



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



ESTUDIO DE LA VARIACIÓN ESPACIO-TEMPORAL DE LA COMPOSICIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA, POR MEDIO DE LA ESPECIACIÓN DE ESTEROLES EN LA BOCANA EN LA COSTA NORTE DE YUCATÁN

TESIS

Para obtener el grado académico de
Maestro en Ciencias del Mar y Limnología
Química Acuática

Presenta

María Camarena Fernández

Director de Tesis: M en C. Santiago Capella Vizcaíno

Comité Tutorial: Dra. Luz Elena Vera Ávila

Dr. Xavier Chiappa Carrara

Dr. Federico Paéz Osuna

Dr. Gilberto Jerónimo Moreno



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	10
3. ANTECEDENTES	12
3.1 GENERALIDADES	12
3.1.1 Humedal	12
3.1.2 Estuario	13
3.1.3 Sedimentos	13
3.1.4 Materia Orgánica	14
3.1.5 Lípidos	16
3.1.6 Esteroles	17
3.1.7 Extracción con disolventes de la materia orgánica de los sedimentos	19
3.1.8 Fraccionamiento y limpieza de la muestra	19
3.1.9 Derivación de los analitos	20
3.1.10 Análisis por CG	20
3.1.11 Espectroscopia de infrarrojo con reflectancia totalmente atenuada (FTIR-ATR)	21
3.2 ESTUDIOS PREVIOS	22
4. ÁREA DE ESTUDIO	26
5. JUSTIFICACIÓN	32
6. HIPÓTESIS	33
7. OBJETIVO GENERAL	34
7.1 Objetivos específicos	34
7.1.1 Recolección de muestreas	34
7.1.2 Parámetros fisicoquímicos de la columna de agua	34
7.1.3 Carbono orgánico total	34
7.1.4 Extracción de la MO	34
7.1.5 Preparación de la muestra para el análisis de esteroles	34
7.1.5. 1. Saponificación de la MO	34
7.1.6 Selección del procedimiento para el análisis de los esteroles	35
7.1.7 Análisis de los esteroles	35
7.1.8 Análisis de la MOE por FTIR	35
7.1.9 Análisis de resultados	35
7.1.10 Interpretación de los resultados en relación a la dinámica de los sedimentos de la LC	36
8. PARTE EXPERIMENTAL	37
8.1 Equipo, materiales y reactivos	37
8.2 Muestreo	40
8.3 Conservación de las muestras	41

8.4 Granulometría de los sedimentos	42
8.5 Determinación del porcentaje de carbono orgánico total (%COT)	42
8.6 Extracción de la MO en el aparato Soxhlet (ES).....	42
8.7 Extracción de la MO asistida por microondas (EMO).....	43
8.8 Silanización de la MO no saponificable (neutra).....	43
8.9 Saponificación asistida por calor de la MO extraída	43
8.10 Saponificación asistida por microondas de la MO directamente en los sedimentos	44
8.11 Análisis de los esteroides por CG-EM	44
8.12 FTIR-ATR de la MO.....	45
8.13 Evaluación de la repetibilidad del procedimiento seleccionado.....	48
9. ANÁLISIS DE RESULTADOS	49
9.1 Evaluación de alternativas analíticas.....	49
9.1.1 Extracción asistida con microondas y con Soxhlet de la materia orgánica de los sedimentos.....	49
9.1.2 Saponificación	53
9.1.2.1 Saponificación asistida con temperatura	53
9.1.2.2 Saponificación asistida por microondas de la MO directamente en los sedimentos	55
9.1.3 Repetibilidad del procedimiento elegido para el análisis de los esteroides por cromatografía de gases.	58
9.2 FTIR-ATR de la MO.....	60
9.2.1 Evaluación de la influencia del disolvente en la muestra sobre la celda de ATR	62
9.2.2 Evaluación de la linealidad de la absorbancia en la determinación cuantitativa de los grupos funcionales por FTIR-ATR.....	64
9.2.3 Evaluación de la repetibilidad de la determinación por FTIR-ATR	66
9.3 Parámetros fisicoquímicos de la columna de agua	68
9.4 Granulometría de los sedimentos de la Bocana	77
9.5 Porcentaje de carbono orgánico total (%COT)	81
9.6 Análisis de esteroides en los sedimentos de la Bocana	83
9.7 Análisis de la MO extraíble (MOE) por FTIR-ATR	93
9.8 Clasificación de los sitios de muestreo considerando todas las variables químicas analizadas en los sedimentos	100
9.9 Variación estacional en la composición de la MO de los sedimentos de la Bocana	104
10. CONCLUSIONES.....	106
10.1 Extracción asistida por microondas de la materia orgánica en los sedimentos	106
10.2 Saponificación directa de la materia orgánica en el sedimento asistida por microondas	106
10.3 Procedimiento seleccionado para el análisis de los esteroides	106

10.4 Espectroscopia de FTIR-ATR	106
10.5 Distribución de materia orgánica en los sedimentos en el área de estudio	106
10.6 Variación temporal de la materia orgánica de los sedimentos en el área de estudio	107
10.7 Comentario final.....	107
11. REFERENCIAS	108
12. ANEXO.....	117

ABREVIATURAS

Abreviaturas	Nombre
%COT	Porcentaje de carbono orgánico total
%O ₂	Porcentaje de saturación de oxígeno
°C	Grados centígrados
¹³ C-NMR	Resonancia magnética nuclear de carbono
¹ H-NMR	Resonancia magnética de hidrógeno
ATR	Reflectancia Totalmente Atenuada
Bar	Unidad de presión
BSTFA	N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
CG	Cromatografía de gases
CG-EM	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
CG-FID	Cromatografía de gases con detector de ionización de flama
CH ₂	Grupo metileno
CH ₃	Grupo metilo
Clor a	Clorofila a
cm	Centímetro
CO	Grupo carboxilo
EFS	Extracción en Fase Sólida
EMO	Extracción asistida por microondas
EPA	Environmental Protection Agency
ES	Extracción en Soxhlet
EUS	Extracción asistida por ultrasonido
EY	Estado de Yucatán
FTIR	Espectroscopia de infrarrojo con transformadas de Fourier
g	Gramos
H ₂ O	Agua
hr	Hora
km	Kilómetro
LC	Laguna de la Carbonera
m	Metro
MEFS	Microextracción en fase sólida
MEOH	Metanol
Min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MO	Materia orgánica
MOE	Materia orgánica extraída
N	Normalidad
PA	Poliacrilato
PDMS/DVB	Polidimetilsiloxano-Divinilbenceno
POM	Materia Orgánica Particulada
ppm	Partes por millón
Prof	Profundidad
Psu	Unidad práctica de salinidad
r	Coefficiente de correlación
Scan	Detección en modo barrido total del espectro
SDT	Sólidos disueltos totales
SIM	Monitoreo selectivo de iones
SIR	Suma de las áreas (absorbancia) del infrarrojo
T	Temperatura
TA	Temperatura ambiente
TMCS	Trimetilclorosilano
Torr	Unidad de presión
ZC	Zona costera
μL	Microlitros

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la educación de alto nivel que me brindó en mi formación profesional. A la Facultad de Química y al Posgrado en Ciencia del Mar y Limnología por la formación académica.

A CONACYT por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al M en C. Santiago Capella Vizcaino por la asesoría, apoyo, orientación, confianza y tiempo invertido en la realización de esta tesis.

A los miembros del jurado por sus valiosas sugerencias para lograr que éste trabajo fuera mejor.

Por el apoyo técnico en el laboratorio y en campo al técnico Lluvia Korynthia López Aguiar. de la Unidad de Química Sisal

Por el apoyo técnico en el laboratorio al técnico Elsa Noreña Barroso de la Unidad de Química Sisal.

Por el apoyo técnico en campo y logístico a los siguientes técnicos de la UMDI-SISAL Maribel Badillo Alemán, Alfredo Gallardo Torres, Carmen Galindo de Santiago.

Por su apoyo en campo a los estudiantes Andrea Camacho, Joel Loera Pérez, José Luis Bonilla, Juani Tzeek,

A Fernando Estaban Mex, Enrique Mex y su equipo de pescadores por asistirnos durante cada una de las campañas.

DEDICATORIAS

Gracias a mis padres Susana y Mario

Por su cariño, comprensión y apoyo sin condiciones ni medida. Por dar más de lo que necesité. Por brindarme todo lo que me hizo falta antes de que lo notara, antes de que lo pidiera. Por valerse de sus experiencias para enseñarme el valor de la perseverancia. Por tenerme la paciencia que tantas veces he necesitado. Gracias por guiarme sobre el camino de la educación.

Gracias Ale

Por enseñarme que vales oro a pesar de lo que sea. Por tu sinceridad la he admirado siempre. Junto a ti he aprendido el valor de la fidelidad y la fortaleza. Por estar siempre disponible para mí y permitirme sentir tu cariño cada vez que te necesito.

Gracias a mi amigo, compadrito y novio la vaca

Que durante bastante tiempo tuvo la paciencia suficiente para apoyarme, por enseñarme cuánto valgo y reconocerme tan sólo al mirarme. Por estar presente aun cuando no lo he notado. Por escucharme y por tus consejos. Por protegerme y darme valor. Por tener fe en mí. Por tu sinceridad, amistad, cariño y amor. Gracias por ser parte de mi vida, eres lo mejor que me ha pasado.

Gracias a mis amigas del laboratorio

Andrea, por su sincera amistad y por compartir conmigo muy agradables instantes y por su inmenso apoyo. Por gritarme y dejarme gritar cuando hizo falta. Por volverme hablar como si nada. Por ser sincera y honesta.

Aidé, Hada, Diana por hacer que cada pedazo de tiempo fuera ameno y darme una sonrisa. No voy a olvidar sus consejos y enseñanzas.

Gracias a la banda chilanga

Carlitos, Lalo, Franky, Sara, Payaso Viejo, Chiva, Suadero, El grupo de las uvas, El grupo de la Dona que aunque lejos por el momento me apoyaron. Gracias Blanca por tu intachable carácter, por tu apoyo y por tu amistad. Julio por siempre alzarme el ánimo y preguntarme cuando regresaría cada vez que platicábamos. Lau y Lola por su sincera amistad. Por aconsejarme y escucharme.

Gracias a la banda Sisaleña

Alex, Ana (Diablo), Ana, Cinthia, Cris, Dianela, Gaomer, Jorge, José Luis, Juani, Pana, Rada, Reina, Arturo George, Yery por acogerme y brindarme su amistad. A la Yola que a pesar que nos distanciamos le diste un toque cómico a mi estancia aquí. A la Tania por ser mi amiga, por estar presente para contarme sus dolencias así como para preguntarme las mías.

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón. Sin importar en donde estén o si alguna vez llegan a leer estas dedicatorias quiero darles las gracias por forma parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Por reflejar sus bondades sobre mí y permitirme guardar en mi interior lo mejor de ustedes, agradezco justo ahora y por siempre. Y finalizo expresando mi orgullo por haber llegado hasta aquí y por ser quién soy eso es algo que nunca habría sido posible sin ustedes en mi vida. Gracias

1. RESUMEN

El presente trabajo tuvo objetivos en dos vertientes distintas pero relacionadas entre sí. Por una parte se evaluaron alternativas analíticas para el estudio de la materia orgánica sedimentaria que reducen el consumo de disolventes y el tiempo de preparación de muestras. Por la otra, con esas herramientas de análisis se estudió la distribución y variación espacio-temporal de la materia orgánica de los sedimentos en la laguna de la Carbonera, que es un cuerpo lagunar ubicado en la costa noroccidente del estado de Yucatán. Primeramente se compara la extracción con Soxhlet y la extracción asistida por microondas. El microondas redujo el tiempo de extracción en un factor de diez y el consumo de disolventes fue de la cuarta parte con respecto al Soxhlet. Los rendimientos generales y la selectividad en la extracción de esteroides fueron similares. La repetibilidad del análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas de los esteroides extraídos fue mejor del 5% en las áreas y del 2% en las áreas relativas. La saponificación asistida con microondas directamente sobre los sedimentos no fue un procedimiento robusto para los fines de este trabajo. Se demostró también que la espectroscopía de infrarrojo es una herramienta útil para estudiar la dinámica de la materia orgánica sedimentaria. La absorbancia varía linealmente con la cantidad de materia orgánica extraída y la repetibilidad global del proceso de extracción y análisis por FTIR-ATR fue de 15% con las absorbancias absolutas y de 5% con las relativas.

Se aplicaron técnicas estadísticas de análisis multivariante (análisis de componentes principales, análisis de factores y análisis de conglomerados –“cluster”). A partir de ello se concluyó que se puede utilizar un número reducido de variables químicas para describir la distribución de la materia orgánica y asociarla en forma general a las fuentes de origen y procesos de transporte. Con las proporciones relativas de colesterol, estigmasterol y beta-sitosterol o las absorbancias relativas de los grupos hidroxilo, metilo y carbonilo se pudo demostrar que en el área de estudio existen cuatro zonas bien diferenciadas por la composición de los sedimentos. Una asociada a un petén que provee al sistema de materia de origen terrígeno, otra asociada al agua de origen marino y dos zonas de mezcla, que se ven afectadas por procesos de transporte de corto plazo que ocurren regularmente como las mareas y otros de carácter más complejo y aleatorio como los vientos.

1.ABSTRACT

The aim of this work had two different aspects. On one hand, organic matter analysis was carried out exploring an analytical alternative with a reduction of the amount of solvent used and a decrease in time of analysis. On the other hand, the analytical technique evaluated in the first aspect was used to study temporal and spatial variations of organic matter in sediments collected in carbonera lagoon, located in the state of Yucatan. First, a comparison of soxhlet and microwave assisted extraction of organic matter was made. Microwave assisted extraction reduced extraction time in a factor of 10 and solvent use was 25% lower than that of soxhlet extraction. General output and selectivity of sterols extraction were similar with both techniques. Repeatability of sterol analysis by cg/em was good, with variation coefficients of less than 5% for the analyte areas and less than 2% for relative areas. Direct microwave assisted saponification over the sediments did not prove to be a robust procedure according to this work objectives. It was also possible to demonstrate that infrared spectroscopy is a useful tool to study the dynamic of organic matter in sediments. Multivariate statistical techniques were applied (principal component, factor and cluster analysis) to data and the results made possible to conclude that it is possible to use a reduced number of chemical variables to describe the distribution of organic matter and make associations with possible sources and transport process. Data of relative proportions of sterols as well as functional group absorbances were used to demonstrate that the study area can be divided in four well differentiated zones in terms of sediment composition.

2. INTRODUCCIÓN

Las zonas costeras (ZC) albergan ecosistemas que se encuentran entre los más productivos y complejos del planeta. En ellas ocurre el mayor intercambio de materia orgánica entre la tierra y los océanos y se encuentra la mayor parte de la materia orgánica producida por las plantas, fitoplancton, algas y bacterias bentónicas (Jaffe, 2000; McCallister, 2006). En la península de Yucatán la ZC está formada por 250,000 ha de humedales (Vega-Cendejas, 2001). Los humedales son áreas que se inundan temporalmente, donde la capa freática aflora en la superficie o en suelos de baja permeabilidad cubiertos por agua poco profunda. El agua determina que los humedales tengan características diferentes de los ecosistemas terrestres, entre ellas está que suelen presentar una gran variabilidad tanto en el tiempo como en el espacio (Dipotet, 2007). Esto tiene efectos muy importantes sobre la diversidad biológica que habita en los humedales que ha desarrollado adaptaciones para sobrevivir. Debido a la alta productividad y su importancia biológica y ecológica los humedales han sido un foco de atención de la comunidad científica con el fin de conocer, comprender y proteger estos ecosistemas (Badillo Alemán, 2008).

El conocimiento del origen, transporte y transformación de la MO en los sistemas costeros es de relevancia para la comprensión del papel que juegan en el balance de carbono. Aunque ya hace cuatro décadas que se publicaron los primeros trabajos que muestran la utilidad de los análisis de especiación química de la MO (Meybeck, 1982; Mantoura, 1983; Ittekkot, 1988; Wei Shi, 2001), su uso no es tan generalizado como sería de esperar y los estudios usualmente se limitan a la determinación del porcentaje de carbono orgánico total (COT) en los sedimentos (Seiter, 2004). Sin duda, la razón es que los análisis de composición requieren de personal y equipo especializado, que los procedimientos son laboriosos y que consumen una cantidad considerable de reactivos y disolventes; lo que resulta en costos elevados. Es importante, por lo tanto, desarrollar procedimientos que compensen los costos reduciendo el gasto en consumibles y aumentando la capacidad de análisis. En este sentido, no se ha explorado suficientemente el uso de herramientas analíticas más modernas como la extracción asistida por fuentes de energía no convencionales como las microondas (EMO) o el ultrasonido (EUS), las extracciones con uso reducido de disolventes como la microextracción en fase sólida (MEFS) o técnicas espectroscópicas como el infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR) que permite la evaluación de las funcionalidades químicas.

Es interesante el estudio de en “La laguna de la Carbonera” (LC) debido a que en este sitio en 1988 el huracán Gilberto abrió una vía de comunicación entre el mar y la ciénega produciendo un estuario y cambió con ello las características del ecosistema (Jeronimo, 2011). Por su ubicación geográfica, porque no ha sufrido un impacto directo importante por actividades humanas y por el gran aporte de MO, la LC es un sistema que es hábitat de protección y desarrollo de diversas especies de la zona costera de la plataforma de Yucatán, por lo que resulta importante conocer las características y la dinámica de la MO del ecosistema. En general no existen estudios de la costa de la Península de Yucatán que incluyan la caracterización química de la MO y los trabajos publicados se limitan a los análisis químicos clásicos como los de carbono orgánico total, nitratos, fosfatos, etcétera.

En este trabajo se exploró la viabilidad de utilizar la EMO como alternativa a la extracción en Soxhlet y la aplicación del FTIR para el análisis de la materia orgánica extraíble (MOE).

Con el procedimiento elegido se demostró que es posible obtener información útil para estudiar la distribución espacial y la variación temporal de la MO en los sedimentos de la LC, con un número reducido de esteroides y grupos funcionales, utilizando los procedimientos desarrollados.

3. ANTECEDENTES

3.1 GENERALIDADES

3.1.1 Humedal

El término humedal se refiere a una amplia variedad de hábitats interiores, costeros y marinos que comparten ciertas características. Generalmente se les identifica como áreas que se inundan temporalmente, donde la capa freática aflora en la superficie o en suelos de baja permeabilidad cubiertos por agua poco profunda (Madero, 2000). La Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional (Convenio de Ramsar, 1973) los define en forma amplia como: "las extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de agua, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros".

Esta condición del agua determina que los humedales tengan características muy diferentes de otros ecosistemas, una de ellas es que suelen presentar una gran variabilidad tanto en el tiempo como en el espacio. Esto tiene efectos muy importantes sobre la diversidad biológica que habita en los humedales que posee adaptaciones para sobrevivir a estos cambios que pueden llegar a ser muy extremos, por ejemplo, ciclos hidrológicos de gran amplitud con períodos de extensa sequía y períodos de gran inundación. Biológicamente, son considerados como los ecosistemas de mayor riqueza natural existente (CONABIO, 2000).

En general, se reconocen cinco tipos de humedales (Abarca, 1996):

- Marinos (humedales costeros, inclusive lagunas costeras, costas rocosas y arrecifes de coral).
- Estuarinos (incluidos deltas, marismas de marea y manglares).
- Lacustres (humedales asociados con lagos).
- Ribereños (humedales adyacentes a ríos y arroyos).
- Palustres (es decir, "pantanosos" - marismas, pantanos y ciénagas)

3.1.2 Estuario

Los estuarios son cuerpos de agua costeros semi-cerrados con una conexión libre, permanente o intermitente, con el mar que se caracterizan principalmente por la zona de mezcla que se produce al entrar en contacto el agua dulce que proviene de ríos o manantiales con el agua salada del mar (Martínez, 2006). Debido a esta mezcla se genera un ambiente especial con gradientes verticales y horizontales de salinidad muy pronunciados, donde se encuentran numerosas especies de plantas y animales tanto acuáticos como terrestres.

En estos sistemas se depositan sedimentos por el efecto de las mareas y el arrastre de las escorrentías. El acarreo de materia orgánica (MO) y nutrientes de los ecosistemas colindantes y su propia elevada productividad son los principales factores que resultan en los altos niveles de nutrientes y de biomasa presentes tanto en los sedimentos como en la columna de agua, característicos de estos ecosistemas (Vega-Cendejas, 1998; Minor, 2001). Juegan un papel muy importante en la filtración de nutrientes, metales traza, contaminantes hidrofóbicos y MO (Guo y Santschi, 1997; Kennish, 2000). Son sistemas altamente dinámicos y, sin duda, los ambientes más productivos de la franja costera (Martínez, 2006).

3.1.3 Sedimentos

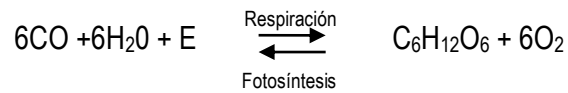
Los sedimentos son una mezcla de partículas orgánicas e inorgánicas producidas por la acción del intemperismo, que transporta el viento, el agua (fluvial o marina) o el hielo, hacia un sitio de depósito donde se mezclan con el material generado *in situ*. Son concentradores eficientes de los componentes que caracterizan a la columna de agua y se utilizan como una alternativa para integrar información ambiental de largo plazo en un solo muestreo.

La naturaleza de los materiales que contienen los sedimentos puede variar desde depósitos muy blandos, como el aluvión de los ríos, hasta un material duro, como las piedras formadas por la acumulación continua de sales calcáreas.

La mayor parte de los sedimentos se deriva de la erosión de la tierra continental y que finalmente son transportados hasta el mar por los ríos. Los sedimentos de origen oceánico están constituidos por los restos de las plantas y animales que viven en él; formadores de la materia orgánica (MO). De la atmósfera proceden gases como el bióxido de carbono, que contribuyen a estructurar las calizas marinas (Cifuentes, 1997).

3.1.4 Materia Orgánica

La materia orgánica (MO) está constituida por una mezcla de compuestos orgánicos, principalmente carbohidratos, proteínas y lípidos. Se produce a través de un ciclo que depende de dos procesos opuestos pero mutuamente dependientes, la fotosíntesis y la respiración, que en forma química condensada se representan por las reacciones:



Por medio de la fotosíntesis las plantas, algas y algunas bacterias captan y utilizan la energía de la luz para transformar la materia inorgánica en materia orgánica que utilizarán para su crecimiento y desarrollo. Se estima que el 90% de la fotosíntesis de la Tierra tiene lugar en los océanos. La producción primaria genera la MO necesaria para renovar las poblaciones de las distintas especies y alimentar las cadenas tróficas de las que forman parte.

El crecimiento del fitoplancton está restringido a la superficie del océano, debido a que la radiación solar no penetra a mayores profundidades del mar a consecuencia de la absorción por las moléculas de agua y la materia particulada. El fitoplancton es el mayor productor primario en el océano, éste forma la etapa inicial del proceso de producción de materia orgánica en el mar (Platt, 1992); sin embargo, existen excepciones que ocurren sólo en los ecosistemas que están localizados alrededor de ventilas hidrotermales y otros tipos de filtraciones bajo el agua. Algunas bacterias de estos lugares son capaces de fijar carbono inorgánico usando la energía obtenida de la oxidación de compuestos inorgánicos reducidos. Así, las bacterias quimioautolitotróficas son los productores primarios dominantes en estos ecosistemas.

Parte de la materia orgánica particulada que produce el fitoplancton pasa a través de la cadena alimenticia cuando la consumen otros organismos superiores. Después, eventualmente, se convierte a forma detrítica a través de la excreción o muerte de los organismos y luego se descompone o remineraliza por las actividades metabólicas de los organismos heterotróficos (Figura 1).

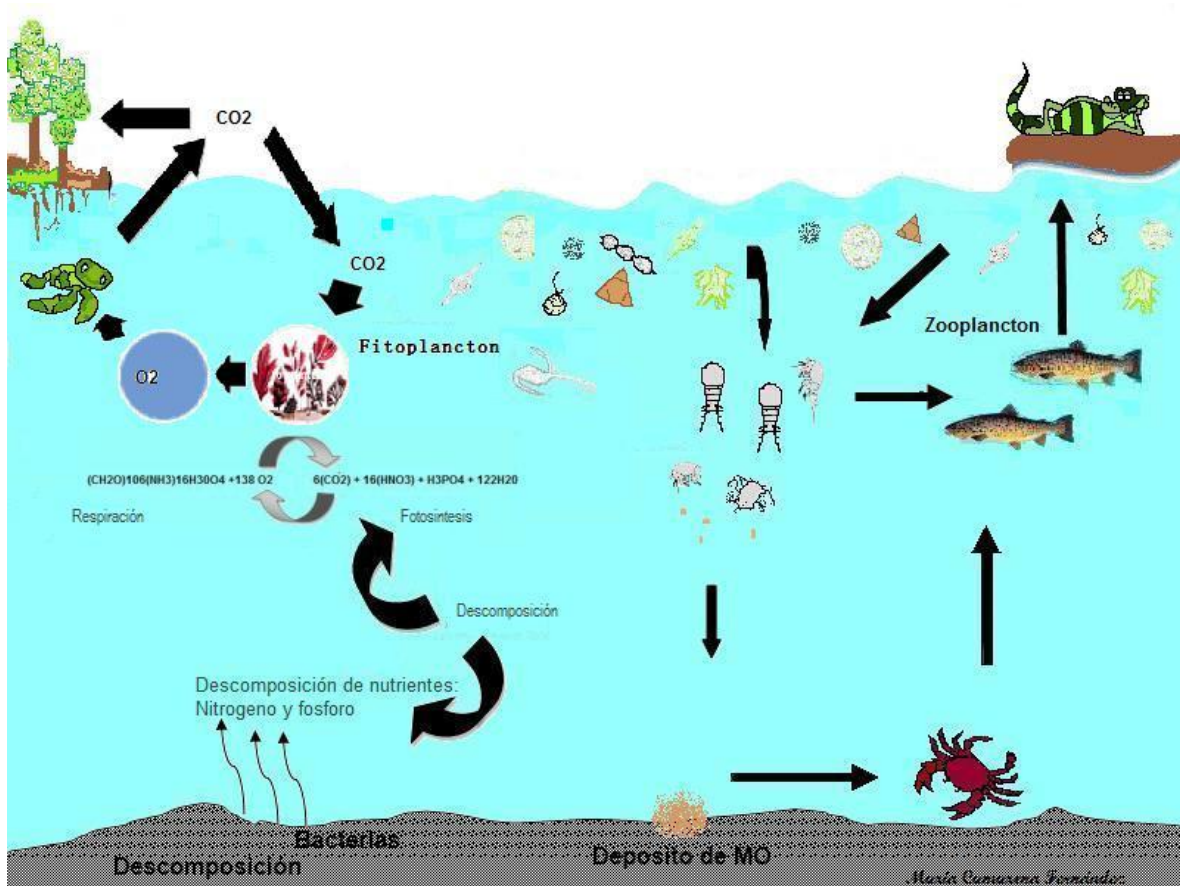


Figura 1. Ciclo de la materia orgánica (MO) en el ambiente marino (Camarena, 2011).

Esto es especialmente importante para los humedales, que constituyen uno de los sistemas más productivos del planeta y donde la mayoría del carbono se acumula en los sedimentos en forma de MO.

Para la mejor comprensión del ciclo del carbono es esencial identificar la fuente de materia orgánica particulada (POM) y estudiar los procesos que corresponden a la alteración de ésta sobre la reserva del carbono. Los lípidos, que constituyen una de las tres clases principales de la materia orgánica en el fitoplancton (Sun, 2002), son menos lábiles que los carbohidratos y las proteínas, por lo que son usados como biomarcadores para determinar la fuente (Wilson, 2001; Volkman, 1996; 2003) y el estado de alteración (Wakeham, 1995) de la materia orgánica. Debido a que la composición típica de la materia orgánica deriva de depósitos de algas o de microalgas (Wilson, 2001) existen varios estudios que han utilizado a los biomarcadores lipídicos para identificar la MO en el sedimento de aguas profundas, estuarios y lagos (Saliot, 1991).

3.1.5 Lípidos

Los lípidos constituyen una fracción muy significativa de la MO, a diferencia de los carbohidratos y las proteínas tienen un carácter más hidrofóbico que hidrofílico y son, por lo tanto, solubles en medios orgánicos e insolubles en agua. Su estructura es fundamentalmente hidrocarbonada alifática, alicíclica o aromática. Son biomoléculas orgánicas formadas básicamente por carbono e hidrógeno y, generalmente, también por oxígeno. Pueden contener además fósforo, nitrógeno y azufre, pero en porcentajes mucho más bajos.

Los lípidos se clasifican en dos grupos, los saponificables, que pueden ser simples como los acilglicéridos y los ceras, o complejos como los fosfolípidos y los glucolípidos; y los lípidos no saponificables, como los terpenos, los esteroides y las prostaglandinas.

Los lípidos se han utilizado en el desarrollo de investigaciones biogeoquímicas como compuestos que sirven como huellas digitales de organismos individuales o de ciertos procesos medio ambientales, debido a que su estructura base se mantiene constante durante los procesos químicos y bioquímicos, permitiendo un mejor conocimiento de los ecosistemas (Wakeham, 1995). Los esteroides tienen un interés particular por su mayor especificidad respecto al origen de la MO, aunque se encuentran en concentraciones mucho menores que otros grupos más abundantes como los ácidos grasos (Wen-Yen, 1979).

3.1.6 Esteroles

Son lípidos simples no saponificables que derivan del esterano. Se caracterizan por contar con una estructura general de tres anillos alifáticos de seis carbonos y uno de cinco, son derivados del ciclopentaperhidrofenatreno con ramificaciones metílicas en los carbonos de posiciones 10 y 13, además de poseer una cadena carbonada variada en la posición 17. Puede tener un total de carbonos de entre 27 y 29 átomos. Son estructuras rígidas planas como se muestra en la Figura 2.

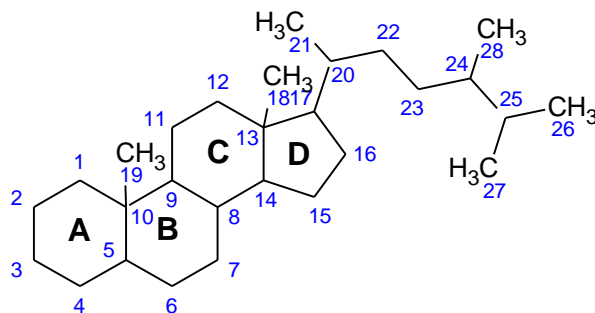
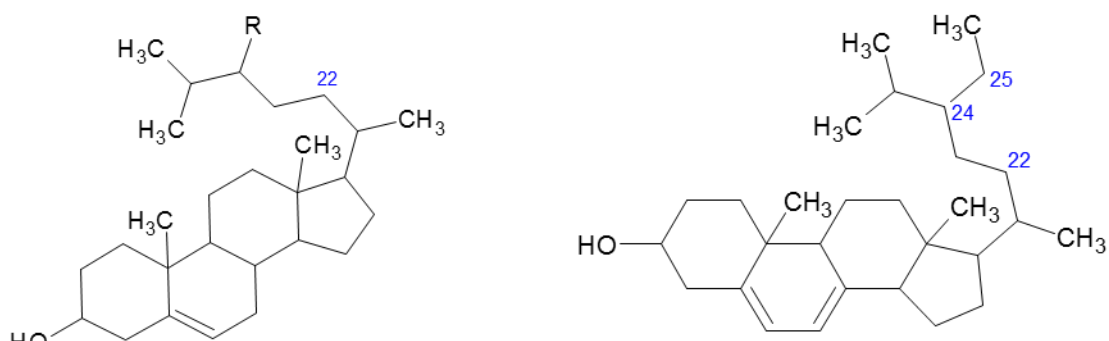


Figura 2. Estructura general de un esterano, donde se muestra el sistema de numeración de los átomos de carbono de acuerdo a la IUPAC.

Los esteroles están ampliamente distribuidos en los reinos animal y vegetal. Se encuentra en forma libre, así como en forma de derivados éster o como glicósido. En la Figura 3 se muestran las estructuras de algunos esteroles ampliamente distribuidos en la naturaleza.



Colesterol (R= H)

Campesterol (R= Me)

Sitosterol (R = Et)

Estigmasterol (R = Et, insat, C-22)

Ergosterol (insat. C-22)

Fucosterol (insat. 24-28)

Figura 3. Ejemplo de esteroles naturales distribuidos en la naturaleza.

Debido a la gran variedad y especificidad de los esteroides en diversos procesos bioquímicos, pueden utilizarse como biomarcadores para un gran número de especies en diferentes ambientes (Ayebo, 2006).

Tabla 1. Ejemplo de la especificidad de los esteroides.

Nombre común	Origen	Bibliografía
Colesterol	Es mucho más abundante en zooplancton, y una distribución menor para fitoplancton.	Gagosian, (1980); Volkman, (1986); Talbot, (2000)
Colestanol	Degradación biológica durante la sedimentación.	Fernandes, (1999)
Coprostanol	Se encuentra en las heces de animales y el hombre. Determina el impacto antropogénico.	Robert, (1983); González, (2002); Ayebo, (2006).
Ergosterol	Son sintetizados comúnmente por Fungí y algunos protozoa.	Weet, (1973); Mansour, (2003)
Estigmasterol	Diatomeas y algas calcáreas y criptofitas.	Goad, (1983)
β-sitosterol	Es sintetizado por plantas terrestres.	Volkman, (1986)

3.1.7 Extracción con disolventes de la materia orgánica de los sedimentos

El método que más se utiliza para la extracción de MO es con los aparatos de Soxhlet o de Goldfish. Emplean un disolvente orgánico, o mezclas de disolventes como cloroformo, metanol, hexano o diclorometano, entre otros (Bligh, 1959). La ventaja es que la muestra está en contacto íntimo y repetido con el disolvente limpio, lo que favorece la solubilidad del analito y mejora notablemente la eficiencia de extracción. Además, no se requiere filtración posterior. La MO orgánica extraída se recupera por evaporación del disolvente, de preferencia en evaporador rotatorio. Las desventajas principales son que se requiere de mucho tiempo para realizar la extracción, 8 a 12 horas, y que genera una gran cantidad de disolventes de desecho. Es común utilizar diclorometano para extraer los lípidos que requiere de manejo especial para su disposición.

También se ha usado la radiación por microondas para la extracción de lípidos (Ganzler, 1986) La EMO mostró ser más eficaz que los procedimientos convencionales, por ejemplo para la extracción de compuestos tóxicos presentes en muestras atmosféricas (Alvares-Avilés, 2007), los pesticidas de suelos (Onuska y Terry, 1993) (Carvalho, 2009). La irradiación de la mezcla de una muestra y un disolvente por un lapso relativamente corto proporciona energía al seno de la mezcla, directamente en donde están en contacto el disolvente y la muestra, con lo que la transferencia de energía es más eficiente y se evitan los gradientes de temperatura (García, 2000). Es necesario que al menos uno de los componentes de la mezcla de disolvente tenga momento dipolo para que pueda absorber la energía radiante y transformarla en energía cinética y calor, o utilizar un material auxiliar especializado (elemento calefactor) (Marion, 2001). Tiene la ventaja que es muy rápido, eficiente y seguro, disminuye los tiempos de extracción, reduce el consumo de disolventes (hasta un 90-95 %), y permite controlar los parámetros de tiempo, temperatura y presión.

3.1.8 Fraccionamiento y limpieza de la muestra

Cualquiera que sea el procedimiento, en la fracción lipídica extraída se encuentran decenas de compuestos orgánicos lo que puede dificultar el análisis de los compuestos de interés si se encuentran en concentraciones relativamente bajas, aún con las técnicas más eficientes de separación como la CG, como es el caso de los esteroides. Por esto, usualmente el extracto de la fracción líquida se somete a un proceso de fraccionamiento por cromatografía en columna o por EFS (Chávez-Romo, 2007). En ambos casos se utiliza sílice como adsorbente y una serie de disolventes o mezclas de disolventes de poder eluyente creciente. Los esteroides se recuperan en las fracciones de mayor polaridad. En cualquier caso la inversión de tiempo y el consumo de disolventes son considerables.

El fraccionamiento de la muestra puede obviarse cuando se utiliza CG-EM en el análisis utilizando alguna de las técnicas de manejo de datos basadas en extracción de iones o monitoreo selectivo de iones (SIM).

3.1.9 Derivación de los analitos

En cromatografía los compuestos que contienen protones ácidos, como los esteroides, presentan interacciones fuertes con los componentes del inyector y la columna, lo que con frecuencia lleva a resultados poco confiables. Lo usual para resolver este inconveniente es formar derivados (Knapp, 1979). Los reactivos de derivación más empleados (de preferencia en el caso de los esteroides) son los silanizantes, con los que el protón ácido se sustituye con un alquilsilano formando el éter correspondiente. El reactivo de uso más frecuente la N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA), sola o en presencia de algún catalizador como el trimetilclorosilano (TMCS).

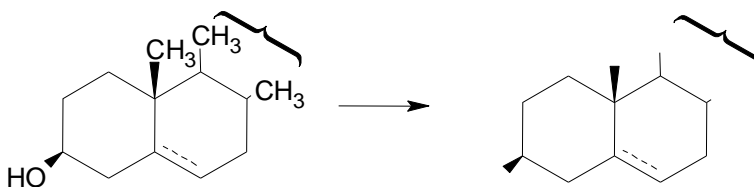


Figura 5. Reacción de silanización de un esteroide con BSTFA.

El procedimiento es relativamente simple y rápido: se elimina por completo la humedad del extracto que contiene la muestra y se reconstituye en un disolvente orgánico, que no sea alcohol o ácido. Se añade el silanizante y se calienta (60°C – 80°C) durante 30 min a 1 hr. Si es necesario el volumen se ajusta por evaporación para su análisis por cromatografía de gases.

3.1.10 Análisis por CG

El análisis de los lípidos normalmente se realiza por cromatografía de gases (GC) con detección por ionización de llama (FID) o espectrometría de masas (EM). En el primer caso para la identificación es imprescindible disponer de los estándares apropiados y fraccionamiento previo del extracto (Tolosa, 2003). Cuando se utiliza EM la caracterización puede apoyarse en los espectros de masas y en los índices de retención de Kovats reportados, pero la caracterización definitiva debe hacerse analizando los estándares bajo las mismas condiciones. Se han utilizado diversas columnas (Millero, 1996), con más frecuencia con una fase estacionaria ligeramente polar como el (5%) fenilmetil-silicón (Tolosa, 2003). Con sistemas muy inertes y/o técnicas especiales de inyección como la inyección directa en la columna o inyectores de temperatura y presión programable es posible analizar los esteroides sin necesidad de formar los derivados.

3.1.11 Espectroscopia de infrarrojo con reflectancia totalmente atenuada (FTIR-ATR)

La espectrofotometría de infrarrojo es una técnica que se basa en la absorción de la radiación electromagnética. El espectro abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 y 10 cm^{-1} , que corresponden a longitudes de ondas 0.78 a 1.00 μm . La absorción ocurre cuando la energía de la radiación corresponde a la necesaria para que ocurra una transición en la frecuencia de vibración de los enlaces moleculares. La longitud de onda en la que ocurre la absorción de energía es una función de la fuerza del enlace entre dos átomos y de sus masas. Esto resulta en que los máximos de absorción de los enlaces en grupos funcionales específicos sean característicos y con ello es posible determinar la presencia de esos grupos en una molécula o una mezcla de compuestos.

El espectrómetro de infrarrojo requiere de prismas caros y sistemas de difracción, y han de ser alineados y calibrados manualmente de forma habitual. Tienen una sensibilidad baja debido a que cada medición sólo se observa una frecuencia, los instrumentos dispersivos requieren el uso de fuentes de luz infrarroja intensa y un tiempo de 2 a 10 minutos para explorar y hacer un barrido de todo el espectro. Los instrumentos dispersivos de infrarrojo están siendo remplazados por espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), debido a que tiene varias ventajas. Tiene más sensibilidad porque mide todas las frecuencias simultáneamente en lugar de explorarlas individualmente; se necesita una fuente de luz de IR de menor energía y menos tiempo (entre 1 y 2 segundos) para la exploración; se pueden completar varias exploraciones en pocos segundos (acumulaciones) y promediarlas para mejorar la señal; también se mejora la resolución y la precisión, ya que se utiliza una fuente láser a la fuente de IR para controlar la velocidad del espejo móvil y temporizar la población de datos puntuales generales (Wade, 2004). El dispositivo de reflectancia totalmente atenuada permite obtener el espectro de infrarrojo de muestras sólidas o líquidas en la intercara de contacto de la muestra. (Kortum, 1969). El principio del método es que cuando un haz de radiación pasa de un medio más denso a uno menos denso se produce una reflexión. La fracción del haz incidente que se refleja es mayor a medida que aumenta el ángulo de incidencia; más allá de un cierto ángulo crítico la reflexión es completa. Teórica y experimentalmente se ha demostrado que durante el proceso de reflexión el haz se comporta como si penetrase una cierta distancia en el medio menos denso antes de reflejarse (Fahrenfort, 1961). La profundidad de penetración depende de la longitud de onda de la radiación incidente, del índice de reflectancia de los dos materiales y del ángulo que forma el haz incidente con la interface y puede variar desde una fracción de longitud de onda a varias longitudes de onda, la radiación que penetra se denomina onda evanescente. Si el medio menos denso absorbe la radiación evanescente se produce una atenuación del haz en las longitudes de onda de las bandas de absorción. La preparación de muestra es muy simple o incluso innecesaria. La muestra se coloca sobre la cara opuesta a la de incidencia de la radiación de un material cristalino transparente con un alto índice de refracción. A menudo se emplea una mezcla cristalina de bromuro de talio/yoduro de talio, también existen celdas con placas de seleniuro de germanio y zinc. Cuando se ajusta adecuadamente el ángulo incidente la radiación experimenta múltiples reflexiones internas antes de pasar del cristal al detector. En cada una de esas reflexiones tiene lugar la absorción y la atenuación. (Skoog, 2001).

3.2 ESTUDIOS PREVIOS

Desde hace varias décadas los componentes lipídicos del sedimento y el mar han sido objeto de numerosas investigaciones. Los primeros trabajos describen el uso de los alcanos ramificados para identificar las contribuciones de las algas en los sedimentos (Han, 1968). Los lípidos en las comunidades de fitoplancton y zooplancton fueron estudiados por Jeffries (1970), quien mostró como los ácidos grasos podrían ser útiles en los estudios de la cadena alimenticia. Más tarde se estudió la presencia de lípidos en la microcapa superficial de los océanos (Larsson K, 1974).

Los biomarcadores lipídicos son de interés debido a que constituyen una de las tres clases principales de la materia orgánica del fitoplancton y son menos lábiles que los carbohidratos y las proteínas en los sedimentos. Proporcionan información específica sobre las fuentes y estado de alteración de la materia orgánica de forma cualitativa y cuantitativa (Nishimura, 1977, 1982; Barrick, 1980; Volkman, 1986, 2003; Kawasamura 1987; Wakeham, 1995; Colombo, 1997; Sun, 2002; Christodoulou, 2009); (Shan W, 2001). Un ejemplo de esto es el estudio de Shaun (2001) donde describe la contribución de los dinoflagelados, corales, cianobacterias y zooplancton del sedimento.

Desde 1979 se determinó que los esteroides podían ser usados como biomarcadores para la evaluación del medio (Huang y Meinschein, 1979) y el interés en el tema aún se mantiene (Canuel y Zimmerman, 1999; Rontani 2009). Dependiendo de la abundancia o las proporciones en las que se encuentran algunos esteroides específicos son indicadores del carácter autóctono o alóctono de la MO (Partono y Wolff, 1998). Pueden ser utilizados para estudiar la diagénesis de la MO, debido a que éstos no se degradan rápidamente y se conservan mejor en entornos sedimentarios (Mackenzie, 1982; Volkman, 1986; Wakeham and Saliot, 1991; Conte, 1995; Wakeham, 1997; Rontani 2009). Se han utilizado para la identificación de biomarcadores de la MO en sedimentos (Saliot, 1991) y en el estudio de los factores que controlan la preservación y descomposición de la materia orgánica en los sedimentos marinos (Schultz y Zabel 2000).

Se reconocen como factores que afectan la descomposición de la MO a la degradación biótica y a los procesos abióticos. Estos últimos pueden ser por foto-oxidación u auto-oxidación. Los cuales se han estudiado poco, una revisión del tema se puede encontrar en Rontani, 2008. Los lípidos se han estudiado con el fin de encontrar los principales contribuyentes de MO producida y poder diferenciar los efectos de fotooxidación y autooxidación de la degradación de los lípidos (Christodoulou, 2008).

La foto-oxidación es la modificación de las propiedades químicas debido a la luz solar. Ocurre en los componentes lipídicos celulares como la clorofila, los carotenoides, los esteroides, los ácidos grasos insaturados, y los alquenos (Rontani, 2001). Los lípidos insaturados en las células (esteroides y ácidos grasos) también pueden ser fotodegradados por radiaciones activas fotosintéticas durante el envejecimiento de los fotoproductores específicos (Marchand, 2005; Rontani, 2008).

La autooxidación es cuando un átomo cede un electrón a otro distinto mediante el proceso de reducción. Se da por radicales libres y normalmente se divide en tres fases:

- Inicial. Es cuando la reacción produce un aumento en el número de radicales libres.
- Propagación: Se producen reacciones entre los radicales.

- Terminación: Se recombinan los radicales para formar moléculas más estables.

La auto-oxidación afecta principalmente a los esteroides y los ácidos grasos insaturados (Rontani, 2001).

Los esteroides son un componente importante de la membrana biológica y altamente susceptibles a la degradación por foto-oxidación durante la senescencia del fitoplancton. Se da por dos tipos: El tipo I (radicales libres) y el tipo II ($^1\text{O}_2$) foto-oxidación (Nickon y Bagli, 1961; Kulig y Smith, 1973).

La foto-oxidación de esteroides se da principalmente en los $\Delta^6-5\alpha$ -hidroperóxidos y en menor medida en los $\Delta^4-6\alpha/6\beta$ -hidroperóxidos; mientras que la oxidación por radicales libres de fotorreacción y procesos de auto-oxidación se presenta en los $\Delta^5-7\alpha/7\beta$ -hidroperóxidos y en el $\Delta^6-5\alpha$ -hidroperoxiesterol (Rontani, 2001), y se pueden detectar en sedimentos marinos recientes (Marchand, 2000). Estos compuestos son relativamente inestables y pueden someterse a un arreglo sigmatrópico de 7β -hidroperóxidos. (Figura 6).

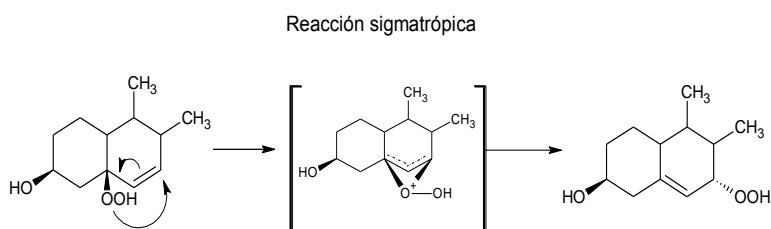


Figura 6. Reacción de transposición sigmatrópica de un esteroide. Donde comprende la emigración de un grupo alquilo a partir de un átomo de carbono adyacente al átomo de carbono deficiente de electrones.

Se sabe que la foto-oxidación de esteroides se da en las células fitoplanctónicas viejas e implica la excitación de la insaturación Δ^6 , la formación de un hidroperóxido y finalmente una transposición de la insaturación a Δ^5 . Estos procesos producen 6-hidroperóxidos. La reacción sigmatrópica no se produce significativamente en las células de fitoplancton muertas. Korytowstki (Korytowstki, 1992) observó que los $\Delta^6-5\alpha$ -hidroperóxidos son más estables en las membranas que contienen fosfolípidos insaturados. La falta de una reordenación alílica en el fitodetritus puede estar relacionada con Δ^9 y el alto contenido en ácidos grasos insaturados del fitoplancton. (Rontani, 2001, 2008).

La mayoría de los estudios se enfocan a la foto-oxidación, son pocos los que abordan a la autooxidación, en ellos se sugiere que la reacción de los esteroides se da por radicales libres y se genera el compuesto $\Delta^5-7\alpha/7\beta$ -hidroperóxido que es un compuesto estable, algunas veces se puede formar $\Delta^6-5\alpha$ -hidroperóxido que es relativamente inestable y puede sufrir un rearrreglo alílico para formar el Δ^5-7 -hidroperóxido (Smith, 1981; Rontani, 2001; Marchand, 2005). El mecanismo de reacción es el siguiente:

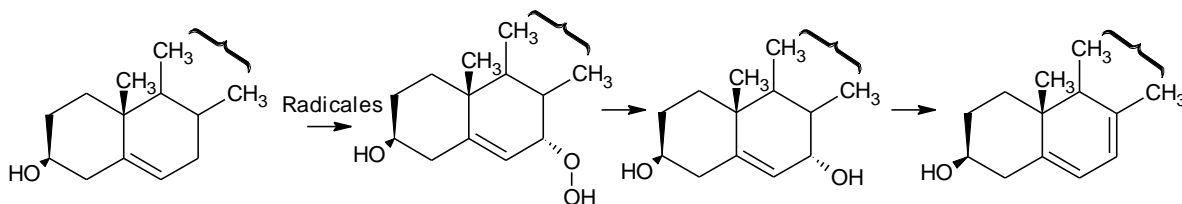


Figura 7. Reacción por radicales libres. Se producen mediante mecanismos de reacción en cadena, utilizando un iniciador con un enlace (R-O-O-R, Cl₂ ó Br₂) para empezar la reacción en cadena.

El análisis de la composición de los esteroides como biomarcadores es una herramienta útil para identificar un gran número de especies de microorganismos acuáticos, plantas y animales, (Volkman, Smith, 1981) ya que están involucrados en los diversos procesos bioquímicos. Las microalgas son la principal fuente de esteroides en el mar. Algunas especies muestran un predominio de esteroides individuales como, por ejemplo, el colesterol (24-metilcolesta-5,22E-dien-3β-ol) en *eustigmastophytes* marinos (Volkman, 1986), el 24-metilcolesta-5,22E-dien-3β-ol que se considera como marcador de algunas diatomeas y algas calcáreas y criptofitas. (Goald LJ *et al.*, 1983), el 24-metilcolesta-5, 24(28) dien-3β-ol se ha relacionado con diatomeas de *Thalassiosira* y *Skeletonem*, y el 24-etilcolesta-5,22E-dien-3β-4α,23,23-trimetil-5β-colest-22E-en-3β-ol (dinosterol) que se asocia a los dinoflagelados (Volkman, 1993).

Determinar el origen de la MO en sedimentos a partir de la composición de esteroides no es una tarea directa y simple. Algunas veces debido a la mezcla compleja de estructuras de esteroides presentes y se debe de correlacionar la información obtenida con otra información disponible (Fernandes, 1999). Por otra parte, el perfil de esteroides también carece de concordancia dentro de la misma clase de algas. Por ejemplo, la composición de esteroides ha sido diferente para una misma especie y aún dentro del mismo género (Mansour, 1999b; Volkman, 1999). El perfil de los esteroides puede considerarse menos estable que la distribución de los ácidos grasos, pero menos afectado por la fase de crecimiento (Hallegraeff, 1991). Sin embargo, el análisis cuantitativo que valida la estabilidad del perfil de esteroides en la fase de crecimiento de un dinoflagelado, muestra algunos datos contradictorios (Mansour, 2003).

En los estudios de calidad o de dinámica de ecosistemas usualmente se necesita analizar un número relativamente grande de muestras para describir con la mayor veracidad posible los fenómenos globales y que las conclusiones que se deriven de los datos tengan sentido general. Así, en el desarrollo de nuevas aplicaciones de las técnicas analíticas más recientes para el estudio de los procesos costeros se busca el manejo de las muestras de forma más fácil, rápida, sencilla, con costos de operación menores y, a la vez, que los resultados sean exactos, precisos y fiables en concentraciones pequeñas. Se ha propuesto la técnica de de espectroscopia de infrarrojo (IR) para el análisis de los ácidos húmicos y fulvicos (Ait Baddi, 2004; Amir, 2004; Joraiphy, 2005). En otro trabajo se estudió el cambio de las estructuras húmicas con respecto a la profundidad en suelos usando diversas técnicas espectroscópicas, ¹H NMR, ¹³C NMR y FTIR (Fuentes, 2007).

La espectroscopía de infrarrojo con reflectancia totalmente atenuada (FTIR-ATR) es una opción para el estudio cualitativo de la composición de sedimentos y se ha utilizado en el análisis de composición

estructural y para la obtención de información relativa de las muestras ambientales (Kögel-Knaber, 2000; Song y Chouparova, 2001). Existen algunos estudios que han establecido el uso de FTIR-ATR para supervisar y analizar *in situ* los procesos sobre superficies colonizadas por bacterias en agua (Shaka, 2004). También se ha utilizado en combinación con un análisis correlacionado en dos dimensiones para la identificación y agregación de la materia orgánica y su origen (Hay, 2007). Se ha empleado en investigaciones de determinación de carbonatos (Mecozzi 2001), nutrientes en muestras marinas (Boualam, 2002) y la caracterización de compuestos en la atmósfera (Gauch, 2006). Tiene la ventaja de que puede utilizarse como una herramienta para evaluaciones de efectos cualitativos en el medio ambiente en muestras marinas, resultando un método eficiente que facilita el manejo de muestras complejas para el estudio y acorta el tiempo del análisis.

4. ÁREA DE ESTUDIO

El área de estudio se encuentra en la franja costera, al norte del Estado de Yucatán (EY). Es un sistema lagunar, estuarino, conocido como “La laguna de la Carbonera” (LC) o “Boca de la Carbonera”. Se localiza entre Sisal y Chuburná, entre las coordenadas 21°14' y 21°13' de latitud Norte y 89°53' y 89°54' de longitud oeste (Figura 8). Se encuentra paralelo a la costa, limitado al norte con una franja arenosa, al sur con la duna costera, está poblada por manglares. Tiene una longitud aproximada de 5 km en la dirección paralela a la costa y unos 4 km en la dirección perpendicular (Jeronimo, 2011).

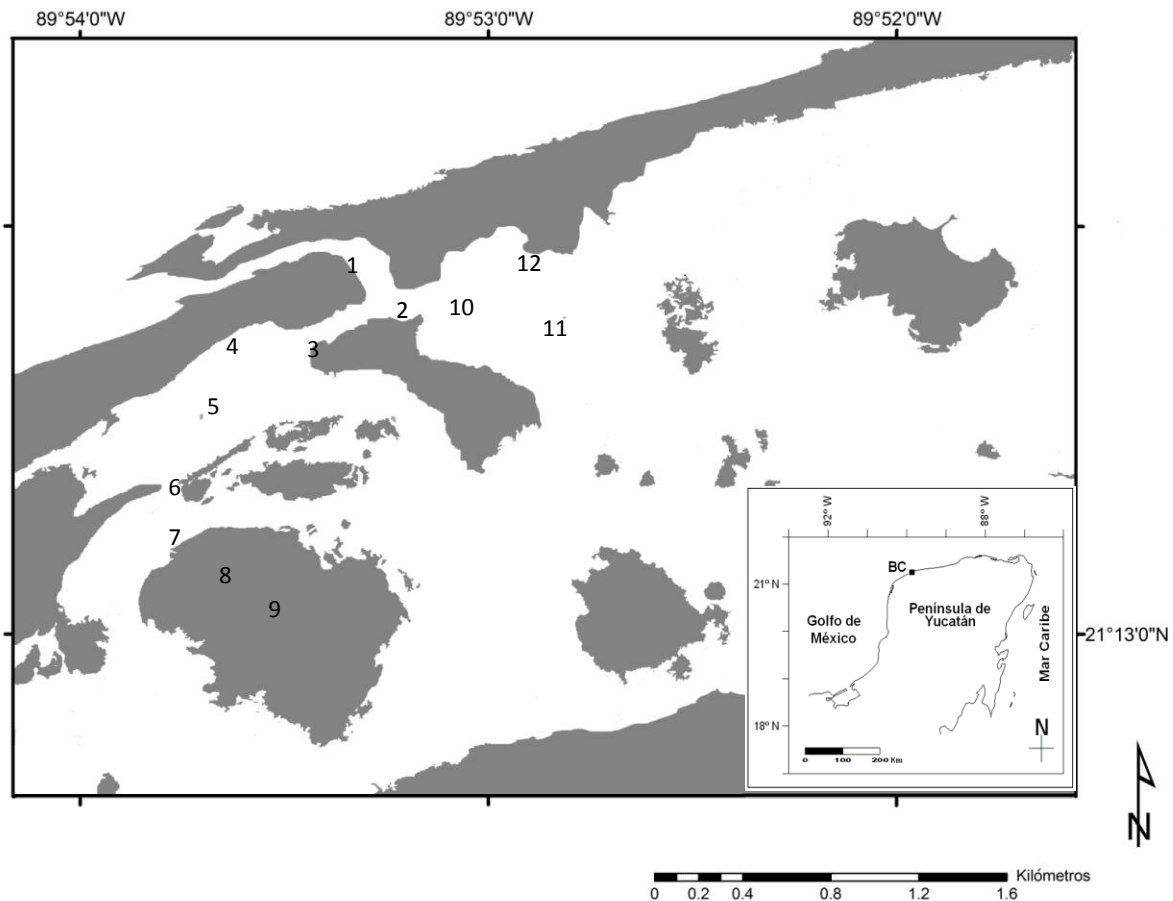


Figura 8. Zona de estudio y ubicación de las estaciones de muestreo. (Imagen proporcionada por el Dr. Rodolfo Rioja)

Dentro del área de estudio se establecieron 12 estaciones de monitoreo ubicadas como se muestra en la Figura 8 y corresponden a las coordenadas que se indican en la Tabla 2. La superficie que abarcan las estaciones es del orden de dos kilómetros cuadrados. La distancia entre estaciones es variable.

Tabla 2. Coordenadas de las estaciones del área de estudio

ESTACIÓN	LATITUD NORTE	LONGITUD OESTE
1	21°13'57.2"	89°53'25.0"
2	21°13'48.2"	89°53'20.5"
3	21°13'46.5"	89°53'26.2"
4	21°13'45.3"	89°53'35.8"
5	21°13'37.3"	89°53'42.5"
6	21°13'23.9"	89°53'50.4"
7	21°13'13.4"	89°53'52.5"
8	21°13'08.11"	89°53'45"
9	21°13'8.25"	89°53'45.3"
10	21°13'50.8"	89°53'11.6"
11	21°13'47.9"	89°52'52.7"
12	21°13'56.9"	89°52'53"

En el EY hay dos tipos de clima: cálido subhúmedo, que abarca el 90% de su territorio, y cálido-seco que corresponde a la franja costera en el norte del estado. Se distinguen tres estaciones bien diferenciadas: secas, lluvias y nortes. En la Figura 9 se presenta el gráfico del promedio mensual del 2009-2010 y el histórico de la precipitación donde se observan claramente estas características.

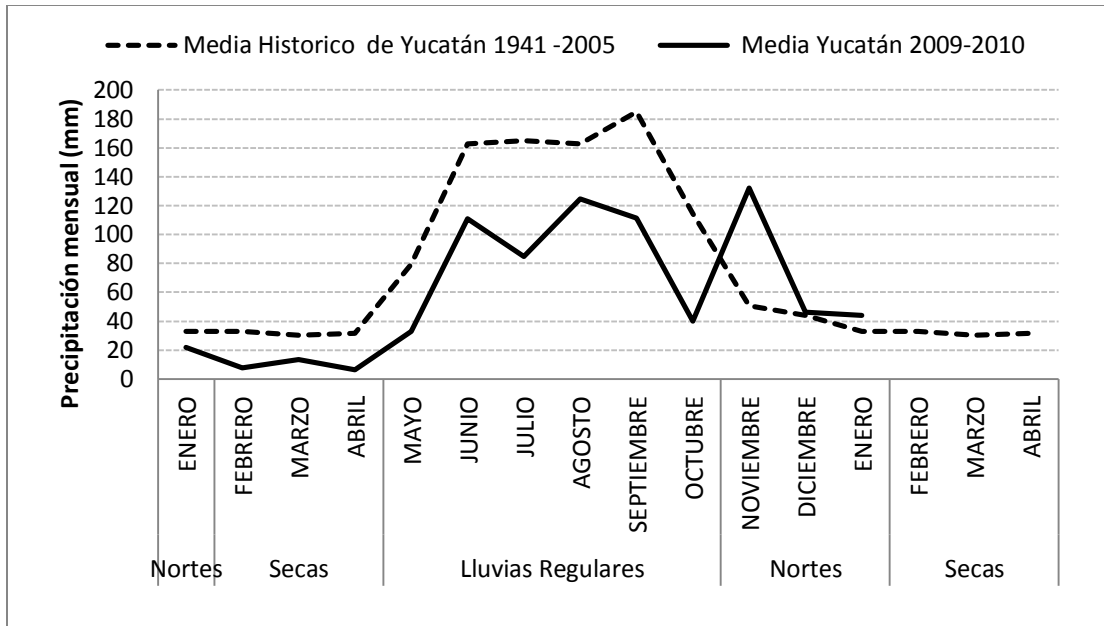


Figura 9. Promedio histórico del 1941 - 2005 y media del 2009-2010 del EY (<http://www.ingenieria.uady.mx/METEO/otrasestaciones.html>).

La estación seca se presenta en los meses de febrero a abril seguida de una temporada de lluvias larga que inicia en mayo y termina en octubre, cuando se presenta el ciclo de nortes que concluye en enero. El año 2009 fue atípico en tanto que las lluvias, si bien empezaron en mayo, fueron escasas, particularmente en los meses de julio y octubre. Por otro lado, la temporada de nortes se acompañó de una cantidad de lluvia mayor que la usual.

Respecto a la temperatura, los meses más calurosos son abril y mayo, en los que se llegan a rebasar los 40°C. La temperatura media anual es de 26.3 °C, con una temperatura máxima promedio de alrededor de 36°C que se presenta en el mes de mayo, mientras que la temperatura mínima promedio es de 16°C para el mes de enero. La temperatura media en el 2009 fue ligeramente mayor que el promedio histórico (<http://clima.meteored.com>).

Existen diferencias importantes del clima entre la costa y el interior del Estado como se observa en la Figura 10. A pesar de que Mérida se encuentra tan solo a 30 km del puerto de Progreso la lluvia fue mucho menor en la costa en el verano y mayor la asociada a la temporada de nortes en el 2009. Aunque no disponemos de datos específicos de la Carbonera, el régimen de lluvias es similar al de Chelem y Progreso.

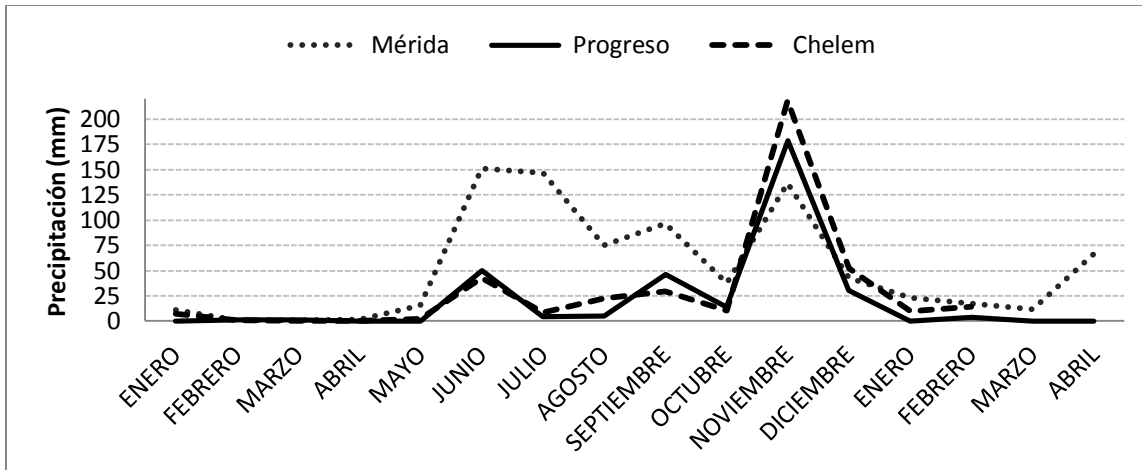


Figura 10. Precipitación mensual (mm) de Mérida, Progreso y Chelem de enero del 2009- marzo del 2010.

Respecto a la temperatura en la costa y el interior del Estado como se observa en la Figura 11 la temperatura media de Mérida es menor a pesar de que se encuentra en la zona centro. Las temperaturas medias más altas las localizamos en la zona de costa hacia la zona noreste, por lo que Progreso registra las temperaturas medias más altas, seguidas de Chelem. Siguiendo este registro podemos asumir que nuestra área de estudio tiene una temperatura menor o similar a la de Chelem (<http://clima.meteored.com>, <http://sites.google.com/site/chelemtiempo/home/datos-2010-chelem>, <http://www.ingenieria.uady.mx/METEO/otrasestaciones.html>).

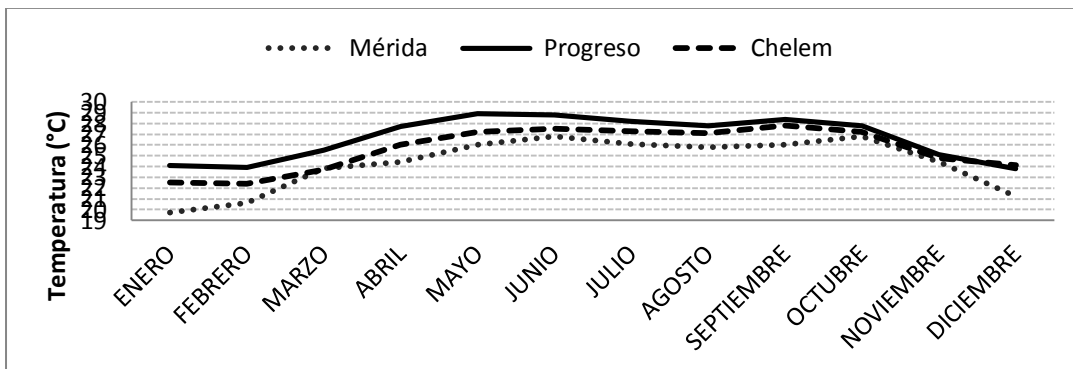


Figura 11. Temperatura media (°C) de Mérida, Progreso y Chelem del 2009.

La Península de Yucatán está formada por una plataforma caliza- cárstica, donde existen diversos tipos de suelos, el que prevalece en una gran parte del estado se presenta en forma de grava y arena, con una cantidad de finos limosos variable dependiendo de su ubicación geográfica y la profundidad en que se encuentra en el subsuelo. En la zona costera, la arena superficial de la orilla de la playa presenta

partículas uniformes, propiamente sin finos, lo cual proporciona una alta permeabilidad comparada con la zona de humedales en la cual la arena contiene limos que disminuye su permeabilidad (Alonzo, 2006).

La LC presenta un suelo con una mayor cantidad de arenas medias, seguida de arenas finas y conchuelas y limos en menor cantidad. Esto indica que el lugar está sujeto a un movimiento continuo de material por la acción de viento, flujo laminar de agua pluvial e inundación por mareas. Se observan tres diferentes tipos de paisaje: ciénega baja, petenes y manglares (Tabla 3).

Tabla 3. Tipos de paisaje observados en la Boca de la Carbonera.

Petenes	Asociaciones vegetales que se caracterizan por ser discontinuidades de selva en el espejo de agua salobre, en algunos de los casos se dan afloramientos de agua dulce provenientes del manto freático. El sistema de petenes se encuentra embebido dentro de la ciénega. (Barrera-Martín, 1982)
Manglares	Corresponde a una estructura vegetal compuesta de diferentes asociaciones arbóreas con un estrato arbustivo que puede llegar a los 3 m, en ellos se encuentran diferentes especies influenciadas por las características geomorfológicas y de gradientes de salinidad (Trejo, Yañez-Arancibia, 1986).
Ciénega	Se ubica en la zona más baja de la cuenca. Se inunda o se seca de acuerdo al régimen hidrológico, no obstante permanece inundado la mayor parte del año. Presenta un mosaico muy diverso de comunidades vegetales. (Espejel, 1986).

Existe poco conocimiento acerca de las características biológicas de la zona de estudio; por ello, para la siguiente descripción utilizamos los datos reportados para la Reserva del Palmar (Programa de manejo Reserva Estatal El Palmar, 2006) que se encuentra inmediata al sitio de estudio y es similar a la BC.

La zona está conformada por las siguientes comunidades vegetales de tipo tropical:

1. Matorral de duna costera localizada al frente de la playa que constituye una barrera de arbustos rompe-vientos y en el interior de la duna una zona donde la arena se encuentra fija y la altura varía entre 3 y 5 metros.
2. Manglar localizado en grandes extensiones de terreno, especialmente en torno a la ciénega. Se presentan básicamente tres tipos de manglar: manglar de franja, manglar chaparro y manglar de cuenca.
3. Petenes de tipo selvático, reconocida como selva perennifolia.

A continuación se indica la fauna asociada a este tipo de paisaje con base en lo observado en los muestreos y a estudios relacionados con el sitio o lugares adyacentes.

1. Invertebrados marinos: cacerolitas de mar, medusas y cangrejos entre otros.

2. Peces: actualmente en el lugar se está realizando un estudio sobre las comunidades de peces y se han encontrado, unas 60 especies que utilizan la laguna en alguna fase de su ciclo de vida (Chiappa, 2008).
3. Reptiles: tortugas y cocodrilos.
4. Aves: flamingos, garzas blancas, garzas grises y pelícanos.
5. Mamíferos: las especies registradas del Palmar son roedores, zorra gris o chomac y conejos entre los más abundantes.

5. JUSTIFICACIÓN

Este trabajo incluye dos secciones claramente diferenciadas entre sí. La primera está enfocada a estudiar la viabilidad de alternativas a los métodos que se utilizan regularmente para el análisis químico de los lípidos de la MO de los sedimentos, utilizando los esteroides como analitos de estudio, y la segunda a estudiar con los procedimientos analíticos desarrollados la variación espacial y temporal de la MO en los sedimentos de LBC.

El procedimiento más utilizado para extraer los lípidos de la MO en sedimentos es la extracción con disolventes en un sistema Soxhlet, que tiene como principales desventajas el alto consumo de disolventes, el tiempo largo que se requiere y el estrés térmico al que se somete la fracción extraída. Así, es que se decidió explorar como alternativa la EMO que consume una cantidad significativamente menor de disolventes, elimina o al menos reduce de manera importante el efecto negativo del calentamiento prolongado o de zonas sobrecalentadas y disminuye el tiempo de preparación de la muestra.

La especiación de la MO en los sedimentos permite obtener información sobre su origen y destino, y estudiar su dinámica en sistemas complejos como los estuarios. Desafortunadamente su interpretación es compleja y con ninguno de los grupos químicos por sí mismos, o incluso de los compuestos individuales, que constituyen la fracción lipídica se elimina totalmente la ambigüedad y es frecuente encontrar en la literatura interpretaciones aparentemente contradictorias. Esto se debe a que la composición general de los lípidos en todos los organismos es muy similar, con excepciones notables como las bacterias. Las diferencias, grandes o pequeñas, están en las proporciones en las que se encuentran los diferentes compuestos, que a su vez son dependientes de las condiciones ambientales específicas. Así, lo que es válido para un sistema no lo es necesariamente para otro. Entonces parece razonable utilizar en algunos estudios herramientas analíticas mucho más simples de operación que la especiación basada en la separación cromatográfica, pero que proporcionen información general de la composición de la fracción extraíble de la MO. Esto puede lograrse con FTIR que ofrece información de composición de grupos funcionales, no tan refinada y abundante como la que se obtiene por cromatografía pero mucho más que tan solo el porcentaje de carbono orgánico total (COT). Por ello, se decidió desarrollar un procedimiento basado en el FTIR para el estudio de la composición global de la fracción lipídica de la MO, basado en la absorbancia de los principales grupos funcionales.

Considerando la ambigüedad de interpretación mencionada, la segunda parte de este trabajo tiene la intención de mostrar que es posible obtener información útil para estudiar la dinámica espacio-temporal de la MO en los sedimentos de LC con un número reducido de esteroides analizados por CG o la absorbancia en IR de los grupos funcionales principales, utilizando los procedimientos desarrollados en la primera parte del trabajo.

6. HIPÓTESIS

6.1 Con la extracción de la MO de los sedimentos asistida por microondas se obtienen resultados equivalentes a los que resultan de la extracción Soxhlet.

6.2 La absorbancia en el infrarrojo de los grupos funcionales principales de la MOE refleja la cantidad de MO en los sedimentos y sus diferencias en composición.

6.3 Se puede explicar la variación espacial de la composición de la MOE de los sedimentos con un número reducido de variables químicas (esteroles y/o grupos funcionales).

6.4 La distribución y composición de la MO sedimentaria en la LC está determinada principalmente por las características hidrodinámicas del sistema.

6.5 La variación temporal y composición de la MO sedimentaria en la LC está asociada al régimen de lluvias.

7. OBJETIVO GENERAL

El proyecto tiene objetivos en dos vertientes distintas pero relacionadas entre sí. Por una parte está el desarrollo e implantación de alternativas analíticas para el estudio de la MO sedimentaria y, por la otra, utilizar esas herramientas de análisis para estudiar la distribución y variación espacio-temporal en la LC de la MO extraída de los sedimentos, utilizando un número reducido de variables químicas.

7.1 Objetivos específicos

7.1.1 Recolección de muestras

Realizar un muestreo mensual de sedimentos superficiales (0 - 5 cm) durante 12 meses (abril de 2009 a marzo de 2010) en las estaciones que fueron seleccionadas para el estudio general de la dinámica de la LC.

7.1.2 Parámetros fisicoquímicos de la columna de agua

En cada punto de muestreo medir *in situ* las siguientes variables: altura de la columna de agua, temperatura, oxígeno disuelto y porcentaje de saturación, salinidad, sólidos totales disueltos y pH.

7.1.3 Carbono orgánico total

Determinar con el método de oxidación húmeda el porcentaje de carbono orgánico total (% COT) en cada una de las muestras.

7.1.4 Extracción de la MO

En un subconjunto de las muestras comparar la cantidad de MOE con los procedimientos de extracción en Soxhlet (ES) y extracción asistida por microondas (EMO). Evaluar el efecto de la temperatura, el tiempo y el disolvente de extracción en la EMO.

7.1.5 Preparación de la muestra para el análisis de esteroides

7.1.5. 1. Saponificación de la MO.

Comparar la saponificación directa de los sedimentos con la saponificación de la MOE, evaluar el efecto del tiempo y temperatura de reacción.

7.1.6 Selección del procedimiento para el análisis de los esteroides

Con base en los resultados obtenidos seleccionar un procedimiento para el análisis de esteroides en la MO de los sedimentos, comparando la cantidad de MOE, la repetibilidad de los resultados, el consumo de disolventes y el tiempo de procesamiento de la muestra.

7.1.7 Análisis de los esteroides

Analizar por cromatografía de gases-espectrometría de masas los esteroides en la MOE utilizando el procedimiento seleccionado.

7.1.8 Análisis de la MOE por FTIR

7.1.8.1 Evaluar la factibilidad de obtener el espectro de IR de la MO analizando directamente los sedimentos en una celda de reflectancia totalmente atenuada (ATR) comparando los resultados con los que se obtienen al analizar la MO después de extraerla de los sedimentos.

7.1.8.2 Seleccionar el procedimiento para el análisis de la MO y evaluar su linealidad y repetibilidad.

7.1.8.3 Obtener con el procedimiento seleccionado los espectros de FTIR-ATR de la MO de las muestras.

7.1.9 Análisis de resultados

7.1.9.1 Aplicar técnicas de estadística multivariante (análisis de componentes principales y análisis de conglomerados –“cluster”-) al promedio anual de la concentración de los esteroides en cada estación de muestreo para:

7.1.9.1.1 Seleccionar un número reducido de esteroides que representen adecuadamente la varianza del sistema.

7.1.9.1.2 Clasificar las estaciones de muestreo por similitud en su composición de esteroides.

7.1.9.2 Aplicar técnicas de estadística multivariante (análisis de componentes principales y análisis de conglomerados –“cluster”-) al promedio anual de la absorbancia en el infrarrojo de los principales grupos funcionales de la MO en cada estación de muestreo:

7.1.9.2.1 Seleccionar un número reducido de grupos funcionales que representen adecuadamente la varianza del sistema.

7.1.9.2.2 Clasificar las estaciones de muestreo por similitud en su composición de química general.

7.1.9.3 Agrupar por similitud de composición y estacionalidad los datos seleccionados de esteroides y grupos funcionales y analizar la variabilidad temporal de la composición de la MOE.

7.1.10 Interpretación de los resultados en relación a la dinámica de los sedimentos de la LC.

8. PARTE EXPERIMENTAL

8.1 Equipo, materiales y reactivos

En los experimentos se utilizaron los equipos, materiales y reactivos que se describen a continuación:

Tabla 4. Equipos utilizados en el trabajo experimental o en la recolección de las muestras.

Abreviatura	Nombre	Marca	Modelo	Aditamentos/observaciones
	Profundímetro	Fabricación propia		200 cm
	Analizador de agua	HACH	HQ4D0	
	Salinómetro	YSI	EC3000	
	Anemómetro	SPER scientific	85000070	
	Liofilizadora	LABCONCO	Freezone 2.5	
	Centrifuga	Hettich Zentrifugen	Universal 320	
	Microondas	Anton Para	Synthos 3000	Lainer MF100
	Rotaevaporador	Büchi	R215	
CG	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	6850 Network CG System	
MSD	Detector de masas	Agilent Technologies	5975B, VL	
	Inyector automático	Agilent Technologies	76838 Series	
	Baño ultrasónico	Branson	2570.2510R-DTH	
	Parrilla eléctrica de calentamiento con agitación	Barnstead/Thermolyne	SP131325	Agitador magnético. 3.8 cm x 0.8 cm
	Balanza Analítica	Explorer Pro	EP214C	
	Soxhlet	LAB-LINE	MULTI-UNIT	
	Bloque de Calentamiento	Termo Scientific	2050.	
	Agitador vortex	Barnstead-Thermolyne	M37615.	
FTIR	Estufa Infrarrojo	Binder Perkin Elmer	Spectrum RXI	Celda de reflectancia totalmente atenuada
	Aparato para microextracción en fase sólida manual	SULPELCO	57330-U	

Tabla 5. Materiales utilizados en los experimentos.

Abreviatura	Nombre	Marca	Modelo	Descripción
	Columna para cromatografía de gases	J&W SCIENTIFIC	HP-5MS	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
PDMS/DVB	Microfibra	HAMILTON		polidimetilsiloxano- divinilbenceno, 65µm
PA	Microfibra	HAMILTON		Poliacrilato, 85 µm
	Pipetas Pasteur	CORNING	7095B -5X	
	Viales	SUPELCO		tapa sólida con sello PTFE de 7,15 y 25 mL
	Pipetas volumétrica	PYREX		1, 20, 25 mL
	Viales con septa de PTFE/Silicón	SUPELCO		2 mL
	Propipeta	EPPENDORF RESEARCH,		20 µL, 200 µL, 1 mL
	Propipeta	LABNET AUTOCLAVABLE		10 mL
	Matraz de bola fondo plano	PYREX		250 mL
	Matraz Aforado	PYREX		250 y 500 mL
	Vaso de precipitado	PYREX		10 mL
	Embudo	PYREX		250 mL
	Refrigerante	PYREX		
	Camisa de extracción	Antoon Para	Synthos 3000	
	Bureta	NALGENE		50 mL
	Probeta	PYREX		250 mL
	Papel Filtro	Whatman, Strengthened	Et Cat No. 1114125	125 mm
	Tamiz	Fieldmaster		4000, 2000, 500, 250, 125, 63 micras
	Papel Aluminio	Reynolds	603RF	150 m * 46 cm
	Bolsas	Ziploc		16.6 cm * 14.9 cm
	Tapas de extracción	Anton Para	Synthos 3000	
	Cartucho de celulosa	Whatman	Cat No. 2800338	33 mm * 80 mm
	Perlas de ebullición	Saint-Gobain		

Tabla 6. Reactivos, disolventes y estándares utilizados en el trabajo de laboratorio.

Abreviatura/Fórmula	Nombre	Marca	Grado
BSFTA	Trimetil-silil-trifluoro-acetamida	FLUKA	RA
DFA	Difenilamina	Sigma-Aldrich	99 %
K₂Cr₂O₇	Dicromato de potasio	Sigma-Aldrich	99 %
Fe₂SO₄	Sulfato ferroso	Sigma-Aldrich	> 99%
AgNO₃	Nitrato de plata	CTR SCIENTIFIC	RA
KOH	Hidróxido de potasio	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
NaCl	Cloruro de sodio	J.T. Baker	99.9 %
Na₂SO₄	Sulfato de sodio anhidro	Sigma-Aldrich	99.4 %
H₂SO₄	Ácido sulfúrico	J.T. Baker	RA
H₃PO₄	Ácido fosfórico	J.T. Baker	RA
HCl	Ácido clorhídrico	J.T. Baker	RA
CH₃-OH	Metanol	J.T. Baker	HPLC
C₇H₈	Tolueno	Sigma-Aldrich	HPLC
C₆H₁₄	Hexano	J.T. Baker	HPLC
C₃H₆O	Acetona	J.T. Baker	HPLC
CH₂Cl	Diclorometano	Sigma-Aldrich	HPLC
5α-Coleston	5 α -Coleston	Sigma-Aldrich	≥95 %
C₂₇H₄₆O	Colesterol	Sigma-Aldrich	95 %
C₂₈H₄₄O	Ergosterol	Sigma-Aldrich	≥95 %
C₂₈H₄₂O	Estigmasterol	Sigma-Aldrich	≥95 %
C₂₉H₅₀O	β -sitosterol	Sigma-Aldrich	≥95 %
N₂	Nitrógeno líquido	INFRA del Sur, S.A de C.V	AP
He	Helio	INFRA del Sur, S.A de C.V	UAP

8.2 Muestreo

Este proyecto es parte de un estudio más amplio en el que además del muestreo de los sedimentos se hace recolección de peces, se toman muestras de agua, fitoplancton y zooplancton, y se miden *in situ* varios parámetros fisicoquímicos. La organización del muestreo consistió en tres brigadas y cada una cubrió un grupo de estaciones, de forma que en el mismo día se muestreó toda el área de estudio.

Las muestras se recolectaron con una frecuencia mensual entre abril de 2009 y marzo de 2010, en los puntos que se indican en la Tabla 7, donde se presentan las coordenadas del muestreo medidas con un GPS (ETREX LEGEND). La localización de los sitios de muestreo se presenta en la Figura 8.

Tabla 7. Localización de las estaciones de muestreo en la Boca de la Carbonera, Yucatán.

ESTACIÓN	LATITUD NORTE	LONGITUD OESTE	DESCRIPCIÓN DE LA ESTACIÓN
1	21°13'57.2"	89°53'25.0"	Se ubica a la entrada a la Boca de la Carbonera. Se encuentra directamente conectada con el mar. Se pueden apreciar matorrales de duna.
2	21°13'48.2"	89°53'20.5"	Se encuentra justo frente a la entrada de agua marina junto a un islote, hacia el este. Donde se aprecian matorrales de duna.
3	21°13'46.5"	89°53'26.2"	Se sitúa en la entrada de la zona de mezcla, junto a un islote. En el sitio existe una mayor proporción de matorrales de duna y manglares de franja.
4	21°13'45.3"	89°53'35.8"	Se localiza al oeste de la boca de la laguna en la zona de mezcla. Se aprecia abundancia de matorrales de duna y manglares de franja.
5	21°13'37.3"	89°53'42.5"	Se ubica en la zona de mezcla, al oeste de la laguna. Se encuentra cercana a un petén. En el sitio existe una mayor proporción de vegetación de tipo perenifolia y manglares de petén.
6	21°13'23.9"	89°53'50.4"	Se encuentra en la zona de mezcla, al oeste en una orilla donde existe una mayor proporción de arena fina depositada. En el lugar existe poca vegetación. se aprecia un olor característico de materia orgánica en descomposición.
7	21°13'13.4"	89°53'52.5"	Se sitúa en la entrada del canal que conduce al cenote. Donde existe una abundancia de manglares de cuenca baja y matorrales.
8	21°13'08.11"	89°53'45"	Localizada en el canal del cenote. Se aprecian diferentes tipos de manglares de cuenca baja, alta y algunas plantas vasculares.
9	21°13'8.25"	89°53'45.3"	Ubicada en el ojo de agua. Existe abundante vegetación de tipo de manglares de cuenca alta y plantas vasculares
10	21°13'50.8"	89°53'11.6"	Se localiza en la entrada de agua de mar, en el costado este del islote que se encuentra frente a la boca. No hay vegetación cercana.
11	21°13'47.9"	89°52'52.7"	Se sitúa en medio de la zona al este del islote. Cercana a un peten y con presencia de manglares.
12	21°13'56.9"	89°52'53"	Se encuentra en zona ubicada al este de la boca cerca del costado interior de la isla de barrera que separa la ciénega del mar., Donde hay presencia de manglares de franja y peten.

Las mediciones que se realizaron en el sitio fueron las siguientes:

Tabla 8. Mediciones realizadas de los parámetros fisicoquímicos en el área de estudio.

MEDICIÓN	UNIDADES
Altura de la columna de agua	cm
Oxígeno	mg/L
% de saturación de oxígeno	
pH	
Salinidad	psu (°/°)
Temperatura del agua	°C
Sólidos disueltos totales (SDT)	g/L
Velocidad del viento	km/hr
Humedad relativa	%
Temperatura ambiente	°C

La recolección de las muestras de sedimentos se realizó tomando la capa superficial (0 - 5 cm). Las muestras fueron depositadas en recipientes de plástico (PET) con capacidad de un litro previamente lavados con agua destilada. En cada estación de muestreo los frascos se enjuagaron tres veces con el agua del sitio, se taparon y se llevaron al fondo, donde se abrieron para recoger por arrastre el sedimento que se encuentra en la capa superficial (0 - 5 cm) y una vez llenos se cerraron y se conservaron en hielo hasta su arribo al laboratorio de la Unidad de Química de la Facultad de Química en Sisal, se almacenaron a 4°C.

8.3 Conservación de las muestras

En el transcurso de las 24 horas siguientes al día de recolección, se separó la fracción sólida del agua interparticular por centrifugación a 4990 rpm durante 10 min. El agua se decantó y la fracción sólida se depositó en charolas de aluminio y se congeló a -20°C para evitar su descomposición por degradación microbiana o química y prepararla para liofilizar. Las muestras congeladas se liofilizaron, molieron y tamizaron en una malla de 0.5 mm. El sedimento tamizado envuelto con papel aluminio se empaquetó en bolsas de plástico con sello hermético para nuevamente almacenarlas en congelación a -20°C hasta su procesamiento posterior.

8.4 Granulometría de los sedimentos

La determinación de la granulometría se realizó con los sedimentos correspondientes al mes de diciembre de las estaciones (1 – 8) y (10 - 12), para la determinación de la estación 9 fue utilizado sedimento del mes de febrero. Para cada una de las estaciones el procedimiento fue el mismo y se realizó por separado para cada estación.

Se pesaron 50 g de sedimentos. Una vez pesadas las muestras se pasaron por tamices con luz de malla de 4000 μm , 2000 μm , 500 μm , 250 μm , 155 μm y 63 μm .

Una vez separadas las fracciones por tamaño de grano, se pesó cada una de las fracciones.

8.5 Determinación del porcentaje de carbono orgánico total (%COT)

Se determinó el COT en las muestras de sedimento por el método de oxidación húmeda de Walkley-Black con dicromato de potasio y ácido sulfúrico concentrado. Se utiliza nitrato de plata para eliminar la interferencia de los cloruros. El carbono orgánico reduce los iones Cr(VI) del dicromato inicial a iones Cr(III) y se valora el exceso de dicromato de potasio con sulfato ferroso (Byers, 1978). Cada muestra se analizó por duplicado. El procedimiento en detalle consiste en:

Pesar con exactitud entre 0.05 - 0.75 g de sedimento liofilizado y transferirlo a un matraz Erlenmeyer de 500 mL, agregar 10 mL de la solución 1 N de dicromato de potasio y 20 mL de una solución de sulfato de plata 0.08 M. Agitar cuidadosamente la mezcla durante un minuto, evitando que el sedimento se adhiera a las paredes del matraz y dejar reposar durante 30 minutos, agitando esporádicamente. Añadir 200 mL de agua destilada, 10 mL de ácido fosfórico concentrado y 1 mL de de difenilamina 0.025 M como indicador. Se titula con sulfato ferroso 1 N manteniendo agitación constante. El punto final de la valoración es cuando el color vira de azul marino oscuro a verde.

8.6 Extracción de la MO en el aparato Soxhlet (ES)

Para este procedimiento se utilizaron condiciones de operación de uso general para la extracción de compuestos orgánicos de sedimentos (EPA 3540). El procedimiento en detalle consiste en:

En un matraz de bola de 250 mL se agregan 125 mL de diclorometano y algunas perlas de ebullición. En un cartucho de celulosa se colocan 20 g del sedimento liofilizado pesado con exactitud y se compactan con un golpeteo suave para asegurar una distribución homogénea del disolvente. El cartucho con la muestra se coloca dentro de la camisa de extracción y se arma el aparato con el refrigerante para realizar los ciclos de reflujo. Se calienta el matraz y se mantienen los ciclos de extracción durante 8 hrs a partir del inicio de la ebullición. Una vez concluida la extracción, se enfría la solución a temperatura ambiente y se elimina el disolvente en un evaporador rotatorio calentando con un baño de agua (60°C) y presión reducida (723.06 torr).

8.7 Extracción de la MO asistida por microondas (EMO)

El procedimiento se basó en el recomendado por la Environmental Protection Agency de los Estados Unidos para la extracción de compuestos orgánicos de sedimentos (EPA 3546), que en términos generales es el siguiente:

En la camisa portamuestras se colocan 10 g del sedimento liofilizado, pesados con exactitud, un elemento de agitación y 35 mL de una mezcla hexano / acetona en proporciones iguales. Se extrae la muestra siguiendo las instrucciones de operación del equipo de microondas, utilizando las siguientes condiciones:

Potencia: 800 watts

Tiempo para alcanzar la temperatura de extracción: 5 min

Temperatura de extracción: 110°C

Tiempo de extracción: 20 min

Tasa de cambio de presión: 0.5 bar s⁻¹

Tiempo total: 45 min

La solución obtenida se transvasa a un matraz de bola de fondo plano, el sedimento se lava por dos veces con 15 mL de la mezcla hexano: acetona, se combinan los lavados con la solución de extracción. Se elimina el disolvente en un evaporador rotatorio a 60°C y 417.03 torr de presión.

8.8 Silanización de la MO no saponificable (neutra)

Para realizar el análisis por CG de los esteroides es conveniente formar los derivados silil-éter de los grupos hidroxilo de los alcoholes. Se estudió el efecto del tiempo de reacción utilizando los lípidos no saponificables de MO obtenidos por saponificación asistida por calor, como se describe más adelante. El procedimiento que se describe a continuación se basó en las condiciones de uso general (Volkman, 1986).

La MO neutra obtenida se redisuelve con 1 µL de diclorometano y se añaden 200 µL de bis-silil-trimetil-trifluoro-acetamida (BSTFA). Se cierra el vial firmemente y se coloca en un baño ultrasónico a 60°C. La reacción se deja transcurrir durante 30 min

8.9 Saponificación asistida por calor de la MO extraída

Se utilizó un procedimiento general para la saponificación de lípidos que se utiliza rutinariamente en el laboratorio que consiste en:

En un vial de 15 mL que contiene el extracto de MO se agrega 1 mL de diclorometano y 1 mL de KOH/MeOH (20%). Se calentó la muestra a 80°C por una hora. Una vez terminada la saponificación

se agregan 5 mL de una mezcla de agua con sal al 20% y 5 mL de hexano. Se agita por 1 min, se deja reposar y se separa la fase orgánica de la fase acuosa. La fase acuosa se lava con 2.5 mL hexano. Al extracto combinado se añaden 0.5 g de sulfato de sodio anhidro, se agita vigorosamente se deja sedimentar y se decanta el sobrenadante. El disolvente se evapora con una corriente suave de nitrógeno hasta sequedad.

El análisis de los esteroides se realizó por CG – EM con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente. Los derivados sililados se formaron con el procedimiento que se describe en el inciso 8.8, utilizando un tiempo de reacción de 30 min.

8.10 Saponificación asistida por microondas de la MO directamente en los sedimentos

Para estudiar la aplicabilidad de este procedimiento se diseñó el siguiente experimento:

En una camisa portamuestras se ponen 10 g de sedimento, pesados con exactitud, se añade un elemento de agitación magnética y 8 mL de KOH/MeOH (20%). Se extrae la muestra siguiendo las instrucciones de operación del equipo de microondas, utilizando las condiciones descritas en el inciso 8.7. Se estudió el efecto de la temperatura, el tiempo y la concentración de KOH, con un experimento de dos niveles como se muestra en la Tabla 9:

Tabla 9. Valores de temperatura, tiempo y concentración de KOH estudiados para la saponificación asistida por microondas de la MO directamente en los sedimentos.

Variable	Nivel	
	Alto	Bajo
Tiempo (min)	60	15
T (°C)	120	45
Concentración de KOH (%)	20	10

En cada uno de los casos, una vez terminada la saponificación se decanta la solución a un vial de 15 mL y se sigue el procedimiento de extracción de los lípidos no saponificables descrito en el inciso 8.7. El análisis de los esteroides se realizó por CG – EM con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente. Los derivados sililados se formaron con el procedimiento que se describe en el inciso 8.8, utilizando un tiempo de reacción de 30 min.

8.11 Análisis de los esteroides por CG-EM

Los análisis del producto de reacción de sililación, tanto de los estándares como de las muestras de MO no saponificable se realizaron por cromatografía de gases con inyección automática bajo las siguientes condiciones:

Tabla 10. Condiciones de inyección del CG con inyección automática.

Inyector	Volumen	3 μ L
	Modo	Sin división de flujo ("split-less"), 1 min
	Temperatura	250°C
Columna	Programa de temperatura	150°C, 1 min; 20°C min ⁻¹ ; 250°C; 2.5°C min ⁻¹ ; 300°C, 14 min
	Gas transportador	He, 0.8 mL min ⁻¹
	Línea de transferencia	280°C

Para el análisis por EM en modo SIM y SCAN se utilizaron las siguientes condiciones para identificar los analitos en todas las muestras:

Detección en modo barrido total del espectro (SCAN) de 50 a 500 m/z. En modo monitoreo selectivo de iones (SIM) se utilizó el ion 129 m/z.

La identidad de los esteroides se estableció por comparación de los tiempos de retención obtenidos al analizar los estándares y/o identificación por comparación de los espectros de masas utilizando la base de datos y el software de búsqueda del instrumento de NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. Versión 2.0 build, Dec 2005.

8.12 FTIR-ATR de la MO

Se realizaron pruebas preliminares para establecer las condiciones más apropiadas para obtener un espectro útil de la materia orgánica sedimentada. Básicamente se compararon los resultados que se obtienen aplicando directamente sobre la celda ATR la muestra sólida liofilizada y tamizada, el extracto orgánico en solución y restando el espectro del disolvente, y evaporando el disolvente sobre el cristal de la celda ATR de modo que se obtiene una película homogénea de la MO libre de disolventes. El criterio principal para seleccionar el procedimiento más apropiado fue la claridad con la que se observan y se puede medir absorbancia de bandas características de interés, principalmente las de los grupos metilo, metileno y carbonilo. Para todas las pruebas se utilizó un equipo de FTIR-ATR con las siguientes condiciones:

Tabla 11. Condiciones de operación del equipo de FTIR-ATR.

Parámetro	Valor
Intervalo de barrido	(4400 – 650) cm ⁻¹
Número de espectros acumulados	100
Resolución	4 cm ⁻¹
Intervalos	2 cm ⁻¹

Se integró, como área bajo la curva, la absorbancia total de las bandas de los grupos seleccionados que se indican a continuación:

Tabla 12. Grupos funcionales detectados por FTIR-ATR en las muestras.

Grupo funcional	No de onda del máximo	Tipo de vibración	Intervalo de integración
OH	3376	Vibraciones de alargamiento de -OH de alcoholes y fenoles.	3600.58-3102.57
CH ₃	2964	Vibraciones de alargamiento de grupos funcionales (-CH ₃) de n-alcanos.	3012.27-2883.27
CH ₂	2868	Vibraciones de alargamiento de grupos metilenos de n-alcanos.	2879.20-2817.42
CO	1730	Vibraciones de alargamiento C=O. Esta banda puede ser asignada a los siguientes grupos funcionales: ácido carboxílico, ésteres, aldehídos o cetonas.	1760.36-1686.81
CH ₃	1463	Vibraciones de flexión de grupos metilos (-CH ₃) de n-alcanos.	1473.28-1425.83
CH ₂	1359	Vibraciones de flexión de grupos metilenos (-CH ₂) de n-alcanos.	1392.61-1345.16
CO	1238	Esta banda puede ser asignada a los siguientes grupos funcionales: 1. Vibraciones de alargamiento C-O de alcoholes o fenoles. 2. Vibraciones de alargamiento C-O-C de éteres. 3. Vibraciones de alargamiento C-O de esteroides.	1245.51-1198.06

De los resultados iniciales se decidió seguir el siguiente procedimiento para el análisis de la MO:

El extracto de MO que resulta del procedimiento con microondas se reconstituye con 2 mL de la mezcla hexano:acetona 1:1, un alícuota de 1 mL se coloca en la celda de ATR y se evapora el exceso de disolvente con una corriente suave de N₂ hasta obtener una película homogénea y libre del disolvente. Esta película se analiza en el equipo de FTIR-ATR.

Para establecer el tiempo mínimo necesario para eliminar el disolvente en su totalidad y evitar interferencias con el procedimiento descrito se analizó una muestra (B4, Abril 2009) utilizando los tiempos evaporación de: 0, 15, 30, 45 y 60 min, en cada caso se utilizó una submuestra nueva.

Para determinar la linealidad del procedimiento se realizó el siguiente experimento:

Del extracto de la MO (B11, Febrero 2010) reconstituido en 2 mL de la mezcla de disolventes se analizó una alícuota de 1 mL y el mL restante se diluyó a la mitad añadiéndole 1 mL de la mezcla de disolventes. Esto se repitió dos veces más de forma que se obtuvieron y analizaron 4 soluciones con concentraciones relativas de MO de 8:4:2:1.

Con base en los resultados se seleccionó la extracción asistida por microondas combinada con la saponificación asistida por calor como tratamiento previo de las muestras para el análisis, tanto por CG-EM como por FTIR. El procedimiento es el que se muestra en la Figura 12.

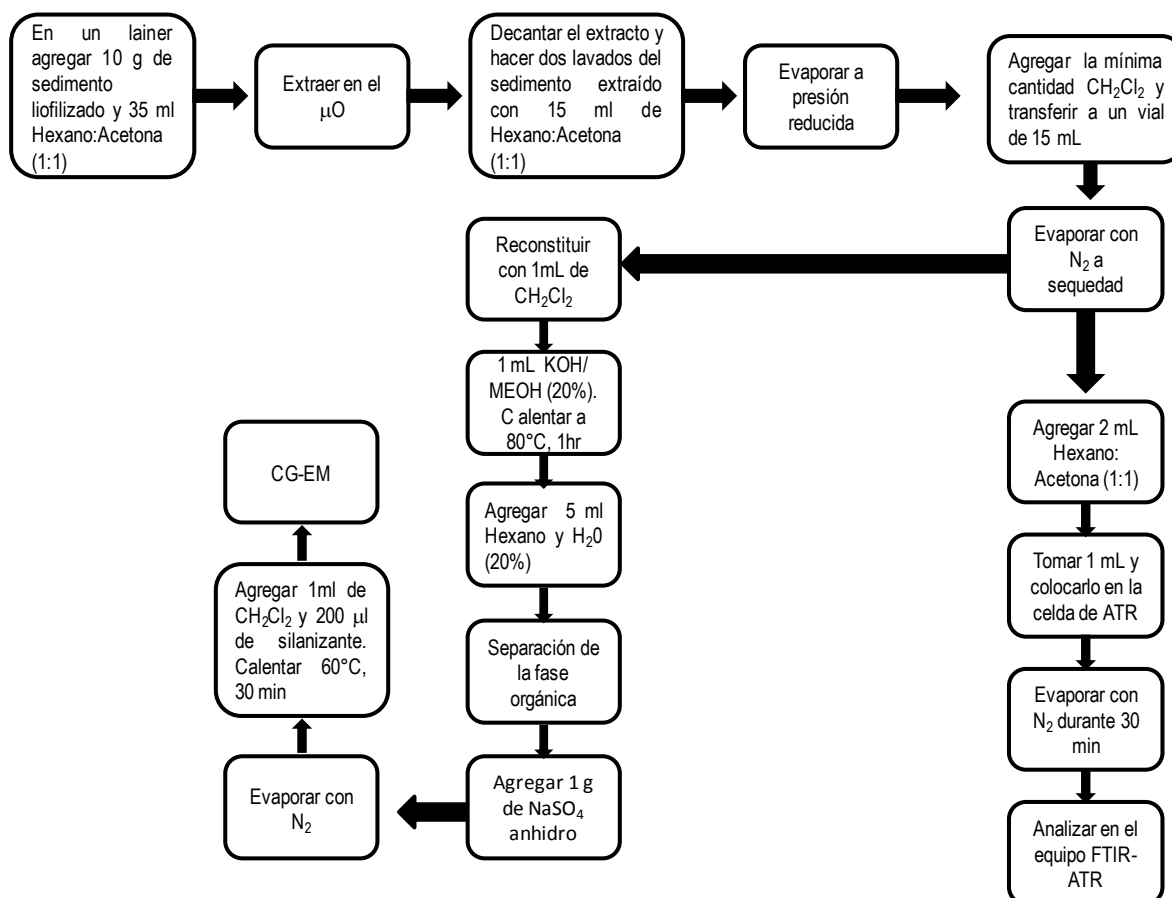


Figura 12. Diagrama de flujo del procedimiento de análisis de las muestras de sedimento.

8.13 Evaluación de la repetibilidad del procedimiento seleccionado

Para evaluar la repetibilidad del procedimiento seleccionado se realizaron los siguientes experimentos:

Repetibilidad total: análisis de 3 submuestras de 10 g de sedimento de la muestra B5 de septiembre del 2009 siguiendo el procedimiento y las condiciones descritas en el apartado anterior.

Repetibilidad del proceso a partir de la saponificación: se obtuvo un extracto de la MO de la estación B6 del mes de septiembre del 2009, se dividió en 3 alícuotas iguales y se continuó para cada una con el procedimiento descrito en el apartado anterior a partir del proceso de saponificación.

9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

9.1 Evaluación de alternativas analíticas

9.1.1 Extracción asistida con microondas y con Soxhlet de la materia orgánica de los sedimentos

El objetivo de esta parte fue hacer una comparación entre la extracción asistida por microondas y el método convencional de extracción con Soxhlet para la extracción de materia orgánica en sedimentos, con el fin de disponer de un procedimiento más rápido y con menos gasto de disolvente. Las condiciones experimentales son las que se describen en las secciones 8.6 y 8.7. En la Tabla se presentan las características operativas que se utilizaron con cada técnica. Para las dos técnicas se compararon la cantidad de MO extraída y la composición de esteroides.

Tabla 12. Características operativas utilizadas para la extracción asistida por microondas y la extracción con Soxhlet.

	Soxhlet	Microondas
Muestra (g)	20	10
Tiempo de extracción (min)	480	45
Disolvente	Diclorometano	Hexano:Acetona (1:1)
Cantidad de disolvente (mL)	125	35
Número de muestras simultáneas ¹	6	16

Nota¹: Número máximo de muestras que se pueden analizar simultáneamente con el equipo disponible en el laboratorio.

La cantidad de MO extraída se determinó como porcentaje del COT, valorando los sedimentos antes y después de realizar la extracción y calculando el recobro ($\%R$) con la relación:

$$\%R = \frac{(\%COT_i - \%COT_f)}{\%COT_i} 100$$

Donde $\%COT_i$ y $\%COT_f$ son, respectivamente, los valores de $\%COT$ en los sedimentos antes y después de realizar la extracción. Antes de valorar el COT remanente después de realizar la extracción se eliminó el disolvente residual por evaporación. Para esta evaluación se utilizaron submuestras de los sedimentos de las estaciones B1 a B11 del mes abril. Los resultados se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Comparación de la cantidad de materia orgánica extraída con Soxhlet y asistida con microondas de las muestras del mes de abril. $\%R_s$ y $\%R_m$ son respectivamente los porcentajes (recobro) del COT extraídos.

Muestra	% Recobro			Diferencia $\%R_m - \%R_s$
	$\%COT_i$	$\%R_s$	$\%R_m$	
B1	0.55	86.0	92.1	6.1
B2	0.86	71.8	82.5	10.7
B3	1.47	47.3	75.6	28.3
B4	2.18	25.1	94.5	69.4
B5	1.91	87.4	52.9	-34.5
B6	9.15	96.4	100.0	3.6
B7	9.15	95.1	90.2	-4.9
B8	8.33	97.3	96.4	-0.9
B9	4.79	88.9	87.5	-1.4
B10	1.76	52.8	57.5	4.7
B11	6.40	94.8	96.1	1.3
Prueba t para medias de dos muestras pareadas			Estadístico t	0.982
H ₀ : $\mu_m = \mu_s$			Prob(t>0.982)	0.175
H ₁ : $\mu_m > \mu_s$				

A partir del contraste estadístico para la comparación de las medias de dos muestras emparejadas (Tabla 13) se concluye que en conjunto no hay una diferencia significativa entre los rendimientos de extracción de MO con ambos procedimientos, la hipótesis de medias iguales solo puede rechazarse para un nivel de significancia menor del 82.5%. Sin embargo, al observar los casos particulares de cada punto de muestreo (Figura 13) las diferencias son importantes en las estaciones 3, 4 y 5. Esto pudiera estar relacionado con las características específicas de este grupo de estaciones, que como se verá más adelante corresponden a la zona de mezclado del agua de origen marino con la que proviene del acuífero, que inciden en las características químicas de la composición de la MO de los sedimentos.

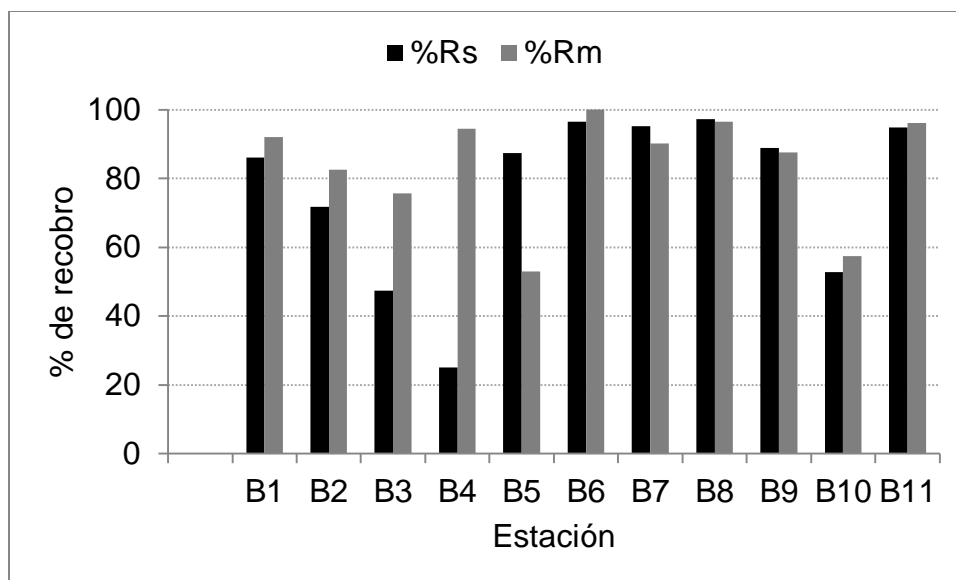
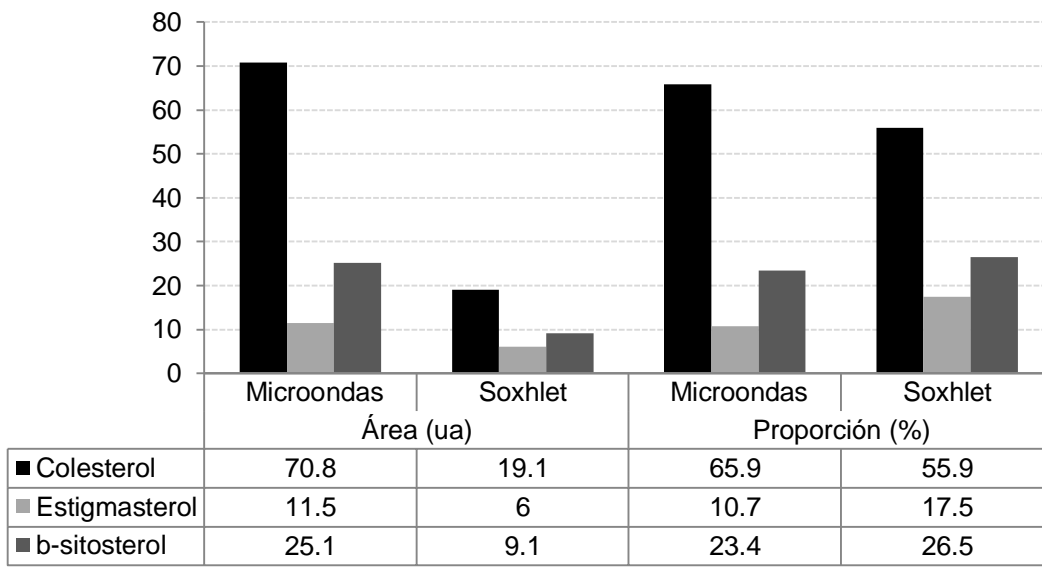


Figura 13. Materia orgánica extraída con Soxhlet y asistida con microondas de las muestras del mes de abril. $\%R_s$ y $\%R_m$ son respectivamente los porcentajes (recobro) del COT extraídos.

Para estudiar si las diferencias en la extracción con cada técnica se reflejan también en la composición de los esteroides se analizaron los esteroides en los extractos obtenidos con la muestra B3. Para ello se siguieron los procedimientos descritos en las secciones 8.6, 8.7 y 8.8. En este análisis se consideraron exclusivamente los esteroides más abundantes: colesterol, estigmasterol y β -sitosterol. En la Figura 14 se presentan los resultados, expresados tanto en área de cada pico cromatográfico como en la proporción relativa entre ellos.



Prueba t para medias de dos

muestras pareadas:

$H_0: \mu_m = \mu_s$

$H_1: \mu_m > \mu_s$

$t_{\text{calc}}=1.75$

$P(t_{\text{calc}}>t)=0.11$

$t_{\text{calc}}=0.007$

$P(t_{\text{calc}}>t)=0.50$

Figura 14. Composición de los esteroides colesterol, estigmasterol y β -sitosterol de la MO extraída de muestra B3 del mes con microondas y en Soxhlet. Las áreas son las que arroja el software de integración del equipo divididas por un factor de 10^4 . La proporción corresponde al porcentaje de cada área considerando la suma de las tres áreas como 100%.

En congruencia con lo que se observa para el rendimiento de extracción de la MO para esta estación, la cantidad de los esteroides extraída con microondas es mayor, por un factor de tres, que la extraída con Soxhlet. Por otra parte, la composición relativa de los esteroides no es significativamente diferente entre las dos técnicas de extracción. A diferencia del Soxhlet, la extracción con microondas permite utilizar mezclas de disolventes y así tener un medio apropiado para extraer tanto lípidos polares como no polares, que puede ser la razón de la diferencia de cantidad extraída que se observa en esta estación. Cabe resaltar, que la eficiencia de extracción parece no incidir en la composición relativa.

Considerando estos resultados y los factores operativos: la cantidad de muestra necesaria es menor por un factor de 2, el consumo de disolvente se reduce a la cuarta parte y el tiempo disminuye en 10 veces; la extracción con microondas es un procedimiento apropiado para los fines de este trabajo.

9.1.2 Saponificación

9.1.2.1 Saponificación asistida con temperatura

Este experimento se realizó con el fin de establecer el tiempo para completar la reacción de saponificación con esta técnica. Se realizó siguiendo el procedimiento que se describe en la sección 8.9 la saponificación variando el tiempo del calentamiento (1, 3 y 6 horas) con submuestras de la muestra B4 del mes de abril de 2009. Los resultados se presentan en la Figura 15:

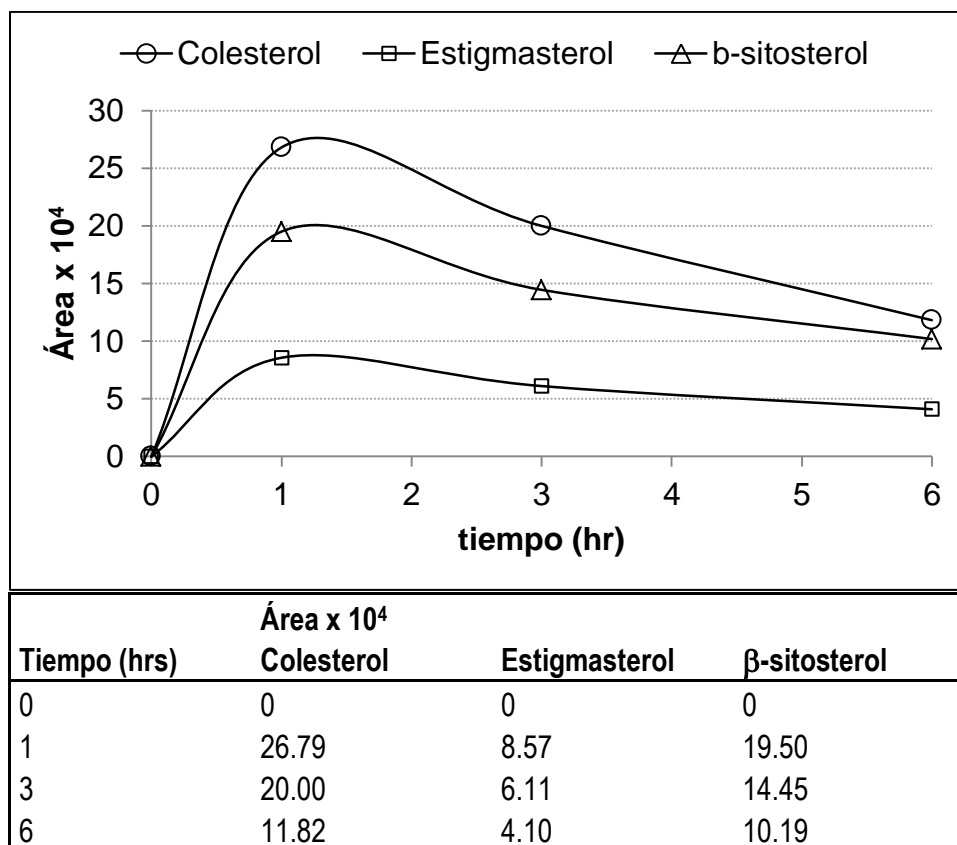


Figura 15. Áreas cromatográficas de los esteroides vs tiempo de saponificación asistida por temperatura (80°C) para submuestras de la estación B4 de abril del 2009.

Se observa que en todos los casos el valor máximo se alcanza en una hora, que es cuando se obtiene la mayor área, y a partir de ese tiempo disminuyen las áreas, indicando la posible descomposición de los esteroides por el tratamiento alcalino. En la Figura 16 se presentan los resultados expresados como composición relativa de los tres esteroides, calculada como:

$$X = \frac{\text{Área}_x}{\sum \text{Área}_i}$$

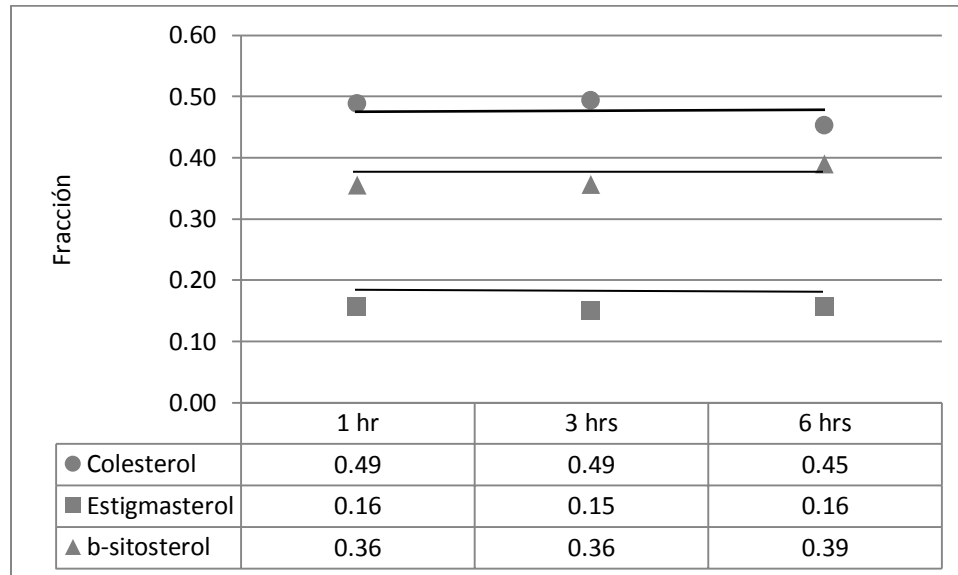


Figura 16. Áreas relativas de los esteroides vs tiempo de saponificación asistida por temperatura (80°C) para submuestras de la estación B4 de abril del 2009.

Se observa que la composición relativa de los esteroides no se ve afectada por el tiempo de saponificación. Con base en estos resultados, para procesar las muestras de este estudio se decidió efectuar la saponificación a 80°C por una hora.

9.1.2.2 Saponificación asistida por microondas de la MO directamente en los sedimentos

La saponificación con microondas de los sedimentos se probó con el fin de obtener directamente un extracto donde se encuentren los esteroides libres, evitando la necesidad de la extracción previa de la MO. Los experimentos se realizaron con submuestras de dos estaciones distintas, B5 y B9 del mes de abril para comparar los resultados en matrices diferentes. Se estudió el efecto de los parámetros temperatura, tiempo y disolvente de extracción en un diseño de dos niveles (Tabla 14) lo que corresponde a 8 experimentos con cada una de las muestras, los detalles del procedimiento se señalan en la sección 8.10.

Es interesante presentar los datos de estos resultados, debido a que muestran diferencias significativas entre las muestras analizadas y permite ver la influencia de la matriz de los sedimentos. Con el fin de realizar la comparación entre esteroides y muestras eliminando el efecto de la concentración de cada esteroide y de la cantidad de COT se hizo el análisis calculando una variable estandarizada del área del parámetro (anomalías) a partir de las áreas cromatográficas individuales, de acuerdo a la relación:

$$X = \frac{(A_{x,\%T,t} - \overline{A_x})}{S_x}$$

Donde X es la variable reducida correspondiente al valor del área $A_{x,\%T,t}$ para cada una de las 8 condiciones experimentales del esteroide x, $\overline{A_x}$ es el área promedio del esteroide x de los 8 experimentos y S_x es la desviación estándar de esos 8 datos. Los datos expresados ya en forma de la variable estandarizada se presentan la Figura 17. Conforme el valor de la variable estandarizada es mayor el rendimiento de extracción de ese esteroide es mayor.

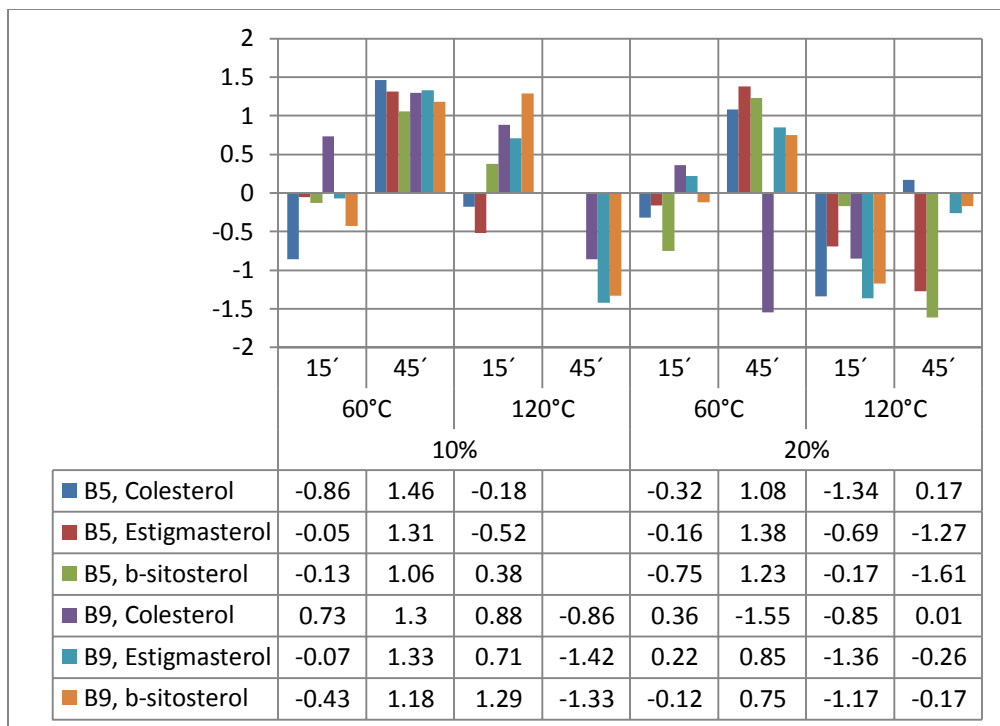


Figura 17. Valores estandarizados de las áreas cromatográficas obtenidas en cada una de las 8 condiciones experimentales de saponificación asistida con microondas. Submuestras de las estaciones B5 y B9 del mes de abril de 2009. Las variables experimentales son tiempo (min), temperatura y concentración (%) de KOH.

Estos resultados muestran que las condiciones más favorables son las de valor bajo para el porcentaje de KOH y la temperatura y alto para el tiempo. Cabe mencionar además que en estas condiciones los resultados son más homogéneos para los tres esteroides en las dos muestras. Esto se observa con más claridad en la Figura 18 donde se muestra el valor promedio y el error típico de todos los valores de la variable estandarizada de cada experimento. En las demás condiciones la saponificación es incompleta (valores bajos de los tres factores) o se producen reacciones indeseables de hidrólisis alcalina (valores altos de los tres factores). Adicionalmente, los efectos de tipo de esteroide y de muestra son muy importantes, lo que se refleja en el tamaño de las barras de error (desviación estándar) de la Figura 18.

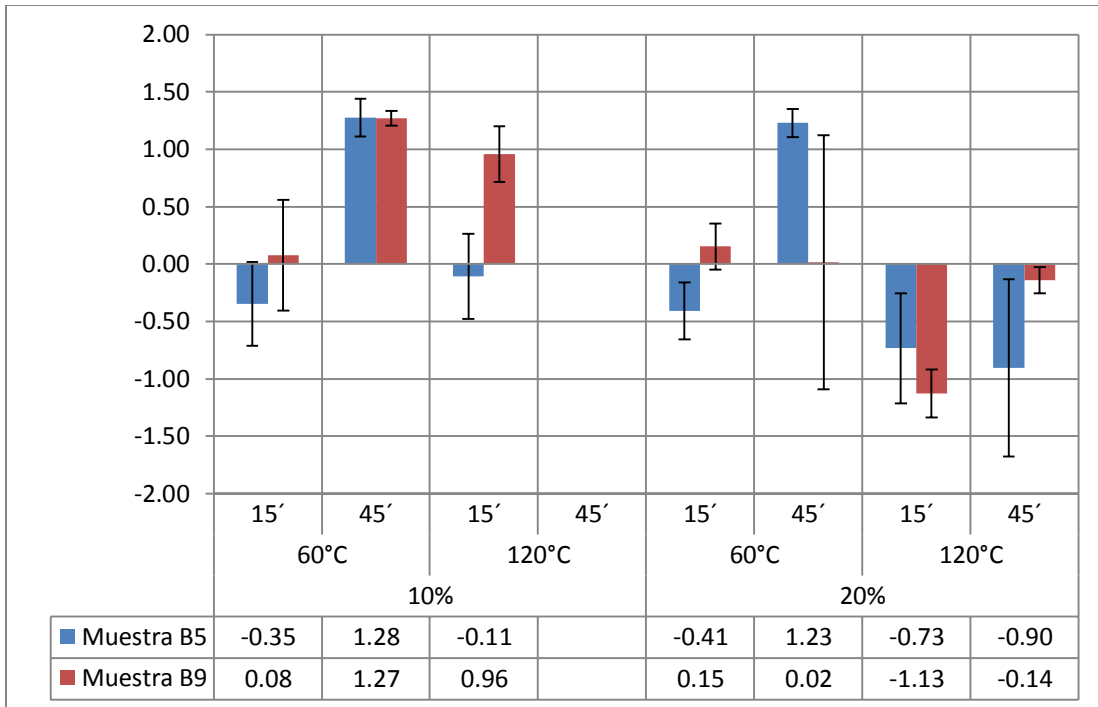


Figura 18. Promedio y error estándar de los valores de la variable estandarizada para cada una de las condiciones experimentales.

A pesar de que la saponificación de los sedimentos utilizando 10% de KOH, 60°C y 45 min parece ser adecuada, los resultados hacen pensar que el procedimiento no es suficientemente robusto para los fines de este trabajo.

9.1.3 Repetibilidad del procedimiento elegido para el análisis de los esteroides por cromatografía de gases.

A partir de los resultados descritos se decidió seleccionar como procedimiento para este trabajo el que se describe en la sección 8.12 y que esencialmente consiste en extraer la MO con microondas con una mezcla hexano:acetona, saponificar con temperatura, extraer la materia no saponificable con hexano, silanizar el extracto y analizarlo por CG-EM.

Siguiendo el procedimiento elegido (sección 8.13) se procesaron cuatro submuestras del sedimento colectado en el mes de septiembre en la estación B5 de septiembre del 2009. Nuevamente se estudiaron los esteroides colesterol, estigmasterol y β -sitosterol. En la Tabla 14 se presentan para la muestra B5 los datos del promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de cada uno de los tres esteroides, expresados tanto en valores de área, como de área relativa, considerando la suma de las tres áreas equivalente a uno. Se observa que el coeficiente de variación de las áreas absolutas es muy alto, mayor de 25%, pero no así el de las áreas relativas que es menor del 2%.

Tabla 14. Promedio (\bar{A}_x), desviación estándar (s) y coeficiente de variación (CV%) de las áreas absolutas y relativas de los esteroides analizados de las cuatro submuestras de la estación B5 de septiembre de 2009.

	Áreas			Áreas relativas			N
	\bar{A}_x	S	CV%	\bar{A}_x	s	CV%	
Colesterol	3074920	725023	23	0.452	0.0017	0.30	4
Estigmasterol	1079016	253947	23	0.159	0.0026	1.79	4
β -sitosterol	2651721	644018	24	0.389	0.0035	0.95	4

La fuente de variación más probable es la reacción de sililación ya que es muy sensible a la humedad residual al concentrar los extractos por evaporación. Se mejoraron estos procedimientos y se analizaron dos submuestras de la estación B2 del mes de junio. Los resultados que se muestran en la Tabla 15 indican que es fundamental secar cuidadosamente el extracto orgánico de la saponificación.

Tabla 15. Promedio (\bar{A}), desviación estándar (s) y coeficiente de variación (CV%) de las áreas absolutas y relativas de los esteroides analizados de las dos submuestras de la estación B2 de junio de 2009.

	Áreas			Áreas relativas			N
	\bar{A}	S	CV%	\bar{A}_x	S	CV%	
Colesterol	4270714	121657	2.8	0.574	0.009	1.5	2
Estigmasterol	1297307	104208	8.0	0.174	0.006	3.7	2
β -sitosterol	1875826	99696	5.3	0.252	0.002	0.9	2

Una vez corregido el procedimiento, se realizó una evaluación para verificar la influencia de la homogeneidad de la muestra y de la extracción con microondas en la repetibilidad, analizando tres alícuotas de un mismo extracto de la estación B6 del mes de abril del 2009. Los resultados se muestran en

la Tabla 16. Los resultados no difieren de los anteriores y por lo tanto se puede concluir que estos factores no son determinantes en la repetibilidad de los resultados. Con coeficientes de variación menores del 10% para las áreas absolutas y menores al 5% para las áreas relativas se puede aceptar el procedimiento propuesto.

Tabla 16 Promedio (\bar{A}), desviación estándar (s) y coeficiente de variación (CV%) de las áreas absolutas y relativas de los esteroides analizados de las tres alícuotas del extracto de la estación B6 de abril de 2009.

	Áreas			Áreas relativas			N
	\bar{A}	S	CV%	\bar{A}_x	S	CV%	
Colesterol	13229503	712426	5.4	0.255	0.006	2.2	3
Estigmasterol	10293463	199549	1.9	0.199	0.004	1.9	3
β -sitosterol	28342716	798181	2.8	0.547	0.002	0.4	3

9.2 FTIR-ATR de la MO

Se realizaron pruebas preliminares para establecer las condiciones más apropiadas para obtener un espectro útil de la materia orgánica sedimentada. Básicamente se compararon los resultados que se obtienen aplicando directamente sobre la celda ATR la muestra sólida liofilizada y tamizada, y aplicando al cristal de ATR una película de la MO libre de disolventes. El criterio principal para seleccionar el procedimiento más apropiado es la claridad con la que se observan las bandas de absorción características y medir su absorbancia máxima.

En la Figura 19 se muestra un espectro típico del sedimento puesto directamente en la celda de ATR. Es claro que las bandas de absorción de los grupos funcionales orgánicos están enmascaradas por las de las sustancias húmicas y de la matriz inorgánica. Es inevitable entonces trabajar con la materia orgánica extraída con disolventes. Aunque existe la posibilidad de obtener el espectro de la MO disuelto en el medio de extracción y restar el espectro del disolvente, es una opción desfavorable. Aprovechando la gran diferencia de volatilidad entre la MO de los sedimentos y los disolventes usuales, el procedimiento de elección fue aplicar una cantidad de una solución de la MO orgánica extraída a la celda de ATR y evaporar hasta sequedad. Con este procedimiento obtenemos una película de MO que tiene un área constante (la de la celda de ATR) y un espesor directamente proporcional a la concentración de MO en la solución:

$$d_f = \frac{m_s \times MOE_{\%} \times V_s}{V_0 \times d_{MOE} \times A_{ATR} \times 100}$$

Donde:

d_f es el espesor de la película que queda en la celda de ATR después de evaporar el disolvente.

m_s es la masa de sedimento de la que se extrajo la MO.

$MOE_{\%}$ es la cantidad de MO extraída expresada como porcentaje de la masa de sedimento.

d_{MOE} es la densidad de la MO extraída, que para fines prácticos se puede considerar constante.

V_0 y V_s son respectivamente el volumen en el que se encuentra disuelta la MO extraída y el de la alícuota que transfiere a la celda de ATR

A_{ATR} es el área de la celda de ATR que es constante.

Puesto que el procedimiento (sección 8.12) es el mismo para todas las muestras m_s , V_0 y V_s son constantes y entonces el d_f es directamente proporcional al porcentaje de MO extraíble presente en el sedimento.

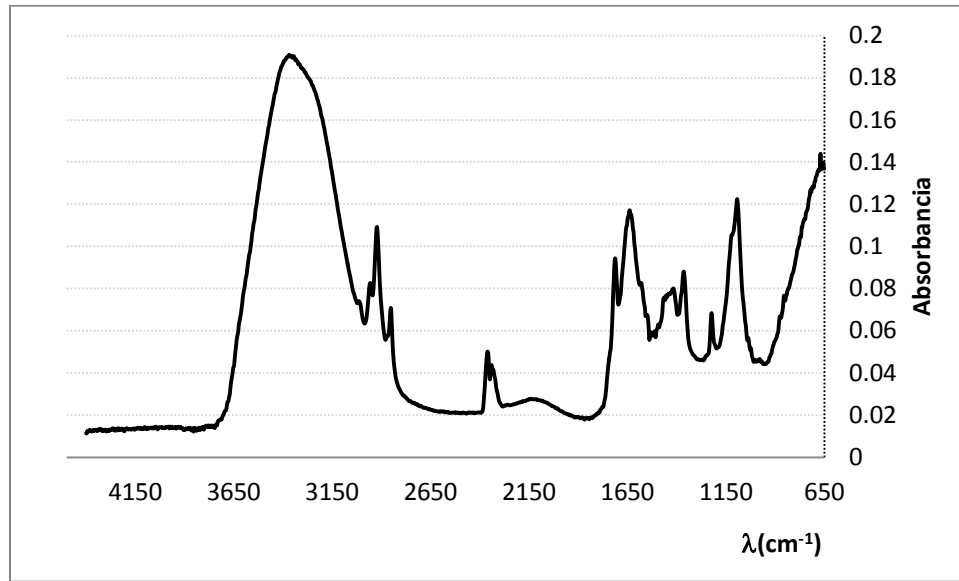


Figura 19. Espectro de infrarrojo típico del sedimento puesto directamente en la celda de ATR.

9.2.1 Evaluación de la influencia del disolvente en la muestra sobre la celda de ATR

Con el fin de evitar la interferencia del disolvente en el análisis de la muestra se estudió el tiempo de secado necesario después de aplicar en la celda ATR la solución obtenida en la extracción asistida por microondas. Para ello, se agregó un ml de la solución sobre la celda de ATR, se secó bajo corriente de nitrógeno durante el tiempo especificado en cada experimento individual y se obtuvo el espectro correspondiente. Los tiempos evaluados fueron: 0, 9, 15, 30, 45 y 60 min. En cada caso se utilizó una submuestra de la misma solución.

A partir de los espectros se obtuvo la absorbancia de las bandas de los grupos funcionales seleccionados con base en los que corresponden al disolvente utilizado (Tabla 17).

Tabla 17. Grupos funcionales seleccionados para evaluar el tiempo de eliminación del disolvente del extracto obtenido con microondas para el análisis por FTIR-ATR de las muestras.

No. de onda (cm ⁻¹)	Grupo Funcional	Tipo de Vibración
2964	CH ₃ (metilo)	Alargamiento del enlace C-H en los metilos del hexano y la acetona. También se encuentra presente en la MOE.
2868	CH ₂ (metileno)	Alargamiento del enlace C-H en los metilenos del hexano. También se encuentra presente en la MOE.
1730	C=O (carbonilo)	Alargamiento del enlace C=O de la acetona. También se encuentra presente en la MOE.

Los resultados se muestran en la Tabla 18 y en la Figura 20. Se observa claramente que conforme el disolvente se evapora la absorbancia de las bandas de los grupos funcionales de la acetona (CH₃, y C=O) y del hexano (CH₃ y CH₂) disminuye hasta alcanzar valores constantes, que corresponden a la absorbancia de esos grupos funcionales en los compuestos lipídicos que constituyen la MOE. Estos resultados muestran que 30 min de secado bajo corriente de N₂ a T ambiente son suficientes para eliminar totalmente el disolvente.

Tabla 18. Absorbancias de los grupos funcionales seleccionadas para evaluar el tiempo de evaporación del disolvente.

Tiempo de secado (min)	CH ₃	CH ₂	C=O
0	0.62	0.33	2.16
15	0.16	0.14	0.1
30	0.14	0.14	.06
45	0.23	0.14	.05
60	.22	0.14	.04

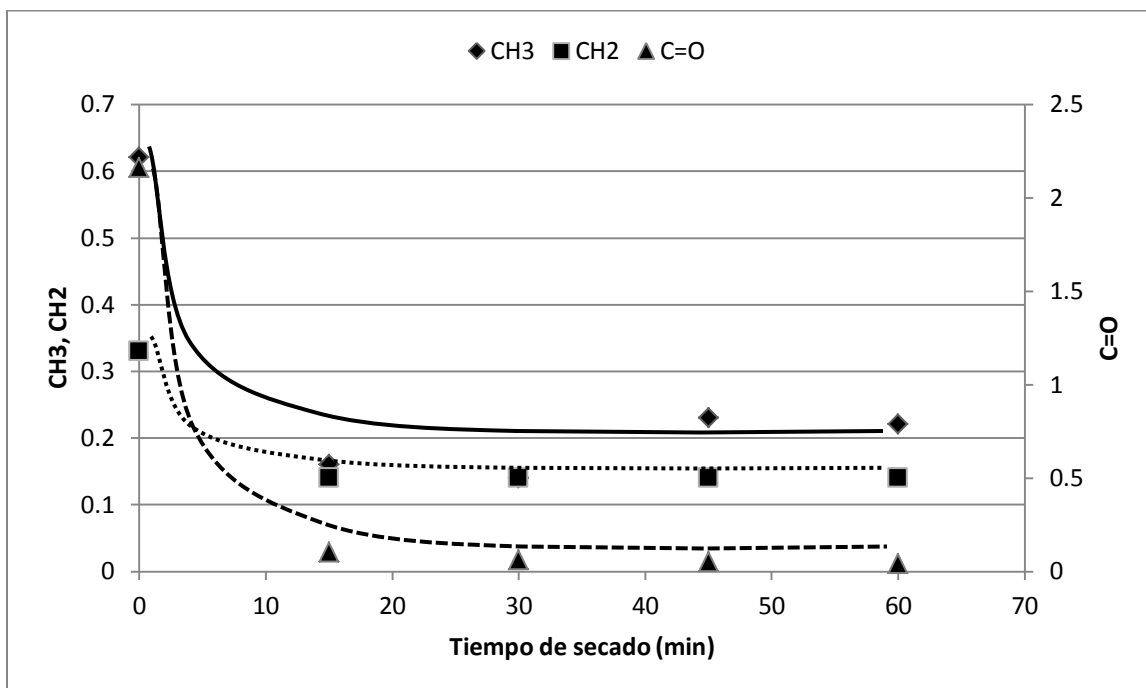


Figura 20. Tiempo de secado necesario para eliminar el disolvente de extracción en la celda ATR del FTIR.

9.2.2 Evaluación de la linealidad de la absorbancia en la determinación cuantitativa de los grupos funcionales por FTIR-ATR

A partir de la solución obtenida en la extracción asistida por microondas de una muestra se prepararon 3 soluciones adicionales (sección 8.12) de forma que la concentración relativa entre ellas es de 8, 4, 2, 1. Como las muestras son mezclas complejas de composición variable y la posición exacta de los máximos de absorción depende de diversos factores, tales como la identidad específica del compuesto y de las interacciones entre moléculas vecinas, para este experimento y todos los siguientes se decidió medir las absorbancias con la integración del área de la banda de absorción de cada grupo funcional. Los resultados se muestran en la Tabla 19 y en la Figura 21 se ilustra el comportamiento lineal con la suma de las absorbancias de los grupos seleccionados.

Tabla 19. Linealidad de la absorbancia en función de la concentración del extracto de MO en el disolvente de extracción. Absorbancias (áreas) de los grupos funcionales seleccionados y coeficientes de correlación.

Grupo funcional					
C relativa	CH ₃	CH ₂	C=O	CH ₂	Suma
8	29.79	11.11	5.19	9.50	55.58
4	14.12	5.46	2.57	3.76	25.91
2	4.77	1.30	0.62	1.47	8.16
1	2.61	0.78	0.36	0.85	4.60
Coef. corr. (r)	0.998	0.995	0.995	0.995	0.997

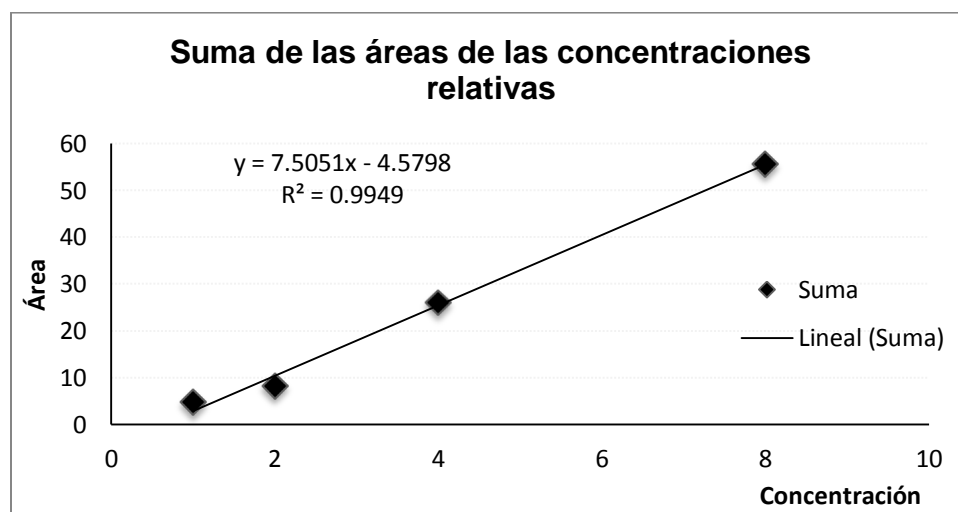


Figura 21. Gráfica de correlación de las sumas de las áreas de las concentraciones relativas. Los coeficientes de correlación (r) para los grupos funcionales seleccionados y para la suma de las áreas (absorbancia) son mayores de 0.99, lo que indica que en el orden de concentración con que se obtiene el

extracto la respuesta es lineal. Como se indicó anteriormente, el espesor de película en la celda ATR es proporcional al porcentaje de MO extraíble en la muestra; por lo tanto, estos resultados muestran que al menos en el intervalo estudiado la absorbancia varía linealmente con el espesor de película y entonces es directamente proporcional a la cantidad de materia orgánica extraída y a la concentración de los grupos funcionales en ella.

9.2.3 Evaluación de la repetibilidad de la determinación por FTIR-ATR

Para evaluar la repetibilidad del procedimiento (sección 8.12) se tomó una muestra al azar (estación B4 del mes de abril de 2009) y se analizaron cuatro submuestras independientes. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 20, donde se muestran los valores del coeficiente de variación (CV%).

Tabla 20. Coeficiente de variación (CV%) calculado para las absorbancias absolutas (A_x) y relativas respecto a la absorbancia del grupo metilo (A_{CH_3}), la suma de las absorbancias de los grupos seleccionados (A_s) y la absorbancia total del espectro (A_T). $\overline{CV\%}$ es el promedio de los cinco grupos funcionales seleccionados ($n=4$).

Grupo	CV%			
	A_x	A_{CH_3}	A_s	A_T
OH	22.9	12.4	9.9	8.7
CH ₃	12.2		3.2	2.8
CH ₂	13.7	10.0	9.0	7.9
C=O	15.4	4.2	3.2	2.8
CH ₂	14.2	2.7	2.1	1.8
ΣA_x	14.4	3.2		
$\overline{CV\%}$	15.7	7.3	5.5	4.8

Estos resultados muestran una variabilidad grande aunque no excesiva en los valores de las absorbancias absolutas, que en el caso del hidroxilo (OH) es mayor del 20%. Esto no es extraño por las asociaciones fuertes de este grupo con otros grupos polares a través de la formación de puentes de hidrógeno. Cuando se utilizan los valores de absorbancia relativa la variabilidad disminuye significativamente, a menos de la mitad. La repetibilidad es mejor si la referencia no se limita a un solo grupo funcional. Al comparar los promedios de CV% cuando los datos se refieren a la suma de la absorbancia de los grupos considerados con los que se obtienen tomando en cuenta la absorbancia total del espectro no se ve una diferencia significativa. Esto induce a pensar que además de los factores operativos del procesamiento de las muestras hay una fuente de variación que proviene de la heterogeneidad de la distribución de la cantidad de MO en los sedimentos pero que la composición para una misma muestra no varía significativamente. Las conclusiones más significativas de los estudios hechos al procedimiento de análisis de la MOE por FTIR-ATR son:

1. La absorbancia es proporcional a la cantidad de MO extraíble presente en el sedimento.
2. La absorbancia varía linealmente con la cantidad de MO extraída.
3. La repetibilidad de la absorbancia relativa de los grupos funcionales más representativos es del orden del 5%.

Estas características hacen de este procedimiento una herramienta promisoría para el estudio de la dinámica de la MO sedimentada.

9.3 Parámetros fisicoquímicos de la columna de agua

Puesto que los procesos en la columna de agua deben reflejarse en las características de la MO en los sedimentos es interesante presentar los datos de algunos parámetros fisicoquímicos, como: porcentaje de saturación de oxígeno (%O₂), sólidos disueltos totales (SDT, g L⁻¹), clorofila *a* (Clor *a*, mg m⁻³), profundidad (Prof, cm), temperatura (T, °C) y pH. Excepto la altura de la columna de agua los demás parámetros se tomaron a nivel superficial. Considerando que el sistema es muy somero y hay un mezclado importante resultado tanto de los ciclos de marea como de los vientos es razonable pensar que no hay un gradiente vertical importante. Cabe mencionar, como ya se indicó, que las características físicas y biológicas son materia de otros estudios que se realizan en la zona de estudio y aquí se presenta únicamente una descripción general. Para analizar la distribución espacial se siguió una aproximación que consiste en utilizar el promedio anual del parámetro en cada una de las estaciones de muestreo, que representa el “estado de equilibrio”, y el error estándar del conjunto anual de datos de cada estación, que es un indicador de la variabilidad temporal. En la Figura 22 se presentan los promedios anuales de cada estación. Es importante resaltar las siguientes observaciones a partir de estos datos:

1. El sistema es muy somero (~50 cm en promedio) excepto para el ojo de agua en el petén (B9) que promedia valores de ~175 cm. Es muy variable en el tiempo con valores extremos de 77 cm y 300 cm en B9 y en el resto de las estaciones desde 0 cm en B6 y B7 hasta 167 cm en B10.
2. La variabilidad mensual en el resto de los parámetros es grande excepto para las estaciones que corresponden al petén (B7 a B9).
3. En las estaciones del petén la B9 que corresponde al ojo de agua es anóxica y el contenido de oxígeno aumenta ligeramente conforme fluye por el canal de descarga (B8 y B7) hacia la ciénega. En las demás estaciones la columna de agua es francamente óxica.
4. Un comportamiento similar se observa para los sólidos totales disueltos y el pH. Los valores altos corresponden a las estaciones con mayor aporte del agua marina.
5. En los valores de temperatura sin duda influyen tanto las variaciones estacionales de la temperatura en el agua del mar, como la profundidad, el grado de insolación y la descarga puntual o difusa del agua más fría que proviene del acuífero.
6. En cuanto a la productividad primaria en la columna de agua, los datos de Clor *a* muestran claramente que se presenta en las estaciones más cercanas a la boca y por lo tanto de mayor salinidad, en tanto que en el agua con una mayor proporción del aporte del acuífero los valores son muy bajos y poco significativos. Los valores bajos de Clor *a* y el bajo contenido de oxígeno disuelto en el petén permiten suponer que la materia orgánica en este lugar proviene fundamentalmente de la vegetación terrígena del lugar.

Al considerar simultáneamente todos los parámetros, excepto la profundidad, podemos clasificar las estaciones por similitud haciendo un análisis de conglomerados (cluster analysis) con el método de las

correlaciones y SS/(N-1) como se muestra en el dendograma de la Figura 23. Hay dos grupos claramente diferentes, por un lado las estaciones del petén (B7-B9) y en el otro todas las demás. Si se excluyen las estaciones del petén del análisis (Figura 24), el segundo grupo puede desagregarse aún más y proponer la siguiente clasificación:

Grupo	Estaciones	Descripción
Petén	B7-B9	Afloramiento del agua subterránea que proviene del acuífero (B9), canal de descarga del agua no salina (B8) y zona de inicio de la zona de mezcla (B7).
Islote N	B2 y B3	Estas estaciones se encuentran en la orilla norte de un islote justo frente a la entrada de agua marina de la boca y que origina dos canales de comunicación al interior de la ciénega, uno hacia el este (B2) y otro la zona de mezcla en el oeste (B3).
Zona oeste	B1, B4 a B6	Corresponden al inicio por el lado marino de la zona de mezcla (B1) y la zona de comportamiento estuarino al oeste de la boca (B4 a B6).
Zone este	B10-B11	Estas estaciones se encuentran en el costado este del islote que se encuentra frente a la boca.
Isla de barrera	B12	Al este de la boca cerca del costado interior de la isla de barrera que separa la ciénega del mar.

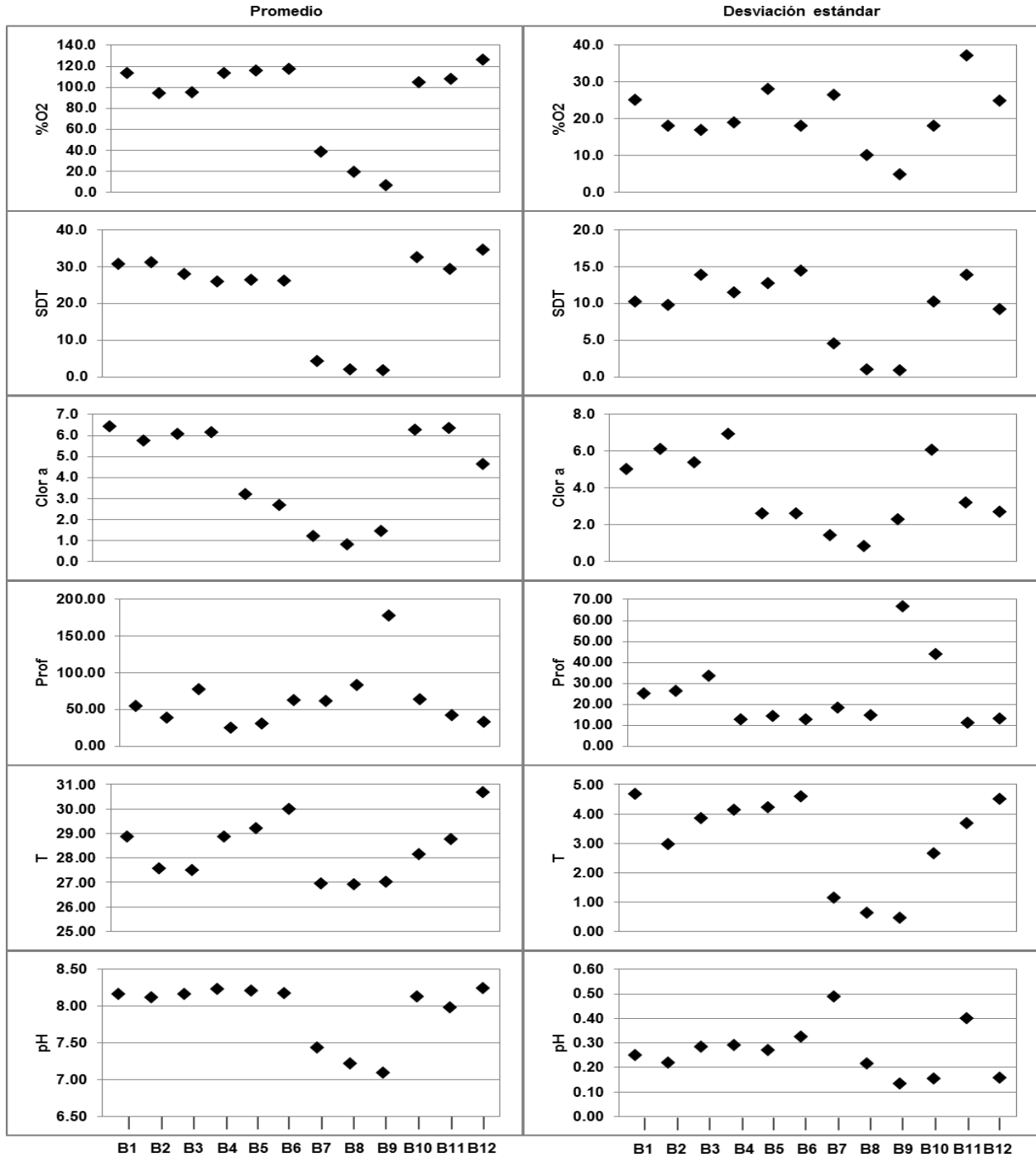


Figura 22. Promedios anuales por estación y desviación estándar del porcentaje de saturación de oxígeno (%O₂), sólidos disueltos totales (SDT, g L⁻¹), clorofila a (Clor a, mg m³), profundidad (Prof, cm), temperatura (T, °C) y pH.

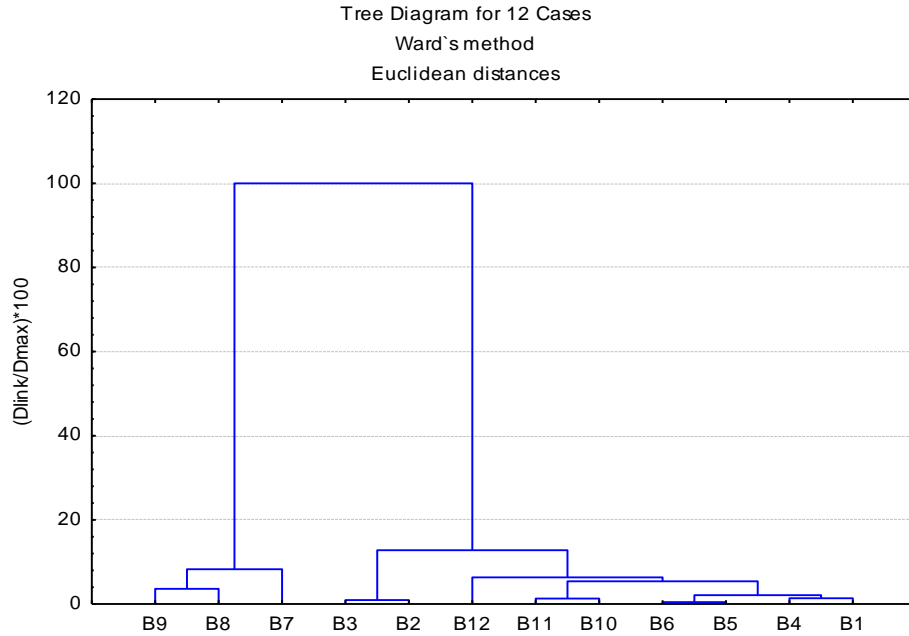


Figura 23. Clasificación por grupos de todas las estaciones con base en los promedios anuales de los parámetros %O₂, SDT, Clor a, T y pH.

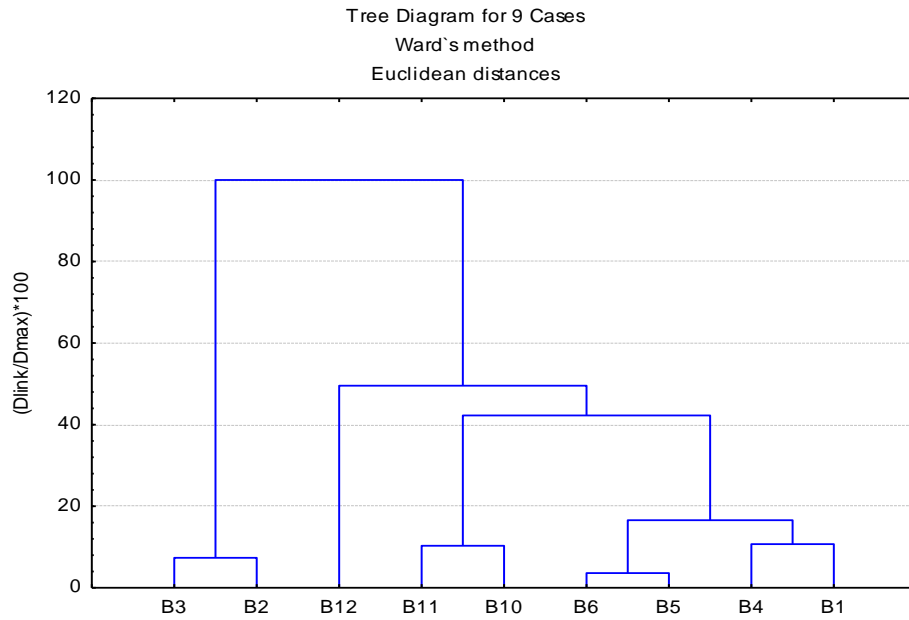


Figura 24. Clasificación por grupos excluyendo las estaciones del petén con base en los promedios anuales de los parámetros %O₂, SDT, Clor a, T y pH.

Las variaciones mensuales de los parámetros de la columna de agua se muestran en las Figuras 25-30. Los datos corresponden al promedio de los valores del mes de las estaciones del grupo definido por el análisis de conglomerados. Las funciones empíricas que se presentan en los gráficos son ajustes de polinomios de grado 4 y sólo con el fin de señalar las tendencias.

Sin profundizar en la discusión específica de cada uno de los parámetros, de estos gráficos vale la pena señalar lo siguiente:

1. Porcentaje de saturación de oxígeno. En los grupos A y B a lo largo del año los cambios son pequeños, el medio es anóxico en el grupo A (petén) y en el grupo B (cara norte del islote, frente a la boca) se mantiene alrededor de 100% (50%-125%). En los otros grupos los cambios son más pronunciados y los valores son mayores (75%-150%). Los valores máximos se presentan en verano (julio-agosto) y los mínimos en invierno (enero- febrero), excepto para el grupo A que se presenta un comportamiento inverso: mínimo hacia el verano y máximo en invierno.
2. Sólidos disueltos totales. En el petén (grupo A) no fue posible realizar la medición en varios meses, pero los datos disponibles indican un bajo contenido de SDT ya que es el agua que proviene del acuífero. En las otras cuatro zonas se observan temporadas con valores bajos ($\sim 20 \text{ g L}^{-1}$) en los meses de abril a julio y entre diciembre y enero y máximos ($\sim 45 \text{ g L}^{-1}$) de agosto a octubre. Los cambios de SDT son el resultado de los balances de evaporación/precipitación y los aportes de agua mar/acuífero a lo largo del año.
3. Clorofila *a*. Las variaciones mensuales en todo el sistema son grandes, pero en términos generales se observa que la productividad primaria en el agua del petén (grupo A) es muy baja en todo el año o es rápidamente removida hacia la ciénega por el flujo constante de agua. En el resto del sistema la mayor productividad se encuentra entre los meses de julio a enero.
4. Altura de la columna de agua. En las estaciones del petén tiende a crecer durante la primera parte del año, alcanza el máximo entre septiembre y diciembre cuando empieza a decrecer. El incremento es coincidente con las temporadas de lluvias y nortes, lo que sugiere que está controlada por la recarga del acuífero, ya que las lluvias locales son escasas. El resto del sistema es muy somero ($\leq 1 \text{ m}$) con patrones de variación estacional poco definidos, la hidrodinámica es compleja con efectos de las mareas (diarias, estacionales, de tormenta), los aportes del acuífero y los balances precipitación evaporación.
5. Temperatura. En el área del cenote la temperatura es la más baja en la zona de estudio, controlada por la temperatura del agua que descarga del acuífero. Se observa un muy ligero efecto de calentamiento en el verano y enfriamiento en el invierno que se aprecia más claramente en el resto del sistema.
6. pH. En los grupos A (petén) y C (zona estuarina al oeste de la boca) se aprecia una ligera variación estacional, alrededor de valores de pH de 7.3 y 8.2 respectivamente, con los valores más bajos en primavera y verano y los más altos en otoño que descienden nuevamente en el invierno. Seguramente relacionado con la menor o mayor penetración del agua salina hacia el interior de la zona de mezcla. En

los demás grupos de estaciones el pH promedio es bastante estable alrededor de 8.1 (grupos B y D) y 8.2 para D.

En general se puede concluir que no hay un patrón estacional claramente definido y coincidente para todas las variables estudiadas, lo que indica que el sistema tiene una dinámica compleja.

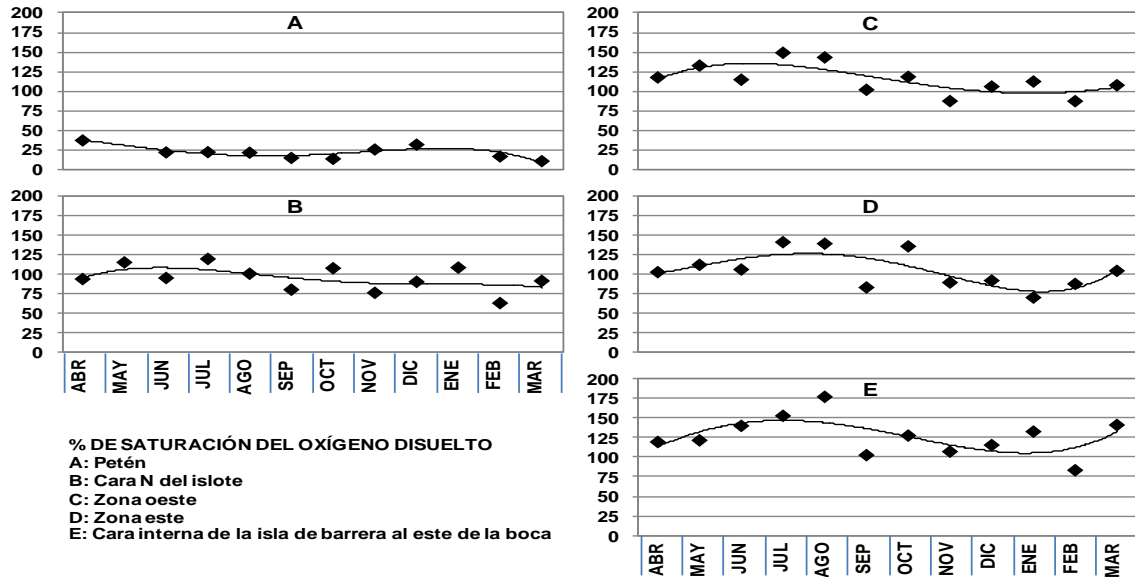


Figura 25. Variación mensual del porcentaje de saturación de oxígeno disuelto en la columna de agua. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

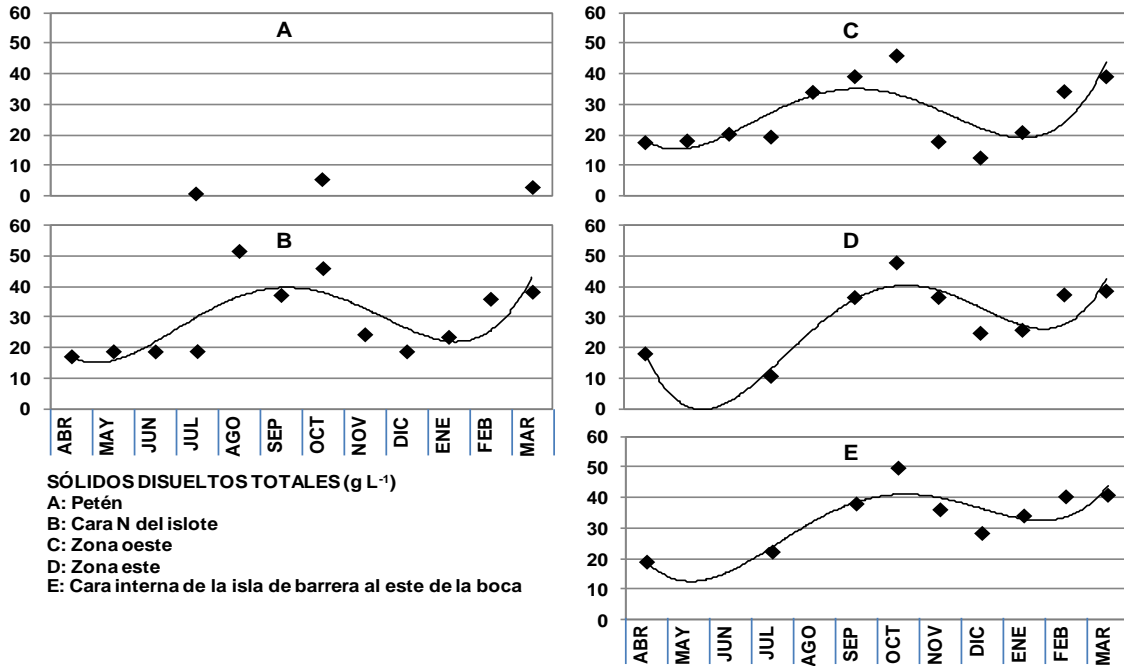


Figura 26. Variación mensual de los SDT. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

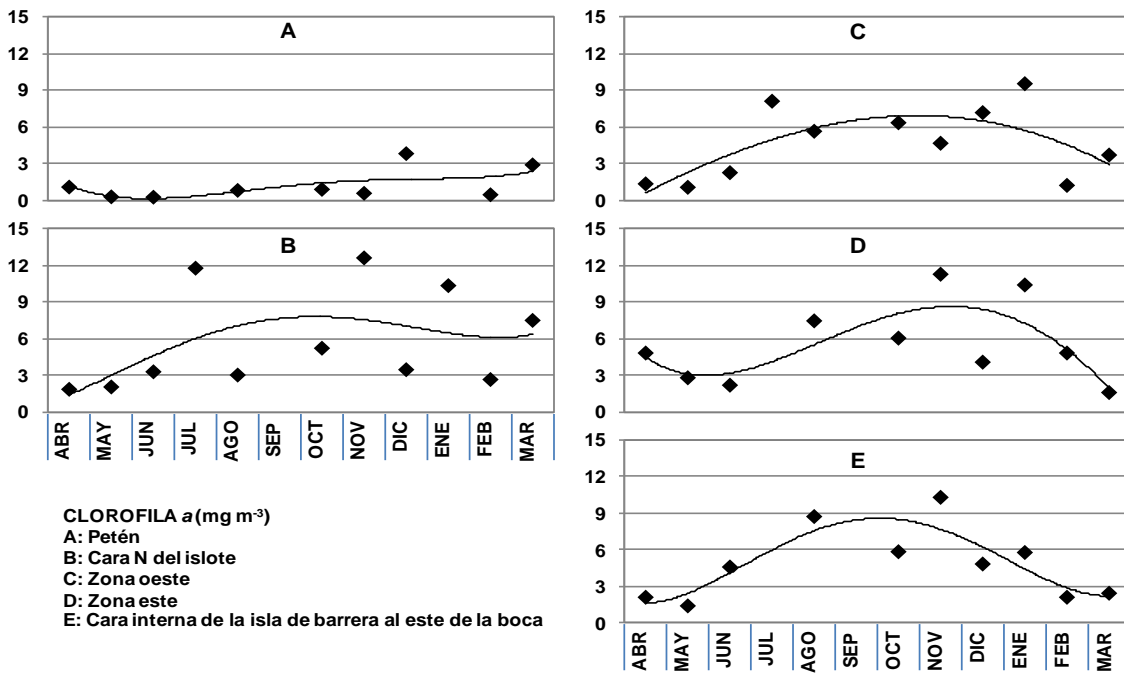


Figura 27. Variación mensual de la Clorofila a. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

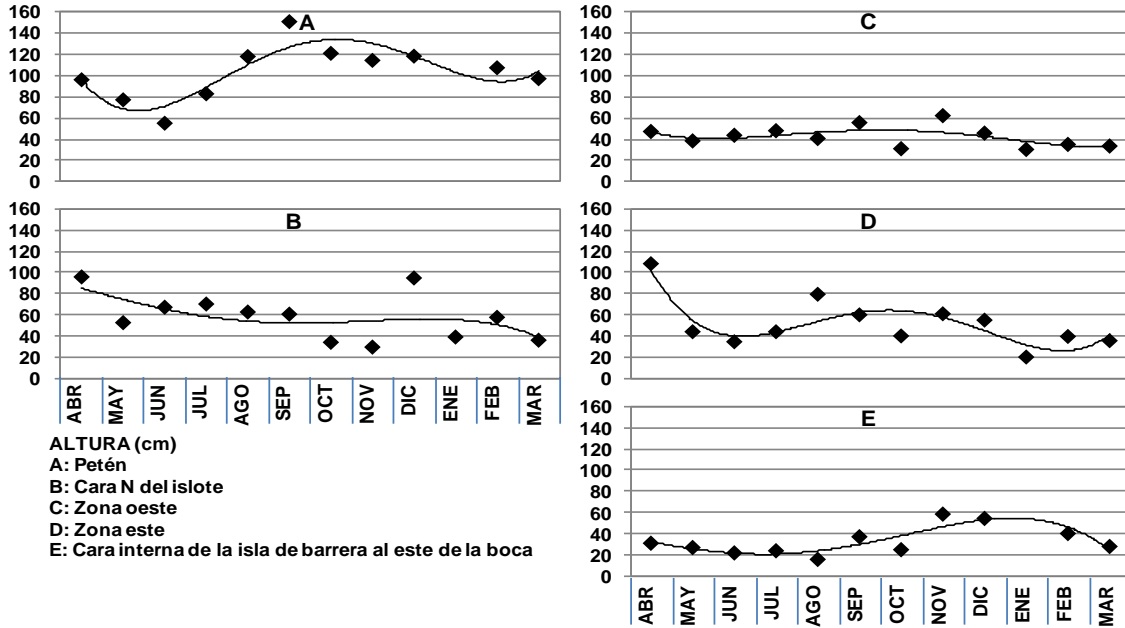


Figura 28. Variación mensual de la altura de la columna de agua. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

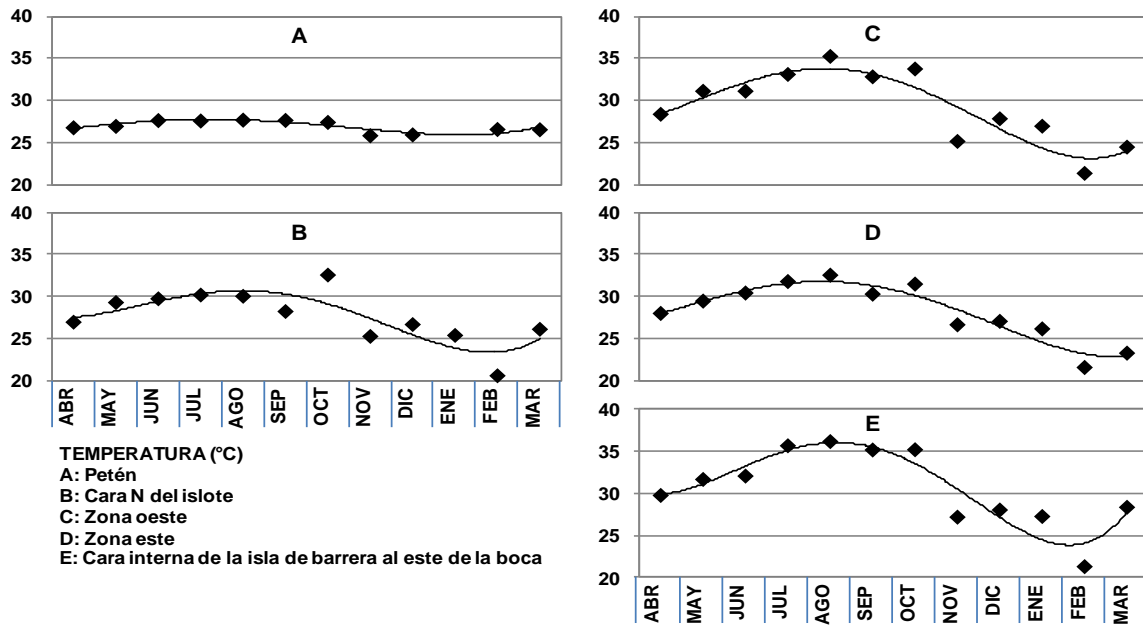


Figura 29. Variación mensual de la temperatura de la columna de agua. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

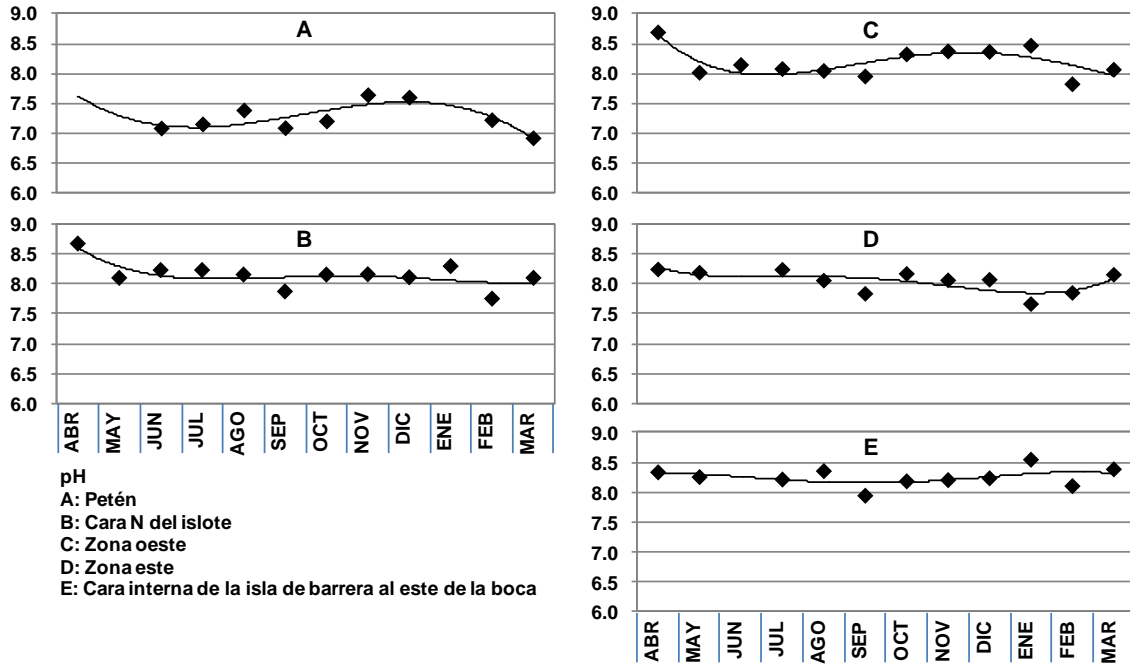


Figura 30. Variación mensual del pH de la columna de agua. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

9.4 Granulometría de los sedimentos de la Bocana

Con las once muestras recolectadas en el mes de diciembre y una en el mes de febrero, se determinó la granulometría de los sedimentos con los tamices disponibles en ese momento. Los resultados, expresados en porcentaje, se muestran en la Tabla 21, clasificados de acuerdo a la escala de Uden-Wentworth.

Tabla 21. Distribución en porcentaje del tamaño de partícula en los sedimentos del área de estudio del mes de diciembre (B1-B8, B10-12) y febrero (B9). Clasificación según la escala de Uden-Wentworth.

Estación	Arena muy gruesa	Arena gruesa	Arena media	Arena fina	Arena muy fina	Limos
B1	0.0	0.0	0.4	0.0	84.0	15.3
B2	0.0	0.0	0.0	19.1	61.7	18.9
B3	0.0	0.0	0.0	6.6	62.2	30.7
B4	0.0	0.0	0.0	27.1	48.2	19.2
B5	0.0	0.0	0.0	24.8	54.1	20.7
B6	0.0	0.0	0.0	30.1	46.3	21.4
B7	2.4	16.4	68.3	7.7	2.3	1.9
B8	21.5	10.3	33.6	14.3	12.9	7.2
B9	24.7	14.1	29.4	10.2	14.3	6.1
B10	0.0	0.0	0.0	8.6	70.3	20.9
B11	0.0	0.0	0.0	32.3	43.1	24.3
B12	0.0	0.0	0.0	25.3	55.1	19.3

Se realizó un análisis de conglomerados para clasificar las estaciones por la distribución granulométrica de los sedimentos. El dendograma correspondiente se muestra en la Figura 31. Nuevamente se distinguen claramente dos grupos, uno integrado por las estaciones del petén y en el otro las demás estaciones. Este último se subdivide en dos, en uno se encuentran las estaciones B1, B3 y B10; las dos últimas tienen ubicaciones equivalentes respecto a la boca (B1) en los márgenes del islote que divide las dos áreas de inundación. El resto de las estaciones corresponden a las zonas de inundación en ambos lados del islote. Vale la pena señalar que, aún con diferencias de clasificación en algunas estaciones, el patrón es similar al que se obtuvo con los parámetros fisicoquímicos de la columna de agua.

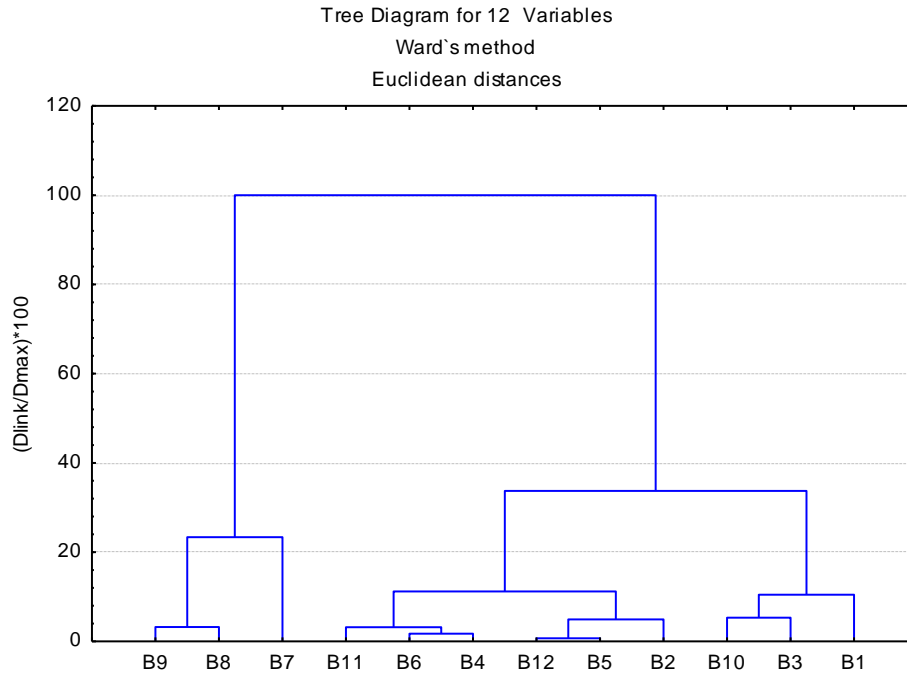


Figura 31. Análisis de conglomerados (método de Ward y distancias euclidianas), para la clasificación por grupos de estaciones con base al tamaño de partícula.

En la Figura 32 se muestran los gráficos para estos conjuntos de estaciones, reagrupando la distribución de tamaño de partícula en tres categorías: arenas medias y mayores, arenas finas, arenas muy finas y limos (Tabla 22).

Tabla 22. Reagrupamiento en tres categorías de los datos granulométricos y por zona de transporte de agua.

Estación	Arenas \geq medias	Arenas finas y muy finas	Limos	Zona
B9	68.14	24.42	6.09	Petén
B8	65.39	27.20	7.16	
B7	87.09	10.00	1.94	
B6	0.00	76.33	21.42	Zona de inundación al oeste
B5	0.00	78.95	20.65	
B4	0.00	75.29	19.21	
B3	0.00	68.84	30.74	
B1	0.44	83.96	15.30	Boca
B2	0.00	80.79	18.91	Zona de inundación al este
B10	0.00	78.91	20.90	
B12	0.00	80.42	19.34	
B11	0.00	75.36	24.26	

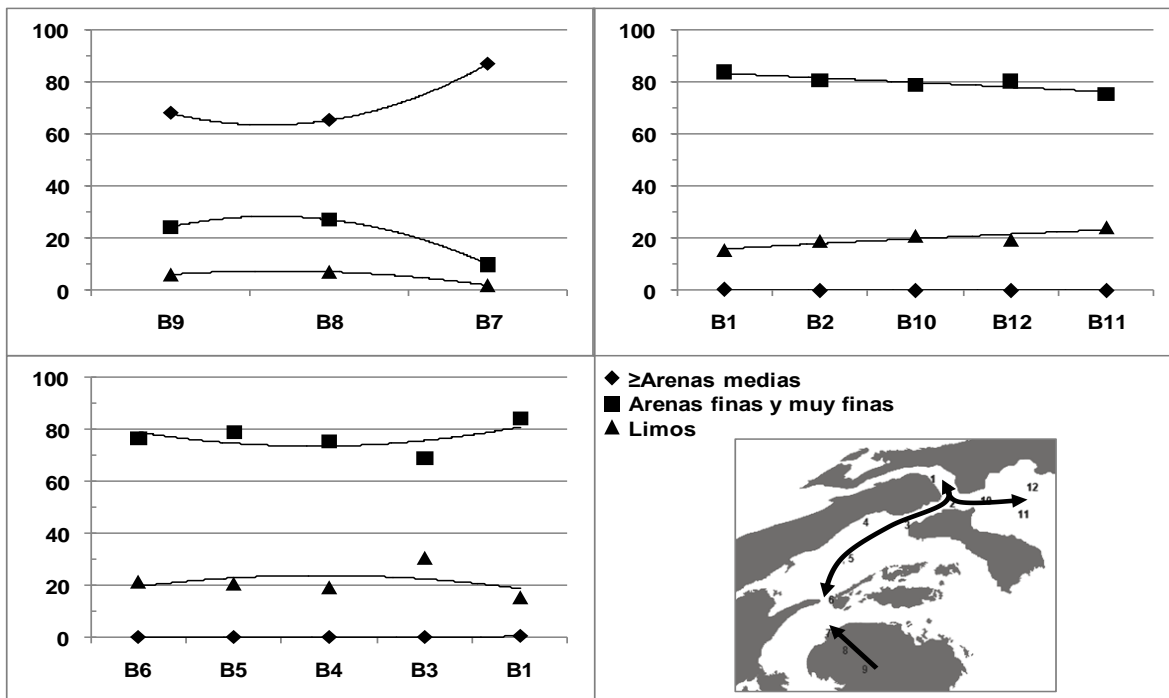


Figura 32. Variación del porcentaje de tipo de sedimento en cada sector donde hay transporte de agua. En la imagen las flechas muestran el transporte de agua dominante.

En el área del petén (B9 a B7) el predominio es de arenas medias y gruesas, que aumenta hacia la entrada del canal de acceso, y con proporciones bajas de limos lo que indica que es una zona de arrastre que exporta material sedimentario fino hacia la ciénega. En la zona de inundación al oeste de la boca (B1 a B6) predominan las arenas finas y muy finas, seguidas de los limos y prácticamente no hay arenas medias y gruesas. No se aprecia un gradiente apreciable lo que sugiere un ambiente depositario pero muy mezclado por la turbación producida por la entrada y salida de agua de las mareas diarias. El área al este de la boca (B1 a B11) también parece ser un ambiente depositario, pero aquí si observa un ligero gradiente con disminución de la proporción de arenas fina y muy finas hacia el interior de la ciénega y el consecuente aumento del porcentaje de limos. Seguramente es una zona menos perturbada.

9.5 Porcentaje de carbono orgánico total (%COT)

Los resultados de la determinación del %COT en el sedimento superficial se muestran en la Figura 33, se presentan los datos del promedio anual por estación y la variabilidad mensual expresada como desviación estándar y error estándar. Se muestran también los datos atípicos ($\pm 1.5 \times$ error estándar) y extremos ($\pm 3 \times$ error estándar). Los valores de %COT en los sedimentos de la Carbonera son altos, el promedio global es de 2.07% y se alcanzan valores de hasta 32%. Como en los parámetros medidos en la columna de agua, la variabilidad mensual es alta y es mayor para las estaciones con mayor %COT. Los valores más bajos se presentan en las estaciones cercanas a la boca de la Boca de la Carbonera (1-3) y los más elevados asociados al petén (7-9). Es importante señalar que en general la mayor parte del carbón orgánico en los sedimentos corresponde a materia orgánica extraíble con disolventes ($\geq 80\%$, Tabla 13). Esto indica que está básicamente constituida por lípidos y con bajo contenido de sustancias húmicas.

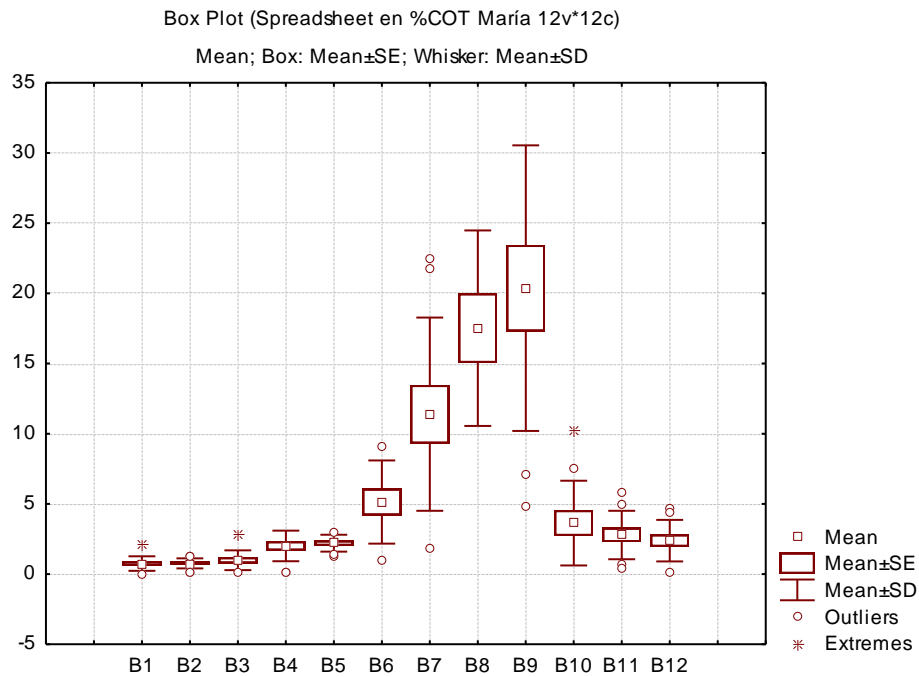


Figura 33. Promedio del %COT anual por estación y la variabilidad mensual expresada como desviación estándar y error estándar. Se muestran también los datos atípicos ($\pm 1.5 \times$ error estándar) y extremos ($\pm 3 \times$ error estándar).

Se aprecia también que el %COT guarda una relación con la posición de la estación de muestreo. En la Figura 34 se muestra la distribución espacial de los promedios anuales de %COT separando las dos zonas que divide el islote frente a la boca. Es interesante presentar también en la misma figura la relación que guarda el %COT con la clorofila a.

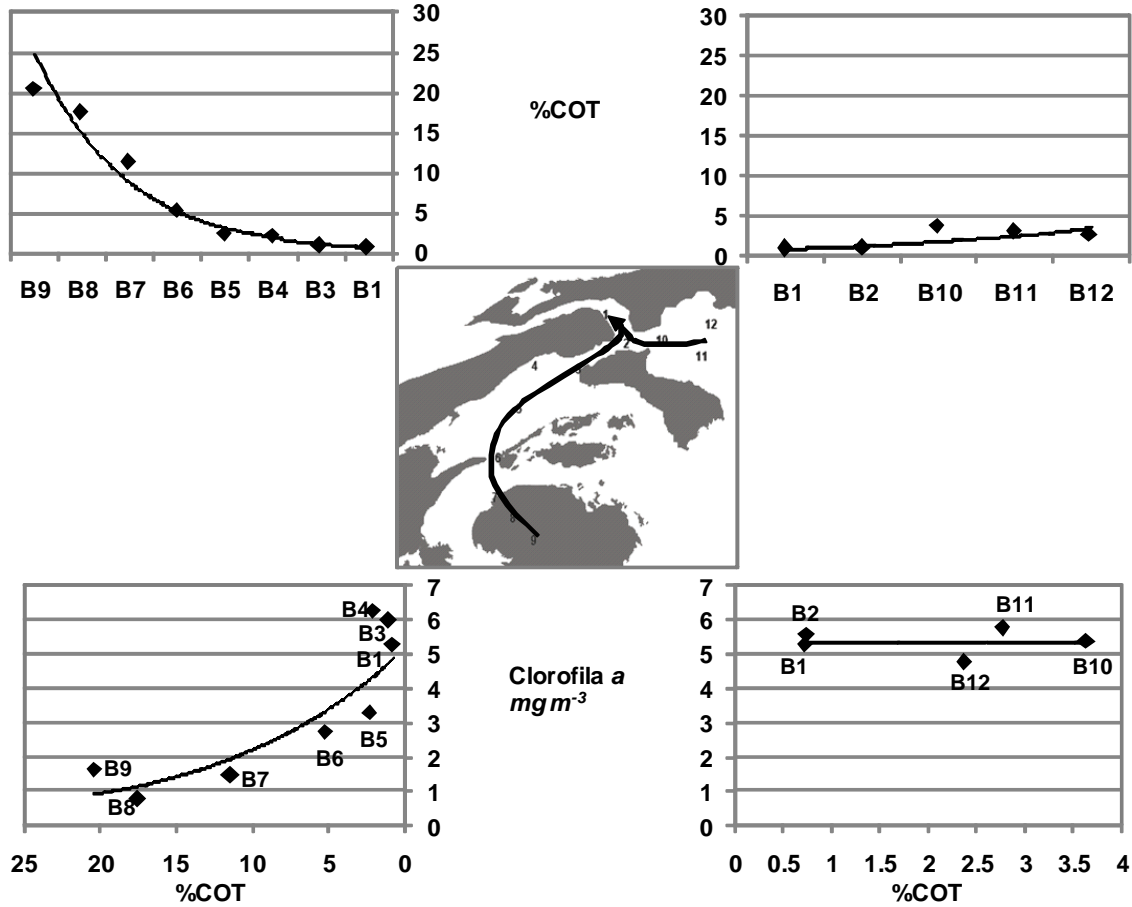


Figura 34. Los gráficos de la parte superior muestran los gradientes de %COT en los sedimentos y los de la parte inferior su relación con la concentración de clorofila *a* (mg m^{-3}) en la columna de agua. Los datos se encuentran separados de las dos zonas principales del área de estudio. Los datos corresponden al promedio anual. Las flechas en el mapa indican la dirección en la que decrece el contenido de carbón orgánico en los sedimentos. Las curvas son el resultado de un ajuste exponencial.

Estos resultados indican que la clorofila *a* proviene fundamentalmente de las especies con actividad fotosintética en la columna de agua, que ocurre sobretodo en la zona cercana a la boca, y no de la vegetación del petén. El mayor aporte de MO proviene del petén y prácticamente toda se extrae con disolventes orgánicos, así que debe haber una actividad significativa de hongos y bacterias degradadoras de lignina y otros materiales insolubles en el medio de extracción.

9.6 Análisis de esteroides en los sedimentos de la Bocana

En la Figura 35 se muestra un cromatograma típico del análisis por CG-EM en modo de monitoreo total de iones (TIC). Es un cromatograma complejo ya que el único fraccionamiento al que se sometió el extracto de MO fue la separación de saponificables. La detección de los esteroides es difícil, particularmente la integración de las áreas de los picos, pues no son los compuestos predominantes. Sin embargo, el cromatograma que se obtiene (Figura 35) al realizar el extracto del ión con m/z de 129 permite localizar claramente los esteroides con una estructura Δ^5 . En las Figuras 36-42 se muestran los espectros de masas indicando los fragmentos principales.

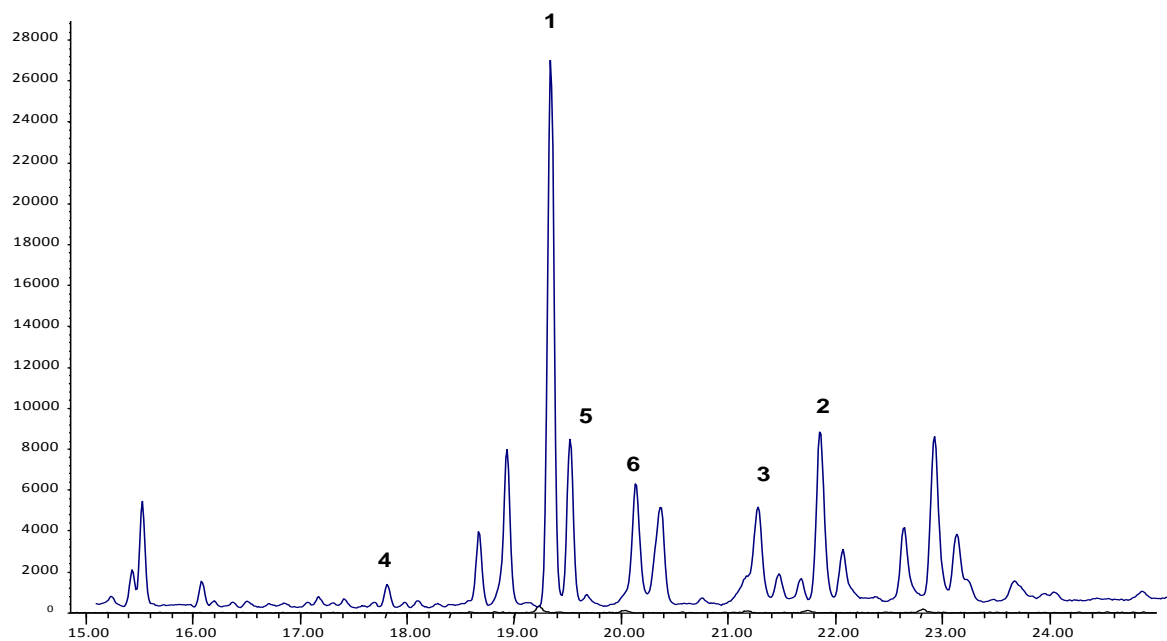


Figura 35. Cromatograma del CG-EM en modo de monitoreo total de iones (TIC). Esteroides detectados: Colesterol (1), β -sitosterol (2), Estigmasterol (3), 24-Nor-22,23-metilencolest-5-en-3 β -ol (4), Colestanol (5), (3 β ,22E)-ergosta-7,22-dien-3-ol (6).

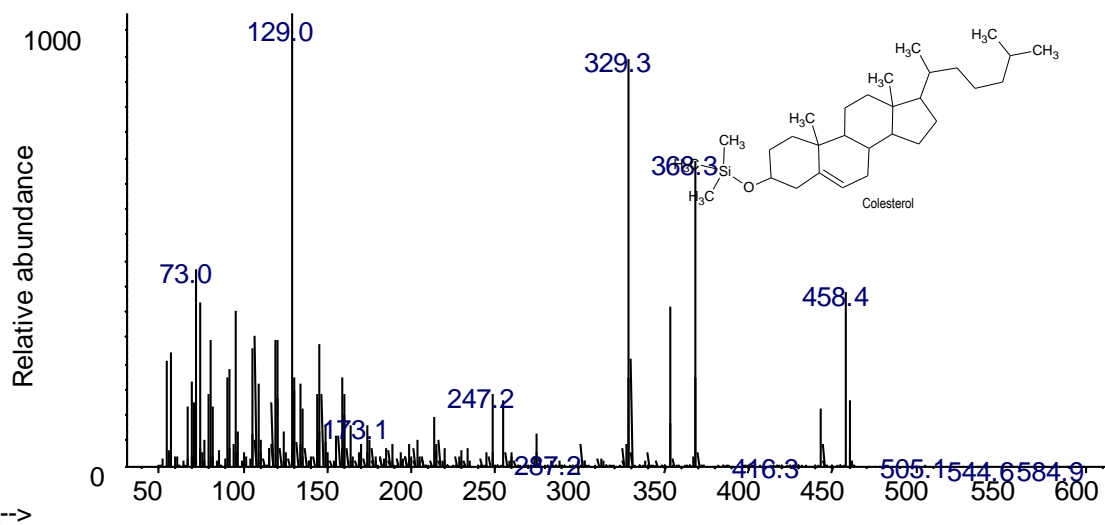


Figura 36. Espectro de masas del colesterol. Se observa el ión molecular a m/z 458.4, el pico base del espectro a m/z 129. El ión $[C_3H_9Si]^+$ a m/z $[M-73]^+$.

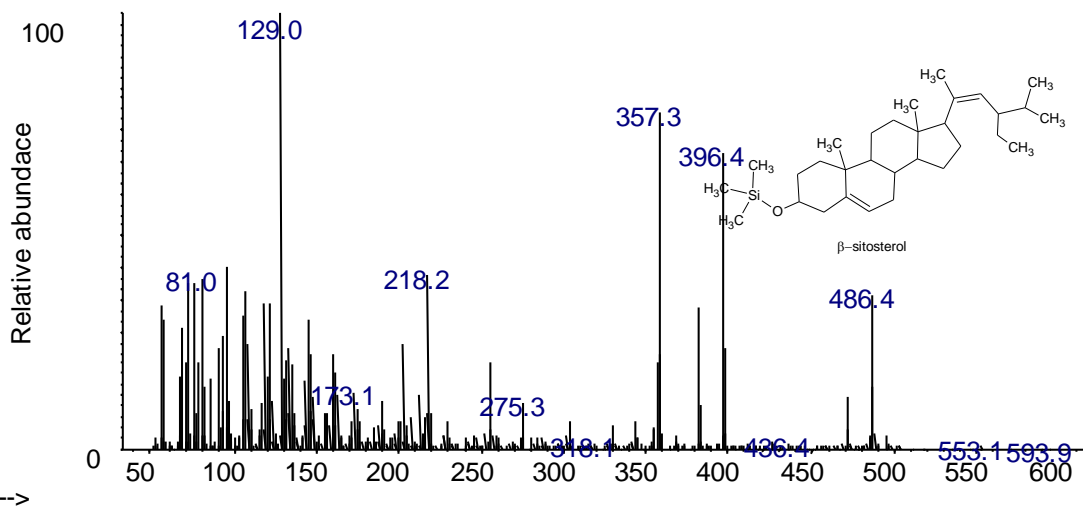


Figura 37. Espectro de masas β -sistrosterol. Se observa el ión molecular a m/z 486.4, el pico base del espectro a m/z 129.

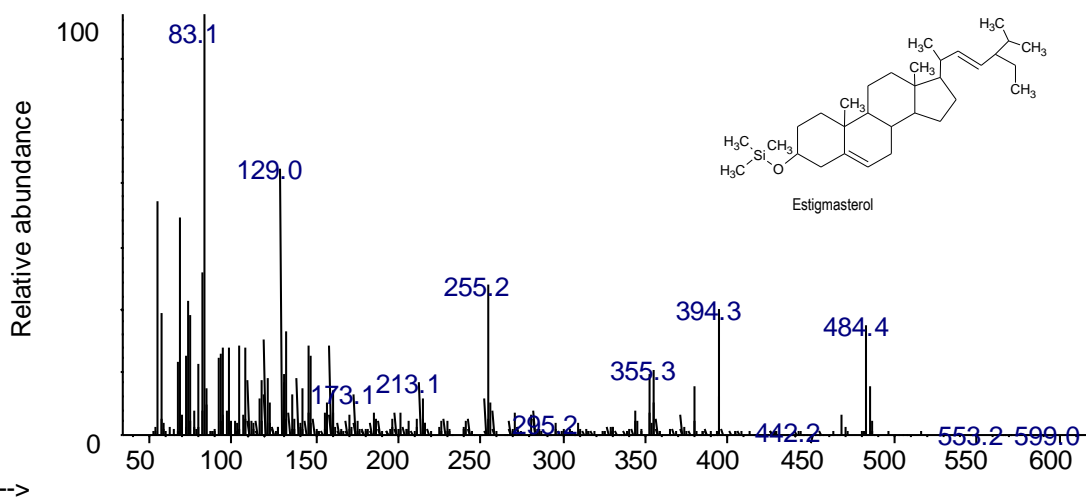


Figura 38. Espectro de masas estigmasterol. Se observa el ion molecular a m/z 484.4, el pico del espectro a m/z 129.

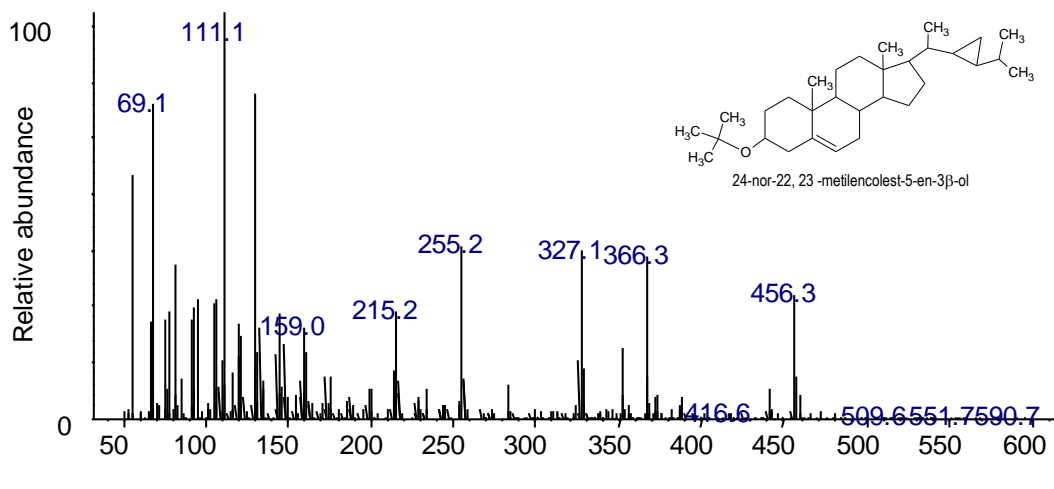


Figura 39. Espectro de masas 24-Nor-22,23-metilencolest-5-en-3β-ol. Se observa el ión molecular a m/z 456.3, el pico del espectro a m/z 129.

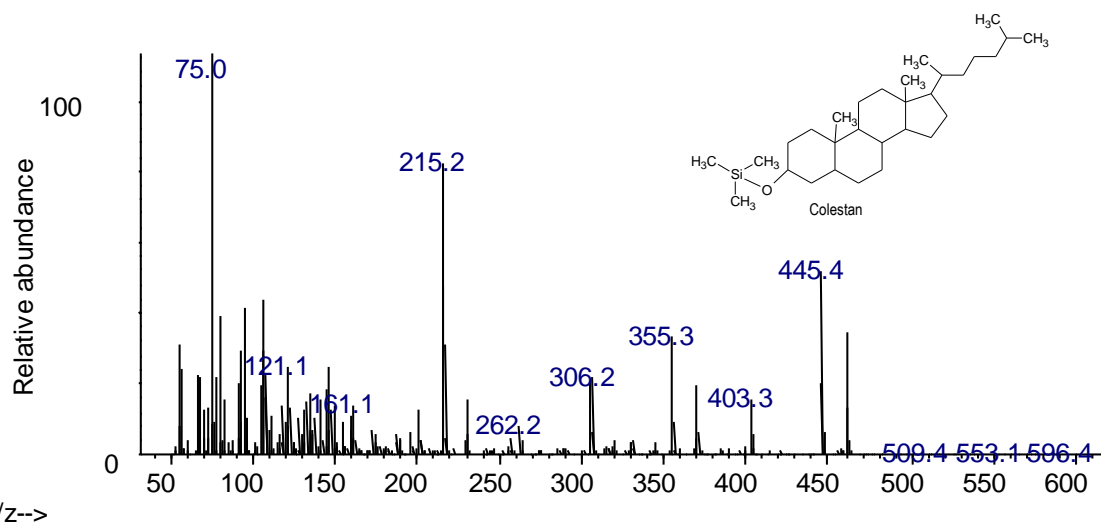


Figura 40. Espectro de masas colestanol. Se observa el ion molecular m/z 373.4, el pico a m/z 129 y el ión $C_2H_7SiO]^+$ a m/z $[M-75]^+$.

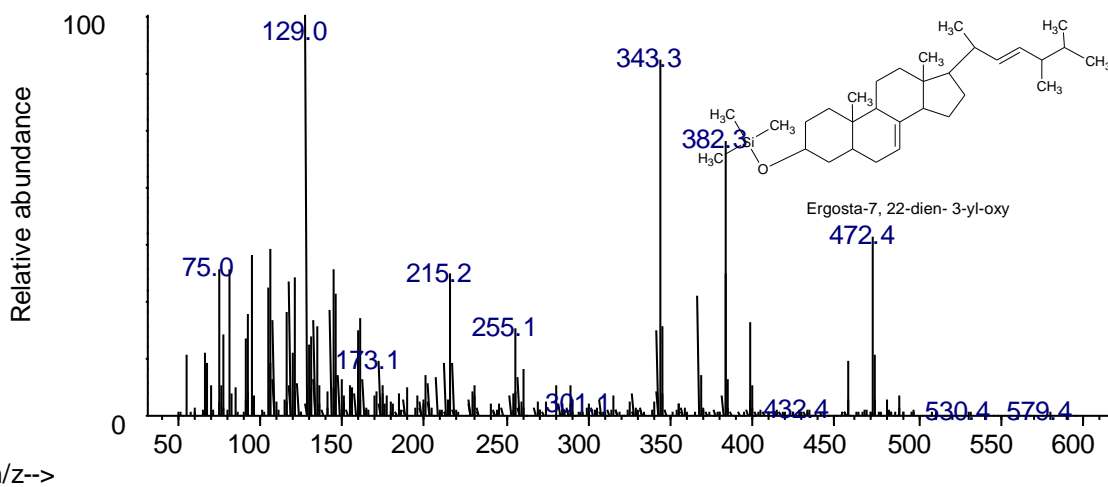


Figura 41. Espectro de masas (3β,22E)-ergosta-7,22-dien-3-ol. Se observa el ion molecular m/z 468.4, el pico base a m/z 129, y el ión $[C_2H_7SiO]^+$ a m/z $[M-75]^+$.

Se identificaron siete esteroides (Figura 35 y Tabla 23) cuya identidad se estableció con base en el espectro de masas y, en algunos casos, la comparación del tiempo de retención con estándares. En la Figura 42 se muestran como ejemplo el cromatograma obtenido con una de las muestras.

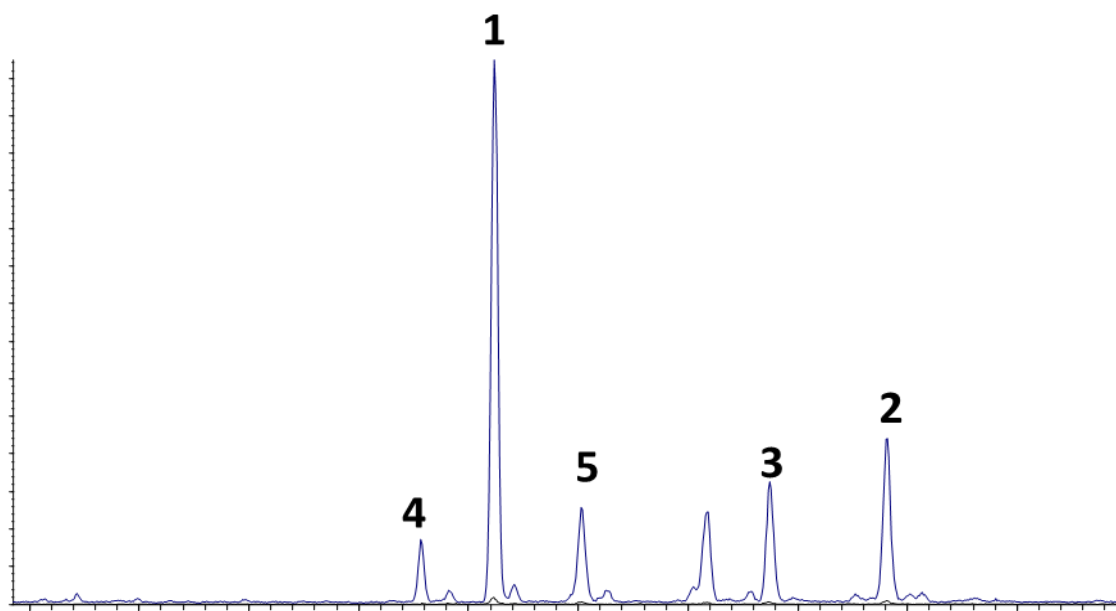


Figura 42. Cromatograma obtenido con el ión 129 m/z de la muestra B5 de abril del 2009. Esteroles detectados: Colesterol (1), β -sitosterol (2), Estigmasterol (3), 24-Nor-22,23-metilencolest-5-en-3 β -ol (4), (3 β ,22E)-ergosta-7,22-dien-3-ol (5).

Tabla 23. Esteroides identificados por CG-EM en los sedimentos. Los datos de ajuste (directo/inverso) son valores típicos de los que se obtuvieron con el software de la biblioteca del equipo. En cursivas se muestran los que se identificaron por comparación con estándares y que se encuentran en todas las muestras.

Nombre IUPAC/común (abreviatura)	Tipo	Ajuste	Origen
24-Nor-22,23-metilencolest-5-en-3β-ol (Nor)	27 Δ^5	740/823	Dinoflagelados: Se encuentra en ciertas plantas filogenéticamente poco evolucionadas (Rontani, 2001).
<i>Colest-5-en-3β-ol</i> <i>Colesterol (Col)</i>	27 Δ^5	940/950	<i>Zooplankton, y una distribución menor para fitoplancton (Gagosian, 1980; Volkman, 1986; Talbot et al., 2000).</i>
(3β, 5α)-colestano-3-ol <i>Colestanol (Colesta)</i>	27 Δ^5	879/906	Degradación biológica durante la sedimentación (Fernandes, 1999).
(3β,22E)-ergosta-7,22-dien-3-ol (Ergo)	28 $\Delta^{7,22}$	607/679	Son sintetizados comúnmente por hongos y cianobacterias (Weet, 1973; Mansour, 2003).
4β-metilcolesterol (Mecol)	28 Δ	694/892	Se presenta en algunas especies de dinoflagelados (Jaffé, 2001)
<i>24-etilcolesta-5,22-dien-3β-ol</i> <i>Stigmasterol (Estig)</i>	29 $\Delta^{5,22}$	836/865	<i>Diatomeas y algas calcáreas y criptofitas (Goad, 1983)</i>
<i>24-etilcolest-5-en-3β-ol</i> <i>β-sitosterol (b-sit)</i>	29 Δ^5	822/920	<i>Fundamentalmente plantas vasculares aunque se encuentra también en algunas algas (Volkman, 1986)</i>

Con el objetivo de seleccionar entre los esteroides identificados aquellos que permiten diferenciar las estaciones por su composición química se realizó un análisis de componentes principales basado en las correlaciones condensando los resultados en el promedio anual por estación, utilizando tanto el área cromatográfica como la proporción en porcentaje entre ellos con el fin de eliminar el efecto cantidad y resaltar las diferencias cualitativas. En la Figura 43 se presentan los resultados. Los porcentajes reflejan mejor las diferencias de composición entre estaciones. Con solo tres esteroides: colesterol, β -sitosterol y estigmasterol, se representan razonablemente bien las diferencias de composición considerando además que se encuentran presentes en todas las muestras, son los más abundantes y se identificaron sin ambigüedad.

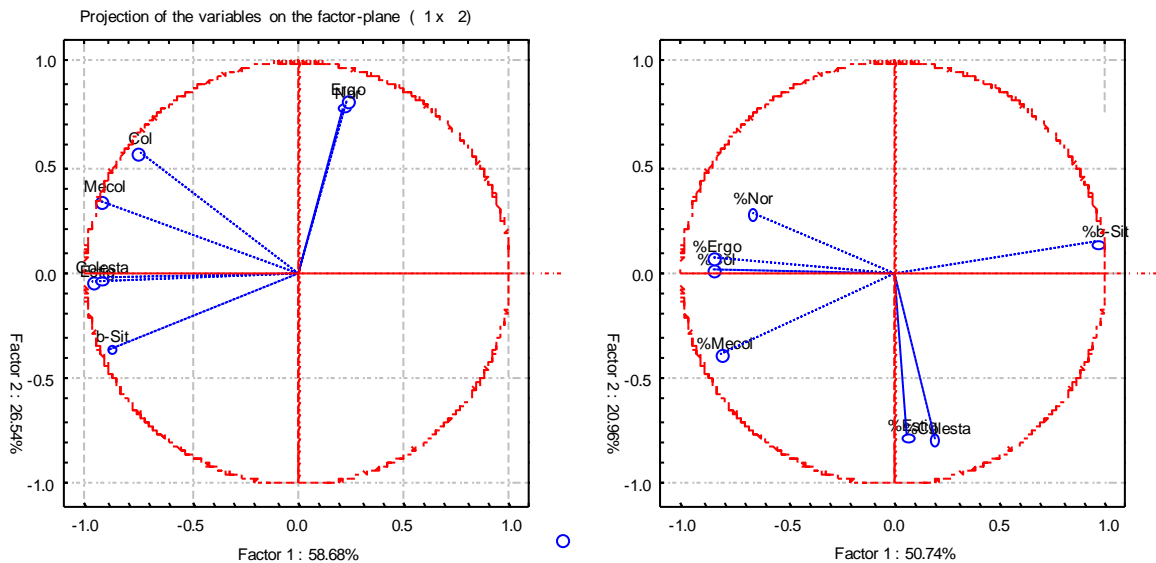


Figura 43. Análisis de componentes principales. Proyección de las variables en el plano de los factores 1 y 2. A) Usando las áreas cromatográficas y B) con las proporciones (porcentajes) entre ellos.

En la Figura 44 se muestran los promedios anuales de los porcentajes de los tres esteroides seleccionados y los resultados de los análisis de componentes principales y del de conglomerados se muestran en la Figura 45. Se concluye de que el β -sitosterol es un indicador de la MO que proviene del petén (grupo a) y, seguramente, el colesterol del zooplancton y fitoplancton lo que es consistente con que en las estaciones B1 a B3, B11 y B12 (grupo c) se presentan los valores de clorofila a altos y por lo tanto son áreas de alimentación de diversas especies. El resto de las estaciones (grupo b) presentan una composición intermedia y pueden considerarse zonas de mezcla. La localización de los grupos se ilustra también en la Figura 39.

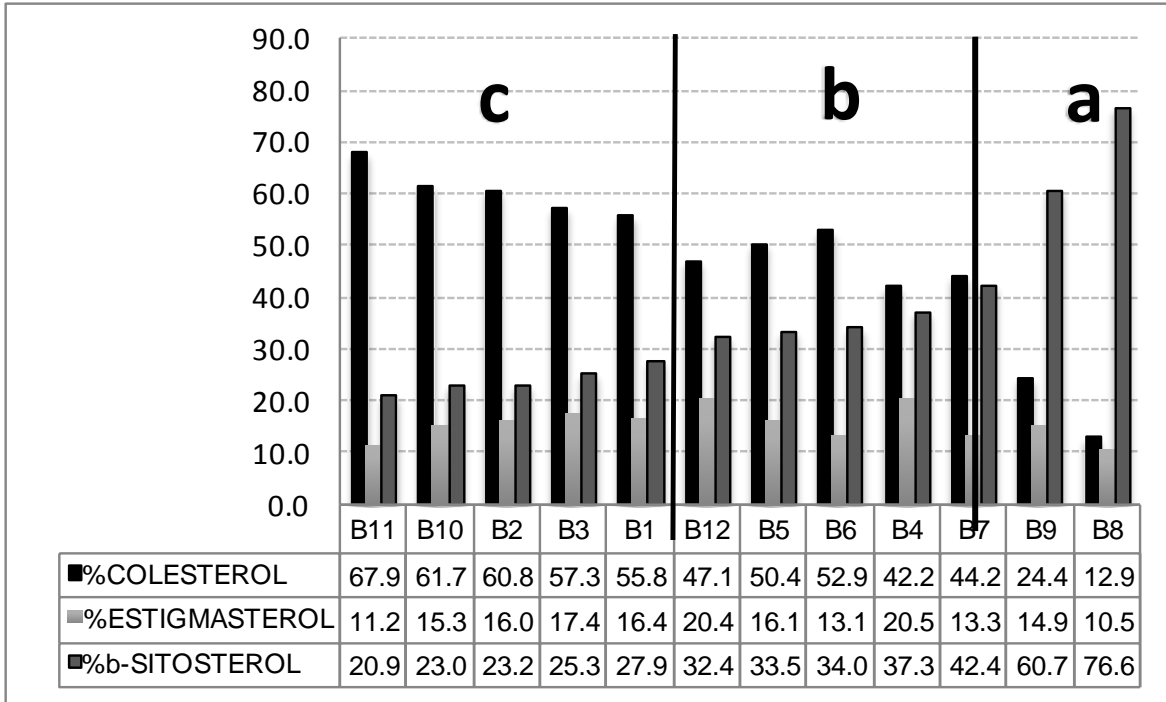


Figura 44. Promedio anual de los porcentajes de los tres esteroides en cada estación ordenados en valor creciente de la cantidad de β -sitosterol. Las estaciones en los sectores a, b y c del gráfico indican los grupos obtenidos en el análisis de conglomerados.

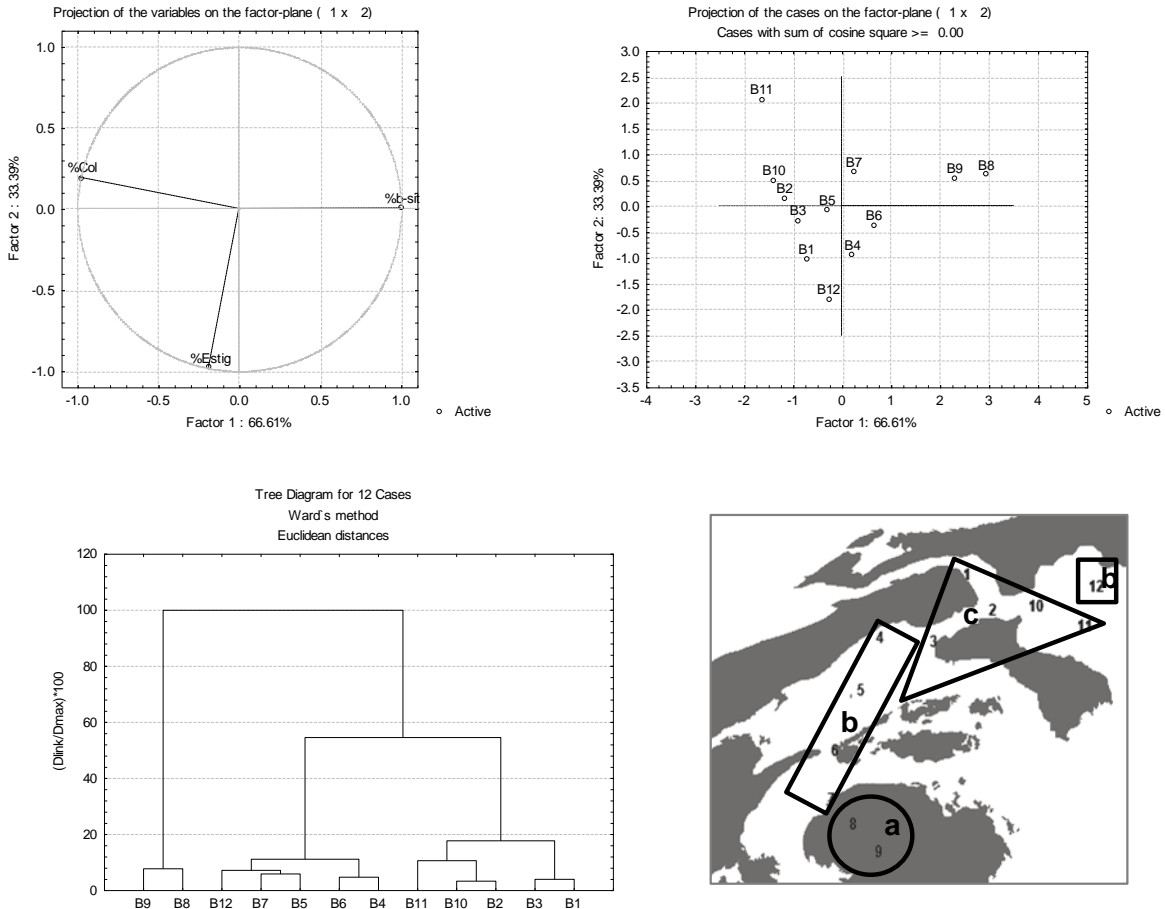


Figura 45. Análisis de componentes principales. Proyección de las variables y los casos en el plano de los factores 1 y 2 y dendograma del análisis de conglomerados con los porcentajes de los tres esteroides. En el mapa se muestra la localización de los grupos.

Para estudiar la variación mensual se calcularon para cada mes los promedios de los porcentajes de cada esteroide en el grupo de estaciones definido por el análisis de conglomerados. Los resultados se presentan en la Figura 46, sólo con el fin de mostrar las tendencias se ajustaron polinomios de grado 4. En las estaciones del cenote (grupo a) la variación temporal es suave con tendencia a aumentar (o disminuir) hacia el verano y otoño cuando la tendencia se invierte para los meses de invierno y primavera. En las estaciones de mayor influencia marina (grupo c) no hay una variación estacional apreciable, mientras que en la zona de mezcla (grupo b) es donde se aprecia mejor la variación estacional, según el compuesto, se alcanzan los valores máximos (o mínimos) entre agosto y octubre, y los mínimos (o máximos) hacia el mes de febrero. El colesterol y el β -sitosterol presentan variaciones opuestas y el estigmasterol varía simultáneamente al β -sitosterol.

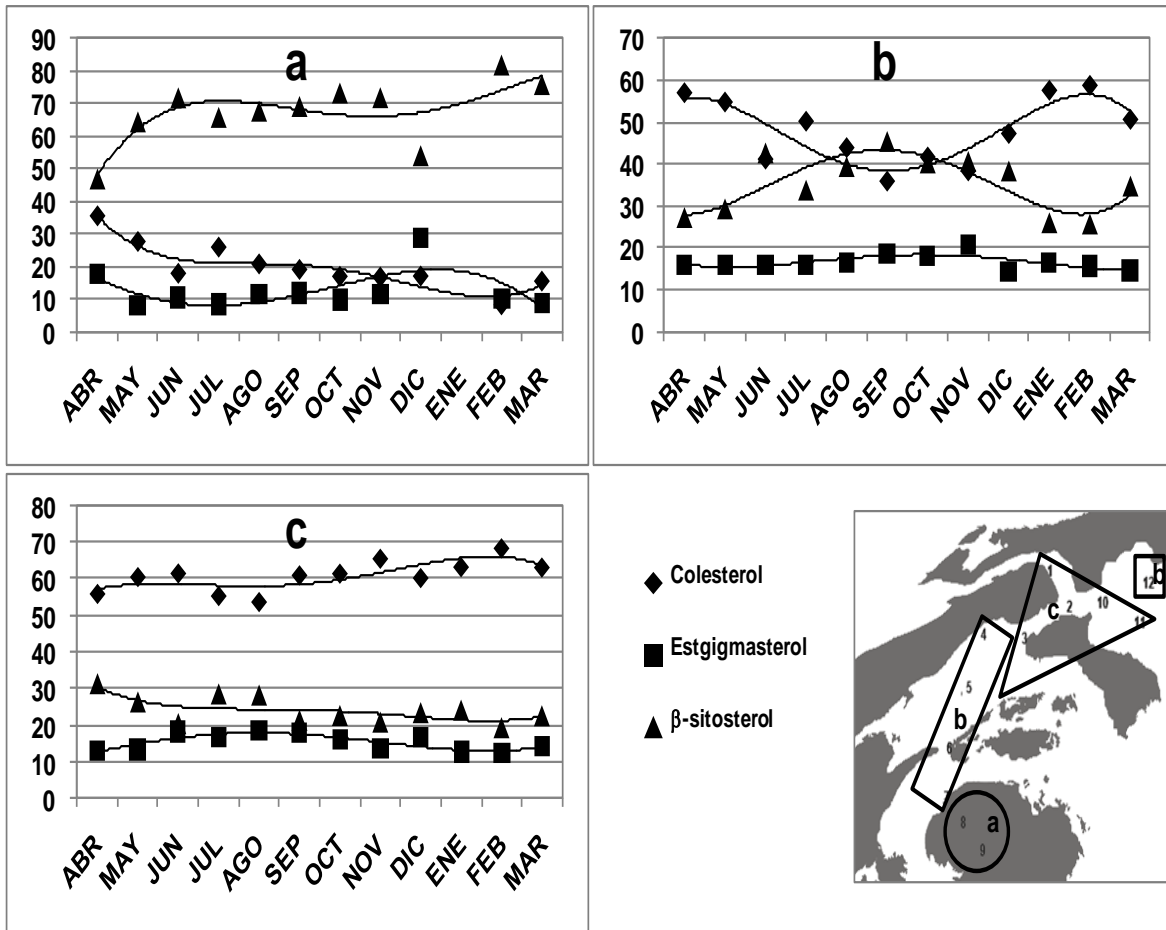
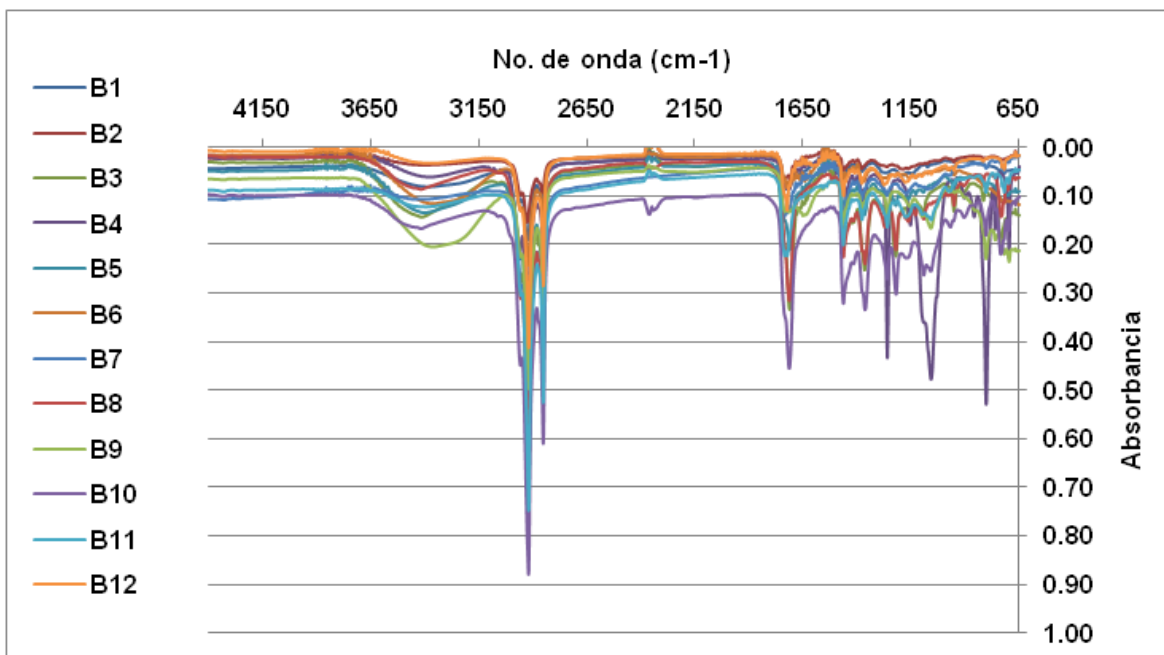


Figura 46. Variación mensual de cada esteroil por grupo de estaciones.

9.7 Análisis de la MO extraíble (MOE) por FTIR-ATR

El análisis de la MOE de las muestras de sedimento se realizó con la técnica de FTIR-ATR que se describió antes. En la Figura 47 se muestran los espectros que se obtuvieron de los sedimentos recolectados en el mes abril. Todas las muestras son muy similares en composición cualitativa y presentan máximos de absorción en los mismos números de onda. Sólo en las muestras B3 y B4 del mes de mayo se encontraron dos bandas diferentes. Las diferencias cuantitativas son evidentes por la intensidad de las bandas.



Las bandas principales presentes en todas las muestras y los grupos funcionales a los que se pueden asignar se presentan en la Tabla 25.

En la Figura 48 y en la Tabla 25 se indican las bandas de absorción principales y los grupos funcionales a los que pueden asignarse. En los espectros de infrarrojo, en la región con números de onda menores a 1300 cm^{-1} aparecen una cantidad de bandas grande y por lo general con baja resolución. Por encima de ese valor se presentan las bandas más definidas y claras; así, en el análisis de mezclas esta es la región útil.

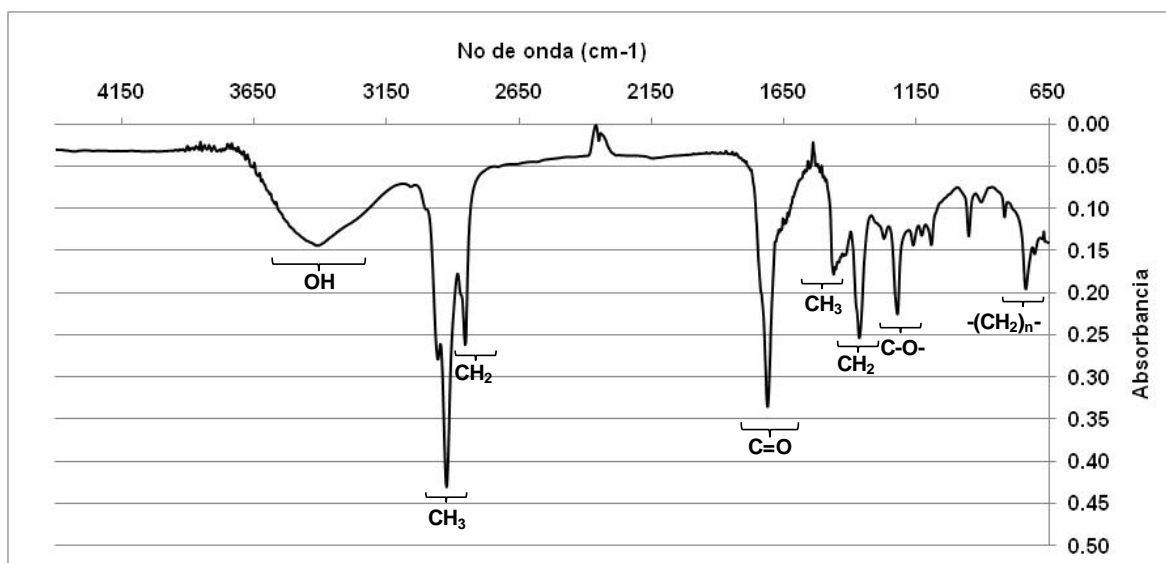


Figura 48. Espectro de infrarrojo típico de la materia orgánica extraída de los sedimentos de la Boca de la Carbonera. Se indican las bandas principales y los grupos funcionales a los que corresponden.

Tabla 25. Principales grupos funcionales identificados por FTIR-ATR en las muestras de la Carbonera. Los números de onda corresponden a valores típicos. En cursivas se indican las bandas seleccionadas para el análisis.

No. de Onda	Grupo funcional	Vibración	Caracterización
3376	OH	<i>Alargamiento del enlace O-H</i>	<i>Alcoholes y fenoles</i>
2956	CH ₃	<i>Alargamiento simétrico y asimétrico de los enlaces C-H</i>	<i>Metilos terminales de cadenas de hidrocarburos, alcoholes, ácidos, ésteres, etc.</i>
2873	CH ₂	<i>Alargamiento simétrico y asimétrico de los enlaces C-H</i>	<i>Metilenos de cadenas de hidrocarburos, alcoholes, ácidos, ésteres, etc.</i>
1734	CO	<i>Alargamiento del enlace C=O</i>	<i>Ácidos carboxílicos, esterés, aldehídos o cetonas</i>
1463	CH ₃	Flexión simétrica y asimétrica de los enlaces C-H	Estructuras fenólicas y alifáticas.
1359	CH ₂	<i>Flexión simétrica y asimétrica de los enlaces C-H</i>	<i>Estructuras fenólicas (lignina) y alifáticas</i>
1259	CO	Alargamiento del enlace: C-O C-O-C C-O	Alcoholes o fenoles Éteres Ésteres
720	(CH ₂) _n	Oscilación concertada de metilenos	Cadenas con más de 4 grupos -CH ₂ -

Con las consideraciones anteriores se seleccionaron las cinco bandas indicadas en la Tabla 25, claramente definidas en todas las muestras, que se integraron para utilizar el área del pico como medida de la absorbancia de cada grupo funcional.

Como se mencionó anteriormente la intensidad de absorción en el infrarrojo es proporcional a la cantidad de materia orgánica extraída y en el caso de los sedimentos del área de estudio debe ser proporcional al %COT ya que ésta constituye la fracción mayor. Esto se muestra en la Figura 49, donde se presenta el gráfico de la suma de las absorbancias de los 5 grupos seleccionados (SIR) en función del %COT, utilizando los promedios anuales de cada una de las estaciones. Hay sin duda proporcionalidad entre estas dos variables ($r=0.929$), pero varias estaciones quedan fuera del intervalo de confianza (0.95) sobre la recta de regresión. Si se excluyen esas estaciones la correlación entre las siete restantes mejora apreciablemente ($r=0.998$).

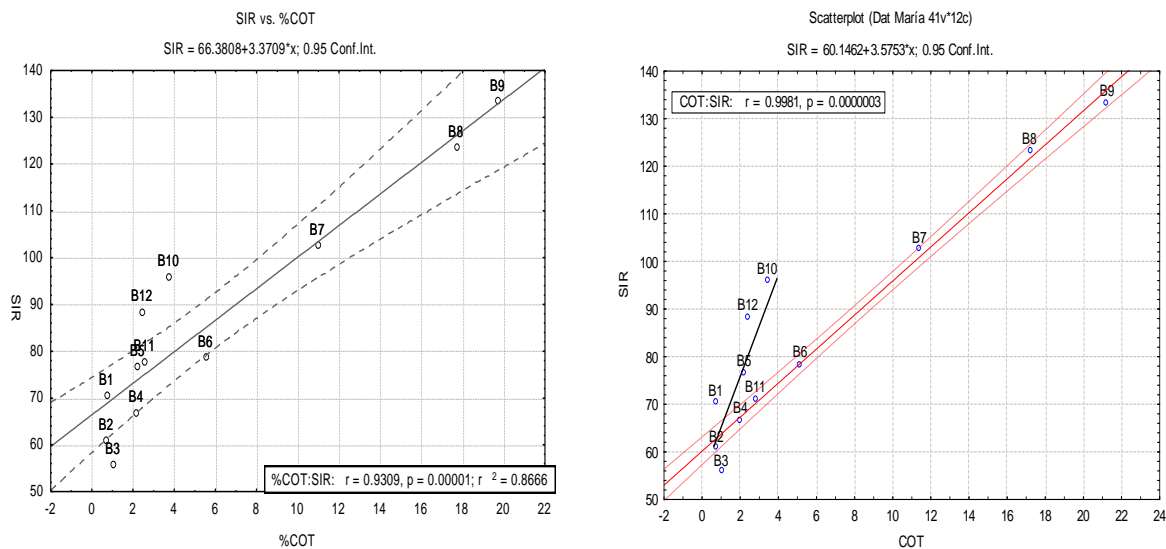


Figura 49. Correlación entre la suma de las absorbancias de los grupos seleccionados vs %COT. a) Correlación con todas las estaciones, b) correlación entre las estaciones B2, B4, B11 y B6-B7. La línea de B3 a B10 es solo indicativa y no es resultado de un ajuste.

Estos resultados parecen indicar que hay dos tipos de relación entre la absorbancia de infrarrojo y el %COT de los sedimentos, a partir de la zona de entrada de agua del mar (B1-B3). El primero se extiende por la zona de mezcla hacia la zona del petén (B8 y B9) y el otro hacia la zona al este del islote que divide el área de estudio. Las estaciones B5 y B11 parecen ser atípicas. También se infiere de estas gráficas que existe un gradiente de MOE de las estaciones al interior de la ciénega hacia la boca, que se aprecia más claramente en el diagrama de burbujas de la Figura 50. La absorbancia al infrarrojo es por lo tanto una medida de la cantidad de MOE como de la composición, y la relación que existe entre SIR y el %COT en

los sedimentos superficiales depende de diversos factores: origen, productividad, tasa de sedimentación, transporte, y descomposición química, fotoquímica y biológica.

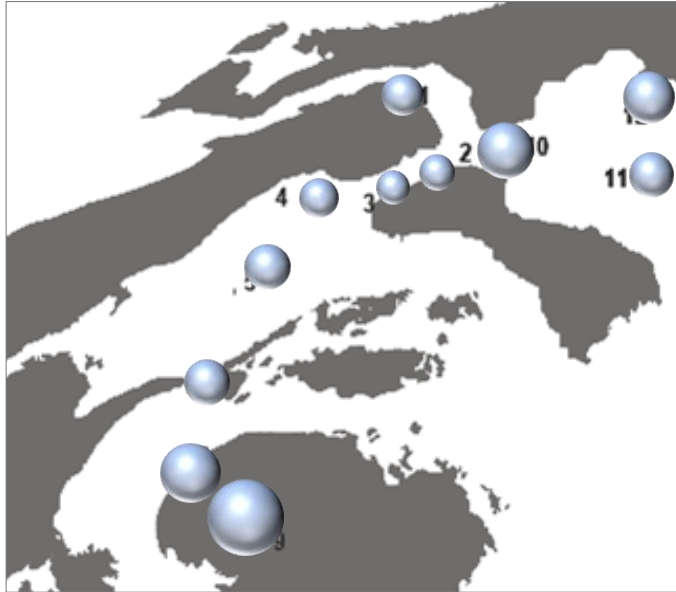


Figura 50. Diagrama de burbujas que muestra en la posición de las estaciones de muestreo la cantidad de materia orgánica extraída. El ancho de las burbujas representa la suma de las absorbancias (áreas) de los grupos funcionales seleccionados.

Para conocer qué estaciones se encuentran asociadas por la composición de los sedimentos se realizó el análisis de componentes principales (método de Ward y distancias euclidianas basado en correlaciones). Los resultados se muestran en la Figura 51. Con las absorbancias absolutas predomina el efecto de la cantidad de materia orgánica y no hay discriminación por diferencias en composición. Al utilizar las absorbancias relativas, porcentajes, se resalta el efecto de las diferencias cualitativas. También se puede concluir que con tres variables químicas (CH_3 , CO y OH) se puede representar razonablemente bien el sistema. Los resultados del análisis de componentes principales con solo estas tres variables se muestran en la misma Figura 51. En la proyección de las estaciones sobre el plano de los factores no se distinguen con total claridad agrupamientos de estaciones, pero se aprecia la tendencia a diferenciar las estaciones por las aportaciones de origen marino y del petén.

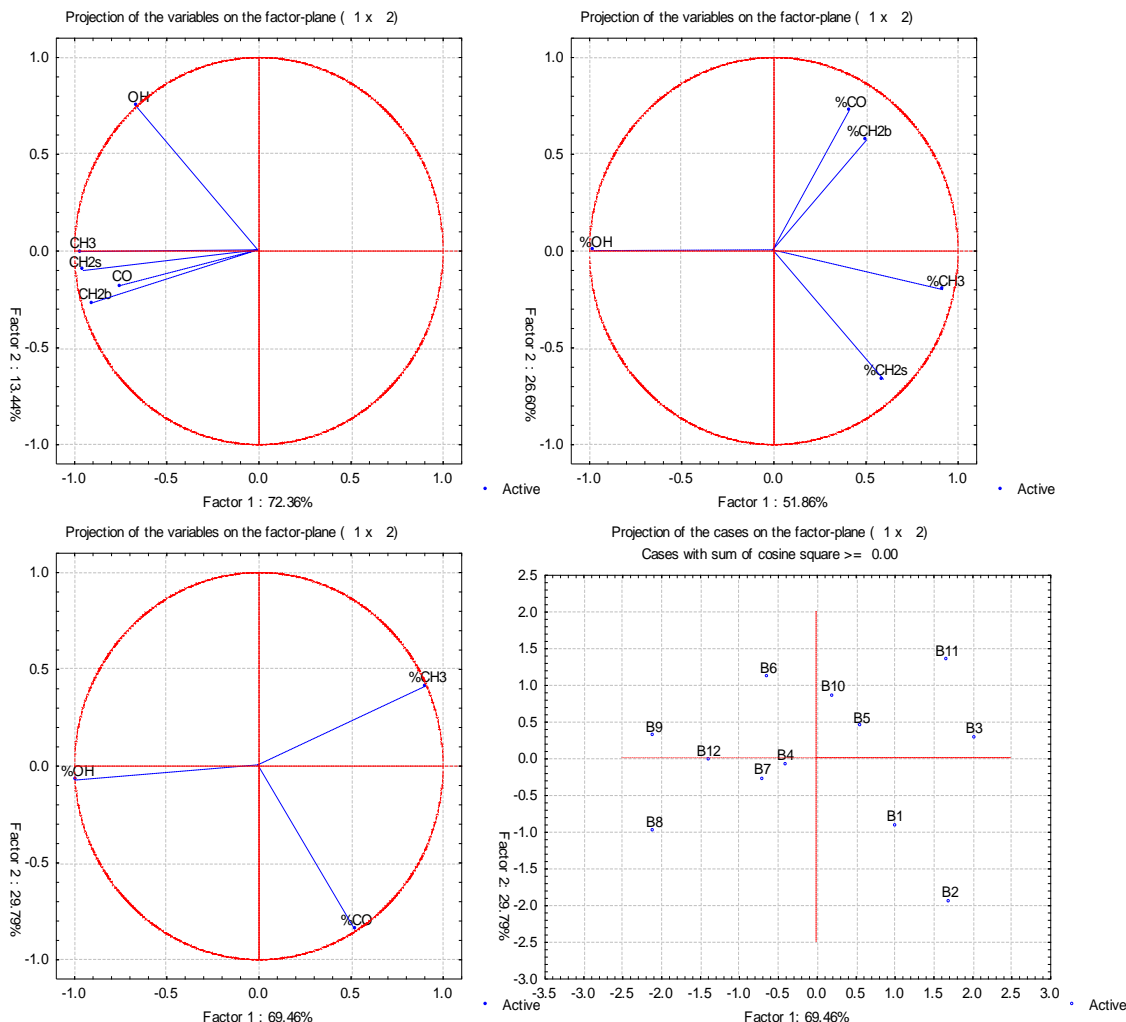


Figura 51. Proyección de (a) las absorbancias absolutas y (b) relativas expresadas en porcentaje de los grupos funcionales sobre el plano de los factores F1 y F2 del análisis de componentes principales basado en correlaciones. Se muestra también la proyección utilizando (c) los porcentajes de los tres grupos seleccionados y (d) la correspondiente de las estaciones.

El análisis de conglomerados con los porcentajes permite distinguir tres principales grupos de estaciones: (a) integrado por las estaciones B8, B9 y B12, (b) por B4 a B7 y B10, y (c) B1 a B3 y B11. Esta agrupación se muestra sobre el mapa de la Figura 52. La clasificación es consistente con las que se obtuvieron anteriormente con las otras variables estudiadas. La diferencia más importante es que las tres estaciones al este del islote (B10, B11 y B12) no aparecen asociadas entre sí. Esto puede estar reflejando que esa zona es mucho más estacionaria que la que se encuentra entre la boca y el petén. También hay que resaltar que con estos resultados se hace visible la influencia de MO del tipo de la que aporta el petén.

Esto es consistente con el hecho de que en esa zona, al interior de la ciénega más allá del área de estudio, se encuentran otros ojos de agua.

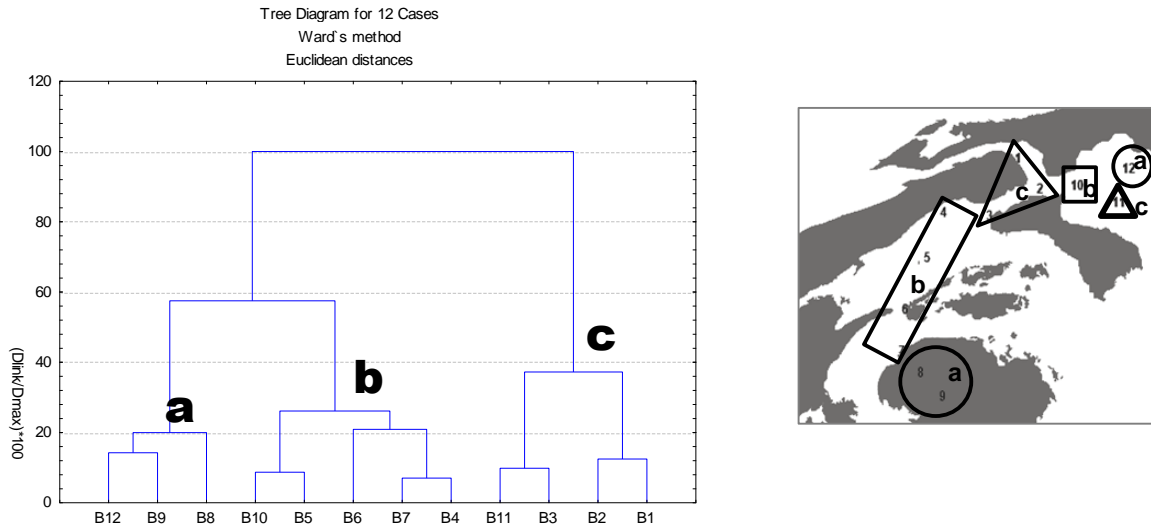


Figura 52. Análisis de conglomerados (método de Ward y distancias euclidianas), en el mapa se ilustra la posición de los grupos.

En la Figura 53 se presentan los gráficos del promedio mensual de cada uno de los grupos de estaciones en el análisis anterior. El porcentaje del grupo CO es muy parecido en los tres grupos (~10%) y que en los grupos a y b tiene poca variación a lo largo del año. En el grupo c sí se alcanza a apreciar una variación a lo largo del año con valor máximo en julio y mínimo en octubre. Como consecuencia de la escasa variación del CO en a y b, los valores de CH₃ y OH varían en forma acoplada, si uno incrementa el otro decrece. Los cambios más pronunciados se observan en los valores de OH. El comportamiento temporal en todo el sistema es muy parecido y se observan nuevamente periodos que parecen asociados a las temporadas climáticas, seca, lluvias y nortes.

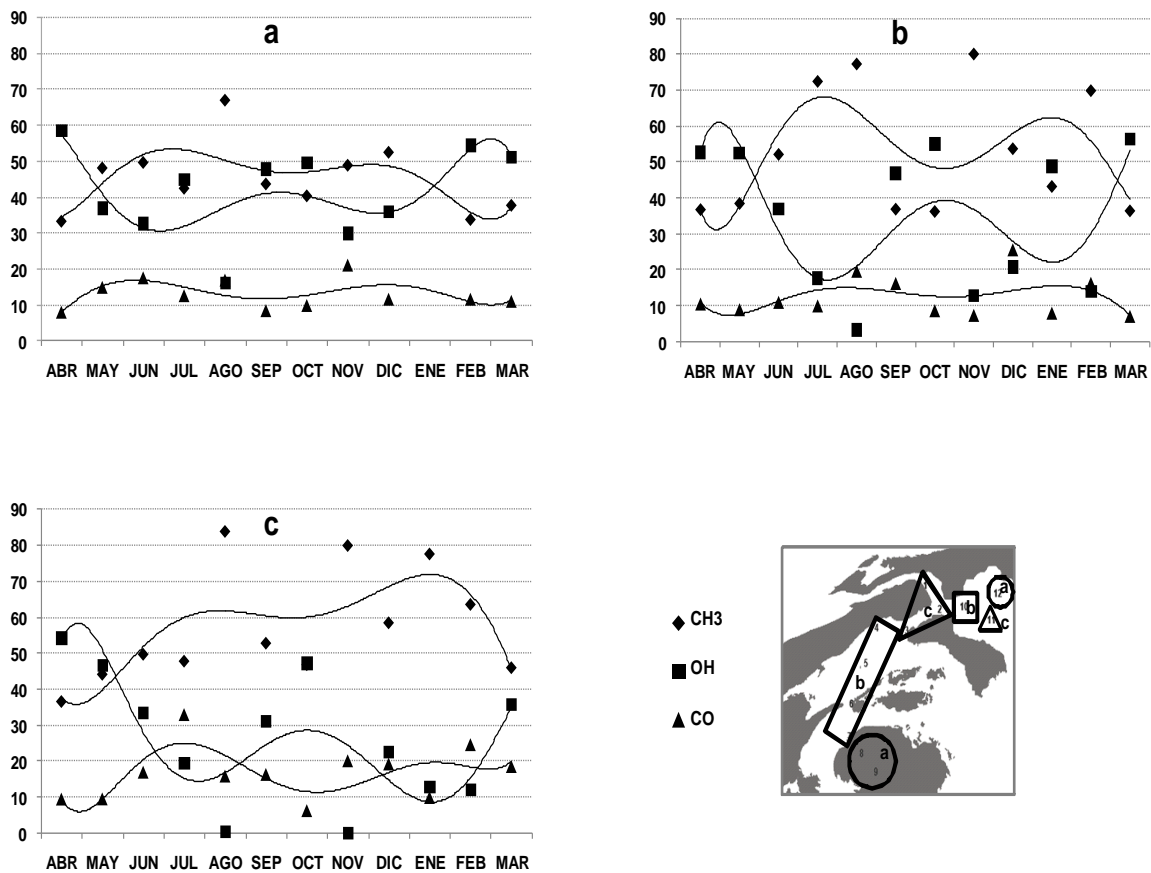


Figura 53. Variación mensual de los grupos funcionales. Promedios mensuales de cada grupo de estaciones.

9.8 Clasificación de los sitios de muestreo considerando todas las variables químicas analizadas en los sedimentos

Es interesante comparar las coincidencias y discrepancias que se obtienen en la clasificación por similitud en las características de la MO de los sedimentos. En la Figura 54 se presentan los dendogramas que se obtienen utilizando por separado y en conjunto los tres esteroides y las tres bandas de absorción de IR seleccionados en las secciones anteriores. También se muestra la clasificación que se obtiene al incorporar el porcentaje de carbono orgánico total. En todos los casos se distinguen claramente tres grupos, uno de influencia francamente marina, otro claramente asociado al agua del acuífero y el tercero con las estaciones donde se presenta la mezcla de estos aportes.

En la Tabla 26 se hace la comparación de estas clasificaciones indicando el grupo al que pertenece cada estación. En todos los casos se agrupan claramente las estaciones B1 a B3, que se encuentran inmediatas a la boca que es la zona con mayor influencia de agua de origen marino y las estaciones B8 y B9 que corresponden al petén que son las de influencia del agua que proviene del acuífero. Las estaciones B4 a B7 que corresponden a la zona de mezcla al oeste del área de estudio también resultan asociadas, excepto con el análisis basado en los tres grupos funcionales determinados por IR. Las excepciones del agrupamiento basado en IR son explicables pues corresponden a estaciones en los "límites" de la zona de mezcla. La estación B5 que se encuentra en el centro de la zona de mezcla donde es más intensa la corriente de agua de entrada y salida provocada por las mareas se clasifica como de influencia marina y la B7 que se encuentra en la entrada del canal de acceso al cenote se agrupa con las estaciones del petén. Lo mismo se observa para las estaciones B10 a B12 que se encuentran al este de la boca, en general la B10 y B11 tienden a ser más parecidas a las de la boca, origen marino, y la B12 tiene influencia de MO de origen no salino. Esto es interesante pues en los parámetros fisicoquímicos de la columna de agua no se aprecia influencia de agua de baja salinidad en esta estación.

Tabla 26. Agrupamiento de las estaciones por análisis de conglomerados con base en las diferentes variables analizadas. MAR: influencia marina (medio salino), ACU: agua del acuífero y MEZCLA: zonas de mezcla.

Estación	Esteroles (EST)	Grupos funcionales de IR (IR)	EST + IR	EST + IR + %COT
B1	MAR	MAR	MAR	MAR
B2	MAR	MAR	MAR	MAR
B3	MAR	MAR	MAR	MAR
B4	MEZCLA	MEZCLA	MEZCLA	MEZCLA
B5	MEZCLA	MAR	MEZCLA	MEZCLA
B6	MEZCLA	MEZCLA	MEZCLA	MEZCLA
B7	MEZCLA	ACU	MEZCLA	MEZCLA
B8	ACU	ACU	ACU	ACU
B9	ACU	ACU	ACU	ACU
B10	MAR	MEZCLA	MAR	MAR
B11	MAR	MAR	MAR	MAR
B12	MEZCLA	ACU	MEZCLA	MEZCLA

A partir de estos resultados se puede proponer que en la MO de los sedimentos del área de estudio se distinguen las siguientes cuatro zonas:

Grupo	Estaciones	Ubicación	Materia orgánica
MAR	B1 a B3, B10 y B11	Inmediatas a la boca.	Importada o endógena que se produce en ambiente de origen marino.
ACU	B8 y B9	Cenote en el petén.	Proviene de la vegetación del petén y por los hongos y bacterias que la descomponen.
MEZCLA O	B4 a B7	Al oeste entre la boca y el petén	Mezcla de las dos fuentes de MO.
MEZCLA E	B12	Al este de la boca cercana a la isla de barrera.	Mezcla de las dos fuentes de MO.

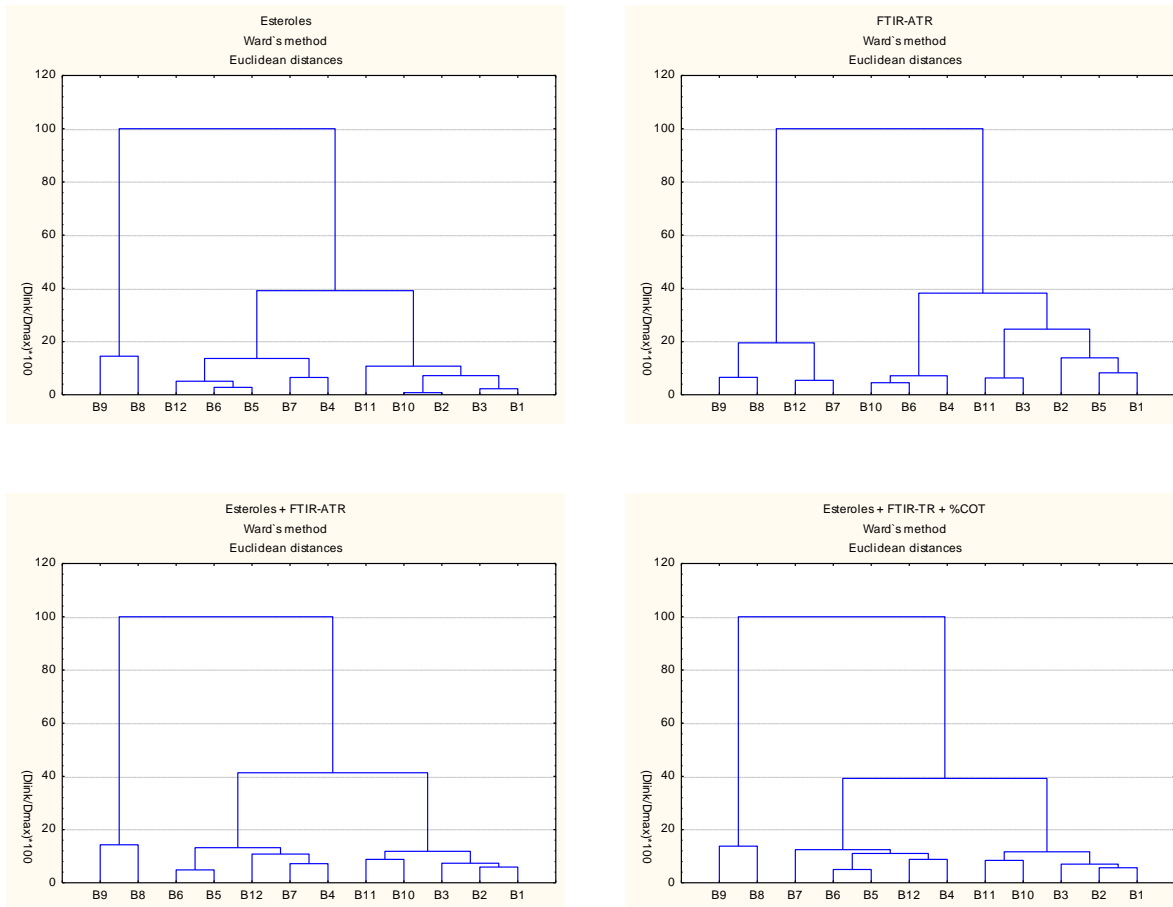


Figura 54. Dendrogramas del análisis de conglomerados utilizando diferentes combinaciones de las variables químicas analizadas en los sedimentos.

Es interesante estudiar la variación de las estaciones B4 a B7 (MEZCLA O) en relación a las zonas de la boca (MAR) y del petén (ACU) y comparar los dos grupos de variables químicas. En la Figura 55 se presentan estos datos. Es evidente la existencia de un gradiente de composición que se refleja en los valores de colesterol y β -sitosterol, que varían de forma inversa. Lo mismo ocurre con los valores de CH_3 y OH. Es evidente que en esta zona hay transporte de sedimentos en ambas direcciones, con estos datos no es posible concluir sobre el flujo neto de MO. Se puede proponer también que el colesterol y el grupo CH_3 están asociados a la MO de medios salinos, en tanto el grupo β -sitosterol y el OH lo están con la que proviene de MO de medios no salobres con vegetación de plantas vasculares terrestres. Con el estigmasterol y el grupo CO no se aprecia un gradiente tan claro y los valores son bastante homogéneos en la zona, posiblemente porque son indicadores de MO producida *in situ* por actividad bacteriana. La relación entre cada esteroide y la banda de IR que parece asociada se muestra en la Figura 56. Los datos correlacionan bien excepto para el estigmasterol y el CO.

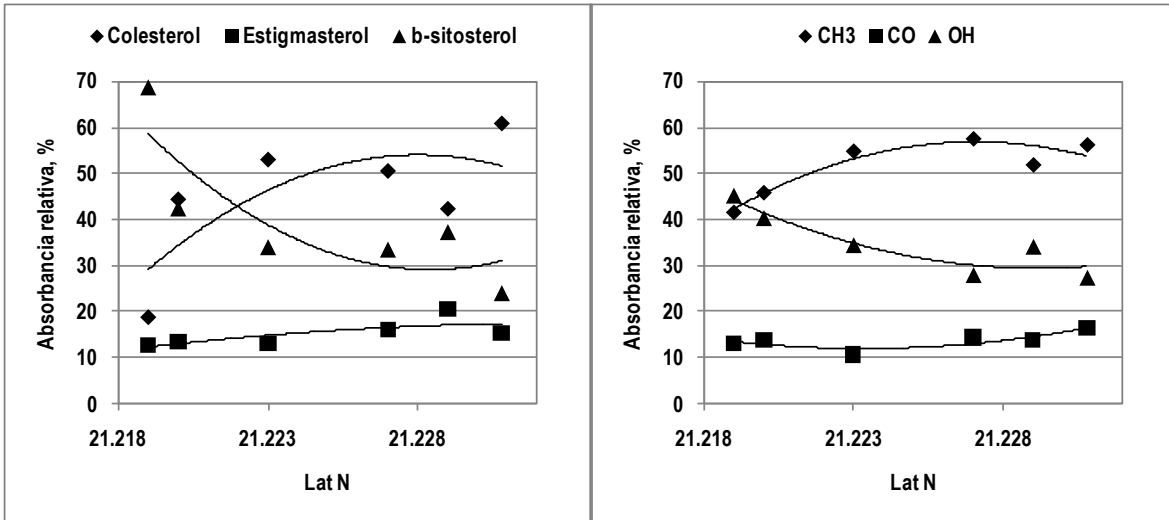


Figura 55. Variación de las proporciones relativas de los esteroides y de la absorbancia de IR de los grupos funcionales en los sedimentos zona de mezcla (B4 a B7) entre el petén (ACU) y la boca (MAR).

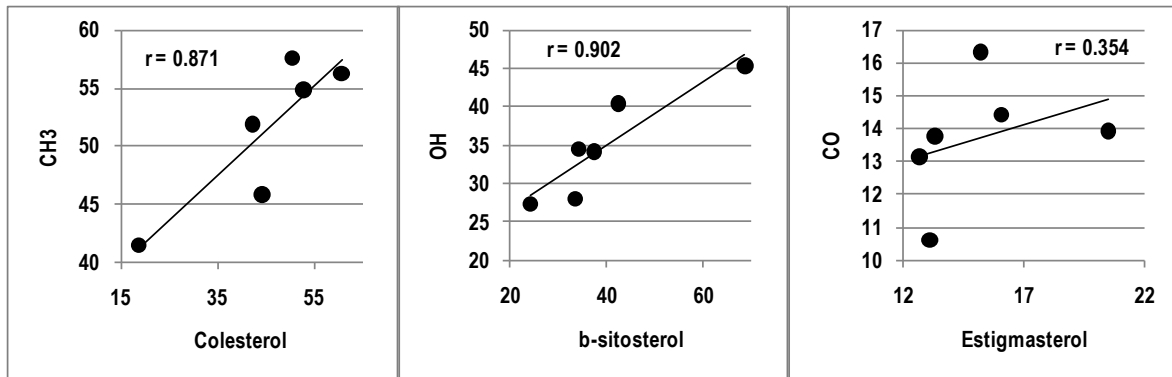


Figura 56. Correlación entre los esteroides y las bandas de absorción de IR en los sedimentos zona de mezcla (B4 a B7) entre el petén (ACU) y la boca (MAR).

9.9 Variación estacional en la composición de la MO de los sedimentos de la Bocana

Como ya se señaló, las características químicas de la MO en los sedimentos están asociadas a las estaciones climáticas. En esta sección se analiza la variación estacional de las siete variables químicas medidas. Las estaciones se agruparon según la clasificación propuesta en la sección anterior y los meses de acuerdo al régimen de precipitación descrito en el capítulo 4: secas, lluvias y nortes. En la Figura 55 se presentan los gráficos correspondientes. Nuevamente el polinomio ajustado que se muestra sólo tiene la intención de señalar la tendencia entre los datos. Se comprueba que no hay un comportamiento estacional homogéneo para todas las variables. Sin embargo se aprecian algunas relaciones interesantes.

Se sabe que el colesterol es principalmente un indicador de MO de origen animal y es el esteroide predominante en las estaciones cercanas a la boca (MAR), donde además se encuentra la mayor concentración de clorofila a y también la mayor abundancia de peces, como se ha observado en otros proyectos realizados simultáneamente en el área (Gallardo, 2011). En contraste es el menos abundante en la zona del petén (ACU) y tiene valores intermedios en las dos zonas de mezcla. No se aprecia una asociación fuerte de este esteroide con los cambios climáticos estacionales salvo una tendencia a aumentar durante todo el año en las zonas de aguas salinas y salobres y a disminuir en el de agua no salina.

En contraste en la zona del petén (ACU) predomina el β -sitosterol que es sobre todo un indicador de plantas vasculares y es el menos abundante en la zona de más influencia marina (MAR). En esta zona y en las de mezcla se encuentra en proporciones similares y no hay una asociación clara estacional, a diferencia de la zona del petén donde sí se aprecia un aumento con las lluvias y nortes, esto sugiere un incremento inicial por escorrentía, que se vuelve más pronunciado en los meses de secas inmediatas, posiblemente por la descomposición de la materia vegetal arrastrada durante los nortes. Cabe recordar que durante el periodo de este estudio las lluvias fueron escasas en la temporada regular y altas en los nortes.

El estigmasterol es un esteroide asociado a plantas superiores y bacterias. Se encuentra en proporciones semejantes en toda el área y con poco cambio estacional, excepto, en la zona del petén que se comporta de manera opuesta al β -sitosterol. Considerando que en esta zona la columna de agua es anóxica y la concentración de clorofila es baja esto sugiere que proviene de bacterias no fotosintéticas que descomponen el material vegetal arrastrado hacia el agua en las temporadas de lluvias y nortes.

También es interesante analizar la variación de los grupos funcionales medidos con FTIR-ATR. En la zona del petén (ACU) se presenta el valor máximo del CH_3 en la temporada de lluvias, en tanto que en la zona de la boca (MAR) y en las de mezcla ocurre en la de nortes. En los valores de OH se observan los valores mínimos en las mismas estaciones. Con los valores de CO la influencia estacional no es tan nítida, en este caso se aprecian valores máximos también en lluvias y nortes, pero para las zonas de mezcla. Aunque no es posible asociarlos de manera directa y simple con orígenes específicos, estos resultados indican que la información que se obtiene de los espectros de IR puede ser una herramienta útil para estudiar la dinámica de la MO de los sedimentos.

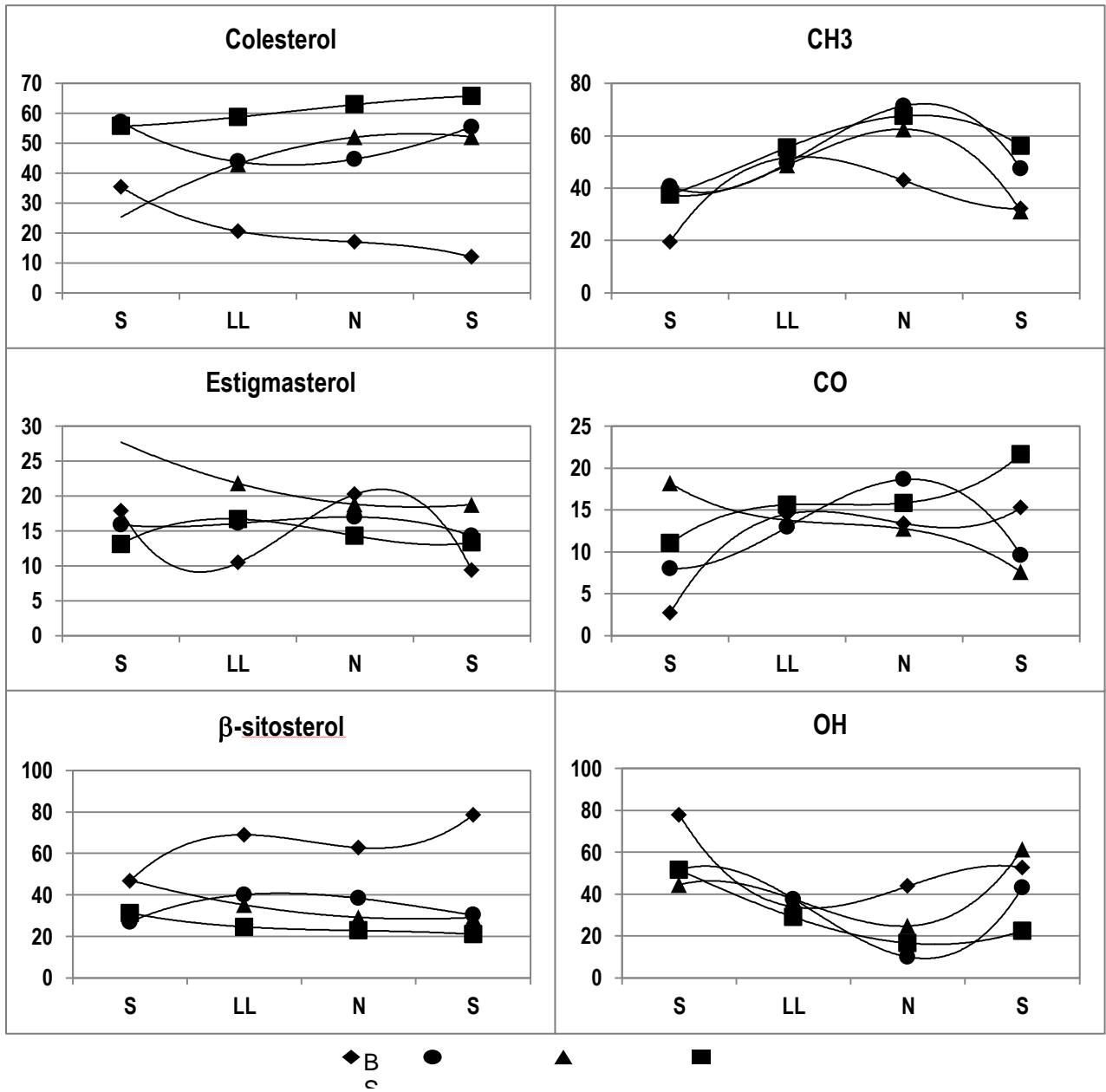


Figura 57. Variación de las propiedades químicas medidas en la MO de los sedimentos con las estaciones climáticas. Datos agrupados por las zonas definidas en la sección 9.8.

10. CONCLUSIONES

10.1 Extracción asistida por microondas de la materia orgánica en los sedimentos

Los resultados muestran que al sustituir la extracción tradicional con Soxhlet por la extracción asistida por microondas se obtienen ventajas operativas importantes pues se reduce el tiempo de extracción por un factor de 10, el consumo de disolvente en un factor de 4 y la cantidad de muestra necesaria por un factor de 2. El rendimiento de extracción, medido como %COT, es equivalente para los dos procedimientos, pero para los esteroides en particular es sensiblemente mejor el que se obtiene con microondas; debido a las diferencias en selectividad de los disolventes utilizados en cada caso que por la técnica en sí misma. Medida como porcentaje de cada uno de los esteroides, la composición cualitativa de la materia extraída con ambas técnicas es similar.

10.2 Saponificación directa de la materia orgánica en el sedimento asistida por microondas

La intención de estas pruebas era comprobar la viabilidad de la extracción y saponificación simultáneamente de los lípidos de los sedimentos con el fin de reducir las etapas en el procesamiento de la muestra. Los resultados indicaron que este procesamiento no es fiable, pues es significativo el efecto de las variables de operación y las características de la matriz sobre la cantidad extraída y la composición del extracto.

10.3 Procedimiento seleccionado para el análisis de los esteroides

El procedimiento finalmente seleccionado para el análisis de esteroides por CG-EM de los derivados silanizados de los esteroides ofrece resultados fiables para los fines de este estudio pues tiene una repetibilidad del orden del 5% y 2 % o mejores para las áreas absolutas y relativas respectivamente.

10.4 Espectroscopia de FTIR-ATR

El análisis por FTIR-ATR es una alternativa rápida y simple que permite obtener información de la composición de la materia orgánica extraída. La repetibilidad del procedimiento desarrollado es de ~5% para las absorbancias relativas y de ~15% para las absolutas. Como los coeficientes de correlación de diluciones del mismo extracto son altos se puede inferir que la principal fuente de variación es la heterogeneidad de la muestra. Tanto la absorbancia total como la de las bandas de absorción individuales varían linealmente con la cantidad de materia orgánica extraída ($r \geq 0.99$) y correlacionan bien con el porcentaje de carbono orgánico total cuando las fuentes de la materia orgánica y los procesos de mezcla son los mismos ($r = 0.998$). La relación funcional entre la absorbancia de infrarrojo y el carbono total parece ser dependiente del origen de la materia orgánica y de los procesos de transporte y degradación. Las absorbancias relativas de los grupos funcionales dependen de la composición cualitativa y permiten diferenciar las fuentes de origen de la materia orgánica y reflejan los procesos de transporte.

10.5 Distribución de materia orgánica en los sedimentos en el área de estudio

Se demostró que con un número reducido de variables químicas (esteroides y grupos funcionales) se puede describir la distribución de la materia orgánica y asociarla en forma general a las fuentes de origen y procesos de transporte. Con cualquier combinación de las variables químicas estudiadas en el análisis de conglomerados se concluye que en el área de estudio hay básicamente cuatro zonas diferenciadas por la composición de la materia orgánica de los sedimentos. Una de características francamente marinas por su salinidad, que corresponde a las estaciones cercanas a la boca (B1 a B3 y B10 y B11), donde se

encuentran los valores más altos de la proporción de colesterol y de absorbancia del grupo CH₃ y de las concentraciones de clorofila-a. Correspondientemente los valores del porcentaje de β -sitosterol y de OH son los más bajos y también los del porcentaje de carbono orgánico total. Otra zona es la del petén (estaciones B8 y B9), con agua que proviene del acuífero, de muy baja salinidad, porcentaje de oxígeno y clorofila a, y en donde los porcentajes de β -sitosterol, OH y carbono orgánico total son los más altos. La tercera zona, donde se encuentran las estaciones B4 a B7 es claramente un área con mezcla de sedimentos que provienen de la boca y del petén, con porcentajes intermedios de los parámetros y donde hay un gradiente tanto en composición como en cantidad. La última zona que se distingue es un área restringida a la estación B12, donde los resultados son ambiguos pero la materia orgánica de los sedimentos tiene características similares a las de la zona de mezcla al oeste de la boca. Los valores de estigmasterol y de absorbancia de los carbonilos son intermedios, sin un patrón de distribución claro. Esto sugiere que hay una actividad bacteriana importante en los sedimentos de toda el área.

10.6 Variación temporal de la materia orgánica de los sedimentos en el área de estudio

La zona de estudio es muy somera y los sedimentos se ven afectados por procesos de transporte de corto plazo que ocurren regularmente como las mareas y otros como el efecto de los vientos sobre la circulación, que tiene un carácter más complejo y aleatorio. En promedio, la temperatura ambiental y la insolación a lo largo del año no presentan cambios muy grandes. Los cambios del clima más significativos corresponden a las temporadas de secas, lluvias y nortes. No se observan patrones claros de cambio mensual y con solo un año de muestreo no es posible verificar la presencia de patrones cíclicos. Aún así, al agrupar los datos de las variables químicas en las cuatro zonas diferenciadas en el área de estudio y en los meses que corresponden a cada temporada se concluye que sí hay un efecto estacional en la cantidad y composición de la materia orgánica en los sedimentos.

10.7 Comentario final

Es importante resaltar como conclusión general de este trabajo, que se demostró que es posible simplificar los procedimientos de análisis químicos y análisis de datos para estudiar la dinámica de la materia orgánica en los sedimentos. No es necesario hacer la especiación completa ni utilizar un número grande de variables químicas para describir de manera general el origen y distribución de la materia orgánica. En este sentido la espectroscopía de infrarrojo es una herramienta promisoría que se ha utilizado poco y que merece ser profundizada y desarrollada para incorporar otras bandas de absorción al análisis de datos que mejoren y amplíen la calidad de la información y sus relaciones con el origen o tipo de materia orgánica.

11. REFERENCIAS

Al-Duri, B. y McKay. Prediction of multisolite adsorption equilibrium en modeling in environmental chemistry. S.E. Jergensen. 1992. Cap 10. Pág .335 Elsevier Science Publishers The Netherlandas.

Alvares-Aviles, O; Cuadra-Rodriguez, L.; Gonzalez-IIIAN, F; Quinones-Gonzales, J; Rosario, O. Optimization of a novel method for the organic chemical characterization of atmospheric aerosols based on microwave-assisted extraction combined with stir bar sorptive extraction. 2007. Vol. 597. No.2. Pág 273-281.

Arthur CL, Pawliszyn J. Anal Chem. 1990. Vol 62. Pág. 2145-2148.

Ayebo A, George M, Terry G. Sterol as Bi-markers for waste Impact and Source Characterization in stream. Journal of Environmental Health. 2006. Pág 46-50.

Badillo Aleman Maribel, Chiappa Carrara Xavier. Variaciones espacio-temporal de la comunidad de peces de la "Boca de la Carbonera" en la costa norte de Yucatán. Comunicación interna, Mérida, Yucatán, 2008.

Barrick R. C., Hedges J.I. and Peterson M.L. Hydrocrabon geochemistry of the Puget Sound region – I. Sedimentary acyclic hydrocarbons. Geochemistry Cosmochemistry. 1980. Acta 44. Pág 1349-1362.

Berner RA. Early Diagenesis: A theoretical Approach. Princeton University Press, Princenton, New Jersey. 1980. Pág 241.

Berrueta L. Chromatography. 1995. Vol 40. No 713. Pág. 474-483.

Bligh E.G. and Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J. Biochem. Physiol.1959. Vol 37. Pág. 911-917.

Boualam M, Quiles F, Mathieu Laurence and Black Jean-Claude. Monitoring the effect of organic matter on Biofilm growth in low nutritive water by ATR/FT-IR Spectroscopy.Biofouling. 2002. Vol 18(1). Pág. 73-81.

Byers, S.C.; E.L. Mills; P.L. Stewart. A Comparison of Methods of Determining Organic Carbon in Marine Sediments, with Suggestions for a Standard Method. Hydrobiologia. 1978. Vol. 58 (I): 43-47.

Calvert S.E, Petersen TF. Organic carbon accumulation and preservation in marine sediments: How important is anoxia? En: Whelan J, Farrington JW (eds.), Organic Matter, University Press, New York. Pág. 231-263. 1992

- Canfield DE.** Factors influencing organic carbon preservation in marine sediments. *Chem. Geol.* Vol. 114.
- Canuel, E.A., Zimmerman, A.W.,** Composition of particulate organic matter in the southern Chesapeake Bay: sources and reactivity. 1999. *Estuaries* 22. Pág. 980-994.
- Carrapico A.I and García C.** Development in Lipid Analysis: Some New Extraction Techniques and in situ transesterification. 2000. Vol 35. No. 11. Pág. 1167-1177.
- Castillo A.** Identificación y cuantificación de PPCP'S en agua residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). Tesis de Maestría, UNAM. Facultad de Química, México, 2009.
- Catálogo de productos para cromatografía.** SULPECO.1999.
- Chavez-Romo D.** Uso de la extracción en fase sólida para la preparación de muestra en el análisis de biomarcadores en sedimentos costeros. Tesis Licenciatura (Químico)-UNAM, Facultad de Química. 2007.
- Christodoulou S, Marty J.C, Mique J.C, Volkman J.K, Rontani J.F.** Use of lipid and their degradation products as biomarkers for carbon cycling in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Chemistry.* (2008) Vol. 113. Pág 25-40.
- Cifuentes J, García M.P, Fría M.** El océano y sus recursos II. Ciencias del mar: Oceanografía geológica y oceanografía química, 1997. Segunda edición. Fondo de cultura económica.
- Colombo J.C, Silverberg N and Gearing J.N.** Lipid biogeochemistry in the Laurentin Through- II. Changes in composition of fatty acids, sterols and aliphatic hydrocarbons during early diagenesis. *Organic. Geochem.* 1997. Vol 26. No ¾. Pág 257-274.
- CONABIO. Comisión Nacional para el conocimiento de la Biodiversidad.** Aguas Continentales y Diversidad Biológica de México (2000).
- CONANP.** Comisión nacional de áreas naturales protegidas. (2001). www.conanp.gob.mx
- Conte, M.H., Eglinton, G., Madureira, L.A.S.** Origin and fate of organic biomarker compounds in the water and sediments of the eastern North Atlantic. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* 1995.B 348. Pág 169-178.
- Convenio de Ramsar.** 1994. Artículo 1. http://www.ramsar.org/cda/es/ramsar-documents-texts-convention-on/main/ramsar/1-31-38%5E20671_4000_2
- F.J. Abarca y M. Cervantes,** Definición y clasificación de humedales. Manual para el Manejo y Conservación de Humedales en México. INE-SEMARNAP. Arizona Game & Fish Department (1996).
- Fahrenfort J.** *Spectrochem. Acta*, 1961, 17, 698.

Fernandes M.B, Sicre M.A, Cardoso J.N. Macedo S.J. Sedimentary 4-desmethyl sterols and n-alkanols in an eutrophic urban estuary, Capibaribe River, Brazil. *The Science of the Total Environment*. 1999. Vol. 231. Pág 1-16.

Fuente M. Baigorri R. González-Gaitano G. García-Mina J. The complementary use of ¹H NMR, ¹³C NMR, FTIR and size exclusion chromatography to investigate the principal structural changes with diverse origin. *Organic Geochemistry*. 2007. Vol 38. Pág. 2012-2023.

Gallardo A, Badillo M, Galindo C, Lorea J, Rioja R, Chiappa X. Recursos acuáticos Costeros del Sureste: Tendencia actuales a la investigación y estado del arte. *Listado taxonómico de peces de la laguna Boca de la Carbonera, Yucatán. 2011.En imprenta.*

Ganzler, K., Salgo, A., and Valko, K. Microwave Extraction. A novel sample preparation method for chromatography. *J. Chromatography*. 1986. Vol. 371. Pág. 299-306.

Ganzler, K., Salgo, A., and Valko, K. Microwave Extraction. A novel sample preparation method for chromatography. *J. Chromatography*. 1986. Vol. 371. Pág. 299-306.

García. Ana I. Carrapico and Carmen, Development in Lipid Analysis: Some New Extration Techniques and in situ transesterification. 2000. Vol 35. No. 11. Pág. 1167-1177.

Gauch A, Deveau Pierre-Alexandre, Jacob Veronique, Baussand Patrick. Use of FTIR spectroscopy coupled with ATR for the determination of atmospheric compounds. *Talanta*. 2006. Vol. 68. Pág. 1294-1302.

Gaudette H.E. Flight L. Folger. A inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments. *J.* 1974. Vol. 44. Pág. 249-253.

Goad LJ, Holz GGJ, Beach DH. *Phytochem.* 1983. Vol 22. Pág 475.

Gobierno Del Estado de Yucatán. Secretaria de Ecología. Programa de Manejo de la Reserva Estatal El Palmar. D.R © Secretaria de Ecología. Edición. 1a (2006).

González Oreja José Antonio. El coprostanol como biomarcador de la contaminación fecal. Una revisión de sus aplicaciones en el medio marino. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 2002. Vol 46, Núm. 4. Pág 341-348.

Guo L. and Santschi P.H. Composition and cycling of colloids in marine environments. *Rev. Geophys.* Vol 35. Pág 17-40.

Han J, McCarthy ED, Van Hoeven W, Calvin M, Bradley WH. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1968. Vol. 59. Pág 29.

Harrick N.J. *Internal Reflection Spectroscopy*. New York: Interscience, 1967.

Hartnett HE, Keil RG, Hedges JI, Devol AH. Influence of oxygen exposure time on organic carbon preservation in continental margin sediments. *Nature* 391. Pág 572-574. 1998.

Hay Michael B, Satish C.B. Myneni. Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. Part 1: Infrared spectroscopy. *Geochimica et Cosmochimica. Acta* 71. 2007. Pág. 3518-3532.

Hedges J.I, Clark WA, Cowie GL. Organic matter sources to the water column and superficial sediments of marine bay, *Limnol. Oceanog.* 1988. Vol. 33. Pág 1116-1136.

Hedges JI., Hu FS, Devol AH, Harnett HE, Tsamaki E, Keil RG. Sedimentary organic matter preservation: A test for selective degradation under oxic conditions. *Am. J. Sci. 1999. Mar. Geol. Vol. 299.* Pág 529-555.

Huang, W.Y., Meinschein, W.G., Sterols as ecological indicator. *Geochimica et Cosmochimica. 1979. Acta* 55. Pág 483-498.

Ittekkot, V. Global trends in the nature of organic matter in river suspensions. *Nature. 1988. Vol. 332.* Pág. 436-438.

Jeronimo G. Gomez-Valdes J. Badillo M, López- Aguilar K. Galindo C. Gallardo A. Lorea J. Arroyo – Pedraza L. Chiappa-Carrara X. Variación estacional de parámetros físicos en la laguna La Carbonera, Yucatán, 2009-2010. "Recursos costeros del Suroeste: tendencias actuales en investigación y estado del arte". 2011. Prensa.

Kawasamura K. Ishiwatari R. and Ogura K. Early diagenesis of organic matter in the water column and sediments; microbial degradation and resynthesis of lipid in Lake Haruna. *Org. Geochemistry. 1987. Vol 4.* Pág. 985-992.

Kennish M. J. *Estuary restoration and maintenance: The National Estuary Program*. CRC Press, Boca Raton, FL.

Knapp D.R. *Handbook of analytical Derivatization Reactions*. 1979. Pág. 459

Kögel-Knaber I. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. *Orga Geochem. 2000. Vol. 31.* Pág 609-625.

Kortum G. *Reflectance Spectroscopy*. New York: Springer, 1969.

Kovac N, Faganeli J, Bajt O, Orel B, Vuk S.A. Investigation of sediment sample from the gulf of Trieste (northern Adriatic) by FTIR spectroscopy. *Journal. 2005. Vol. 52. No 1.* Pág. 81-85.

Kulig Smith. Sterol metabolism. XXV. Cholesterol oxidation by singlet molecular oxygen. *Journal of Organic Chemistry*. 1973. Vol 20. Pág 3639-3642.

Larsson K, Odham G, Södergren A. *Mar Chem*. 1974. Vol 2. Pág 49.

Lee C. Controls on carbon preservation. *New perspectives. Chem. Geo.* 1994. Vol 114. Pág. 285-288.

Loring D.H. The distribution and partition of Zinc Copper and Lead in the sediments of the saquenay fjord. *Can J.Earth Sci.* 1976. Vol 13. Pág. 960-971.

Loring D.H.R.T.T.Rantala. *Geochemical Analyses of Marine Sediments and suspended Particulate Matter. Fisheries and Marine Service. Technical Report 7000.* 1977. Vol 44.

Mackenzie, A.S., Brasell, S.C., Eglinton, G., Maxwell, J.R. Chemil fossil: the geological fate of steroids. 1982. *Science* 217. Pág 491-504.

Madero A. 2000. *Humedales Mexicanos. Disponible en World Wide Web: <http://www.thewildones.org/Habitats/humedales.html>*

Mansour M.P, Volkamn J.K. Blackburn S.I. The effect of growth phase on the lipid class, fatty acid and sterol composition in the marine dinoflagellate, *Gymnodinium sp.* In batch. *Phytochemistry*. 2003. Vol.63. Pág. 145-153

Mansour, M.P, Volkman J.K, Jackson A.E, Blackburn S.I. The fatty acid and sterol composition of live marine dinoflagellates. *J.Phycol.* 1999b. Vol 35. Pág.710-720.

Mantoura, R.F.C., Woodward, E.M.S. Conservative behavior of riverine dissolved organic carbon in the Severn Estuary: Chemical and geochemical implications. *Geochimica Cosmochimica*. 1983. Acta 47. Pág 1293-1309.

Marchard, Marty, J.C, Miquel J.C, Rontani. Lipid and their oxidation products as biomarkers for carbon cycling in the northwestern Mediterranean Sea: results from a sediment trap study. *Marine Chemistry*. 2005. Vol 95. Pág 129-147.

Marion Gfrerer, Ernst Lankamayr. Microwave assisted saponification for PAH analysis in edible oil. 2001.

Martínez Martínez A. *Esteroides. Universidad de Antioquia.* 2002.

Martínez Yrizar A. Los esteros: un importante hábitat costero. *Nuestra Tierra. Primavera del 2006.* Pág 3-8.

Mecozzi M, Moscato F, Pietroletti M, Quarto F, Oteri F, Cicero A.M. Applications of FTIR spectroscopy in environmental studies supported by two dimensional correlation analysis. 2008. Vol 10. No.10. Pág. 1-6

Mecozzi M, Pietrantonio, Amici M and Romannelli Giulia. Determination of carbonate in marine solid samples by FTIR- ATR spectroscopy. *Analyst*. 2001. Vol. 126. Pág 144-146.

Meybeck, M. Carbon, nitrogen and phosphorus transport by world rivers. *Am. J.Sci.* 1982. Vol. 282. Pág 401-450.

Meyers P.A., Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstruction; summary of examples, from the Laurentian Great Lakes. *Organic Geochemistry*. 2003. Pág 261-289.

Millero F.J. *Chemical Oceanography*. (1996), CRC press, inc. Pág.531

Minor E.C, Boon J.J, Harvey H.R and Mannino A. Estuarine organic matter composition as probed by direct temperature- resolved mass spectrometry and traditional geochemical techniques. 2001. Vol. 65. Pág. 2819-2834.

Nickon, A., Bagli, J.F., Reactivity and geometry in allylic systems. I Stereochemistry of photosensitized oxygenation of monoolefins. *Journal of the American Chemical Society*. 1961. Vol 83. Pág 1498-1508.

Niino K.O. Emercy C.M.Kim. *Sedim .Petrol. J. Organic carbon in sediments of japan sea*. 1969. Vol 39. Pág. 1390-1398.

Nishimura M. 5 α -isomers of stanols and stanones as potential markers of sedimentary organic quality and depositional paleoenvironments. *Geochimistry. Cosmochimistry*. 1982. Acta. 46. Pág 423-432

Nishimura M. The Geochemical significance in early sedimentation of geolipids obtained by saponification of lacustrine sediments. *Geochimistry. Cosmochimistry*. 1977. Acta 41, Pág 1817-1823.

Onuska, F.I., Terry, K.A. Extraction of pesticides from sediments using a microwave technique. *Chromatographia*. 1993. Vol 36. Pág 191-194.

P. Dipotet - Barcada y G. de la Lanza-Espino. *Humedales y territorio con humedales. Las aguas Interiores de México, Conceptos y casos*. AGT (2007).

Partono, T., Wolff, G., Organic geochemistry of lacustrine sediments: a record of the changing trophic status of Rostherne Mere, UK. *Organic Geochemistry*. 1998. Vol 28. Pág 729-747.

Pawliszyn J. *Applications of solid phase microextraction*. Royal Society of Analytical Chemistry, Cambridge. 1999.

Pawliszyn, J. *Solid-Phase Microextraction: Theory and Practice*; Wiley-VCH: New York, 1997.

Peña-Alvarez A, Santiago Capella, Rocío Juárez Carmen Labastida. Determination of terpenes in tequila by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. Volume 1134, 2006, Pág. 291-297.

Pinto L, Bonert C. Origen y distribución espacial de hidrocarburos alifáticos en sedimentos de seno Aysén y canal Moraleda, Chile Austral. *Ciencia y Tecnología Marina*. 2005. Vol. 28. No. 1. Pág 35-44.

POETCY. Programa de Ordenamiento ecológico del territorio costero del Estado de Yucatán (Julio 2007).

Programa de manejo de la reserva estatal el palmar. Secretaría de ecología. Primera edición, 2006. Pág 98.

PRONATURAS. Sistema de Monitoreo Ambiental y centro de Datos de Biodiversidad para los humedales de la costa del estado de Yucatán, México. Apoyado y financiado por: NAWCC, U.S. Fish & Wildlife Service, University of Colorado at Boulder y SEMARNAP. (1996). Vol 132.

Proyecto PAPIIT 1N207609. Variaciones espacio temporales de la comunidad de peces de la Boca de la Carbonera en la costa norte de Yucatán. Bajo la dirección del doctor Javier Chiappa.

Ramírez Maya Erika M., Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina por microextracción en fase sólida- extracción directa- cromatografía de gases espectrometría de masa (MEFS-EDCG-EM), Tesis Maestría, UNAM, Facultad de Química, México, 2007.

Ran Y. Sun K, Xing B. Characterization of condensed organic matters in soils and sediments from the Pearl River delta, south China. *Journal Chinese*. 2007. Pág. 19-23.

Robert C. Brown and Terry L. Wade. Sedimentary coprostanol and hydrocarbon distribution adjacent to a sewage outfall. 1984. Vol. 18. No. 5. Pág 621-632.

Rontani J.F and Marchand D. Photoproducts of phytoplanktonic sterols: a potential source of hydroperoxides in marine sediments?. *Organic Geochemistry*. 2000. Vol.31. Pág.169-180.

Rontani J.F, Zabeti N. Wakeham S.G. The fate of marine lipids: Biotic vs. abiotic degradation of particulate sterol and alkenones in the Northwestern Mediterranean Sea. *Marine Chemistry*. 2009. Vol. 113. Pág 9-18.

Rontani, J.F. Photooxidative and autoxidative degradation of lipid component during the senescence of phototrophic organism. *Nova Science Publishers*. 2008. Pág. 115-144.

Rontani, J.F. Photoproducts of phytoplanktonic sterols: a potencial source of hydroperoxides in marine sediments. *Organic Geochemistry*. 2008. Vol 31. Pág. 169-180.

Rontani, J.F. Visible light-dependent degradation of lipid phytoplanktonic components during senescence. *Phytochemistry*. 2001. Vol 58. Pág. 187-202.

Sacca C, Sacca D, Nucera P. Chemical, mineralogical and granulometric features of Pleistocene sediments near Saponara (Messina). *Journal*. 2003. Vol. 1. Pág. 131-138.

Saliot A, Laureillard J, Scribe P, Sicre M.A. Evolutionary trends in the lipid biomarker approach for investigating the biogeochemistry of organic matter in the marine environment. *Marine Chemistry*. 1991. Vol 36. Pág. 233-248.

Schult HD, Zabel M. *Marine Geochemistry*. Springer, Berlin. 2000. Pág. 1-26.

Seiter K, Hensen C, Schröter J, Zabel M. Organic carbon in surface sediments- defining regional provinces. *Deep-Sea. Res.I*. 2004. Vol. 51. Pág 2001-2026.

Shaka H, Saliba N.A. Concentration measurements and chemical composition of PM 10-2.5 and 2.5 at a coastal site Beirut, Lebanon. *Atmospheric Environment*. 2004. Vol 38. Pág. 523-531.

Skoog, Holler, Nieman. *Principios de análisis instrumental*. Quinta Edición. Mc Graw Hill. 2001. Pág. 435-461.

Stéphane Christodoulou, Jean-Claude Marty, Juan-Carlos Miquel, John K.Volkman, Jean-Francois Rontani. Use of lipid and their degradation products as biomarkers for carbon cycling in the northwestern Mediterranean Sea. 2009. Vol. 113. Pág 25-40.

Sun Ke, Ran Yong, Yu, Zeng Yong-Ping, Xing Baoshan. Characterization of condensed organic matter in soils and sediments. 2007. Vol. 35. No. 8. Pág. 1164-1167.

Sun, M.-Y, Cai, W.-J., Joye, S.B., Ding H., Dai, J., Hollibaugh, J.T. Degradation of algal lipids in microcosm sediments with different mixing regimens. *Organic Geochemistry*. 2002. Vol. 33, 445-459.

Tolosa I, LeBlond Nathalie, Copin-Montégut, Jean-Claude Marty, Stephen de Mora, Louis Prieur. Distribution of sterol and fatty alcohol biomarkers in particulate matter from the frontal structure of the Alboran Sea. *Marine Chemistry*. 2003. Vol. 82. Pág. 161-183.

Vega-Cendejas M.E y Arreguín-Sánchez. Energy fluxes in a mangrove ecosystem from a coastal lagoon in Yucatan Peninsula, Mexico. *Ecological Modelling*. 2001. Vol. 113. Pág. 119-133.

Vega-Cendejas M.E, Mexicano-Cintora, Arce A.M. Biology of the thread herring *Opisthonema oglium* from a beach seine fishery of the Campeche Bank, Mexico. *Fisheries Research*. 1998. Vol. 30. Págs 117-126

Volkman JK, Barrett SM, Dunstan GA, Jeffrey SW. *Org Geochem*. 1993. Vol 20. Pág 7.

Volkaman JK, Smith DJ, Eglinton G, Forsberg TEV, Corner EDS. *J Mar Biol Asspc UK.* 1981. Vol. 61. Pág 509.

Volkaman JK. A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Organic Geochemistry.* 1986. Vol 9. Pág 83-89.

Volkaman JK. Sterol in microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 2003. Vol 60. Pág 495-506.

Volkman J.K, Rijpstra W.I.C, Mansour M.P, Jackson A.E, Blackburn S.I. Sterols of four dinoflagellates from the genus *Prorocentrum*. *Phytochemistry.* 1999. Vol 52. Pág. 659-668.

Wade L.G. *Química Orgánica.* 5° Edición. Person Prentice Hall. Capitulo 12. Pág 490 – 530.

Wakeham, S.G. Lipid biomarkers for heterotrophic alteration of suspended particulate matter in oxygenated and anoxic water columns of the ocean. *Deep- Sea Research I.* 1995. Vol. 42. Pág 1749-1771.

Wakeham, S.G., Lee, C., Hedges, J.I., Hernes, P.J., Peterson, M.L., Molecular indicators of diagenetic status in marine organic matter. *Geochim. Cosmochim.* 1997b. Acta 24. Pág. 5363-5368.

Wei Shi, Ming-Yi Sun, Marirosa Molina, Robert E. Hodson. Variability in the distribution of lipid biomarkers and their molecular isotopic composition in Altamaha estuarine sediments: implications for the relative contribution of organic matter from various sources. *Organic Geochemistry* , 2001. Vol 32. Pág 453-467.

Wilson S, Bums K, Codi S. Identifying sources of organic matter in sediments from a detritivorous coral reef fish territory. 2001. Vol 32. Pág 1257 – 1269.

Z.Song, E.Chouparova K.W. Jones, H. Feng and N.S.Marinkovic *FTIR Investigation of sediments from NY/NJ Harbor, San Diego, and the Venetian Lagoon. Science Highlights.* 2001. Vol. 2. Págs. 112-116.

12. ANEXO

Fechas de la recolección de muestras de sedimentos.

Número de Salidas	Fechas
1	21-ene-09
2	11-feb-09
3	04-mar-09
4	01-abr-09
5	29-abr-09
6	20-may-09
7	15-jun-09
8	01-jul-09
9	12-ago-09
10	09-sep-09
11	07-oct-09
12	06-nov-09
13	02-dic-09
14	18-ene-10
15	15-feb-10
16	10-mar-10
17	07-abr-10

Datos de la Extracción asistida con el microondas y con el Soxhlet de la materia orgánica de los sedimentos. Donde se representan los valores de %COT en los sedimentos antes y después de realizar la extracción. Para esta evaluación se utilizaron submuestras de los sedimentos de las estaciones B1 a B11 del mes abril.

	ANTES DE EXTRACCIÓN	EXTRACCIÓN SOXHLET	EXTRACCIÓN MICROONDAS	EXTRACCIÓN SOXHLET	EXTRACCIÓN MICROONDAS
	%COT	%COT	%COT	% Recobro	% Recobro
B1	0.55	0.08	0.04	85.97	92.14
B2	0.86	0.24	0.15	71.82	82.47
B3	1.47	0.78	0.36	47.26	75.56
B4	2.18	1.63	0.12	25.11	94.50
B5	1.91	0.24	0.90	87.37	52.86
B6	9.15	0.33	0.00	96.36	100.00
B7	9.15	0.44	0.90	95.14	90.16
B8	8.33	0.22	0.30	97.33	96.40
B9	4.79	0.53	0.60	88.87	87.47
B10	1.76	0.83	0.75	52.78	57.50
B11	6.40	0.33	0.25	94.79	96.10
Promedio	4.23	0.52	0.40	76.62	84.10
Suma	51.93	6.00	4.37	842.80	925.15

Promedio Anual de los Parámetros Físicoquímicos durante el periodo de abril del 2009 a marzo del 2010.

	Prof	%O2	T	pH	STD	Clor a
ABR	39.49	42.14	0.96	0.21	0.63	1.76
MAY	22.68	20.34	2.02	0.11	2.57	1.18
JUN	31.68	38.51	1.43	0.56	1.39	1.49
JUL	32.62	56.79	2.71	0.47	9.23	11.64
AGO	70.54	56.85	3.44	0.40	10.19	3.72
SEP	74.49	38.25	2.84	0.38	1.50	
OCT	50.00	49.65	2.88	0.49	19.12	2.78
NOV	41.89	31.21	1.10	0.44	12.57	7.13
DIC	47.84	32.97	1.11	0.36	10.59	3.70
ENE	28.97	34.44	1.11	0.54	10.77	5.84
FEB	41.84	32.15	2.60	0.32	3.32	1.82
MAR	37.22	45.70	2.35	0.56	16.47	3.08

Contenido de %COT en las muestras de la BC, del periodo de abril de 2009 a marzo de 2010.

DATOS	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO
B1	0.55	0.94	0.32	0.38	0.04	0.71	0.58	0.76	0.56	1.20	2.07	0.80
B2	0.86	0.15	0.15	0.73	0.96	0.92	0.98	0.76	0.50	1.25	0.64	1.26
B3	1.47	0.60	0.48	0.16	0.60	1.32	0.98	0.76	1.35	2.80	0.96	0.36
B4	2.18	0.12	1.56	1.57	1.32	3.00	2.84	3.05	2.24	3.20	2.89	0.12
B5	1.91	2.76	1.20	1.57	1.44	2.64	2.73	2.18	2.47	3.00	2.74	1.80
B6	9.15	1.04	8.70	5.74		5.59	8.18	5.45	2.24		3.75	1.50
B7	9.15	4.70	22.50	3.91	1.80	10.17	21.82	8.18	12.50		15.00	15.60
B8	8.33				9.90	24.92	12.55	26.73	18.50		23.04	16.20
B9	4.79	14.09	18.90	7.04	9.60	21.36	27.27	30.55	32.52		31.00	27.00
B10	1.76	1.20	0.60		10.20	4.07	5.45	3.82	1.96	7.50	1.07	2.40
B11	5.78	0.75	1.13	3.91	1.50	0.45	4.55	3.18	2.34	2.38	2.50	5.00
B12	4.73	0.13	2.13	3.37	1.00	1.14	3.64	1.79	3.50	4.38	1.34	1.50
Promedio	4.22	2.41	5.24	2.84	3.49	6.36	7.63	7.27	6.72	3.21	7.25	6.13
Máx	9.15	14.09	22.50	7.04	10.20	24.92	27.27	30.55	32.52	7.50	31.00	27.00
Min	0.55	0.12	0.15	0.16	0.04	0.45	0.58	0.76	0.50	1.20	0.64	0.12
Mediana	3.45	0.94	1.20	2.47	1.44	2.82	4.09	3.12	2.29	2.90	2.62	1.65

%Área de los tres esteroides en las muestras de la BC, del periodo de abril del 2009 a marzo de 2010.

B1	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.6166	0.5502	0.5616	0.0864	0.5796	0.5469	0.5634	0.5807	0.5936	0.6488	0.6754	0.6890
ESTIGMASTEROL	0.0000	0.1688	0.1791	0.3236	0.1908	0.1894	0.1882	0.1700	0.1740	0.1574	0.0944	0.1262
B-SITOSTEROL	0.3834	0.2809	0.2593	0.5899	0.2296	0.2637	0.2484	0.2493	0.2324	0.1937	0.2302	0.1848

B2	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.5425	0.6179	0.5863	0.5856	0.5038	0.6155	0.5459	0.7514	0.6566	0.6177	0.6222	0.6546
ESTIGMASTEROL	0.1991	0.1270	0.1650	0.1421	0.1747	0.2022	0.1955	0.1025	0.1466	0.1501	0.1691	0.1461
B-SITOSTEROL	0.2583	0.2551	0.2487	0.2723	0.3216	0.1823	0.2586	0.1461	0.1967	0.2322	0.2087	0.1992

B3	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.5893	0.5875	0.6939	0.5987	0.4797	0.5449	0.6030	0.6648	0.4538	0.4468	0.6034	0.6114
ESTIGMASTEROL	0.1669	0.1108	0.2586	0.1632	0.1972	0.2138	0.1798	0.1411	0.2132	0.1327	0.1657	0.1417
B-SITOSTEROL	0.2438	0.3017	0.0475	0.2381	0.3231	0.2413	0.2172	0.1940	0.3330	0.4206	0.2309	0.2468

B4	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.5333	0.5327	0.4702	0.4806	0.3133	0.4168	0.5167	0.0805	0.3159	0.5064	0.4526	0.4429
ESTIGMASTEROL	0.1403	0.1611	0.1954	0.1893	0.1248	0.1876	0.1882	0.3745	0.1472	0.1956	0.3177	0.2406
B-SITOSTEROL	0.3265	0.3062	0.3345	0.3301	0.5618	0.3956	0.2951	0.5450	0.5369	0.2980	0.2296	0.3165

B5	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.6344	0.5522	0.3389	0.4076	0.5527	0.4845	0.4533	0.3881	0.5742	0.7134	0.4270	0.5210
ESTIGMASTEROL	0.1548	0.1201	0.1707	0.1591	0.2103	0.1576	0.1862	0.1962	0.1442	0.1082	0.1697	0.1540
B-SITOSTEROL	0.2109	0.3277	0.4903	0.4333	0.2370	0.3579	0.3605	0.4158	0.2816	0.1784	0.4033	0.3250

B6	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.6216	0.5412	0.3572	0.4167		0.2621	0.2853	0.5416	0.5893		1.0000	0.6708
ESTIGMASTEROL	0.1551	0.1871	0.1127	0.1608		0.1728	0.1910	0.1485	0.1016		0.0000	0.0816
B-SITOSTEROL	0.2233	0.2717	0.5301	0.4225		0.5651	0.5237	0.3099	0.3091		0.0000	0.2475

B7	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.4941	0.5957	0.3900	0.8776	0.3519	0.1573	0.3185	0.4394	0.3191		0.5405	0.3825
ESTIGMASTEROL	0.1847	0.1621	0.1125	0.0944	0.1348	0.1835	0.1356	0.1273	0.1552		0.0877	0.0891
B-SITOSTEROL	0.3212	0.2422	0.4976	0.0280	0.5134	0.6592	0.5458	0.4333	0.5257		0.3718	0.5283

B8	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.1951				0.2042	0.1050	0.0572	0.1838	0.1060		0.0812	0.0976
ESTIGMASTEROL	0.1261				0.1356	0.1412	0.0901	0.1116	0.0881		0.0765	0.0701
B-SITOSTEROL	0.6788				0.6603	0.7538	0.8527	0.7046	0.8059		0.8423	0.8323

B9	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.5128	0.2760	0.1794	0.2590	0.2116	0.2774	0.2832	0.1522	0.2363		0.0864	0.2137
ESTIGMASTEROL	0.2304	0.0812	0.1042	0.0844	0.0977	0.0965	0.1072	0.1186	0.4915		0.1223	0.1044
B-SITOSTEROL	0.2568	0.6428	0.7164	0.6566	0.6907	0.6261	0.6096	0.7292	0.2722		0.7914	0.6818

B10	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.4556	0.5900	0.5543	0.6396	0.5236	0.5821	0.5424	0.6743	0.6677	0.7300	0.7648	0.6756
ESTIGMASTEROL	0.1477	0.1631	0.1877	0.1530	0.2114	0.1938	0.1858	0.1275	0.1290	0.1063	0.0960	0.1345
B-SITOSTEROL	0.3967	0.2469	0.2580	0.2075	0.2650	0.2241	0.2718	0.1982	0.2033	0.1637	0.1392	0.1899

B11	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL	0.5795	0.6737	0.6736	0.8437	0.5834	0.7539	0.8122	0.6038	0.6337	0.7148	0.7554	0.5215
ESTIGMASTEROL	0.1411	0.0960	0.1178	0.0412	0.1482	0.0892	0.0519	0.1414	0.1617	0.0915	0.0869	0.1713
B-SITOSTEROL	0.2794	0.2304	0.2086	0.1151	0.2684	0.1569	0.1359	0.2548	0.2046	0.1938	0.1577	0.3072

B12	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
COLESTEROL		0.5220	0.5112	0.0000	0.5450	0.4859	0.5186	0.4780	0.5723	0.5098	0.5216	0.5207
ESTIGMASTEROL		0.1696	0.2145	0.2991	0.1968	0.2280	0.2002	0.2013	0.1708	0.1926	0.2080	0.1673
B-SITOSTEROL		0.3084	0.2743	0.7009	0.2582	0.2861	0.2812	0.3208	0.2569	0.2976	0.2704	0.3120

Datos del promedio anual de cada esteroide por estaciones.

	COLESTEROL	ESTIGMASTEROL	β -SITOSTEROL
B1	0.5577	0.1635	0.2788
B2	0.6083	0.1600	0.2317
B3	0.5731	0.1737	0.2532
B4	0.4218	0.2052	0.3730
B5	0.5039	0.1609	0.3351
B6	0.5286	0.1311	0.3403
B7	0.4424	0.1334	0.4242
B8	0.1288	0.1049	0.7663
B9	0.2444	0.1489	0.6067
B10	0.6167	0.1530	0.2304
B11	0.6791	0.1115	0.2094
B12	0.4714	0.2044	0.3242

%Área de grupos funcionales en las muestras de la BC, del periodo de abril del 2009 a marzo de 2010.

B1	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.6907	0.4125	0.5137	0.1929	0.0000	0.1983	0.3792	0.0000	0.3977	0.6313	0.0000	0.0000
CH3	0.2532	0.4896	0.3216	0.3638	0.8855	0.6119	0.5732	0.8836	0.4193	0.2316	0.7459	0.6973
C=O	0.0561	0.0980	0.1648	0.4434	0.1145	0.1898	0.0476	0.1164	0.1830	0.1371	0.2541	0.3027

B2	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.3967	0.5603	0.7490	0.1595	0.0176	0.1464	0.5149	0.0000	0.4987	0.0000	0.0000	0.0000
CH3	0.5341	0.3404	0.1975	0.2478	0.7896	0.6879	0.4590	0.6394	0.3287	0.8417	0.6283	0.7006
C=O	0.0692	0.0993	0.0535	0.5927	0.1927	0.1657	0.0261	0.3606	0.1727	0.1583	0.3717	0.2994

B3	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.5513	0.4737	0.0000	0.1107	0.0000	0.5412	0.6299	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.4855
CH3	0.2864	0.4611	0.8902	0.6171	0.7962	0.1580	0.3252	0.8410	0.8283	0.9443	0.8438	0.3250
C=O	0.1623	0.0652	0.1098	0.2722	0.2038	0.3008	0.0449	0.1590	0.1717	0.0557	0.1562	0.1895

B4	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.3844	0.5228	0.4820	0.0000	0.0648	0.5357	0.5184	0.3800	0.0000	0.4880	0.0000	0.7250
CH3	0.5075	0.3889	0.4525	0.8798	0.6577	0.2051	0.3704	0.5359	0.7609	0.4319	0.8438	0.1917
C=O	0.1081	0.0883	0.0656	0.1202	0.2775	0.2591	0.1112	0.0841	0.2391	0.0801	0.1562	0.0834

B5	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.5786	0.3997	0.4111	0.1931	0.0000	0.4408	0.4009	0.0000	0.0000	0.0000	0.0647	0.8677
CH3	0.3137	0.4808	0.3632	0.5343	0.8198	0.4760	0.5473	0.8786	0.7598	0.9165	0.7142	0.1070
C=O	0.1077	0.1195	0.2257	0.2726	0.1802	0.0832	0.0519	0.1214	0.2402	0.0835	0.2210	0.0253

B6	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.7508	0.5280	0.3824	0.4143		0.4018	0.4358	0.0000	0.0000		0.0000	0.5389
CH3	0.2305	0.3809	0.4868	0.5119		0.5329	0.4883	1.0000	0.5772		0.8678	0.4119
C=O	0.0186	0.0911	0.1308	0.0738		0.0653	0.0759	0.0000	0.4228		0.1322	0.0493

B7	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.3419	0.4077	0.3618	0.4609	0.2254	0.4690	0.5858	0.0262	0.6829		0.3148	0.5708
CH3	0.5726	0.4651	0.4897	0.4527	0.5757	0.4656	0.3542	0.5675	0.2056		0.5264	0.3625
C=O	0.0856	0.1272	0.1485	0.0864	0.1990	0.0655	0.0599	0.4063	0.1115		0.1588	0.0667

B8	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.7782			0.3067	0.2546	0.4825	0.4416	0.2482	0.3914		0.4373	0.5451
CH3	0.1950			0.5037	0.5303	0.4513	0.4392	0.5552	0.4390		0.4132	0.2920
C=O	0.0269			0.1896	0.2150	0.0661	0.1192	0.1966	0.1695		0.1495	0.1629

B9	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.7782	0.3001	0.3878		0.1630	0.3739	0.6272	0.4273	0.6836		0.5068	0.5052
CH3	0.1950	0.5854	0.4713		0.6302	0.5178	0.2400	0.4829	0.2369		0.3511	0.3439
C=O	0.0269	0.1145	0.1409		0.2068	0.1083	0.1328	0.0898	0.0795		0.1421	0.1509

B10	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.4456		0.2429	0.1154	0.0000	0.3698	0.6976	0.0000	0.6247	0.4042	0.4194	0.4292
CH3	0.3651		0.6235	0.7782	0.8856	0.4238	0.2290	0.8619	0.2719	0.4134	0.3814	0.4894
C=O	0.1893		0.1336	0.1063	0.1144	0.2064	0.0735	0.1381	0.1034	0.1825	0.1993	0.0813

B11	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.4902	0.4796	0.0000	0.3067	0.0000	0.2237	0.4310	0.0000		0.0000	0.4753	0.4278
CH3	0.4366	0.4314	0.7091	0.6231	0.9009	0.7024	0.4329	0.7532		0.9445	0.3227	0.4653

C=O	0.0732	0.0890	0.2909	0.0702	0.0991	0.0739	0.1361	0.2468	0.0555	0.2020	0.1069
------------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

B12	Abril	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo
OH	0.4437	0.3979	0.2307	0.5767	0.0000	0.5862	0.4617	0.4946	0.0000	0.5009	0.8116	0.4170
CH3	0.3745	0.3946	0.5298	0.3200	0.9408	0.3151	0.4202	0.3511	0.8993	0.2906	0.1396	0.4805
C=O	0.1818	0.2075	0.2395	0.1033	0.0592	0.0987	0.1181	0.1543	0.1007	0.2085	0.0488	0.1025

Datos del promedio y desviación estándar anual de cada grupo funcional.

	Promedios			Desviación				
	Secas	Lluvias	Nortes	Secas	Secas	Lluvias	Nortes	Secas
CH3 a	33.4250	49.2638	50.4571	35.8697	18.0015	13.4214	20.9088	13.8181
CH3 b	36.7741	52.4772	63.4245	53.1003	13.8508	20.8527	25.3901	27.0093
CH3 c	36.4807	54.1216	72.9313	53.7326	11.7312	20.8893	23.5735	24.4804
OH a	58.5468	37.3695	32.4475	52.7685	22.6345	14.9543	24.9344	16.7802
OH b	52.6914	35.6116	21.3233	35.2070	19.6302	21.8779	27.5212	29.4053
OH c	54.1504	29.6217	10.9118	25.0697	10.8773	22.1020	22.1650	32.2467
CO a	8.0281	13.3667	17.0954	11.3618	7.3122	5.7287	11.2704	4.8595
CO b	10.5345	11.9111	15.2522	11.6927	8.5351	6.4804	13.9265	5.5721
CO c	9.3689	16.2566	16.1570	21.1977	4.2823	12.5741	8.1580	10.7689

Promedio anual de cada grupo funcional por estación.

Estaciones	OH	CH3	C=O
B1	0.2847	0.5397	0.1756
B2	0.2536	0.5329	0.2135
B3	0.2327	0.6097	0.1576
B4	0.3417	0.5188	0.1394
B5	0.2797	0.5759	0.1443
B6	0.3452	0.5488	0.1060
B7	0.4043	0.4580	0.1378
B8	0.4317	0.4243	0.1439
B9	0.4753	0.4055	0.1192
B10	0.3408	0.5203	0.1389
B11	0.2577	0.6111	0.1312
B12	0.4101	0.4547	0.1352