

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



**VARIACIÓN ESPACIO- TEMPORAL EN EL PERFIL DE ÁCIDOS
GRASOS EN LA BOCANA DE LA CARBONERA DE SISAL EN LA
COSTA NOROESTE DE YUCATÁN**

TESIS

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

Química Acuática

Presenta

Andrea Camacho Rico

Director de Tesis: M en C. Santiago Capella Vizcaíno

Comité Tutorial: Dra. Araceli Patricia Peña Álvarez

Dr. Xavier Chiappa Carrara

Dr. Martín Merino Ibarra

Dr. Gabriela Rodríguez Fuentes

México 20011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA

A mí papá y mamá por ser mi ejemplo más grande de superación, trabajo y constancia.

A tí papa por permitirme realizar mis sueños, por siempre apoyarme en la realización de ellos, por creer en mí, y por el día a día que siempre has estado ahí, porque sin tí nada de esto sería posible.

A tí mama por ser el soporte, cimiento y motor de las ideas que se vuelven sueños y que finalmente he realizado.

A mí hermano, por acompañarme a lo largo de mi vida en todo momento.

A mis abuelos, por su apoyo y esperanza en mí.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de México por permitirme formar parte de la máxima casa de estudios, por la enseñanza y experiencia.

Al proyecto PAPIIT (IN207609) y FOMIX-Yucatán (103229) por el apoyo económico para la realización de los muestreos.

A CONACYT por la beca otorgada durante la realización de la maestría.

Al M. en C. Santiago Capella por su enorme paciencia, por todo el esfuerzo y dedicación en este proyecto, por ser un excelente tutor por todo el conocimiento entregado a lo largo de este camino.

A la Doctora Araceli Peña, por su apoyo y por formar parte del jurado de este trabajo.

Al Doctor Xavier Chiappa por su valiosa contribución al trabajo realizado.

A los Doctores Martín Merino y Gabriela Rodríguez por formar parte del comité académico.

Al Dr. Gilberto Jerónimo, por haber formado parte del jurado y por su valiosa contribución al proyecto de la Bocana.

Elsa Noreña Barroso, de la Unidad de Química, Sisal por ser siempre paciente, alegre, una excelente persona y siempre estar ahí durante la realización de este proyecto

Luvia Korinthia López Aguilar, Unidad de Química, Sisal

Maribel Badillo Aléman, Fernando Mex, Carmen Galindo de Santiago, Joel Lorea Pérez, UMDI-Sisal

A las personas del laboratorio de la Unidad de Química de Sisal, que directa o indirectamente formaron parte de este trabajo.

A María Camarena por ser mi compañera y amiga durante la realización de este trabajo y por su valiosa ayuda y compañía.

Ahora sí a todos mis amigos que siempre han estado ahí, Isa, amiga por llamarme todos los días y no olvidaste visitarme, Iris por todos esos momentos extremos en Yucatán, Sandy amiga linda por aquel fin en Yucatán que te golpeaste tanto !!, Hector, Pam, Miguel, que aunque lejos no olvidaron visitarme. para recorrer las playas de cerelac! Mago por esos últimos días de pelis buenísimas, Alberto, porque las cosas no cambian y seguimos con las comidas, las cervezas y los postres, Eduardo las buenas noches de tragos coquetos que no faltaron en mis visitas al D.f. Aron por ser un buen amigo, Lugo por las tardes de cine en domingo

Andres por la compañía, las idas al cine en domingo para despejar la mente y por ser un gran amigo.

Kary, amiga muchas gracias por ser tan amiga, por los días y noches de risas y momentos chistosos, gracias por estar ahí!!

Mau, porque a lo largo de este trabajo llenaste mis días de momentos hermosos.

INDICE	
RESUMEN.....	7
I INTRODUCCIÓN.....	9
II ANTECEDENTES.....	11
III JUSTIFICACIÓN.....	17
IV ÁREA DE ESTUDIO.....	18
V HIPÓTESIS.....	21
VI OBJETIVOS.....	22
Objetivo 1.....	22
Objetivos específicos.....	22
Objetivo 2.....	22
Objetivos específicos.....	22
VII PARTE EXPERIMENTAL.....	23
7.1- EQUIPO, Y MATERIALES.....	23
Tabla 3. Materiales.....	24
Tabla 4. Reactivos, disolventes y estándares.....	25
7.2- METODOS.....	26
7.2.1- Muestreo.....	26
7.2.2 - Determinación de parámetros físico – químicos.....	26
7.2.3- Toma de la muestra.....	26
7.2.4- Conservación de la muestra.....	27
7.2.5- Granulometría de los sedimentos.....	27
7.2.6- Determinación del porcentaje de carbono orgánico total.....	27
7.2.7- Extracción de la MO en soxhlet (Método de referencia).....	28
7.2.8- Extracción de la MO en microondas (Métodos alternativo.....	29
7.2.8.1- Extracción de la MO asistida por microondas (EMO).....	29
7.2.8.2- Extracción de la MO por saponificación directa asistida por microondas.....	30
7.2.8.3- Extracción y transesterificación con BF ₃ /MeOH y H ₂ SO ₄ /MeOH (10%) asistida en microondas.....	30
7.2.9- Pruebas de repetibilidad.....	32
7.2.10- Identificación de los ácidos grasos por CG-EM y CG-FID.....	32
7.2.11 - Procesamiento de las muestras.....	33

VIII ANÁLISIS DE RESULTADOS	34
8.1- Comparación entre la extracción en soxhlet y la extracción asistida en microondas.	34
8.1.1- Evaluación de los porcentajes de recobro.	34
8.1.2- Efecto de la técnica de extracción sobre la composición de los ácidos grasos extraídos.	35
8.2- Saponificación directa de los sedimentos asistida con microondas.....	37
8.3- Esterificación de los ácidos grasos asistida con microondas directamente sobre el sedimento	41
8.4- Evaluación de la repetibilidad del procedimiento seleccionado.....	42
8.5- Variación espacio- temporal de los parámetros fisicoquímicos en la columna de agua.	43
8.6- Granulometría de los sedimentos.....	50
8.7- Porcentaje de carbono orgánico total en los sedimentos.....	51
8.8- Ácidos grasos en la materia orgánica de los sedimentos.	54
8.9- Relación entre la cantidad de ácidos grasos, el %COT y la localización de la estación de muestreo .	56
8.10- Composición de la fracción de ácidos grasos en los sedimentos de La Carbonera.....	60
8.11- Clasificación de los puntos de muestreo por similitud en la composición de ácidos grasos en los sedimentos.	65
8.12- Variación temporal del perfil de ácidos grasos.....	78
IX CONCLUSIONES	70
X REFERENCIAS	72

ABREVIATURAS

Abreviaturas	Nombre completo
MO	Materia orgánica
MOD	Materia orgánica disuelta
MOP	Materia orgánica particulada
MOS	Materia orgánica sedimentada
COT	Carbono orgánico total
PAR	Radiación activa fotosintética
PUFA	Ácidos grasos poli insaturados
EAU	Extracción asistida por ultrasonido
EPA	Environmental Protection Agency
EMO	Extracción asistida en microondas
CG	Cromatografía de gases
EM	Espectrometría de masas
FID,	Detector de ionización por llama
MSD	Detector de masas
%SatO₂	Porcentaje de saturación de oxígeno
T	Temperatura
Cm	Centímetros
mg/L	Miligramo / Litro
°C	Grados centígrados
Km/hr	Kilómetros/ hora
µm	Micrómetros
MI	Mililitro
G	Gramos
Min	Minutos
Clor a	Clorofila a
NH₄	Amonio
NID	Nitrógeno inorgánico disuelto
SDT	Sólidos totales disueltos

RESUMEN

El comportamiento de la materia orgánica en el sistema lagunar de la Carbonera en Sisal en la costa Noroeste de Yucatán fue estudiado utilizando la variación espacio temporal del perfil de ácidos grasos. La determinación de parámetros fisicoquímicos, así como de amonio, nitrógeno inorgánico disuelto, fósforo total, clorofila, porcentaje de carbono orgánico total, y composición de los sedimentos complementó la información proporcionada por el perfil de ácidos grasos. Para llevar a cabo el análisis de los ácidos grasos se exploró la técnica de extracción de la materia orgánica por medio de microondas, permitiendo el análisis de 129 muestras de sedimentos correspondiente a las doce estaciones de muestreo dentro de la zona de estudio durante el periodo abril de 2009- abril de 2010.

Los resultados se analizaron utilizando herramientas de análisis multivariado, en el caso de los parámetros fisicoquímicos se utilizó el análisis de conglomerados. Los resultados mostraron que dentro de la zona de estudio existen tres distintos grupos que presentan similitudes entre estaciones, en el primer grupo se observan características predominantes de tipo marino y corresponden a las estaciones cercanas a la boca, el segundo grupo está formado por las estaciones ubicadas dentro del petén y presentan características de agua dulce, finalmente el tercer grupo corresponde a la zona de mezcla por la entrada de agua mar y los aportes de agua dulce provenientes del petén, con características intermedias.

Mediante las variaciones en el perfil de ácidos grasos, en las doce estaciones, a lo largo del periodo de muestreo y utilizando como herramienta estadística el análisis de componentes principales y análisis de conglomerados, se demostró que dentro de la zona de estudio existen cuatro grupos de estaciones que comparten características entre sí en base al origen de la MO. En el primer grupo cercano a la boca de entrada, el aporte de MO proviene principalmente del fitoplancton, algas y diatomeas. El segundo grupo (estaciones B4, B10 y B11) corresponde a una zona de transición o de mezcla en donde existe un fuerte aporte marino y terrígeno proveniente de la biota que habita en el litoral cercano a dichas estaciones. El tercer grupo corresponde a las estaciones ubicadas en la zona intermedia o zona de mezcla, en las estaciones cercanas al petén existe acumulación de MO y degradación de tipo anaerobia, mientras que la estación ubicada justo en el canal de agua y la estación adyacente al petén del lado este presentan aportes de MO de origen terrígeno por parte de la biota local. El cuarto grupo se ubica justo en el ojo de agua dentro del petén y el origen de la MO en su mayoría es de tipo terrígeno, como consecuencia del afloramiento de agua subterránea así como por la biota local.

ABSTRACT

The behavior of the organic matter (OM) in the lagoon system of the Carbonera in Sisal in the Northwest coast of Yucatan was studied using space-time variation of the fatty acid profile. The determination of physicochemical parameters, as ammonium, dissolved inorganic nitrogen, total phosphorus, chlorophyll, percentage of total organic carbon, and sediment composition supplemented the information provided by the fatty acid profile. For carrying out the assessments of the fatty acids it was explored the technique of extracting organic matter by microwaves, allowing the analysis of 129 sediment samples from the twelve sampling stations within the study area during the period from April 2009 to April 2010.

The results were analyzed using multivariate analysis tools; in the case of the physicochemical parameters were used cluster analysis. The results showed that within the studying area there are three different groups that have similarities between stations, in the first group was observed predominant characteristics of marine type which correspond to the stations near the mouth, the second group consists of stations located in the Petén with characteristics of fresh water, finally the third group corresponds to the mixing zone by the entrance of seawater and freshwater inputs from the Petén, with intermediate characteristics

Through changes in the fatty acid profile in the twelve stations along the sampling period and using statistical tools as a principal component analysis and cluster analysis, it was shown that within the study area there are four groups of stations that share characteristics with each other based on the origin of the MO. In the first group near the inlet, the contribution of OM is mainly to phytoplankton, algae and diatoms. The second group (stations B4, B10 and B11) corresponds to a transition zone or mixing where is a strong contribution from terrigenous and marine biota living on the coast near these stations. The third group corresponds to the stations located in the intermediate zone or mixing zone, at stations close to the petén, there are accumulation of OM and anaerobic degradation, while the station located right on the waterway and the adjacent station of the petén in the East side has contributions from terrigenous OM by the local biota. The fourth group is located right in the eye of water into the Petén and the origin of OM is mostly terrigenous type, due to the upwelling of groundwater as well as the local biota.

I INTRODUCCIÓN

Las zonas costeras se caracterizan por tener un ambiente dinámico derivado de los efectos hidrológicos (Castañeda et al., 2004). Dentro de los ecosistemas costeros, los estuarios son una de las interfaces más importantes entre los continentes y las áreas marinas. Poseen un ambiente complejo en donde el agua dulce se mezcla con aguas oceánicas en proporciones variables dependiendo de factores tales como la amplitud de marea y la descarga de los ríos (Guy Thoumelin, L. Bodineau, M. Wartel. 1997).

En las zonas costeras ocurre el mayor intercambio de material orgánico entre la tierra y los océanos, además se encuentra la mayor parte de la materia orgánica (MO) producida por plantas superiores, fitoplancton, algas y bacterias bentónicas (Jaffé et al., 200; McCallister et al., 2006). La alta productividad de estos ecosistemas se debe a la descomposición de una gran cantidad de materia vegetal que proporciona grandes cantidades de detritus. En los ecosistemas estuarinos de regiones tropicales y subtropicales predominan bosques de manglar que se caracterizan por su alta producción primaria. El material producido, principalmente hojas, enriquece los sedimentos superficiales (Tarik Meziane, Makoto Tsuchiya., 2000) el cual se encuentra disponible de manera directa o indirecta a la biota de estos ecosistemas (Vega-Cendejas et al., 1998). Debido a la alta productividad de estas zonas y a su importancia biológica y ecológica, los humedales han sido uno de los focos de atención de la comunidad científica internacional preocupada por conocer, comprender y proteger estos ecosistemas (Badillo Alemán et al., 2008).

Varios métodos han sido empleados para caracterizar la MO en los ambientes acuáticos. Entre ellos, los marcadores lipídicos son especialmente útiles ya que pueden revelar información muy valiosa sobre la MO a nivel molecular (Meyers et al., 2003). Los lípidos con frecuencia se utilizan para determinar tanto la fuente, como el estado de alteración de la materia orgánica. La mayoría de los estudios que se enfocan en la degradación de la MO se centran en procesos de degradación biótica, y sólo recientemente se ha estudiado el impacto de procesos abióticos como la fotooxidación y la autooxidación. Los productos de fotooxidación y autooxidación de los esteroides, los ácidos grasos, y de la fitol-clorofila se han detectado en cantidades significativas en partículas de MO y en muestras de sedimentos (Rontani et al., 2001; Stéphane Chistodoulou et al., 2008).

Diferentes métodos de análisis permiten separar e identificar un sinnúmero de compuestos presentes en mezclas complejas, como es el caso de la MO de los sedimentos. Los métodos se basan en el uso de técnicas de separación cromatográficas. Las concentraciones en las que se encuentran presentes muchos de estos compuestos en las muestras medioambientales son muy bajas y precisan sistemas de detección sensibles o bien de un proceso de preconcentración previa a la separación y detección.

Para separar la MO de la matriz inorgánica de los sedimentos es necesario realizar una extracción de los compuestos de interés con disolventes previa al análisis. El método comúnmente utilizado es la extracción en Soxhlet, que requiere de considerables cantidades de disolvente, tiempo de extracción y gasto de energía. Si se tiene en cuenta que los estudios de la dinámica de la MO en

sistemas naturales generalmente requieren del análisis de un número grande de muestras, es importante disponer de alternativas más amigables con el ambiente y más eficiente en cuestión de tiempo y energía.

En este proyecto se realizó el análisis de los ácidos grasos presentes en los sedimentos de La Bocana de la Carbonera mediante el planteamiento y desarrollo de una técnica analítica que minimiza el gasto en tiempo y reactivos con el uso de microondas como fuente de energía. El análisis de los resultados permite inferir las fuentes de aporte de MO, su distribución espacial y la variación temporal.

La Bocana de la Carbonera, se encuentra en la región oeste de la costa del estado de Yucatán entre el puerto de Sisal y Chelem. Es un sistema muy dinámico, con una variabilidad espacial y temporal significativa, con flujos de agua determinados por las mareas y los aportes de agua subterránea que proviene del acuífero de la península de Yucatán que descarga en el área de estudio principalmente por medio de manantiales que forman peténes.

II ANTECEDENTES

Los humedales constituyen una superficie importante dentro del territorio nacional, entre ellos los manglares ocupan un lugar privilegiado por la riqueza natural que encierran y los servicios ambientales que prestan. Su importante papel ecológico y económico ha sido reconocido internacionalmente. México es uno de los cinco países con mayor superficie de manglar (CONABIO, 2009). Los manglares son formaciones vegetales en las que predominan ciertas especies de árboles o arbustos, conocidos como mangles, que poseen raíces aéreas respiratorias llamadas neumatóforos y tienen la particularidad de ser plantas resistentes a la salinidad. Se desarrollan en las planicies costeras de los trópicos húmedos, principalmente alrededor de esteros y lagunas costeras cerca de la desembocadura de ríos y arroyos. Son una transición entre los ecosistemas terrestres y marinos, ya que existe una conectividad entre los manglares, los pastos marinos y los arrecifes de coral que permite el flujo de las especies que viven en este ecosistema. Se sabe que son ecosistemas altamente productivos (con un aporte de hojas 100Tg C año^{-1}) y recientemente se estima que hasta un 11% de las entradas de carbono orgánico total en la tierra proviene de los manglares (Steven Bouillon, *et al.*, 2004).

En México predominan cuatro especies de mangle: el mangle rojo (*Rhizophora mangle*), el mangle blanco (*Laguncularia racemosa*), el mangle negro (*Avicennia germinans*) y el mangle botoncillo (*Conocarpus erectus*). A pesar de que los manglares en México están constituidos por pocas especies dominantes, debido al factor fuertemente limitante de la salinidad, existe una gran variedad en su composición, estructura y función. A nivel local las características de los manglares se modifican de acuerdo al relieve, el tipo de sustrato, al grado de inundación, a los gradientes ambientales y a las perturbaciones naturales y humanas. En los suelos calcáreos de la península de Yucatán se mezclan mangles de 8 a 25 metros de altura con manglares arbustivos menores a 2 metros. En muchas ocasiones estas comunidades presentan una marcada dominancia de una especie, por lo que dan la sensación de ser comunidades monoespecíficas (Manglares de México, 2009).

La península de Yucatán tiene 370 km de línea de costa (Manglares de México, 2009) y una extensa superficie aún en buenas condiciones de conservación, que incluye humedales que tienen funciones amortiguadoras no sólo para los ecosistemas, sino también para el mantenimiento de las actividades productivas del hombre. Actualmente se estima que aproximadamente del 65 al 70% de los humedales de Yucatán (costeros, marinos e interiores), presentan algún grado de deterioro o están amenazados por las actividades del hombre (Programa de Manejo de la Reserva Estatal El Palmar, 2006). El 98% de la línea de costa en la península de Yucatán se encuentra ocupado por manglar, del cual un 76.2 % está actualmente protegido y considerado sitio Ramsar.

Existe un flujo neto de materia orgánica procedente de la tierra hacia las áreas costeras a través de los estuarios. Sin embargo el destino de diversos compuestos orgánicos es complejo y en ocasiones pobremente entendido. La materia orgánica disuelta (MOD) se exporta fuera de los estuarios, mientras que la materia orgánica particulada (MOP) puede presentar tiempos largos de residencia al

depositarse y almacenarse en los sedimentos con una dinámica compleja en la que intervienen procesos como la resuspensión y la difusión. El carácter de la MO puede alterarse por biodegradación (Guy Thoumelin et al., 1997), por actividad heterotrófica o procesos químicos tales como la fotólisis antes de la deposición o la exportación (A. R. Zimmerman et al., 2001). En los estuarios la MO se caracteriza por ser una mezcla compleja de compuestos con un origen diferente, que puede provenir de plantas terrestres, fitoplancton, zooplancton, macroalgas, microheterótrofos y en menor medida, compuestos presentes en las aguas residuales de zonas urbanas que constituyen la principal contribución antropogénica.

Se han estudiado las fuentes de MO así como los patrones en la diagénesis en los estuarios a partir de la composición en la MOP y la MOD (Antonio Mannino et al., 1999). Sin embargo, la MO en los sedimentos no siempre refleja con precisión de dónde proviene el aporte original (Sun et al., 2002), de hecho más del 90% de la MO producida por organismos se degrada o es remineralizada antes de llegar a los sedimentos (Aleksandra Sájnovic *et al.*, 2008; Meyers P.A., 2003; Eadie *et al.*, 1984.). Algunos componentes son menos susceptibles a la remineralización y sufren alteraciones parciales. La composición de la MO sedimentada (MOS) se modifica poco después de su formación inicial y, una vez en el fondo, las alteraciones continúan a velocidades más lentas. A pesar de estos cambios tempranos en la diagénesis, la MO retiene información acerca de su origen lo que permite inferir las rutas de transporte (Meyers P.A *et al.*, 2003).

Una aproximación fundamental para describir la abundancia de la MO en los sedimentos es la concentración de carbono orgánico total (COT). La MO en general contiene aproximadamente 50% de carbono, por lo que su concentración es equivalente a cerca del doble del valor del COT (Meyers P.A *et al.*, 2003). Su concentración es el resultado de la producción inicial de la biomasa y su posterior degradación. Las partículas en suspensión sirven como un vehículo importante en la transferencia de MO de las fuentes de origen a los sedimentos, es común que las concentraciones de COT en los sedimentos varíen de un lugar a otro en un mismo estero debido a la interacción de múltiples factores. Se sabe que las concentraciones de COT se incrementan a medida que el tamaño de grano decrece, tienden a ser mayores en las partes más profundas de las cuencas, donde hay mayor cantidad de sedimentos de grano fino, que en partes menos profundas donde se acumulan sedimentos de grano grueso (Thompson y Eglinton *et al.*, 1978). Es posible separar los efectos de esos factores e identificar el origen así como el proceso de deposición en los sedimentos. Las plantas no vasculares, como el fitoplancton, contienen poca o ninguna celulosa y lignina, tienen una proporción relativamente elevada de nitrógeno y material proteínico. Las plantas vasculares, como los pastos, arbustos, árboles y las macrofitas emergentes contienen una gran proporción de tejidos de madera y son relativamente ricas en ceras e hidrocarburos (Meyers P.A *et al.*, 2003). Los microbios son los principales agentes de remineralización, crean nueva MO y por lo tanto añaden nuevos componentes orgánicos a los sedimentos. En general, los compuestos que provienen de fuentes acuáticas son más susceptibles a la remineralización microbiana que los que tienen como origen a las plantas terrestres (Meyers P.A *et al.*, 2003).

Se han publicado trabajos en donde se utilizan las variaciones en el perfil de ácidos grasos y esteroides para evaluar el origen y transporte de la MO particulada y la materia suspendida particulada (MSP) (Guy Thoumelin *et al.*, 1997; Rudolf Jaffé *et al.*, 2001; Mark B. Yunker *et al.*, 2005; Marie Russell *et al.*, 2005; Rudolf Jaffé *et al.*, 2006; Yuppung Xu *et al.*, 2007). La composición de lípidos en la MSP también se utiliza para evaluar las fuentes y los procesos biológicos del carbón orgánico en los ecosistemas acuáticos (Gary L. Mills *et al.*, 2003). El uso de ciertos ácidos grasos o de grupo de ácidos grasos como marcadores de fuentes de MO se ha descrito en varios estudios (R. Galois, 1996; Budge and Parrish, 1998; Tarik Meziane, 2000; Gregor Mur, 2004; David Hall, 2006; R.J.K. Dunn, 2008; Laura Palomo, 2010). También se ha descrito el uso de los lípidos de los principales contribuyentes de MO producida durante floraciones de fitoplancton tóxico (Stéphane Chistodoulou *et al.*, 2008) y se han realizado estudios sobre la composición bioquímica en las diatomeas durante las floraciones de primavera, en donde los perfiles de ácidos grasos varían en función de las características dinámicas del sistema (Hervé Claustre *et al.*, 1989).

Mediante las diferencias en composición de la MO en los sedimentos y las partículas en suspensión pueden evaluarse procesos de degradación temprana (Canuel *et al.*, 1995; Jaffe *et al.*, 1996; Saliot *et al.*, 2001). Algunos estudios de la composición de la MOP y la MOD en ríos muestran que mucho del material transportado se degrada significativamente (Ertel *et al.*, 1986). Se ha demostrado que ciertos componentes lipídicos insaturados presentes en células de fitoplancton (esteroides, ácidos grasos insaturados, y fitol clorofila) pueden ser fotodegradados por la radiación activa fotosintética (PAR) durante el envejecimiento dando lugar a fotoproductos específicos (Rontani *et al.*, 2001). En algunos trabajos se describen los procesos y las transformaciones de foto-oxidación y auto-oxidación que le ocurren a la MO utilizando estos productos de oxidación como biomarcadores lipídicos. El número de insaturaciones presentes está estrechamente relacionado con la susceptibilidad a la degradación (Daphné Marchand *et al.*, 2005). La reactividad relativa de los ácidos grasos insaturados a procesos de auto y fotooxidación se incrementa con el número de dobles ligaduras (Frankel *et al.*, 1979). Aunque los productos de oxidación de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) son considerados trazadores muy sensibles, no son lo suficientemente estables, en contraste la fotooxidación y la autooxidación de los ácidos grasos monoinsaturados permite la formación de productos de oxidación suficientemente estables en ambientes marinos para usarse como marcadores de estos procesos (Marchand *et al.*, 2001).

Los ácidos grasos son abundantes en la mayoría de los organismos, en los sedimentos las fuentes de origen incluyen fitoplancton, bacterias, macroalgas, plantas superiores y fauna acuática. Es posible asignar un origen a la MO mediante las diferencias en el perfil de ácidos grasos. Con algunas excepciones, la información obtenida de los ácidos grasos es difícil de interpretar debido a que en la mayoría de los organismos se encuentran presentes los mismos ácidos grasos y las diferencias se encuentran en las proporciones entre ellos (Guy Thoumelin *et al.*, 1997). Esto hace que en la interpretación del perfil de ácidos grasos haya compuestos que se asignan a varios orígenes, como los ácidos C22:5 ω 3 y C22:6 ω 3 que algunos autores los utilizan como marcadores de zooplancton y dinoflagelados (Kattner, G *et al.*, 1981), mientras que otros los citan como

marcadores de microalgas (Volkman, J. K *et al.*, 1989). Otro ejemplo son los compuestos C18:2 ω 6 y C18:3 ω 3 que se les ha asignado como origen las plantas terrestres (Suzanne M. Budge *et al.*, 1998), pero también a macroalgas en general (Tarik Meziane *et al.*, 2000) y a clorofitas en particular (Volkman, J. K *et al.*, 1989).

A continuación se presenta un resumen con la interpretación más frecuente de la composición de ácidos grasos para establecer las fuentes de origen de la MO agrupando los compuestos como biomarcadores planctónicos, biomarcadores bacterianos y biomarcadores terrestres. Por razones prácticas utilizaremos una nomenclatura simplificada de uso común en lugar de la propuesta por IUPAC, en adelante los ácidos grasos los citaremos de la siguiente manera: en el ácido 16:3 ω 4, el número 16 corresponde a el número de átomos de carbono en la cadena, el número 3 corresponde al número de insaturaciones y el número 4 corresponde al átomo de carbono donde se sitúa la primera insaturación contado a partir del metilo terminal de la cadena hidrocarbonada.

Biomarcadores planctónicos.

La presencia de diatomeas se asocia a los valores de relación de las sumas de los ácidos grasos $\Sigma 16/\Sigma 18$, al cociente 16:1/16 si es mayor de 1.6 % del total de ácidos grasos (Claustre *et al.*, 1988–1989; Suzanne M. Budge *et al.*, 1998). También se usan como marcadores de diatomeas el ácido graso 16:4 ω 1, ya que raramente se encuentra en otra clase de fitoplancton (Suzanne M. Budge *et al.*, 1998), y los ácidos grasos 16:3 ω 4 y 20:5 ω 3 (Guy Thoumelin *et al.*, 1997).

Los ácidos 18:2 ω 6 y 18:3 ω 6 se reconocen como marcadores de macroalgas (Tarik Meziane, *et al.* 2000) y el compuesto 22:6 ω 3, que se encuentra en pequeñas cantidades en diatomeas, está en porcentajes altos en criptomonas (Guy Thoumelin *et al.*, 1997). En otros trabajos se ha encontrado que algunas microalgas contienen altos porcentajes de ácidos grasos polinsaturados de cadenas largas como 22:6 ω 3 y 22:5 ω 3 (Volkman, J. K. *et al.*, 1998). La razón 22:6 ω 3/ 22:5 ω 3, se ha utilizado como un índice que refleja la abundancia relativa de diatomeas vs dinoflagelados (Claustre, H. *et al.*, 1988). Si los valores son mayores o iguales a uno significa predominancia de dinoflagelados, mientras que los valores menores a uno corresponden a predominio de diatomeas (Suzanne M. Budge *et al.*, 1998).

Biomarcadores bacterianos.

En diversos trabajos se citan a los ácidos ramificados 15 y 17 iso y anteiso como indicadores de contribución bacteriana (Suzanne M. Budge *et al.*, 1998; Volkman, J.K. *et al.*, 1980; Wakeham, S.G. *et al.*, 1991), ya que se encuentran en pequeñas cantidades en otros organismos (Guy Thoumelin *et al.*, 1997). Los ácidos iso-15:1 ω 7 e iso-17:1 ω 9 son únicos en bacterias tanto anaerobias como aerobias. (G. J. Perry *et al.*, 1979)

Biomarcadores terrestres.

Las plantas superiores sintetizan los ácidos grasos con cadenas de carbono de 24 a 36 con predominancia en números de carbono pares (Guy Thoumelin *et al.*, 1997; Kollatukudy, P.E *et al.*, 1973). Las plantas terrestres generalmente contienen cantidades altas de 18:2 ω 6 y 18:3 ω 3 (Suzanne M. Budge *et al.*, 1998) y la suma de 18:2 ω 6 y 18:3 ω 3 se utiliza como un índice de aporte terrestre. Si se encuentran en cantidades mayores a 2.5 % del total de todos los ácidos se considera que hay un aporte terrestre significativa (Suzanne M. Budge *et al.*, 1998; S.M. Budge *et al.*, 2001). La suma de 22:0 y 24:0 (Brooks *et al.*, 1976; Harvey *et al.*, 1994; Colombo *et al.*, 1997) también es un indicador de material terrestre. Los contenidos altos de ácidos grasos polinsaturados (PUFA) en particular 18:2 ω 6 y 18:3 ω 3 se han usados como marcadores de hojas de mangle en estuarios (Erik Kristensen *et al.*, 2008).

Se tiene registro de trabajos hechos en sistemas estuarinos ubicados en el sur de la Florida, que presentan características muy similares a los que se tienen en la costa de la península de Yucatán. En ellos se determina el origen y transporte de la MO sedimentada con base en los biomarcadores lipídicos (R. M Rudolf Jaffé *et al.*, 2001). También se usaron biomarcadores lipídicos para evaluar la variación estacional del aporte y el transporte de la MO de la tierra al océano (Yunping Xu *et al.*, 2007; A. I. Rudolf Jaffé *et al.*, 2006). Sin embargo, no hay trabajos publicados ni se conocen estudios sobre la caracterización del perfil de ácidos grasos en la costa de la península de Yucatán.

Dentro de la península de Yucatán se han llevado a cabo estudios para evaluar la calidad del agua que incluyen parámetros como salinidad, oxígeno disuelto, pH, nitratos, nitritos, silicatos, y Chl-*a*, a fin de establecer líneas base para seleccionar parámetros de calidad para las aguas costeras (Jorge A. Herrera-Silveira *et al.*, 2004). En estudios más recientes se integran las variables que comprenden la calidad del agua con cambios en la vegetación acuática sumergida, así como una evaluación eutrófica y se analiza la estructura de la comunidad y distribución del fitoplancton (Jorge A. Herrera-Silveira *et al.*, 2009). En otros trabajos analizan el efecto de la hidrología local y las actividades humanas en la calidad del agua (eutrofización) y las comunidades fitoplanctónicas (Cynthia Álvarez-Gongora *et al.*, 2006).

Los procesos para el análisis químico de los compuestos que constituyen la fracción lipídica de la MO en los sedimentos son complejos y laboriosos y se han desarrollado diversas estrategias. El primer paso es la extracción de la fracción no polar de la MO, donde se encuentran los compuestos de interés. El procedimiento usual es la extracción en Soxhlet; también hay algunos reportes sobre el uso de técnicas de extracción asistida por ultrasonido (Guy Thoumelin *et al.*, 1997) y microondas (Nieves Carro *et al.*, 2006). Estos procesos de extracción son más rápidos, igualmente eficaces y requieren en general de un menor consumo de disolventes, aunque el gasto de inversión puede ser considerablemente mayor. La extracción en Soxhlet todavía es el método de referencia que se utiliza para contrastar resultados de extracciones con otro tipo de métodos (Miguel Angel Sogorb Sanchez

s.f.). Incluso una versión automatizada de este método ha sido estandarizada y validada por la EPA (Environmental Protection Agency, método 3541).

La segunda técnica más explorada para la extracción de compuestos en matrices sólidas quizá sea la extracción asistida por ultrasonido (EAU). El fundamento de este proceso radica en las señales de alta intensidad que se utilizan (Mulet et al., 1999), por su frecuencia producen cambios en el medio provocando la generación de burbujas de cavitación y el subsiguiente colapso dentro del líquido con lo que se producen golpes sobre la superficie sólida de la muestra. La aplicación de la EAU para la extracción de compuestos presentes en matrices sólidas y específicamente sedimentos se cita en diversos trabajos. Utiliza en la mayoría de los casos una mezcla de disolventes, usualmente diclorometano y metanol (Antonio Mannino et al., 1999; A. I. Rudolf Jaffé et al., 2006; Guy Thoumelin et al., 1997). Existe también un método estandarizado por la EPA (método 3550C) para la extracción de compuestos orgánicos no polares en matrices sólidas.

Otro método de extracción que ha tomado importancia en los últimos años es la extracción asistida por microondas (EMO). El principio en el que se basa es la energía térmica que proporcionan las ondas electromagnéticas de alta energía, que producen cambios en la rotación molecular y en la movilidad iónica del medio que contribuyen a una rápida transferencia de energía al disolvente y la MO. Se tiene registro de un método estandarizado por la EPA (método 3546) aplicable a compuestos orgánicos semivolátiles, pesticidas, compuestos clorados, PCB's presentes en matrices sólidas como suelos, arcillas, lodos y desperdicios sólidos. Este método también ha sido aplicado en el análisis de compuestos bromados (Francisco Vilaplana et al., 2009), determinaciones de metilmercurio y compuestos de estaño en sedimentos (Silke Tutschku et al., 2002), e hidrocarburos aromáticos policíclicos (Verónica Pino et al., 2003).

Cualquiera que sea el método de extracción elegido, lo que se obtiene es una mezcla compleja de compuestos integrada fundamentalmente por ácidos grasos, alcoholes, aldehídos, cetonas, diversos tipos de ésteres e hidrocarburos saturados e insaturados (Yunping Xu et al., 2007). En general esto obliga a fraccionar el extracto, generalmente por cromatografía en columna, aunque depende del objetivo específico y del método último de análisis que se utilice. Usualmente la separación y análisis de compuestos individuales se realiza por cromatografía de gases (CG) (Ralph Mead et al., 2005) Si se utiliza como método de detección la espectrometría de masas (EM) es posible en algunos casos obviar el fraccionamiento utilizando el modo de detección selectiva de iones (SIM o TIC, por sus siglas en inglés) (Yunping Xu et al., 2007). Cuando los analitos de interés son exclusivamente los ácidos grasos puede sustituirse el fraccionamiento en columna por un proceso de saponificación y extracción con disolventes y utilizar el detector de ionización por llama (FID, por sus siglas en inglés) (Gregor Muri et al., 2004; Marcos Y. Yoshinaga et al., 2008; Laura Palomo et al., 20010). Para los compuestos con protones ácidos es conveniente formar derivados antes del análisis por CG, normalmente los ésteres metílicos para los ácidos (A, Wakeham S. G et al., 1991; Antonio Mannino et al., 1999; A. R. Zimmerman et al., 2001; Budge, S.M et al., 1998; Daphné Marchand et al., 2005).

III JUSTIFICACIÓN

A pesar de su alta productividad e importancia en el aporte de carbono, el destino de la materia orgánica autóctona y de origen terrestre en ambientes estuarinos hasta el momento no se ha entendido por completo, una dificultad para el total conocimiento de estos procesos es la heterogeneidad extrema de las características estuarinas temporal y espacialmente. Los regímenes físicos, químicos y biológicos dentro de los estuarios pueden variar espacialmente a escalas de metros a kilómetros y temporalmente a escalas que van desde el rango de horas (debido a la influencia forzante de las mareas y la insolación) a años. Los estuarios son susceptibles a alteraciones por la influencia antropogénica y en los próximos años debido al aumento del nivel del mar. Por ello es de vital importancia comprender el funcionamiento de estos sistemas en la actualidad (Smith & Hollibaugh, 1993).

Para caracterizar estos sistemas se requiere del análisis de un número grande muestras tanto por el número de puntos de muestreo como por la frecuencia con la que deben recolectarse. Es importante disponer de procedimientos analíticos alternativos que reduzcan significativamente el consumo de reactivos, disolventes, el tiempo de preparación de muestra y con ello el costo de operación.

La primera parte de este trabajo se orienta a la evaluación de la factibilidad de utilizar métodos alternativos de extracción asistidos por microondas en busca de remplazar el método de Soxhlet como medio de extracción de la materia orgánica.

El análisis ambiental de este trabajo se centra en una zona conocida como la Bocana de la Carbonera entre Sisal y Chuburna. Es un área relativamente libre de impacto antropogénico directo y es un buen modelo para evaluar la aplicabilidad del procedimiento elegido en la primera parte, hasta el momento se cuenta con un escaso conocimiento de su dinámica. El estudio sistemático tanto de parámetros fisicoquímicos y de la materia orgánica es necesario para generar datos que nos ayuden a comprender de mejor manera el funcionamiento del sistema. Por ello, la segunda parte de este estudio se dirigió a seleccionar un número reducido de parámetros químicos (ácidos grasos) que nos permitan entender las relaciones espaciales y temporales de la MO en los sedimentos. Cabe mencionar que este trabajo forma parte de un proyecto mayor que incluye el estudio de la hidrodinámica y la dinámica de peces del sistema.

IV ÁREA DE ESTUDIO

La Bocana de la Carbonera de Sisal se localiza en la costa Norte de la península de Yucatán entre las coordenadas (21°14' y 21° 13' N - 89° 53' y 89° 54' W). Colinda al este con la comunidad de Chuburná, municipio de Progreso, y al oeste con terrenos del Puerto de Sisal municipio de Hunucmá.

El área de estudio se caracteriza por estar conectada con el mar mediante una estrecha boca, que se formó a consecuencia del huracán Gilberto que azotó las costas yucatecas en 1988 rompiendo la isla de barrera que separaba el mar de la ciénega. Con una longitud aproximada de 1 km, era paralela a la costa y limitaba al norte con una franja arenosa, al sur con la duna costera que presentaba en su borde manglares enanos y al este se unía con la ciénega. En septiembre del 2002 el huracán Isidoro impactó de nuevo la zona, modificando la forma de la Bocana con la desaparición del cordón arenoso que la formaba, quedando la ciénega en contacto directo con el mar. Sin embargo, en los años siguientes la franja de arena se ha ido restableciendo gradualmente recobrando su forma original (Sonia Eugenia Palacios-Sánchez, 2010).

Dentro de la zona existe la confluencia de agua de origen marino y agua dulce de origen subterráneo, la mayor parte de la superficie de estudio corresponde a un humedal en el cual se tiene un sistema estuarino con presencia de vegetación de mangle, petenes y ojos de agua dulce.

El tipo de suelo dentro de la zona de estudio está conformado en mayor parte por arenas muy finas, arena fina, seguida de limos muy gruesos, arena media y en menor cantidad arenas muy gruesas y arenas gruesas.

La zona de estudio presenta un clima cálido-seco, durante el año se presentan tres temporadas climáticas: secas, lluvias y nortes (PRONATURA, 1996). La temporada de secas ocurre durante los meses de marzo a mayo, en donde se presentan las precipitaciones mínimas de 0 a 20 mm y las temperaturas más altas que ascienden hasta los 43°C (CONAGUA, 2006). La temporada de lluvias se presenta entre los meses de junio y octubre, siendo septiembre el mes con mayor precipitación (120 mm, promedio).

La zona de estudio constituye un caso particular debido a que en conjunto con las otras reservas estatales y federales ubicadas en la zona costera del estado cuenta aun con una extensa superficie en óptimas condiciones de conservación. La zona en conjunto forma un corredor costero de humedales de importancia internacional.

El buen estado de conservación de la zona radica en el aislamiento debido a que el tiempo y diversos factores naturales han cerrado las vías de acceso limitando el acceso únicamente por vía marina.

Dentro del área de estudio se establecieron una serie de estaciones de monitoreo, las cuales se pueden observar en la Figura 1 y corresponden a las coordenadas presentes en la Tabla 1 donde se hace una descripción resumida de cada una de las estaciones de muestreo.

La superficie que las estaciones abarcan es del orden de dos kilómetros cuadrados, la distancia entre las estaciones es variable.

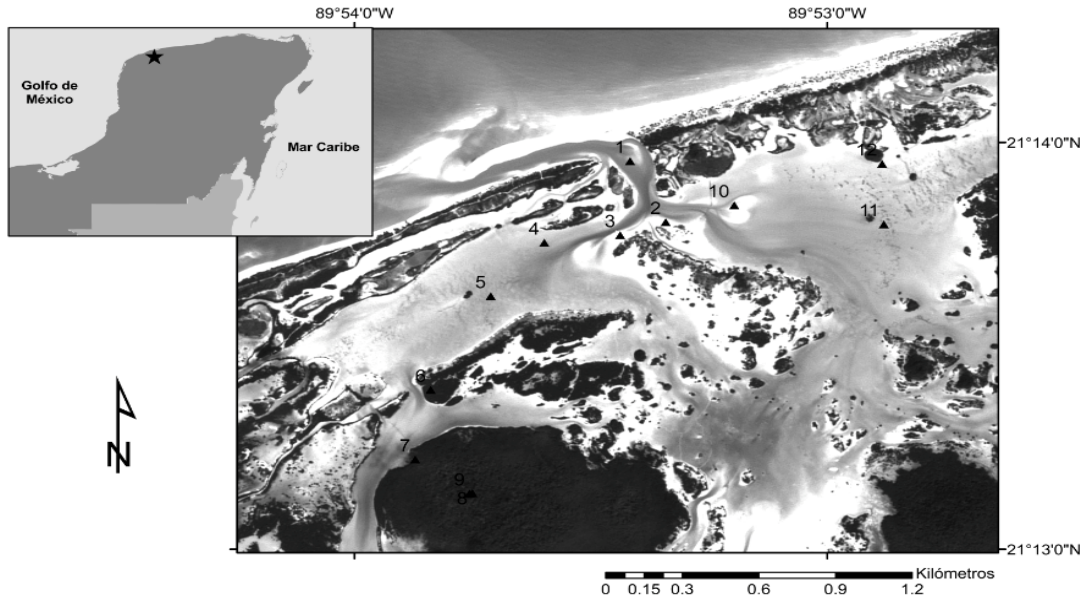


Figura 1. Área de estudio y estaciones de muestreo en la Boca de la Carbonera, Yucatán, Sureste del golfo de México. (Imagen por Gilberto Jerónimo).

Tabla 1. Localización de las estaciones de muestreo así como una descripción cualitativa de cada estación.

Estación	Coordenadas .Latitud Norte	¹ Coordenadas Longitud Oeste	Observaciones
1	21°13'57.2"	89°53'25.0"	Entrada a la Boca de la Carbonera. Presencia de matorrales de duna.
2	21°13'48.2"	89°53'20.5"	Cercana a la estación 1. Se encuentra en el canal este de intercambio de agua entre el mar y la ciénega. Abundancia de matorrales.
3	21°13'46.5"	89°53'26.2"	Cercana a la estación 1. Se encuentra en el canal oeste de intercambio de agua entre el mar y la ciénega. Presencia de matorrales y manglares de franja.
4	21°13'45.3"	89°53'35.8"	Primera estación ubicada donde convergen aguas de origen marino y agua de origen subterráneo o agua dulce (zona de mezcla).
5	21°13'37.3"	89°53'42.5"	Estación ubicada en el centro de la zona de mezcla al oeste de la boca.
6	21°13'23.9"	89°53'50.4"	Estación ubicada en la zona de mezcla. Por lo general es una zona de difícil acceso debido a la presencia de un suelo de consistencia lodosa. Se observa poca

¹ La ubicación de las estaciones se realizó con un (GPS) por sus siglas en ingles global position system.

7	21°13'13.4"	89°53'52.5"	vegetación alrededor y se percibe un fuerte olor a descomposición de materia orgánica. Se encuentra justo en la entrada del canal de agua que conduce al cenote. Vegetación de manglar y otros arbustos.
8	21°13'08.11"	89°53'45"	Se encuentra a la mitad del canal hacia el ojo de agua del cenote. En los sedimentos hay abundancia de hojas y varas de mangle. Hay una importante presencia de vegetación de manglar.
9	21°13'8.25"	89°53'45.3"	Estación ubicada dentro del cenote, con aporte de agua dulce proveniente de dos ojos de agua. Existe un aporte importante de materia orgánica de la vegetación circundante.
10	21°13'50.8"	89°53'11.6"	Ubicada al este de la boca en el canal de intercambio de agua entre el mar y la ciénega. No hay vegetación.
11	21°13'47.9"	89°52'52.7"	Ubicada en una zona somera y con los valores más altos de salinidad al este del área de estudio.
12	21°13'56.9"	89°52'53"	La estación se encuentra a unos 500 metros de frente a la estación 11, en el costado interior de la isla de barrera. Existe un cambio pronunciado en la temperatura del agua (más cálido), y en la profundidad de la columna de agua (menor).

¹La ubicación de las estaciones se realizó con un (GPS) por sus siglas en ingles global position system.

V HIPÓTESIS

- Se puede sustituir con ventajas operativas y en el rendimiento la extracción de la MO en Soxhlet por la extracción asistida con microondas.
- Se puede realizar la saponificación de la MO directamente sobre los sedimentos con una mezcla KOH/MeOH y microondas como fuente de energía.
- Se puede realizar la extracción y metilación simultánea de los ácidos grasos directamente sobre los sedimentos mediante el uso de BF_3/MeOH o $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$ como reactivos y con microondas como fuente de energía.
- La distribución espacial de la MO sedimentada en la Boca de la Carbonera está determinada por las características hidrodinámicas del sistema
- Es posible establecer relaciones de asociación y similitud de los sedimentos con un número reducido de ácidos grasos como indicadores de las características de origen de la materia orgánica.
- Las características de composición de la MO en los sedimentos está influida por los cambios estacionales de lluvias, secas y nortes.

VI OBJETIVOS

Objetivo 1

Estudiar la aplicación de los sistemas asistidos en microondas para la extracción y ataque químico de la materia orgánica en sedimentos para llevar a cabo el análisis del perfil de ácidos grasos por medio de la CG-FID o CG-EM.

Objetivos específicos

- Estudiar la factibilidad de un método en microondas para extraer la materia orgánica con el fin de sustituir la extracción en soxhlet.
- A partir de un diseño experimental con factores en dos niveles estudiar la factibilidad de extraer y saponificar simultáneamente la materia orgánica de sedimentos.
- A partir de un diseño experimental con factores en dos niveles estudiar la factibilidad de extraer y formar simultáneamente los ésteres metílicos de los ácidos grasos en la materia orgánica de sedimentos.
- A partir de los resultados previos y en función de las necesidades requeridas seleccionar un procedimiento para el análisis del perfil de los ácidos grasos en sedimentos y evaluar su repetibilidad.

Objetivo 2

Estudiar la distribución espacial y la variación temporal de la MO en los sedimentos del área de estudio con base en la composición de los ácidos grasos.

Objetivos específicos

- Realizar muestreos mensuales en la zona de estudio determinando in situ los parámetros fisicoquímicos: temperatura, altura de la columna de agua, porcentaje de saturación de oxígeno; y recolectar muestras de sedimentos superficiales en cada una de las estaciones.
- Determinar el porcentaje de carbono orgánico total en los sedimentos procedentes de cada una de las estaciones.
- Analizar los ácidos grasos en las muestras recolectadas con el método seleccionado.
- Utilizar los métodos de análisis de conglomerados (cluster analysis) y de componentes principales para estudiar la distribución espacial del porcentaje de carbono orgánico en la zona de estudio.
- Utilizando los análisis de componentes principales y de conglomerados seleccionar un número reducido de ácidos grasos como indicadores de las características de composición de la MO en los sedimentos.
- Con los indicadores seleccionados determinar la distribución espacial y las relaciones de similitud por composición entre las estaciones en la zona de estudio.
- Con los indicadores seleccionados estudiar la influencia estacional en la composición de la MO.

VII PARTE EXPERIMENTAL

7.1- EQUIPO, Y MATERIALES

Tabla 2. Equipo.

Abreviatura	Nombre	Marca	Modelo	Aditamentos/ observaciones
	Liofilizadora	LABCONCO.	Freezone 2.5	
	Bomba para la Liofilizadora	LABCONCO.	117	
	Centrifuga	Hettich Zentrifugen	Universal 320	
	Microondas	Anton Paar	Synthos 3000	Lainer MF100
	Rotaevaporador	Büchi	R215	
	Bomba de Vacío	Büchi Switzerland	V-700	
CG	Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies	6850 Network CG System	
MSD	Detector de masas	Agilent Technologies	5975B, VL	
	Columna capilar	J&W SCIENTIFIC	HP- 5MS	30m, 0.25 (mm), 0.25 (µm)
	Inyector automático	Agilent Technologies	76838 Series	
CG-FID	Cromatógrafo FID		Clarus 500	
	Columna capilar	Perkin Elmer	Omegawax	30m, 0.25 mm ID, 0.25mm.
	Baño ultrasónico	Branson	2570.2510R-DTH	
	Parrilla eléctrica de calentamiento con agitación	Barnstead/ Termolyne	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-	M37615	

Estufa	Thermoline Binder		
Profundímetro	Fabricación propia		
Sonda multiparamétrica	HACH	HQD40	
Analizador de agua	YSI	EC3000	
Anemómetro	SPER scientific	850070	

Tabla 3. Materiales.

Abreviatura	Nombre	Marca	Modelo	Descripción
	Bureta	NALGENE		50 mL
	Embudo	PYREX		250 mL
	Matraces	PYREX		250 mL
	Matraz bola fondo plano			250 mL
	Matraz Aforado	PYREX		250 y 500 mL
	Pipetas Pasteur	CORNING	7095B -5X	
	Pipetas volumétrica	PYREX		1, 20, 25 mL
	Probeta	PYREX		250 mL
	Propipeta	EPPENDORF RESEARCH,		20 μ L, 200 μ L, 1 mL
	Propipeta	LABNET AUTOCLAVABLE		10 mL
	Refrigerante	PYREX		
	Vaso de precipitado	PYREX		10 mL
	Agitador magnético.			(3.8 cm x .8 cm)
	Bolsas	Ziploc		16.6 cm * 14.9 cm
	Camisa de extracción	Antoon Para	Synthos 3000	
	Cartucho de celulosa	Whatman	Cat No. 2800338	33 mm * 80 mm
	Espátula			
	Papel filtro	Whatman, Et Strengthened	Cat No. 1114125	125 mm

Papel Aluminio	Reynolds	603RF	150 m * 46 cm
Perlas de ebullición	Saint-Gobain		
Tamiz	Fieldmaster		4000, 2000, 500, 250, 125, 63 micras
Tapas de extracción	Anton Paar	Synthos 3000	
Viales	SUPELCO		tapa sólida con sello PTFE de 7,15 y 25 mL
Viales con septa de PTFE/ Silicón	SUPELCO		2 mL

Tabla 4. Reactivos, disolventes y estándares.

Abreviatura/Fórmula	Nombre	Marca	Grado
BF₃/MeOH (10%)	Trifluoruro de Boro/Metanol	Sigma-Aldrich/ Fluka ^R	
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
N₂	Nitrógeno líquido	INFRA del Sur, S.A de C.V	AP
He	Helio	INFRA del Sur, S.A de C.V	UAP
C19H38O2	Ácido nonadecanoico	Sigma-Aldrich	
FAME-Mix	Mezcla de estándares	Sigma-Aldrich/ Supelco ^R	

7.2- METODOS

7.2.1- Muestreo.

Durante el periodo de abril de 2009 - abril de 2010 se llevó a cabo la toma de muestras de sedimentos; así como la determinación de parámetros fisicoquímicos. Los muestreos se realizaron mensualmente tratando de que coincidieran con el primer miércoles de cada mes.

7.2.2 - Determinación de parámetros físico – químicos.

En cada una de las estaciones fueron medidos en la columna de agua los parámetros físico-químicos que se citan en la Tabla 5:

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos de la columna de agua medidos *in situ* en el área de estudio.

PARÁMETRO	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

7.2.3- Toma de la muestra.

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), una vez llenos se cerraron y se conservaron en hielo hasta su arribo al laboratorio de la Facultad de Química UMDI Sisal, donde inmediatamente se pusieron en refrigeración a 4°C hasta su preparación para almacenar.

7.2.4- Conservación de la muestra.

Una vez que las muestras llegan al laboratorio de la Facultad de Química en la unidad de Sisal, Yucatán, el proceso de conservar las muestras consistió en un tratamiento de cuatro pasos.

- 1) Separar los sedimentos del líquido por medio de centrifugación, con el fin de eliminar la mayor cantidad de agua presente en los sedimentos.
- 2) Liofilizar los sedimentos, un tiempo aproximado de 24 a 48 horas para eliminar toda el agua presente en la muestra.
- 3) Tamizar los sedimentos con una malla de 500 μm una vez liofilizados.
- 4) Conservar en congelación a -20°C .

7.2.5- 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. Cincuenta gramos de sedimento se pasaron por tamices con luz de malla de 4000 μm , 2000 μm , 500 μm , 250 μm , 155 μm y 63 μm y se pesó cada una de las fracciones separadas.

7.2.6- Determinación del porcentaje de carbono orgánico total.

- Determinación de la cantidad de muestra necesaria

El peso de la muestra varía en un rango de 0.05g a 0.75 g de sedimento seco y tamizado. La cantidad adecuada de sedimento se estimó para cada caso particular por estación, comenzando con una cantidad promedio de 0.5 g.

- Determinación del contenido de carbono orgánico total (COT) de las muestras

En un matraz Erlenmeyer de 500 ml colocar el sedimento pesado. Agregar 10 mL de solución de dicromato de potasio, adicionar 20 ml de ácido sulfúrico concentrado con sulfato de plata. Agregar cuidadosamente el ácido ya que la reacción es exotérmica, realizar este paso en la campana de extracción.

Agitar cuidadosamente en forma circular la mezcla durante un minuto evitando que el sedimento se adhiriera a las paredes del matraz, dejar reposar durante 30 minutos, agitar de vez en cuando.

Una vez transcurrido el tiempo necesario, agregar 200 ml de agua destilada, 10 ml de ácido fosfórico y mezclar.

Previo a la titulación, agregar 1 ml de indicador (difenilamina), mezclar toda la solución por medio de un agitador magnético, en una parrilla de agitación. Titular la solución con sulfato ferroso 1

Normal empleando una bureta. La solución adquiere un color oscuro azul marino oscuro en el punto inicial, el punto final se da cuando la solución vira a color verde.

7.2.7- Extracción de la MO en soxhlet (Método de referencia).

- El procedimiento de referencia se realizó con las muestras de sedimentos tomadas el mes de abril de 2009.

- Extracción en soxhlet

Para este procedimiento se utilizaron las condiciones de operación descritas por la EPA, para la extracción de compuestos orgánicos en sedimentos en el método (EPA 3540). El procedimiento en detalle se muestra a continuación:

En un matraz bola de fondo plano agregar 250 ml de CH_2Cl_2 como disolvente. Pesar 15 g de sedimentos previamente liofilizados en un cartucho de celulosa. 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.

La extracción se realizó en una línea múltiple para extraer en soxhlet de seis dispositivos independientes. Dejar a reflujo durante 8 horas. Concluido el tiempo necesario, evaporar el disolvente en rotavapor, trasvasar el extracto a viales de 15 ml, evaporar a sequedad la muestra con flujo de nitrógeno y reconstituir el extracto con 1 ml de CH_2Cl_2 .

Con el extracto en un volumen conocido, determinar los ácidos grasos mediante el método que se describe a continuación.

- Saponificación con KOH/MeOH (20%).

Al extracto reconstituido, adicionar 1 ml de solución de KOH/MeOH al 20%, sellar con teflón, tapar y agitar en el vortex por 30 segundos. Calentar a 80° C por una hora en la estufa.

- Extracción de la fracción no saponificable con hexano.

Adicionar 5 ml de hexano y 5 ml de una solución de NaCl al 20%. Agitar en el vortex, separar las dos fases, descartar la fase orgánica (superior) y continuar con la fase acuosa (inferior). Adicionar unas gotas de HCl concentrado hasta obtener un pH ácido ~ 2, medir con tiras de papel indicador de pH.

- Extracción de los ácidos libres en la fase acuosa con hexano.

A la solución anterior agregar 2 ml de hexano, agitar por 30 segundos en el vortex, esperar la separación de la fase acuosa y la fase orgánica. Recuperar la fase orgánica (superior) y trasvasar a un vial limpio de 7 ml, en el que previamente se pesó un gramo de sulfato de sodio anhidro, con el fin de secar por completo la fase orgánica.

- Evaporación del hexano y formación de los ésteres metílicos con BF_3/MeOH durante 60 min a 80°C .

Recuperar la solución con una pipeta Pasteur, para eliminar el sulfato de sodio anhidro. La solución restante secar con flujo de nitrógeno. Adicionar 1 ml de BF_3/MeOH , sellar con teflón, tapan el vial, agitar y calentar por una hora en la estufa a 80°C . Enfriar a temperatura ambiente, adicionar 2 ml de hexano, 2 ml de agua destilada y agitar. Al separarse las dos fases, recuperar la fase orgánica y trasvasar a un vial limpio, que contiene 1 g de sulfato de sodio anhidro. Con una pipeta Pasteur extraer la solución, trasvasar a un vial limpio de 2 ml, evaporar el disolvente con flujo de nitrógeno y reconstituir con $500\mu\text{l}$ de hexano. El análisis de los ácidos grasos se realizó por CG – EM con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente.

7.2.8- Extracción de la MO en microondas (Métodos alternativo).

7.2.8.1- Extracción de la MO asistida por microondas (EMO).

El procedimiento se basó en el método descrito por la EPA para la extracción de compuestos orgánicos de sedimentos (EPA 3546) que se describe a continuación. Para este experimento se utilizaron muestras de sedimentos tomados el mes de abril de 2009.

Pesar 10 g de sedimentos de cada una de las estaciones, trasvasarlos a los liners correspondientes del horno de microondas, adicionar 35 ml de una mezcla hexano – acetona 1:1. A cada uno de los liners agregar una barra de agitación. Cerrar de acuerdo a lo establecido en el manual de uso del horno. Programar la corrida en el horno de microondas. Los detalles de la corrida se muestran a continuación en la Tabla 6.

Tabla 6. Condiciones de operación para la extracción de la MO asistida por microondas

	Temperatura [$^\circ\text{C}$]	Rampa [minutos]	Mantiene [minutos]	Ventilación [minutos]
1	110°	5	10	1
2	0	-----		2

Finalizada la corrida, sacar por separado cada uno de los recipientes que contienen las muestras de sedimentos, filtrar y lavar los sedimentos tres veces con 10 ml de mezcla hexano – acetona 1:1. Evaporar el disolvente en un rotavapor hasta un volumen aproximado de 2 ml, llevar a sequedad con flujo de nitrógeno y reconstituirlo con 1ml de CH_2Cl_2 . Con el extracto en un volumen conocido determinar los ácidos grasos mediante el método descrito en el apartado anterior. El análisis de los ácidos grasos se realizó por CG – EM con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente.

7.2.8.2- Extracción de la MO por saponificación directa asistida por microondas.

El procedimiento se realizó con las muestras de sedimentos tomados en la estación 5 y 9 en el mes de abril de 2009. En este caso las variables de operación a estudiar fueron tiempo y temperatura del proceso de extracción en microondas, con el siguiente diseño experimental:

Tabla 7. Diseño experimental de tiempo y temperatura para la extracción de la MO asistida por microondas.

		Tiempo	
Temp.	Bajo (60°C)	Bajo (15 min) KOH(20%)/MeOH	Alto (45 min) KOH(20%)/MeOH
	Alto (120°C)	KOH(20%)/MeOH	KOH(20%)/MeOH

El procedimiento llevado a cabo fue el siguiente:

Pesar 5 g de sedimentos y trasvasar a los liners correspondientes del horno de microondas, adicionar 8 ml de una solución de KOH/MeOH al 20%. A cada uno de los liners agregar una barra de agitación. Por último cerrar los recipientes de acuerdo a lo establecido en el manual de uso del horno de microondas. Finalizada la corrida, sacar cada uno de los recipientes que contienen las muestras y separar el extracto de los sedimentos por decantación. Añadir 5 ml de agua saturada con NaCl para reducir la concentración de MeOH por debajo de 20%, ajustar a pH de ~2 con HCl concentrado con el fin de desplazar el equilibrio ácido/base de los ácidos grasos hacia su forma neutra. Para la separación de los ácidos grasos y la formación de los ésteres metílicos correspondiente se siguió el procedimiento ya descrito.

El análisis de los ácidos grasos se realizó por CG – EM con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente.

7.2.8.3- Extracción y transesterificación con BF₃/MeOH y H₂SO₄/MeOH (10%) asistida en microondas.

Con el fin de lograr un procedimiento simple y directo basado en la extracción en microondas para el análisis de los ácidos grasos en los sedimentos se exploró la factibilidad de realizar la formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos por transesterificación y extracción simultánea. Tomando como punto de partida las condiciones de extracción en microondas sugeridas en el método 3546 de la EPA. Se estudiaron como reactivos de transesterificación las mezclas H₂SO₄/MeOH (10%) y BF₃/MeOH (10%).

En este caso las variables de operación a estudiar fueron: tiempo, temperatura del proceso en microondas y los reactivos de transesterificación con el siguiente diseño experimental:

Tabla 8. Diseño experimental de tiempo y temperatura para la extracción de la MO asistida por microondas

		Tiempo	
		Bajo (15 min)	Alto (45 min)
Temperatura	Bajo (60°C)	BF ₃ /MeOH (10%)	BF ₃ /MeOH (10%)
		H ₂ SO ₄ /MeOH (10%)	H ₂ SO ₄ /MeOH (10%)
	Alto (120°C)	BF ₃ /MeOH (10%)	BF ₃ /MeOH (10%)
		H ₂ SO ₄ /MeOH (10%)	H ₂ SO ₄ /MeOH (10%)

El procedimiento que se describe a continuación se realizó con las muestras de sedimentos tomados en la estación 5 (BF₃ y H₂SO₄) y 9 (BF₃) en el mes de abril de 2009.

Pesar 2.5 g de sedimentos, trasvasar a los liners correspondientes del horno de microondas, según sea el caso, adicionar 8 ml de BF₃/MeOH (10%) o 10 ml de H₂SO₄ /MeOH al 10%. Agregar una barra de agitación a cada uno de los liners, cerrar los recipientes de acuerdo a lo establecido en el manual de uso del horno de microondas. Programar la corrida en el horno de microondas.

Finalizada la corrida, sacar cada uno de los recipientes que contienen las muestras, y separar el extracto de los sedimentos por decantación. Agregar 5ml de agua y 5 ml de hexano al extracto, agitar en el vortex por 30 segundos, centrifugar para separar las fases formadas. Recuperar la fase orgánica, trasvasar a un vial limpio que contiene 1 g de sulfato de sodio anhidro. Con una pipeta Pasteur extraer la solución, trasvasar a un vial limpio de 2 ml, secar con flujo de nitrógeno y reconstituir con 500 µl de hexano. El análisis de los ácidos grasos se realizó por CG – EM con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente

- Eliminación previa de los carbonatos con H₂SO₄ (Modificación del método anterior).

Además de evaluar el efecto de la extracción y transesterificación en microondas utilizando como reactivo el H₂SO₄/MeOH 10% en función de las condiciones de reacción (temperatura y tiempo), también se evaluó el efecto de los carbonatos presentes en la muestra. Para ello se repitió el experimento con H₂SO₄ /MeOH al 10%, pero en esta ocasión se mantuvieron los liners abiertos en un agitador magnético durante una hora antes de cerrarlos y realizar la reacción en el microondas.

7.2.9- Pruebas de repetibilidad.

- Repetibilidad del procedimiento seleccionado.

Con base en los resultados de los experimentos anteriores se decidió utilizar para el análisis de las muestras la extracción asistida con microondas de la MO y procesar el extracto por saponificación y formación de los ésteres metílicos con los procedimientos tradicionales. La repetibilidad del procedimiento seleccionado se evaluó analizando por triplicado los sedimentos de la estación uno del mes de octubre por triplicado. A partir de este experimento, el procedimiento se modificó con el fin de añadir el ácido C19 como subrogado y estándar interno, para ello en la extracción se utilizó hexano que contenía 0.01 mg mL⁻¹.

- Repetibilidad del proceso de saponificación-metilación.

Con el fin de evaluar el aporte a la repetibilidad del procesamiento de la muestra posterior a la extracción con microondas se realizó la extracción de tres submuestras de los sedimentos de la estación cinco del mes de septiembre combinando los extractos para obtener un extracto homogéneo único. Se eliminó en rotavapor el disolvente y el residuo se reconstituyó con 20 ml de CH₂Cl₂ y se dividió en 4 alícuotas de 5 ml, que se procesaron de forma independientemente siguiendo los procedimientos ya descritos para la saponificación, separación y formación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos y analizarlos por CG-FID.

7.2.10- Identificación de los ácidos grasos por CG-EM y CG-FID

La identificación de los ácidos grasos se realizó comparando los tiempos de retención de los compuestos obtenidos en las muestras procesadas contra los de los estándares. Adicionalmente, en el sistema CG-EM se comprobaron las identidades con base en el espectro de masas por comparación con los de la biblioteca NIST Mass Spectral Search Program for the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. Versión 2.0 build, Dec 2005. Las condiciones cromatográficas utilizadas se describen en las tablas 9 y 10.

Tabla 9. Condiciones cromatográficas para el cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas.

Condiciones cromatográficas	Detalles
Columna capilar	HP- 5MS
Temperatura del inyector	280°C
Temperatura inicial	40° C por 1 minuto
Rampa de calentamiento	10°C por minuto hasta 300°C
Temperatura final	300°C por 13 minutos
Cantidad de muestra inyectada	3µl
Modo de inyección	Split - less por un minuto

Tabla 10. Condiciones cromatográficas para el cromatógrafo de gases acoplado a detector de ionización de llama.

Condiciones cromatográficas	Detalles
Columna capilar	Omegawax
Temperatura del inyector	280
Temperatura inicial	40°C por un minuto
Rampa de calentamiento	20°C por minuto hasta 200°C
Temperatura final	2.5° C por minuto hasta 250° C
Temperatura del detector	250°C
Cantidad de muestra inyectada	1µl
Modo de inyección	Split-less por un minuto

7.2.11 - Procesamiento de las muestras.

Procesar 149 muestras correspondientes al periodo de mayo de 2009 abril de 2010, mediante el método seleccionado, Extracción de la MO asistida por microondas. El análisis de los ácidos grasos se realizó por CG – FID con las condiciones que se describen en el inciso correspondiente

VIII ANÁLISIS DE RESULTADOS

8.1- Comparación entre la extracción en soxhlet y la extracción asistida en microondas.

8.1.1- Evaluación de los porcentajes de recobro.

Se evaluaron las diferencias en los porcentajes de recobro cuantificando el porcentaje de COT antes y después de extraer con cada una de las dos técnicas submuestras del mes de abril. Los resultados se muestran en la Tabla 11. El porcentaje de recobro promedio para la extracción en soxhlet fue de 78% y de 84 % para la extracción en microondas. Cabe señalar que no es de esperar que los recobros sean de 100% ya que las sustancias húmicas producto de la degradación de la MO no son extraíbles con disolventes orgánicos. El contraste con una prueba t para muestras emparejadas indica que en conjunto no hay diferencias significativas entre las dos técnicas, $t_{\text{calc}}= 0.983$, $P(t > t_{\text{calc}}=0.17)$. Cabe señalar, sin embargo, que en los resultados por estación resaltan las diferencias grandes en las estaciones B3 a B5 y un recobro de ~55% con ambos procedimientos para la estación B10. Los factores que pueden influir tanto en los recobros como en las diferencias son múltiples. Por un lado están los asociados a la composición química, propiedades fisicoquímicas de los sedimentos y la heterogeneidad en la distribución de la MO y por otro la diferente selectividad de los disolventes utilizados para la extracción.

Tabla 11. Porcentajes de recobro para la extracción en soxhlet y extracción en microondas

Estaciones	Soxhlet	Microondas	Diferencia
B1	85.3	92.1	6.8
B2	72	82.4	10.4
B3	47	75.5	28.5
B4	25.3	94.5	69.2
B5	87.4	52.8	-34.6
B6	96.4	100	3.6
B7	95.1	90.1	-5
B8	97.3	96.4	-0.9
B9	88.9	87.4	-1.5
B10	52.8	57.5	4.7
B11	94.8	96.09	1.29
B12	93.9		
Promedio B1 a B12	77.2	85.7	8.5
Promedio B1 a B2 y B6 a B12	85.3	87.7	2.4
Promedio B3 a B5	53.2	74.3	21.0

8.1.2- Efecto de la técnica de extracción sobre la composición de los ácidos grasos extraídos.

Para este análisis se seleccionaron un conjunto de ácidos representativos, integrado por los ácidos C12, C14, C16, C18, C16:1, C18:1 C22:1 y C20:5 ω 3. Se analizaron los extractos obtenidos con cada técnica para las estaciones B1 a B11 siguiendo el procedimiento descrito en la metodología en la sección 7.2.7 y 7.2.8.1 Los resultados expresados en áreas cromatográficas y porcentajes de área se encuentran en las Tablas 5, 6, 7 y 8 del Anexo.

La comparación de la suma de las áreas se muestra en la Figura 2, es evidente que en general el procedimiento basado en microondas extrae una mayor cantidad de ácidos grasos, como se infiere de la prueba de contraste para muestras emparejadas: $t_{\text{calc}}=2.8$, $P(t > t_{\text{calc}})=0.01$.

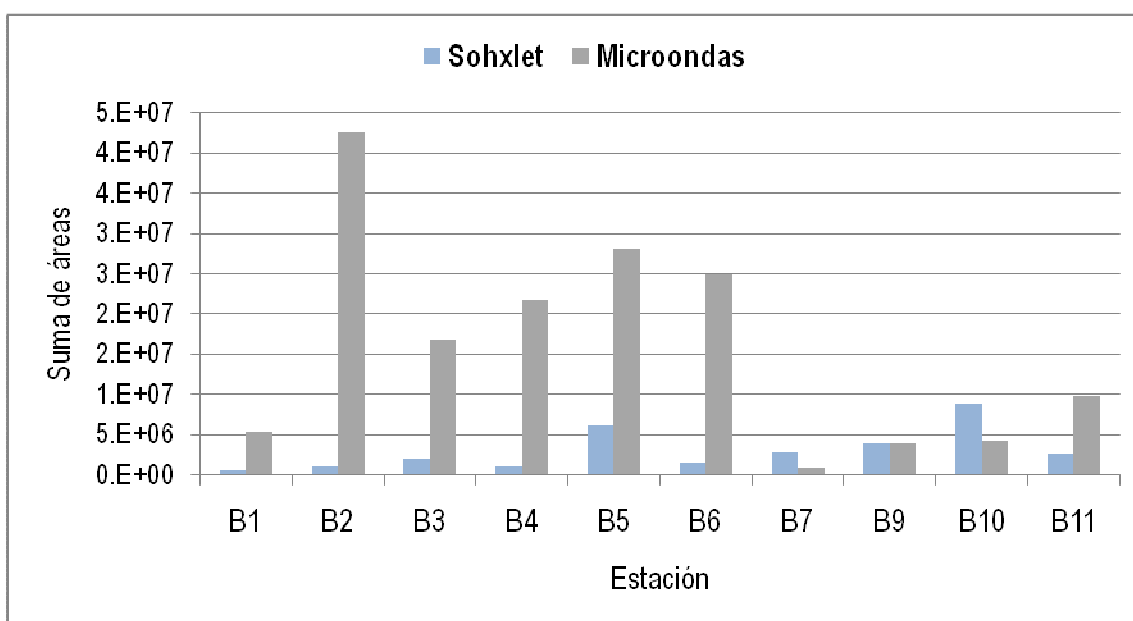


Figura 2. Suma de áreas cromatográficas de los ácidos C12, C14, C16, C18, C16:1, C18:1 C22:1 y C20:5 ω 3 obtenidos por extracción con Soxhlet y extracción asistida por microondas.

Considerando que tiene mayor interés para este proyecto la composición relativa (porcentaje) entre los ácidos grasos en la Tabla 12 se presentan los datos correspondientes. En ninguno de los casos se puede rechazar la hipótesis de igualdad de la prueba t para muestras emparejadas. En la Figura 3 se ilustra la similitud de composición con los dos procedimientos de extracción estudiados. Se puede concluir que la determinación de la composición relativa es equivalente con las dos técnicas e independiente de la cantidad de materia orgánica extraída con cada una de ellas.

Tabla 12. Comparación de los valores relativos (porcentaje) de los ácidos grasos con cada una de las técnicas de extracción estudiadas (S: Soxhlet, M: microondas). t_{calc} es el valor del estadístico del contraste de muestras emparejadas y $P(t > t_{calc})$ la probabilidad de un valor de t mayor al calculado. Prom y DE son respectivamente el promedio y la desviación estándar calculados para los valores de cada ácido en todas las estaciones.

Esta.	M	C12	C14	C16:1	C16	C18:1	C18	C20:5 ω 3	C22:1	t_{calc}	$P(t > t_{calc})$
B1	S	11.5	11.5	8.5	62.3	3.1	3.1	0.0	0.0	1.8E-16	0.500
	M	0.3	3.6	12.3	59.2	7.0	7.5	1.0	9.1		
B2	S	24.0	10.3	11.8	49.6	2.7	1.6	0.0	0.7	2.3E-02	0.491
	M	1.7	7.2	14.9	62.7	3.5	7.2	2.4	0.3		
B3	S	11.4	10.2	10.5	60.6	4.0	2.7	0.6	0.0	-1.2E-16	0.500
	M	8.8	10.9	13.2	52.6	3.0	7.4	2.0	2.2		
B4	S	8.1	10.2	7.0	65.4	4.4	4.9	0.0	0.0	-2.2E-16	0.500
	M	10.1	10.6	18.8	44.8	5.1	6.2	3.5	1.0		
B5	S	20.0	9.0	13.2	51.2	3.7	1.5	1.3	0.0	-3.6E-16	0.500
	M	14.8	11.7	4.0	50.9	6.9	8.3	0.3	3.2		
B6	S	10.3	16.0	5.1	60.3	3.5	4.8	0.0	0.0	-1.6E-17	0.500
	M	10.3	10.3	4.6	52.8	9.1	11.0	0.3	1.5		
B7	S	12.5	13.5	10.0	59.4	2.7	1.9	0.0	0.0	1.6E-16	0.500
	M	8.2	20.8	5.8	49.6	3.9	5.9	0.0	5.8		
B9	S	0.0	5.6	17.4	65.6	4.7	5.4	1.3	0.0	-5.8E-16	0.500
	M	1.8	9.8	9.8	63.1	5.0	6.9	0.0	3.5		
B10	S	0.0	6.8	13.3	70.3	5.8	2.3	1.5	0.5	1.3E-02	0.495
	M	16.8	22.9	11.6	38.7	2.5	2.9	1.1	3.4		
B11	S	0.0	6.0	14.4	71.0	4.8	2.7	1.2	0.0	3.1E-16	0.500
	M	10.2	15.4	12.7	54.0	2.6	2.6	0.9	1.6		
Prom	S	9.8	9.9	11.1	61.6	3.9	3.1	0.6	0.1	1.1E-02	0.496
	M	8.3	12.3	10.8	52.8	4.9	6.6	1.2	3.2		
DE	S	8.2	3.3	3.7	7.1	1.0	1.4	0.7	0.3		
	M	5.5	5.9	4.8	7.6	2.2	2.4	1.2	2.6		

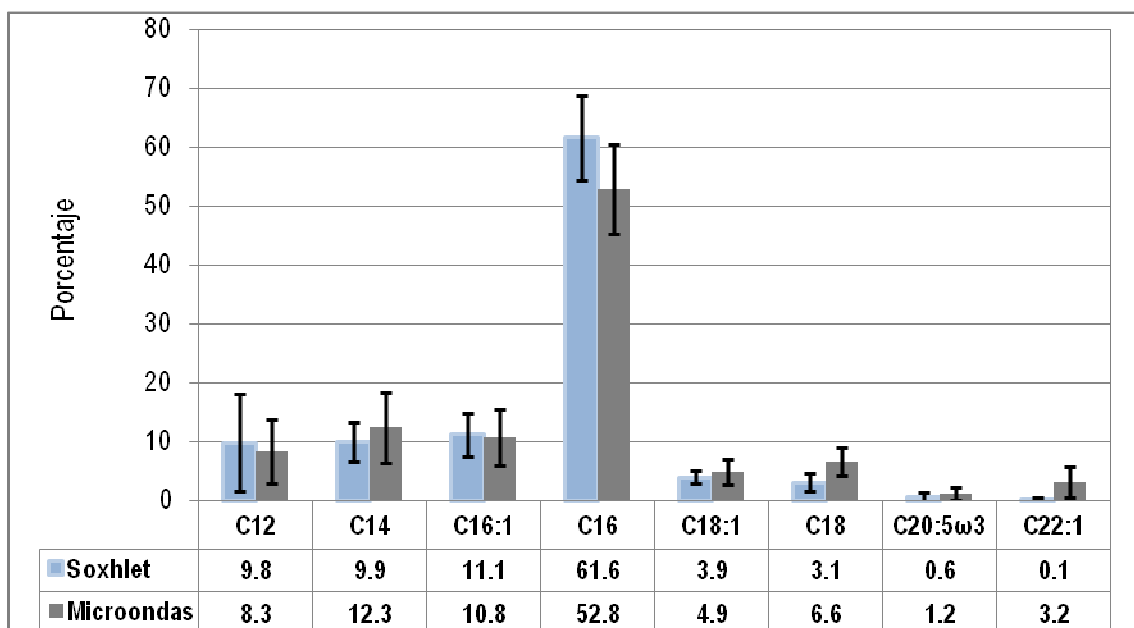


Figura 3. Valores promedio y desviación estándar de la composición relativa de los ácidos grasos seleccionados para comparar el efecto del procedimiento de extracción.

Si además de los resultados anteriores consideramos las ventajas operativas que se muestran en la Tabla 13, concluimos que la extracción asistida con microondas es una alternativa ventajosa para el análisis de los ácidos grasos en sedimentos.

Tabla 13. 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)	150	35
Número de muestras simultáneas	6	8

8.2- Saponificación directa de los sedimentos asistida con microondas.

Con el fin de simplificar los procedimientos de preparación de las muestras de sedimentos para el análisis de los ácidos grasos se evaluó la factibilidad de realizar la saponificación asistida con microondas directamente sobre los sedimentos.

Para evaluar el procedimiento se seleccionaron como compuestos representativos los ácidos C12, C14, C16:1, C16, C18, C18:1, C20:5ω3 y el C22:1. Con un diseño experimental en dos niveles se evaluó el efecto de la temperatura (60°C y 120°C), el tiempo de reacción (15 min y 45 min) y el tipo

de muestra (estación B5 y estación B9). Como se verá más adelante, estas estaciones son diferentes tanto en cantidad de carbono orgánico total como en composición de ácidos grasos. Los resultados se muestran en la Figura 4.

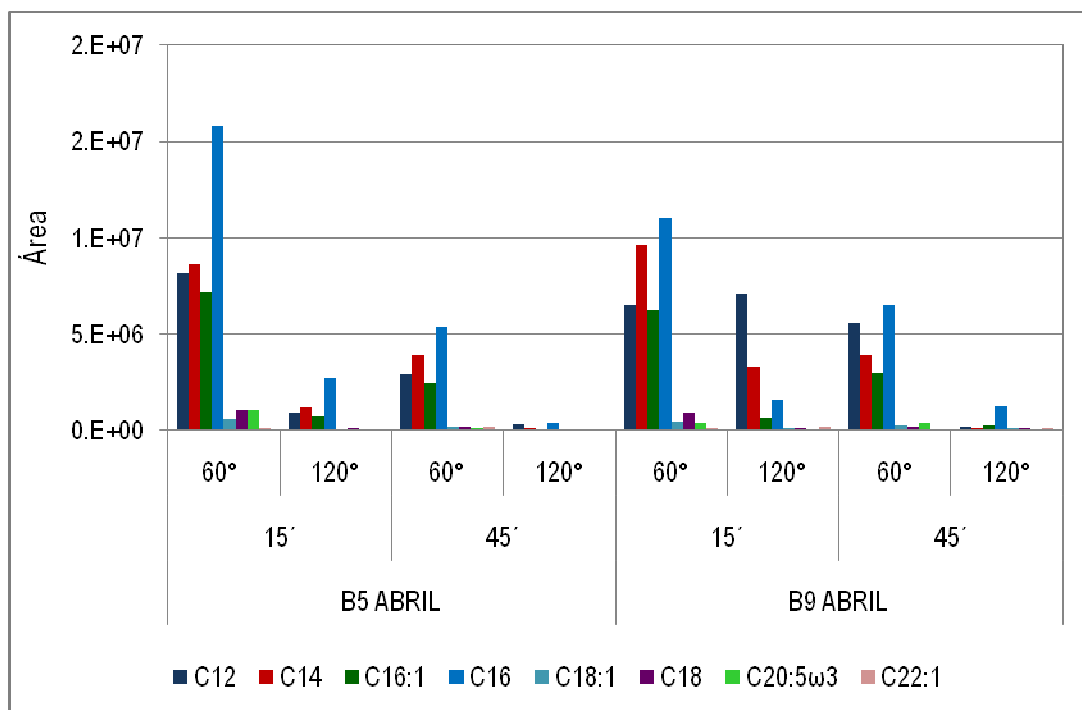


Figura 4. Áreas cromatográficas de los ácidos grasos seleccionados en cada una de las condiciones experimentales estudiadas en la evaluación de la saponificación directa de los sedimentos asistida con microondas.

Se aprecia un efecto de las variables estudiadas pero su interpretación es compleja. Para eliminar el efecto de la cantidad de materia orgánica y de las diferencias en la proporción de cada uno de los ácidos, se reescalaron los datos de área por medio de una transformación de estandarización (normalización) de la siguiente forma:

$$X_z = \frac{x - \bar{x}}{s}$$

Donde:

X_z = Área estandarizada

x = Área de cada ácido

\bar{x} = Promedio del área de cada ácido en todas las condiciones de reacción propuestas

s = Desviación estándar

Con esta transformación el efecto de los factores sobre los valores de cada ácido graso en las mismas condiciones experimentales debería ser igual y el efecto global de cada condición experimental puede representarse por el promedio y la desviación estándar de los valores normalizados de cada ácido. Así, se simplifica la presentación de los resultados y su interpretación, en la Figura 5 se presentan los datos.

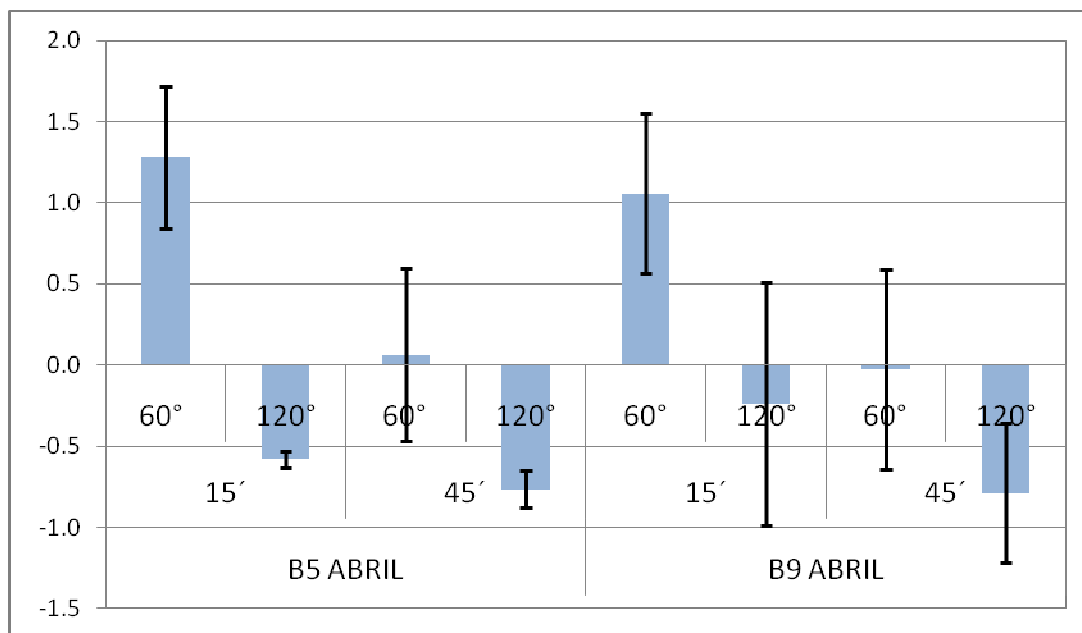


Figura 5. Promedio de los valores normalizados de las áreas de los ácidos grasos seleccionados en cada una de las condiciones experimentales estudiadas en la evaluación de la saponificación directa de los sedimentos asistida con microondas.

Estos resultados indican que las mejores condiciones experimentales corresponden al valor bajo del tiempo y la temperatura, y que hay un efecto significativo de las condiciones de reacción y las características del sedimento sobre el rendimiento de la reacción. Las barras de error muestran que el efecto de los factores no es el mismo para todos los ácidos. Esto se aprecia muy claramente en las Figuras 6 y 7, donde se grafican los porcentajes de cada ácido para las diversas condiciones experimentales.

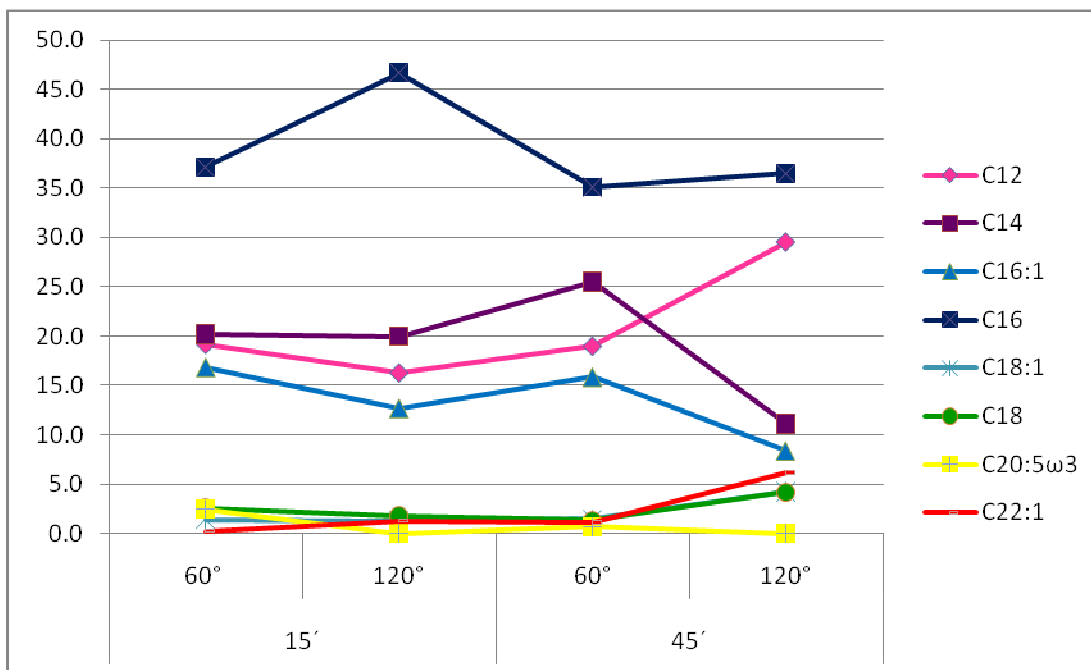


Figura 6. Variación de las proporciones (porcentaje) entre los ácidos en función de las condiciones de reacción en la evaluación de la saponificación directa de los sedimentos asistida con microondas para la estación B5 del mes de abril.

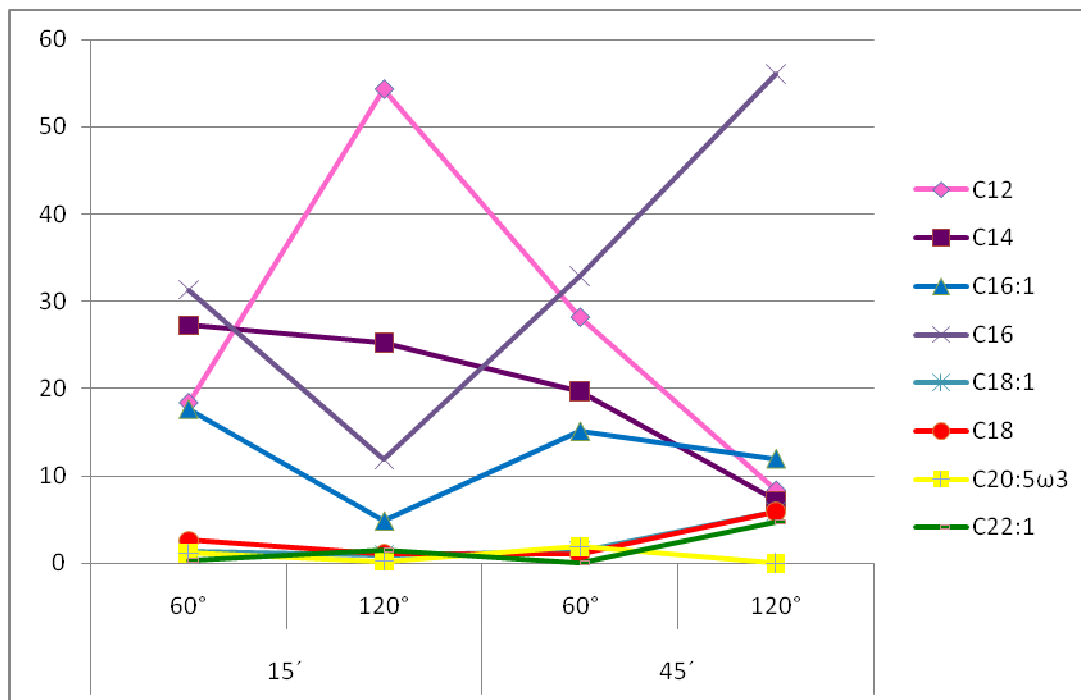


Figura 7. Variación de las proporciones (porcentaje) entre los ácidos en función de las condiciones de reacción en la evaluación de la saponificación directa de los sedimentos asistida con microondas para la estación B9 del mes de abril.

8.3- Esterificación de los ácidos grasos asistida con microondas directamente sobre el sedimento.

Se evaluó la posibilidad de obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos realizando la reacción directamente sobre los sedimentos con un diseño experimental y transformación de datos similar al del apartado anterior, salvo que en este caso se incluyó como factor adicional el catalizador ácido para la reacción de metilación (H_2SO_4 o BF_3) y que solo se trabajó con la muestra B9 del mes de abril. Los resultados se muestran en la Figura 8.

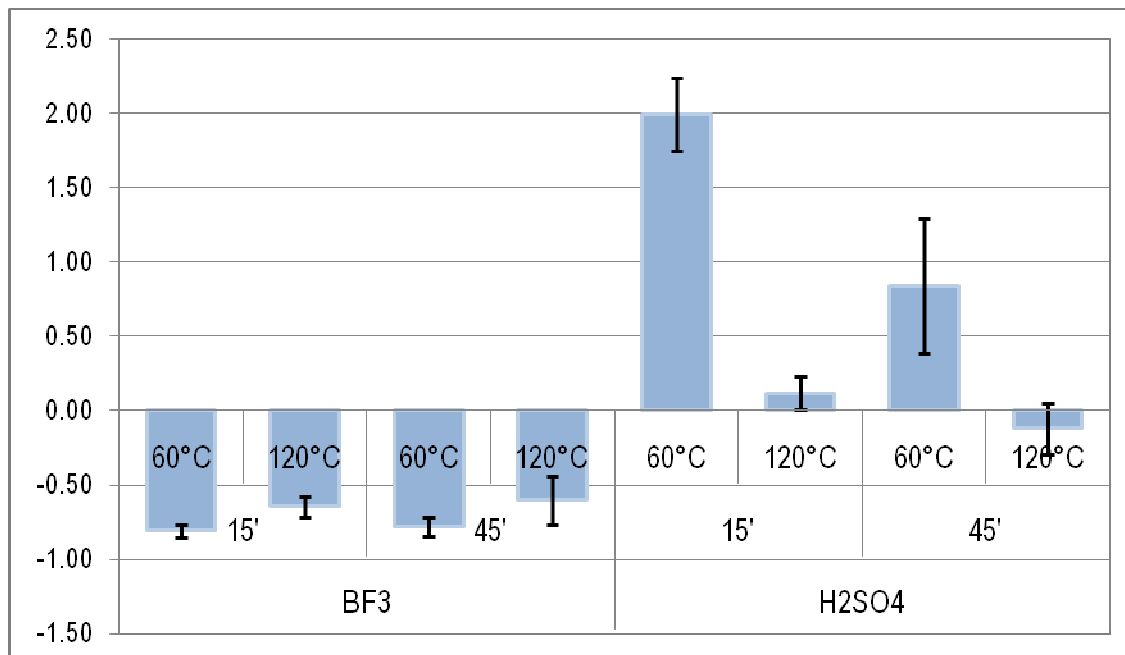


Figura 8. Promedio y desviación estándar de los datos estandarizados de los ácidos grasos en cada una de las condiciones experimentales de la metilación asistida con microondas directa sobre el sedimento de la muestra B9 de abril.

Es muy claro que los resultados utilizando H_2SO_4 como catalizador son mejores que con el BF_3 . Seguramente a consecuencia de la neutralización de los carbonatos del sedimento por el H_2SO_4 . Se repitieron los experimentos con el H_2SO_4 neutralizando los carbonatos antes del proceso en el microondas y no se observó una diferencia significativa clara, seguramente porque la cantidad de ácido es suficiente para neutralizar la muestra. No obstante esto es un elemento de juicio negativo pues indica un posible efecto por la composición del sedimento.

También se observa un efecto negativo del tiempo y la temperatura de reacción sobre el rendimiento de la reacción. Las barras de error indican que también hay un efecto apreciable sobre la composición relativa de los ácidos grasos, como se ejemplifica en la Figura 9 con dos pares de ácidos saturado e insaturado.

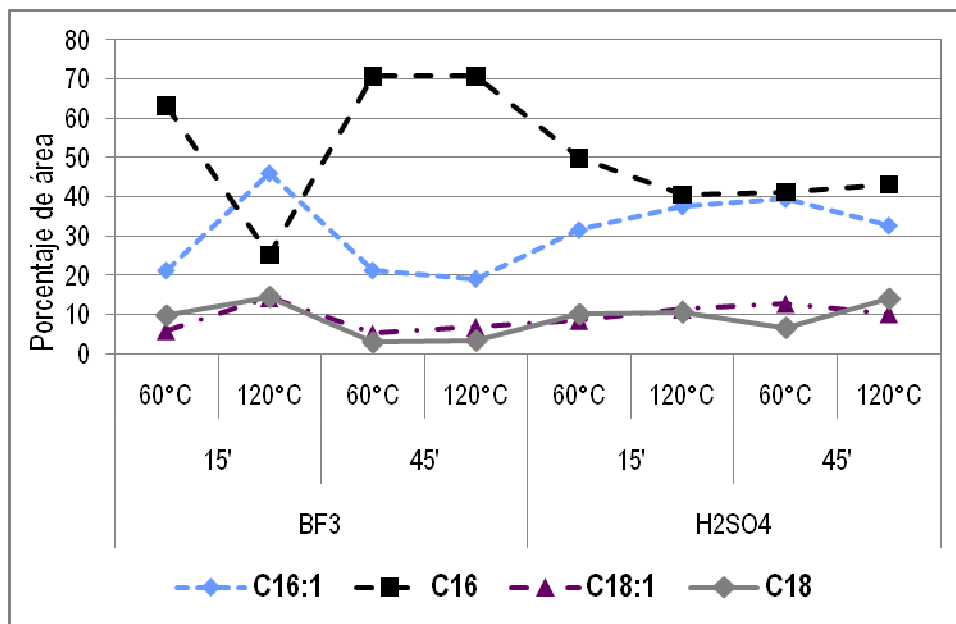


Figura 9. Variación de la proporción relativa de pares de ácidos saturado-insaturado en función de las condiciones experimentales de la metilación asistida con microondas directa sobre el sedimento de la muestra B9 de abril.

Como conclusión general de los experimentos de ataque químico del sedimento se puede decir que son opciones prometedoras pues simplifican notablemente el procedimiento de preparación de la muestra para el análisis cromatográfico de los ácidos grasos. Sin embargo, se requiere de mayor investigación para establecer condiciones que ofrezcan procedimientos adecuadamente robustos. La continuación de estos desarrollos está fuera de los alcances de este proyecto. Así, para el estudio de la distribución de los ácidos grasos en los sedimentos de la Boca de la Carbonera se decidió realizar la extracción de la MO con el procedimiento asistido por microondas y hacer la separación y derivación de los ácidos grasos con los procedimientos comunes de saponificación con KOH/MeOH y metilación con BF₃/MeOH.

8.4- Evaluación de la repetibilidad del procedimiento seleccionado.

Para evaluar la repetibilidad del procedimiento se analizaron por duplicado submuestras independientes de las estaciones B1, B2, B3, B5, B7, B9 y B10 del mes de junio. Se calcularon los coeficientes de variación de las réplicas tanto para las áreas cromatográficas absolutas como para las áreas relativas expresadas como porcentaje. El coeficiente de variación promedio para todos los ácidos identificados fue de 24% para las áreas absolutas y de 17% para los porcentajes de área. Si para reducir el error que proviene de la integración de las áreas consideramos solo los ácidos que representan más de 1% de los ácidos identificados el valor se reduce a 16% para los porcentajes de área. No es una reducción muy importante del coeficiente de variación, por lo que los factores de error dominantes son la heterogeneidad de los sedimentos y los procesos de tratamiento de las muestras.

Puesto que el objetivo del análisis del perfil de ácidos grasos en los sedimentos en este proyecto es utilizarlo para estudiar las similitudes de composición de la materia orgánica, tienen más interés los valores expresados como porcentaje de área más que las áreas absolutas o la concentración, pues con los valores relativos se elimina el efecto de la cantidad total de materia orgánica que puede enmascarar las diferencias en composición. En este caso, la repetibilidad del procedimiento es aceptable.

8.5- Variación espacio- temporal de los parámetros fisicoquímicos en la columna de agua.

Aunque este trabajo está enfocado en el análisis de los sedimentos, resulta interesante revisar la distribución espacial y temporal de algunos parámetros fisicoquímicos (saturación de oxígeno, %SatO₂; salinidad, So/oo; temperatura, T; pH y clorofila a, Clor a) y nutrientes (amonio, NH₄; nitrógeno inorgánico disuelto, NID y fósforo total, PT. Datos proporcionados por la M. en C. Korymthia López Aguiar) de la columna de agua pues dan una idea clara de las diferencias por zonas que se presentan en el sistema y es de esperar que se reflejen en las características de la MO de los sedimentos.

En los gráficos de la Figura 10 a y b, se presentan para cada estación los valores de los promedios anuales de cada parámetro, su desviación estándar y desviación estándar relativa. Se señala también la agrupación de estaciones por su localización en el área de estudio. Las estaciones B1 a B3 corresponden a la zona inmediata de la boca que comunica el sistema con el mar. Las estaciones B4 a B6 se encuentran en la zona oeste en el canal de intercambio de aguas que provienen del mar y de los ojos de agua del petén. Las estaciones B7 a B9 se ubican en el petén, en la entrada, a la mitad del canal de descarga del agua que proviene del acuífero y en uno de los manantiales de agua. Las estaciones B10 a B11 se encuentran en la zona al este de la boca de entrada. Se pueden hacer varias observaciones de estos gráficos:

1. Excepto en la zona del petén la saturación de oxígeno es alta, con tendencia a la sobresaturación con valores que alcanzan 130%, resultado del efecto del viento. La variabilidad en el tiempo no es muy grande, alrededor del 20%. La variabilidad es un poco mayor y menos homogénea en la zona al este de la boca. Al contrario en las estaciones B7 a B9 la saturación es menor del 40% y el medio llega a ser incluso hipóxico y debido a esto con una variabilidad en el tiempo grande en términos relativos. Se debe resaltar que en la estación B7, que se encuentra justo en la entrada del canal de acceso al petén, aún en términos absolutos la variabilidad es muy grande y similar a la de las otras estaciones.

2. La salinidad es alta, alrededor de 36 en las estaciones de la boca y de 38 en la zona al este. Disminuye a 30 en las estaciones de la zona de mezcla al oeste de la boca y es mucho más baja, menor del 5%, en las estaciones del petén dominada por el agua que aflora del acuífero. Los valores del promedio en la zona de mezcla no reflejan con claridad un gradiente de salinidad debido a que la penetración del agua marina es muy variable y puede llegar hasta la zona del petén, lo que se refleja en los datos de desviación estándar relativa. La variación en el tiempo es relativamente baja en las

estaciones de la boca y de la zona al este (10% - 20%) y aumenta en las estaciones donde se presenta la mezcla del agua marina con la que proviene del petén. Esto es particularmente visible en la estación de entrada al petén (B7).

3. Las temperaturas son bastante estables, la variación relativa mayor (16%) se presenta en la estación B1 que es la más inmediata a la boca y las más bajas (2% - 4%) en las estaciones del petén, que también son las más frías (27°C) pues están determinadas por la temperatura del agua del acuífero que emerge allí. En el resto de las estaciones la temperatura seguramente está determinada por la insolación ya que el sistema es muy somero. Tiene una altura de agua de alrededor de 47 cm en promedio, excluyendo la zona del petén, con valores medidos tan bajos como 4 cm en la estación B4 en enero de 2010 y hasta de 167 cm en la estación B10 en abril de 2009. La estación B9 en el ojo de agua del petén es la que tiene mayor profundidad desde 77 cm (en mayo de 2009) y hasta de 300 cm (septiembre de 2009).

4. Los valores promedio de pH en la zona del petén son los del agua del acuífero (7.1 a 7.4), pero cabe mencionar que en la estación B7 en la entrada al canal de acceso al ojo de agua en noviembre de 2009 se midió un valor tan alto como 8.4, lo que indica que el frente salino pudo penetrar hasta esa zona, también es la que presenta la mayor variabilidad relativa (7%). En el resto de las estaciones los valores promedio son característicos de agua del mar (8.2), pero se midieron valores extremos de 8.7 en abril de 2009 en la estación B5, y de 6.9 en enero de 2010. Esto es el resultado de la combinación de la evaporación por insolación, la penetración variable del frente salino, el aporte de agua del acuífero y de la precipitación que se presentó en la temporada de nortes.

5. Respecto a la concentración de NH_4 es relevante señalar que el valor promedio más alto (15 μM) se presenta en la estación B6 que, en contraste, presentó un promedio de saturación de oxígeno mayor de 100%. Esto es un indicador de actividad de descomposición anóxica en los sedimentos. El siguiente valor en importancia se presentó en la estación B7 (10 μM), en la que coincidentemente la saturación de oxígeno es relativamente baja. En el resto del sistema los valores de amonio se encuentran entre 2 y 8 μM . La variabilidad de este parámetro a lo largo del periodo de estudio es alta, entre 100% y 250%.

6. Los promedios más altos de nitrógeno disuelto total se presentaron en la zona del petén, lo que indica que es donde se encuentra el mayor aporte de materia orgánica. Los valores disminuyen desde el petén y hacia la boca, lo que sugiere que hay un transporte de materia orgánica a través de la zona de mezcla al oeste de la boca. La variabilidad mayor (150% a 200%) en el periodo de estudio es para las estaciones B3 a B5, que son afectadas por los procesos de mezcla.

7. El fósforo total es bajo en la zona del petén, como es de esperar en un medio de agua que proviene del acuífero en un suelo cárstico como el de Yucatán. En el resto del sistema es mayor pero menor de 1 μM , con valores muy similares y una variabilidad en el tiempo baja en comparación a la del resto de los nutrientes.

8. Los datos de clorofila-a muestran una relación interesante. Los valores altos se encuentran en las estaciones próximas a la boca y en la zona al este de la boca. Disminuyen a lo largo de la zona de mezcla al oeste de la boca hacia el petén, donde se encuentran los valores más bajos. Esto nos indica que la productividad primaria en el agua es básicamente de características marinas, que es el otro aporte, además del que proviene del petén, de materia orgánica al sistema.

Esta información sugiere que la clasificación del área de estudio en cuatro zonas, que se hizo inicialmente con base en las características más apreciables a simple vista, se refleja en los parámetros analizados. Para verificar las similitudes entre estaciones se hizo un análisis de conglomerados con los valores de los promedios anuales. El resultado se muestra en el dendograma de la Figura 11. Sin ser totalmente coincidente, el agrupamiento de las estaciones es similar a lo esperado. Es clara la asociación de las estaciones B7 a B9 del petén, también la de las estaciones B3 a B6 en un mismo grupo coincidente con la zona de mezcla al oeste de la boca, lo que llama la atención es la inclusión de la estación B11 en este grupo y no en el de las estaciones cercanas a ella en la zona al este de la boca. El tercer grupo que se observa con claridad está constituido por las estaciones B1, B2, B10 y B12, de características más marinas, que corresponde a las estaciones inmediatas a la boca y la zona de inundación al este. La localización del agrupamiento de estaciones también se muestra en la Figura 11.

El análisis de las variaciones temporales es más complicado por varias razones: el sistema es muy somero y tiene mucha turbación, principalmente por efecto de las mareas y los vientos. El muestreo, realizado un día de cada mes, nos proporciona información muy puntual de ese momento, y el lapso de este estudio de solo un año no permite ver variaciones cíclicas. Sin embargo, es interesante analizar el sistema en conjunto con base en el promedio mensual de todas las estaciones de los parámetros analizados. Estos datos se muestran en la Figura 12, donde también se incluyeron como referencia los datos de precipitación (del sitio de Chelém y el promedio para el estado de Yucatán) y temperatura de Chelem, que es la estación meteorológica más cercana. Es evidente que la temperatura de la columna de agua está fundamentalmente regulada por la temperatura ambiente. La salinidad parece estar asociada a las precipitaciones. En junio se inició la temporada de lluvias, que en la costa fueron escasas en comparación con las generales del Estado de Yucatán, con máximos en junio, agosto, y en noviembre se presentó el máximo de precipitación total mensual, asociado a la temporada de nortes. Los valores mínimos de salinidad ocurrieron en agosto y diciembre, lo que sugiere que además del efecto local hay un incremento retardado en el aporte de agua no salina por la recarga del acuífero de la península. Aunque no parece haber otras relaciones simples tan claras, cabe señalar el aumento significativo de nitrógeno disuelto total que ocurrió en enero y probablemente asociado a los nortes más intensos de noviembre. También se aprecian efectos similares asociados a las lluvias en los valores de clorofila a, fósforo total y amonio.

En términos generales parece que efectivamente las características químicas y fisicoquímicas del sistema sufren el efecto de las temporadas de secas, lluvias y nortes características de la península de Yucatán.

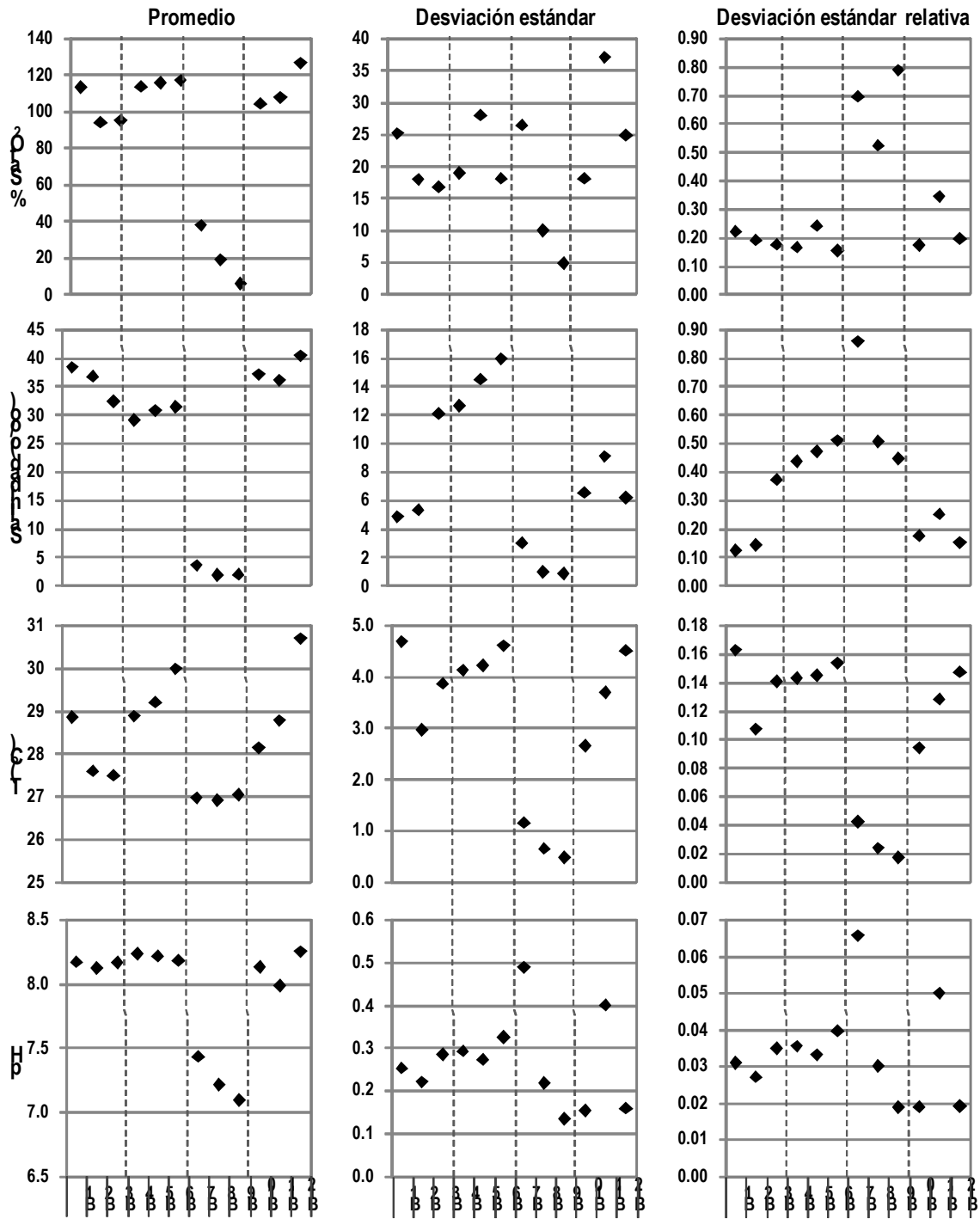


Figura 10 a. Promedio anual por estación de los algunos parámetros fisicoquímicos, desviación estándar y desviación estándar relativa. Las líneas punteadas dividen las estaciones por su ubicación en el área de estudio.

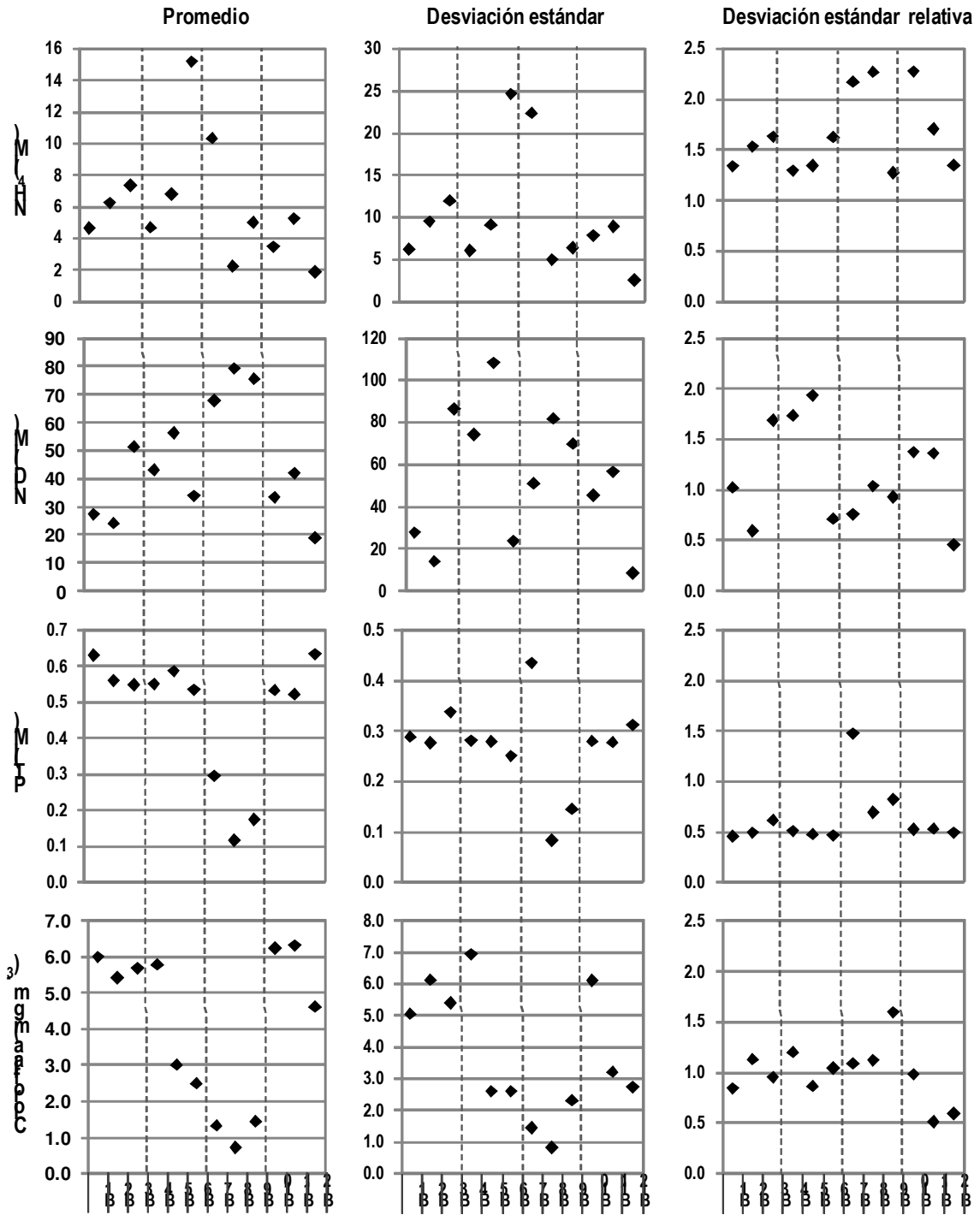


Figura 10 b. Promedio anual por estación de los algunos parámetros fisicoquímicos, desviación estándar y desviación estándar relativa. Las líneas punteadas dividen las estaciones por su ubicación en el área de estudio.

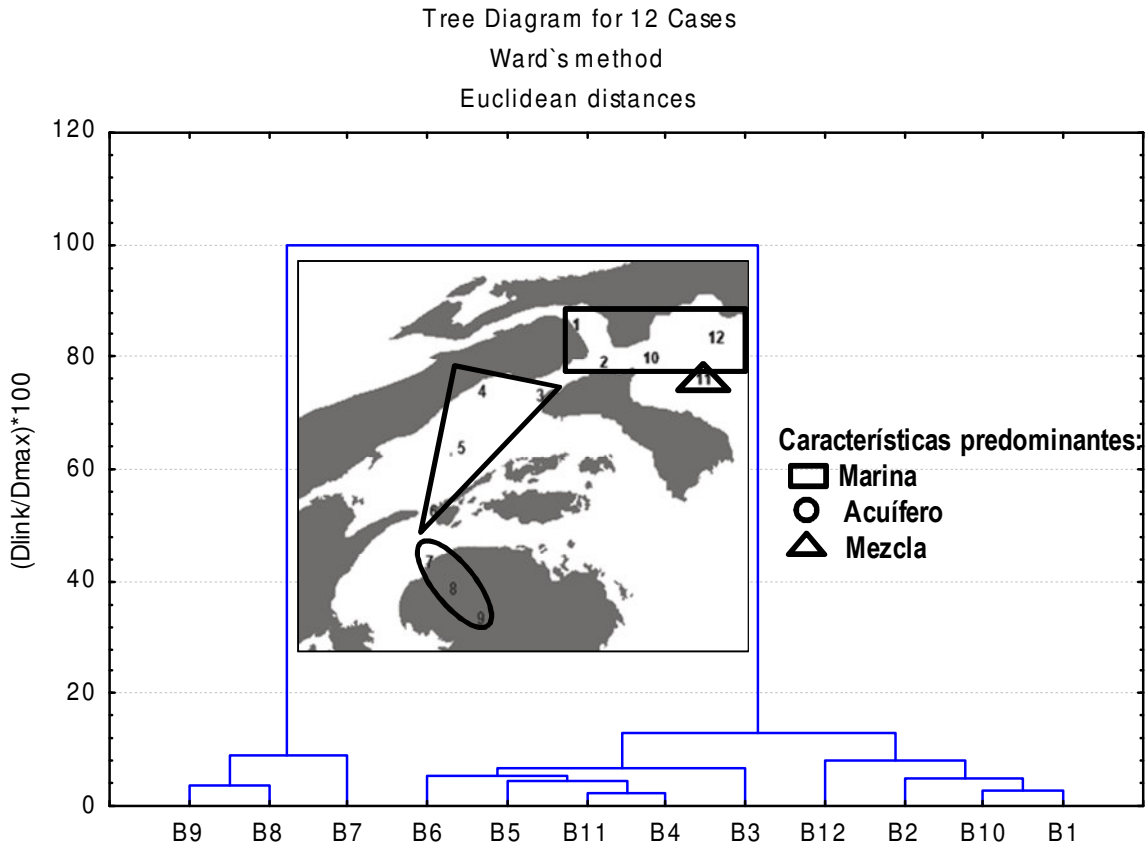


Figura 11. Dendrograma del análisis de conglomerados (“cluster analysis”) y localización de los grupos utilizando los parámetros fisicoquímicos y nutrientes de la columna de agua como variables.

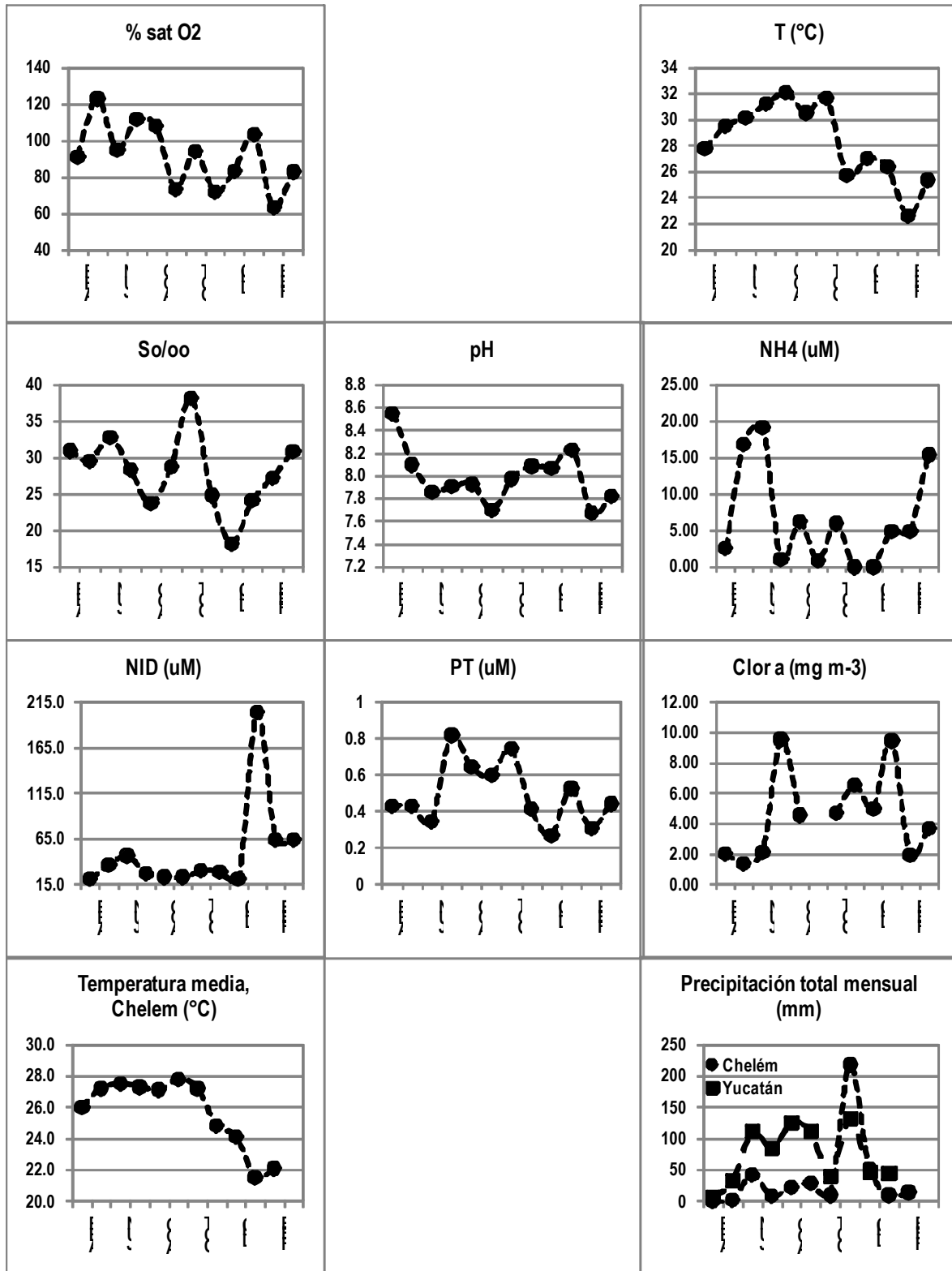


Figura 12. Variaciones mensuales. Promedios mensuales de las variables fisicoquímicas y nutrientes de las estaciones del área de estudio.

8.6- Granulometría de los sedimentos.

Únicamente con el fin de disponer de una referencia de las características granulométricas del sedimento en el área de estudio se analizó la distribución del tamaño de grano de las muestras recolectadas en febrero de 2010 con base en la clasificación de Uden-Wentworth y los tamices disponibles en el laboratorio. En la Figura 13 se muestran los resultados expresados en porcentaje de cada fracción.

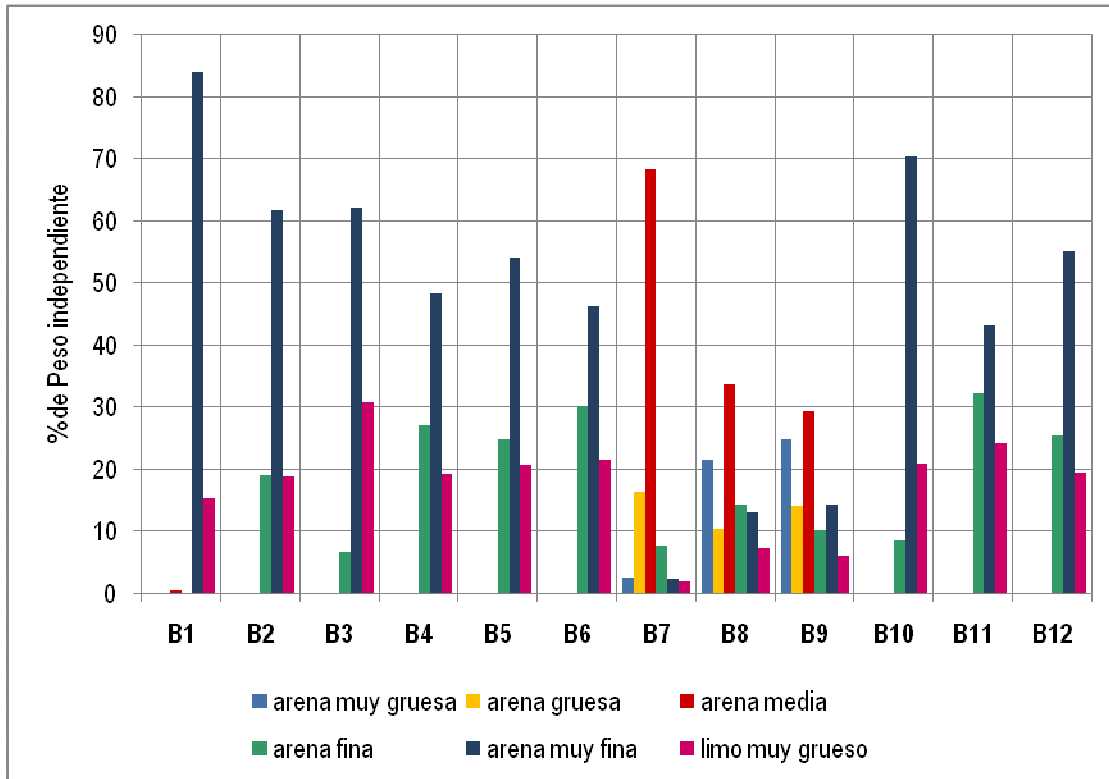


Figura 13. Distribución del tamaño de partícula en los sedimentos del mes de febrero de 2010.

Cabe destacar de estos resultados que en la estación más inmediata a la boca predominan las arenas muy finas y los limos, que en las dos zonas de inundación aparecen ya proporciones significativas de arenas finas y que en la zona del petén la distribución es totalmente diferente con proporciones significativas de todas las fracciones y predominio de arenas medias. Las diferencias entre las zonas se aprecian mejor reagrupando los datos en un número menor de fracciones, como se muestra en la Figura 14. Esto indica que la sedimentación y la resuspensión son similares en toda el área fuera del petén, en el que hay un transporte importante de sedimentos por el flujo de la descarga del ojo de agua hacia la zona de inundación.

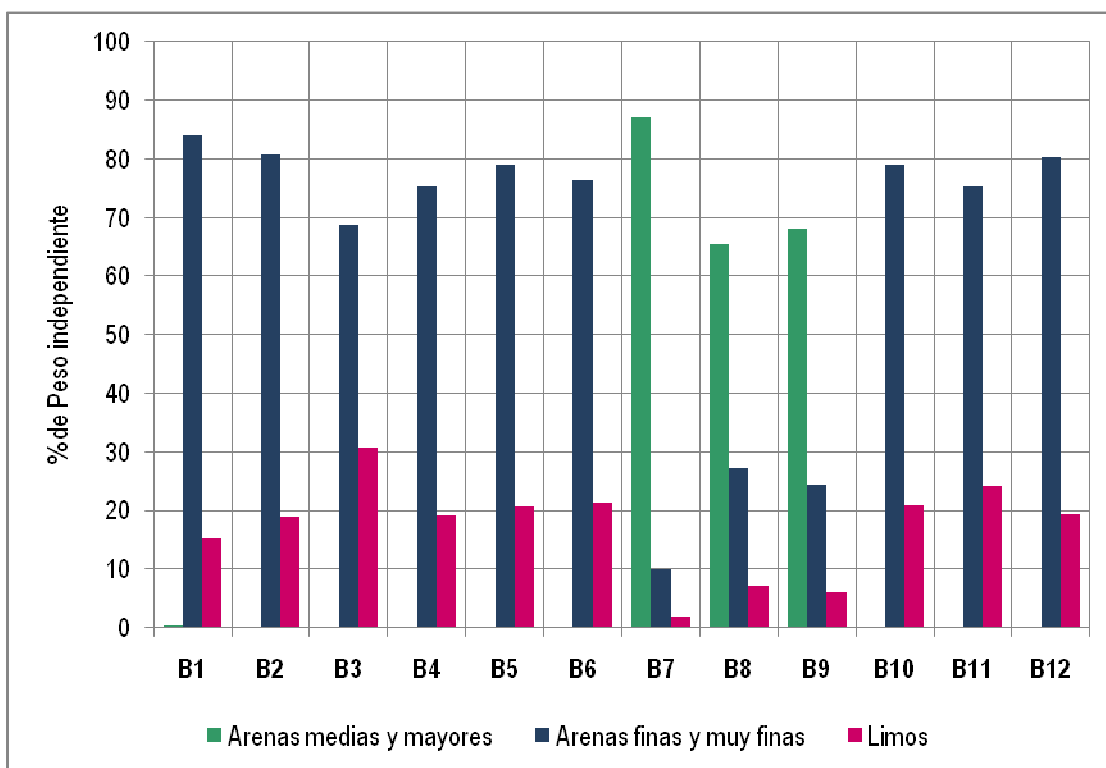


Figura 14. Distribución del grano de los sedimentos de la zona de estudio clasificado en tres grupos de tamaño.

8.7- Porcentaje de carbono orgánico total en los sedimentos.

A todas las muestras de sedimentos recolectadas se les determinó el porcentaje de carbono orgánico total por el método de oxidación húmeda de Walkley-Black. En la Figura 15 se muestra un gráfico con los datos agrupados en los promedios anuales para cada estación, se señala en el gráfico el sector de clasificación por zonas que se hizo a priori según la ubicación de las estaciones en el área de estudio. Considerando las dimensiones del área y que el transporte por el efecto de las mareas y de la descarga del ojo de agua del petén debe ocurrir fundamentalmente en dirección norte-sur, los datos se presentan en función de la latitud norte donde se localiza cada estación. Es claro que existe un gradiente de las estaciones del petén hacia la boca (B9 a B1), en la misma figura se muestra el ajuste exponencial de estos datos ($r = 0.984$). Los datos de las estaciones de la zona este quedan fuera del ajuste, lo que indica que allí el origen de la materia orgánica y los procesos de transporte son diferentes.

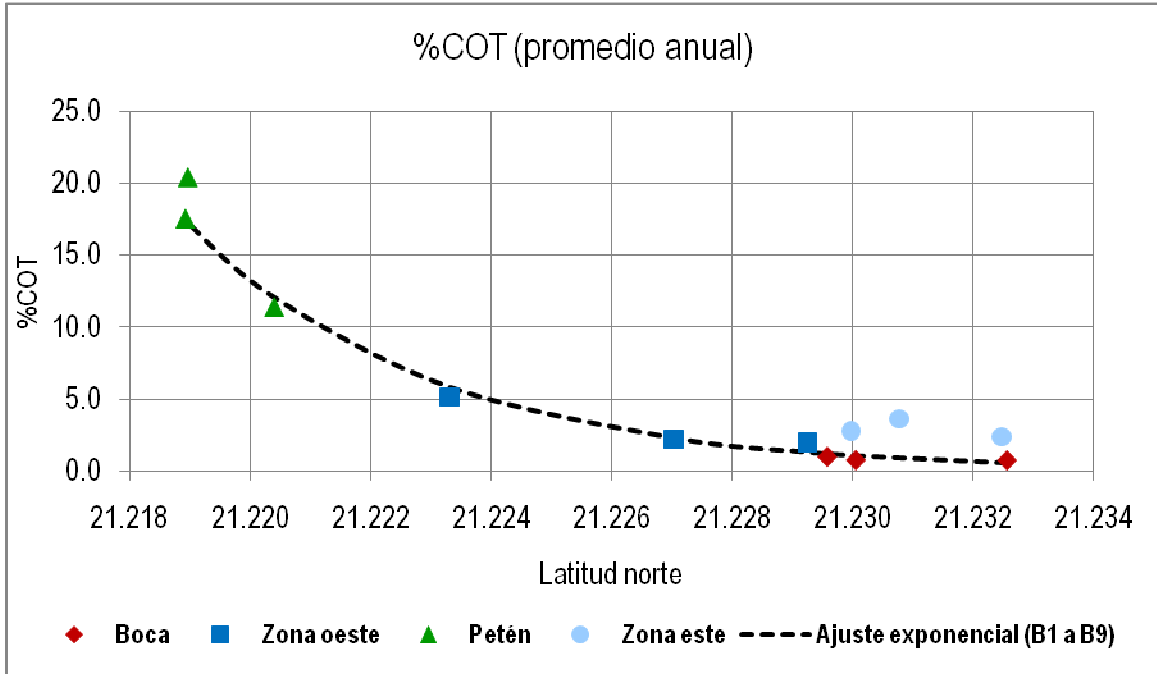


Figura 15. Relación entre el promedio anual del porcentaje de carbono orgánico total en los sedimentos y la localización en latitud de la estación. Se distingue con los marcadores el sector al que pertenece cada estación.

La variabilidad temporal es importante, en la Figura 16 se presentan los datos de desviación estándar y desviación estándar relativa respecto al promedio anual. La variación relativa se encuentra entre el 20% y el 80% dependiendo de la estación, los valores tienden a ser mayores en las estaciones más cercanas a la boca, al norte del área de estudio.

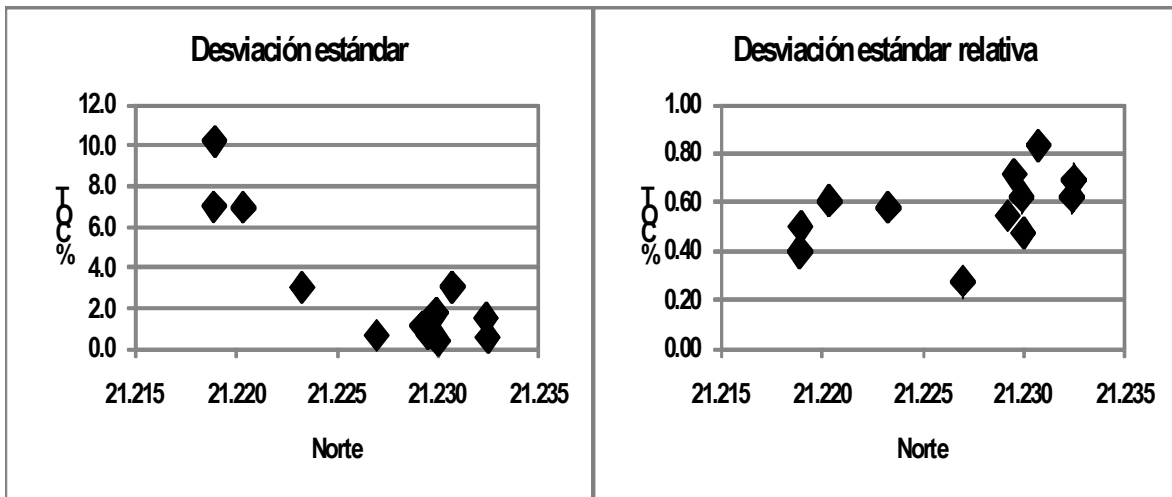


Figura 16. Desviación estándar de los datos mensuales del porcentaje de carbono orgánico total en función de la latitud de la ubicación de cada estación.

En la Figura 17 se presentan los datos mensuales del promedio del %COT para las estaciones agrupadas en los sectores ya señalados, se indica también la desviación estándar con barras de error. Con fines de comparación se presentan los datos de precipitación total mensual registrados en Chelém y los generales del Estado de Yucatán.

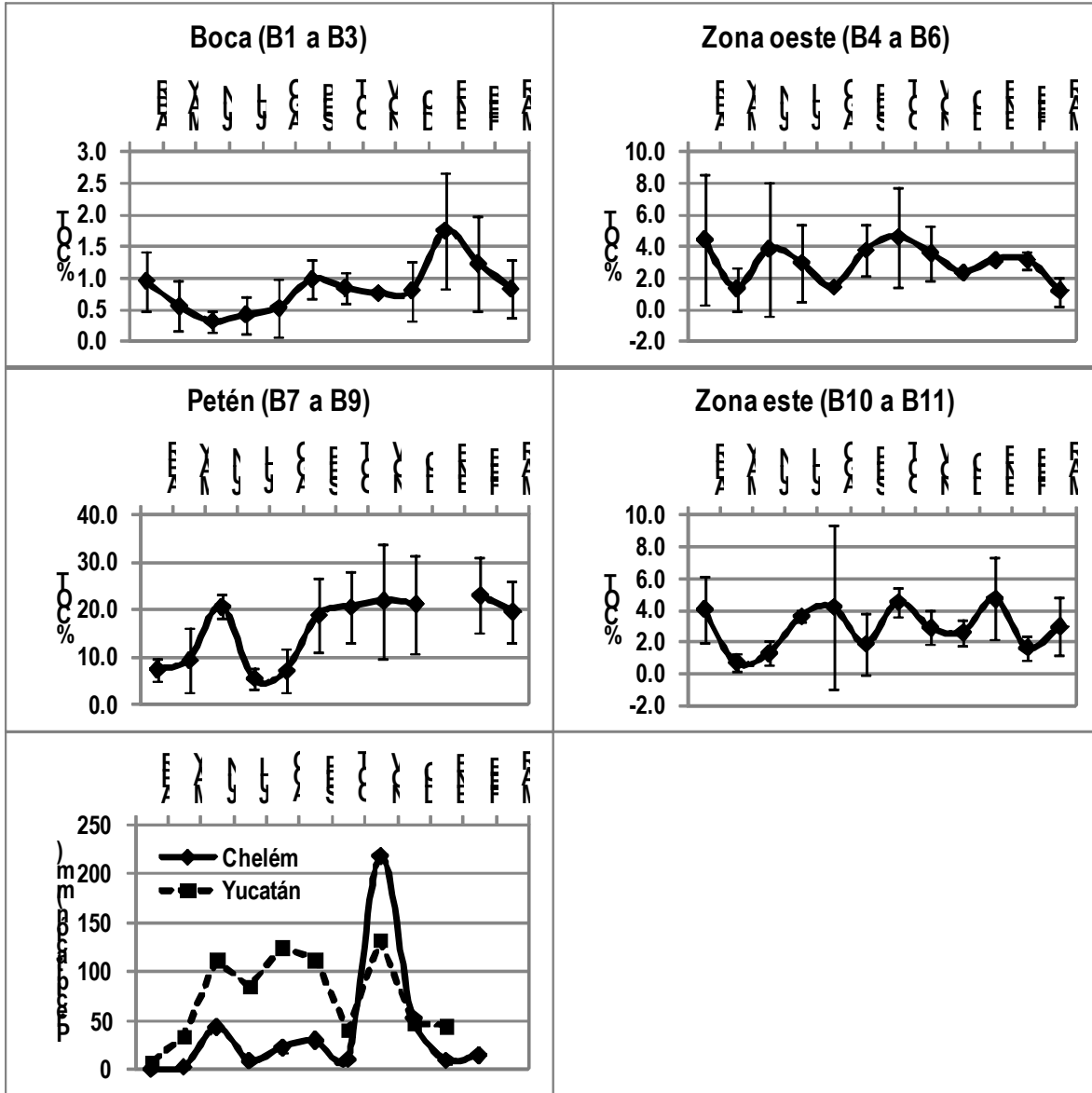


Figura 17. Variación promedio mensual del porcentaje de carbono orgánico total en cada uno de los sectores del área de estudio. Las barras corresponden a +/- una desviación estándar.

En la zona cercana a la boca el %COT crece en forma coincidente, pero desplazada en alrededor de tres meses, con las precipitaciones registradas en Chelém en la temporada lluvias y con las más intensas de la temporada de nortes. En la zona del petén el máximo de precipitaciones de la temporada de lluvias en junio es coincidente con el máximo en %COT y vuelve a los valores anteriores en julio, lo que sugiere un aporte por escorrentía local. Se presenta un nuevo incremento

en el mes de septiembre, casi al final de la temporada de lluvias, que se mantiene en valores altos hasta el mes de marzo siguiente, que además del efecto local debe ser consecuencia del incremento en el aporte de agua que proviene del acuífero por la recarga que resulta de las lluvias.

Las zonas de inundación que se encuentran a ambos lados de la boca tienen un comportamiento temporal más complejo, en el que el arrastre de sedimentos producido por las mareas, la aeroturbación y quizá la fotooxidación tienen un efecto significativo que se sobrepone al de la precipitación.

Se concluye de lo anterior que hay un aporte importante de materia orgánica terrígena a los sedimentos del sistema y transporte hacia la boca, que seguramente va acompañado de degradación y remineralización.

8.8- Ácidos grasos en la materia orgánica de los sedimentos.

Los ácidos producidos de la saponificación se derivaron a los correspondientes ésteres metílicos y se analizaron por CG-FID según los procedimientos ya descritos. La identificación se hizo por comparación de los tiempos de retención relativos al nonadecanoato de metilo, añadido como estándar interno, con los de una mezcla de estándares. En la Figura 18 se muestra el cromatograma de la mezcla de estándares y en la Tabla 14 la identificación de cada uno de los picos.

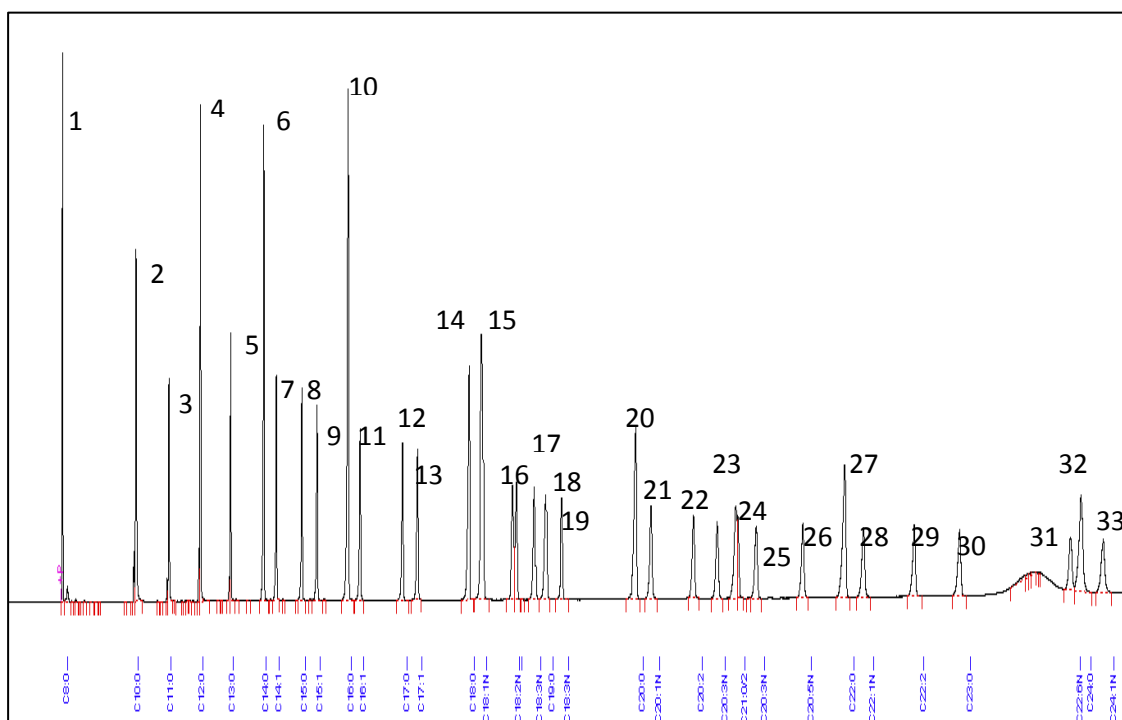


Figura 18. Cromatograma de la mezcla de estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos analizada bajo las condiciones descritas en la Parte experimental sección 7.2.10.

Tabla 14. Tiempos de retención relativos al nonadecanoato de metilo de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la mezcla de estándares

# de Pico	Tiempo de retención	Nombre Sistemático	Nombre trivial	Abreviatura
1	7	Ácido octanóico	Ácido Caprílico	C8
2	8.41	Ácido decanóico	Ácido Cáprico	C10
3	9.06	Ácido undecanóico		C11
4	9.67	Ácido dodecanóico	Ácido Láurico	C12
5	10.26	Ácido tridecanóico		C13
6	10.91	Ácido tetradecanóico	Acido mirístico	C14
7	11.15	Ácido tetradecenóico		C14:1
8	11.65	Ácido pentadecanóico		C15
9	11.96	Ácido pentadecenóico		C15:1
10	12.56	Ácido hexadecanóico	Palmítico	C16
11	12.9	Ácido hexadecenóico	Palmitoleico	C16:1
12	13.64	Ácido heptadecanóico		C17
13	13.93	Ácido heptadecenóico		C17:1
14	14.95	Ácido octadecanóico	Esteárico	C18
15	15.19	Ácido cis-9- octadecenóico	Oleico	C18:1n9c
16	15.81	Ácido octadecadienoico	Ácido linoleico conjugado	C18:2
17	16.23	Ácido cis-6,9,12- octadecatrienoico	Gamma linolénico	18:3n6
18	16.47	Ácido nonadecanóico		C19
19	16.77	Ácido cis-9,12,15- octadecatrienoico	Ácido linolénico	C18:3n3
20	18.22	ácido eicosanóico	Ácido araquídico	C20
21	18.53	ácido 9-eicosenoico	Ácido gadoleico	C20:1
22	19.36	Ácido eicosadiénoico		C20:2
23	19.83	Ácido 8,11,14 eicosatrienoico	Ácido dihomo- y linoleico	C20:3
24	20.19	Ácido henicosanoico		C21
25	20.57	Ácido 5, 8, 11, 14 eicosatetraenoico	Araquidónico	C20:4n6
26	21.47	Ácido 5,8,11,14,17 eicosapentanóico	EPA	C20:5n3
27	22.29	ácido docosanoico	Ácido behénico	C22
28	22.67	ácido 13-docosenoico	Ácido Erucico	C22:1
29	23.65	Ácido docosadienoico		C22:2

30	24.54	Ácido tricosanóico		C23
31	26.66	Ácido docosahexenoico	DHA	C22:6 n3
32	26.88	Ácido tetracosanóico	Ácido lignocérico	C24
33	27.31	Ácido tetracosenoico	Ácido nervónico	C24:1N

El análisis de los ácidos grasos en la materia orgánica de los sedimentos se realizó en 129 muestras recolectadas entre mayo de 2009 y abril de 2010. En la Figura 19 se muestra un cromatograma típico del análisis, como ésteres metílicos, de los ácidos grasos extraídos de los sedimentos. Con el fin de corregir los resultados cuantitativos por efectos de matriz las áreas de los picos se recalcularon como áreas relativas a las del éster del ácido nonadecanoico añadido a las muestras antes de su extracción.

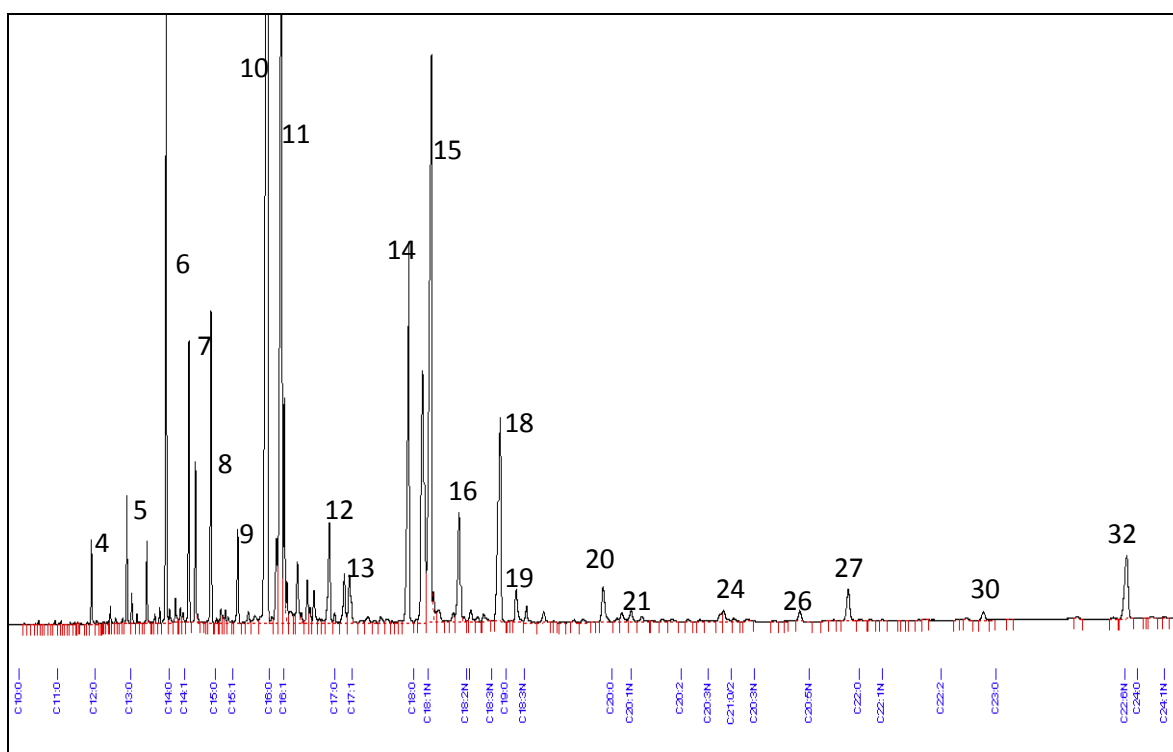


Figura 19. Cromatograma típico del análisis por CG-FID de los ácidos grasos extraídos de los sedimentos de la boca de La Carbonera., analizados como ésteres metílicos bajo las condiciones descritas en la Parte experimental sección 7.2.10.

8.9- Relación entre la cantidad de ácidos grasos, el %COT y la localización de la estación de muestreo.

Es de esperar que exista una relación entre la cantidad total de ácidos grasos en los sedimentos y el %COT. Además, como se concluyó en las secciones anteriores parece que el mayor aporte de materia orgánica al sistema, en particular a los sedimentos, proviene de la zona del petén y que

existe un gradiente de sur a norte. Deberemos entonces observar un comportamiento similar para la cantidad total de ácidos grasos en los sedimentos. Como el procedimiento para procesar todas las muestras fue el mismo, el área corregida total es directamente proporcional a la cantidad ácidos grasos presentes en los sedimentos.

En la Figura 20 se muestra gráficamente la relación entre los promedios anuales del área corregida total y del %COT, distinguiendo con el tipo de marcador el sector al que pertenece cada dato. Se aprecia claramente que existe una relación directa entre ambas variables, pero con la misma proporcionalidad para todas las estaciones. Existe una buena correlación ($r = 0.95$) en las estaciones B1 a B7 que corresponde al sector donde hay mezcla del agua que descarga desde el petén y la marina que penetra por efecto de las mareas, la recta de regresión también se muestra en la figura. Las muestras del interior del petén (B8 y B9) son las que se alejan más de la relación que se observa para las demás. Aunque no tan pronunciadamente, los datos de las estaciones B10 y B11 también se encuentran desviados la recta. En el caso de las estaciones del petén, el comportamiento anómalo se debe a un contenido muy alto carbono orgánico total, muy probablemente por un alto contenido de materia no extraíble en los disolventes orgánicos como la lignina y las sustancias húmicas. Esto no parece ser el caso en las estaciones B10 y B11 y la desviación puede deberse a un origen distinto de la materia orgánica y a procesos de degradación diferentes de los que ocurren en la zona de mezcla al oeste.

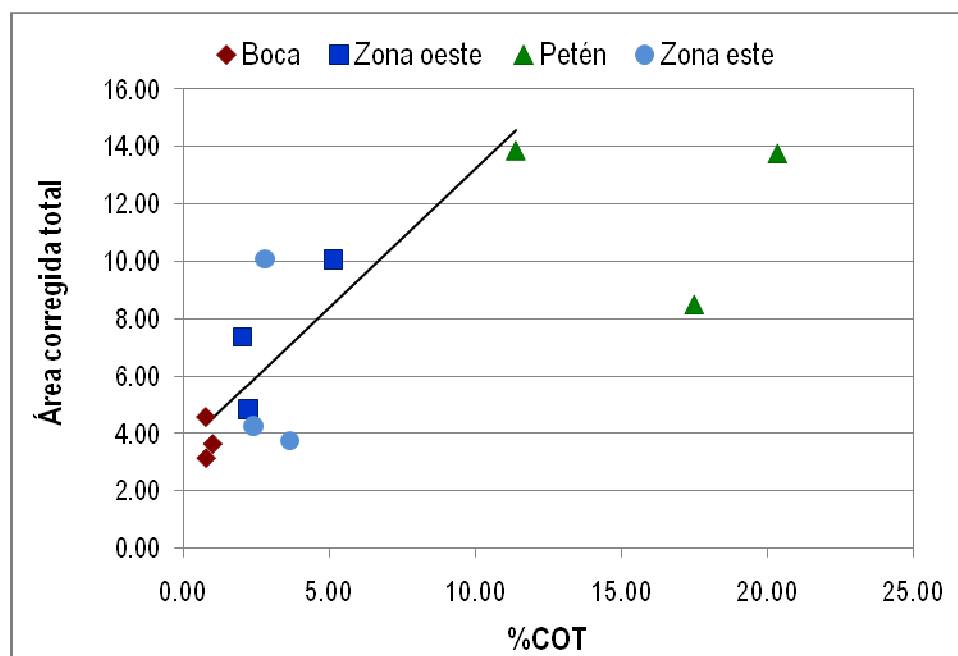


Figura 20. Relación entre el área corregida total de los ácidos grasos y el porcentaje de carbono orgánico total en los sedimentos de la boca de La Carbonera. Los marcadores indican al sector del área de estudio al que pertenece cada dato y la recta es el ajuste de regresión de los datos de las estaciones B1 a B7.

En la Figura 21 se presentan los promedios anuales del área corregida total en función de su ubicación en el área de estudio. Se observa el gradiente esperado de sur a norte, con una buena correlación ($r=0.79$) considerando todas las estaciones, la recta de ajuste se muestra en la misma figura. Se presentan también los datos de la desviación estándar, que representan la variabilidad en el tiempo de la cantidad de ácidos grasos en cada estación. La variabilidad en la estación que se encuentra en el afloramiento del agua subterránea en el petén (B9) es la más grande, en tanto las estaciones asociadas a la boca se tienen los valores más bajos (B1 a B3). Más que a fenómenos diferentes, estas diferencias provienen de la disímil cantidad total de ácidos grasos entre estos dos sectores. Las desviaciones estándar relativas, que se presentan en la misma figura, ilustran mejor la importancia de las variaciones en el tiempo. En este caso no se aprecia una tendencia asociada a la latitud o el sector al que pertenece cada estación, lo que indica que los principales factores que inciden en las variaciones temporales son los mismos en toda el área de estudio. Hay que señalar que como para las demás variables, el sistema es muy cambiante en el tiempo y las variaciones relativas extremas se presentan en estaciones del mismo sector, el petén, y van desde 53% en la entrada al canal de acceso al ojo de agua (B7) hasta 120% en la estación donde se encuentra el ojo de agua (B9).

Es interesante analizar las variaciones mensuales del sistema en conjunto, utilizando el promedio mensual del área corregida total en las doce estaciones. En la Figura 22 se presentan estos datos en forma gráfica, se incluye la precipitación total mensual en Chelém y general del Estado de Yucatán. Es claro que la precipitación es el factor determinante en la cantidad de ácidos grasos en los sedimentos del área de estudio. En la temporada regular de lluvias el valor promedio varía poco y se presentó un máximo en el mes de enero, un mes después del máximo de precipitación de la temporada de nortes. Como era de esperar por las diferencias de cantidad de ácidos grasos en cada sector del área de estudio las desviaciones estándar son altas y siguen el comportamiento del valor promedio. Es más sugestivo el comportamiento de la desviación estándar relativa, que si bien en los primeros meses sigue el mismo patrón que la desviación estándar a partir de octubre y durante la temporada de nortes presenta variaciones como si hubiera ciclos alternados de lavado y acumulación.

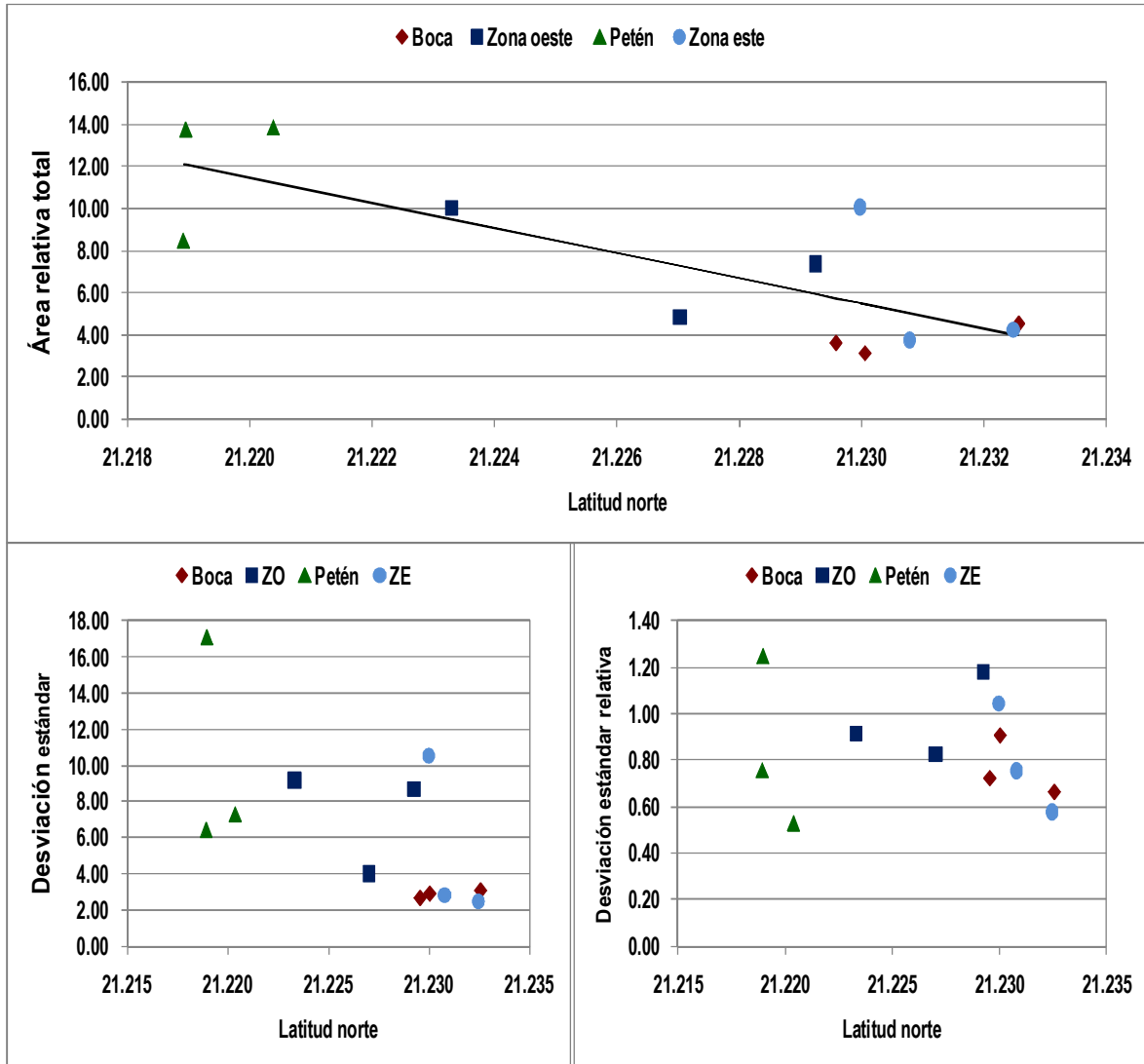


Figura 21. Relación entre el área corregida total de los ácidos grasos y la latitud de cada estación de muestreo en los sedimentos de la boca de La Carbonera. Los marcadores indican al sector del área de estudio al que pertenece cada dato y la recta es el ajuste de regresión de los datos de todas las estaciones.

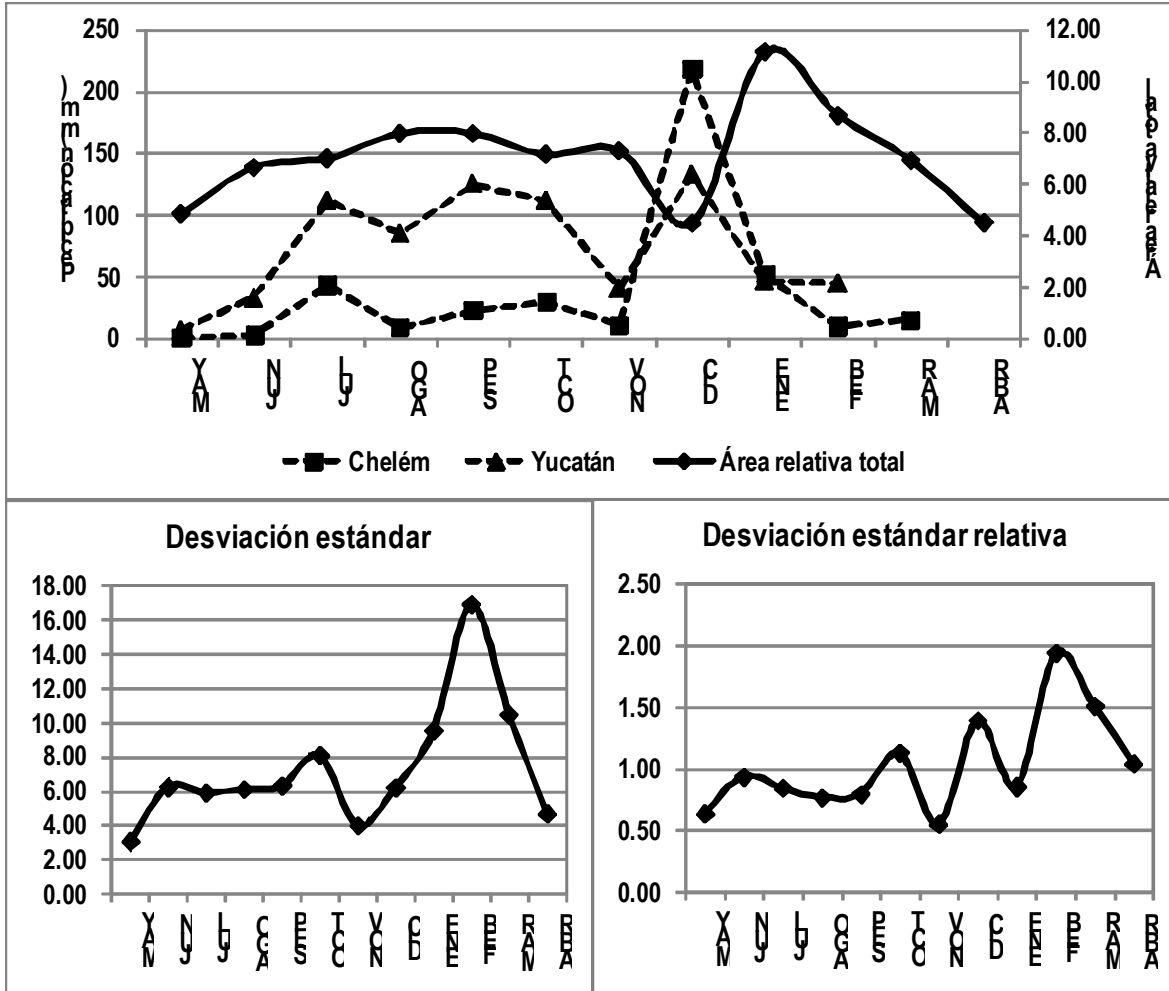


Figura 22. Variación mensual del promedio del área relativa total de las doce estaciones del área de estudio y precipitación total mensual en Chelem y general del Estado de Yucatán. Las gráficas inferiores corresponden a la desviación estándar y la desviación estándar relativa de conjunto de las doce estaciones.

8.10- Composición de la fracción de ácidos grasos en los sedimentos de La Carbonera.

El análisis anterior solo nos describe el comportamiento de la fracción de ácidos grasos en conjunto. Para inferir las diferencias de origen y procesos de transformación es necesario analizar la composición de los ácidos grasos. Entre las 129 muestras analizadas se identificaron un total de 32 ácidos grasos diferentes, esto es una cantidad grande de información y no necesariamente relevante. Con el fin de reducir el número de datos individuales y simplificar su interpretación, se seleccionó un conjunto de ácidos grasos integrado por los que cumplen con las siguientes condiciones:

1. Tienen en el cromatograma un tiempo en el que se reduce la probabilidad de interferencia por el disolvente, las impurezas de los reactivos y los subproductos de la reacción de derivación.

2. Se encuentran en al menos 50% de las muestras analizadas.

3. Se encuentran en una proporción mayor del 1% del total de ácidos grasos en la muestra en la que están presentes.

Para eliminar el efecto de la cantidad total que puede enmascarar las diferencias cualitativas, para el resto de la discusión se utiliza la proporción relativa de cada ácido expresada como porcentaje de los ácidos seleccionados, que se muestran en la Figura 23. También se presenta la composición general en el área de estudio, representada por el promedio de todos los datos (estaciones y meses). En el diagrama de barras se muestra la desviación estándar correspondiente.

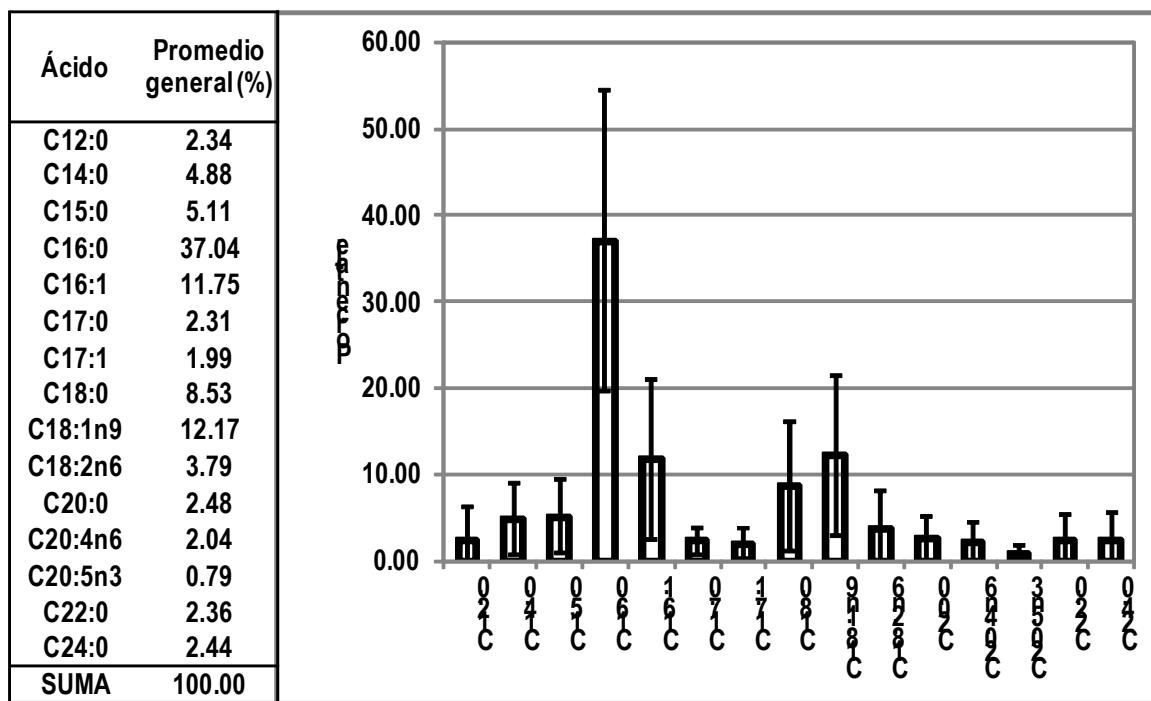


Figura 23. Ácidos seleccionados y composición relativa general en el área de estudio. Las barras de error corresponden a \pm una desviación estándar.

Podemos considerar que los datos anteriores representan la composición típica de ácidos grasos en la materia orgánica de los sedimentos de La Carbonera. Si consideramos que las barras de error representan las variaciones tanto entre los puntos de muestreo como entre los meses, la variabilidad no es tan grande como podría esperarse inicialmente. Aún así hay diferencias de composición tanto entre los puntos de muestreo como entre los meses.

En la Figura 24 se muestra el promedio anual de la composición de ácidos grasos de cada estación de muestreo. Se pueden apreciar algunas diferencias y tendencias interesantes entre estaciones. Por ejemplo, el ácido palmítico (C16:0) es el componente principal en todos los casos, pero no en la

misma proporción, en las estaciones del sector de la boca (B1 a B3) tiene los valores más altos, 45% en B2, en tanto que es creciente en la zona mezcla al oeste de la boca, estaciones B4 a B6, donde alcanza un valor máximo (43%) y decrece de allí hacia el ojo de agua, estaciones B7 a B9 (Figura 25 A). Lo mismo ocurre para el C18:0, pero lo que hace realmente interesante esta relación por posición de la estación es que los ácidos insaturados correspondientes presentan un comportamiento opuesto (Figura 25 B). Esta interdependencia entre el saturado y el insaturado se observa en todos los sectores. La interpretación es compleja pues influyen diversos factores, como el origen de los ácidos, el transporte del material sedimentario y las transformaciones tanto bióticas como abióticas de los lípidos. Los ácidos insaturados son más reactivos que los saturados, dependiendo de las condiciones, las dobles ligaduras pueden sufrir transformaciones redox ya sea hacia el hidroxiaácido o el ácido saturado, en cualquiera de los dos casos se produce un aumento relativo de la cantidad del ácido saturado respecto al insaturado.

Cabe resaltar también la distribución en el área de estudio de otros ácidos, como los poliinsaturados C20:4n6 y C20:5n3, y los saturados C22:0 y C24:0. En el primer caso se observa para los dos ácidos poliinsaturados se observa un gradiente muy marcado desde las estaciones inmediatas a la boca (B2 y B3) hacia la zona del petén (Figura 25 C). El origen de estos ácidos se puede asociar a zooplancton, crustáceos adultos y peces, lo que sugiere una mayor presencia de estas especies en la zona aledaña a la boca. En contraste y razonablemente el gradiente que se observa para C22:0 y C24:0 es inverso, ya que estos ácidos saturados de cadena larga están principalmente asociados a plantas vasculares y seguramente provienen del petén. Hay que destacar que, como en el caso de otras variables, en la zona al este de boca no se aprecian patrones de distribución claramente definidos.

La interpretación por ácidos individuales o grupos de ácidos, por la información que proporcionan, es abundante y rica, pero su ubicuidad produce ambigüedad en la asignación de origen y transformación y conduce fácilmente a confusión. Así, con el propósito de simplificar el manejo de datos y obtener información que permitan encontrar asociaciones y relaciones entre las estaciones de muestreo se decidió utilizar algunas técnicas de análisis multivariado. El análisis de componentes principales nos permite reducir el número de variables que describen el sistema y también seleccionar de entre las variables originales las de mayor relevancia. Con los análisis de conglomerados podemos encontrar asociaciones por similitud entre los puntos de muestreo.

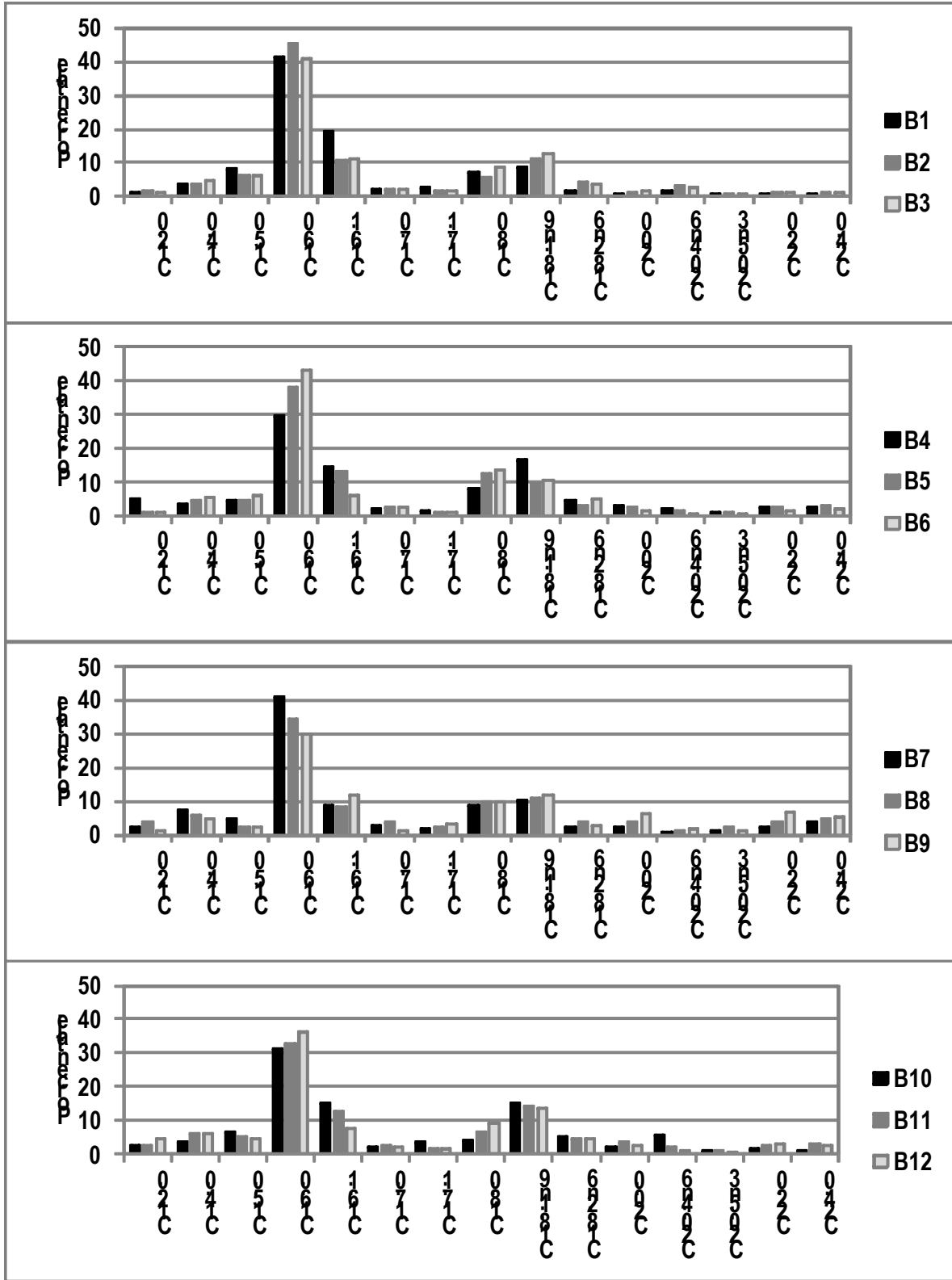


Figura 24. Composición relativa de los ácidos grasos en la materia orgánica de los sedimentos de cada estación de muestreo. Los datos corresponden al promedio anual.

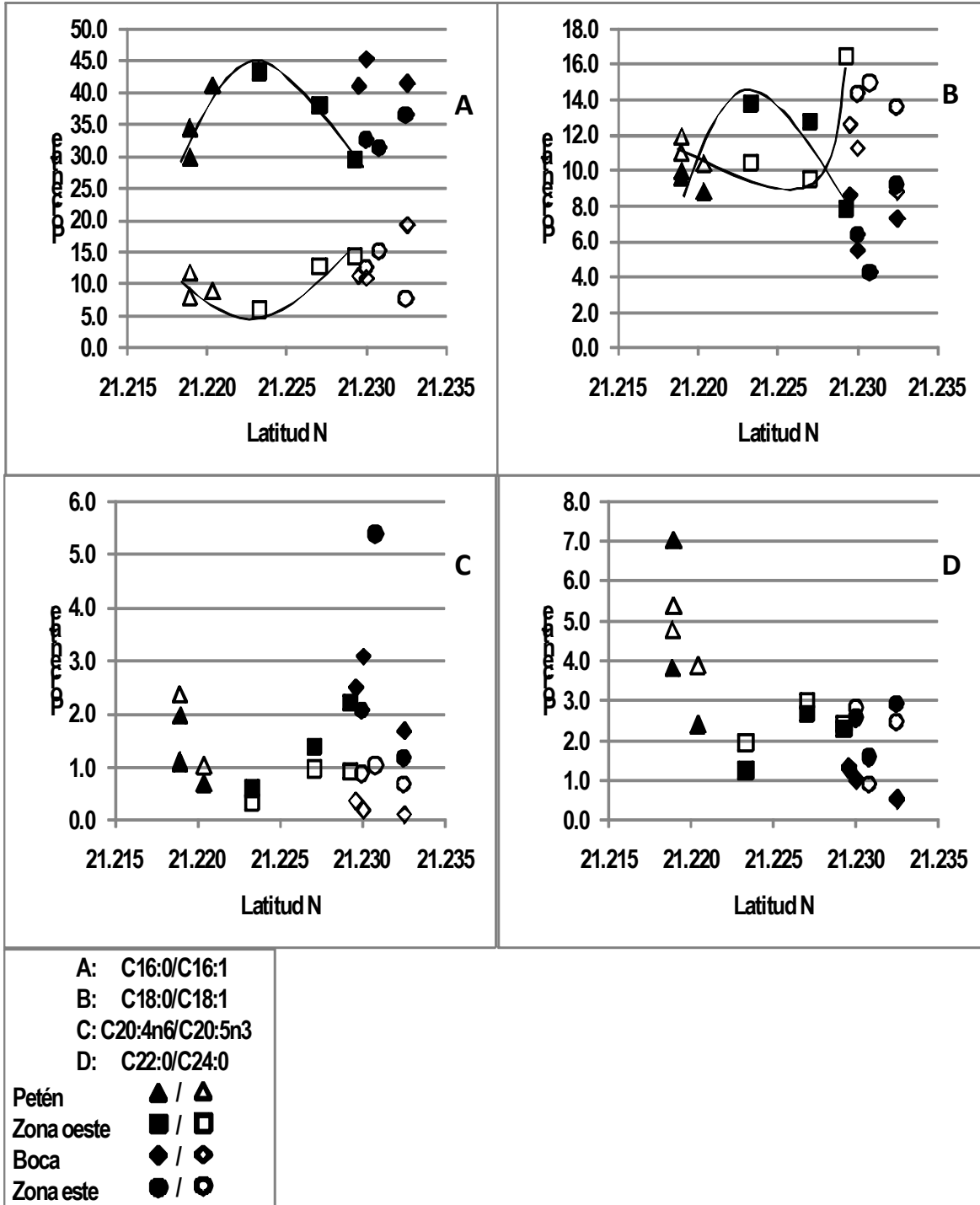


Figura 25. Variación de la proporción de ácidos saturados C16:0, C18:0, C22:0 y C24:0 e insaturados C16:1, C18:1, C20:4n6 y C20:5n3 en función de su posición en el área de estudio. Las curvas en las gráficas superiores señalan la tendencia entre las estaciones B9 a B4.

8.11- Clasificación de los puntos de muestreo por similitud en la composición de ácidos grasos en los sedimentos.

La interpretación de los ácidos individuales o grupos de ácidos, aunque es abundante y proporciona información específica, debido a la ubicuidad, de la mayoría de los ácidos produce ambigüedad en la asignación de origen y transformación lo cual conduce fácilmente a confusión. Así, con el propósito de simplificar el manejo de datos y obtener información que permitan encontrar asociaciones y relaciones entre las estaciones de muestreo se decidió utilizar algunas técnicas de análisis multivariado. El análisis de componentes principales nos permite reducir el número de variables que describen el sistema y también seleccionar de entre las variables originales las de mayor relevancia.

Se realizó el análisis de componentes principales con base en las correlaciones, utilizando como variables la composición porcentual promedio de ácidos grasos para cada estación y las estaciones como casos. En la Figura 26 se muestran los resultados. Los dos primeros factores acumulan el 62% de la variabilidad y se requieren cinco factores para acumular el 92%.

La proyección en el plano de los dos primeros factores muestra básicamente lo siguiente para las variables (ácidos grasos):

1. Los valores bajos (negativos) del factor uno (F1) están asociados a los ácidos grasos saturados de cadena larga (C20:0, C22:0 y C24:0) que son indicadores de plantas vasculares.
2. El C16:0 tiene una contribución positiva definida para los dos factores en tanto que el C16:1 la tiene positiva para F1 y negativa para el factor dos (F2), estos ácidos están relacionados con la presencia de fitoplancton.
3. El ácido poliinsaturado C20:4n6 contribuye a los valores positivos de F1 y negativos de F2 y el C20:5n3 lo hace particularmente a los valores negativos de F1. Estos ácidos poliinsaturados provienen principalmente de zooplancton, crustáceos y peces.

Por su parte el análisis de conglomerados (Figura 26) nos permite proponer una asociación por similitud de las estaciones de muestreo, estos grupos se indican en la proyección de los casos (estaciones) de los dos primeros factores. Para facilitar su interpretación en la Figura 27 se muestra la localización de los grupos en el área de estudio. Se presenta un área mayor de la zona con el fin de dar un mejor contexto. Con esta imagen el agrupamiento parece razonable y la diferenciación está relacionada con la mayor influencia marina o terrígena. Las características principales de estos grupos se presentan en la Tabla 15. La única inconsistencia con lo esperado es la clasificación de la estación B12, que se ubica con las estaciones que están claramente en zonas de mezcla. Con un panorama más amplio de la zona donde se ubica el área de estudio se puede explicar esta aparente incongruencia, ya que en la zona hay otros petenes y ojos de agua que se encuentran fuera del área de estudio pero que forman parte del mismo sistema. Aclarar esto deberá ser materia de estudios posteriores.

Tabla 15. Grupos que resultan del análisis de conglomerados.

Grupo	Integrantes	Características
A	B1, B2 y B3	Estaciones cercanas a la boca, de mayor influencia marina.
B	B4, B10 y B11	Se ubican dentro de las zonas de inundación en posiciones equivalentes de la entrada de agua marina. La estación B10 parece tener una mayor influencia marina, en tanto que la B4 y B11 parecen tener un componente significativo de influencia terrígena.
C	B5, B6, B7, B8 y B12	Las estaciones B5 a B8 están a lo largo de la zona más obvia de mezcla del agua marina con la que proviene del petén. En la estación B6 hay una actividad anaeróbica muy clara, así que este debe ser un componente también presente en las otras estaciones del grupo.
D	B9	Ubicada exactamente en el ojo de agua, sus características son exclusivamente terrígenas tanto por el afloramiento de agua subterránea como las escorrentías.

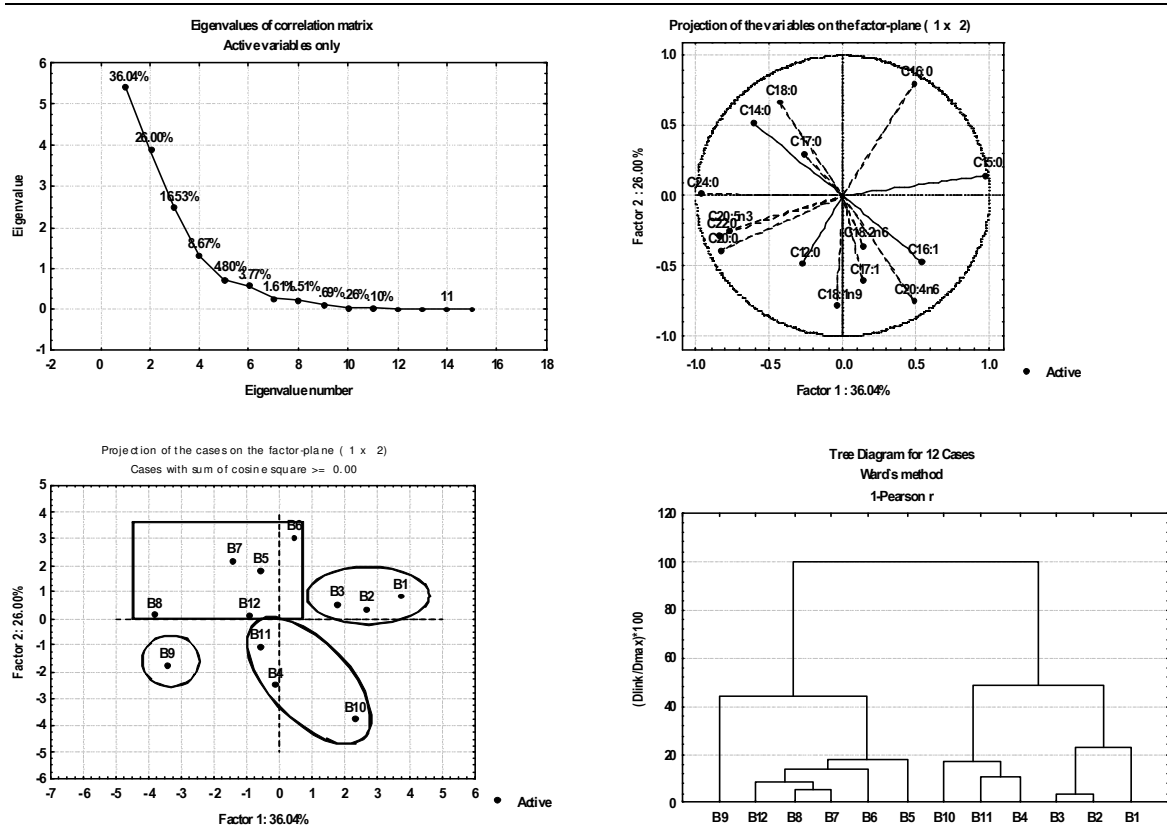


Figura 26 Resultado del análisis de componentes principales con base en las correlaciones de la composición porcentual anual promedio de los ácidos grasos (variables) para cada una de las

estaciones. Se muestran únicamente los gráficos de los dos primeros factores que representan el 62% de la variabilidad.

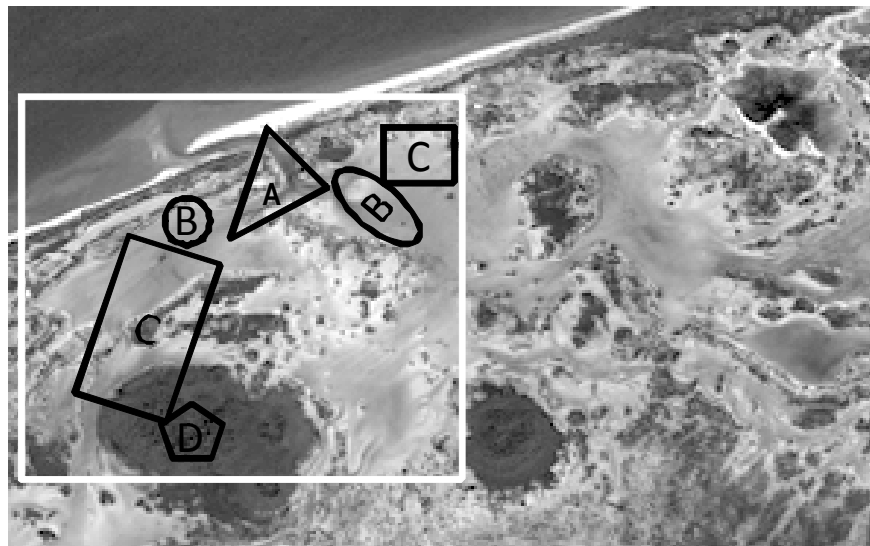


Figura 27. Localización en el área de estudio del agrupamiento de las estaciones que resultaron con similitud en la composición relativa de los ácidos grasos. El recuadro indica el área de estudio considerada en este trabajo.

8.12- Variación temporal del perfil de ácidos grasos

La interpretación de la variación temporal en la composición de los ácidos grasos puede llegar a ser muy compleja debido a que se tiene un número grande de variables, así mismo solo se cuenta con un año de datos, por lo cual no es posible ver patrones en cuanto a los cambios temporales. Sin embargo en la Figura 28 se puede destacar la similitud en composición que se observa para el primer mes de la serie, que es mayo y el último que es abril, estos dos meses corresponden a la temporada de secas, y presentan semejanzas. El ácido C16 se encuentra en mayor proporción en comparación con el resto de los meses del año, de igual forma, el C18 y C18:1n 9 están presentes en cantidades muy similares y conservan las mismas proporciones con respecto al C16.

La composición de los ácidos para los meses de la temporada de lluvias (junio- octubre) es muy variables, el C16 se encuentra en mayor proporción en dichos meses, mientras que el C16:1, C18, y C18:1n9 varían las proporciones entre sí a lo largo de dicha temporada. Algo similar ocurre para la temporada de nortes (noviembre- febrero), se puede apreciar que la única generalidad que se conserva es que el C16 se encuentra en mayor proporción.

En la Figura 29 se puede apreciar de manera general las variaciones temporales si solo tomamos la suma del promedio de los porcentajes de los compuestos saturados e insaturados en las doce estaciones, se puede observar que los compuestos insaturados coinciden con los cambios ocurridos en la precipitación pluvial, el máximo de lluvias ocurrido en diciembre se refleja en febrero. Algo

distinto ocurre para los compuesto saturados donde al parecer ocurre en orden inverso, el efecto de los máximos de lluvia se reflejan como mínimos en cuanto al comportamiento de los ácidos grasos.

No se puede decir mucho acerca de dichas variaciones, sin embargo podemos inferir que existe un efecto más inmediato sobre los compuestos insaturados a lo largo de los cambios estacionales con respecto a los compuestos saturados los cuales son más refractarios y no sufren cambios tan inmediatos.

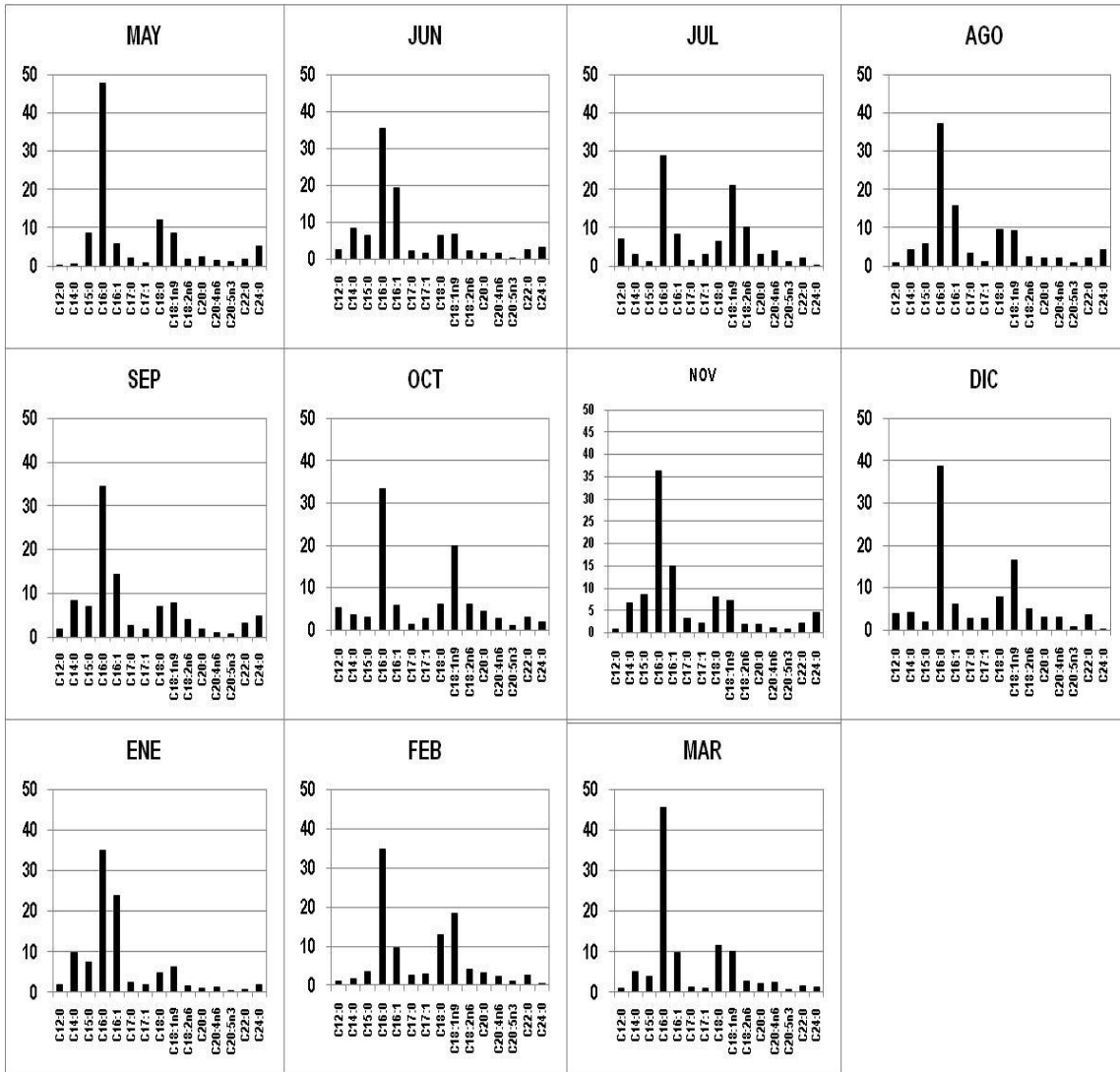


Figura 28. Variación temporal de la composición de los ácidos grasos

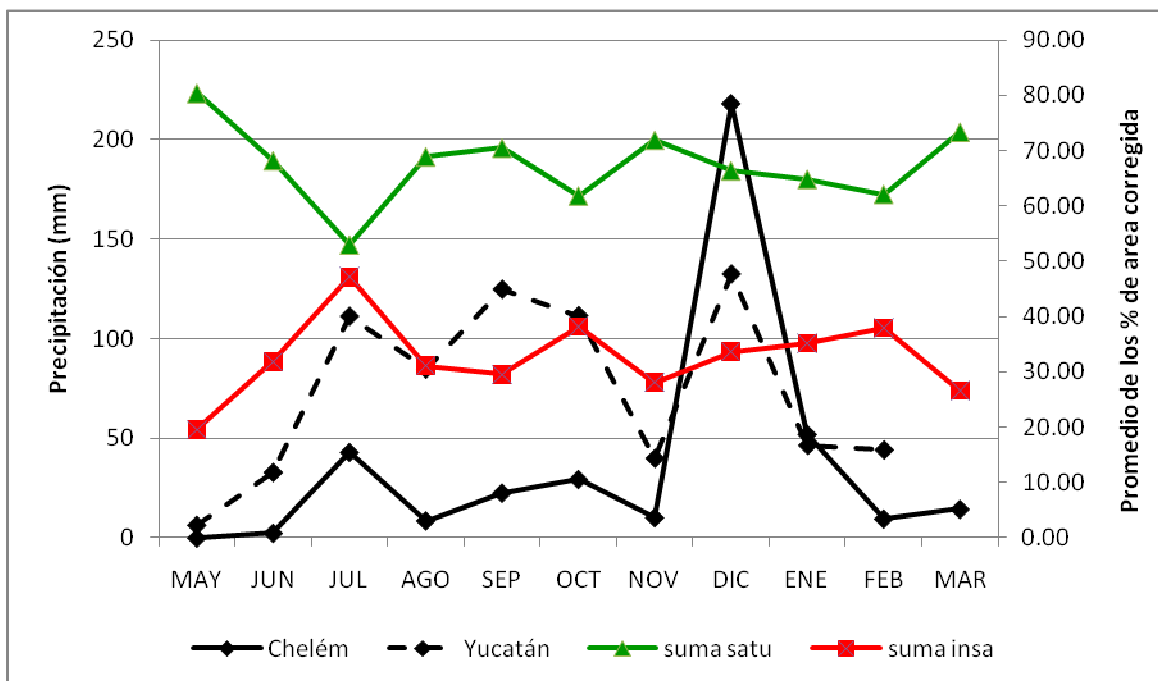


Figura 29. Variación mensual de la proporción de ácidos saturados C12, C14, C15, C16, C17, C18, C20, C22, C24, e insaturados C16:1, C17:1, C18:1n9, C18:2n6, C20:4n6, C20:5n3 de las doce estaciones del área de estudio y precipitación total mensual en Chelem y general del Estado de Yucatán

IX CONCLUSIONES

- La extracción de la MO por el método de soxhlet puede ser sustituida por la técnica de extracción en microondas con ventajas operativas, de tiempo de extracción, menor cantidad de muestra, disminución en el uso de disolventes y mayor número de muestras por operación.
- La extracción y saponificación simultánea de la MO, utilizando KOH/MeOH presento resultados desfavorables ya que la proporción de los compuestos extraídos varía al cambiar las condiciones de temperatura y tiempo.
- Al extraer y formar los derivados metílicos de los ácidos grasos directamente sobre el sedimento, utilizando BF₃ como catalizador ácido, tampoco se conservan las proporciones entre los compuestos extraídos al variar las condiciones de temperatura y tiempo de extracción. Sin embargo al utilizar H₂SO₄ como catalizador ácido las proporciones entre los compuestos se conservan al variar las condiciones de reacción, aunque el efecto de los carbonatos presentes en los sedimentos es una variable difícil de controlar.
- La extracción de la materia orgánica asistida con microondas es una alternativa aceptable con una repetibilidad del 24 % en las áreas absolutas y de 17% para los porcentajes de área
- Con base en los parámetros fisicoquímicos en el área de estudio se distinguen tres zonas con características definidas. Una marina donde se encuentran las estaciones B1, B2, B10, B12; otra de agua dulce que corresponden a las estaciones B7, B8 y B9; y otra con propiedades intermedias de los grupos anteriores integrada por las estaciones B3, B4, B5 B6. Es de llamar la atención que la estación que la estación B11 también pertenece a este grupo.
- La distribución espacial del % de COT en los sedimentos presenta un gradiente de concentración en donde las estaciones correspondientes a la zona del petén contienen el mayor % de COT, disminuye en dirección a la zona de la boca. El contenido de COT en las estaciones de mezcla B6, B5, B4 proviene principalmente del petén, mientras que las estaciones B3, B2, B1 tienen aportes de MO que proviene de origen plantónico.
- Existe una correlación de ($r = 0.95$) entre los promedios anuales del área corregida total de los ácidos grasos y del % de COT para las estaciones B1- B7. Las estaciones B8 – B9 presentaron diferencias en este perfil, lo cual indicó que presentan mayor contenido de MO no extraíble.
- La variación espacial de los ácidos grasos expresada como los promedios anuales del área corregida total, presentó un gradiente de concentración en donde la mayor cantidad corresponde a la zona del petén y disminuye casi linealmente con una correlación de ($r = 0.79$) en dirección a la boca.

-
- Con base en la composición de los ácidos grasos en los sedimentos se identificaron cuatro grupos, la similitud entre estaciones permitió generar estas asociaciones.
El grupo A (Estaciones B1, B2 y B3) presentan una influencia marina, el grupo B (Estaciones B4, B10 y B11) son estaciones ubicadas en una zona de transición de influencia marina y mezcla terrígena por parte de la biota local.
El grupo C (B5, B6, B7, B8 y B12) claramente presenta una fuerte componente de mezcla entre el aporte de agua marina y la afluencia proveniente del petén, en las estaciones B5, B6 y B7 se percibe una importante degradación de la materia orgánica de manera anaerobia. Otra característica importante es la aporte de la MO de origen terrígeno que proviene del petén en el caso de las estaciones B5, B6, B7 y B8, mientras que la estación B12 comparte esta asociación por estar localizada justo a un lado de un petén,
El grupo C (Estación B9) no comparte asociaciones con el resto de las estaciones, debido a su ubicación tan singular, exactamente en el ojo de agua, presenta la mayor aporte de MO y específicamente de origen terrígeno, como consecuencia del afloramiento de agua subterránea y por escorrentías.
 - Debido a que el sistema es muy cambiante, a la estrategia de muestreo de un día al mes, y al periodo corto de únicamente un año, en general no se observan patrones bien definidos, en cuanto a la variación temporal del perfil de ácidos grasos y parámetros fisicoquímicos excepto para la salinidad.

X REFERENCIAS

1. A. Wakeham S. G. and Beier J. «Fatty acid and sterol biomarkers as indicators of particulate matter source and alteration processes in the Black Sea.» *Deep-Sea Res*, 1991: S943–S968.
2. A. Hector Hernandez-Romero, Cristian Tovilla-Hernandez, Edi A. Malo,. «Water quality and presence of pesticides in a tropical coastal.» *Marine Pollution Bulletin*, 2004: 130-141.
3. A., Harvey H. R. and Macko S. «Kinetics of phytoplankton decay during simulated sedimentation: changes in lipids under oxic and anoxic conditions.» *Org. Geochem*, 1997: 129–140.
4. Aleksandra Š ajnovic, Ksenija Stojanovic, Branimir Jovancicévic, Olga Cvetkovic. «Biomarker distributions as indicators for the depositional environment of lacustrine sediments in the Valjevo-Mionica basin (Serbia).» *Chemie der Erde Geochemistry*, 2008.
5. Antonio Mannino, H. Rodger Harvey. «Lipid composition in particulate and dissolved organic matter in the Delaware Estuary.» *Geochimica et cosmochimica*, 1999: 2219-2235.
6. A. R. Zimmerman and E. A. Canuel «Bulk Organic Matter and Lipid Biomarkerms Composition of Chesapeake Bay Surficial Sediments as Indicators of Environmental Processes.»
7. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2001: 319–341
8. Badillo Aleman Maribel, Chiappa Carrara Xavier. «Variaciones espacio-temporales de la comunidad de peces de la "Boca de la Carbonera" en la costa norte de Yucatán.» Comunicación interna, Merida, Yucatan, 2008.
9. Brooks, P.W., Eglinton, G., Gaskell, S.J., McHugh, D.J., Maxwell, J.R., Philp, R.P. «Lipids of recent sediments: Part I. Straight- chain hydrocarbons and carboxylic acids of some temperate lacustrine and subtropical lagoonal tidal flat sediments .» *Chem. Geol*, 1976: 21-38.
10. Budge, S.M., Parrish, C.C. «Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II.» *Organic Geochemistry*, 1998: 1547–1559.
11. Camacho, Rico Andrea. *Aplicación de la microextracción en fase sólida para el análisis de biomarcadores moleculares presentes en sedimentos de zonas costeras*. México, D.F: UNAM, Facultad de Química, 2008.
12. Canuel, E.A., Cloer, J.E., Ringerberg, D.B., Guckert, J.B., Rau, G.H. «Molecular and isotopic tracers used to examine sources of organic matter and its incorporation into the food webs of San Francisco Bay.» *Limnology and Oceanography*, 1995: 67-81.
13. Castañeda, Francisco Contreras E. Ofelia. «La biodiversidad de las lagunas costeras.» *Red de revistas científicas de America Latina y el Caribe, España y Portugal*, 2004: 46-56.

-
14. Claustre, H., J. C. Marty, L. Cassiani., J. Dagaut. «Fatty acid dynamics in phytoplankton and microzooplankton communities during a spring bloom in the coastal ligurian sea: ecological implication.» *Mar.Microb. Food Webs*, 1988: 51-66.
 15. Colombo J. C., Silverberg N., and Gearing J. N. «Lipid biogeochemistry in the Laurentian Trough-II. Changes in composition of fatty acids and aliphatic hydrocarbons during early diagenesis.» *Org. Geochem*, 1996: 211-225.
 16. CONABIO. 2009. Manglares de México: Extensión y distribución. 2ª ed. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. 99 pp
 17. CONAGUA. 2006. Datos meteorológicos de dos estaciones Sisal y Celestún, Yucatán. Comisión Nacional del Agua, Gerencia Regional península de Yucatán. Subgerencia Regional Técnica. Jefatura de Proyectos de Aguas Superficiales.
 18. Contreras, E. F. *Ecosistemas costeros mexicanos*. México: CONABIO - UAM-I, 1993.
 19. Cynthia Álvarez-Gongora, Jorge A. Herrera-Silveira. «Variations of phytoplankton community structure related to water quality trends in a tropical karstic coastal zone.» *Marine Pollution Bulletin*, 2006: 48-60.
 20. Daniel, Knapp R. *Handbook of Analytical Derivatization Reactions*. Toronto: John Wiley and sons, 1979.
 21. Daphné Marchand, Jean-Claude Marty, Juan-Carlos Miquel, Jean- Francois Rontani. «Lipids and their oxidation products as biomarkers for carbon cycling in the northwestern Mediterranean Sea: results from a sediment trap study.» *Marine Chemistry*, 2005: 129-147.
 22. David Hall, S.Y. Lee a, Tarik Meziane «Fatty acids as trophic tracers in an experimental estuarine food chain: Tracer transfer» *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*: 2006 vol.336 42–53
 23. Duch Gary, J.. La conformación territorial del Estado de Yucatán. Los componentes del medio físico. Centro Regional de la península de Yucatán. Universidad Autónoma de Chapingo, México, 1988
 24. Eadie, B.J., « Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Great Lakes. In: Nriagu, J.O., Simmons, M.S. (Eds.), *Toxic Contaminants in the Great Lakes*. » John Wiley, New York, 1984: 195–211
 25. Erik Kristensen, Steven Bouillon, Thorsten Dittmar, Cyril Marchand. «*Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review*. » *Aquatic Botany*, 2008: 201–219
 26. Ertel J. R., Hedges J.I., Devol A. H., Richey J. E., Ribeiro N. G. «Dissolved humic substances if the Amazon River system .» *Limnol. Oceanogr*, 1986: 739-754.
 27. FAOa. 2007. *The world ´s mangroves 1980 -2005*. National Forestry Paper 153, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome Italy.

-
28. FAOb. 2007. Los manglares de America del norte y America central 1980 – 2005. Informes nacionales . Forest Resources Assessment Programme. Working paper 137, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Rome Italy.
 29. Francisco Vilaplana, b, Amparo Ribes-Greus, Sigbritt Karlsson. «Microwave-assisted extraction for qualitative and quantitative determination of.» *Talanta*, 2009: 33-39.
 30. Frankel, E.N. «Analysis of autoxidized fats by gas chromatography-mass spectrometry: V photosensitized oxidation.» 1979: 961-967.
 31. Gary L. Mills, J. Vaun McArthur, Charlotte P. Wolfe. «Lipid composition of suspended particulate matter (SPM) in a southeastern blackwater stream.» *Water research*, 2003: 1783-1793.
 32. Gregor Muri, Stuart G. Wakeham, Tamara K. Pease, Jadran Faganeli « Evaluation of lipid biomarkers as indicators of changes in organic matter delivery to sediments from Lake Planina, a remote mountain lake in NW Slovenia» *Organic Geochemistry*, 2004: 1083–1093
 33. Guy Thoumelin, L. Bodineau, M. Wartel. «Origin and transport of organic matter across the Seine estuary: Fatty acid and sterol variations.» *Marine Chemistry*, 1997: 59-71.
 34. Harold, M. M. *Basic gas chromatography. Techniques in analytical chemistry series*. Nueva York, 1981.
 35. Harvey H. R., Eglinton G., O'Hara S. C., and Corner E. D. S. «Biotransformation and assimilation of dietary lipids by *Calanus* feeding on a dinoflagellate.» *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1987: 3031-3040.
 36. Hernando, Alejandra M. Peñalver. «*Aplicación de la microextracción en fase sólida al análisis medioambiental*». Tarragona: Universitat Rovira i Virgili; Departament de Química Analítica i Química Orgànica, 2002.
 37. Hervé Claustre, Jean-Claude Marty, Laura Cassiani. «Intraspecific differences in the biochemical composition of a diatom during a spring bloom in Villefranche- sur Mer Bay, Mediterranean Sea.» *J. Exp. Mar. Biol. Ecol*, 1989: 17-32.
 38. Ivette Liliana Torres-Castro, María Eugenia Vega-Cendejas, Juan Jacobo Schmitter-Soto, Gerardo Palacio-Aponte, Rocío Rodiles-Hernández. (2009). «*Ictiofauna de sistemas cárstico-palustres con impacto antrópico: los peténés de Campeche*» *México Rev. Biol. Trop*. Vol. 57 (1-2): 141-157.
 39. Jaffé R., Cabrera, A., Hajje, N., Carvajal-Chitty, H. «Organic biogeochemistry of a hypereutrophic tropical, freshwater lake - Parte1: Associated and dissolved lipids». *Organic Geochemistry*, 1996: 227-240.
 40. Jorge A, Herrera-Silveira, Sara M. Morales-Ojeda. «Evaluation of the health status of a coastal ecosystem in southeast Mexico: Assessment of water quality, phytoplankton and submerged aquatic vegetation.» *Marine Pollution Bulletin*, 2009: 72-86.

-
41. Jorge A. Herrera-Silveira, Francisco A. Comin, Nancy Aranda-Cirerol, Luis Troccoli, Luis Capurro. «Costal water quality assessment in the Yucatan Peninsula: management implications.» *Ocean Coastal Management*, 2004: 625-639.
 42. Kattner, G., Krause, M., Trahms, J., 1981. *Lipid composition of some typical North Sea copepods*. Mar. Ecol. Progr. Ser. 4, 69-74.
 43. Laura Palomo, Elizabeth A. Canuel «Sources of Fatty Acids in Sediments of the York River Estuary: Relationships with Physical and Biological Processes» *Estuaries and Coasts*, 2010: 33:585–599
 44. Marchand, D., Rontani. «Characterization of photooxidation and autooxidation products of phytoplanktonic monounsaturated fatty acids in marine particulate matter and recent sediments.» *Organic Geochemistry*, 2001: 287-304.
 45. Marie Russell, Antoni Rosell-Mele «Preliminary study of fluxes of major lipid biomarker classes in the water column and sediments of Lake Baikal, Russia. » *Global and Planetary Change*, 2005: 45–56
 46. Mark B. Yunker, Laura L. Belicka, H. Rodger Harvey, Robie W. Macdonald. « Tracing the inputs and fate of marine and terrigenous organic matter in Arctic Ocean sediments: A multivariate analysis of lipid biomarkers» *Deep-Sea Research II* 52, 2005: 3478–3508
 47. Martens, Canuel E. A. and. «Reactivity of recently deposited organic matter: Degradation of lipid compounds near the sediment water interface.» *Geochimica et cosmochimica*, 1996: 1793-1806.
 48. McCallister, S.L., Baver, J.E., Ducklow, H.W., Canuel, E.A.,. «Sources of esturine dissolved and particulate organic matter: a multitracer approach.» *Organic Geochemistry*, 2006: 454-468.
 49. Meyers, P.A. «Aplications of organic geochemistry to paleolimnological reconstruction; summary of examples, from the Laurentian Great Lakes.» *Organic Geochemistry*, 2003: 261-289.
 50. Miguel Angel Sogorb Sanchez, Eugenio Vilanova Gisbert. *Tecnicas analiticas de contaminantes*. Diaz Santos.
 51. Nichols P. D., Guckert J. b., and White D.C. «Determination of monounsaturated fatty acid double-bond position and geometry for microbial monocultures and complex consortia by capillary CG-EM.» *J. Microbiol. Methods*, 1986: 49-55.
 52. Nieves Carro, Isabel García, María Ignacio, Ana Mouteira. «Microwave-assisted solvent extraction and gas chromatography ion trap mass spectrometry procedure for the determination of persistent organochlorine pesticides (POPs) in marine sediment.» *Anal Bioanal Chem*, 2006: 901-909.
 53. Programa de manejo de la reserva estatal el palmar. Secretaria de ecologia. Primera edición, 2006: pp 98.

-
54. PRONATURA. 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 and Wildlife Service, University of Colorado at Boulder y SEMARNAP. 1996: 132 p.p
 55. R. Galois, P. Richarda and B. Fricourt. «Seasonal Variations in Suspended Particulate Matter in the Marennes-Oléron Bay, France, using Lipids as Biomarkers» *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 1996: 335–357
 56. R., Harvey H. «Fatty acids and sterols as source markers of organic matter in sediments of the North Carolina continental slope.» *Deep Sea Res*, 1994: 783–796.
 57. R.J.K. Dunn, D.T.Welsh, P.R.Teasdale, S.Y.Lee, C.J.Lemckert, T.Meziane «Investigating the distribution and sources of organic matter in surface sediment of Coombabah Lake (Australia) using elemental, isotopic and fatty acid biomarkers» *Continental Shelf Research* 2008: 2535– 2549
 58. Rontani. «Visible light-dependent degradation of lipidic phytoplanktonic components during senescence: a review.» *Phytochemistry*, 2001: 187-202.
 59. Rudolf Jaffé, Ahmed I. Rushdi, Patricia M Medeiros, Bernd R.T. «Natural product biomarkers as indicators of sources and transport of sedimentary organic matter in subtropical river.» *Chemosphere*, 2006: 1870-1884.
 60. Rudolf Jaffé, Ralph Mead, Maria E. Hernandez. «Origin and transport of sedimentary organic matter in two subtropical estuaries.» *Organic Geochemistry*, 2001: 507-526.
 61. S. Mishra, R.M. Tripathi, S. Bhalke, V.K. Shukla, V.D. Puranik. «Determination of methylmercury and mercury(II) in a marine ecosystem.» *Analytica Chimica Acta*, 2005: 192-198.
 62. Saliot, A., Mejanelle, L., Sscribe, P., Fillaux, J., Pepe, C., Jabaud, A., Dagaut, J. «Particulate organic carbon, sterols, fatty acids and pigments in the Amazon River system.» *Biogeochemistry*, 2001: 79-103.
 63. Silke Tutschku, Michele M. Schantz, and Stephen A. Wise. «Determination of Methylmercury and Butyltin Compounds in Marine Biota and Sediments Using Microwave-Assisted Acid Extraction, Solid-Phase Microextraction, and Gas Chromatography with Microwave-Induced Plasma Atomic Emission Spectrometric Detection.» *Analytical Chemistry*, 2002: 1694-1701. Sonia Eugenia Palacios-Sánchez, María Eugenia Vega-Cendejas «Cambios alimenticios en tres especies de *Sphoeroides* (Tetraodontiformes: Tetraodontidae) posterior al huracán Isidoro en Bocana de la Carbonera, Sureste del golfo de México» *Rev. Biol. Trop.* 2010, Vol. 58 (4): 1223-1235,
 64. Stéphane Chistodoulou, Jean-Claude Marty, Juan-Carlos Miquel. «Use of lipids and their degradation products as biomarkers for carbon cycling in the northwestern Mediterranean Sea.» *Marine Chemistry*, 2008: 25-40.

-
65. Steven Bouillon, Tom Moens, Nico Koedam, Farid Dahdouh-Guebas, Willy Baeyens, Frank Dehairs «*Variability in the origin of carbon substrates for bacterial communities in mangrove sediments.*» *FEMS Microbiology Ecology*, 2004: 171–179
 66. T.F. Parkerton, M.A. Stone, D.J. Letinski. «Assessing the aquatic toxicity of complex hydrocarbon.» *Toxicology letters*, 2000: 273-282.
 67. Tarik Meziane, Makoto Tsuchiya «Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of a mangrovelintertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan» *Marine ecology progress series.* 2000: 49-57.
 68. Thompson, S., Eglinton, G. «The fractionation of a Recent sediment for organic geochemical analysis». *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42:1978, 199–207.
 69. Verónica Pino, Juan H. Ayala, Ana M. Afonso, Venerando González. «Micellar microwave-assisted extraction combined with solid-phase.» *Analytica Chimica Acta*, 2003: 81-91.
 70. Volkman J. K., Jeffrey S. W., Nichols P. D., Rogers G. I., and Garland C.D. «Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture.» *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 1989: 219-240.
 71. Volkman, J. K., «A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter.» *Organic Geochemistry*, 1986: 83-99.
 72. Yunping Xu, Rudolf Jaffé. «Lipid biomarkers in suspended particles from a subtropical estuary; Assessment of seasonal changes in sources and transport of organic matter.» *Marine environmental research*, 2007: 666-678.

ANEXO

Tabla. 1 Valores del % de carbono orgánico total en las estaciones de muestreo abril de 2009- abril-

Est	01 -abr- 09	20 -may- 09	15 -jun- 09	01 -jul- 09	12 -ago- 09	09 -sep- 09	07 -oct- 09	06 -nov- 09	02 -dic- 09	18 -ene- 10	15 -feb- 10	10 -mar- 10	07 -abr- 10	Prom
1	0.55	0.94	0.32	0.38	0.04	0.71	0.58	0.76	0.56	1.20	2.07	0.88	0.40	0.72
2	0.86	0.15	0.15	0.73	0.96	0.92	0.98	0.76	0.50	1.25	0.64	1.26	0.60	0.75
3	1.47	0.60	0.48	0.16	0.60	1.32	0.98	0.76	1.35	2.80	0.96	0.36		0.99
4	2.18	0.12	1.56	1.57	1.32	3.00	2.84	3.05	2.24	3.20	2.89	0.12		2.01
5	1.91	2.76	1.20	1.57	1.44	2.64	2.73	2.18	2.47	3.00	2.74	1.80		2.20
6	9.15	1.04	8.70	5.74		5.59	8.18	5.45	2.24		3.75	1.50		5.14
7	9.15	4.70	22.50	3.91	1.80	10.17	21.82	8.18	12.50		15.00	15.60		11.39
8	8.33				9.90	24.92	12.55	26.73	18.50		23.04	16.20	14.40	17.17
9	4.79	14.09	18.90	7.04	9.60	21.36	27.27	30.55	32.52		31.00	27.00	30.60	21.23
10	1.76	1.20	0.60		10.20	4.07	5.45	3.82	1.96	7.50	1.07	2.40	0.91	3.41
11	5.78	0.75	1.13	3.91	1.50	0.45	4.55	3.18	2.34	2.38	2.50	5.00		2.79
12	4.73	0.13	2.13	3.37	1.00	1.14	3.64	1.79	3.50	4.38	1.34	1.50		2.39
Prom	4.22	2.41	5.24	2.84	3.49	6.36	7.63	7.27	7.02	3.21	7.25	6.14	9.38	

2010

Tabla 2. Promedio de las propiedades fisicoquímicas, por estaciones

	% sat O2	So/oo	T	pH	NH4	NID	PT	Clor a
B1	113.1	38.2	28.85	8.16	4.61	27.06	0.63	6.01
B2	93.9	36.7	27.58	8.11	6.19	23.74	0.56	5.43
B3	95.0	32.3	27.49	8.16	7.32	51.14	0.55	5.69
B4	113.5	29.0	28.87	8.23	4.64	42.79	0.55	5.80
B5	115.6	30.7	29.20	8.21	6.76	55.99	0.58	3.01
B6	117.0	31.3	29.98	8.18	15.19	33.54	0.53	2.50
B7	38.0	3.5	26.96	7.43	10.31	67.65	0.29	1.32
B8	19.1	1.8	26.91	7.22	2.18	79.13	0.12	0.73
B9	6.1	1.8	27.03	7.10	4.98	75.27	0.18	1.45
B10	104.1	37.0	28.13	8.13	3.43	33.02	0.53	6.26
B11	107.5	36.0	28.77	7.98	5.20	41.63	0.52	6.32
B12	126.3	40.3	30.69	8.25	1.84	18.59	0.63	4.62

Tabla 3. Promedio de las propiedades fisicoquímicas, por meses

	% sat O ₂	So	T (°C)	pH	NH ₄ (μ M)	NID (μ M)	PT (μ M)	Clor a (mg m^{-3})
ABR	91	31	28	8.5	2.60	20.8	0.43075	2.00
MAY	123	29	29	8.1	16.81	36.3	0.42675	1.34
JUN	95	33	30	7.9	19.09	46.4	0.3456	2.10
JUL	111	28	31	7.9	1.04	27.1	0.8176	9.54
AGO	108	24	32	7.9	6.27	23.0	0.64483333	4.54
SEP	73	29	30	7.7	0.88	23.0	0.59875	
OCT	94	38	32	8.0	5.90	29.8	0.7435	4.68
NOV	72	25	26	8.1	0.00	28.6	0.41566667	6.52
DIC	83	18	27	8.1	0.00	20.5	0.26716667	4.99
ENE	103	24	26	8.2	4.89	204.1	0.52625	9.45
FEB	63	27	23	7.7	4.81	63.9	0.30691667	1.93
MAR	83	31	25	7.8	15.33	64.1	0.44066667	3.67

Tabla 4. Valores de la precipitación total mensual (mm), para Chelem y Yucatán

	Chelém	Yucatán
ABR	0	6.3
MAY	2.4	32.8
JUN	43	111.1
JUL	8.6	84.6
AGO	22.6	124.6
SEP	29.4	111.4
OCT	10.2	39.9
NOV	218	132.3
DIC	52	46.4
ENE	9.6	44.1
FEB	14.4	
MAR		

Tabla 5. Áreas cromatográficas para los compuestos extraídos en soxhlet

Comp	Est1	Est2	Est3	Est4	Est5	Est6	Est7	Est8	Est9	Est10	Est11
C12	70529	231368	233035	82785	1238464	157324	352164	260926	0	0	0
C14	70787	99728	207453	104216	559774	243531	379204	571855	222408	590944	156323
C16:1	51892	114345	214457	71188	819999	77518	279565	165688	691414	1163796	378344
C16	382192	478821	1234847	666083	3173073	916726	1666652	2615113	2606140	6138619	1863776
C18:1	18852	25742	82118	45203	229780	52742	75624	151557	187189	507176	125730
C18	18832	15165	54242	49591	91823	72968	53521	175599	212488	200331	70205
C20:5ω3	0	0	12267	0	83202	0	0	0	52099	127039	31148
C22:1	0	6494	0	0	0	0	0	14603	0	47049	0

Tabla 6. Áreas cromatográficas para los compuestos extraídos en microondas

Comp	Est1	Est2	Est3	Est4	Est5	Est6	Est7	Est8	Est9	Est10	Est11
C12	14230	740013	1473372	2190891	4146108	2569387	78054		70534	711464	1000906
C14	191215	3077265	1830690	2309940	3284753	2571415	198748		383213	968989	1508403
C16:1	659342	6337900	2227774	4085136	1109058	1153921	55118		383590	491048	1243618
C16	3164674	26723286	8849118	9746390	14294469	13130753	473218		2464858	1637021	5305769
C18:1	372260	1511810	498903	1102663	1944821	2263166	37639		197187	107143	260116
C18	400484	3067990	1237438	1345802	2316458	2723903	55836		270716	122372	255550
C20:5ω3	55857	1039527	329806	767736	78903	70060	0		0	45954	89771
C22:1	489163	129176	372315	222346	890129	366336	55172		137623	143046	153245

Compu	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B9	B10	B11	Prom	Desviación Estándar
C12	11.5	23.8	11.4	8.1	20.0	10.3	12.5	0.0	0.0	0.0	9.8	8.2
C14	11.5	10.3	10.2	10.2	9.0	16.0	13.5	5.6	6.7	6.0	9.9	3.3
C16:1	8.5	11.8	10.5	7.0	13.2	5.1	10.0	17.4	13.3	14.4	11.1	3.7
C16	62.3	49.3	60.6	65.4	51.2	60.3	59.4	65.6	70.0	71.0	61.5	7.1
C18:1	3.1	2.6	4.0	4.4	3.7	3.5	2.7	4.7	5.8	4.8	3.9	1.0
C18	3.1	1.6	2.7	4.9	1.5	4.8	1.9	5.4	2.3	2.7	3.1	1.4
C20:5ω3	0.0	0.0	0.6	0.0	1.3	0.0	0.0	1.3	1.4	1.2	0.6	0.7
C22:1	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.1	0.3

Tabla 7. Porcentajes de áreas de los compuestos obtenidos mediante la extracción en soxhlet.

Tabla 8. Porcentajes de áreas de los compuestos obtenidos mediante la extracción en microondas.

Comp	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B9	B10	B11	Prom	Desviación Estándar
C12	0.3	1.7	8.8	10.1	14.8	10.3	8.2	1.8	16.8	10.2	8.3	5.5
C14	3.6	7.2	10.9	10.6	11.7	10.3	20.8	9.8	22.9	15.4	12.3	5.9
C16:1	12.3	14.9	13.2	18.8	4.0	4.6	5.8	9.8	11.6	12.7	10.8	4.8
C16	59.2	62.7	52.6	44.8	50.9	52.8	49.6	63.1	38.7	54.0	52.8	7.6
C18:1	7.0	3.5	3.0	5.1	6.9	9.1	3.9	5.0	2.5	2.6	4.9	2.2
C18	7.5	7.2	7.4	6.2	8.3	11.0	5.9	6.9	2.9	2.6	6.6	2.4
C20:5ω3	1.0	2.4	2.0	3.5	0.3	0.3	0.0	0.0	1.1	0.9	1.2	1.2
C22:1	9.1	0.3	2.2	1.0	3.2	1.5	5.8	3.5	3.4	1.6	3.2	2.6

Tabla 9. Promedio por estaciones de los porcentajes de área de los compuestos seleccionados

	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11	B12
C12:0	0.95	1.83	1.27	5.15	0.78	0.99	2.27	3.60	1.13	2.75	2.76	4.48
C14:0	3.68	3.82	4.59	3.53	4.71	5.61	7.32	5.89	4.80	3.53	5.83	5.85
C15:0	8.30	6.28	6.23	4.33	4.42	5.92	4.54	2.11	2.05	6.41	4.93	4.54
C16:0	41.41	45.17	40.94	29.56	37.97	43.22	40.98	34.38	29.85	31.34	32.63	36.47
C16:1	19.23	10.92	11.25	14.32	12.82	5.99	8.93	8.07	11.87	15.10	12.53	7.62
C17:0	1.97	2.32	2.07	2.12	2.50	2.37	2.72	3.67	1.18	2.23	2.52	2.22
C17:1	2.83	1.83	1.92	1.52	1.08	1.23	1.69	2.30	3.08	3.57	1.61	1.39
C18:0	7.30	5.47	8.61	7.84	12.78	13.79	8.75	9.58	9.93	4.23	6.36	9.20
C18:1n9c	8.82	11.26	12.56	16.45	9.51	10.46	10.35	10.99	11.92	14.91	14.36	13.60
C18:2n6	1.93	4.43	3.47	4.54	3.04	4.87	2.33	3.55	2.59	5.17	4.67	4.73
C20:0	0.78	1.38	1.65	2.78	2.36	1.40	2.13	3.88	6.17	1.87	3.50	2.70
C20:4n6	1.67	3.08	2.49	2.22	1.39	0.60	0.68	1.11	1.96	5.37	2.07	1.16
C20:5n3	0.11	0.19	0.35	0.92	0.97	0.35	1.02	2.36	1.07	1.03	0.87	0.67
C22:0	0.52	0.97	1.33	2.30	2.66	1.25	2.40	3.81	7.01	1.59	2.56	2.90
C24:0	0.51	1.05	1.26	2.42	3.01	1.95	3.89	4.78	5.38	0.91	2.82	2.47

Tabla 9. Promedio por meses de los porcentajes de área de los compuestos seleccionados

	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR
C12:0	0.19	2.43	6.95	0.72	1.65	5.12	0.73	3.92	1.87	1.03	1.05
C14:0	0.64	8.19	3.00	4.14	8.22	3.55	6.65	4.06	9.65	1.80	5.07
C15:0	8.69	6.46	1.17	5.66	6.97	3.00	8.52	1.94	7.44	3.41	3.88
C16:0	47.65	35.33	28.80	37.17	34.42	33.34	36.19	38.81	34.94	34.64	45.49
C16:1	5.67	19.30	8.20	15.67	14.33	5.90	15.01	6.20	23.72	9.58	9.75
C17:0	2.10	2.25	1.53	3.40	2.62	1.38	3.21	2.80	2.43	2.46	1.23
C17:1	0.89	1.56	3.10	1.20	1.91	2.66	2.07	2.60	2.00	2.79	1.04
C18:0	11.93	6.34	6.51	9.38	6.99	6.14	8.06	7.87	4.86	12.81	11.67
C18:1n9c	8.69	6.82	20.90	9.09	7.86	19.90	7.28	16.37	6.40	18.41	9.95
C18:2n6	1.70	2.15	10.04	2.25	3.87	6.16	1.80	4.86	1.43	4.03	2.74
C20:0	2.54	1.56	2.91	2.04	1.81	4.54	1.98	3.00	0.97	3.20	2.16
C20:4n6	1.60	1.57	3.84	1.94	0.84	2.59	1.12	2.93	1.37	2.12	2.37
C20:5n3	1.00	0.42	1.07	0.92	0.70	0.95	0.80	0.66	0.26	0.97	0.76
C22:0	1.63	2.62	2.00	2.02	3.16	2.96	2.12	3.67	0.82	2.62	1.68
C24:0	5.06	3.01	0.05	4.39	4.65	1.80	4.45	0.30	1.85	0.13	1.15