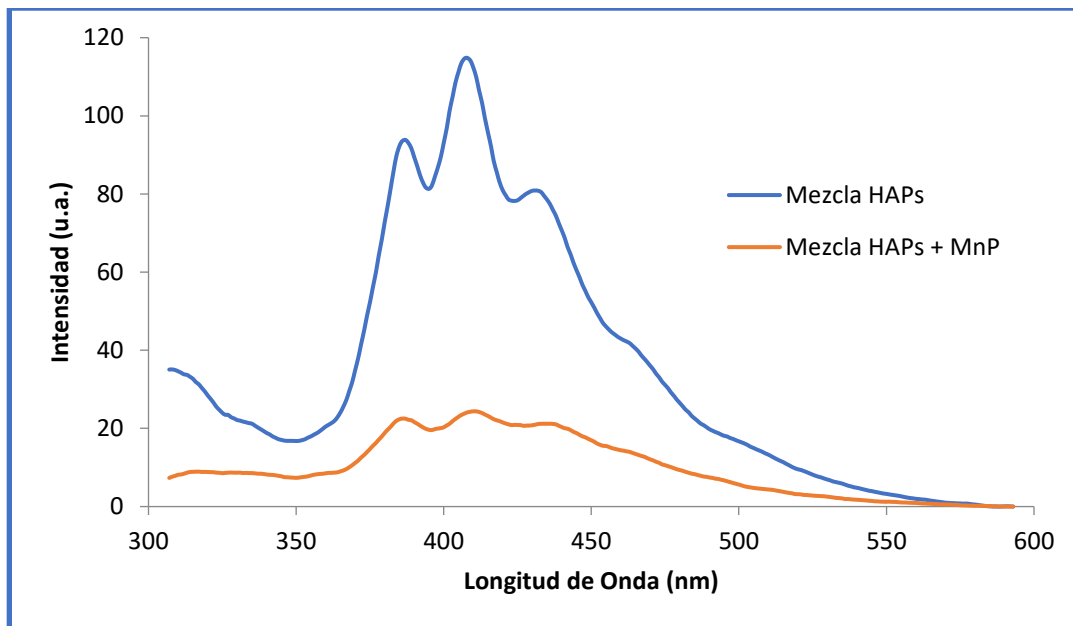


Figura 15. Espectro de fluorescencia de la mezcla de HAPs antes y después del tratamiento biocatalítico.

Asimismo, la Tabla 13 expone las diferentes temperaturas a las que se llevó a cabo la reacción de oxidación por la enzima manganeso peroxidasa, esto con el propósito de conocer cómo las diferentes temperaturas ambientales del cuerpo de agua de la Laguna de Mandinga podrían influir en la conversión catalítica (temperatura promedio anual 25.5 °C) (Lara y col., 2009). Los resultados obtenidos demuestran que a temperatura ambiental (temperatura no controlada) la eficiencia de la conversión catalítica no se ve afectada.

Tabla 13. Cambios de Temperatura de reacción en la oxidación enzimática de la mezcla de HAPs en sistemas modelo.

TEMPERATURA (° C)	TIEMPO DE REACCIÓN (min)	% CONVERSIÓN
20	30	79.293
20	15	77.222
20	10	74.039
Ambiental *	30	83.930
Ambiental *	15	83.383
Ambiental *	10	82.270
25	30	80.104
25	15	81.420
25	10	79.353

* Temperatura del laboratorio a lo largo del experimento (fluctuación de 18 a 25 °C)

9.2.3 Determinación de la conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en el sistema modelo de reacción determinada por Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC).

Posteriormente se realizó una prueba para determinar la capacidad oxidativa de la manganeso peroxidasa, la cual se monitoreó por HPLC-UV y se empleó al antraceno como HAP modelo (mejor resolución mostrada por la columna), el porcentaje de conversión obtenido fue de 85.27 %. La figura 16 muestra el cromatograma obtenido de la oxidación catalítica del antraceno, se puede observar la aparición de un producto de reacción con menor tiempo de retención (pico en el minuto 4), lo cual indica que el producto de oxidación es menos hidrofóbico, como ha sido reportado en la literatura (Hellou y Leonard, 2004; Kadri y col., 2016; Sudip, Singh, y Jain, 2002). El hecho de tener una menor hidrofobicidad repercute en una mayor disponibilidad y biodegradabilidad, así como también en una menor toxicidad

(Husain y col., 2008; Penning, 2014). Entre los compuestos oxidados reportados se encuentran las antraquinonas, el Antraceno trans-1,2-Dihidrodiol 1-Antról, el 9,10-Antraquinona, y Ftalatos, Glucurónidos, sulfatos y xilosidos conjugados de productos intermedios hidroxilados (Haritash y Kaushik, 2009; kadri y col., 2017).

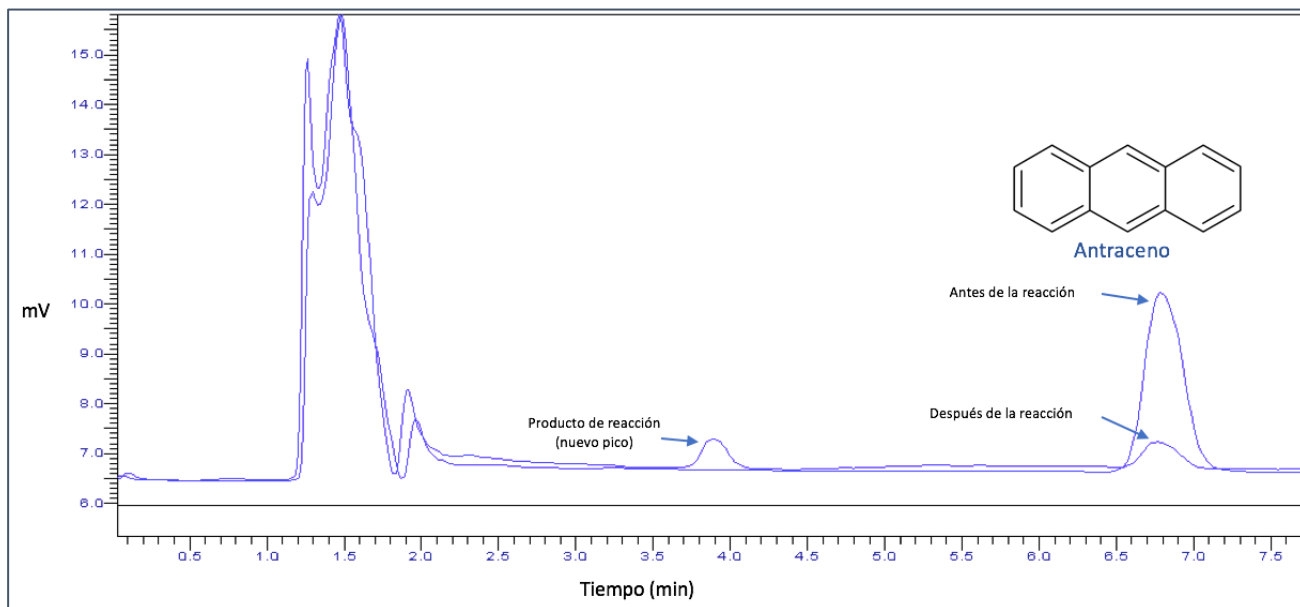


Figura 16. Cromatograma de oxidación catalítica de Antraceno por manganeso peroxidasa

Posteriormente, se determinó de la capacidad de oxidación de la mezcla de HAPs por la enzima oxidativa manganeso peroxidasa empleando el equipo HPLC-UV. Las condiciones aplicadas fueron las obtenidas del modelo de estadístico (20 °C y 30 minutos de reacción), y el sistema modelo de reacción consistió de amortiguador de malonato de sodio pH 4.5 con la mezcla de los HAPs a 0.125 μM ; este sistema se sometió a oxidación adicionando 25 μM de H_2O_2 y 0.69 UE. Una vez completada la reacción, los productos de reacción se extrajeron siguiendo el Método 610 de la EPA para Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares. Las conversiones individuales de la mezcla de HAPs obtenidas de la oxidación enzimática por la manganeso peroxidasa se detallan en la Tabla 14, como puede observarse la oxidación varía

entre cada HAP (conversiones de 0 a 140 %), esto se debe a la estereoquímica de cada compuesto, el potencial de ionización y la hidrofobicidad (entre mayor tamaño tenga la molécula, serán más hidrofóbicos, por lo que probablemente no ingresen al sitio activo de la enzima para lograr la reacción) (Haritash y Kaushik, 2009; Hofrichter, 2002). Debe destacarse que los HAPs que presentan mayor porcentaje de conversión, son los compuestos con mayor número de anillos aromáticos y, por lo tanto, los más recalcitrantes (Jacob, 2008; Tobiszewski y Namieśnik, 2012). Para el caso del fenantreno la conversión del 140% pudo deberse a que uno o más de los productos de la oxidación enzimática de los HAPs eluyen durante el mismo tiempo de retención de este compuesto.

Tabla 14. Conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en el sistema modelo de reacción.

Conversión de la mezcla de HAPs en el sistema modelo de reacción	
HAP	% Conversión
Naftaleno	0,0
Acenafteno	0,0
Acenaftileno	90,8
Fluoreno	0,0
Fenantreno	140,8
Antraceno	97,8
Fluoranteno	60,7
Pireno	0,0
Benzo(a)antraceno	31,4
Criseno	34,8
Benzo(b)fluoranteno	16,1
Benzo(k)fluoranteno	85,9
Benzo(a)pireno	0,0
Dibenzo(a,c)antraceno	0,0
Perileno	0,0

9.2.4 Determinación de la conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en muestras de agua de la Laguna de Mandinga determinada por Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC).

Se determinó de la capacidad de oxidación de la mezcla de HAPs por la enzima oxidativa manganeso peroxidasa en agua real de la Laguna de Mandinga empleando el equipo HPLC-UV. Las condiciones aplicadas fueron las obtenidas del modelo de estadístico (pH 4.5, temperatura de 20 °C y 30 minutos de reacción), y el sistema de reacción (1mL) consistió principalmente en agua de la Laguna de Mandinga con la mezcla de los 15 HAPs a una concentración de 1.5 µM en isopropanol al 15% (v/v), adicionados intencionalmente para obtener una señal adecuada en el equipo HPLC-UV. Una vez completada la reacción, los productos de reacción se extrajeron siguiendo el Método 610 de la EPA para Hidrocarburos Aromáticos Polinucleares. Las conversiones individuales de la mezcla de HAPs obtenidas de la oxidación enzimática por la manganeso peroxidasa se expresan en la Tabla 15, en donde puede apreciarse que la oxidación catalítica en agua real (Laguna de Mandinga) obedece a lo obtenido en sistemas modelo, los compuestos con mayor porcentaje de conversión son los que tienen mayor número de anillos aromáticos y por lo tanto los más recalcitrantes. En el caso del criseno la conversión del 147% pudo deberse a que uno o más de los productos de la oxidación enzimática de los HAPs presentes en las muestras de agua, eluyen en el mismo tiempo de retención de este compuesto.

Tabla 15. Conversión catalítica de la mezcla de HAPs por la enzima manganeso peroxidasa en muestras de agua de la Laguna de Mandinga.

Conversión de la mezcla de HAPs en muestras de agua de la Laguna de Mandinga	
HAP	% Conversión
Naftaleno	0,0
Acenafteno	0,0
Acenaftileno	0,0
Fluoreno	0,0
Fenantreno	51,0
Antraceno	58,0
Fluoranteno	4,6
Pireno	2,7
Benzo(a)antraceno	14,5
Criseno	147,0
Benzo(b)fluoranteno	12,3
Benzo(k)fluoranteno	20,9
Benzo(a)pireno	42,3
Dibenzo(a,c)antraceno	12,8
Perileno	0,0

9.3 Pruebas toxicológicas.

9.3.1 Evaluación Dosis-Efecto de los HAPs en el desarrollo embrionario del erizo de mar “*Lytechinus pictus*”.

Para evaluar la toxicidad de los HAPs y de sus productos de oxidación enzimática en organismos acuáticos se utilizó embriones de erizo de mar (*Lytechinus pictus*) como organismos modelos experimentales. Estos fueron proporcionados por la Universidad de California Bodega Marine Laboratory, Estados Unidos. La evaluación toxicológica se efectuó durante el desarrollo embrionario del erizo de mar en dos tiempos distintos de inicio de exposición: 45 min después de la fertilización (post-fertilización) (A); y estadio de blástula ciliada (post-eclosión, 16

horas después de la fertilización) (B). Con los resultados obtenidos se elaboraron las curvas dosis-respuesta del antraceno, fenantreno y pireno (HAPs) con los dos tiempos distintos de inicio de exposición (figura 17).

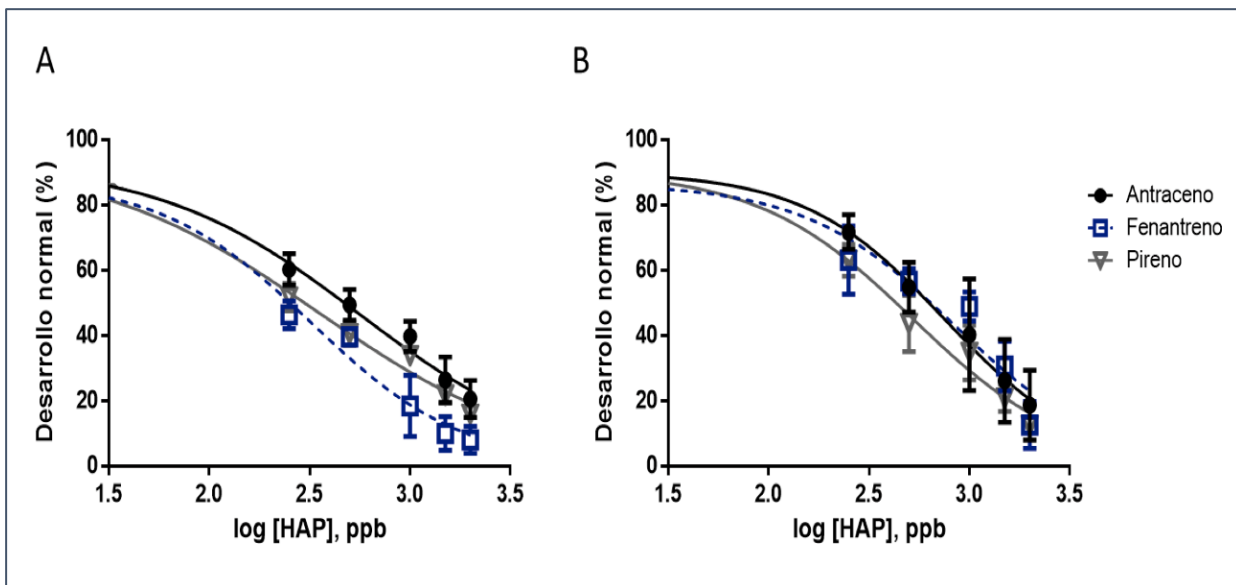


Figura 17. Curvas dosis-respuesta del antraceno, fenantreno y pireno (HAPs) durante el desarrollo embrionario de erizos de mar (*Lytechinus pictus*) en dos tiempos distintos de inicio de exposición: post-fertilización (A) y post-eclosión (B).

Con ayuda del programa GraphPad Prism 6 se determinó la concentración media efectiva (CE_{50}) y la bondad de ajuste (R^2) de las curvas dosis-respuesta en el desarrollo embrionario de erizos de mar (*Lytechinus pictus*) expuestos a antraceno, fenantreno y pireno (HAPs), con dos tiempos distintos de inicio de exposición (Post-fertilización y Post-eclosión). La Tabla 16 presenta el resumen del análisis estadístico, se puede observar que el efecto de los HAPs fue mayor cuando los embriones se expusieron 45 minutos después de la fertilización (post-fertilización), ya que a concentraciones menores los embriones de erizo de mar resultaron ser más sensibles al tóxico (HAPs).

Tabla 16. Concentración media efectiva (CE₅₀) y bondad de ajuste (R²) de las curvas dosis-respuesta del antraceno, fenantreno y pireno (HAPs) durante el desarrollo embrionario de erizos de mar (*Lytechinus pictus*) en dos tiempos distintos de inicio de exposición (post-fertilización y post-eclosión).

Compuesto	Inicio de exposición			
	Post-fertilización		Post-eclosión	
	CE ₅₀ (ppb)	R ²	CE ₅₀ (ppb)	R ²
Antraceno	604	0.837	759	0.737
Fenantreno	331	0.921	849	0.808
Pireno	403	0.965	534	0.861

9.3.2 Evaluación morfológica del efecto de los productos de oxidación enzimática de HAPs por la manganeso peroxidasa en el desarrollo embrionario del erizo de mar “*Lytechinus pictus*”.

Los resultados obtenidos de la concentración media efectiva (CE₅₀) del antraceno, fenantreno y pireno en embriones de erizo de mar (*Lytechinus pictus*) evidenciaron que el tiempo de exposición inicial post-fertilización es el tiempo en el cual los embriones de erizo de mar resultaron ser más sensibles. Por este motivo se decidió evaluar morfológicamente el efecto de los productos de oxidación enzimática de los HAPs transformados por la manganeso peroxidasa en dicho tiempo inicial de exposición.

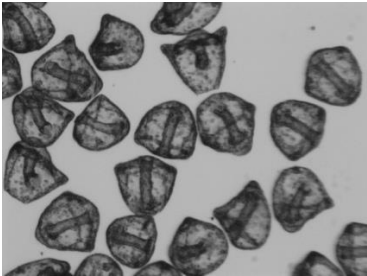
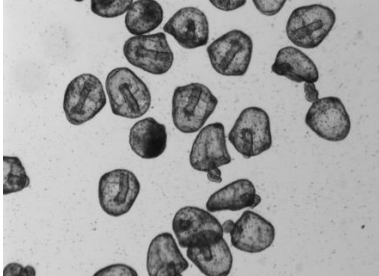
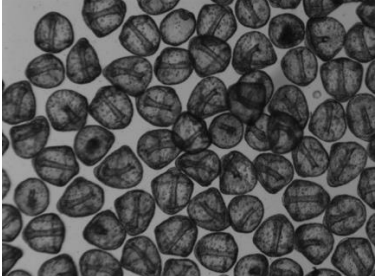
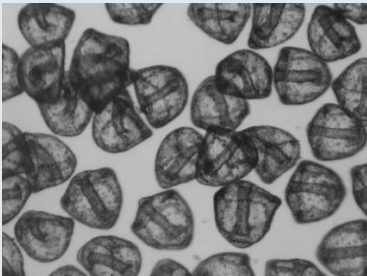
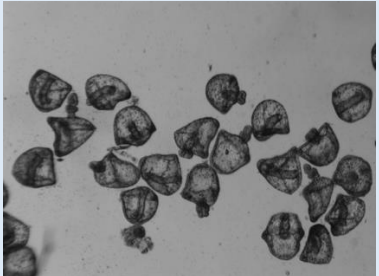
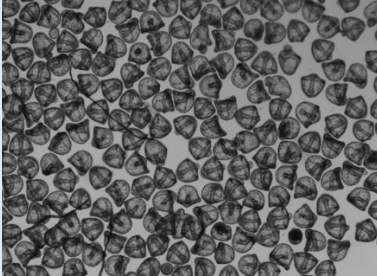
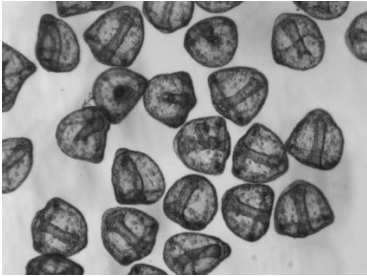
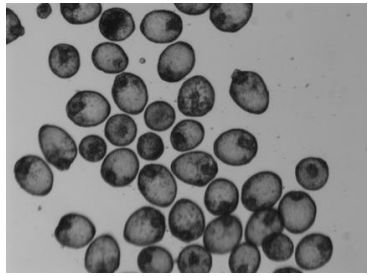
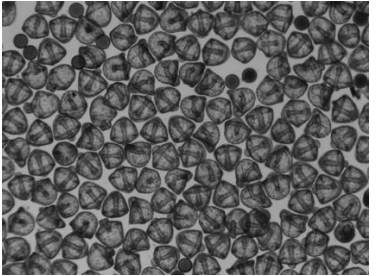
Una concentración de 1000 ppb (claramente mayor que la concentración media efectiva de cada HAP), se eligió como la concentración de exposición de los bioensayos. La evaluación morfológica consistió en determinar el porcentaje de embriones de erizo de mar que se desarrollaron normalmente (sin alteraciones morfológicas como exogastulación o vegetación) en los bioensayos. Las Tablas 17 y 18 muestran los resultados obtenidos, se puede observar que los embriones expuestos a los productos de oxidación enzimática de los HAPs tienen un

porcentaje de desarrollo normal por encima del 75 %, esto demostró que la toxicidad de los productos de oxidación enzimática de los HAPs (antraceno, fenantreno y pireno oxidados por la MnP) resultó menor que la toxicidad de los HAPs (antraceno, fenantreno y pireno) sin transformar.

Tabla 17. Porcentaje de desarrollo normal de los embriones de erizo de mar (*Lytechinus pictus*) expuestos a HAPs sin transformar y a HAPs tratados enzimáticamente con manganeso peroxidasa.

HAP sin transformar	% Desarrollo normal	Producto de oxidación enzimática (HAP + MnP)	% Desarrollo normal
Antraceno	40	Antraceno + MnP	78.3
Fenantreno	18	Fenantreno + MnP	85.7
Pireno	34	Pireno + MnP	75.5

Tabla 18. Efecto morfológico en el desarrollo embrionario del erizo de mar (*Lytechinus pictus*) expuestos a HAPs sin transformar y a HAPs tratados enzimáticamente con manganeso peroxidasa.

Tratamientos a los que se expusieron los embriones de erizo de mar		
Control (disolvente)	HAPs sin transformar	HAPs transformados con la enzima MnP
 <p>Control</p>	 <p>Anthraceno</p>	 <p>Anthraceno + MnP</p>
 <p>Control</p>	 <p>Pireno</p>	 <p>Pireno + MnP</p>
 <p>Control</p>	 <p>Fenantreno</p>	 <p>Fenantreno + MnP</p>

10. CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos demuestran que la oxidación enzimática es potencialmente útil como una herramienta tecnológica sustentable de tratamiento ya que mejora la calidad del agua al reducir la toxicidad de los HAPs. La problemática ambiental alrededor de la Laguna de Mandinga abarca varios fenómenos y múltiples factores, por lo que las propuestas tecnológicas de remediación no son suficientes, pero si necesarias para resolver el problema.

Las medidas preventivas por otro lado son una fuerte estrategia (para la solución del problema), en el ámbito político la creación de nuevos instrumentos legales y la mejora de los existentes (marcos normativos menos flexibles y más completos) favorecería la reducción de la carga de contaminantes y por consecuencia los tratamientos serían más efectivos. Además de que la salud del ecosistema y de la población se vería mejorada.

Desde la perspectiva de desarrollo económico y social es necesario realizar un análisis profundo durante la toma de decisiones, para esto es recomendable el empleo de herramientas (evaluación del impacto ambiental con un enfoque ecosistémico) que faciliten el entendimiento de los impactos que las actividades antropogénicas pueden causar en el ambiente y en el funcionamiento ecológico de los ecosistemas. Asimismo, es necesario desarrollar la infraestructura necesaria para el control, monitoreo y evaluación de los cambios ecológicos y de las condiciones sociales del área de problematización. El vínculo transectorial e interdisciplinario entre la academia, las autoridades, la iniciativa privada y los actores sociales será necesario para llegar a la solución del problema.

11. REFERENCIAS.

Acevedo F., Pizzul L., Castillo M.dP., González M.E., Cea M., Gianfreda L., Diez M.C., (2010). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by free and nanoclay-immobilized manganese peroxidase from *Anthracophyllum discolor*. *Chemosphere* 80 271–278. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.04.022

Acosta J. V. (2013). Manglares de México/ Extensión, distribución y monitoreo. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Secretaría de Marina. México D.F. 128 pp.

Agencia Imagen del Golfo. (2013). Disminuye el ostión en lagunas de Alvarado. Veracruz, 10 septiembre. Obtenido de Imagen del Golfo: <http://imagedelgolfo.mx/resumen.php?id=408472>

Anjaneyulu Y., Chary N.S., Raj D.S.S., (2005). Decolorization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Rev. Environ. Sci. Technol.* 4: 245–273.

Aragón, R. P. L., Castañeda, M. R., Barba, G., Monreal, D. S., & Sánchez, C. L. (2017). Lindane and Endosulfan Sulfate Isomers in *Crassostrea virginica* (Gmelin, 1791) Oyster Populations in Lagoon Systems from Central Gulf of Mexico. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(4), 1579–1585. <https://doi.org/10.22161/ijeab/2.4.17>

Arregín S., F., (1982). Contribución al conocimiento de la hidrobiología de las lagunas de Mandinga, Veracruz, México. *An. Esc. Nal. Cienc. Biol. Méx.* 26: 111-134.

Arroyo, M., Acebal C., De la Mata I., (2014). “Biocatálisis y Biotecnología”. *Arbor*, 190 (768): a156. doi:<http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4010>.

ATSDR (2017). Agency for Toxic Substances & Disease Registry. Recuperado el 21 de Mayo de 2017, de U.S. Department of Health and Human Services. Recuperado de https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs15.html

ATSDR- ToxFAQs™. (2016). Agency for Toxic Substances & Disease Registry. Recuperado el 14 de Noviembre de 2016, de U.S. Department of Health and Human Services. Recuperado de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/Index.asp>

ATSDR. (2016). Resúmenes de Salud Pública - Mirex y clordecona (Mirex and Chlordecone). Retrieved November 10, 2017, from https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs66.html

Ávila García, P. (2008). Vulnerabilidad socioambiental, seguridad hídrica y escenarios de crisis por el agua en México. *Ciencias*, 90(abril-junio), 46–57.

Baborova P., Moder M., Baldrian P., Cajthamlova K., Cajthaml T., (2006). Purification of a new manganese peroxidase of the white-rot fungus *Irpex lacteus*,

and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the enzyme. *Res. Microbiol.* 157: 248–253.

Bachmann R, Bastianelli E, Riese J, Sclenzka W (2000). Using plants as plants. *McKinsey Quarterly* :93-99

Barrera E. G., (2006). Toxicidad del cromo y cadmio en ostión *Crassostrea virginica* (Gmelin) de la laguna de Mandinga, Veracruz. Tesis de Doctorado. UAM-Iztapalapa. 229 p.

Batterman, S., Elsenberg, J., Hardin, R., Kruk, M. E., Lemos, M. C., Michalak, A. M., ... Wilson, M. L. (2009). Sustainable control of water-related infectious diseases: A review and proposal for interdisciplinary health-based systems research. *Environmental Health Perspectives*, 117(7), 1023–1032. <https://doi.org/10.1289/ehp.0800423>

Bezaury J. E. C., Torres J. F., (2010). Base de Datos Geográfica de la Plataforma Continental y Plataformas Insulares Mexicanas. Recuperado de http://www.estudiocalle.net/bases_datos_aguas_mexicanas/bases/Metadatos/13PlatCI.pdf.

Blasco, F. (1988). Estudio sobre los manglares y de la vegetación tropical utilizando datos proporcionados por satélites. Institute de la Carte Internationale de la Vegetation. Inst. Intern. Map Vegetat. Univ. Paul Sabatier, 120 pp

Bogan, B.W., Lamar R.T., (1996). Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading capabilities of *Phanerochaete laevis* HHB–1625 and its extracellular ligninolytic enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 1597–1603.

Bommarius A.S., Riebel B.R., (2004). *Biocatalysis, fundamentals and applications*. Wiley, Weinheim.

Botello A. V., Calva B L. G., Ponce G. V., (2001). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Sediments from Coastal Lagoons of Veracruz State, Gulf of Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* (2001) 67:889–897 © 2001 Springer-Verlag New York Inc. DOI: 10.1007/s00128-001-0205-9

Botello A. V., Ponce V. A., y Toledo D. G., (1996). Ecología, recursos costeros y contaminación en el Golfo de México: Contaminación e Impacto Ambiental, Diagnóstico y Tendencia. Campeche: Universidad Autónoma de Campeche. EPOMEX.

Botello A. V., Soto L. A., Ponce V. G., y Susana V. F., (2015). Baseline for PAHs and metals in NW Gulf of Mexico related to the Deepwater Horizon oil spill. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 156(1), 124–133. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.11.010>

Botello, A. V., Barrera, G., Díaz, G., Ponce G. V., Villanueva, F. S. e I. Wong Ch., (2002). Contaminación Marina y Costera. La Pesca en Veracruz y sus Perspectivas de Desarrollo. Editores Inst. Nacional de Pesca y Universidad Veracruzana. Xalapa, Ver. 97-111.

- Brito, E. M. S., De la Cruz B. M., Caretta, C. A., Goñi U. M., Andrade L. H., Cuevas R. G., Guyoneaud R., (2015). Impact of hydrocarbons, PCBs and heavy metals on bacterial communities in Lerma River, Salamanca, Mexico: Investigation of hydrocarbon degradation potential. *Science of the Total Environment*, 521–522, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.098>
- Calderon, F. M. (1993). Evaluacion del 1-hidroxipireno como Biomarcador de la Exposición Industrial a los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos.
- Cao L., (2005). Immobilised enzymes: science or art? *Curr Opin Chem Biol* 9:217–226.
- Cao L., van Langen L., Sheldon R.A., (2003). Immobilised enzymes: carrier-bound or carrier- free? *Curr Opin Biotechnol* 14:387–394.
- Carrillo Pavón I. (2016). Propuesta de manejo del manglar del Sistema Lagunar Mandinga. Tesis de especialidad, Universidad Veracruzana. Recuperado de <https://www.uv.mx/pozarica/egia/files/2017/05/lvette-Carrillo.pdf>
- Casas López M. I. (2017). El proceso participativo para la conservación y uso regulado de los bienes naturales de la Laguna del Ostión, Veracruz. Tesis de Maestría Universidad Veracruzana
- Castañeda L. O., Contreras E. F., (2003). Ecosistemas costeros mexicanos una actualización, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, México.
- Castañeda L.O., Contreras E. E. F., (1994). Golfo de México I. (de Tamaulipas y Veracruz), Serie bibliografía comentada sobre ecosistemas costeros, 3, UAMI-CONABIO, 615 pp.
- CEMDA (2012). El Sistema Arrecifal Veracruzano, un Área Natural Protegida amenazada. Centro Mexicano de Derecho Ambiental, A.C México. 55p
- Cervantes C., R. C., J. M. Gómez B. y G. G. Delgado Z. (1997). Determinación del potencial ostrícola del sistema lagunar Boca del Río Mandinga, Boca del Río, Ver. Res. 4to. Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar. Mérida. Yuc.
- CONABIO (1998). La diversidad biológica de México: Estudio de País, 1998. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, pp. 62-102.
- CONABIO (2011). La biodiversidad en Veracruz: Estudio de Estado. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Veracruz, Universidad Veracruzana, Instituto de Ecología, A.C. México, pp. 285-347.
- CONAGUA. (2015). Inventario Nacional De Plantas Municipales De Potabilización Y De Tratamiento De Aguas Residuales En Operación. Diciembre 2014. Semarnat, 308.
- Contreras F., Castañeda O. L., Barba M. E., y. Pérez M. A H., (2002). Caracterización e importancia de las lagunas costeras, en: INPI/U.Ver (eds.) La

pesca en Veracruz y sus perspectivas de desarrollo. CRIP/INP/SAGARPA/ U. Veracruzana, México, pp: 31-43.

Contreras F.,(2000). Las lagunas costeras mexicanas y su importancia para la biodiversidad. México 2: (1): 20- 128.

Contreras, E. F. (1985). Comparación hidrológica de tres lagunas costeras del estado de Veracruz, México. Univ. y Cienc. 2(3): 47-56

Cortinas, C. de N. (2003). Los Contaminantes Orgánicos Persistentes: Una visión regional. Grupo Parlamentario del PVEM.

Cram S., Siebe C., Ortiz R., Herre A., (2004). Mobility and persistence of petroleum hydrocarbons in peat soils of Southeastern México. Soil & Sediment Contamination 13: 341-360.

Cruz G., A., A. Rocha R. y G. De La Cruz A.,(1980). El impacto del dragado sobre la hidrobiología del sistema lagunar de Mandinga, Veracruz, México. Res. I Congr. sobre Problemas Ambientales en México. 13.

Damonte, G., & Lynch, B. (2016). Cultura, política y ecología política del agua: una presentación. ANTHROPOLOGICA, N.º 36, 5–21.

De la Cruz A. G. (1985). Cambios ictiofaunísticos debido al dragado en la laguna de Mandinga, Ver. Mem. VIII Congr. Nal. Zool. 14-28.

De la Lanza, E. G., Ortiz, P. M., y Carbajal, P. J., (2012). Diferenciación hidrogeomorfológica de los ambientes costeros del Pacífico, del golfo de México y del Mar Caribe. Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM, 33-50.

De Luis R., Lavilla M., Sánchez L., Calvo M., Pérez M.D., (2009). Development and evaluation of two ELISA formats for the detection of b-lactoglobulin in model processed and commercial foods. Food Control 20:643–647.

Del Ángel, L. A. P., & Villagómez, J. A. C. (2014). Alimentación, salud y pobreza en áreas marginadas urbanas: caso Veracruz-Boca del Río, Veracruz, México. Estudios Sociales, 35. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/estsoc/v22n44/v22n44a1.pdf>

Diario de Xalapa. (2018). Municipios matan ríos con aguas negras. Xalapa, 4 de junio. Obtenido de Pressreader: <https://www.pressreader.com/mexico/diario-de-xalapa/20180604/281496456971868>

Edwards, S. C., Jedrychowski, W., Butscher, M., Camann, D., Kieltyka, A., Mroz, E., Perera, F., (2010). Prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and children's intelligence at 5 years of age in a prospective cohort study in Poland. Environmental Health Perspectives. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901070>

Espinosa H., P. Fuentes-Mata, M.A. Gaspa-Dillanes y V. Arenas. (1993). Notes on mexican ichtyofauna. En: Ramamoorthy, T.P., R. Bye, A. Lot y J. Fa (eds.).

Biological Diversity of Mexico. Origins and distribution. Oxford University Press. Nueva York.

Ewa, B., & Danuta, M. Š. (2017). Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. *Journal of Applied Genetics*, 58(3), 321–330. <https://doi.org/10.1007/s13353-016-0380-3>

Farias S., J. A., (1991). Ecology, culture and utilization of the mussel, *Brachidontes recurvus* (Rafinesque), in the context of an integrated management approach to Boca del Rio-Mandinga estuarine system, Veracruz, Mexico. Thesis degree of Doctor of Philosophy. University of Stirling, Scotland

Flores V. F. J., Casasola, P., De la Lanza E. G., y Agraz H. C. (2011). El manglar, otros humedales costeros y el cambio climático. Vulnerabilidad de las zonas costeras mexicanas ante el cambio climático (segunda edición): México, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, UNAM-ICMyL, Universidad Autónoma de Campeche, 205-228.

Flores V. F., F. F. González y U. A. Zaragoza (1998). Ecological parameters of the mangroves of semi-arid regions of Mexico: Importance for ecosystem management, en H. Leith y A. Al-Masoom (eds.), *Towards the rational use of high salinity tolerant plants*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 123-132.

Formato siete (2018). No tratan aguas negras de Veracruz y Boca del Río mariscos podrían estar contaminados. Veracruz, 2 de mayo. Obtenido de Formato siete: Formato siete. <https://formato7.com/2018/05/02/no-tratan-aguas-negras-de-veracruz-boca-del-rio-mariscos-estarian-contaminados-bello/>

García R., (2006). *Sistemas Complejos: Conceptos, métodos y fundamentación epistemológica de la investigación interdisciplinaria*. España: Gedisa.

García, E., (1973). Modificaciones del sistema de clasificación climática de Copen (para adaptarlas a la República Mexicana); Instituto de Geografía, Univ. Nal. Autom. México. p. 33

Griffiths M., (2009). *The application of Biotechnology to Industrial Sustainability*. Edited by Gram A, Treffenfeldt W, Lange U, McIntyre T, Wolf O. Paris: OECD.

Grupo siete (2013). Plantas de tratamiento en Veracruz tardarán 10 años en funcionar al 100%, grupo MAS las compondrá de manera paulatina. Veracruz, 31 de agosto. Obtenido de formato siete: <https://formato7.com/2017/04/15/diez-anos-tardaran-funcionar-al-100-plantas-tratamiento/>

Gutiérrez, R., Vega, S., Ortiz, R., Pérez, J. J., & Schettino, B. (2015). Presence of PAHs in milk of industrial farms from Tizayuca, Hidalgo, Mexico. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1000166>

Guzmán G. X., Botello A., Martínez T. L., González M. H., (2009). Effects of heavy metals on the oyster (*Crassostrea virginica*) at Mandinga Lagoon,

Veracruz, Mexico. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 57 (4): 955-962

Guzmán-García, X., Botello, A. V, Martínez-Tabche, L., & González-Márquez, H. (2009). Effects of heavy metals on the oyster (*Crassostrea virginica*) at Mandinga Lagoon, Veracruz, Mexico. Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol, 57(4), 955–962.

Haritash, A. K., & Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. Journal of Hazardous Materials. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.03.137>

Hatakka, A., Steffen K.T., Toumela M., and Hofrichter M., (2001). Fungal processes for bioremediation. Proc. First Europ. Bioremed. Conf. Chania, Crete, Wanda Peczyńska-Czzoch. pp. 353–356.

Husain Q., Husain M., Kulshrestha Y., (2008). Remediation and treatment of organopollutants mediated by peroxidases: Critical Reviews in Biotechnology; 29(2): 94–119

INECC. (1997). Registro de emisiones y transferencia de contaminantes. Propuesta Ejecutiva Nacional. (México, Editor). Recuperado de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/144/cap4.html>

INEGI-SEPESCA (1987), Carta básica nacional de información pesquera, DGI, SNIIPP

INEGI. (2009). Censos Económicos 2009. México. Recuperado de <http://cuentame.inegi.org.mx>.

INEGI. (2009). Pesca y acuicultura animal censos económicos. México. Recuperado de <http://cuentame.inegi.org.mx>.

Instituto de los Recursos Mundiales. (1997). Cifra relativa de especies descritas en las principales taxa. World Resource Institute (WRI). Reporte de junio de 1997.

Instituto Nacional de Ecología, (2000). Diagnóstico Ambiental y Desarrollo de una Base de Datos para la Zona Costera de la República Mexicana, LA CALIDAD DEL AGUA EN LOS ECOSISTEMAS COSTEROS DE MÉXICO. SEMARNAT, Programa de Medio Ambiente 1995-2000, México.

Jaward F. M., Alegria H. A., Galindo R. J. G., y Hoare A., (2012). Levels of PAHs in the Waters, Sediments, and Shrimps of Estero de Urias, an Estuary in Mexico

Johnsen A.R., Karlson U., (2007). Diffuse PAH contamination of surface soils: environmental occurrence, bio- availability, and microbial degradation. Appl Microbiol Biotechnology 76: 533-543.

Jornada Veracruz (2013). Plaza el Dorado no cuenta con planta de tratamiento que tenga la capacidad requerida. Veracruz, 31 agosto. Obtenido de Jornada Veracruz: http://www.jornadaveracruz.com.mx/Post.aspx?id=130831_071655_383

- Kaushik P., Malik A., (2009). Fungal dye decolourization: recent advances and future potential. *Environ Int* 35:127–141.
- Kornilowicz K. T., Wrzosek G., Ginalska G., Iglík H., Bancercz R., (2006). Identification and application of a new fungal strain of *Bjerkandera adusta* R59 in decolorization of daunomycin wastes. *Enzyme Microb. Technol.* 38: 583–590.
- Landers, D.H., Nahlik, A.M. (2013). Final ecosystem goods and services classification system (FEGS-CS). EPA/600/R-13/ORD-004914. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington, DC.
- Lango, F., Castañeda, M. R., y Navarrete, G. (2013). Perfil de contaminación del ostión americano *Crassostrea virginica* en el Golfo de México. *Manejo de los recursos pesqueros de la cuenca del Golfo de México y del Mar Caribe. Dirección General, México*, 87-113.
- Lankford R.R., (1977). “Coastal lagoons of Mexico, Their origin and classification”, en: M Wiley (ed.), *Estuarine Process*, Academic Press, 230 pp.
- Lankford-b R. R., (1977). “Coastal lagoons of Mexico”, en Wiley, M. (ed.), *Their origin and classification estuarine processes*, Academic Press Incorporation, New York, pp. 182-215.
- Lara D., A. L.; López L. J.; Martínez G. R., y Vázquez L. A. D., (2009). Caracterización del sitio de manglar Mandinga, en Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). Sitios de manglar con relevancia biológica y con necesidades de rehabilitación ecológica. CONABIO, México, D.F.
- Lara, A. L. D. (2011). Recursos Hídricos. In Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Veracruz, Instituto de Ecología, & Universidad Veracruzana (Eds.), *La biodiversidad en Veracruz: Estudio de Estado* (pp. 285–347). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad y Gobierno del Estado de Veracruz.
- Lara, L. J. R., Arreola, J. A. L., Calderon, L. E. A., Camacho, V. F. I., de la Lanza, G. E., Escofet, A. G., ... Zertuche, J. A. G. (2008). Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales. *Capital Natural de México. Vol. 1. Conocimiento Actual de La Biodiversidad*, I, 109–134. <https://doi.org/10.4067/S0717-66432002000200006>
- Laurenti E., Ghibaudo E., Ardisson, S., Ferrari R.P., (2003). Oxidation of 2,4-dichlorophenol catalyzed by horseradish peroxidase: characterization of the reaction mechanism by UV visible spectroscopy and mass spectroscopy. *J. Inorg. Biochem.* 95: 171–176.
- Leff, E. (2000). Tiempo de Sustentabilidad. *Ambiente & Sociedad* (6/7), 14. Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/asoc/n6-7/20424.pdf>

- Longoria A., Tinoco R., Torres E., (2010). Biocatalysis Based on Heme Peroxidases: Chapter 9 Enzyme Technology of Peroxidases: Immobilization, Chemical and Genetic Modification, 210-237.
- López D., G. N. E., Tinoco M. J. G., Pérez S. S. y Velazco L. R., (1992). Estudio bacteriológico de la cuenca hidrológica asociada a la laguna de Mandinga. III Simp. del Depto. de Ciencias de la Salud. UAM-Iztapalapa.25.
- López H. K. M., Pardío S. V., Lizárraga P. L., de Jesús W. J., Martínez H. D., Flores P. A., y Uscanga S. R. (2015). Seasonal abundance of *Vibrio cholerae* non O1/non O139 chxA+ in oysters harvested in a coastal lagoon of Mexico's Gulf coast: A seafood safety risk concern. *Food Control*, 53, 46-54
- López P. J. A., Lara D. A. L., Martínez G. M. C., Hernández S. M., Rodríguez R. M., Ureña A. C., Galán B. R. I., Vásquez, V. M. y E. Sáinz H., (2012). Programa regional para la caracterización y el monitoreo de ecosistemas de manglar del Golfo de México y Caribe Mexicano: inicio de una red multi-institucional. Veracruz. Instituto de Ecología A.C. Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. FN007. Ciudad de México
- López P. J., y E. Ezcurra (2002). Los manglares de México: una revisión. *Madera y Bosque* (núm. esp.) 27-51.
- López P. Ma. L. M., Patrick H., Víctor M. Vásquez R., L. R. Gómez A., O. Jiménez O., S. L. Gachuz D. (2011). Atlas De Las Costas de Veracruz. Manglares y Dunas costera. Pp 224
- Manahan S. E., (2007). Introducción a la Química Ambiental, editorial REVERTÉ. Pág. 46-88
- Márquez G. A. Z., (1992). Algunos aspectos fisiográficos, fluviales y sedimentológicos de la cuenca hidrográfica asociada a la laguna de Mandinga, Veracruz. Res. III Reunión Nal. Alejandro Villalobos. 17.
- Mastandrea C., Chichizola C., Ludueña B., Sánchez H., Álvarez H., Gutiérrez A., (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores Biológicos. *Acta Bioquím Clín Latinoam*; 39 (1): 27-36
- McGill, J.T. (1959). Coastal classification maps. En: Rusell, R. J. (ed.). Second Coastal Geography Conference. Coastal Studies Institute, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana, pp. 1-22.
- McHugh, J.L. (1976). Estuarine fisheries: Are they doomed? En: M. Willey (ed.). Estuarine processes, Vol. 1 Academic Press, Nueva York, pp. 15-27.
- Medina M. S. A., Jiménez G. A., Gutiérrez R. M., y Lizardi J. M. A., (2014). Hydrocarbon pollution studies of underwater sinkholes along Quintana Roo as a function of tourism development in the Mexican Caribbean. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13, 509–516.

Merino C., M. L., Sánchez F. M., Coto S. L. y J. A. C., Ocampo (2002). Estudio preliminar del desarrollo gonádico del chucumite (*Centropomus parallelus*, Poey 1860; Pisces: Centropomidae) en el sistema laguna Boca del Río-Mandinga, Ver. Res. VIII Congr. Nal. de Ictiología. Puerto Angel, Oax. Nov. 18-22.

Miller G. T. Jr., (2007). Ciencia ambiental, Desarrollo sostenible, Un enfoque integral. Octava Ed. THOMSON. Pág 186-198

Montaño S. M. T., Garza-Ocañas L., (2014). Health effects due to exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from the petroleum refining industry. *Medicina universitaria*; 16 (64): 136-140

Montaño, M. T.-S., & Garza, L. O. cañas. (2014). Health effects due to exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from the petroleum refining industry. *Medicina Universitaria*, 16(64), 136–140. Retrieved from www.elsevier.com.mx

Morales, J. G., y Damián, J. L. P. (2006). Crecimiento poblacional e instrumentos para la regulación ambiental de los asentamientos humanos en los municipios costeros de México. *Gaceta ecológica*, (79), 53-77.

Moreno J. A., y Escobar M., (2001). Metodología científica en valoración y selección ambiental. *Pesquisa Operacional*, 21 (1-16).

Moreno P., Rojas J. L., Zárate D., Ortiz M. A., Lara A. L., y Saavedra T., (2002). Diagnóstico de los manglares de Veracruz: distribución, vínculo con los recursos pesqueros y su problemática. *Madera y Bosques número especial*:61-88.

Morillo E., Romero A.S., Madrid L., Villaverde J., Maqueda C., (2008). Characterization and Sources of PAHs and Potentially Toxic Metals in Urban Environments of Sevilla (Southern Spain). *Water Air Soil Pollution* 187: 41-51

Nicell J.A., Al-Kassim L., Bewtra J.K., (1993). Wastewater treatment by enzyme catalyzed polymerization and precipitation. *Water Res* 27:1629–1639.

Noruddin M., (1987). Effects of shrimp farming and other impacts on mangroves of Bangladesh. En: *Papers contributed to the Workshop on Strategies for the Management for Fisheries and Aquaculture in Mangrove Ecosystems*. FAO Fisheries Report No. 370 Supplement. Bangkok, Tailandia. 23-25 de junio de 1986: 46-66.

OCDE (2016). Panorama estadístico de la OCDE. Economía, medio ambiente y sociedad 2015-2016. París. Retrieved from http://www.oecd-ilibrary.org/economics/panorama-estadistico-de-la-ocde-2015-2016_9789264258402-es

Odum, W.E. y E.J. Heald (1975). Mangrove forest and aquatic productivity. Cap. 5. En: *An introduction to land-water interaction*. Springer-Verlag Ecological Study Series, Nueva York, 135 pp.

Olguín, E. J., Hernández, M. E., y Sánchez G. G., (2007). Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y

restauración. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23(3), 139-154. Recuperado en 19 de octubre de 2018, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992007000300004&lng=es&tlng=es.

Olivares, R. H. F., Salazar, C. L., Nájera, M., Godínez, O. J. L., & Vega, L. A. (2018). Lipid metabolism and pro-oxidant/antioxidant balance of *Halamphora* oceanic from the Gulf of Mexico exposed to water accommodated fraction of Maya crude oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147(September 2017), 840–851. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.057>

Organización Mundial de la Salud . (2004). El derecho al agua. Health and Human Rights Publication Series, N° 3. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2016/deaths-attributable-to-unhealthy-environments/es/>

Ortiz P. M. A., y De la Lanza E. G., (2006). Diferenciación del espacio costero de México: un inventario regional, Serie Textos universitarios, Instituto de Geografía, UNAM, p. 138.

Padrón, J. (2007). Tendencias Epistemológicas de la investigación Científica en el Siglo XXI. *Cinta de Moebio* , 28, 1-28.

Páez, F. O., Ruiz, A. C. F., Botello, A. V., Ponce, G. V., Osuna, J. I. L., Frías, M. G. E., ... Zazueta, H. M. P. (2002). Concentrations of selected trace metals (Cu, Pb, Zn), organochlorines (PCBs, HCB) and total PAHs in mangrove oysters from the Pacific Coast of Mexico: An overview. *Marine Pollution Bulletin*. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00172-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00172-8)

Palacios F. M., y Vargas R. R., (2002). Pesquería de ostión, p. 96-111. In A.P. Guzmán, B.C. Quiroga, L.C. Díaz, C.D. Fuentes, M.C. Contreras & G. Silva López (eds.). *La pesca en Veracruz y sus perspectivas de desarrollo*. SAGARPA-UV, Mexico.

Paniagua C. E. I., Granados S. D., y Granados V. R. L., (2018). Structure, goods and services of the Mandinga mangrove in Veracruz. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 24(2), 171-181. doi: 10.5154/r.rchscfa.2017.05.034

Parshetti G., Kalme S., Saratale G., y Govindwar S., (2006). Biodegradation of Malachite Green by *Kocuria rosea* MTCC 1532. *Acta Chim. Slov.* 53: 492–498.

Pearce C.I., Lloyd J.R., y Guthrie J.T., (2003). The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells. A review. *Dyes Pig.* 58: 179–196.

Pedroche, F.F., K.M. Dreckmann, A. Sentíes y R. Margain (1993). Diversidad algal en México. En: Gío, R. Y E. López-Ochoterena (eds.). *Diversidad Biológica en México*. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural*, vol. XLIV (especial).

- PEMEX (2013). Reestructurando Pemex. La necesaria Reforma Energética. Recuperado de <http://www.industriapetroleramexicana.com/category/industria-petrolera/>.
- PEMEX (2014). PETRÓLEOS MEXICANOS Informe Anual 2013. Secretaría de Energía (SENER), México.
- Peña, H. (2016). Desafíos de la seguridad hídrica en América Latina y el Caribe. CEPAL, Naciones Unidas (Vol. Recursos N). <https://doi.org/10.3989/arbor.2000.i653.1000>
- Penning, T. M. (2014). Human aldo-keto reductases and the metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemical Research in Toxicology*, 27(11), 1901–1917. <https://doi.org/10.1021/tx500298n>
- Perera F. P., Rauh V., Whyatt R. M., Wei-Yann T., Deliang T., Diaz D., Hoepner L., Barr D., Yi-Hsuan T., Camann D., y Kinney P., (2010). Effect of Prenatal Exposure to Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Neurodevelopment in the First 3 Years of Life among Inner-City Children. *Environmental Health Perspectives*, VOLUME 114, NUMBER 8, August
- Perera, F. P., Rauh, V., Whyatt, R. M., Tsai, W. Y., Tang, D., Diaz, D., ... Kinney, P. (2006). Effect of prenatal exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Environmental Health Perspectives*. <https://doi.org/10.1289/ehp.9084>
- Piazza R, Ruiz F.A. C., Frignani M., Vecchiato M., Bellucci L.G., Gambaro A., (2009). Historical PCB fluxes in the Mexico City Metropolitan Zone as evidenced by a sedimentary record from the Espejo de los Lirios lake. *Chemosphere* 2009;75: 1252–8.
- Piazza R., Ruiz F.A.C., Frignani M., Zangrando R., Bellucci L. G., Moret I., Páez O. F., (2008). PCBs and PAHs in surficial sediments from aquatic environments of Mexico City and the coastal states of Sonora, Sinaloa, Oaxaca and Veracruz (Mexico). *Environ Geol* 54:1537–1545 DOI 10.1007/s00254-007-0935-z
- PNUD. (2006). Informe sobre Desarrollo Humano. Más allá de la escasez: Poder, Pobreza y la crisis mundial del agua. (K. Watkins, Ed.), Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. Grupo Mundi-Prensa.
- PRTR. (2015). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Recuperado el 20 de octubre de 2016, de Registro Estatal de Emisiones y Fuentes Contaminantes.
- Pruneda, L. G. A., Ruíz, T. V., Ochoa, A. C. M., Pérez, F. J. V., González, A. K. P., Ilizaliturri, C. A. H., y Pérez, I. N. M. (2016). Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in Mexican women exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A preliminary study. *Science of the Total Environment*, 572(550), 1195–1202. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.037>

Pubchem: Open Chemistry Database. (2017). Recuperado de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Rai H., Bhattacharyya M., Singh J., Bansal T.K., Vats P., y Banerjee U.C., (2005). Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 35: 219–238.

Reyes V. C., Castañeda C. M. D. R., Landeros S. C., Galaviz V. I., Lango R. F., Minguez R. M. M., y Nikolskii G. I. (2010). Pathogenic vibrios in the oyster *Crassostrea virginica* in the lagoon system of Mandinga, Veracruz, Mexico. *Hidrobiológica*, 20(3), 238-245.

Rigas F., Dritsa V., Marchant R., Papadopoulou K., Avramides E.J., y Hatzianestis I., (2005). Biodegradation of lindane by *Pleurotus ostreatus* via central composite design. *Environ. Int.* 31: 191–196.

Rodríguez Z. M. T., Troche Z. C., Vázquez L. A. D., Márquez M. J. D., Vázquez B. B., Valderrama L. L., Velázquez S. S., Cruz L. M. I., Ressler R., Uribe M. A., Cerdeira E. S., Acosta V. J., Díaz G. J., Jiménez R. R., Fueyo M. D. L. y Galindo L. C., (2013). Manglares de México/Extensión, distribución y monitoreo. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F. 128 pp.

Romo G. C., Monks S., Pulido F. G., y Gordillo M. A. J., (2010). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in superficial water and sediment of Lake Tecocomulco, Mexico. *Interciencia*, 35(12), 905–911.

Ruiz F. A. C., Betancourt P. J. M., Sericano J. L., Sanchez C. J. A., Espinosa L. F., Cardoso M. J. G., Garay T. J. A., (2016). Coexisting sea-based and land-based sources of contamination by PAHs in the continental shelf sediments of Coatzacoalcos River discharge area (Gulf of Mexico). *Chemosphere*, 144. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.081>

Ruiz F. A. C., Ontiveros C. J. F., Sericano J. L., Sanchez C. J. A., Liong W.K. L., Dunbar R. B., Páez O. F. (2014). Long-range atmospheric transport of persistent organic pollutants to remote lacustrine environments. *Science of the Total Environment*, 493, 505–520. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.002>

Ruiz F. A. C., Sprovieri M., Piazza R., Frignani M., Sanchez C. J. A., Feo M. L., Páez O. F., (2012). 210Pb-derived history of PAH and PCB accumulation in sediments of a tropical inner lagoon (Las Matas, Gulf of Mexico) near a major oil refinery. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 82, 136–153. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.02.041>

Ruiz, A. C. F., Sprovieri, M., Piazza, R., Frignani, M., Sanchez-Cabeza, J. A., Feo, M. L., ... Páez, F. O. (2012). 210Pb-derived history of PAH and PCB accumulation in sediments of a tropical inner lagoon (Las Matas, Gulf of Mexico) near a major oil refinery. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 82, 136–153. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2011.02.041>

Ruiz, T. V., Pruneda, L. G. Á., Ochoa, Á. C. M., Ramírez, J. L. G., Pierdant, M. P., Gordillo, A. A. M., ... Pérez, I. N. M. (2015). Assessment of vascular function in Mexican women exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons from wood smoke. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2), 423–429. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.07.014>

SAGARPA. (2011). Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca 2011. Comisión Nacional de Acuacultura y pesca, México.

SAGARPA. (2014). Sustentabilidad y Pesca Responsable en México Evaluación y Manejo. Instituto Nacional de Pesca, México, D.F. .

Salazar C. L., Schifter. I., y González M. C. (2010). Weighing the evidence of ecological risk from PAHs contamination in the estuarine environment of Salina Cruz Bay, México. *Environmental Monitoring and Assessment*, 162(1–4), 387–406. <https://doi.org/10.1007/s10661-009-0804-1>

Salinas, M. y P. Ladrón de Guevara (1993). Riqueza y diversidad de los mamíferos marinos. En: Flores, O. y A. Navarro (comps.). *Biología y problemática de los vertebrados en México*. Ciencias, núm. especial, 7.

Sampieri R. H., Fernández C. C., y Baptista P. L., (2010). *Metodología de la Investigación*. MCGRAW-HILL.

Sánchez M., F., J. A. Ocampo C., M. L. Merino C. y S. Coto L., (2002). Evidencias de hermafroditismo protándrico en el chucumite *Centropomus parallelus* (Pisces: Centropomidae) del sistema estuarino Boca del Río-Mandinga, Veracruz, México. Res. VIII Congr. Nal. de Ictiología. Puerto Angel, Oax. Nov. 18-22.

Santonicola, S., De Felice, A., Cobellis, L., Passariello, N., Peluso, A., Murru, N., ... Mercogliano, R. (2017). Comparative study on the occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in breast milk and infant formula and risk assessment. *Chemosphere*. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.084>

Schifter I., González M. C., Salazar C. L., Sánchez R. G., y González L.C., (2015). Long-term effects of discharges of produced water the marine environment from petroleum-related activities at Sonda de Campeche, Gulf of México. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(11). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4944-1>

Schifter, I., González, C. M., Salazar, L. C., Sánchez, G. R., & González, C. L. (2015). Long-term effects of discharges of produced water the marine environment from petroleum-related activities at Sonda de Campeche, Gulf of México. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(11). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4944-1>

Secretaría de Economía (2014). Atlas de complejidad económica de México: Zona Metropolitana de Veracruz. Subdelegación Federal de la Secretaría de Economía en el estado de Veracruz.

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT (2010) Protección ambiental - especies nativas de México de flora y fauna silvestres - categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - lista de especies en riesgo. Diario Oficial, 30 de diciembre de 2010.

SEDESOL (2010). Catálogo de Localidades. Secretaría de Desarrollo Social. Recuperado de <http://www.microrregiones.gob.mx/catloc/contenido.aspx?refnac=300280001>

SEDESOL. (2010). Catálogo de localidades. Recuperado en 18 de noviembre de 2016 <http://www.microrregiones.gob.mx/catloc/Default.aspx?tipo=clave&campo=mun&valor=30>

Smith R. L., (1980). Ecology and Field Biology. Tercera edición. Harper & Row, Nueva York.

Soares A., Guieysse B., and Mattiasson B., (2006). Influence of agitation on the removal of nonylphenol by the white-rot fungi *Trametes versicolor* and *Bjerkandera* sp. BOL13. *Biotechnol. Lett.* 28: 139–143.

Solis S. J., (1988). Investigación e informe sobre las principales fuentes de contaminación y algunos efectos sobre los cuerpos de agua en el estado de Veracruz. Tesis profesional. Fac. Biol. U. V. 43 p. Veracruz: Tesis profesional. Fac. Biol. U. V. 43 p.

Thiele S., y Brummer G.W., (2002). Bioformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil under oxygen deficient conditions. *Soil Biology Biochemistry* 34: 733-735.

Torres D. C., Vazquez D.R., Torres R. E., and Ayala M., (2010). Biocatalysis Based on Heme Peroxidases, Springer Heidelberg Dordrecht London New York. Chapter 8 Applications and Prospective of Peroxidase Biocatalysis in the Environmental Field P:182-184.

Torres E., Bustos-Jaimes I., y Le Borgne S., (2003). Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. *Appl Catal B* 46:1–15.

UNEP-ONU-a. (2008). Convention Stockholm. Recuperado el 20 de Septiembre de 2016, de Protecting human health and the environment from persistent organic pollutants. Recuperado de <http://chm.pops.int/Home/tabid/2121/Default.aspx>

UNEP-ONU-b. (2008). The new POPs under the Stockholm Convention. Recuperado el 25 de octubre de 2016, de Protecting human health and the environment from persistent organic pollutants. Recuperado de <http://chm.pops.int/TheConvention/Overview/TextoftheConvention/tabid/2232/Default.aspx>

- Vazquez Y. C., (1971). La vegetación de la laguna de Mandinga, Ver. An. Inst. Biol. UNAM 42. Ser. Bot. (1): 49-94.
- Veracruz en red (2007). Propone UV nuevo plan de manejo para la Laguna de Mandinga y Tamiahua. Boca del Río, Ver., 12 marzo. Obtenido de <http://www.veracruzennred.com/noticia/propone-uv-nuevo-plan-de-manejo-para-laguna-de-mandinga-y-tamiahua>
- Wagner M., y Nicell J.A., (2002). Detoxification of phenolic solutions
- Weinberg, J. (2009). Guía para las ONG sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes. Marco para las medidas de protección de la salud humana y el medio ambiente de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP). Retrieved from https://ipen.org/sites/default/files/documents/ngo_guide_pops-es.pdf
- Whitfield, A. K. (2011). Coastal Lagoons – Critical Habitats of Environmental Change. Marine Biology Research (Vol. 7). <https://doi.org/10.1080/17451000.2010.538064>
- Whitfield, A. K. (2011). Coastal Lagoons – Critical Habitats of Environmental Change. Marine Biology Research (Vol. 7). <https://doi.org/10.1080/17451000.2010.538064>
- Whittaker, R.H. y G.E. Likens (1975). The Biosphere and Man. En: H. Lieth y R.H. Whittaker (eds.). Primary productivity of the Biosphere. Springer-Verlag, Nueva York, 21 pp.
- Wilcke W., Krauss M., Safronov G., Fokin A.D., and Kaupenjohann M., (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils of the Moscow Region - Concentrations, temporal trends and small-scale distribution. Journal of Environmental Quality. 34(5): 1581-1590.
- Wiseman A., (1995). Manual de biotecnología de los enzimas. Acribia, S.A. 2: 56-72
- with horseradish peroxidase and hydrogen peroxide. Water Res. 36: 4041–4052.
- Yañez A. A. (1978). Patrones ecológicos y variación cíclica de la estructura trófica de las comunidades neotónicas en lagunas costeras del Pacífico de México. Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología 5: 287-306.
- Yarto, M., Gavilán, A., & Barrera, J. (2003). El Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes y sus implicaciones para México. Gaceta Ecológica, 69, 9–11. <https://doi.org/10.1351/goldbook.S06019>
- Young L., y Yu J., (1997). Ligninase-catalyzed decolorization of synthetic dyes. Water Res. 31: 1187–1193.
- Zhang H.B., Luo Y.M., Wong M.H., Zhao Q.G., Zhang G.L., (2006). Distributions and concentrations of PAHs in Hong Kong soils. Environmental Pollution 14(1): 107-114.

