

Anthropogenic hydrocarbons in sediments of the northeastern Havana seaboard

Hidrocarburos antropogénicos en sedimentos del litoral nordeste de La Habana

EY Companioni-Damas^{1*}, AC Núñez-Clemente¹, MO Cora-Medina¹, M Rosabal-Rodríguez², L González-Bravo³, R Marbot-Ramada⁴, R Montes de Oca-Porto⁵, MA Díaz-Díaz¹

¹ Laboratorio de Química Ambiental, Centro de Investigaciones del Petróleo, Calle Washington 169, Cerro, Habana, Cuba.

² Centro de Ingeniería y Manejo Ambiental de Bahías y Costas, Casablanca, Habana, Cuba.

³ Centro de Aplicaciones Tecnológicas y Desarrollo Nuclear, 30 Aven., Playa, Habana, Cuba.

⁴ Laboratorio de Química Analítica, Centro de Investigaciones del Petróleo, Calle Washington 169, Cerro, Habana, Cuba.

⁵ Laboratorio Antidoping, Calle 100, Altahabana, Habana, Cuba.

* Corresponding author. E-mail: elocompa@yahoo.com

ABSTRACT. The presence of petrogenic hydrocarbons was evaluated in surface sediments from the northeastern Havana littoral (Cuba). Different geochemical biomarkers were used to differentiate between biogenic and anthropogenic hydrocarbons. Sediment samples were Soxhlet extracted and analyzed by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometer detectors. Total concentrations of aliphatic hydrocarbons ranged from 5.5 ± 0.3 to $225.7 \pm 12.6 \mu\text{g g}^{-1}$. The presence of an unresolved complex mixture, and the detection of hopanes and of the isoprenoid compounds pristane and phytane revealed the occurrence of petroleum-derived hydrocarbons in the sediment samples.

Key words: northeastern Havana littoral, marine sediments, biogenic/anthropogenic inputs.

RESUMEN. En el presente trabajo se evaluó la presencia de hidrocarburos antropogénicos en sedimentos superficiales del litoral nordeste de La Habana. Se usaron diferentes biomarcadores geoquímicos con el objetivo de diferenciar entre hidrocarburos biogénicos y antropogénicos. Las muestras de sedimento fueron extraídas mediante Soxhlet y, posteriormente, analizadas utilizando la cromatografía gaseosa con detectores de ionización a la llama y espectrometría de masas. Las concentraciones totales de hidrocarburos alifáticos variaron de 5.5 ± 0.3 a $225.7 \pm 12.6 \mu\text{g g}^{-1}$. La presencia de una mezcla compleja no resuelta y la detección de hopanos y de los compuestos isoprenoides pristano y fitano revelaron la existencia de hidrocarburos de origen petrogénico en las muestras de sedimentos.

Palabras clave: litoral nordeste de La Habana, sedimentos marinos, aportes biogénicos/antropogénicos.

INTRODUCTION

Crude oil and oil-spill-related samples are extremely complex mixtures. Their components range from simple *n*-alkanes to asphaltic constituents, and their boiling points vary over a wide range from a few to several hundred degrees. When oil is spilled into the marine environment it is subjected to a variety of weathering processes, including evaporation, dissolution, dispersion, photochemical oxidation, emulsification, microbial degradation, and adsorption to suspended matter (Zakaria *et al.* 2000). These processes may result in a strong modification of the initial petroleum mixtures leading to significant differences between the hydrocarbon composition of the water column and sediments. Marine sediments act as the ultimate reservoirs of these compounds and their compositional features frequently include hydrocarbon markers like alkanes derived from algae or plant leaves, and steranes and hopanes derived from crude petroleum and fuel spills (Gogou *et al.* 2000, Gomes and

INTRODUCCIÓN

El petróleo crudo y los residuos de derrames de petróleo están conformados por mezclas muy complejas. Sus constituyentes varían desde *n*-alcanos hasta constituyentes asfálticos, y sus puntos de ebullición varían de unos cuantos a varios cientos de grados. Cuando el petróleo es vertido en el medio marino, es sujeto a una gran diversidad de procesos de envejecimiento como evaporación, disolución, dispersión, oxidación fotoquímica, emulsificación, degradación microbiana y adsorción a materia particulada (Zakaria *et al.* 2000). Estos procesos pueden producir una modificación significativa de la composición original de los petróleos, lo cual genera diferencias sustanciales entre su composición en la columna de agua y en los sedimentos. Los sedimentos marinos actúan como los reservorios finales de estos compuestos, en los cuales se pueden encontrar hidrocarburos marcadores como alcanos derivados de algas u hojas de plantas, y esteranos y hopanos que provienen del petróleo crudo y de los derrames

Azevedo 2003, Medeiros and Bicego 2004). As a result of this variety of hydrocarbon sources in sediments, the recognition of source-specific marker compounds and the determination of diagnostic ratios of specific oil constituents are currently used in order to distinguish petrogenic from biogenic inputs.

One of the most important Cuban areas dedicated to oil exploration is located on the northeastern Havana seaboard. Since 1990, offshore drilling and oil production activities have steadily increased. The operation of ships and occasional losses from oil extraction provide some input of petroleum into this marine environment. An environmental screening program, conducted by the Cuban Petroleum Research Center (Núñez 2002), showed levels of total petroleum hydrocarbons in marine coastal sediments ranging from 5.3 to 300 $\mu\text{g g}^{-1}$ and recognized the occurrence of tar balls stranded on beaches. Infrared spectroscopy fingerprint assessment of petroleum hydrocarbons in coastal sediments allowed correlation with crude oils collected at oil extraction sites; however, little is known regarding the compositional features and the weathering effect of the oil residues in this aquatic environment. This is a critical aspect to study the influence of oil extraction along this coastal zone.

The objective of this paper was to determine the presence, levels, and geochemical features of the biogenic and anthropogenic hydrocarbons in surficial sediments of the northeastern Havana littoral, using characteristic molecular markers and compositional ratios.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The study area is located along the northeastern Havana seaboard, between Bacunayagua Inlet (23°08'31" N, 81°40'34" W) and Guanabo Strand (23°10'19" N, 82°05'50" W) (fig. 1). This coastal area is characterized by steep rocky expanses of low height, interrupted by beaches and partially transformed mangroves. The circulation pattern in this coastal area flows eastward with currents between 0.5 and 1 kn (Alvares 2001). Oil extraction wells and pipelines are located along this coast causing occasional inputs of petrogenic pollutants (Núñez 2002); therefore, sampling collection sites were selected in the vicinity of these places where possible oil spills can occur. The major concentration of oil extraction installations are located between sites 11 and 14 (fig. 1).

Sample treatment

In September 2006, 15 sediment samples were collected at the sites shown in figure 1 using a Van Veen grab, and then stored in a freezer at -20 °C until laboratory analysis. Before extraction, sediments were defrosted, dried (45 °C) overnight, and passed through a sieve (2000 μm) to remove gravel and

de hidrocarburos (Gogou *et al.* 2000, Gomes y Azevedo 2003, Medeiros y Bicego 2004). Como resultado de la variedad de orígenes que tienen los hidrocarburos presentes en los sedimentos, normalmente se utilizan la presencia de hidrocarburos "marcadores" característicos de diferentes orígenes y la determinación de relaciones de composición entre constituyentes específicos del petróleo para distinguir entre aportes petrogénicos y biogénicos.

Una de las zonas más importantes de Cuba dedicadas a la exploración del petróleo está localizada en el litoral nordeste de La Habana. Desde 1990, la perforación de petróleo costa afuera y otras actividades relacionadas con la producción de petróleo se han incrementado considerablemente. El trasiego de barcos petroleros y los derrames ocasionales desde los pozos de extracción de petróleo han ocasionado la entrada de estos contaminantes en este medio marino. Un programa de monitoreo ambiental, desarrollado por el Centro de Investigaciones del Petróleo de Cuba (Núñez 2002), mostró concentraciones de hidrocarburos totales entre 5.3 y 300 $\mu\text{g g}^{-1}$ en sedimentos marino-costeros, y se detectó la presencia de bolas de alquitrán en las playas. La evaluación de las huellas dactilares de los petróleos encontrados en los sedimentos costeros mediante espectroscopia infrarroja permitió su correlación con petróleo crudo recolectado en los sitios de extracción de petróleo. Sin embargo, no se posee suficiente información sobre la composición característica y los efectos de envejecimiento de los residuos petrolizados en este medio acuático. Éste es un aspecto importante para estudiar la influencia que ocasiona la extracción de petróleo en esta franja costera.

El objetivo de este artículo fue determinar la presencia, los niveles y las características geoquímicas de los hidrocarburos biogénicos y antropogénicos en los sedimentos superficiales del litoral nordeste de La Habana. Para realizar este trabajo se utilizaron marcadores moleculares característicos y relaciones de composición.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio está situada en el litoral nordeste de La Habana, entre la Ensenada de Bacunayagua (23°08'31" N, 81°40'34" W) y la Playa de Guanabo (23°10'19" N, 82°05'50" W) (fig. 1). Esta zona costera se caracteriza por presentar extensiones rocosas empinadas de baja altura, interrumpidas por playas y manglares transformados parcialmente. El patrón de circulación de esta costa fluye al este con corrientes entre 0.5 y 1 nudo (Alvares 2001). Los pozos de extracción de petróleo y oleoductos están localizados a lo largo de esta costa, lo cual produce ocasionalmente derrames de petróleo (Núñez 2002). Por lo tanto, los sitios de recolección de las muestras se seleccionaron en las cercanías de estas zonas, donde pueden producirse derrames de petróleo. La mayor concentración de instalaciones para la extracción

detritus. In brief, 30 g of homogenized dry sediment were Soxhlet-extracted with 150 mL of dichloromethane for a period of 16 h, with activated powder copper (5 g) for elemental sulphur removal. The extracts were dried with Na_2SO_4 and concentrated on a Kuderna Danish. Column adsorption chromatography with alumina (7 g) and silica (7 g) was applied to clean the extracts. The aliphatic fraction eluted with 20 mL hexane was concentrated by gentle evaporation under a nitrogen stream until the required volume for analysis by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometer detectors.

Instrumental analysis

Analysis by gas chromatography with flame ionization detector was conducted on a Konik HR 4000B gas chromatograph (Barcelona, Spain), using a DB-1 fused silica capillary column (30 m, 0.25 mm internal diameter, 0.25 μm film thickness; Tecknocroma, Spain), with hydrogen as carrier gas. The column temperature program was 60 $^\circ\text{C}$ (2 min), followed by heating to 300 $^\circ\text{C}$ at 6 $^\circ\text{C min}^{-1}$ and held for 20 min. The injector and flame ionization detector were held at 280 and 300 $^\circ\text{C}$, respectively.

Analysis by gas chromatography/mass spectrometry was performed using a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph equipped with a 5973 mass spectrometer detector and a DB-5 fused silica capillary column (15 m, 0.25 mm internal diameter, 0.10 μm film thickness; HP Ultra II, USA), with helium as carrier gas. Electronic impact was used as ionization mode, with an energy of 70 eV. The column was held at 60 $^\circ\text{C}$ for 2 min, increased to 290 $^\circ\text{C}$ at a rate of 3 $^\circ\text{C min}^{-1}$, and held for 10 min. The injector was held at 280 $^\circ\text{C}$.

The identification and characterization of compounds was based on individual mass spectra and gas chromatographic retention times in comparison to library data and authentic standards. External standard calibration curves were established for the quantification. Control samples were analyzed in order to check the quality of the analytical results.

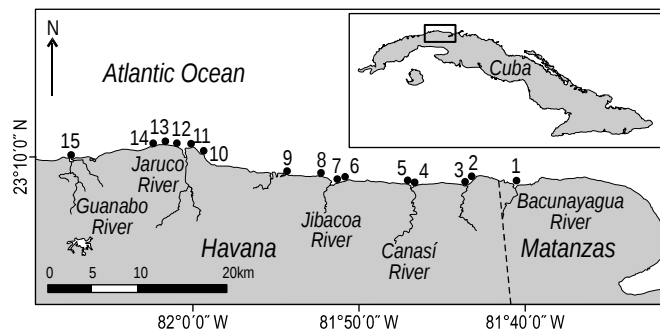


Figure 1. Map of the sampling area along the northeastern Havana seaboard (Cuba). Numbers represent the sediment collection sites.

Figura 1. Mapa de la zona de muestreo localizada en el litoral nordeste de La Habana (Cuba). Los números representan las estaciones de muestreo de sedimento.

de petróleo está localizada entre los sitios de muestreo 11 y 14 (fig. 1).

Tratamiento de muestras

Se recolectaron 15 muestras de sedimentos en septiembre de 2006 en los sitios mostrados en la figura 1, utilizando una draga Van-Veen, y se almacenaron a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta el análisis en el laboratorio. Antes de realizar la extracción, estos sedimentos se descongelaron, secaron ($45\text{ }^\circ\text{C}$) y tamizaron ($2000\text{ }\mu\text{m}$) para remover la grava y el detritus. Brevemente, se extrajeron 30 g de sedimento seco y homogenizado en un aparato Soxhlet con 150 mL de diclorometano durante 16 h, con cobre en polvo activado (5 g) para la eliminación del azufre elemental. Los extractos se secaron con Na_2SO_4 y luego se concentraron en un concentrador Kuderna Danish. La cromatografía de adsorción en columna con alúmina (7 g) y sílice (7 g) se utilizó para purificar los extractos. La fracción alifática eluida con 20 mL de hexano se concentró por medio de evaporación suave bajo un flujo de nitrógeno hasta el volumen requerido para el análisis mediante cromatografía gaseosa con detectores de ionización a la llama y espectrometría de masas.

Análisis instrumental

El análisis mediante cromatografía gaseosa acoplada a un detector de ionización a la llama se realizó en un cromatógrafo Konik HR 4000B (Barcelona, España), usando una columna capilar de sílice fundida DB-1 (30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno, 0.25 μm de espesor de fase; Tecknocroma, España) e hidrógeno como gas portador. El programa de temperatura utilizado en el análisis fue de 60 $^\circ\text{C}$ (2 min), elevándose a 300 $^\circ\text{C}$ con una rampa de temperatura de 6 $^\circ\text{C min}^{-1}$ y manteniéndose isotérmico a esta temperatura por 20 min. El inyector y el detector de ionización a la llama se mantuvieron a 280 y 300 $^\circ\text{C}$, respectivamente.

El análisis mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas se realizó utilizando un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 con un detector de espectrometría de masas 5973 y una columna capilar de sílice fundida DB-5 (15 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno, 0.10 μm de espesor de fase; HP Ultra II, USA), y helio como gas portador. El modo de ionización fue por impacto electrónico, con una energía de 70 eV. El programa de temperatura utilizado fue de 60 $^\circ\text{C}$ durante 2 min, se incrementó a 290 $^\circ\text{C}$ con una rampa de temperatura de 3 $^\circ\text{C min}^{-1}$ y se mantuvo isotérmico a esta temperatura por 10 min. El inyector se mantuvo a 280 $^\circ\text{C}$.

Para la identificación y caracterización de los compuestos, se utilizaron los espectros de masas y los tiempos de retención obtenidos mediante cromatografía de gases y se compararon con los datos de bibliotecas de espectros y con el análisis de patrones. Para la cuantificación, se utilizaron curvas de calibración mediante estándar externo. Se analizaron

RESULTS AND DISCUSSION

Quality results of the analytical method used in this study have been previously reported (Companioni *et al.* 2009). Quantitative results obtained from the analyses of the collected sediments are presented in table 1. Geochemical parameters useful for the identification of natural and anthropogenic origins of hydrocarbons are also shown.

Total aliphatic hydrocarbon levels varied from 5.1 ± 0.3 to $225.7 \pm 12.6 \text{ g g}^{-1}$ dry weight (dw). Higher levels occurred at sites 11 to 14, which are located in an area of intensive oil exploration. Lower concentrations were found for samples at sites 2, 3, and 7, which are zones mainly used for camping and urban activities with no oil extraction installation in the proximity.

Total *n*-alkane concentrations ranged from 0.62 ± 0.09 to $2.03 \pm 0.17 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ dw. The chromatography profiles obtained showed that major aliphatic constituent molecules are included as an unresolved complex mixture (UCM) in which *n*-alkanes represent only a minor amount (fig. 2). This UCM is conformed mainly by branched alkanes and substituted cycloalkanes, and has a well-known linkage to biodegraded petroleum residues (Grossi *et al.* 2002; Wang *et al.* 1998a, 1998b; Zakaria *et al.* 2000). The high abundance of UCM at all sampling sites (4.3 ± 0.3 to $225.7 \pm 12.6 \text{ g g}^{-1}$ dw, table 1) is a positive indication of oil pollution.

The *m/z* 85 mass fragmentograms of representative aliphatic fractions are shown in figure 3. It can be observed that

muestras de control con el propósito de revisar la calidad de los resultados analíticos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros de calidad determinados para el método analítico utilizado en este trabajo han sido documentados previamente (Companioni *et al.* 2009). En la tabla 1 se muestran los resultados cuantitativos obtenidos del análisis de los sedimentos recolectados. También se muestran los parámetros geoquímicos útiles para la identificación del origen natural y antropogénico de los hidrocarburos.

Los niveles de hidrocarburos alifáticos totales variaron de 5.1 ± 0.3 a $225.7 \pm 12.6 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ peso seco (PS). Los niveles mayores se encontraron en los sitios 11 a 14, los cuales están localizados en un área de intensa exploración petrolera. Los niveles menores fueron determinados para los sitios de muestreo 2, 3 y 7, que son zonas utilizadas fundamentalmente para actividades urbanas de campismo y recreo, sin la presencia de pozos de extracción de petróleo en las proximidades.

Las concentraciones de *n*-alcanos totales variaron de 0.62 ± 0.09 a $2.03 \pm 0.17 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ PS. Los perfiles cromatográficos obtenidos mostraron que la mayor parte de los constituyentes alifáticos están incluidos como una mezcla compleja no resuelta (MCNR) en la cual los *n*-alcanos representan solamente una parte minoritaria (fig. 2). Esta MCNR está conformada principalmente por alcanos ramificados y cicloalcanos sustituidos, y tiene una relación directa con los residuos de petróleo biodegradados (Grossi *et al.* 2002;

Table 1. Hydrocarbon concentrations and geochemical ratios in surface sediments from the northeastern Havana littoral.

Tabla 1. Concentraciones de hidrocarburos y relaciones geoquímicas en sedimentos superficiales del litoral nordeste de La Habana.

Sampling sites	Total <i>n</i> -alkanes ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw)	CPI _{C15–C20}	CPI _{C21–C34}	UCM ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw)	Pr/Ph	Pr/C ₁₇	Ph/C ₁₈	Total aliphatic ($\mu\text{g g}^{-1}$ dw)
1	2.03 ± 0.17^a	0.9	1.4	15.4 ± 0.9	1.0	0.7	0.7	17.4 ± 1.0
2	0.75 ± 0.1	0.9	1.2	4.7 ± 0.3	–	–	–	5.5 ± 0.4
3	0.82 ± 0.1	0.7	1.2	4.3 ± 0.3	–	–	–	5.1 ± 0.3
4	1.30 ± 0.13	1.0	1.1	7.1 ± 0.5	1.1	0.6	0.8	8.4 ± 0.5
5	1.23 ± 0.12	1.1	1.1	7.2 ± 0.5	2.2	1.0	0.9	8.5 ± 0.5
6	1.90 ± 0.16	2.0	1.1	9.5 ± 0.6	5.3	0.9	0.9	11.4 ± 0.7
7	1.05 ± 0.11	0.9	1.2	4.5 ± 0.3	–	–	–	5.5 ± 0.4
8	0.89 ± 0.1	1.5	1.2	6.7 ± 0.3	–	1.2	–	7.6 ± 0.5
9	1.52 ± 0.14	0.7	1.1	10.0 ± 0.6	–	–	–	11.5 ± 0.7
10	0.81 ± 0.1	0.9	1.9	13.8 ± 0.8	–	–	1.0	14.7 ± 0.9
11	0.62 ± 0.09	0.9	1.0	22.6 ± 1.3	1.3	1.1	1.0	23.2 ± 1.3
12	ND	0.6	0.8	225.7 ± 12.6	–	–	–	225.7 ± 12.6
13	1.07 ± 0.11	2.9	2.4	20.9 ± 1.2	3.1	0.5	1.0	22.0 ± 1.3
14	1.55 ± 0.14	1.1	1.2	54.3 ± 3.1	1.5	0.8	0.9	55.8 ± 3.2
15	0.94 ± 0.1	0.8	1.3	9.3 ± 0.6	–	–	0.8	10.2 ± 0.6

CPI_{C15–C20}: carbon preference index in the carbon number range from C₁₅ to C₂₀; CPI_{C21–C34}: carbon preference index in the carbon number range from C₂₁ to C₃₄; UCM: unresolved complex mixture; Pr: pristane; Ph: phytane; dw: dry weight; a: estimated uncertainty (five replicates for each concentration level); ND: not detected.

the distribution profiles of samples 3 and 11 are very similar but differ from that of sample 6, which showed the prevalence of the *n*-alkane C₁₇ that is commonly derived from phytoplankton and algae (Belt *et al.* 2001, Kpo *et al.* 2005) and is associated with the production of marine biogenic material in the aquatic environment.

The carbon preference index (CPI), defined as the ratio of the sum of odd-numbered *n*-alkanes to the sum of even-numbered *n*-alkanes, normally shows values >1.0 for hydrocarbons of biogenic origin, while a CPI value around 1.0 indicates a petrogenic origin of the hydrocarbons (Peters *et al.* 2005). In this study, most CPI values (CPI_{C15-C20} and

Wang *et al.* 1998a, 1998b; Zakaria *et al.* 2000). La elevada abundancia de MCNR en todos los sitios de muestreo (4.3 ± 0.3 a $225.7 \pm 12.6 \mu\text{g g}^{-1}$ PS, tabla 1) es una indicación de contaminación por petróleo.

La figura 3 muestra fragmentogramas (85 *m/z*) de las fracciones alifáticas de muestras representativas. Como puede observarse, los perfiles de distribución de las muestras 3 y 11 son muy similares; sin embargo, estos perfiles difieren de la muestra 6, la cual muestra el predominio del *n*-alcano C₁₇ que se origina comúnmente de fitoplancton y algas (Belt *et al.* 2001, Kpo *et al.* 2005), y está asociado con la producción de material biogénico en el medio acuático.

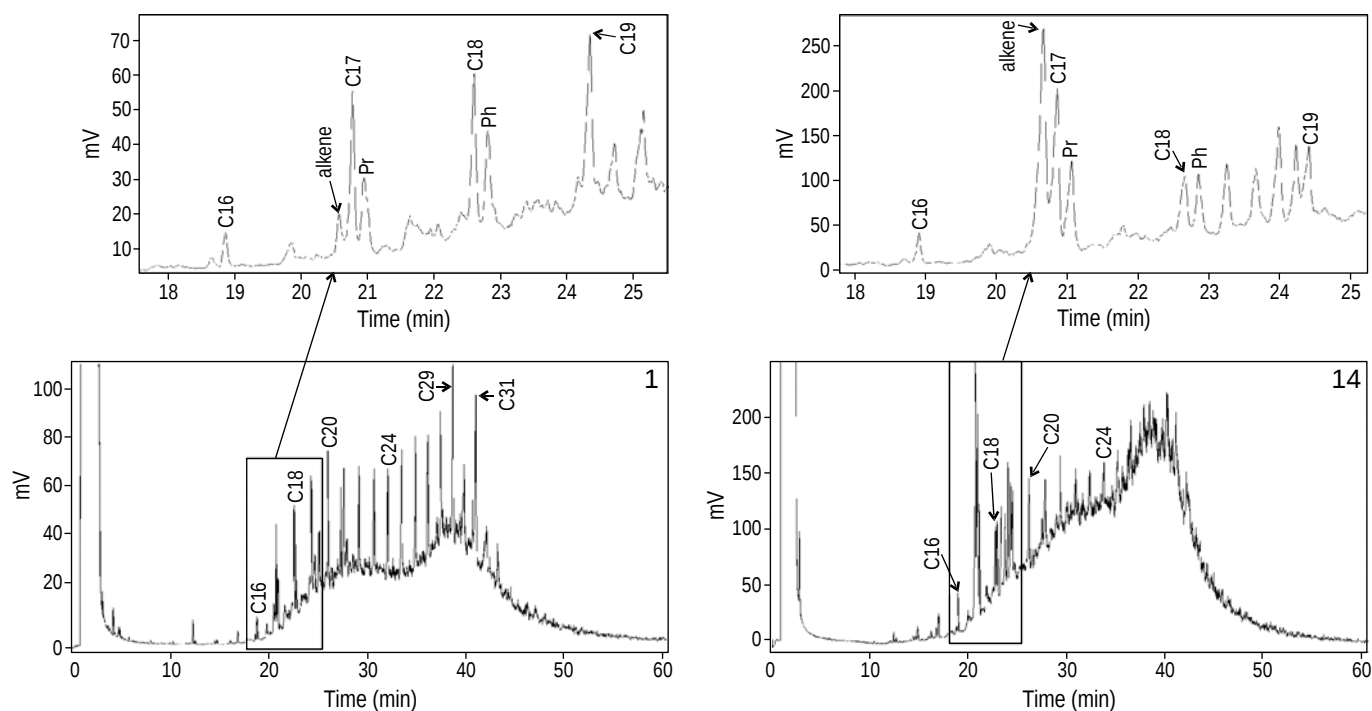


Figure 2. Chromatograms of aliphatic hydrocarbons from sediment samples collected at sites 1 and 14 on the northeastern Havana seaboard. Alkene: 1-heptadecene (identified by gas chromatography/mass spectrometry); Pr: pristane; Ph: phytane.

Figura 2. Cromatogramas de los hidrocarburos alifáticos de las muestras recolectadas en las estaciones 1 y 14 en el litoral nordeste de La Habana. Alkene: 1-heptadeceno (identificado mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas); Pr: pristano; Ph: fitano.

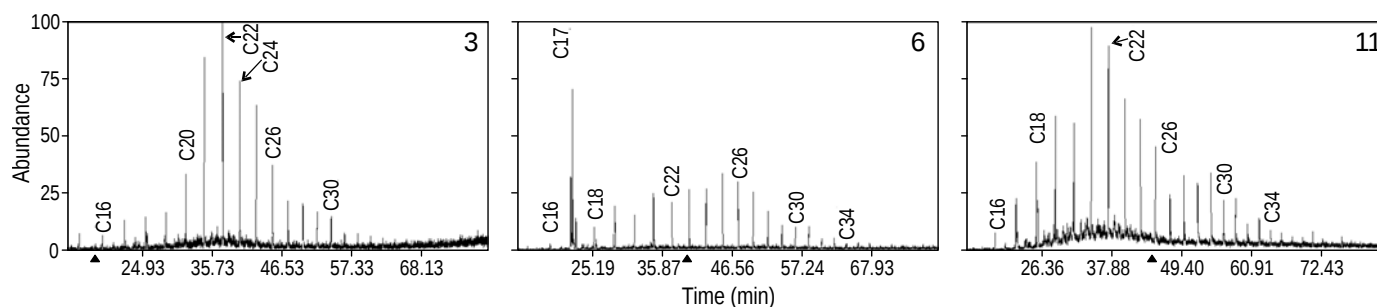


Figure 3. Fragmentograms *m/z* 85 of samples collected at sites 3, 6, and 11 on the northeastern Havana seaboard.

Figura 3. Fragmentograma *m/z* 85 de las muestras recolectadas en las estaciones 3, 6 y 11 en el litoral nordeste de La Habana.

$CPI_{C21-C34}$) were approximately 1.0, which is indicative of hydrocarbons of petrogenic origin (see table 1); however, the CPI obtained for sample 13 showed slightly higher values (2.4 and 2.9), which could be caused by contributions from biogenic hydrocarbons.

The isoprenoid hydrocarbons pristane (2,6,10,14-tetramethylpentadecane) and phytane (2,6,10,14-tetramethylhexadecane), frequently used to confirm the presence of petrogenic hydrocarbons, were detected in the samples. The pristane/phytane ratios were approximately 1.0 for samples 1, 4, 11, and 14 (table 1), corresponding to hydrocarbons of petrogenic origin (Wang and Fingas 2003); however, they were >1 for samples 5, 6, and 13, which could be attributed to

El índice de preferencia de carbono (CPI, por sus siglas en inglés), definido como la relación existente entre la suma de los n -alcanos de número impar y los n -alcanos de número par, normalmente muestra valores >1.0 para los hidrocarburos de origen biogénico, mientras que los valores aproximadamente igual a 1.0 indican hidrocarburos de origen petrogénico (Peters *et al.* 2005). Los valores de CPI ($CPI_{C15-C20}$ y $CPI_{C21-C34}$) obtenidos en este estudio fueron cercanos a 1.0, lo cual es indicativo del origen petrogénico de estos hidrocarburos (ver tabla 1); sin embargo, el CPI obtenido para la muestra del sitio 13 muestra valores ligeramente superiores (2.4 y 2.9), lo cual pudiera ser provocado por el aporte de hidrocarburos de origen biogénico.

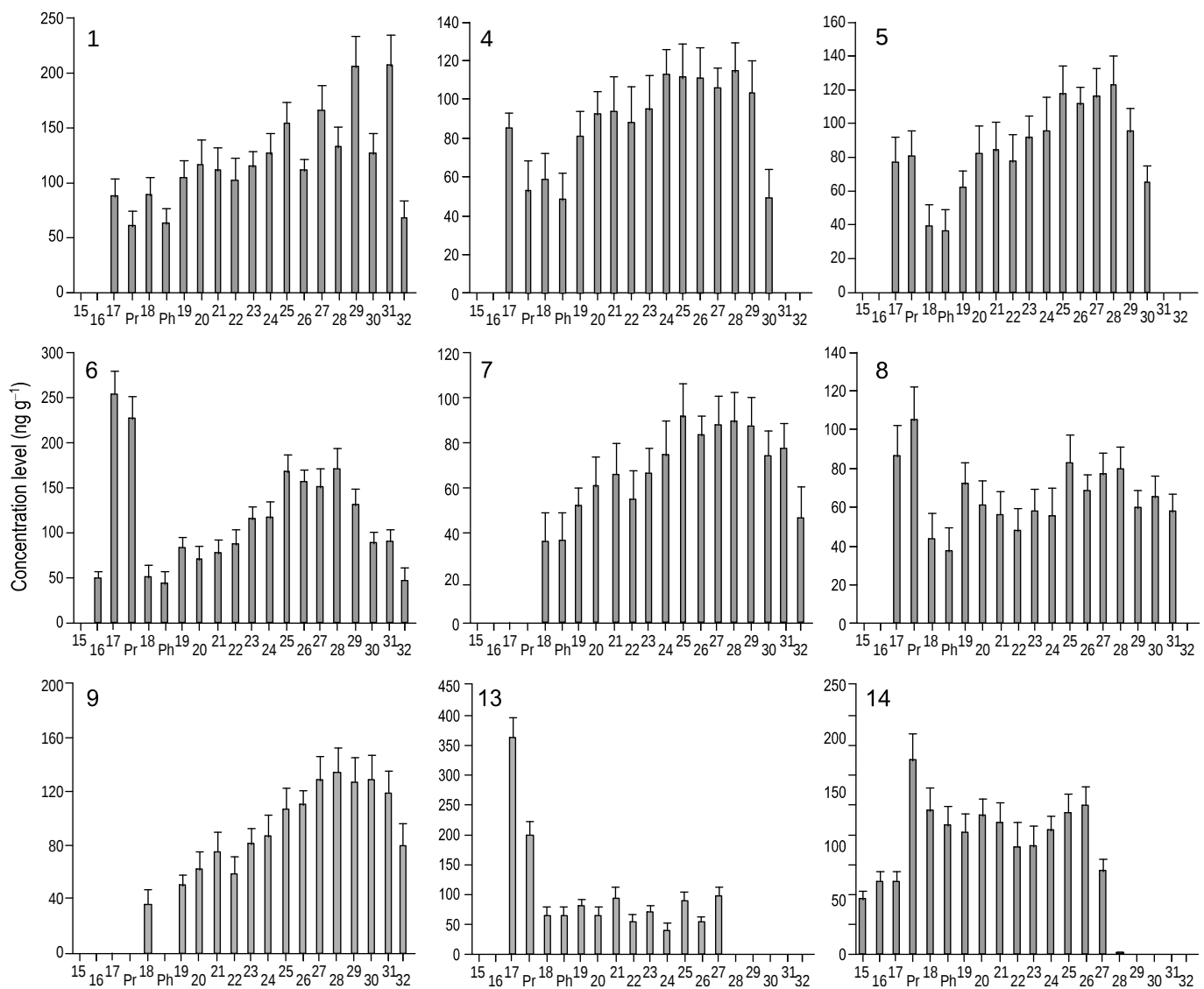


Figure 4. Typical n -alkane distributions from n - C_{15} to n - C_{32} detected in sediment samples collected at sites 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, and 14 on the northeastern Havana seaboard. Pr: pristane; Ph: phytane.

Figura 4. Distribuciones típicas de la composición de n -alcanos desde n - C_{15} hasta n - C_{32} detectados en las muestras de sedimentos recolectadas en los sitios de muestreo 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13 y 14 en el litoral nordeste de La Habana. Pr: pristano; Ph: fitano.

the zooplanktonic contribution of pristane (Doskey 2001, Jeng and Huh 2004).

To estimate the degradation of the hydrocarbons present in the samples, the pristane/*n*-C₁₇ and phytane/*n*-C₁₈ ratios were used. Ratios < 1 suggest greater losses of normal-chain *n*-alkanes, and this approach allows comparing the biodegradation effect on different samples (Peters *et al.* 2005). In this case, the values obtained (0.5–1.2, table 1) indicated the absence of degraded hydrocarbon mixtures for most samples. Sample 12, however, showed the depletion of *n*-alkanes to an undetectable level, which indicates that the weathering and biodegradation processes have drastically affected this oil residue.

Figure 4 shows the typical *n*-alkane distributions obtained for the analyzed samples. Sample 1 showed a slight predominance of *n*-C₂₇, *n*-C₂₉, and *n*-C₃₁, which is usually associated with land-derived organic inputs transported toward coastal areas (Peters *et al.* 2005). On the other hand, the *n*-alkane

En las muestras se detectaron los hidrocarburos isoprenoides pristano (2, 6, 10, 14-tetrametilpentadecano) y fitano (2, 6, 10, 14-tetrametilhexadecano), que se emplean frecuentemente para confirmar la presencia de hidrocarburos de origen petrogénico. La relación pristano/fitano mostró valores cercanos a 1.0 para las muestras 1, 4, 11 y 14 (tabla 1), lo cual corresponde con la presencia de hidrocarburos de origen petrogénico (Wang y Fingas 2003). Sin embargo, las muestras 5, 6 y 13 mostraron relaciones pristano/fitano > 1, lo cual se atribuye a la contribución zooplanctónica del pristano (Doskey 2001, Jeng y Huh. 2004).

Con el objetivo de estimar el efecto de la degradación de los hidrocarburos presentes en las muestras, se usaron las relaciones pristano/*n*-C₁₇ y fitano/*n*-C₁₈. Si estas relaciones presentan valores < 1, sugieren una mayor pérdida de *n*-alcanos de cadena normal, y es una medida estimada que permite comparar el efecto de la biodegradación en muestras diferentes (Peters *et al.* 2005). Los valores obtenidos en este caso (0.5–1.2, tabla 1) indicaron la ausencia de mezclas de hidrocarburos degradados para la mayoría de las muestras analizadas. Sin embargo, la muestra 12 sufrió la pérdida total de los *n*-alcanos, lo que indica que los procesos de envejecimiento y biodegradación han afectado drásticamente este residuo de petróleo.

La figura 4 muestra distribuciones típicas de *n*-alcanos obtenidas para las muestras analizadas. En la muestra del sitio 1 se puede observar un ligero predominio de los alcanos *n*-C₂₇, *n*-C₂₉ y *n*-C₃₁, lo cual está usualmente asociado a aportes terrestres transportados hacia las áreas costeras (Peters *et al.* 2005). Por otra parte, en las distribuciones de concentración de las muestras 6, 8 y 13 se puede observar un predominio del alcano *n*-C₁₇ y del isoprenoide pristano en la región correspondiente a los alcanos con número de átomos de carbono < *n*-C₂₀, lo cual indica la presencia de hidrocarburos de origen marino (Jeng y Huh 2004). Estas distribuciones también se han detectado en muchos sedimentos superficiales, por ejemplo en el río Ebro en España (Dachs *et al.* 1999) y en el río St. Marys en Michigan, EEUU (Tenzer *et al.* 1999), y se han asociado comúnmente a un origen zooplanctónico.

Los terpanos tricíclicos C₂₁ a C₂₄ y la serie de triterpanos pentacíclicos (hopanos) de C₂₇–C₃₅ fueron identificados en todos los sedimentos analizados, con excepción de las muestras 2, 3 y 7. Los compuestos identificados se muestran en la tabla 2 y su distribución típica puede observarse para la muestra 14 en la figura 5. Estos biomarcadores del petróleo se identificaron mediante la comparación de los fragmentos de masas (*m/z* 191, 205, 177, 369) con datos previamente reportados en la literatura (Peters *et al.* 2005). Los homólogos con número de átomos de carbono ≥ C₂₉ presentaron la configuración más estable 17 α (H),21 β (H), mientras que la serie de α -hopanos (C₃₁–C₃₅) se presentó como epímeros 22S y 22R. La identificación de los hidrocarburos hopanoides en las muestras de sedimentos es indicativo de aportes

Table 2. Molecular biomarkers detected in sample 14 by gas chromatography/mass spectrometry analysis.

Table 2. Biomarcadores moleculares detectados en la muestra 14 mediante el análisis por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

Peak	Compounds
1	C ₂₁ tricyclic terpane
2	C ₂₂ tricyclic terpane
3	C ₂₃ tricyclic terpane
4	C ₂₄ tricyclic terpane
5	18 α (H),21 β (H)-22,29,30-trisnorhopane
6	17 α (H),21 β (H)-25,28,30-trisnorhopane
7	17 α (H),21 β (H)-30-norhopane
8	18 α (H),21 β (H)-30-norneohopane
9	17 α (H),15 α -methyl-2-norhopane ($\alpha\alpha$ -27-diahopane)
10	17 β (H),21 α (H)-30-normoretane
11	17 α (H),21 β (H)-30-hopane
12	17 β (H),21 α (H)-30-moretane
13	22S-17 α (H),21 β (H)-30-homohopane
14	22R-17 α (H),21 β (H)-30-homohopane
15	22S-17 α (H),21 β (H)-30,31-bishomohopane
16	22R-17 α (H),21 β (H)-30,31-bishomohopane
17	22S-17 α (H),21 β (H)-30,31,32-trishomohopane
18	22R-17 α (H),21 β (H)-30,31,32-trishomohopane
19	22S-17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33-tetrakishomohopane
20	22R-17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33-tetrakishomohopane
21	22S-17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopane
22	22R-17 α (H),21 β (H)-30,31,32,33,34-pentakishomohopane

profile of samples 6, 8, and 13 accounted for an obvious predominance of $n\text{-C}_{17}$ and pristane in the lower carbon number region ($<n\text{-C}_{20}$), which is indicative of the input of marine-derived hydrocarbons (Jeng and Huh 2004). These distributions have also been detected in many surface sediments, such as in the Ebro River, Spain (Dachs *et al.* 1999), and the St. Marys River, Michigan, USA (Tenzer *et al.* 1999), and have been normally associated with zooplanktonic origin.

The C_{21} to C_{24} tricyclic terpanes and the series of C_{27} – C_{35} pentacyclic triterpanes (hopanes) were identified in all the analyzed sediments, with the exception of samples 2, 3, and 7. The compounds identified are listed in table 2 and their typical distribution can be observed for sample 14 in figure 5. These petroleum biomarkers were identified by comparing mass fragments (m/z 191, 205, 177, 369) with data previously reported in the literature (Peters *et al.* 2005). Homologues with the number of carbon atoms $\geq \text{C}_{29}$ exhibited the thermodynamically more stable $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ configuration, while the extended α -hopane series (C_{31} – C_{35}) occurred as 22S and 22R epimers. The identification of hopanoid hydrocarbons in the sediment samples is indicative of petrogenic input; due to their unique structures, persistence, and diagenetic and catagenic transformations, they are well known and linked to petroleum origin (Peters *et al.* 2005).

The results provided by this geochemical study reveal the presence of hydrocarbons derived from heavy petroleum products in sediments from the northeastern Havana seaboard. These oil residues are characterized by the absence of significant degradation effects and by mixtures with biogenic hydrocarbons of terrestrial and zooplanktonic origin. Higher hydrocarbon levels were detected in the areas with more oil extraction installations.

REFERENCES

- Alvares O. 2001. Study of natural and anthropic environmental factors that transform ecosystems of socio-economic interest. Technical Report of Project 2307: Environmental impact caused by oil exploration and technologic solutions. Archives of the Petroleum Research Center, Havana, Cuba, 126 pp.
- Belt ST, Massé G, Allard WD, Robert JM, Rowland SJ. 2001. Identification of a C_{25} highly branched isoprenoid triene in the freshwater diatom *Navicula sclesvicensis*. *Org. Geochem.* 32: 1169–1172.
- Companioni E, González L, Cora M, Núñez A, Marbot R, Montes de Oca R, Díaz M. 2009. Validation of an analytical methodology for the quantitative analysis of petroleum hydrocarbons in marine sediment samples. *Química Nova* 32: 855–860.
- Dachs J, Bayona JM, Fillaux J, Saliot A, Albaigés J. 1999. Evaluation of anthropogenic and biogenic inputs into the western Mediterranean using molecular markers. *Mar. Chem.* 65: 195–210.
- Doskey PV. 2001. Spatial variations and chronologies of aliphatic hydrocarbons in Lake Michigan sediments. *Environ. Sci. Technol.* 35: 247–254.

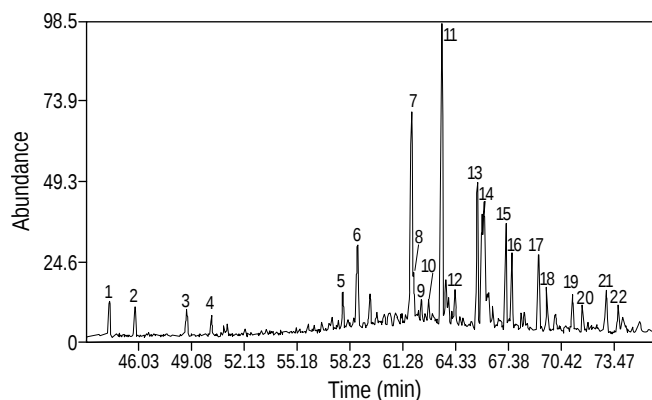


Figure 5. Distribution of triterpanes (m/z 191 mass fragmentogram) for sample 14. Peak assignments are listed in table 2.

Figura 5. Distribución de triterpanos (fragmento másico m/z 191) para la muestra 14. La asignación de los picos se observa en la tabla 2.

petrogénicos, lo cual se basa en que sus estructuras, su persistencia y sus transformaciones diagenéticas y catagénicas son bien conocidas y están asociadas al origen del petróleo (Peters *et al.* 2005).

Los resultados obtenidos en este estudio geoquímico demostraron la presencia de hidrocarburos derivados del petróleo pesado en los sedimentos del litoral nordeste de La Habana. Estos residuos de petróleo se caracterizan por estar poco degradados y, además, por estar mezclados con hidrocarburos biogénicos de origen terrestre y zooplanctónico. Las mayores concentraciones de hidrocarburos se detectaron en las estaciones de muestreo donde existe un mayor número de instalaciones de extracción de petróleo.

- Gogou A, Bouloubassi I, Stephanou EG. 2000. Marine organic geochemistry of the eastern Mediterranean. 1. Aliphatic and polyaromatic hydrocarbons in Cretan Sea surficial sediments. *Mar. Chem.* 8: 265–282.
- Gomes AO, Azevedo DA. 2003. Aliphatic and aromatic hydrocarbons in tropical recent sediments of Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. *J. Braz. Chem. Soc.* 14: 358–368.
- Grossi V, Massias D, Stora G, Bertrand JC. 2002. Burial, exportation and degradation of acyclic petroleum hydrocarbons following a simulated oil spill in bioturbated Mediterranean coastal sediments. *Chemosphere* 48: 947–954.
- Jeng WL, Huh CA. 2004. Lipids in suspended matter and sediments from the East China Sea Shelf. *Org. geochem.* 35: 647–660.
- Kpo BO, Oyo-Ita OE, Wehner H. 2005. Even-n-alkane/alkene predominances in surface sediments from the Calabar River, SE Niger Delta, Nigeria. *Naturwissenschaften* 92: 341–346.
- Medeiros PM, Bicego MC. 2004. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP-Brasil. *Mar. Pollut. Bull.* 49: 761–769.

- Núñez A. 2002. Study of petroleum pollution in Cuban ecosystems. M.Sc. dissertation, Institute of Applied Science and Technologies, Havana, Cuba, 105 pp.
- Peters KE, Walters CC, Moldowan JM. 2005. Biomarkers and Isotopes in the Environment and Human History. The Biomarker Guide. Vol. I. Cambridge Univ. Press, New York, 471 pp.
- Tenzer GE, Meyers PA, Robbins JA, Eadi BJ, Morehead NR, Lansing MB. 1999. Sedimentary organic matter record of recent environmental changes in the St. Marys River ecosystem, Michigan-Ontario border. *Org. Geochem.* 30: 133–146.
- Wang Z, Fingas MF. 2003. Development of oil hydrocarbon fingerprinting and identification techniques. *Mar. Pollut. Bull.* 47: 423–452.
- Wang Z, Fingas M, Blenkinsopp S, Sergy G, Landriault M, Sigouin L, Foght J, Semple K, Westlake DWS. 1998a. Comparison of oil changes due to biodegradation and physical weathering in different oils. *J. Chromatogr. A.* 809: 89–107.
- Wang Z, Fingas M, Blenkinsopp S, Sergy G, Landriault M, Sigouin L, Lambert P. 1998b. Study of the 25-year-old Nipisi oil spill: Persistence of oil residues and comparisons between surface and subsurface sediments. *Environ. Sci. Technol.* 32: 2222–2232.
- Zakaria MP, Horinouchi A, Tsutsumi S, Takada H, Tanabe S, Ismail A. 2000. Oil pollution in the Straits of Malacca, Malaysia: Application of molecular markers for source identification. *Environ. Sci. Technol.* 34: 1189–1196.

*Received October 2010;
accepted February 2011.*