

00578



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

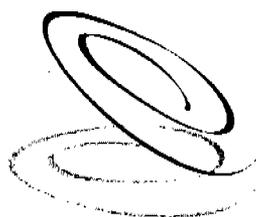
DETERMINACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE PROPIONATO DE DIMETILSULFONIO Y SULFURO DE DIMETILO EN EL PACÍFICO MEXICANO

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICA AMBIENTAL

PRESENTA

QFB. MARÍA DE LOS ÁNGELES BENÍTEZ MACÍAS



Posgrado
Ciencias
Químicas

TUTOR: DRA. M. AMPARO MARTÍNEZ

AÑO: 2005

m339827



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Maria de los Angeles
Pentez Macias

FECHA: Enero 10, 2005

FIRMA: 

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Amparo Martínez por su apoyo, consejos y paciencia durante la realización de este trabajo.

Agradezco a los miembros del jurado por el tiempo dedicado en la revisión de ésta tesis, por las correcciones y sugerencias, las cuales contribuyeron a mejorar la calidad de éste trabajo: Dr. Rafael Villalobos, Dr. Artemio Gallegos, Dra. Telma Castro, Dra. Patricia García y Dra. Lucía del Carmen Vázquez.

A la Dra. Silke Cram del Instituto de Geografía por el préstamo del concentrador de purga y trampa para el tratamiento de las muestras.

Al Q. José Manuel Hernández Solís por su apoyo en el trabajo de laboratorio.

Al Lic. Carlos Contreras por su apoyo en el equipo de cómputo.

Al CONACYT por el apoyo de la beca-crédito para llevar a cabo los estudios de posgrado.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM por el apoyo y por permitirme hacer uso de las instalaciones para el desarrollo de este trabajo.

Gracias a los profesores que me enseñaron y motivaron durante mi estancia en la maestría.

Gracias a mi familia por la paciencia, la confianza y por su cariño.

Gracias a todos mis amigos (as) por su amistad y por su cariño.

Gracias a Israel Lobo por su apoyo y por su cariño.

En especial, agradezco a mi abuelita materna por su apoyo incondicional y porque siempre creyó en mí.

ÍNDICE

Resumen

Abstract

1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	ANTECEDENTES	5
2.1	Interacciones océano-atmósfera en el ciclo biogeoquímico global de azufre	5
	2.1.1 Fuentes de azufre en la atmósfera	6
	2.1.2 Emisiones de azufre a la atmósfera de fuentes naturales	6
	2.1.3 Bioquímica de la reducción de sulfatos	10
	2.1.4 Emisiones de sulfuro de dimetilo de los océanos	12
	2.1.5 Producción de DMS	13
	2.1.6 Reacciones químicas y transformaciones de sulfuro de dimetilo en la atmósfera marina	19
	2.1.7 Estimaciones del flujo océano-atmósfera para el DMS	21
	2.1.8 Determinación de compuestos de azufre ambientales	23
	2.1.9 Cromatografía de Gases	25
	2.2.0 Cromatografía de Gases-Headspace	26
	2.2.1 Cromatografía de Gases-Purga y Trampa	27
	2.2.2 Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas	28
	2.2.3 Selección del adsorbente para la extracción	28
	2.2.4 Análisis cromatográfico	31
	2.2.5 Detectores	33
3.	ÁREA DE ESTUDIO	36
3.1	El Pacífico Mexicano	36
3.2	Parámetros físicos y químicos	37
3.3	Motivación y objetivos	39
4.	DATOS Y MÉTODO	41
4.1	Trabajo de campo	41
	4.1.1 Muestreo	41
	4.1.1.1 Submuestras para la determinación de DMSPp, DMSPd y DMS libre	42
	4.1.1.2 Submuestras para determinación de clorofila a. Extracción de pigmentos	43

4.2	Trabajo de laboratorio	44
4.2.1	Determinación de clorofilas	44
4.2.1.1	Método Espectrofotómetro	44
4.2.1.2	Método Fluorométrico	45
4.2.1.3	Índice de Margalef	45
4.2.2	Desarrollo para la determinación de DMS	46
4.2.1.1	Preparación de la muestra	46
4.2.1.2	Procedimiento analítico	46

5.	RESULTADOS	50
----	------------	----

6.	DISCUSIÓN	58
----	-----------	----

7.	CONCLUSIONES	64
----	--------------	----

8.	REFERENCIAS	65
----	-------------	----

ANEXO 1. Determinación de clorofila *a* por el fluorómetro de cada sitio de muestreo.

ANEXO 2. Determinación de clorofila *a*, *b* y *c* por el espectrofotómetro de cada sitio de muestreo.

ANEXO 3. Determinación del índice de diversidad pigmentaria por el espectrofotómetro de cada sitio de muestreo.

ANEXO 4. Termoclinas de cada sitio de muestreo.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Descripción de la hipótesis de DMS-nubes-clima.	2
FIGURA 2. Trama biogeoquímico marino del sulfuro de dimetilo (DMS).	5
FIGURA 3. Interacciones en el ciclo biogeoquímico global de azufre.	9
FIGURA 4. Principales vías metabólicas de azufre en algas y plantas.	11
FIGURA 5. Esquema de la producción y destrucción de DMS.	14
FIGURA 6. Representación de los mecanismos que controlan la liberación de DMSP y DMS en la columna de agua.	15
FIGURA 7. Mecanismo de oxidación atmosféricos de DMS.	20
FIGURA 8. Métodos utilizados en fase gaseosa para la extracción y concentración de compuestos orgánicos volátiles en agua.	24
FIGURA 9. Proceso de extracción de purga y trampa.	27
FIGURA 10. Determinación de compuestos de azufre volátil en muestras de agua.	32
FIGURA 11. Localización del área de estudio y de los sitios de muestreo en el Pacífico Mexicano, México (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J y K)	37
FIGURA 12. Vista de una roseta de botellas Niskin.	42
FIGURA 13. Equipo de CG acoplado al concentrador purga y trampa Tekmar 3000.	47
FIGURA 14. Valores promedio de temperatura (°C) por sitio de muestreo desde 10 hasta 60 metros, julio 2001.	51
FIGURA 15. Valores promedio de salinidad (‰) por sitio de muestreo desde 10 hasta 60 metros, julio 2001.	51
FIGURA 16. Comparación de dos métodos analíticos.	53
FIGURA 17. Curva de calibración masa encontrada DMS (ng) contra masa añadida del método de purga y trampa.	54
FIGURA 18. Curva de calibración de los estándares de DMS.	54
FIGURA 19. Curva de calibración de la hidrólisis de DMSP (sal) a DMS.	55
FIGURA 20. Cromatograma de sulfuro de dimetilo.	55
FIGURA 21. Histograma de los iones característicos de DMS.	56

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA I. Emisiones de sulfuro de dimetilo (DMS) en unidades de Gmoles S por año (10^9 mol/año).	6
TABLA II. Contribución natural y por actividades del hombre de las emisiones de azufre en la atmósfera global.	7
TABLA III. Estimaciones de las emisiones de azufre (Tmol S/año).	8
TABLA IV. Velocidades de la reducción de sulfato por procesos biogeoquímicos comparados con emisiones de azufre antropogénico y biogénico a la atmósfera.	9
TABLA V. Flujos de DMS oceánico.	22
TABLA VI. Volúmenes de fuga (dm^3/g) de algunos compuestos de azufre en diferentes adsorbentes.	29
TABLA VII. Volúmenes de fuga de algunos compuestos de azufre en la trampa tenax.	30
TABLA VIII. Características básicas de detectores sensibles de azufre en CG.	35
TABLA IX. Condiciones de CG y purga y trampa para el análisis de DMS.	48
TABLA X. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos de cada sitio de muestreo.	50
TABLA XI. Determinación de las concentraciones de DMSP y DMS por Cromatografía de gases-purga y trampa-FID.	52
TABLA XII. Promedio de las áreas contra estándar de DMS en el equipo de cromatografía de gases-purga y trampa.	53
TABLA XIII. Determinación de clorofilas e índice de diversidad pigmentaria por cada sitio de muestreo.	57

RESUMEN

El sulfuro de dimetilo (DMS) juega un papel importante en el ciclo global del azufre atmosférico. El DMS contribuye en mayor proporción al azufre biogénico emitido del océano a la atmósfera, el cual influye en el sistema climático. Por esta razón, existe un gran interés en conocer los procesos que controlan el ciclo del azufre en la superficie del mar.

El sulfuro de dimetilo es producido a partir del compuesto propionato de dimetilsulfonio (DMSP) por división enzimática de poblaciones algales, contribuyendo de esta forma a su producción. Dependiendo de las condiciones ambientales dentro de la columna de agua el DMSP es convertido a DMS o a otros compuestos sulfurados. Por lo tanto, no toda la producción de propionato de dimetilsulfonio contribuye al flujo atmosférico de DMS.

El presente trabajo es el inicio de una línea de investigación, no desarrollada antes en nuestro país, relacionada con los procesos que controlan el ciclo del azufre en la superficie del mar. El objetivo de este estudio es determinar la concentración de sulfuro de dimetilo y de su precursor DMSP en sus formas disuelta y particulada en muestras de agua de mar obtenidas en la zona sur de la *Alberca Caliente* del Pacífico Mexicano. Simultáneo a las mediciones de DMS, se realizaron registros de temperatura, salinidad y concentración de clorofila. Se relacionaron los datos con la información obtenida de la capa de mezcla y se compararon con los resultados reportados por otros autores.

La determinación cuantitativa de DMS y DMSP se llevó a cabo por análisis cromatográfico con detector de ionización de llama y columna empacada Chromosil 330. El sulfuro de dimetilo fue preconcentrado utilizando el método de purga y trampa. El límite de detección encontrado fue 2.79 nM. La precisión del método fue de 5.3 %.

Los resultados más relevantes de este estudio es que los valores de DMS y DMSP fueron mayores a los reportados en zonas similares en otras partes del mundo y son los primeros datos que se reportan para la *Alberca Caliente* del Pacífico Mexicano.

ABSTRACT

Dimethylsulfide (DMS) plays an important role in the global atmospheric sulfur cycle. This compound contributes significantly to the reduced biogenic sulfur transferred from the ocean to the atmosphere, which has influence on the climatic system. For this reason, there is considerable interest in understanding the processes controlling the cycling of sulfur at the seawater surface.

Dimethylsulfide is produced by enzymatic cleavage of the abundant algal component dimethylsulfoniopropionate (DMSP), which suggests a high potential for its generation in the ocean. Depending on some environmental conditions within the water column, the DMSP can be transformed to DMS or other sulfur species. Therefore, not all DMSP production contributes to the atmospheric flux of DMS.

This work begins, in Mexico a research area on the processes controlling the production and cycling of sulfur in the marine regions. The objective of this study was to determine the DMS and DMSP concentrations in both, dissolved and particulate form, from samples obtained in the southern part of the Mexican Pacific *Warm Pool*. Temperature, salinity and chlorophyll a concentrations were recorded simultaneously. Interactions between DMS presence and mixed layer were analyzed; our results were compared with data published from various authors.

Gas chromatographic analysis with flame ionization detector and a Chromosil 330 packed column was carried out to determine quantitatively dimethylsulfide and dimethylsulfoniopropionate. Samples were preconcentrated using a purge and trap method. The detection limit observed was 2.79 nM. The precision of this method was 5.3 % .

One of the most interesting results of this study were the highest values for DMS and DMSP concentrations, compared with those recorded for similar zones of the world. This work presents the first data reported on this matter from the Mexican Pacific *Warm Pool*.

1. INTRODUCCIÓN

El sulfuro de dimetilo (DMS) es un gas importante que está involucrado en el ciclo del azufre. Es producido principalmente por división enzimática del compuesto llamado propionato de dimetilsulfonio (DMSP) producido por algas marinas.

En la atmósfera, la oxidación rápida del sulfuro de dimetilo (DMS) da lugar a pequeñas partículas ácidas que dispersan radiación y que actúan como la principal fuente de núcleos de condensación en la tropósfera del océano. El tamaño y la abundancia de estos núcleos de condensación determinan la densidad óptica de las nubes y la cantidad de radiación solar que éstas reflejan hacia el espacio exterior.

Para que se lleve a cabo la formación de nubes, es importante la presencia de núcleos de condensación que son pequeñas partículas de aerosol que existen en la atmósfera a las que se adhiere el vapor de agua para condensarse y formar las gotitas de agua en las nubes. Los aerosoles provienen tanto de fuentes antropogénicas como de fuentes naturales, como son: poblaciones fitopláncticas, plantas superiores, zooplancton y organismos procariotos (protozoarios y cianobacterias) (*Charlson et al., 1987, Kirst, 1996*).

En 1987, Lovelock y colaboradores plantearon la hipótesis de que el efecto del azufre biogénico marino sobre el albedo podía constituir la base de un mecanismo de retroalimentación entre la vida marina y el clima (Figura 1): un aumento de la producción de DMS por el plancton daría lugar a un incremento del albedo sobre los océanos, con la disminución de la radiación incidente y la temperatura; ello probablemente haría disminuir la actividad fotosintética algal, y dicha disminución ocasionaría un freno a la producción de DMS, con lo cual se cerraría el ciclo como un mecanismo de retroalimentación negativa o autoregulado.

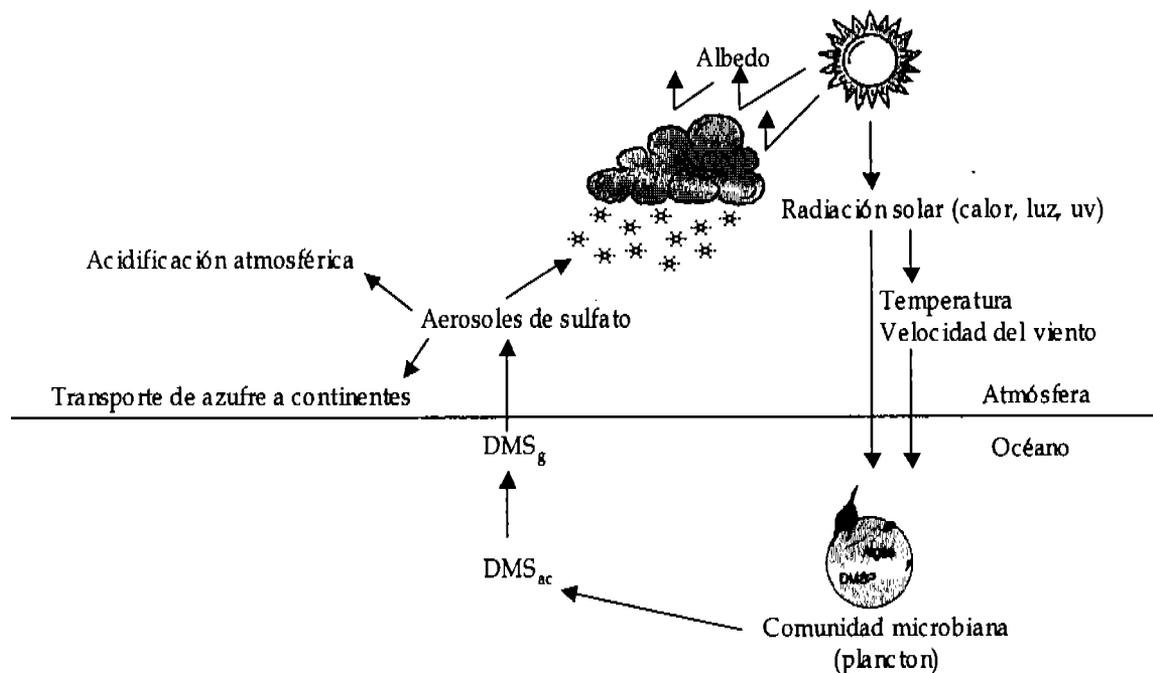


FIGURA 1. Descripción de la hipótesis de DMS-nubes-clima. Al aumentar la temperatura podría llevarse a cabo el incremento en las emisiones de DMS de aerosoles de sulfato, de núcleos de condensación de nubes y del albedo y por lo tanto al incrementarse el albedo, la cantidad de radiación solar refractada en la atmósfera superior se acrecentaría, y contrarrestaría el aumento de la temperatura inicial (*Malin, 1996 modificada*)

Por el interés que la hipótesis de Lovelock y colaboradores despertó en la comunidad científica internacional se han llevado a cabo estudios de la distribución de DMS en los océanos del mundo, la identificación de sus procesos de producción y la estimación de sus flujos de emisión a la atmósfera. En la última década se han publicado alrededor de 700 trabajos de investigación (*Simó y Alió, 1999*). Se ha detectado DMS en aguas superficiales de todos los océanos y en la atmósfera marina. Se ha encontrado correlación en el espacio y en el tiempo, así como una relación causa-efecto, entre el sulfuro de dimetilo (DMS) liberado a la atmósfera y la concentración de los núcleos de condensación en la troposfera oceánica remota. El precursor bioquímico del sulfuro de dimetilo (DMS) es el propionato de dimetilsulfonio (DMSP), la forma más abundante de azufre reducido en muchas especies de algas unicelulares, en las que desempeña varias

funciones fisiológicas esenciales. El DMSP algal se transmite y transforma mediante procesos de degradación a través de la red trófica, con la participación de los herbívoros planctónicos y de las bacterias; el sulfuro de dimetilo (DMS) es uno de tantos productos de degradación de DMSP.

El DMSP es un compuesto predominante en varios grupos de algas (Keller y Bellows-Korjeff, 1996) pero no todas producen y acumulan DMSP intracelular en grandes cantidades; la concentración intracelular de DMSP varía ampliamente de un género o conjunto de especies a otro, la concentración puede ser controlada fisiológica o ambientalmente. Steinke et al. (1996), demostraron que DMSP es producido principalmente por miembros de familias de *Dinophyceae* y *Prymnesiophyceae* que producen concentraciones intracelulares del orden de varios cientos de milimoles de DMSP/L. Otras clases, *Chlorophyceae*, *Cryptophyceae* y *Cyanophyceae*, producen bajas concentraciones de DMSP. Mientras que los miembros de *Bacillariophyceae* (diatomeas) y *Prasinophyceae* producen cantidades intermedias (Keller y Bellows-Korjeff, 1996).

En estudios llevados a cabo en poblaciones fitoplanctónicas marinas se encontró que las emisiones de DMS provenientes de la conversión de DMSP es por procesos mediados biológicamente, como lisis celulares fitoplancton, degradación bacteriana o pastoreo por zooplancton (Dacey y Wakeman, 1986; Nguyen et al., 1988; Belviso et al., 1990; Kiene y Bates 1990; Matrai y Keller, 1993).

Se ha observado que en las células de las poblaciones fitoplanctónicas de origen marino DMS tiene importancia biológica debido a que es considerado como parte de procesos evolutivos, interviene en procesos de transmetilación y como compuesto de osmoregulación (Ishida, 1996).

Existe la hipótesis de que la producción de DMS por el plancton marino está controlada por el grosor de la capa de mezcla (por calentamiento de la superficie del océano durante alta radiación) favoreciendo así su producción, ya que la capa de mezcla determina el grado de exposición de los microorganismos marinos a la radiación

ultravioleta. La cantidad de azufre que se origina del DMSP algal, se incorpora a la atmósfera y participa en la regulación del clima, dependiendo de la eficiencia de la transformación del DMSP a DMS. La eficiencia de esta transformación es mediada por enzimas algales y bacterianas, que son afectadas directa o indirectamente por la radiación ultravioleta (*Simó y Alió, 1999*)

Es de suma importancia conocer los procesos que determinan la producción biogénica de compuestos de azufre metilado, así como sus emisiones a la atmósfera. El DMS es uno de los compuestos relevantes en el ciclo biogeoquímico y en el cambio global. El sulfuro de dimetilo representa el 95 % de flujo marino natural de gases de azufre en la atmósfera (*Andreae, 1990*) y mediante reacciones de fotooxidación forma aerosoles de sulfato en la tropósfera.

Este estudio está dirigido a la determinación de las concentraciones de propionato de dimetilsulfonio (DMSP) y sulfuro de dimetilo (DMS) en una zona del Pacífico Mexicano, que presenta condiciones de temperatura e irradiancia elevadas durante todo el año.

2. ANTECEDENTES

2.1 Interacciones océano-atmósfera en el ciclo biogeoquímico global de azufre

El sulfato es utilizado por algas y plantas, al reducirse es incorporado a compuestos de azufre. Las algas marinas producen propionato de dimetilsulfonio, que es un compuesto osmorregulador y es degradado enzimáticamente por diversos procesos biológicos para producir sulfuro de dimetilo (DMS), este es un compuesto muy volátil y tiene importancia en el ciclo global del azufre. Se ha tratado de identificar cuales son las variables que controlan la producción oceánica de DMS y de acuerdo con los estudios realizados al parecer no existe una relación directa con la biomasa algal o la productividad primaria, sin embargo, se sabe que la concentración de DMS en el océano esta regulada por algas e interacciones tróficas (Andreae, 1990) (Figura 2).

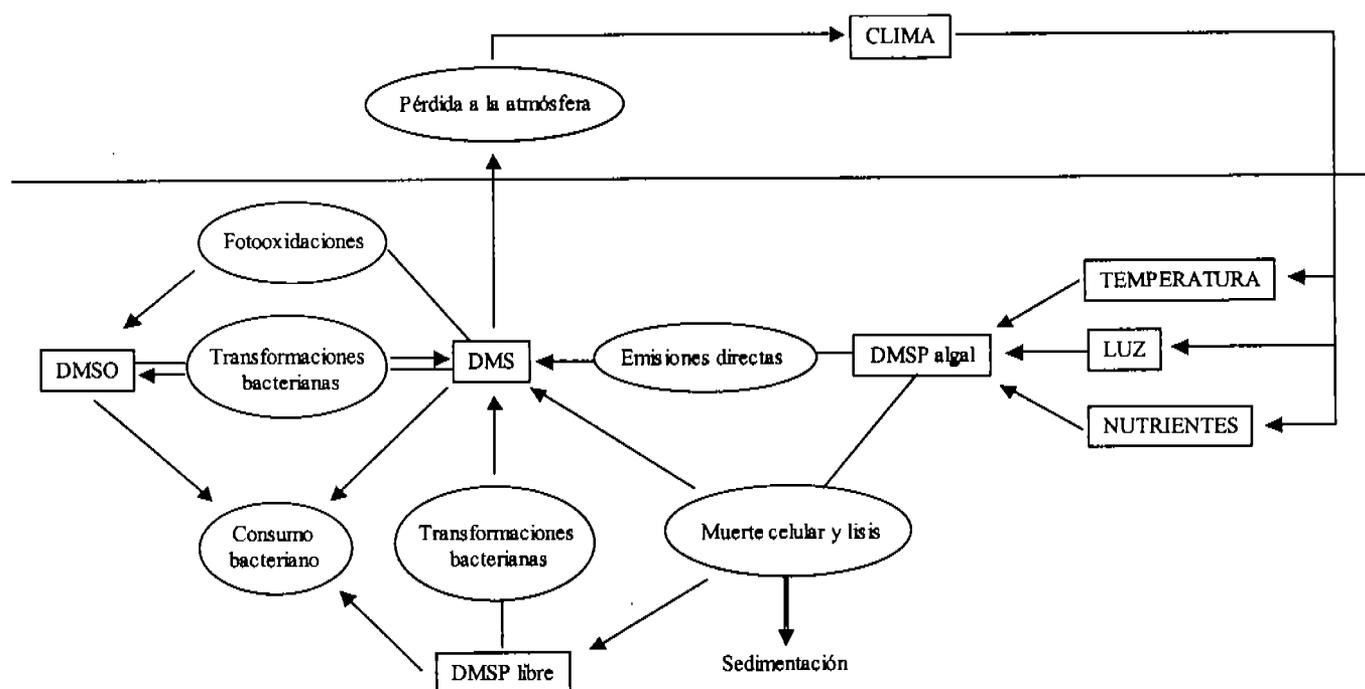


FIGURA 2. Trama biogeoquímico marino del sulfuro de dimetilo (DMS).

2.1.1 Fuentes de azufre en la atmósfera

Se han realizado mediciones de especies de azufre atmosférico y se ha notado que las emisiones antropogénicas han influido en el ciclo global del azufre atmosférico en las regiones lejanas del océano (*Andreae et al., 1988*). En la Tabla I, se muestra la distribución geográfica de las emisiones de DMS tanto de fuentes naturales como antropogénicas.

TABLA I. Emisiones de sulfuro de dimetilo (DMS) en unidades de Gmoles S por año (10^9 mol/año). Las emisiones antropogénicas son equivalentes a las fuentes productoras marinas y terrestres y las naturales son equivalentes a la marina, terrestre y volcánica como porcentaje del total (*Malin 1996, Bates et al., 1992 modificada*).

	Marina	Terrestre	Volcánica	Quema biomasa	Antropogénica
Hemisferio Norte	200	7	210	38	2200
Hemisferio Sur	280	4	83	31	240
Global	480	11	293	69	2440

2.1.2 Emisiones de azufre a la atmósfera de fuentes naturales

La producción de compuestos de gases de azufre provenientes de fuentes naturales y antropogénicas están muy influenciados por la química atmosférica. En 1992, Bates llevó a cabo un estudio para evaluar las mediciones de los gases de azufre tanto de fuentes naturales como antropogénicas para crear un inventario global de estas emisiones. El estudio se realizó en doce latitudes para explicar la dependencia temporal de las emisiones de azufre de fuentes biogénicas. Las emisiones totales de gases de azufre naturales fueron de aproximadamente 0.79 Tmol S/a y de estas emisiones el 16 % de azufre total provenía del Hemisferio Norte y el 58 % del Hemisferio Sur.

Existen otros gases de azufre reducido en la superficie del océano que han sido poco estudiados. Uno de éstos es disulfuro de carbono (CS_2) que está presente en la superficie del océano abierto a concentraciones de aproximadamente 16 ± 8 pmol/L (*Lovelock, 1974; Kim y Andreae, 1987*) y para el sulfuro de carbonilo (COS) en la superficie del mar se encuentra en un rango de 10 a 100 pmol/L (*Rasmussen et al., 1982; Ferek y Andreae, 1983*;

Turner y Liss, 1985; Johnson y Harrison, 1986). Las concentraciones de estos compuestos pueden variar durante el día por casi un orden de magnitud debido a la producción fotoquímica de COS a partir de materia orgánica. La hidrólisis de COS (Elliott et al., 1987) y el decaimiento de compuestos de azufre de la materia orgánica (Cutter y Krahfost, 1988) producen el ión sulfuro, que se encuentra presente en un rango de 0.1 a 1.1 nmol/L (Cutter y Krahfost, 1988) como metal vestigial (Elliott, 1988; Dyrssen, 1989; Elliott et al., 1989; Elliott y Rowland, 1990), y no en forma volátil. Otros compuestos importantes de especies volátiles son el metanotiol (CH₃SH) y el disulfuro de dimetilo (CH₃SSCH₃). El metanotiol es producido en sedimentos marinos anóxicos (Kiene y Visscher, 1987; Sorensen, 1988), por descomposición algal (Zinder et al., 1977) y en aguas costeras (Leck y Rodhe, 1990) y no ha sido cuantificado en la superficie de mar abierto.

Desde el siglo pasado las emisiones de azufre antropogénico han perturbado seriamente el ciclo biogeoquímico natural de azufre. En la tabla II se muestra la proporción de la contribución natural y por actividades del hombre de las emisiones de azufre en la atmósfera global.

TABLA II. Contribución natural y por actividades del hombre de las emisiones de azufre en la atmósfera global (Simó, 2001).

Fuente	Emisiones de azufre global ^a (TgS/año)	Contribución de las emisiones (%)	Contribución de sulfato ^b (%)
Actividades del hombre	70 (60-100)	70	37
Volcánicas	7 (4-16)	7	18
Biogénica ^c	22 (15-50)	23	42 ^d

^a Lelieveld et al., 1997; Kettle et al., 1999; Rodhe, 1999.

^b Contribuciones integrales del contenido de sulfato en la columna atmosférica completa,

^c Incluye todas las emisiones biogénicas terrestres y oceánicas, de las cuales > 90 % es de DMS oceánico.

^d Las contribuciones biogénicas (principalmente DMS) de sulfato 42 % pero varía de acuerdo con la región. En continentes de latitudes medias es < 10 %, Hemisferio Norte extratropical < 50-70 % y en el Hemisferio Sur y trópicos > 80 %.

Por otra parte, las diversas actividades del hombre han ocasionado perturbaciones en el ciclo atmosférico del azufre emitiendo dióxido de azufre (SO₂) por la quema de combustibles fósiles. De acuerdo con las revisiones realizadas por Cullis e Hirschler

(1980) y Moller (1984) las estimaciones de dióxido de azufre son de 2.5 ± 0.3 Tmol /año (Tmol: 1 Teramol = 10^{12} mol = 32×10^{12} g) (Tabla III).

TABLA III. Estimaciones de las emisiones de azufre (Tmol S/año) (Andreae, 1990).

	SO ₂	H ₂ S	COS	DMS	CS ₂	Sulfato	Otros	Total
Aerosol marino						1.2-10		1.2-10
Polvo						0.1-1		0.1-1
Total partículas						1.3-11		1.3-11
Volcanes	0.23-0.29	0.03	0.0003	-	0.0003	< 0.1	?	0.3-0.4
Suelos y plantas	-	0.1-0.3	±0.02	0.006-0.12	0.02-0.025	-	0.03	0.15-0.4
Costera humedales	-	0.03	0.004	0.02	0.002	-	0.04	0.06
Quema biomasa	0.08	?	0.003	-	?	?	?	≥ 0.08
Océanos (gases)	-	0.05-0.2	0.011	0.6-1.6	0.01	-	?	1.1-1.8
Total Gases	0.3-0.4	0.2-0.6	0.00-0.04	0.6-1.7	0.03-0.04	≤ 0.1	0.03	1.2-2.8*

*Equivalente a 38-89 Tg S/año.

Analizando la química del azufre en el estado de oxidación de +6, se puede notar que está dominado por ácido sulfúrico (H₂SO₄) y sulfato (SO₄²⁻) que son compuestos químicos no volátiles. Sólo en este estado de oxidación de +6, el azufre es estable en presencia de oxígeno, siendo el sulfato la forma predominante de compuestos de azufre en el mar, agua dulce y suelos. Por lo tanto, la reducción de sulfato a compuestos reducidos de azufre es un requisito para la formación de compuestos de azufre volátil y sus emisiones a la atmósfera. En lo que respecta al ciclo global geoquímico, se conocen dos tipos de vías bioquímicas que permiten la reducción de sulfato: reducción asimiladora de sulfato y reducción desasimiladora de sulfato. En la tabla IV se muestra las estimaciones por estas dos vías.

TABLA IV. Velocidades de reducción de sulfato por procesos biogeoquímicos comparados con emisiones de azufre antropogénico y biogénico a la atmósfera (Andreae, 1990).

Procesos	Tmol/año
Reducción de sulfato desasimiladora, bacteriana	
Zona costera	2.2
Sedimentos arrecife	6
Sedimentos ladera	9
Total	12-20 ^a
Reducción de sulfato asimiladora	
Plantas terrestres	3-6
Algas marinas	10-20
Total	12-25 ^b
Emisiones antropogénicas de SO ₂	3
Emisiones de azufre biogénico total	1.5
Emisiones de azufre natural total	2

^aIvanov y Freney (1983).

^bEhrlich et al. (1977).

Los dos resultados principales en la reducción biológica de sulfato son los siguientes:

- Biosíntesis de compuestos orgánicos de azufre para ser utilizados por la célula, (aminoácidos), y
- Utilización de sulfato como aceptor de electrones para el metabolismo de la respiración en ausencia de oxígeno molecular.

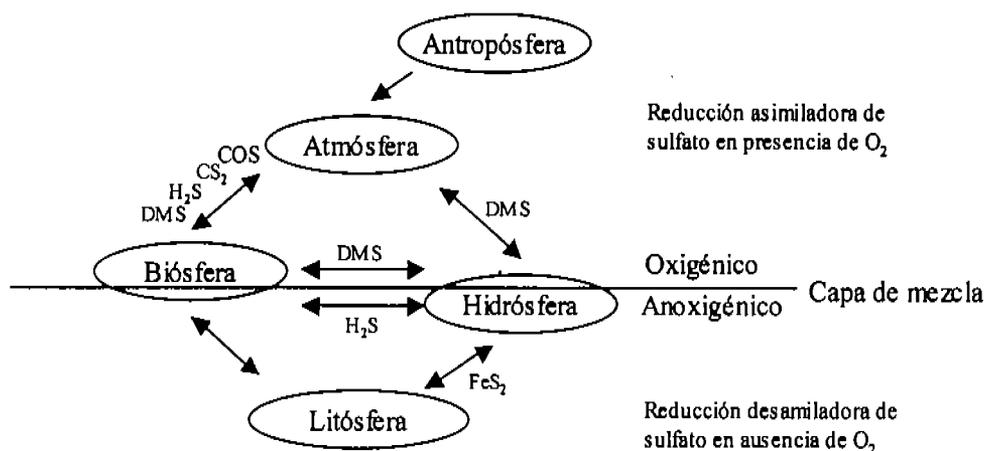


FIGURA 3. Interacciones en el ciclo biogeoquímico global del azufre (Andreae, 1990).

2.1.3 Bioquímica de la reducción de sulfatos

El sulfato, la forma más oxidada del azufre, es uno de los principales aniones en el agua de mar y es utilizado por las bacterias reductoras de sulfato, grupo que está ampliamente distribuido en la naturaleza. En la reducción del sulfato, el producto final es el sulfuro de hidrógeno (H_2S), un importante producto natural que participa en procesos biogeoquímicos. Muchos organismos, incluyendo las plantas superiores, algas, hongos y la mayor parte de las bacterias utilizan sulfato como fuente de azufre para la biosíntesis (Anderson, 1980). Pero la capacidad de utilizar sulfato como aceptor de electrones para los procesos de generación de energía está restringido a un grupo especial de bacterias anaeróbicas obligadas, las llamadas bacterias reductoras de sulfato. El estudio de la bioquímica de la reducción asimiladora de sulfatos se realizó en algas verdes como *Chlorella*.

La reducción de sulfatos a sulfuro de hidrógeno, de 8 electrones, se lleva a cabo a través de varias etapas intermedias. Debido a la estabilidad del ión sulfato este no puede ser utilizado sin antes ser activado. El sulfato es tomado por la célula por un mecanismo de transporte activo y es activado por medio del adenosin trifosfato (ATP). La enzima ATP sulfurilasa cataliza la fijación del ión sulfato a un fosfato del ATP, formándose adenosina fosfosulfato (APS), como se muestra en la Figura 4.

En la reducción desasimiladora del sulfato, el ión sulfato de APS se reduce directamente a sulfito, pero en la reducción asimiladora, se adiciona otro fosfato (P) al adenosina fosfosulfato (APS) para formar fosfoadenosina fosfosulfato (PAPS) y, solamente entonces, se reduce el ión sulfato. En contraste, en la asimilación de nitrato, varios intermediarios se encuentran libres en el citoplasma y durante la reducción el azufre reacciona con una molécula acarreadora. En un paso final, la unión del acarreador con el sulfuro y la participación de O-acetil-serina se forma la cisteína. En ambos casos, el primer producto de la reducción de sulfato es el sulfito (SO_3^{2-}). Una vez que se forma el sulfito, la reducción subsiguiente se efectúa fácilmente. Muchos organismos son capaces

de reducir el sulfito para utilizarlo como aceptor de electrones. En la reducción asimilativa de sulfato, el H₂S formado se convierte en azufre orgánico en forma de aminoácidos, en cambio en la reducción desasimiladora del sulfato el H₂S es excretado.

La cisteína es importante porque sirve como compuesto inicial para la biosíntesis de otros metabolitos de azufre, como los aminoácidos: homocisteína y metionina (Figura 4). La cisteína y la metionina son los principales aminoácidos de azufre en plantas y representan una fracción del contenido de azufre de materiales biológicos (Giovannelli et al., 1980). La metionina reacciona con ATP para formar S-adenosil-metionina (SAM), el más importante donador de grupos metilo en las reacciones de transferencia de grupos metilo en plantas y algas. En el proceso de la transferencia de grupos metilo de S-adenosil-metionina (SAM) a metionina se produce S-metil-metionina, que es el precursor de sulfuro de dimetilo en las plantas. En algas marinas, el propionato de dimetilsulfonio es el precursor del sulfuro de dimetilo y se forma por múltiples pasos a partir de metionina.

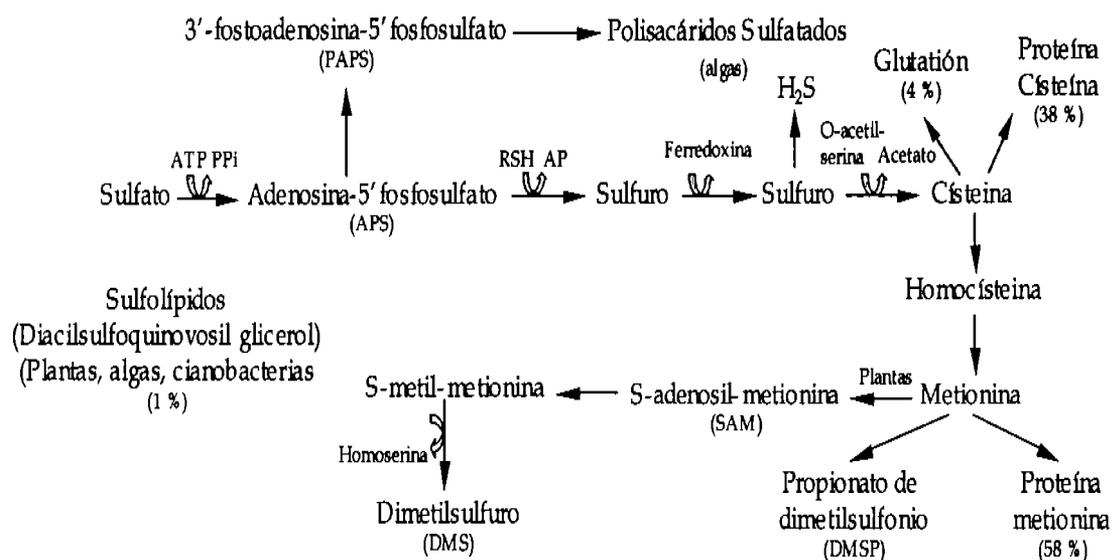


FIGURA 4. Principales vías metabólicas de azufre en algas y plantas. Los porcentajes representan la distribución aproximada de los principales compuestos organosulfurados en *Chlorella* (Giovannelli et al., 1980).

Cantoni y Anderson (1956) demostraron que la enzima responsable de la división de DMSP contenía grupos sulfhidrilo y que se encuentran unidos a la membrana. La liberación de DMS a partir de DMSP en algas ocurre a velocidad relativamente lenta, pero es muy incrementada cuando los organismos están sujetos a un estrés externo, como son: cambios salinos, perturbaciones físicas (agitaciones) o exposición a la atmósfera. El estado fisiológico de fitoplancton también parece influir en la velocidad de las emisiones de DMS, con emisiones altas durante la senescencia (*Nguyen et al., 1988*).

2.1.4 Emisiones de sulfuro de dimetilo de los océanos

Biosíntesis de sulfuro de dimetilo

El sulfuro de dimetilo fue identificado inicialmente por *Hass (1935)* en emisiones gaseosas de macroalgas marinas rojas *Polysiphonia lanosa*. *Challenger y Simpson (1948)* demostraron que el sulfuro de dimetilo (DMS) era generado de DMSP y que se encontraba presente en concentraciones importantes en los tejidos de las algas. Posteriormente otros investigadores establecieron que el DMSP estaba presente en otras especies de algas (*Akman et al., 1966; Tocher et al., 1966; Craigie et al., 1967; Granroth y Hattula, 1976; White, 1982*). Por estudios realizados en medios de cultivo puros con especies de fitoplancton, *Keller et al. (1989)* establecieron que especies de *dinoflagelados*, *prymnesiofitas* (en particular *cocolitofóridos*) y *crisofitas* contenían grandes concentraciones de DMSP. Las concentraciones máximas reportadas fueron de 0.2-0.4 mol DMSP/L volumen célula (*Dacey y Wakeham, 1986; Dickson y Kirst, 1986, 1987; Keller et al., 1989*). Otros grupos de fitoplancton marino que incluye las especies de *clorofitas*, *criptomonados* y *cianobacterias* generalmente contienen pequeñas cantidades de DMSP.

Ahora se sabe que el propionato de dimetilsulfonio presenta además funciones osmoestáticas y osmoreguladoras en algas marinas (*Dickson et al., 1980, 1982; Vairavamurthy et al., 1985*). Su estructura y química semejante a otras osmolitas como: glicina-betaína y prolina, sugiere que el DMSP presenta propiedades enzimático-

protectoras (*Brown y Simpson, 1972*). El DMSP es formado a partir de metionina por S-metilación, desaminación y descarboxilación. Esta fragmentación enzimática produce DMS y ácido acrílico en relación 1:1 (*Challenger, 1959*).

2.1.5 Producción de DMS

Los factores abióticos son de gran importancia en lo que se refiere a la regulación para la producción de propionato de dimetilsulfonio (DMSP) que también se conoce con el nombre de dimetilpropiotetin (DMST-dimethyl-propiothetin), que es el precursor de DMS, sin embargo, el DMSP no es el único precursor, también existen el 4-(dimetilsulfonio)-2-(metoxi)butirato, el S-metilmetionina (SMM), el goniol, la gonialuina y posiblemente el 5-(dimetilsulfonio) pentanoato (*Howard et al., 1996*).

Otro de los compuestos que es fuente de producción de DMS, es el sulfóxido de dimetilo (DMSO), las reacciones incluyen diferentes procesos como transformación enzimática por bacterias y fotooxidaciones (*Malin et al., 1992*). Cabe mencionar que la reacción de transformación de DMSO a DMS es un proceso reversible en medios marinos (*Hatton et al., 1996*) (Figura 5).

Stefels et al. (1996), descubrieron que el género *Phaeocystis sp.* además de producir DMSP tiene la capacidad de transformarlo en DMS y acrilato. Por otra parte, *Charlson et al. (1994)* y *Kirst (1996)*, observaron que el DMSP es también producido y/o acumulado por poblaciones zooplanctónicas y bacterias; recientemente se ha observado que algunas bacterias lo acumulan, aunque sus concentraciones son despreciables (*Díaz et al., 1992, Corn et al., 1996*).

La liberación de DMSP hacia el medio es a través de lisis después de la muerte celular, por ruptura celular a causa de la depredación, por el parasitismo de algunos virus o por choques hipo-osmóticos.

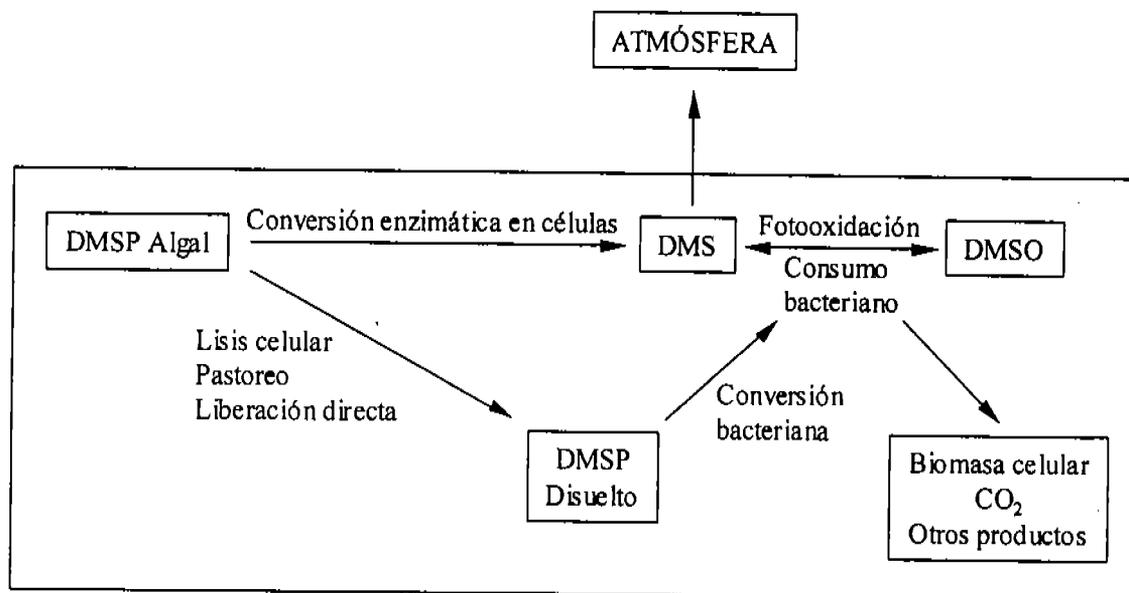


FIGURA 5. Esquema de la producción y destrucción de DMS.

Algunas cianobacterias no pueden transformar el DMSP en DMS y acrilato. Como resultado de la fotosíntesis hay fijación de CO_2 , que modifica el pH a niveles alcalinos (10-11). Bajo estas condiciones, el DMSP se hidrata y forma DMS; las cianobacterias son responsables indirectamente de la transformación de DMSP.

En la degradación de DMS las bacterias aeróbicas y anaeróbicas (Wolfe, 1996) pueden producir otros compuestos sulfatados como el metilmercaptopropionato (MMPA), el mercaptopropionato (MPA), el metanotiol (CH_3SH) ó el DMSO. Además de que las bacterias pueden asimilar el DMS para formar CO_2 . (Visscher et al., 1993, Kwint et al., 1996).

El DMSP está asociado con diferentes clases de algas incluyendo *dinoflagelados* y *primnesiofitas* aunque hay una variación amplia de algas que lo producen (Keller et al., 1989, Wakeham y Dacey 1989). Belviso et al. (1990) establecieron que el DMSP está asociado predominantemente con los dinoflagelados pequeños. Sin embargo, Gibson et al. (1990) y Kirst et al. (1992) reportaron una correlación significativa entre la concentración de DMS y la biomasa de algas *Phaeocystis sp.* De acuerdo con Liss et al.

(1992), *Emiliania huxleyi* es potencialmente el productor más importante de DMSP junto con *Phaeocystis sp.*, mientras que las diatomeas son productores menos importantes.

Los mecanismos biológicos que controlan la liberación de DMS en la columna de agua y en la atmósfera son:

- (1) *Excreción metabólica asociada con el desarrollo de fitoplancton.* El DMS puede ser un producto de excreción normal para las algas y esta producción se relaciona con la biomasa fitoplanctónica total (Vairavamurthy et al., 1985; Belviso et al., 1990; Gibson et al., 1990).
- (2) *Senescencia del fitoplancton.* Cuando las algas mueren y hay desintegración celular, el DMSP es liberado y es convertido a DMS (Nguyen et al., 1988; Matrai y Keller, 1993; Stefels y van Boekel, 1993).
- (3) *Pastoreo de zooplancton.* Este puede iniciar la liberación de DMSP celular en la columna de agua por daño en las células del fitoplancton por ingesta y ser excretado como DMS y/o DMSP (Dacey y Wakeham, 1986; Wakeham y Dacey, 1989; Leck et al., 1990; Belviso et al., 1990, 1993).

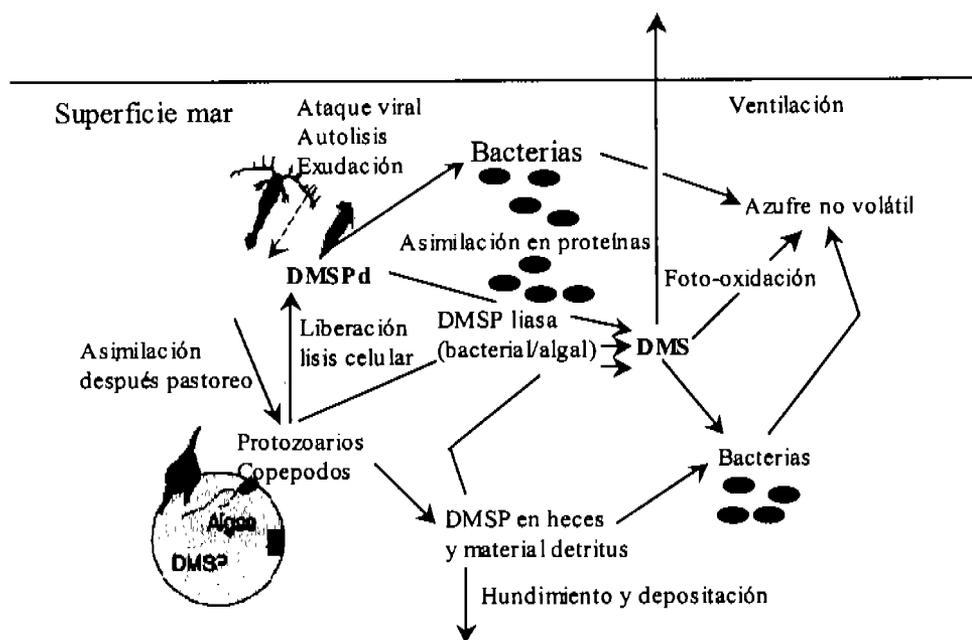


FIGURA 6. Representación de los mecanismos que controlan la liberación de DMSP y DMS en la columna de agua (Simó, 2001 modificada).

Kwint y Kramer (1995) realizaron un estudio en un sistema de mesocosmos para investigar si pudiese ser liberado más cantidad de DMS durante el desarrollo o en la senescencia del fitoplancton. Ellos observaron que se presentaba una sucesión de dos florecimientos de fitoplacton predominantemente por *Phaeocystis sp.* La liberación de DMS no aparecía durante el primer florecimiento del fitoplancton sino se iniciaba después de disminuir el florecimiento; el DMS disuelto en agua de mar se incrementaba después de haberse iniciado el segundo florecimiento y no existió una correlación directa entre la concentración de clorofila *a* y la concentración de DMS en el agua de mar.

Por ello, *Kwint y Kramer* sugirieron que la liberación de DMS en la columna de agua era causada por senescencia en lugar de excreción metabólica. Estos resultados concordaban con los realizados por *Nguyen et al. (1988)* y *Stefel y van Boekel (1993)*, quienes demostraron que la producción máxima de DMS ocurría después de iniciar el colapso del florecimiento de fitoplancton. *Leck et al. (1990)* también observaron este fenómeno después del primer pico de clorofila *a* en el mar Báltico en primavera, mientras que *Matrai y Keller (1993)* reportaron un máximo de DMS liberado durante la fase de senescencia de *Emiliania huxleyi* en el Golfo de Maine.

En un experimento realizado en el mar Báltico, el aumento y disminución de la concentración de DMS en agua de mar ocurría dentro del primero y segundo día de acuerdo con lo establecido por *Leck et al. (1990)* quienes calcularon que el DMS permanecía en la columna de agua por dos días. Durante el experimento la proporción entre la concentración máxima de DMS detectada en el agua de mar y el máximo de la concentración de clorofila *a* fue de 1.8 nmol/ μ g.

Existen numerosos factores abióticos que influyen en la producción y la liberación de DMS; en numerosos experimentos se ha observado que el incremento en la intensidad de la luz estimula la producción de DMSP y su acumulación. La duración de la irradiancia, luz de días largos o luz de días cortos, incrementa o disminuye las

concentraciones de DMSP, respectivamente (Kirst, 1996), sin embargo, Keller et al. (1989) afirman lo contrario.

La cantidad de DMS producida por diversas especies de algas depende de la concentración de nutrientes. Por ejemplo, la deficiencia de nitrógeno hace que se incrementen los niveles de DMSP en el fitoplancton y en *Spartina* (Turner et al., 1989; Kirst, 1996). Mientras que la deficiencia de hierro hace que los niveles de DMSP disminuyan, como en *Tetraselmis*. La reducción de sulfatos a menos del 2.5 % de su promedio en agua marina provoca un decremento en la producción de DMSP. Por lo anterior cuando hay deficiencia de nutrientes se encuentran concentraciones altas de glicinas betaínas que son más difíciles de asimilar que los nitratos. Por lo que, cuando hay concentraciones altas de betaínas, las concentraciones de DMSP son bajas y viceversa (Vairavamurthy et al., 1985; Kirst, 1996).

Otro de los factores abióticos que tiene efecto sobre el crecimiento y la distribución de algas en diferentes hábitats es la salinidad, que es considerada como un factor cambiante en zonas como lagunas, ríos, estuarios, zonas de marea, así como en lugares como zonas de hielo o en los polos. La capacidad de tolerar cambios en la salinidad se presenta en la mayoría de las algas, incluso en aquellas que viven en agua dulce o en mar abierto, en estos medios se mantiene constante la salinidad.

Los cambios de salinidad afectan a los organismos de la siguiente manera: a) por estrés osmótico con impacto directo en el potencial hídrico de la célula, b) por estrés iónico por toma o pérdida de iones que forma parte de la aclimatación temporal ante un cambio brusco de salinidad y c) por cambio de iones celulares debido a una aclimatación a las nuevas condiciones.

Las algas llevan a cabo mecanismos para la aclimatación osmótica, en su mayoría utilizan los compuestos orgánicos de peso molecular bajo, excepto en casos de algas halofílicas, éstas utilizan cationes monovalentes (Kirst 1996). Los nitratos y sulfatos son

productos metabólicos y pueden ser acumulados osmóticamente en cantidades significativas.

El DMSP actúa como osmolito compatible, genera un potencial hídrico bajo en el citoplasma sin dañar a la membrana y se encuentra presente en diferentes clases de algas, particularmente en especies fitoplanctónicas que contienen clorofila *a* y *c* y microalgas que contienen clorofila *a* y *b*. El DMSP regula osmóticamente el cambio en sus concentraciones, normalmente se encuentra en concentraciones altas para regular el estrés debido a un shock salino en forma de amortiguador.

Se ha visto que el DMSP puede ser acumulado, junto con otros compuestos orgánicos como el manitol y la betaína glicina, al parecer el DMSP se relaciona con algas que se encuentran constantemente en estrés hiperosmótico. En contraste, al haber un decremento en la concentración salina, el DMSP es liberado al medio por falta de control de las membranas celulares. *Kirst, (1996)* menciona que esto podría ocasionar una liberación constante de DMSP sin ser degradado en DMS y ácido acrílico.

Una de las ventajas de la acumulación de osmolitos orgánicos, en lugar de iones, es que estos funcionan como osmolitos y también como solutos compatibles. Los compuestos orgánicos en comparación con los iones, tienen la característica de estabilizar proteínas (enzima) y membranas protegiéndolas de la inactivación, inhibición y desnaturalización por un potencial hídrico bajo. Inclusive a concentraciones altas, los osmolitos orgánicos no tienen efectos adversos en el metabolismo, las alteraciones producidas son menores que aquellos que ocasionan los iones inorgánicos.

La producción de DMS por el plancton marino esta controlado también por la capa de mezcla, es decir, por el calentamiento de la superficie del océano durante la radiación alta; favoreciendo su producción debido a que la capa de mezcla determina el grado de exposición de las especies marinas a la radiación ultravioleta (*Simó y Alio, 1999*).

2.1.6 Reacciones químicas y transformaciones de sulfuro de dimetilo en la atmósfera marina

De acuerdo con experimentos de irradiación realizadas con muestras de mar almacenadas para realizar estudios de cinética y longitud de onda, se demostró que (1) la fotólisis de DMS sigue una cinética de primer orden, (2) el sulfóxido de dimetilo (DMSO) es producido en 14 % por la fotólisis de DMS (3) y la fotólisis de DMS en agua de mar en condiciones de luz natural ocurre entre 380 y 460 nm. Con base en estos resultados se confirmó que la fotólisis de DMS ocurre en la zona fótica en ambientes marinos oligotróficos aproximadamente a 60 metros de profundidad. Además se estableció que la pérdida atmosférica, consumo biológico y fotólisis son las principales vías para eliminar el dimetilsulfuro (DMS) en la zona fótica del Océano Pacífico Ecuatorial y la importancia de cada una de estas vías está en función del intervalo de profundidad considerando la localización del muestreo y las condiciones meteorológicas (Kieber et al., 1996).

Las emisiones del sulfuro de dimetilo sufren una serie de reacciones de oxidación para la formación de diversos productos estos incluyen ácido metanosulfónico ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, MSA) y dióxido de azufre (SO_2), con la subsecuente formación de aerosoles de sulfato acídicos (Plane, 1989). Otros productos generados incluyen dimetilsulfóxido (CH_3SOCH_3 , DMSO) y dimetilsulfona ($\text{CH}_3\text{SO}_2\text{CH}_3$, DMSO_2). En la Figura 7 se muestran los mecanismos de oxidación atmosféricos de DMS propuestos por Koga y Tanaka (1993).

Las observaciones con respecto a la abundancia relativa de SO₂ y de otros posibles productos de oxidación de DMS (sulfóxido de dimetilo, ácido metanosulfónico) en la atmósfera marina, sugieren que el SO₂ es el producto predominante (*Saltzman et al., 1983*). Sin embargo, bajo circunstancias específicas, es decir, en el océano del Sur y en regiones subantárticas, el MSA parecer ser, el principal producto de oxidación de DMS (*Ayers et al., 1986; Berresheim, 1987; Berresheim et al., 1990*).

En la capa marina el óxido de azufre (SO₂) es oxidado rápidamente a sulfato, mediante procesos fase gas y fase líquida (*Calvert et al., 1985; Bonsang et al., 1987*). Por su baja volatilidad, el sulfato y el ácido metanosulfónico (MSA) prevalecen en forma de partículas de aerosol, en el caso de MSA esta presente en forma de vapor hasta 30 % (*Andreae, 1988*) y debido a su alta solubilidad se encuentra disperso en las gotas de nubes y en la precipitación (*Clegg y Brimblecombe, 1985*)

2.1.7 Estimaciones del flujo océano-atmósfera para el DMS

Las primeras estimaciones del flujo de DMS global del océano a la atmósfera están basadas en las observaciones en el Atlántico y el Pacífico Tropical Este. Se sugirió un valor cercano a 1 Tmol/año (*Andreae y Raemdonck, 1983; Galloway, 1985; Andreae, 1986*). En posteriores evaluaciones se tomaron en cuenta las concentraciones de DMS estacional y se consideraron mediciones de otros estudios y se obtuvo que la estimación del flujo global se redujo de 1 Tmol/a a 0.5±0.33 Tmol/a (*Bates et al., 1987*). En la tabla V se muestran los flujos de DMS oceánico.

TABLA V. Flujos de DMS oceánico.

Región			Pacífico		Atlántico		Indico	
	Invierno μmol $\text{S}/\text{m}^2/\text{d}$	Verano μmol $\text{S}/\text{m}^2/\text{d}$	Invierno 10^6 mol/d	Verano 10^6 mol/d	Invierno 10^6 mol/d	Verano 10^6 mol/d	Invierno 10^6 mol/d	Verano 10^6 mol/d
80°-65°N	0.00	2.11	0	0	0	19	0	0
65°-50°N	1.40	6.57	8	39	8	39	0	0
50°-35°N	2.21	4.96	30	68	19	42	0	0
35°-20°N	2.15	5.14	44	105	26	63	2	4
20°-5°N	4.72	4.45	136	128	51	48	35	33
5°N-0°	4.36	4.01	45	41	16	15	14	13
0°-5°S	4.36	4.01	42	39	14	13	16	15
5°-20°S	4.72	4.45	124	117	42	40	68	64
20°-35°S	2.15	5.14	47	113	22	52	29	69
35°-50°S	2.21	4.96	40	89	24	55	37	84
50°-65°S	1.40	6.57	19	89	12	57	18	83
65°-80°S	0.00	2.11	0	11	0	6	0	3
H. Norte			264	382	120	225	50	49
H. Sur			271	457	114	222	168	317

Los flujos son el producto de las velocidades de emisión (Bates *et al.*, 1987) y del área del océano (Levitus, 1982). El invierno es definido de noviembre a abril en el Hemisferio Norte y de mayo a octubre en el Hemisferio Sur.

Actualmente, el sulfuro de dimetilo está identificado como la principal fuente natural de compuestos de azufre reducido en la tropósfera global. Las recientes estimaciones de flujo son de 15×10^{12} a 33×10^{12} g S/año (Simó, 2001).

2.1.8 Determinación de compuestos de azufre ambientales

Es un reto para los químicos analíticos, determinar compuestos de azufre volátil de tipo ambiental, debido a que se encuentran presentes en concentraciones bajas, es decir, del orden de partes por billón (ppb) y partes por trillón (ppt). Además hay que considerar que los compuestos de azufre son muy reactivos (*Wardencki, 1998*), y tienen la característica de presentar adsorción irreversible al estar en contacto con materiales. Por este motivo es importante elegir las técnicas adecuadas durante todo el proceso de estudio: desde el tratamiento de las muestras (muestreo, almacenamiento, preconcentración y aislamiento) hasta el procedimiento analítico (cromatografía de líquidos, cromatografía de gases, espectrometría de masas, etc.) y la interpretación de los resultados.

La caracterización de 3-dimetilsulfoniopropionato (DMSP) frecuentemente se lleva a cabo por un método indirecto, es decir, se transforma previamente a sulfuro de dimetilo (DMS) por un tratamiento con una base.

Convencionalmente, el método de Espectrometría de Masas (EM) por ionización electrónica, fue utilizada para la caracterización directa de compuestos de sulfonio terciario, como es el DMSP, por la baja volatilidad de estas moléculas. Otra técnica de EM es por desadsorción/ionización en donde no se requiere que la muestra sea introducida en fase gas, lo que permite introducir el DMSP directamente. Existen diversos métodos de Espectrometría de Masas para la determinación de DMSP, con sus respectivas variantes como puede ser desadsorción con plasma, bombardeo con átomos rápidos (FAB-MS), ionización "electrospray" (ESI-MS); pero es la Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-MS) uno de los métodos frecuentemente utilizados para el análisis de DMSP y sus análogos (*Gage y Hanson, 1996*).

Existen diversos métodos para la determinación de compuestos de azufre metilados. El sulfuro de dimetilo (DMS), es un compuesto muy volátil con un punto de ebullición de 37.5 °C y con una presión de vapor de 200 mmHg a 2.6 °C y de 400 mmHg a 18.7 °C. La

técnica más utilizada para su análisis es Cromatografía de Gases acoplada a un equipo de purga y trampa (condiciones criogénicas) con el uso del detector fotométrico de llama (FPD) que es selectivo para este tipo de compuestos de azufre (Wardencki, 1998) aunque también se puede utilizar el detector de ionización de llama (FID), sin embargo, no se tienen resultados reportados con este último (Kwint y Kramer, 1996).

En la figura 8 se muestra la clasificación esquemática de diferentes métodos para el manejo de muestras de compuestos orgánicos volátiles provenientes de agua incluyendo los compuestos de azufre reducido; el manejo de muestras de este tipo de compuestos está basado en técnicas de extracción.

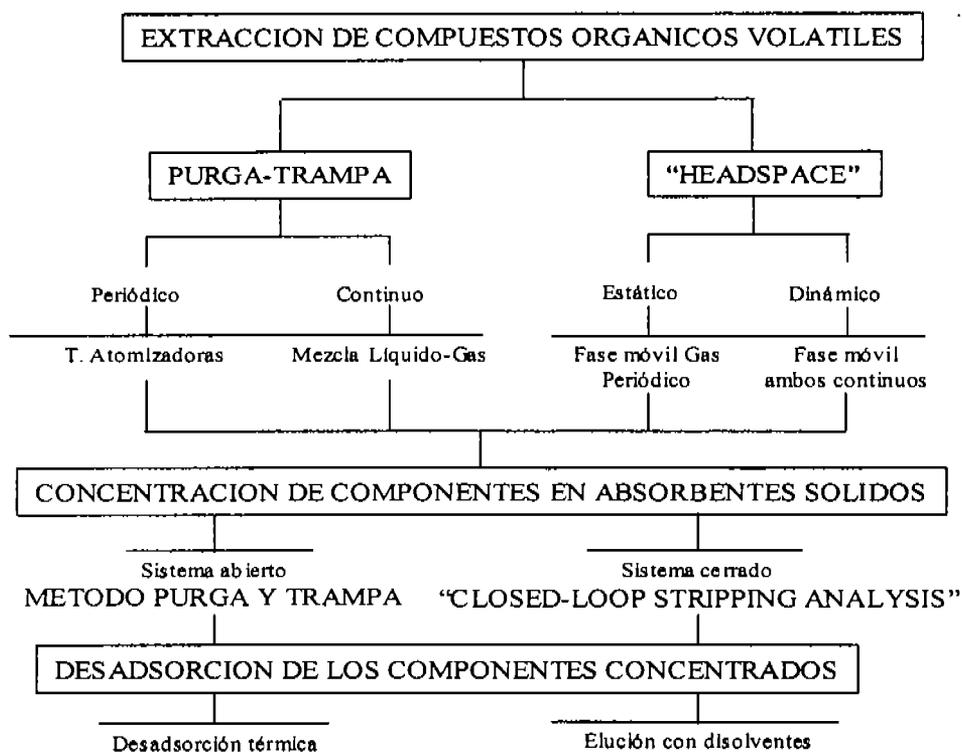


FIGURA 8. Métodos utilizados en fase gaseosa para la extracción y concentración de compuestos orgánicos volátiles en agua (Tomado de Hennion, *Scribe/Sample handling strategies*. Chapter 2).

2.1.9 Cromatografía de Gases

La cromatografía de gases es un método de separación en el cual los componentes de una mezcla se reparten entre dos fases: la fase estacionaria (líquida), que posee una superficie de exposición muy grande y la otra, la fase móvil, que es un gas que circula en contacto con la fase estacionaria. La muestra se vaporiza en el sistema de inyección y es transportada por la fase móvil gaseosa (gas acarreador) a través de la columna. El reparto o partición de los componentes de la muestra con la fase estacionaria, se basa en sus diferentes solubilidades en esta fase a una temperatura dada. Por lo tanto, los componentes de la mezcla (solutos o analitos) se separan entre sí en base a sus presiones de vapor relativas y de acuerdo a sus afinidades con la fase estacionaria. Este tipo de proceso cromatográfico se denomina elución.

Los principales componentes en un sistema de cromatografía de gases son: la fuente de gas portador, el sistema de inyección, el horno que contiene la columna, el detector y el sistema de registro e integración.

Un cromatógrafo de gases funciona de la siguiente forma: un gas inerte fluye en forma continua a través del inyector, la columna y el detector. La muestra se inyecta en el inyector donde se vaporiza y es transportada a la columna; la muestra se reparte entre la fase móvil y la estacionaria de modo de que los componentes individuales se separen en base a su solubilidad relativa en la fase líquida y sus presiones de vapor relativas.

Después de la columna, el gas acarreador y la muestra pasan a través de un detector, donde se mide la cantidad de cada componente y se genera una señal eléctrica. Esta señal se transmite a un sistema de registro e integración, el cual genera un cromatograma que representa un registro del análisis. En la mayor parte de los casos, el sistema integra automáticamente el área de cada pico, realiza los cálculos e imprime un reporte con los resultados cuantitativos y los tiempos de retención.

A continuación se enumeran las técnicas de extracción para la determinación de los compuestos de azufre por Cromatografía de Gases:

1. "Headspace" estático
2. "Headspace" dinámico
3. Purga y trampa

Una de las aplicaciones más importantes en un análisis cuantitativo es el método conocido con el nombre de "headspace", para la determinación de compuestos orgánicos a concentraciones bajas en bebidas, agua natural, agua industrial, aguas residuales; así como en la determinación de compuestos de azufre provenientes de agua de mar.

2.2.0 Cromatografía de Gases-"Headspace"

El término "Headspace"-Cromatografía de Gases (HS-CG) es utilizado en las técnicas de extracción, en donde los constituyentes volátiles de la muestra son transferidos a la columna del cromatógrafo de gases. La muestra se mantiene en un contenedor completamente cerrado (vial) a una temperatura constante hasta alcanzar el equilibrio entre la fase líquida y el gas. En el caso sencillo, el método headspace estático, es considerado una extracción de un solo paso, por vaporización de la sustancia analizada de la solución. La cantidad de sustancia extraída de la solución, depende de la relación entre el volumen de las fases y el valor del coeficiente de distribución (*Ioffe y Vitenberg, 1982*). En el caso de headspace dinámico los analitos volátiles son separados de la matriz hacia una trampa y posteriormente son desadsorbidos para ser arrastrados a la columna del cromatógrafo de gases por medio de un flujo continuo de un gas inerte (headspace dinámico) en ambos casos, los analitos son liberados por desadsorción térmica.

2.2.1 Cromatografía de Gases-Purga y Trampa

Este método es también un proceso de extracción donde el gas helio con 99.99 % de pureza pasa a través de un recipiente que contiene la solución con la muestra a determinar y mediante tres principales procesos se analiza el analito de interés estos son: purga, desadsorción y horneado. En la figura 9 se muestra el proceso de extracción que consiste en purgar la solución que contiene la muestra para concentrarla; previamente a la etapa de purga se lleva a cabo un paso previo llamado prepurga para remover el oxígeno presente y prevenir así la oxidación; en la siguiente etapa de desadsorción el analito es atrapado en el adsorbente (trampa) y posteriormente este es calentado para ser liberado y transportado mediante el gas acarreador a la columna cromatográfica con la ayuda de seis válvulas que integra el equipo de purga y trampa. La última de las etapas es la llamada horneado que permite acondicionar la trampa por calentamiento para iniciar la siguiente corrida. El tiempo y la temperatura del acondicionamiento de la trampa dependen del tipo de material del adsorbente (trampa) (*Varian 3000 User Manual Update August, 1995*).

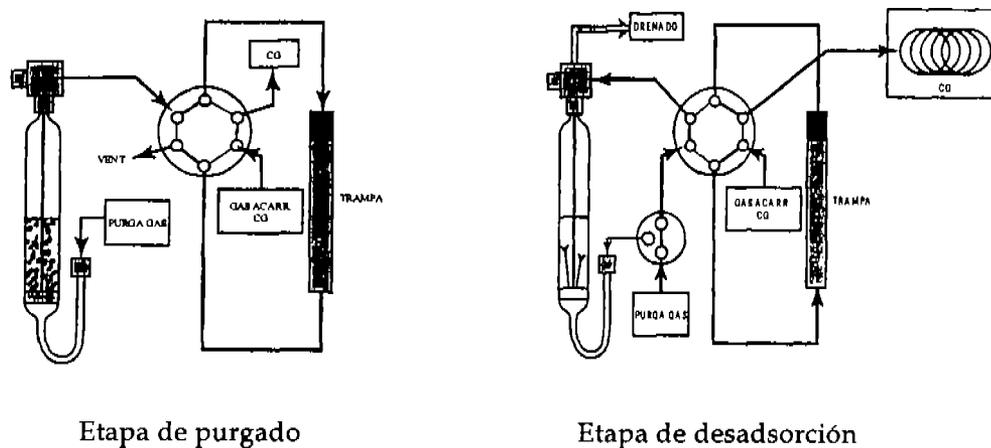


FIGURA 9. Proceso de extracción de purga y trampa.

2.2.2 Cromatógrafo de Gases-Espectrómetro de Masas

El sistema funciona de la siguiente manera: el flujo que proviene de la columna del cromatógrafo va directamente a un separador molecular, que separa eficientemente al gas acarreador de los componentes de la muestra analizada. Los sistemas más nuevos de acoplamiento CG-EM utilizan columnas capilares que tienen promedio de flujo de 2 ml/min y no presentan mayor problema para el sistema de bombeo del espectrómetro de masa. Una vez que los componentes a analizar del flujo entran a la cámara de evacuación del equipo, son fragmentados por un rayo de electrones. Estas partículas fragmentadas con carga son aceleradas en el centro del espectrómetro de masas, que puede utilizar uno o varios sistemas analizadores de masas. Estos iones pueden ser luego separados de acuerdo con su masa-carga y ser identificados por su patrón característico de fragmentación obtenida por el CG-EM en cuestión de segundos. La identificación de moléculas a través de los complicados patrones de fragmentación, ha sido simplificada con la compilación de los diferentes espectros de masas de los compuestos en las bibliotecas del software del CG-EM almacenadas en la computadora (Shugar y Ballinger, 1996).

2.2.3 Selección del adsorbente para la extracción

En cuanto a la selección del adsorbente para concentrar los compuestos, que se desean analizar, el volumen de fuga es un parámetro importante, porque permite conocer la capacidad de adsorción del compuesto. En un estudio realizado por *Przjazny (1985)* quien trabajó con once compuestos de azufre (tioles, sulfuros, disulfuros, tiofenos) para determinar el volumen de fuga en trampas de polímero porosos (Chromosorb, XAD-2, XAD-4, XAD-7 y Tenax CG), menciona que el adsorbente más adecuado para concentrar compuestos de azufre muy volátil fue el XAD-4. Sin embargo, actualmente por problemas de eficiencia este adsorbente no es tan ampliamente utilizado para

colectar compuestos de azufre. En la tabla VI se muestran los valores de los volúmenes de fuga (dm^3/g) a $20\text{ }^\circ\text{C}$.

TABLA VI. Volúmenes de fuga (dm^3/g) de algunos compuestos de azufre en diferentes adsorbentes (*Przvjazny, 1985*).

Compuesto	Concentración (ppm, v/v)	Chromosorb	XAD-2	XAD-4	XAD-7	Tenax CG
DMS	0.70	4.7	2.9	10.1	4.4	0.47
DES	0.87	173	52	8600	304	9.9
Sulfuro de Di-n-propil	1.0	3140	50000	>100000	36900	9.9
Sulfuro de Diisopropil	0.22	139	26800	15900	159000	15.1
DMDS	1.6	76	35	51	84	17.9
DEDS	6.6	1110	290	>61	150	139
Tiofeno	11.5	35	28	622	332	26
2-metiltiofeno	1.0	71	79	1530	404	27
MeSH	7.9	0.79	0.45	1.3	0.75	0.29
EtSH	7.3	4.8	2.7	24	3.6	0.97
PrSH	13.5	4.8	3.7	19	6.1	1.6

De los adsorbentes porosos, el Tenax es el más aceptado (*Maier y Fieber, 1988, Sunesson et al., 1995*), este tipo de adsorbente tiene la particularidad de presentar poca afinidad por el agua y el volumen de fuga es independiente de la humedad. Además, tiene la ventaja de que la técnica de desadsorción térmica es favorecida, presenta estabilidad térmica a temperatura alta ($375\text{ }^\circ\text{C}$) y además no presenta deterioro al realizar varias repeticiones en los ciclos de temperatura.

Podría considerarse que el Tenax es uno de los adsorbentes adecuados para el análisis de compuestos de azufre, sin embargo, es importante tener en cuenta la temperatura de trabajo; *Tangerman (1986)* realizó un estudio con tubos de Tenax para algunos compuestos de azufre a temperatura ambiente y a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ y observó que trabajar con Tenax a temperatura ambiente la eficiencia de la trampa no era suficiente para retener compuestos de azufre volátil presentes en la muestra. En cambio, la trampa a $-196\text{ }^\circ\text{C}$ N_2 (l) la eficiencia era mayor, pero también observó que no era conveniente enfriar la trampa con N_2 (l) en muestras que contenían cantidades excesivas de metano, en este

caso, para el enfriamiento de la trampa se puede sustituir el N₂ (l) por dióxido de carbono sólido (CO₂) (Henatsch y Juttner, 1988) evitándose de esta manera, la co-adsorción con metano. En la tabla VII se muestra los volúmenes de fuga en el estudio de Tangerman y en la misma tabla se muestra también los valores obtenidos por Shooter et al. (1992) con el mismo tipo de adsorbente.

TABLA VII. Volúmenes de fuga de algunos compuestos de azufre en la trampa Tenax (Tangerman, 1986; Shooter et al., 1992).

Compuesto	Volúmenes de fuga por Tangerman (dm ³ /200 mg)		Volúmenes de fuga por Shooter et al. (dm ³ /100 mg)
	Temperatura ambiente	-196 °C	Temperatura ambiente
H ₂ S	0.004/0.015	>40	0.08
SO ₂			8.00
COS			0.24
CS ₂			4.6
DMS	0.55/1.3	>40	3.8
DMDS	>1	>40	
MeSH	0.10/0.21	>40	0.54
EtSH	0.45	>40	

Para atrapar compuestos volátiles, generalmente son utilizadas las trampas criogénicas, en muestras de aire y en matrices líquidas, pero no siempre es muy práctico para su transportación y existe dificultad con su almacenamiento. En el caso de muestras acuosas para análisis de compuestos de azufre volátil se usa un recipiente de vidrio o de polímero para su recolección. Es importante que los recipientes sean silanizados para disminuir las pérdidas de compuesto de azufre por adsorción en las paredes; de los más utilizados están los de teflón y polietileno. Durante el muestreo, los recipientes son llenados hasta el tope para minimizar la entrada de aire en el espacio de la cabeza y por lo tanto, disminuir la partición de la fase gas.

En cuanto a la buena separación de los compuestos volátiles, es importante seleccionar un programa de temperatura y la columna adecuada de acuerdo con las características fisicoquímicas del compuesto que se desea analizar; una de las columnas más utilizadas por los investigadores en sus estudios fue la empacada Chromosil 330 (Wardencki, 1998).

El material utilizado para columnas empacadas en el análisis de compuestos de azufre volátil es politetrafluoretileno (PTFE). A continuación se mencionan las columnas empacadas frecuentemente utilizadas en el análisis de especies de azufre:

- Supelpack S (especialmente tratada con Porapack QS)
- Diferentes Chromosorbs
- Porapack Q, N ó QS
- Tritón X-350
- Chromosil 310 o 330 (especialmente tratada con sílice gel)
- Carbopack B ó BHT 100
- 3 % Polifenil éter y 1 % ácido fosfórico sobre Chromosorb

También suelen utilizarse las columnas capilares para separar compuestos reducidos de azufre, estas columnas pueden dar buena resolución y un tiempo de análisis corto en un rango amplio de especies de azufre de diferentes matrices. Las columnas capilares utilizadas son: Poraplot Q, Poraplot U, SE-54, 5 μm , Polimetilsiloxano, 1 μm , etc.

2.2.4 Análisis cromatográfico

Debido a la capacidad de separación y facilidad para determinar compuestos, la Cromatografía de Gases se utiliza frecuentemente para analizar compuestos volátiles de azufre (CVS) provenientes de diferentes matrices. Sin embargo, el análisis de compuestos de azufre a niveles bajos es complicado debido a:

- I. La adsorción y pérdida de especies de azufre en sistemas cromatográficos y
- II. Problemas con la sensibilidad y selectividad de estos compuestos en matrices complejas, además de considerar las características fisicoquímicas de estos compuestos para una buena separación.

A continuación se muestra un esquema general para la determinación de compuestos de azufre volátil en muestra de agua.

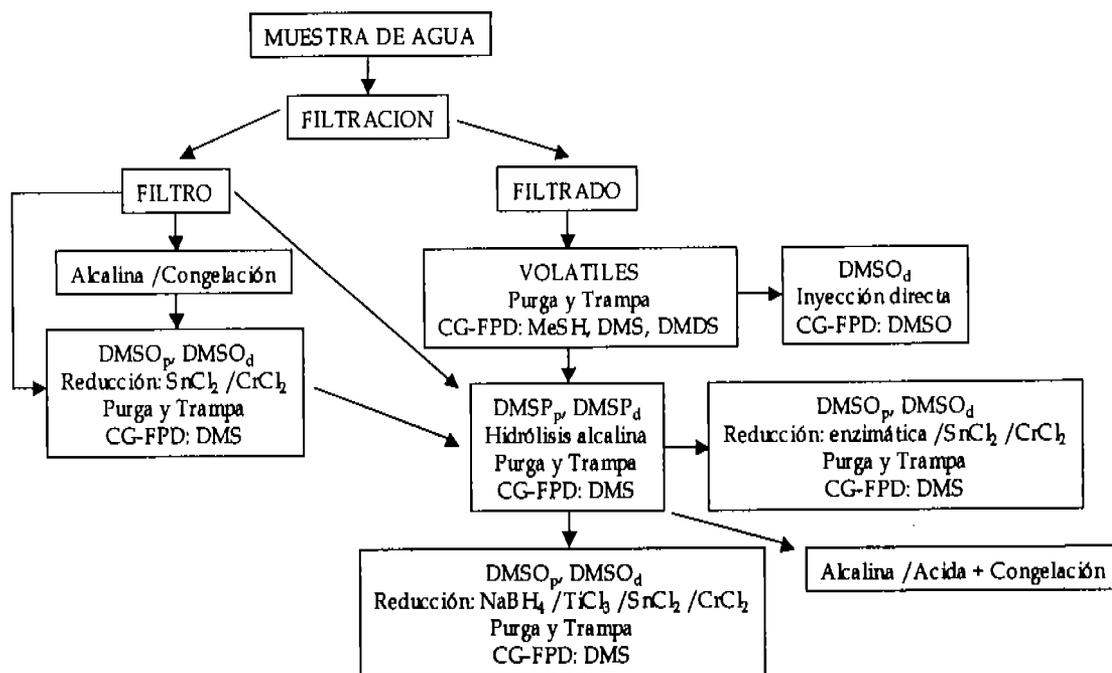


FIGURA 10. Determinación de compuestos de azufre volátil en muestras de agua (Simó, 1998).

Las técnicas analíticas, dependen de la sensibilidad y precisión requerida y de la naturaleza de los componentes del analito como se mencionó en párrafos anteriores. Por ejemplo, los compuestos vestigiales con coeficientes de distribución pequeño (agua-aire, $K < 10$) puede ser determinados por un análisis de Cromatografía de Gases directa. Para este tipo de analitos se utilizan detectores universales, como el detector FID que es insensible al agua. Los compuestos como hidrocarburos, halógenos y derivados de sulfuro, en cantidades vestigiales presentan un valor de K (coeficiente de distribución) pequeño en agua. En el caso de la determinación de compuestos de azufre y fósforo en la mayoría de los casos se utiliza el detector fotométrico de llama (FPD) por ser selectivo.

2.2.5 Detectores

Una de las características importantes del método de cromatografía de gases es la disponibilidad de gran número de detectores sensibles, universales y selectivos. Estos detectores son especialmente útiles para el análisis de diferentes compuestos en matrices complejas. Por ejemplo, el detector de ionización de llama (FID), es muy sensible a hidrocarburos y se utiliza para monitorear hidrocarburos en el aire ambiental. En cambio, la cromatografía de gases con un detector de masas es frecuentemente utilizada para confirmar la identidad de compuestos por comparación de sus tiempos de retención con estándares.

Detector de ionización de llama (FID)

La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando son pirolizados a la temperatura de una llama de hidrógeno/aire, forman productos intermedios iónicos y electrones que facilitan un mecanismo de paso de corriente eléctrica a través de la llama. Las especies cargadas son atraídas y capturadas por un colector; se aplica una diferencia de potencial y se registra la señal mediante un amplificador.

El detector de ionización de llama, es insensible a gases incombustibles, como H₂O, CO₂, SO₂ y NO_x, esta propiedad hace que el detector de ionización de llama sea un detector de uso general para la mayoría de las muestras orgánicas, entre las que se incluyen las contaminadas con agua y óxidos de nitrógeno y de azufre. Además el detector de ionización de llama es el más utilizado por su gran sensibilidad (aproximadamente 10⁻¹³ g/mL), con amplio intervalo de respuesta lineal (≈10⁷), poco ruido y sencillez; es el detector que normalmente se usa con columnas capilares, sin embargo una de las desventajas del detector es que destruye la muestra una vez analizada.

Las características generales del detector de ionización de llama (FID) son:

- (a) Sensibilidad alta y uniforme a la mayoría de los compuestos orgánicos,
- (b) Insensibilidad a impurezas como dióxido de carbono (CO₂) y humedad del gas acarreador,
- (c) Estabilidad (fluctuaciones mínimas debido a cambios en el flujo, presión o temperatura),
- (d) Rango dinámico lineal amplio de ocho órdenes de magnitud y
- (e) Falta de respuesta virtual en ausencia de muestra, obteniendo una línea basal estable.

Detector Fotométrico de llama (FPD)

El detector fotométrico de llama (FPD) es utilizado ampliamente por ser selectivo para el análisis de compuestos de azufre volátil en muestras ambientales. Sin embargo, el detector FPD presenta una respuesta no lineal (exponencial) de compuestos de azufre y su factor de respuesta depende de los compuestos. Una alternativa de FPD es el detector de quimioluminiscencia (SCD). Las últimas aplicaciones de estos métodos de detección muestran que el SCD proporciona buenas interpretaciones en términos de detectabilidad, selectividad, linealidad y además una respuesta uniforme. El SCD se recomienda principalmente para matrices extremadamente complejas (*Wardencki, 1998*).

Los compuestos de fósforo generalmente proporcionan una respuesta de 526 nm sobre cuatro órdenes de magnitud, pero la señal de azufre es de 394 nm, es no lineal por la formación de los radicales libres. La linealidad de la señal de azufre es mejorada por el gas acarreador con una concentración constante de compuestos de azufre volátil. La selectividad del detector fósforo es 100,000:1 y azufre 10,000:1

En la Tabla VIII se enlistan las características básicas de los detectores más utilizados y sensibles para el análisis de compuestos de azufre.

TABLA VIII. Características básicas de detectores sensibles de azufre en CG (Wardencki, 1991).

Detector	Límites de detección (gS/s)	Selectividad	Rangos de concentración lineal	Acoplamiento CC ^a	Acoplamiento SFC ^a	Facilidad de operación ^b
FPD	10 ⁻¹⁴	10 ³ -10 ⁶	3	+	+	2
ECD	10 ⁻¹⁵	variable	4	+	+	1
SCD	10 ⁻¹³	10 ⁶ -10 ⁷	3-4	+	+	1
AED	10 ⁻¹²	10 ⁴	3-4	+	+	3
HECD	10 ⁻¹⁴	10 ⁴ -10 ⁶	3-5	+/-	-	4
PID	10 ⁻¹²	escaso	6	+	+	2
MS	10 ⁻¹¹	específico	5	+	+	4
FTIR	10 ⁻¹⁰	específico	4	+	+	4

^a Capacidad acoplado con (CC = Columna capilar, SFC = Cromatografía de fluido supercrítico), + = sí; - = no.

^b 1 = simple; 2 = moderado; 3 = difícil; 4 = complicado.

La combinación de cromatografía de gases con otras técnicas como las espectrométricas, principalmente la espectroscopía de masas (MS), se lleva a cabo como técnica combinada para obtener información cualitativa y cuantitativa en muestras ambientales. La aplicación de MS ó CG-MS es muy popular (Wardencki, 1998) en el análisis de compuestos de azufre ambientales. Triska et al. (1990) determinaron compuestos de azufre en reservorios de gas natural y gas urbano (RSH, RSR y RSSR) por CG-MS donde fue utilizado el ión CH₂-S-H con m/z 47.

3. ÁREA DE ESTUDIO

Por su localización geográfica, la República Mexicana es afectada por sistemas meteorológicos de latitudes medias durante el invierno y por sistemas tropicales en verano. Entre los elementos importantes en la dinámica atmosférica mexicana existe la presencia de mares, la topografía y el uso de suelo, que determinan el tipo de clima regional. Por ello, los procesos de interacción oceánico-atmósfera-continente son de gran importancia para comprender los cambios del clima de una región a otra.

Existen zonas en el océano donde se registran temperaturas en la superficie del mar iguales o superiores a 28 °C, que son zonas conocidas como "albercas calientes" que favorecen el desarrollo de convección profunda y precipitación (Webster, 1994). En la región del Pacífico Mexicano, centrada en 16 °N frente a las costas de Michoacán y Guerrero, se forma una alberca caliente que favorece la formación de nubes profundas y juega un papel importante en la dinámica del clima en México. Además la dinámica atmosférica en México (en verano) esta modulada por la influencia de la Zona Intertropical de Convergencia (ZITC) en el Pacífico.

3.1 El Pacífico Mexicano

El Pacífico Mexicano se extiende desde la frontera de EUA-México hasta la frontera con Guatemala, donde comienza el Pacífico Tropical Oriental Centroamericano.

El muestreo para éste estudio se desarrolló durante las campañas "ECAC1," del 18 al 26 de mayo del 2001 y la campaña de "ECAC2," del 10 al 21 de julio del mismo año. Las campañas se realizaron en el Pacífico Mexicano en una zona llamada "alberca caliente", abarcó desde los 10° 00'a 14° 00' N y 94° 59'a 100° 00' Oeste. La localización del área de estudio y de los sitios de muestreo se presentan en la figura 11.

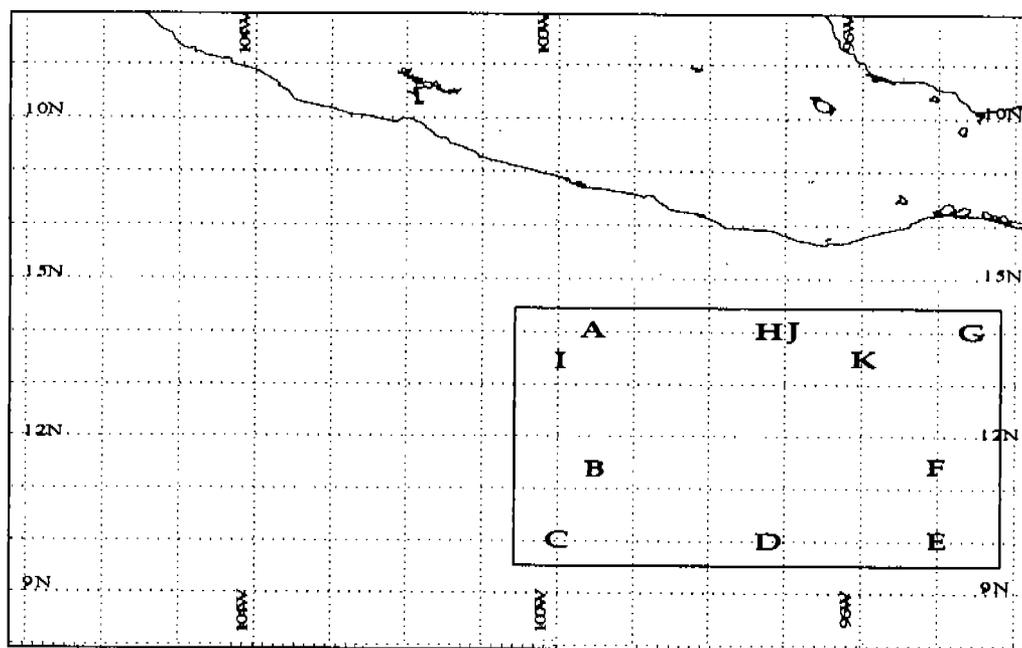


FIGURA 11. Localización del área de estudio y de los sitios de muestreo en el Pacífico Mexicano, México (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J y K).

3.2 Parámetros físicos y químicos

La estructura térmica del área de estudio se caracteriza por una capa mezclada donde la temperatura es constante; a partir de su base se desarrolla una termoclina pronunciada. Ésta termina en una capa subsuperficial donde dicho cambio térmico decrece con intervalos mucho menores que en la termoclina (*Tchernia, 1980*).

La variación anual de la temperatura superficial fluctúa entre 28 y 31 °C (*Weare et al., 1981*). Las aguas cálidas del Pacífico Tropical están sujetas a un calentamiento superficial que tiende a reducir la densidad, no obstante la excesiva evaporación que tiene lugar en el subtropical incrementa la densidad del agua superficial y promueve la convección, y consecuentemente un proceso de mezcla de 20 a 50 m. Con relación a esta capa se encuentra la termoclina que se caracteriza por ser somera y permanente (*Wyrtki, 1965b*).

El Pacífico Mexicano esta bajo la influencia de la corriente de California y la corriente norecuatorial. Las masas de agua de éstas se caracterizan por su temperatura superficial, niveles de salinidad y oxígeno disuelto, presentando diferente profundidad de la termoclina a lo largo del año (*Magaña, 1999*). La región del Pacífico Mexicano esta caracterizada por un flujo de corriente ecuatorial del sur al oeste, aguas ricas en nutrientes a lo largo del ecuador y una comunidad alta de productores de fitoplancton.

El DMS fue reportado inicialmente en aguas oceánicas por *Lovelock* y colaboradores (1972) y fue subsecuentemente medido en el Pacífico (*Andreae y Raemdonck, 1983; Cline y Bates, 1983; Barnard et al., 1984; Andreae, 1985; Bates y Cline, 1985; Bates et al., 1987*), en el Atlántico (*Barnard et al., 1982; Andreae y Barnard, 1984; Turner y Liss, 1985; Turner et al., 1988, Iverson et al., 1989*) y océanos del sur (*Berresheim, 1987; Berresheim et al., 1990*). En el océano abierto las concentraciones de DMS en la superficie generalmente se encuentran en un rango de 0.5 a 5 nmol/L; en latitudes altas las concentraciones son bajas durante los meses de invierno y en los meses de verano las concentraciones son altas (*Bates et al., 1987*). La variabilidad promedio natural de las concentraciones de DMS en el Océano Pacífico norte es aproximadamente 30 % (*Bates et al., 1987*). Este incluye una incertidumbre analítica de aproximadamente 10 %. La variabilidad natural en las concentraciones de DMS puede llegar a ser elevada en regiones costeras donde las concentraciones pueden variar por un orden de magnitud con un período de dos semanas en una área determinada (*Bates y Cline, 1985; Turner et al., 1989; Leck et al., 1990*). El tiempo de vida de DMS en la superficie es del orden de un día (*Kiene y Bates, 1990*), es degradado microbiológicamente (*Suylen et al., 1986; Taylor y Kiene, 1989*) y fotoquímicamente (*Blimblecombe y Shooter, 1986*) y las pérdidas a la atmósfera son por el intercambio aire-agua marina.

3.3 Motivación y objetivos

Debido a que las emisiones de DMS en el Océano Pacífico Tropical son una fuente significativa de azufre en la atmósfera, contribuyendo como azufre troposférico y en el desarrollo de partículas en la capa límite marina, decidimos estudiar esta área para determinar las concentraciones de DMSP y DMS y relacionarlas con factores abióticos (temperatura, salinidad) así como con la biomasa fitopláctica.

El DMS en el océano Pacífico Ecuatorial se emite en altas cantidades y se mantiene durante todo el año. *Bates y Quinn (1997)* realizaron mediciones de las concentraciones de DMS entre los años de 1982 y 1996 en la superficie del mar (20° N a 20° S) y encontraron que las concentraciones en esta región son relativamente constantes temporal e interanualmente (2.7 ± 0.7 nM).

En lo que respecta a México se han publicado sólo los datos de muestras de *Bates y Quinn (1997)* en Manzanillo, México en mayo de 1983, dentro de un amplio estudio del PMEL (*Pacific Marine Environmental Laboratory*).

Debido a que los factores abióticos como salinidad, luz, temperatura, nutrientes, etc (*Dacey y Blough, 1987*), influyen en el crecimiento y en la distribución de las algas en diferentes hábitats, se considera a la alberca de agua caliente como una zona estable para el estudio de la determinación de las concentraciones de DMSP y DMS.

Objetivos particulares

- ✦ Estimar la presencia de propionato de dimetilsulfonio (DMSP) y sulfuro de dimetilo (DMS) a diferentes profundidades de la columna de agua, en la alberca de agua caliente del Pacífico Mexicano.

- ✦ Analizar la relación que existe entre las concentraciones de propionato de dimetilsulfonio y sulfuro de dimetilo con la temperatura, la salinidad y la biomasa fitopláctica, en el área de estudio.

- ✦ Evaluar e implementar las técnicas de muestreo para la cuantificación de DMS en agua de mar.

- ✦ Adaptar y evaluar un método analítico para la determinación de propionato de dimetilsulfonio (DMSP) y sulfuro de dimetilo (DMS) en agua de mar.

4. DATOS Y MÉTODO

4.1 TRABAJO DE CAMPO

4.1.1 Muestreo

Las muestras se colectaron a diferentes profundidades en viales especiales para atrapar el gas y se analizaron en los laboratorios del Centro de Ciencias de la Atmósfera en la UNAM. En el campo se llevaron a cabo mediciones de parámetros fisicoquímicos en la columna de agua y se colectaron muestras necesarias para la estimación de las concentraciones de propionato de dimetilsulfonio y sulfuro de dimetilo y para el análisis de pigmentos.

Las muestras de agua de mar fueron colectadas con botellas Niskin, utilizando el sistema de roseta-CTD a diferentes profundidades. Este aparato, cuyas siglas traducidas significan *Conductividad-Temperatura-Profundidad*, consta de un armazón protector alrededor del cual se montan una serie de botellas oceanográficas dispuestas en forma circular. En el hueco central se montan los sensores de conductividad, temperatura y presión y otros adicionales para medir, por ejemplo: oxígeno, transmitancia, pH, etc. El cable que sostiene al armazón es un cable conductor y permite la comunicación bi-direccional entre el buque oceanográfico y el sistema CTD-roseta. Por tanto, al descender el CTD se va conociendo en tiempo real las características de las diferentes capas de agua obteniéndose un perfil, para cada uno de los sensores instalados en el sistema. Una vez alcanzada la máxima profundidad requerida se comienza a izar el CTD-roseta y se ordena desde control de a bordo el cierre de una o varias botellas oceanográficas a las profundidades deseadas mediante una señal eléctrica, en este caso, las profundidades fueron superficie, 10 m, 30 m y 60 m (ver figura 12).



FIGURA 12. Vista de una roseta de botellas Niskin. Se aprecia la posición central de la sonda CTD y la armadura protectora exterior.

4.1.1.1 Submuestras para la determinación de $DMSP_p$, $DMSP_d$ y DMS libre.

El método de preparación de las submuestras fue propuesto por *Cantin et al. (1996)*, realizando tres tipos de tratamiento para determinar DMSP particulado (intracelular), DMSP disuelto (extracelular) y DMS libre, a continuación se describe el procedimiento:

a) Tratamiento I. $DMSP_p$ (intracelular)

De cada sitio de muestreo se filtraron de 4 a 5 litros de agua de mar por cada profundidad (superficie, 10 m, 30 m, 60 m) utilizando filtro de fibra de vidrio de Whatman GF/F de 47 mm y un sistema de filtración Millipore conectado a una bomba de vacío, posteriormente cada filtro se dobló con pinzas y se guardó en un vial de 20 mL "headspace" (forrado de papel aluminio) al cual se le adicionó 19 mL de agua destilada y 1 mL de KOH 5 M para romper la pared y la membrana celular e hidratar el precursor del DMS, el $DMSP$ intracelular. El vial se selló con un casco de aluminio y una septa de teflón, colocando una etiqueta con su respectiva estación, fecha, profundidad y tipo de técnica.

b) Tratamiento II. DMSP_d (extracelular)

Para el tratamiento II, 19 mL del agua filtrada del tratamiento I se vaciaron en un vial de 20 mL "headspace" (forrado de papel aluminio) y se adicionó 1 mL de KOH 5 M, hidratando el DMSP que se encontraba disuelto, el cual había sido liberado del medio a través de diferentes procesos por el plancton.

c) Tratamiento III. DMS libre

Para el tratamiento III, 19 mL del agua filtrada del tratamiento I se vaciaron en un vial de 20 mL "headspace" (forrado de papel aluminio) y se adicionó 1 mL de agua destilada para completar un volumen de 20 mL. De esta manera sólo se cuantifica el DMS que ya estuviera libre en el agua y no el DMSP transformado a DMS.

Las muestras se mantuvieron en la oscuridad a temperatura de 4 °C hasta su análisis en el laboratorio, como recomiendan *Rusell y Horward (1996)*.

Para calcular mejor las concentraciones de DMS libre se recomienda que las submuestras sean purgadas con N₂ por períodos de aproximadamente 5 a 30 minutos dependiendo del tamaño de la muestra y subsecuentemente ser inyectada al cromatógrafo de gases (*Townsend y Keller, 1996*).

4.1.1.2 Submuestras para la determinación de clorofilas. Extracción de pigmentos

De cada sitio de muestreo se filtraron de 1.5 a 2 litros de agua de mar por cada profundidad (superficie, 10 m, 30 m, 60 m) utilizando filtros de fibra de vidrio (Whatman GF/F de 47 mm) y un sistema de filtración Millipore conectado a una bomba de vacío, posteriormente cada filtro se guardó en tubos de plástico para centrifuga, agregándole 10 ml de acetona al 90 % a cada tubo; se mantuvieron protegidos de la luz y refrigerados a temperatura de 4 °C hasta su análisis en el laboratorio (*APHA et al., 1989*). A cada tubo se le colocó una etiqueta con la estación, fecha y profundidad.

4.2 TRABAJO DE LABORATORIO

4.2.1 Determinación de clorofilas

De las muestras obtenidas de agua de mar a diferentes profundidades (superficie, 10 m, 30 m y 60 m), se extrajeron submuestras para la determinación de clorofilas.

La acidificación del extracto de cada una de las submuestras con ácido clorhídrico al 30 % se realizó cuidadosamente para efectuar la corrección en la concentración de la clorofila *a*, transformándolas en feotinas *a*, ya que muchos de los feopigmentos absorben a la misma longitud de onda que las feotinas *a* sobreestimando de esta forma sus concentraciones.

4.2.1.1 Método Espectrofotométrico

Los perfiles verticales de fitoplancton para la determinación de clorofilas *a*, *b* y *c* se realizaron con un espectrofotómetro modelo UV VIS 552A PERKIN-ELMER, donde se transfirió parte del extracto a una cubeta de 1 cm, la cual sirvió para hacer las lecturas a las longitudes de ondas sin acidificar y acidificadas con HCl al 30 % a 630, 647, 664 y 750 nm. La cubeta utilizada tenía un marco de lectura entre 0.1 y 1 cm. Las longitudes de onda de 664, 647 y 630 nm fueron las utilizadas para determinar las concentraciones de clorofila *a*, *b* y *c*, respectivamente. Para evitar la turbidez se centrifugó durante 20 minutos a 1500 rpm (APHA *et al.*, 1989).

Las concentraciones de clorofila *a*, *b* y *c* del extracto se calcularon sustituyendo las longitudes de onda resultantes en las siguientes ecuaciones:

a) $C_a = 11.85 (664) - 1.54 (647) - 0.08 (630)$

b) $C_b = 21.03 (647) - 5.43 (664) - 2.66 (630)$

c) $C_c = 24.52 (630) - 7.60 (647) - 1.67 (664)$ donde:

C_a , C_b y C_c = concentraciones de clorofila *a*, *b* y *c* respectivamente, mg/m³ y

664, 647 y 630 nm = longitudes de onda (marco de lectura de la cubeta de 1 cm) (APHA *et al.*, 1989).

4.2.1.2 Método Fluorométrico

La determinación de clorofila *a* través del método fluorométrico se llevó a cabo con un equipo modelo 450 Sequoia-Turner Corp., equipado con una lámpara azul de alta intensidad F4T.5, un tubo fotomultiplicador R-446 (sensible al rojo) y filtros para la emisión de luz (P/N 45F01-32, SC665) y de excitación P/N 45F01, NB440, tal y como lo proponen *Yentsch y Menzel (1963)* y *Holm-Hansen et al., (1965)*. Para la calibración de los equipos se utilizó un estándar de clorofila *a* (Sigma, número de CAS 479-61-8).

La determinación de clorofila *a* en las muestras se realizó con la fórmula propuesta por *Holm-Hansen et al. (1965)*.

Clorofila *a* = $F_s (r/r-1) (R_a-R_d)$ donde:

F_s = Factor de conversión para los valores de sensibilidad fijados S .

R_a = Fluorescencia del extracto antes de la acidulación.

R_d = Fluorescencia del extracto después de la acidulación.

$r = R_a/R_d$ determinado solamente con clorofila *a* por el instrumento.

4.2.1.3 Índice de Margalef

Para la determinación de la diversidad pigmentaria a través del Índice de Margalef (*Ros, 1979*), se utilizó el mismo espectrofotómetro UV VIS 552A PERKIN-ELMER que para la determinaciones de las concentraciones de clorofila *a*, *b* y *c*. El procedimiento realizado es el propuesto por *APHA et al. (1989)*, que consistió en transferir 3 ml del extracto a una cubeta de 1 cm y luego se leyó a una longitud de onda de 430 nm y 665 nm, utilizando la siguiente fórmula:

Índice de Margalef = lectura a 430/lectura a 665.

Las longitudes de onda de 430 nm y 665 nm proporcionan una relación entre una zona del espectro en las que se absorben todos los pigmentos y aquella en que únicamente absorbe la clorofila. Este índice varía de acuerdo con la composición taxonómica y el estado fisiológico de la población (*Ros, 1979*).

4.2.2 Desarrollo para determinación de DMS

Dada las concentraciones bajas presentes en las muestras fue necesario un tratamiento de preconcentración de éstas mediante purga y trampa con la finalidad de enriquecer el compuesto de interés.

4.2.2.1 Preparación de la muestra

Las muestras se mantuvieron en un baño María modelo 12 P HAAKE con termostato modelo D8 a 25 °C durante dos horas, posteriormente cada una de las muestras fueron inyectadas al equipo de purga y trampa.

4.2.2.2 Procedimiento analítico

Curvas de calibración

Dos fuentes fueron ensayadas; DMS (gas) (marca ALDRICH, al 98 % peso atómico de 62.13 g/mol, densidad de 0.846 g/ml y punto de ebullición de 38 °C) y el DMSP (sal) comercial (*Research Plus Inc., USA*) (*Challenger, 1959*). Se decidió trabajar con dos estándares de acuerdo al tipo de tratamiento utilizado en las muestras. A continuación se describe el procedimiento para transformar el propionato de dimetilsulfuro a sulfuro de dimetilo.

Hidrólisis de propionato de dimetilsulfonio (DMSP)

Se pesó 20 mg de propionato de dimetilsulfonio (DMSP) y se disolvió en 50 mL de agua destilada. Aunque la solución es estable químicamente a pH neutro, la contaminación por bacterias puede ocurrir por una descomposición (*Dacey y Blough, 1987*). Por lo tanto, fue necesario filtrar la solución utilizando un filtro de 0.22 µm y un sistema de filtración Millipore conectado a una bomba de vacío. Posteriormente a partir de ésta solución, se prepararon cinco concentraciones diferentes, utilizando agua destilada y al final a cada uno de los viales se le adicionó 1 mL de KOH 5 M (*Turner y Malin, 1990*); los viales se sellaron con un casco de aluminio y una septa de teflón. Se prepararon tres curvas de calibración realizadas en diferentes días y el intervalo de concentración fue de 3 a 88 nM/L.

Sulfuro de dimetilo (DMS)

Del estándar DMS se tomó un volumen de 50 μL y se aforó a un volumen de 1000 μL , a partir de ésta solución, se prepararon cinco concentraciones diferentes; los viales se sellaron con un casco de aluminio y una septa de teflón. Se prepararon tres curvas de calibración que fueron analizadas en diferentes días; el intervalo de concentración fue de 8 a 40 nM/L.

Cromatógrafo de Gases-Purga y Trampa-FID

El sistema analítico consistió de un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 6890N con un detector de ionización de llama (FID) y la columna utilizada fue Chromosil 330 (8ft x 1/8in Teflón) se trabajó isotérmicamente a 40 °C. En el equipo de cromatografía de gases se instaló un equipo de purga y trampa; ambos tenían intercomunicación a través del puerto de inyección, mediante una línea de transferencia. En la Figura 13 se muestra, el equipo de CG acoplado con el equipo de purga y trampa.

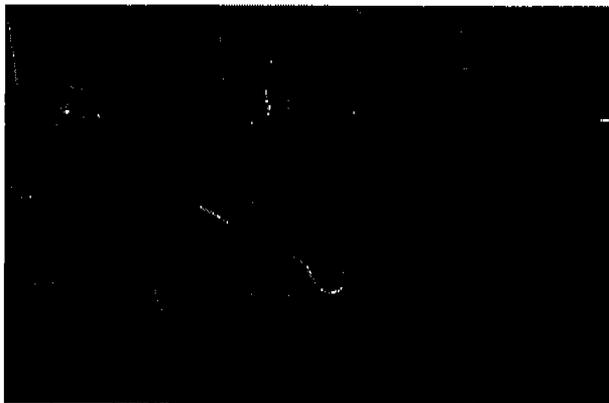


FIGURA 13. Equipo de CG acoplado al concentrador purga y trampa Tekmar 3000.

A continuación en la Tabla IX se describen las condiciones cromatográficas del equipo de cromatografía de gases y las condiciones del equipo de purga y trampa.

Tabla IX. Condiciones de CG y purga y trampa para el análisis de DMS.

Parámetros CG	
Columna:	Chromosil 330
Gas acarreador (Helio):	22 mL/minuto
Inyección:	Purga y trampa
Temperatura del detector:	250 °C
Temperatura del inyector:	150 °C
Temperatura de la columna:	40 °C (Isotérmico)
Detector:	Ionización de llama
Parámetros purga y trampa (USEPA Método 524.2, 601 y 602)	
Trampa:	Vocarb 3000
Temperatura de purga:	30 °C
Temperatura de precalentamiento desadsorción:	220 °C
Temperatura de desadsorción:	225 °C
Temperatura de horneado:	225 °C
Tiempo de purga:	11 minutos
Tiempo de desadsorción:	4 minutos
Tiempo de horneado:	10 minutos

Uno de los problemas analíticos es la transferencia de agua a la columna cromatográfica (USEPA Método 542.2). Esta transferencia de agua ocasiona ensanchamiento de los picos y deterioro de la columna. Por tal motivo, seleccionamos la trampa vocarb 3000 por poseer adsorbentes hidrofóbicos, que evitan el exceso de agua y reducen el tiempo de purga necesario para remover la humedad y es utilizada para atrapar compuestos volátiles, como el sulfuro de dimetilo.

Para la evaluación de la trampa vocarb 3000 se utilizó la función de recobro por la aplicación de rectas de regresión (Funk, 1995). Se prepararon tres curvas de calibración del estándar DMS (gas) que fueron analizados en días diferentes y el intervalo de concentración fue de 10 a 50 ng de DMS.

En cuanto a la evaluación del método analítico los parámetros fueron los siguientes:

Linealidad: Esta se determinó mediante la construcción de una curva estándar de concentración (x) en función de la área del pico (y). Se utilizaron cinco concentraciones diferentes y se prepararon tres curvas de calibración realizadas en diferentes días; el intervalo de concentración fue de 8 a 40 nM/L para el DMS (gas) y de 3 a 88 nM/L para

el DMSP-DMS (hidrólisis de DMSP). Con los datos obtenidos se calcularon el coeficiente de correlación r^2 y el coeficiente de variación debido a la regresión lineal (Funk, 1995).

Precisión: Se realizó mediante el análisis por septuplicado de una concentración del estándar de sulfuro de dimetilo (40 nM/L). Con los datos obtenidos se calculó el coeficiente de variación (CV en por ciento).

Límite de detección: Se realizó mediante el análisis por septuplicado del estándar de sulfuro de dimetilo de la concentración más baja (2 ng de DMS) de la curva de calibración (Federal Register/vol. 68, No. 48/Wednesday, March 12, 2003/Proposed Rules).

Cromatógrafo de Gases-Espectrómetro de Masas

Se utilizó para la identificación del DMS un cromatógrafo de gases CG-Finnigan 9001 acoplado a un espectrómetro de masas modelo SM-Finnigan mat GCQ. Las condiciones del equipo de cromatografía fueron las siguientes: se utilizó una columna capilar Megaboro (metilsilicona 100%) de 0.53 mm de diámetro interno, 3 micras de película, 60 m de largo y el volumen de inyección fue 200 μ L (Kolb, 1999), la temperatura de la columna fue 40 °C en condiciones isotérmicas, la temperatura del inyector fue 100 °C, el gas acarreador utilizado fue el helio con un flujo de 3 mL/min. Previo al análisis con el equipo, las muestras se mantuvieron térmicamente en un baño María modelo 12 P HAAKE con termostato modelo HAAKE D8 a 25 °C durante dos horas.

5. RESULTADOS

De la segunda campaña que se llevo a cabo del 10 al 21 de julio de 2001 se tomaron los siguientes resultados. En la tabla X se muestran los parámetros fisicoquímicos de cada sitio de muestro.

Se realizó el muestreo a tres diferentes profundidades 10, 30 y 60 metros porque los organismos productores de sulfuro de dimetilo se encuentran distribuidos en la capa de mezcla y la fotólisis de DMS ocurre aproximadamente a 60 m de profundidad.

TABLA X. Valores promedio de los parámetros fisicoquímicos de cada sitio de muestreo.

Sitio	Latitud	Longitud	Profundidad (m)	Temperatura (°C)	Salinidad (o/oo)
A	14°00'	99°59'	10	29.0255	34.2244
			30	28.8540	34.3033
			60	22.8918	34.6200
B	11°59'	99°59'	10	28.9481	34.1321
			30	28.9509	34.1309
			60	27.9926	34.2992
C	10°00'	100°00'	10	28.8099	33.7551
			30	28.9054	34.0946
			60	18.9842	34.5409
D	10°00'	97°30'	10	28.3970	33.8576
			30	25.5404	34.3805
			60	14.9719	34.8045
E	10°00'	95°00'	10	28.1170	33.8594
			30	20.1159	34.5889
			60	14.0705	34.8485
F	11°59'	95°00'	10	29.2197	33.9576
			30	28.8903	34.0808
			60	18.9542	34.5571
G	14°00'	94°59'	10	29.5636	34.6120
			30	20.8170	34.5445
			60	14.8508	34.8165
H	14°00'	97°30'	10	29.2740	34.1757
			30	29.1998	34.1781
			60	27.4469	34.2760
I	13°58'	100°04'	10	29.1118	34.0037
			30	29.0458	34.0058
			60	24.6890	34.3248
J	14°00'	97°30'	10	29.5637	34.1658
			30	29.3935	34.1655
			60	27.7923	34.2638
K	13°58'	96°12'	10	29.3862	34.0590
			30	29.0396	34.1563
			60	27.4209	34.2660

La distribución de la temperatura en los diferentes sitios del área de muestreo tuvo promedios de 29.0379 ± 0.4568 a 10 metros, 27.1593 ± 3.4760 a 30 metros y 21.8241 ± 5.6387 a 60 metros. Como se puede observar en la figura 14, a una profundidad de 10 metros la temperatura se mantiene constante entre cada una de las estaciones de muestro, mientras que a 30 y 60 metros la temperatura es variable en todas las estaciones.

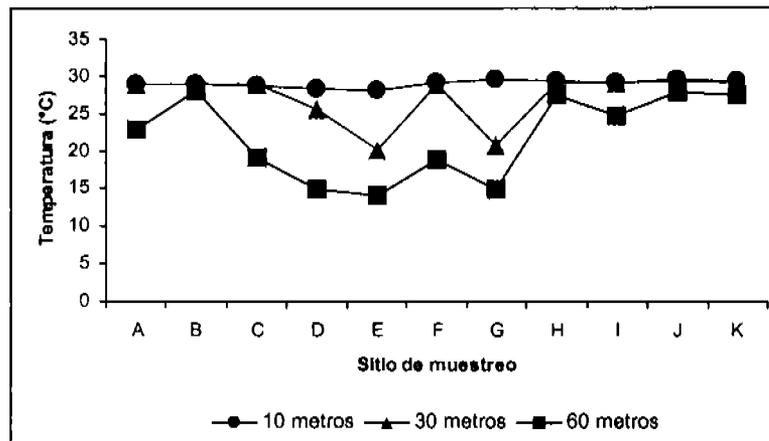


FIGURA 14. Valores promedio de temperatura (°C) por sitio de muestreo desde 10 hasta 60 metros, julio 2001.

La salinidad en las diferentes sitios del área de muestreo tuvo promedios de 34.0730 ± 0.2339 a 10 metros, 34.2390 ± 0.1917 a 30 metros y 34.5107 ± 0.2375 a 60 metros. Como se observa en la figura 15 la salinidad se encuentra entre los valores de 33.7 y 34.8 o/oo.

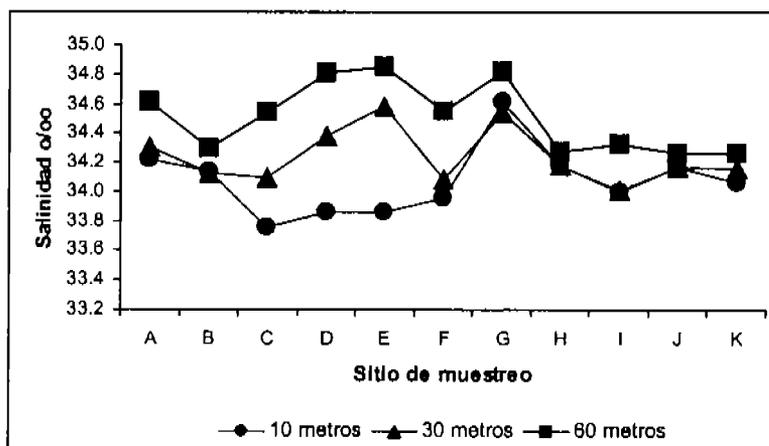


FIGURA 15. Valores promedio de salinidad (o/oo) por sitio de muestreo desde 10 hasta 60 metros, julio 2001.

TABLA XI. Determinación de las concentraciones de DMSP y DMS por cromatografía de gases-purga y trampa-FID.

Sitio	Profundidad (m)	DMSPp filtro (nM/L)	DMSPd (nM/L)	DMS (nM/L)
A	10	P	5.71	3.51
	30	9.60	7.60	P
	60	P	< LD	P
B	sup	P	3.31	P
	10	P	< LD	P
	30	ND	4.71	< LD
C	60	P	4.03	ND
	10	P	6.78	4.09
	30	P	3.90	ND
D	60	ND	ND	ND
	10	6.64	P	9.52
	30	P	4.69	P
E	60	ND	ND	< LD
	10	4.82	P	< LD
	30	99.05	P	< LD
F	60	ND	< LD	< LD
	10	20.46	ND	< LD
	30	45.26	ND	ND
G	60	ND	< LD	< LD
	10	78.26	P	< LD
	30	P	P	P
H	60	39.30	< LD	< LD
	10	38.82	< LD	< LD
	30	P	P	< LD
I	60	9.04	ND	< LD
	10	128.10	P	< LD
	30	P	7.70	< LD
J	60	9.53	P	P
	sup	178.77	P	P
	10	189.01	< LD	P
K	30	28.48	< LD	71.14
	60	138.67	ND	ND
	10	P	P	P
K	30	P	7.05	< LD
	60	132.54	P	P

P = Muestra no analizadas por perdida.

En la tabla XI se presentan los resultados de las concentraciones de DMS y DMSP (DMSPp y DMSPd) analizadas por cromatografía de gases-purga y trampa-FID donde se destaca mayores concentraciones de DMSPp en un intervalo que va desde 4.82 nM/L hasta 189.01 nM/L; la eficiencia de su transformación a DMS es afectada directa o indirectamente por la radiación ultravioleta.

A continuación se muestran los resultados de la evaluación de la trampa vocarb 3000 mediante la función de recobro. En la tabla XII se presentan los promedios de áreas de la curva de calibración de DMS (gas) analizada por cromatografía de gases-purga y trampa-FID. En la figura 16 se muestra la comparación de los métodos.

TABLA XII. Promedio de las áreas contra estándar de DMS en el equipo de cromatografía de gases-purga y trampa.

Masa (ng)	Áreas promedio (inyección directa)	Áreas promedio (purga y trampa)
10	28.45	30.70
20	54.95	50.30
30	73.30	57.15
40	98.25	74.10
50	100.2	77.25

n = 3

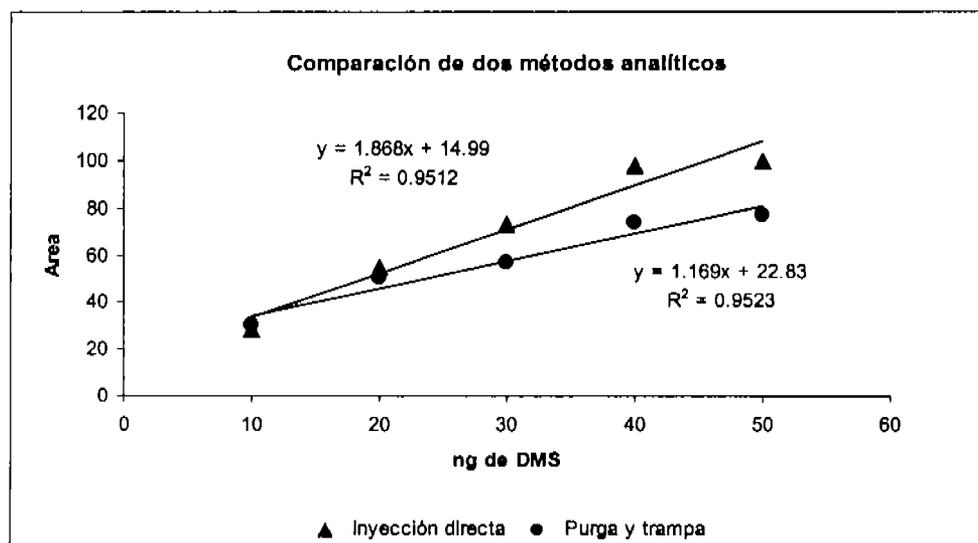


FIGURA 16. Comparación de dos métodos analíticos área contra masa (ng) de DMS (gas) preparadas en agua destilada (los triángulos indica la curva por inyección directa y los círculos por purga y trampa). Columna Chromosil 330, detector ionización de llama (FID).

En la figura 17 se representa la masa encontrada contra masa recuperada al utilizar la ecuación de una recta para la obtención del porcentaje de recobro de la trampa vocarb 3000.

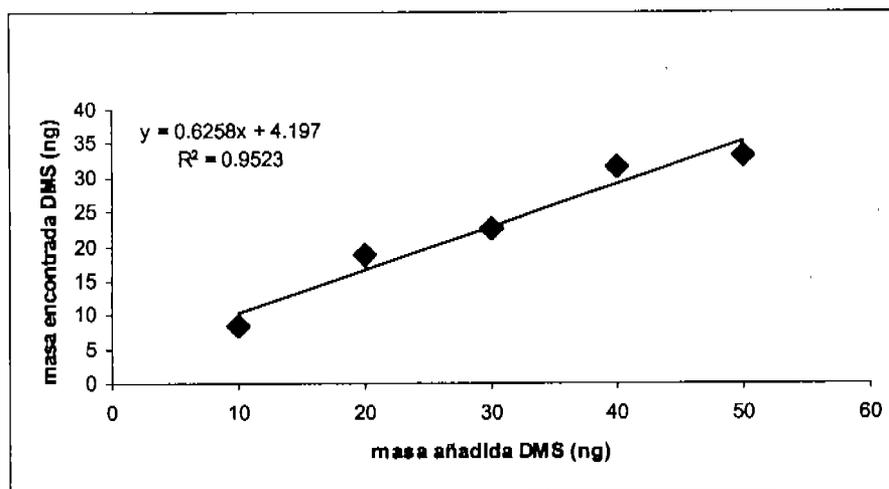


FIGURA 17. Curvas de calibración masa encontrada DMS (ng) contra masa añadida del método de purga y trampa preparada con agua destilada; se obtuvo un recobro de 62.58 % con CV de 12.92 % y linealidad de $R^2 = 0.9523$. Columna Chromosil 330, detector ionización de llama.

A continuación se muestran en las figuras 18 y 19 las gráficas de las curvas de calibración de DMS (gas) y DMSP-DMS.

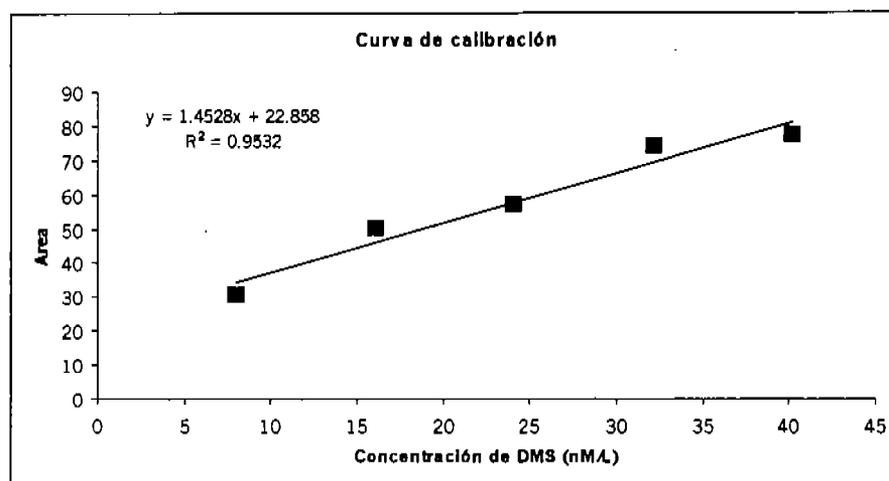


FIGURA 18. Curva de calibración de los estándares de DMS preparadas con agua destilada; con CV debido a la regresión lineal de 13.5 % y con coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9532$. Columna Chromosil 330, detector ionización de llama.

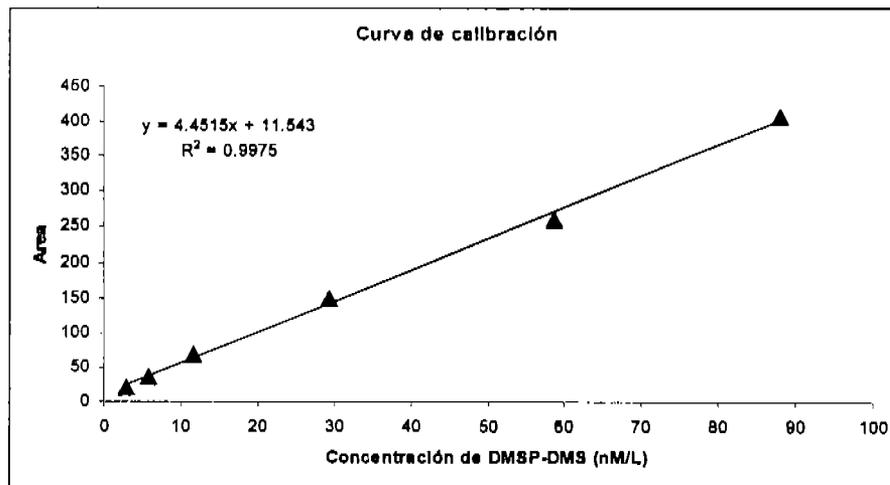


FIGURA 19. Curva de calibración de la hidrólisis de DMSP (sal) a DMS (gas) con KOH 5 N preparadas con agua destilada; con CV debido a la regresión lineal de 5.8 % y con coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9975$. Columna Chromosil 330, detector ionización de llama.

La precisión del método fue de 5.3 % y el límite de detección de 2.79 nM.

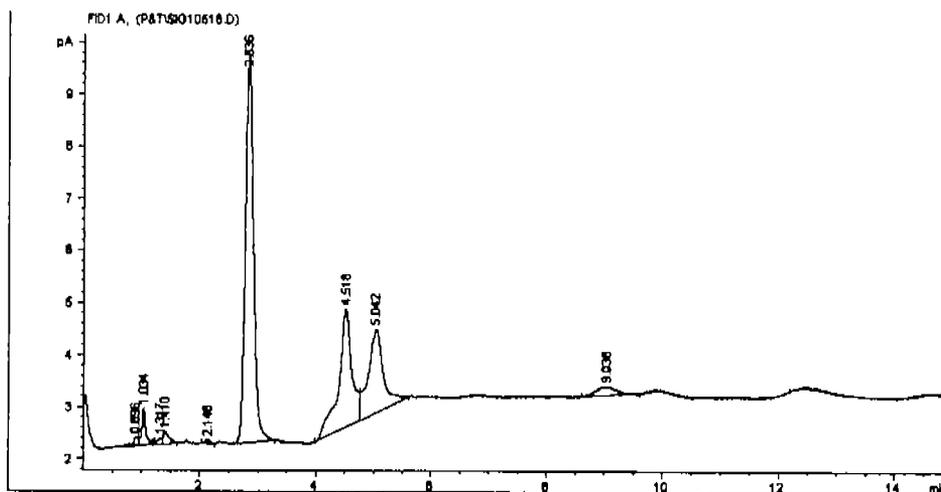


FIGURA 20. Cromatograma de sulfuro de dimetilo.

En la figura 20 se muestra el cromatograma del compuesto sulfuro de dimetilo donde se aprecia el pico de DMS con un tiempo de retención de 2.8 minutos, el detector utilizado fue ionización de llama.

En la figura 21 se muestra el histograma de los iones característicos de DMS; lo cual nos permitió identificar al compuesto.

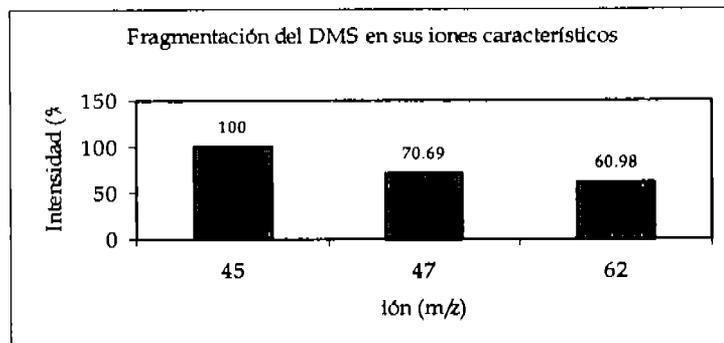


FIGURA 21. Histograma de los iones característicos de DMS.

En la tabla XIII se presentan los resultados de la determinación de clorofila *a*, la determinación de clorofila *a*, *b* y *c* y la determinación del índice de diversidad pigmentaria.

Los niveles altos de clorofila *a* ($> 1\mu\text{g/L}$) fueron observados en el sitio de muestreo G a 10 m ($1.89\mu\text{g/L}$) y 30 m de profundidad ($1.00\mu\text{g/L}$); lo cual es indicador de la cantidad de fitoplancton, sin embargo, a pesar de que existe una amplia variedad de algas que producen DMSP, no todas se consideran productoras potenciales. La determinación de las clorofilas *a*, *b* y *c* nos indica la proporción de degradación que existe de los pigmentos.

El índice de diversidad pigmentaria nos permite conocer la integridad de las células del fitoplancton, que es condición importante para que se libere el propionato de dimetilsulfonio.

TABLA XIII. Determinación de clorofilas e índice de diversidad pigmentaria por cada sitio de muestreo.

Sitio de muestro	Profundidad (m)	Clorofila a ($\mu\text{g/L}$)	Clorofila a ($\mu\text{g/L}$)	Clorofila b ($\mu\text{g/L}$)	Clorofila c ($\mu\text{g/L}$)	Índice de diversidad pigmentaria ($\mu\text{g/L}$)
		Fluorómetro	Espectrofotómetro			
A	sup	P	P	P	P	P
	10	P	P	P	P	P
	30	0.244	0.433	0.509	0.582	1.190
	60	0.320	0.661	0.757	0.884	1.359
B	sup	P	P	P	P	P
	10	0.447	0.410	0.457	0.985	1.850
	30	0.339	0.436	0.473	0.548	1.190
	60	0.508	2.115	2.536	2.344	1.059
C	sup	0.488	0.517	0.597	0.663	1.200
	10	0.549	0.187	0.298	0.554	2.895
	30	0.305	0.389	0.500	0.506	1.395
	60	0.137	0.174	0.322	0.572	2.722
D	sup	0.793	0.557	0.526	0.607	1.434
	10	0.412	0.441	0.643	0.927	1.705
	30	P	P	P	P	P
	60	P	P	P	P	P
E	sup	0.442	0.666	0.576	0.741	1.672
	10	0.442	0.443	0.624	0.910	1.909
	30	0.887	0.722	0.586	0.766	1.882
	60	0.030	0.381	0.539	0.892	1.737
F	sup	0.222	0.460	0.585	0.662	1.222
	10	0.213	0.383	0.424	0.513	1.184
	30	0.716	0.223	0.276	0.598	2.818
	60	0.381	0.418	0.659	0.882	1.286
G	sup	0.772	0.516	0.573	0.883	2.180
	10	1.890	0.597	0.551	0.913	2.069
	30	1.003	0.856	0.618	0.782	2.025
	60	-0.008	0.486	0.556	0.641	1.681
H	sup	0.541	0.491	0.608	0.855	2.000
	10	P	P	P	P	P
	30	P	P	P	P	P
	60	0.556	0.460	0.572	0.784	2.044
I	sup	0.193	P	P	P	P
	10	0.168	0.471	0.601	0.652	1.348
	30	0.252	0.543	0.544	0.675	1.189
	60	0.404	0.661	0.637	0.743	1.460
J	sup	P	P	P	P	P
	10	0.480	0.501	0.519	0.557	1.688
	30	P	P	P	P	P
	60	0.165	0.498	0.553	0.615	1.563
K	sup	P	P	P	P	P
	10	0.640	P	P	P	P
	30	0.579	0.632	0.582	0.655	2.180
	60	0.602	0.586	0.588	0.621	1.875

P = Muestra no analizadas por perdida.

Nota: En los anexos 1, 2 y 3 se muestran las gráficas de estos resultados.

6. DISCUSIÓN

La realización de una campaña piloto en el mes de mayo permitió conocer el área de muestreo; así como obtener muestras preliminares para desarrollar y evaluar un método analítico para la determinación de propionato de dimetilsulfonio y sulfuro de dimetilo en el Pacífico Mexicano. Los únicos datos publicados sobre el área corresponden al estudio realizado por *Bates y Quinn (1997)* en 11 cruceros a lo largo del océano Pacífico Ecuatorial (20 °N a 20 °S), entre los años 1982 y 1996. En este estudio sólo reportan dos datos de muestras tomadas en el área del Pacífico Mexicano una en 1983 y otra en 1989, ambas a la altura de Manzanillo, Colima. Ellos concluyen que la zona tropical en su conjunto presenta emisiones relativamente altas y que no varían durante todo el año, en particular observaron que la concentración de DMS se mantenía relativamente constante regional e interanualmente en la superficie del mar (2.7 ± 0.7 nM). Aunque notaron que existía una variación en las concentraciones de DMS dependiendo de la latitud.

En este trabajo las concentraciones encontradas de DMS libre van de 3.51 a 9.52 nM/L a 10 m de profundidad. Sin embargo, se obtuvo una concentración muy alta (71.14 nM/L) en la estación *J* a 30 m de profundidad, en una muestra matutina (8:30 am). Cabe mencionar que esta es la estación que presentó la mayor profundidad de la capa de mezcla, con una termoclina alrededor de los 70 m. Al igual que en la estación *J*, en la estación *D* se encontró mayor concentración de DMS libre que de DMSP particulado (9.52 contra 6.64 nM/L) sólo que a 10 m de profundidad con una capa de mezcla de alrededor de 30 m. Estos datos coinciden en lo general con lo expuesto por *Simó y Alió (1999)* sobre la correlación entre la profundidad de la capa de mezcla, la estacionalidad (verano) y la concentración de DMS en la columna de agua.

La zona de trabajo tiene la particularidad de presentar una temperatura superficial del agua de mar mayor a 28 °C y en los casos mencionados una concentración de clorofila

relativamente baja, contrastando con la alta producción de DMS. Esto concuerda con lo encontrado por *Simó y Alió (1999)* y más cercanamente con *Kieber y Jiao (1996)* que realizaron estudios en latitudes ecuatoriales con altas irradiancias, como es el caso de la Alberca Caliente del Pacífico Este.

La mayor base de datos a nivel global sobre DMS y DMSP disuelto y DMSP particulado, recopilados de diferentes estudios abarca 15,617 mediciones (*Kettle et al., 1999*) pero no se reportan datos directamente del Pacífico Mexicano, aunque las altas concentraciones encontradas en nuestro trabajo, coinciden con lo esperado por la localización latitudinal del área de estudio.

Leck y col. (1990) concluyeron que la eliminación de DMS en la columna de agua del mar Báltico generalmente es dominado por el intercambio aire-mar. Los pocos resultados obtenidos de DMS libre se atribuye a su alta volatilidad y que existe un activo intercambio entre el océano y la atmósfera. Una vez que es producido el DMS en la capa de mezcla este puede ser removido por diversos mecanismos como: metabolismo, oxidación fotoquímica, advección, difusión e intercambio con la atmósfera. De estas posibilidades solo el intercambio atmosférico y la eliminación biológica están bien caracterizados. Existen evidencias que la oxidación fotoquímica de DMS a DMSO es un factor de eliminación significativa de DMS (*Blimblecombe y Shooter, 1986*).

Además, existen otros destinos alternativos de DMSP que no involucran la producción de DMS como la desmetilación y remetilación propuestas por *Mopper y Taylor (1986)*. Este tipo de reacciones puede estar presente en nuestro estudio si comparamos las altas cantidades de DMSP particulado encontrado en relación con el DMSP disuelto y el DMS libre, lo que indicaría que a pesar de estar presente el precursor no implica una mayor producción de DMS.

Diversos autores han descrito el hecho de que ciertas comunidades fitoplanctónicas producen y acumulan DMSP intracelular en grandes cantidades y que la concentración es controlada fisiológica y ambientalmente (Keller y Bellows-Korjeff, 1996; Steinke et al., 1996; Simó y Alió, 1999). En nuestros resultados podemos observar una concentración alta de DMSP particulado en muestras superficiales (0-10 m), lo que aunado a la elevada incidencia de radiación solar podría ser indicadora de una fotoinhibición de la actividad bacteriana responsable de su transformación a DMS, como lo describen Simó y Alió (1999).

La relación entre la biomasa fotosintética y las concentraciones de DMSP y DMS han sido motivo de controversia entre algunos autores. Kwint y Kramer (1996) afirman que no existe una correlación directa entre la cantidad de fitoplancton y la producción de DMS. Sin embargo los trabajos de Nguyen et al. (1988) y Stefel y van Boekel (1993) presentan una relación entre florecimientos algales y concentración posterior de DMS. Esto tendría una relación inversa desfasada en el sentido en que en el momento en que la máxima producción de fitoplancton entra en etapa de senescencia y disminuye, entonces aumenta el DMSP disuelto y el DMS libre. Gibson et al. (1990), Kirst et al. (1992) y Liss et al. (1992) encuentran una correlación significativa entre la concentración de DMS y la biomasa de algas específicas (*Emiliana huxleyi* y *Phaeocistis* sp).

La falta de correlación entre clorofila y DMS también ha sido atribuida al pequeño tamaño de las células de cocolitofóridos y dinoflagelados que son los mayores productores de DMSP (Keller et al., 1989; Wakeham y Dacey, 1989; Belviso et al., 1990) en comparación con las diatomeas que tienen células grandes y con mayor concentración de clorofila pero muy bajo DMSP (Liss et al., 1992).

En los resultados se muestran ambas situaciones. Por una parte, en los sitios E, F (30 m) y G (10 m) una mayor concentración de clorofila *a* se corresponde a una mayor concentración de DMSP particulado. El análisis de la composición pigmentaria (proporciones de

clorofilas *a*, *b* y *c*) indicaría diferentes comunidades de fitoplancton en las diferentes profundidades, coincidiendo las de mayor concentración de DMSP particulado con altos índices pigmentarios. En cambio en los sitios, *G* (60 m), *I* (10 m) y *J* (60 m) las mayores concentraciones de DMSP particulado corresponden a concentraciones bajas de clorofila y a menores valores de índices pigmentarios, lo que nos sugeriría poblaciones planctónicas menos diversas. Al analizar los resultados de DMSP disuelto con respecto al índice de diversidad pigmentaria es posible detectar al menos 2 estaciones (*C* 10 m y *K* 30 m) en donde se encontró DMSP disuelto que correspondería a poblaciones senescentes o alteradas, lo que permite considerar que esa condición permitió la liberación de DMSP hacia fuera de las células.

Muestreo y almacenamiento

Una parte muy importante de este estudio fue el desarrollo de las técnicas de muestreo y de análisis; empleamos el método indirecto para determinar DMSP a través de DMS, utilizando dos técnicas de muestreo en el estudio: concentrado celular (DMSP_p ó intracelular) y por agua filtrada (DMSP_d ó extracelular). *Simó (1998)*, recomienda filtrar poco volumen de agua de mar (5-50 mL), porque una densidad de células ocasionaría que éstas se rompan y se libere DMSP al exterior. *Bates et al. (1994)* apoya esta recomendación mencionando que la dificultad en la determinación de DMSP (DMSP_p y DMSP_a) depende de la presión de filtración. *Kiene (1994)* recomienda filtrar de 20-50 mL de agua y *Cantin (1996)* prefiere filtrar 60 mL para la determinación de DMSP. En este trabajo decidimos filtrar de 2 a 4 litros para asegurar un tamaño de muestra mayor que fuera detectable por el FID, lo cual representó una ventaja sólo en el caso del DMSP particulado, si bien se tuvo cuidado en que la filtración fuera lenta. Además al no trabajar bajo condiciones criogénicas se requería mayor volumen filtrado. Bajo condiciones criogénicas [-150°C-(-190°C)] diversos autores (*Brettell y Grob 198; Hatton et al., 1994; Simó et al., 1993; Leck et al., 1988 y Carol y Kramer, (1989)*) consideran que es suficiente filtrar un volumen de 50-100 ml para la determinación de DMS.

Autores como *Munawar et al. (1982)* y *Burgermeister et al. (1990)* critican la filtración con filtros de fibra de vidrio, procedimiento propuesto por *Strickland y Parsons (1968)* y utilizado por numerosos autores hasta la fecha. Ellos consideran que los valores pueden ser modificados y este tipo de errores suelen ser muy importantes cuando se trata de aguas oligotróficas, que contienen células de la misma especie más pequeñas, que las muestras tomadas de áreas ricas en nutrientes. En este caso también fue una ventaja en nuestro estudio el mayor volumen de filtrado (2 litros) pues permitió una mayor retención y posibilidades de capturar células dispersas.

Dado que el almacenamiento y el manejo de las muestras influye en las concentraciones de DMS que se obtengan, en este estudio las almacenamos a temperatura constante de 4 °C y protegidas de cambios en los niveles de luz para prevenir la formación fotoquímica de sulfóxido de dimetilo (DMSO), siguiendo las recomendaciones de varios autores. En el estudio piloto encontramos que era mejor mantener las muestras en refrigeración y no en congelación porque al congelarse el agua y después descongelarse se pierde DMS; en un estudio que realizó *Simó (1998)* menciona que 50 % de DMS presente podría perderse durante el almacenamiento y/o manejo de muestras. Además observamos que la mejor forma de evitar pérdida de DMS es minimizando el aire del vial, sellándolo sin dejar espacio entre el líquido y la cabeza.

Nriagu y Holdway (1989) sugieren que la estabilidad de DMS en agua de mar es corta, no más de 48 horas. Las muestras de propionato de dimetilsulfonio (DMSPd y DMSPp) pueden ser almacenadas en hidróxido de sodio o potasio (NaOH ó KOH) $\text{pH} \geq 13$ en la oscuridad por semanas y meses (*Townsend y Keller, 1996*). En nuestro estudio observamos una mayor estabilidad en muestras de DMSP particulado (meses), menor en DMS y DMSP disuelto. Sin embargo las muestras con viales llenos y bien cerradas de los tres tipos tuvieron una conservación mayor a la reportada por otros autores.

Curvas de calibración y análisis de DMS

La preparación de los estándares se llevó a cabo con agua destilada, algunos de los autores utilizan etilenglicol como disolvente, sin embargo, de acuerdo con un estudio realizado por Deprez y col. (1986) el etilenglicol causa interferencias, generando picos muy largos y amplios que enmascaran la respuesta de azufre.

En este estudio se confirmó que con el uso de la columna empacada Chromosil 330, se logra una buena resolución del compuesto en un tiempo corto de 2.8 minutos bajo condiciones isotérmicas. Fue de gran utilidad la preconcentración a través del equipo de purga y trampa para la determinación del sulfuro de dimetilo y propionato de dimetilsulfonio además mediante el equipo de cromatografía de gases-espectrometría de masas nos permitió confirmar la presencia del sulfuro de dimetilo (DMS) de acuerdo a sus iones característicos del compuesto (ión 45, 100%; ión 47, 70.69% y ión 62, 60.98%).

De acuerdo al método desarrollado el recobro de la trampa vocarb 3000 fue de 62.58% con CV de 12.92% y la linealidad de $R^2 = 0.9523$, lo que nos sugiere que la trampa vocarb 3000 no tiene una buena eficacia para éste tipo de compuesto a pesar de que se utiliza para compuestos orgánicos volátiles.

Respecto a la precisión del método fue de 5.3% y con linealidad de $R^2 = 0.9532$ esto puede ser debido al tipo de proceso utilizado, es decir, purga y trampa que es una técnica de preconcentración que implica varios pasos previos antes de la detección del compuesto además de ser el sulfuro de dimetilo un compuesto muy volátil que nos ocasiona problemas para su manejo y análisis. Tomando en cuenta que el FID es un detector universal con respuesta lineal y de amplio uso en laboratorios de cromatografía de gases, es una contribución de este trabajo el haber establecido estas condiciones y resultados pues no se encuentra en la literatura ningún reporte al respecto.

7. CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de DMSP particulado encontradas en el área de estudio durante el mes de julio de 2001 fluctuaron entre 6.64 y 189.01 nM/L y los de DMS libre entre 3.51 a 71.14 nM/L. Estos valores son mayores a los reportados para zonas similares en otras partes del mundo y son los primeros que se reportan de la Alberca Caliente del Pacífico Mexicano.
2. Los valores encontrados para concentraciones de DMSP disuelto son menores a lo esperado de acuerdo con los valores de DMSP particulado, lo cual indicaría un rápido proceso de transformación al estar fuera de las células.
3. Un volumen mayor de filtrado permitió mejor detección del DMSP particulado al no ser el FID un detector selectivo para el compuesto. Sin embargo la utilización de volúmenes menores (< 500 ml) está recomendado en el caso de utilizar un detector selectivo como el FPD.
4. Para estimar las concentraciones de sulfuro de dimetilo y propionato de dimetilsulfonio es indispensable realizar una técnica de preconcentración debido a que las concentraciones de estos compuestos en el mar, se encuentran a nivel vestigial.
5. El método de cromatografía de gases-FID es lineal y preciso. La ventaja de establecer las condiciones específicas para determinar los compuestos estudiados radica en la mayor disponibilidad de este tipo de detector en laboratorios generales de cromatografía de gases.
6. Se requieren más estudios en distintas épocas del año en esta zona y con métodos complementarios dado que los resultados de este trabajo indican claramente la gran potencialidad de contribución a la concentración de este aerosol biogénico en la atmósfera marina, dadas las concentraciones del precursor (DMSP) de sulfuro de dimetilo encontradas.

8. REFERENCIAS

- Ackman R.G., Tocher C. y McLachlan J. (1966). *Ocurrence of dimethyl-b-propiothetin in marine phytoplankton*. J. Fish. Res. Bd. Can. 23, 357-364.
- American Public Health Association (APHA), American Water Work Association y Water Pollution Control Federation (1989). *Standard methods; for the examination of water and wastewater*. Washington D.C., Clesceri L.S, Greenbeerg A.E, Trussell R.R.
- Anderson J.W. (1980). *Assimilation of inorganic sulfate into cysteine*. The Biochemistry of Plants. (Stumpf P.K. y Conn E.E, eds.), Academic Press, New York 5, 203-223.
- Andreae M.O. y Barnard W.R. (1983). *Determination of trace quantities of dimethyl sulfide in aqueous solutions*. Anal. Chem. 55, 608-612.
- Andreae M.O. y Barnard W.R. (1984). *The marine chemistry of dimethylsulfide*. Mar. Chem. 14, 267-279.
- Andreae M.O. y Barnard W.R. (1985). *Dimethylsulfide in the water column and the sediment pore waters of the Peru upwelling areas*. Limnol. Oceanogr. 30,1208-1218.
- Andreae M.O. (1986). *The ocean as a source of atmospheric sulfur compound. The role of airsea exchange in geochemical cycling*. Ed. Reidel., Dordrecht, Buat-Menard P, 331-362.
- Andreae M.O. y Andreae T.W. (1988). *The cycle of biogenic sulfur compounds over the Amazon Basin*. I. Dry season. J. Geophys. Res. 93, 1487-1497.
- Andreae M.O. (1990). *Ocean-atmosphere interactions in the global biogeochemical sulfur cycle*. Mar. Chem. 30, 1-29.
- Ayers G.P., Ivey J.P., et al. (1986). *Sulfate and methanesulfonate in the maritime aerosol at cape grim, Tasmania*. J. Atmos. Chem. 4, 173-185.
- Barnes I., Becker K.H., et al. (1987). *FTIR study of the S/NO₂/I₂/N₂ photolysis system: the reaction of IO radicals with DMS*. Int J. Chem. Kinetic 19, 489-501.
- Barnard W. R., Andreae M.O., et al. (1982). *The flux of dimethyl sulfide from the oceans to the atmosphere*. J. Geophys. Res. 87, 8787-87-93.
- Barnard W. R., Andreae M.O., e Iverson R.L. (1984). *Dimethylsulfide and Phaeocystis pouchetti in the southeastern Bering sea*. Cont. Shelf Res. 3,103-113.
- Bates T.S. y Cline J. D. (1985). *The role of the ocean in the regional sulfur cycle..* J. Geophys. Res. 90, 9168-9172.
- Bates T.S., Cline J. D. Gammon R. H. y Kelly-Hansen S. R. (1987). *Regional and seasonal variations in the flux of oceanic dimethylsulfide to the atmosphere*. J. Geophys. Res. 92, 2930-2938.
- Bates T.S., Lamb B.K. et al. (1992). *Sulfur emissions to the atmosphere from natural sources*. J. Atmos Chem. 14, 315-337.

- Bates T.S., Kiene R.P., et al. (1994). *The cycling of sulfur in surface seawater of the northeast Pacific*. J. Geophys. Res. 99, 7835-7843.
- Bates T.S. y Quinn. P.K. (1997). *Dimethylsulfide (DMS) in the equatorial Pacific Ocean (1982 to 1996): Evidence of a climate feedback?* Geophys. Res. Let. 24(No. 8), 861-864.
- Belviso S., Kim S.K., et al. (1990). *Production of dimethylsulfonium propionate (DMSP) and dimethylsulfide (DMS) by a microbial food web*. Limnol.Oceanogr. 35, 1810-1821.
- Belviso S., Buat-Menard P., et al. (1993). *Size distribution of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in areas of the tropical northeastern Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea*. Mar. Chem. 44, 55-71.
- Berresheim H. (1987). *Biogenic sulphur emissions from the sub-arctic and Antarctic Oceans*. J. Geophys. Res. 92, 13245-13262.
- Berresheim H., Andreae G.P., et al. (1990). *Airborne measurements of dimethylsulfide, sulfur dioxide, and aerosol ions the southern ocean south of australia*. J. Atmos. Chem. 10, 342-370.
- Blimblecombe P. y Shooter D. (1986). *Photo-oxidation of dimethylsulfide in aqueous solution*. Mar Chem. 19, 343-353.
- Bonsang B., Nguyen B.C. y Lambert G. (1987) *Comment on The residence time aerosols and SO₂ in the long-range transport over the ocean*. J. Atmos. Chem. 5, 367-369.
- Brettell T.A. y Grob R.L. (1986) Int. Lab. April, 30.
- Brown A.D. y Simpson J.R. (1972). *Water relations of sugar-tolerant yeast:role of intracellular polyols*. J. Gen. Microbiol. 72, 589-591.
- Burgermeister S., Zimmermann R.L., et al. (1990). *On the biogenic origin of dimethylsulfide: Relation between chlorophyll, ATP, Organismic DMSP, phytoplankton species, and DMS distribution in Atlantic surface water and atmosphere*. J. Geophys. Res. 95(No. D12), 20,607-20,615.
- Calvert J.G., Lazrus A.K., et al. (1985). *Chemical mechanism of acid generation in the troposphere*. Nature. 317: 27-35.
- Cantin G., Levasseur M., et al. (1996). *Role of zooplakton in the mesoscale distribution of surface dimethylsulfide concentrations in the Gulf of St. Lawrence, Canada*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 141, 103-117.
- Cantoni G.L. y Anderson D.G. (1956). *Enzymatic cleavage of dimethylpropiothetin by Polysiphonia lanosa*. J. Biol. Chem. 222, 171-177.
- Carol F. y Kramer. (1989). Anal. Chem. 61, 114.
- Challenger F. (1959). *Aspects of the organic chemistry of sulfur*. Academic Press. New York, 253.
- Challenger F. y Simpson M. I. (1948). *Studies on biological methylation. Part XII. A precursor of the dimethyl sulphide evolved by Polysiphonia fastigiata. Dimethyl-2-carboxyethylsulphonium hydroxide and its salts*. J. Chem. Soc. 3, 1591-1597.

- Charlson R.J., Lovelock J.E. Andreae M.O. y Warren S.G. (1987). *Oceanic phytoplankton, atmospheric sulfur, cloud albedo and climate: a geophysiological feedback*. Nature 326, 655-661.
- Charlson R.J., (1994). *Sulfate aerosol and climate change*. Sci. Am. 270, 28-35.
- Clegg sP. y Brimblecombe P. (1985). *The solubility of methanesulphonic acid and its implications for atmospheric chemistry*. Environ. Technol. Let. 6, 269-278.
- Cline J.D. y Bates T.S. (1983). *Dimethyl sulfide in the equatorial Pacific Ocean: A natural source of sulfur to the atmosphere*. Geophys. Res. Let. 10, 949-952.
- Corn M.S., Belviso., et al. (1996). *Origin and importance of picoplankton. Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium Compounds*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.) Plenum Press. New York,191-201.
- Craigie J.S., McLachlan J., et al. (1967). *Photosynthesis in algae. III. Distribution of soluble carbohydrates and dimethyl-b-propiothetin in marine unicellular Chlorophyceae and Prasinophyceae*. Can J. Botanic 45, 1327-1334.
- Cullis C.F. y Hirschler M.M. (1980). *Atmospheric sulfur: natural and man-made sources*. Atmos. Environ. 14, 1263-1278.
- Cutter G.A. Krahforst (1988). *Sulfide in surface waters of the western Atlantic Ocean*. Geophys. Res. Let. 15, 1393-1396.
- Dacey J.W.H. y Wakeham S.G. (1986). *Oceanic dimethylsulfide: production during zooplankton grazing on fitoplankton*. Science 233, 1314-1316.
- Dacey J.W.H. y Blough N.V. (1987). *Hydroxide decomposition of dimethylsulfoniopropionate to for dimethylsulfide*. Geophys. Res. Let. 14(No. 12), 1246-1249.
- Deprez P. P., Franzmann P. D. y Burton H.R. (1986). *Determination of reduced sulfur gases in Antarctic lakes and seawater by gas chromatography after solid adsorbent preconcentration*. J. Chromatog. 362, 9-21.
- Díaz M.R., Visscher P.T. y Taylor B.F. (1992). *Metabolism of dimethylsulfoniopropionate and glycine betaine by a marine bacterium* Fems. Microbiol. Let. 96, 61-66.
- Dickson D.M., Wyn Jones R.G., et al. (1980). *Steady state osmotic adaptation in Ulva lactuca*. Planta 150, 158-165.
- Dickson D.M., Wyn Jones R.G., et al. (1982). *Osmotic adaptation in Ulva lactuca under fluctuating salinity regimes*. Planta 155, 409-415.
- Dickson D.M. y Kirst G.O. (1986). *The role of b-dimethylsulfoniopropionate, glycine betaine and homarine in the osmoacclimation of Platymonas subcordiformis*. Planta, 167, 536-543.
- Dickson D.M. y Kirst G.O. (1987). *Osmotic adjustmen in marine eukaryotic algae: the role of inorganic ions, quaternary ammonium, tertiary sulphonium and carbohydrates solutes. I. Diatom and rhodophyte*. New Phytol. 156,645-655.

- Dyrssen D. (1989). *Biogenic sulfur in two different marine environment*. Mar. Chem. 28, 241-249.
- Elliot S., Lu E. y Rowland F.S. (1987). *Carbonyl sulfide hydrolysis as a source of hydrogen sulfide in open ocean seawater*. Geophys. Res. Let. 14, 131-134.
- Elliot S. (1988). *Linear free energy techniques for estimation of metal sulfide complexation complexes*. Mar. Chem. 24, 203-213.
- Elliot S., Lu E. y Rowland F.S. (1989). *The hydrogen sulfides in oxic seawater*. *Biogenic Sulfur in the Environmental*. (Saltzman E.S., Cooper W.J, eds.), American Chemistry Society, Washington, DC, 314-330.
- Elliot S. y Rowland F.S. (1990). *The effect of metal complexation on hydrogen sulfide transport across the sea-air interface*. J. Atmos. Chem. 10, 315-327.
- Ehrlich P.R., Ehrlich A.H., et al. (1977). *Ecoscience. Population, Resources, Environment*. San Francisco, Freeman.
- Federal Register/vol 68, No.48/wednesday, march 12, 2003/proposed rules.
- Ferek R. J. y Andreae M.O. (1983). *The supersaturation of carbonyl sulfide in surface waters of the Pacific Ocean of Peru*. Geophys. Res. Let. 10, 393-396.
- Funk W., Dammann V. y Donnevert G. (1995). *Quality Assurance in Analytical Chemistry*. Weinheim, New York, 15-56.
- Galloway J.N. (1985). *The deposition of sulfur and nitrog from the remote atmosphere. The biogeochemical cycling of sulfur and nitrogen in the remote atmosphere*. (Galloway J. N., Charlson R. J., Andreae M. O., Rodhe H, D, eds.), Reidel, 143-176.
- Gage D. A y Hanson A. D. (1996). *Characterization of 3-Simethylsulfoniopropionate (DMSP) and Its Analogs with Mass Spectrometry. Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium Compounds*. P. Press. New York, Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O., 29-44.
- Gibson J.A.E., Garrick R.C., et al. (1990). *Dimethylsulfide and the alga Phaeocystis pouchetii in Antarctic coastal waters*. Marine Biology 104, 339-346.
- Giovanelli J., Mudd S.H., et al. (1980). *Sulfur aminoacids in plants*. The Biochem. Plants. (Stumpf P.K. y Conn E.E, eds.), Academic Press, New York 5, 453-505.
- Granroth B. y Hattula T. (1976). *Formation of dimethyl sulfide by brackish water algae and its possible implication for the flavor of Baltic herring*. Finn. Chem. Let., 148-150.
- Haas P. (1935). *The liberation of methyl sulfide in seaweed*. Biogeochem. J. 29, 1297-1299.
- Hatton A.D., Malin G., et al. (1994). *Determination of dimethyl sulphoxide in aqueous solutions by an enzyme-linked method*. Anal. Chem. 66 (22), 4093-4096.

- Hatton A.D., Malin G., et al. (1996). *A significant compound in the biogeochemical cycle of DMS, Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium Compounds*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.) Plenum Press. New York, 405-412.
- Henatsch J.J. y Jüttner F. (1988). *Capillary gas chromatographic analysis of low-boiling organic sulphur compounds in anoxic lake-water by cryoadsorption*. J. Chromatog. 445, 97-105.
- Hennion scribe/sample handling strategies. Chapter 2.
- Holm-Hansen O., Lorenze C.J., et al. (1965). *Fluorometría determination of Chlorophyll*. J. Cons. Explor. Mer 30, 3-15.
- Howard A. G y R. D.W. (1996). *An alternative approach to the measurement of b-Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) and other precursors of Dimethylsulfide*. *Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium Compounds*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.) Plenum Press. New York, 65-73.
- Ioffe B. V. y Vitenberg A.G. (1982). *Headspace analysis and related methods in gas chromatography*. John Wiley y Sons, 1-85
- Ishida Y. (1996). *30 Years of Research on Dimethylsulfoniopropionate*. *Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium Compounds*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.) Plenum Press. New York, 1-12.
- Ivanov M.V. y Freney J. R. (1983). *The global biogeochemical sulfur cycle*. Wiley. New York: 495.
- Iverson R.L., Nearhoof F.L., et al. (1989). *Production of dimethylsulfonium propionate and dimethylsulfide by phytoplankton in estuarine and coastal water*. Limnol. Oceanogr. 34, 53-67.
- Johnson J.E y Harrison H. (1986). *Carbonyl sulfide concentrations in the surface waters and above the Pacific Ocean*. J. Geophys. Res. 91, 7883-7888.
- Keller M.D., Bellows W.K. y Gillard R.R.L. (1989). *Dimethylsulfide production in marine phytoplankton*. *Biogenic Sulfur in the Environment*. (Saltzman E.S., Cooper W.J, eds.), Washington DC, 393, 167-182.
- Keller M.D. y Bellows W.K. (1996). *Physiological Aspect of the Production of Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) by Marine Phytoplankton*. *Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), Plenum Press. New York, 131-142.
- Kettle A.J., Andreae M.O., et al. (1999). *A global database of sea surface DMS measurements and a procedure to predict sea surface DMS as a function of latitude, longitude and month*. Global Biogeochem. Cycles 13(No. 2), 399-444.
- Kieber D.J., Jiao J., et al. (1996). *Impact of dimethylsulfide photochemistry on methyl sulfur cycling in the equatorial Pacific Ocean*. J. Geophys. Res. 101(No. C2), 3715-3722.
- Kiene R. P y Visscher P.T. (1987). *Production and rate of methylated sulfur compounds from methionine and dimethylsulfoniopropionate in anoxic salt marsh sediments*. Appl. Environ. Microbiol. 53, 2426-2434.

- Kiene R.P. y Bates T.S. (1990). *Biological removal of dimethyl sulphide from sea water*. Nature 345, 702-704.
- Kiene R. P. y Ghislain G. (1994). *Determination of trace level of dimethylsulfoxide (DMSO) in seawater and rainwater*. Mar. Chemis. 47, 1-12.
- Kim K. H y Andrea M.O. (1987). *Carbon disulfide in seawater and the marine atmosphere over the north Atlantic*. J. Geophys. Res. 92, 14,733-14,738.
- Kirst G.O., Wanzek M., et al. (1992). *Ecophysiology of ice algae (Antarctica): dimethylsulfoniopropionate content and release of dimethylsulfide during ice melt*. *Dimethylsulphide: oceans, atmosphere and climate*. D. Int Symp Proc Belgirate Klumer Academic Publishing, Restelli G, Angeletti G, 23-36.
- Kirst, G. O. (1996). *Osmotic Adjustment in Phytoplankton and Macroalgae. Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), Plenum Press. New York, 121-129.
- Koga S. y Tanaka H. (1993). *Numerical study of the oxidation process of dimethylsulfide in the marine atmosphere*. J. Atmos. Chem. 17, 201-228.
- Kold Bruno. (1999). *Headspace sampling with capillary columns*. J. Chromatog. A. 163-205.
- Kwint R. L. J. y Kramer K. M. K. (1995). *Dimethylsulphide production by plankton communities*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 121, 227-237.
- Kwint R. L.J. y Kramer K.J.M. (1996). *Annual cycle of the production and fate of DMS and DMSP in a marine coastal system*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 134, 217-224.
- Leck C. y Bagander L. E. (1988). *Determination of reduced sulfur compounds in aqueous solution using gas chromatography flame photometric detection*. Anal. Chem. 60, 1680-1683.
- Leck C., Larsson H. Bagander L. E. et al. (1990). *Dimethyl sulfide in the Baltic Sea: annual variability in relation to biological activity*. J. Geophys. Res. 95/C3, 3353-3363.
- Lelieveld J., et al (1997). *Terrestrial sources and distribution of atmospheric sulphur*. Philos. trans. R. Soc. London Ser. B 352, 149-158.
- Levitus S. (1982). *Climatological Atlas of the World Ocean*, NOAA Professional Paper 13. Washington DC 20402.
- Liss P.S, Malin G., et al. (1992). *Production of DMS by marine phytoplankton*. *Dimethylsulphide: oceans, atmosphere and climate*. D. Int Symp Proc Belgirate Klumer Academic Publishing, Restelli G, Angeletti G, 1-14.
- Lovelock J.E., Maggs R.J. y Rasmussen R.A. (1972). *Atmospheric dimethyl sulfide and the natural sulphur cycle*. Nature. 237, 452-453.
- Lovelock J.E. (1974). *CS₂ and the natural sulfur cycle*. Nature 248, 625-626.

- Lynn R.J. y Simpson J.J. (1987). *The California Current System : The seasonal variability of its physical characteristics*. J. Geophys. Res. 92, XII. 12947-12966.
- Magaña V. (1999). *Los impactos de El Niño en México*. Magaña V. Secretaría de Gobernación.
- Maier I. y F. M. (1988). Journal Hight Resol. Chromatog. Chromatog. Commun 11, 566.
- Malin G., Turner S.M. y Liss P.S. (1992). *Sulfur: the plancton/climate connection*. J. Phycol. 28, 590-597.
- Malin G. (1996). *The Role of DMSP and DMS in the Global Sulfur Cycle and Climate Regulation. Biological and Enviromental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), New York, Plenum Press, 177-189.
- Matrai P.A. y Keller M.D. (1993). *Dimethylsulfide in a large -scale coccolithophore bloom in the Gulf of Maine*. Cont. Shelf Res. 13, 831-843.
- Moller D. (1984). *Estimation of the global man-made sulphur emission*. Atmos. Environ. 18, 19-27.
- Mopper K. y Taylor B.F. (1986). *Biogeochemical cycling of sulfur: thiols in coastal marine sediments* In: M.L. Solin (editor), *Organic Marine Geochemistry* Am. Chem. Soc., Symp. Ser. 324-339.
- Munawar M.L., Munawar P.E., et al. (1982). *Microscopic evidence of phytoplankton passing through glass fiber and its implications of chlorophyll analysis*. Arch. Hydrobiol. 94, 520-528.
- Nguyen B.C., Belviso S. Mihalopoulos N. Gostan J. y Nival P. (1988). *Dimethyl sulfide production during natural phytoplankton bloom*. Mar. Chem. 24, 133-141.
- Nriagu J.O. y Holdway D.A. (1989). *Production and release of dimethylsulfide from the Great Lakes*. Tellus. 41B,161-169.
- Plane J.M.C. (1989). *Gas-phase atmospheric oxidation of biogenic sulphur compounds. Biogenic Sulfur in the Environment*. (Saltzman E.S., Cooper W.J, eds.), Academic Chemistry Society. Washington D.C., 393.
- Przyjazny A (1985). J. Chromatog. 33, 327.
- Rasmussen R. A, Khalil M. A. K, et al. (1982). *The oceanic source of carbonylsulfide (OCS)*. Atmos. Environm. 16, 1591-1594.
- Rodhe H. (1999). *Human impact on the atmospheric sulfur balance*. Tellus A-B 51, 110-122.
- Ros J. (1979). *Prácticas de Ecología*. Barcelona, España.
- Rusell D.W. y Horward. A.G. (1996). *The determination of DMSP in marine algae and salt marsh. Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium Compounds*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), New York, Plenum Press, 155-163.

- Shooter D., de Mora S.J., et al. (1992). *J. Environ. Anal. Chem.* 47, 239.
- Shugar J.G. y Ballinger J.T. (1996). *Chemical Technicians' ready reference handbook* McGraw Hill, New York, 972.
- Simó R., Grimalt J.O. y Albaiges J. (1993). *Field sampling and analysis of volatile reduced sulphur compounds in air, water and wet sediments by cryogenic trapping*. *J. Chromatog. A* 655, 301-307.
- Simó R. (1998). *Trace chromatographic analysis of dimethyl sulfoxide and related methylated sulfur compounds in natural waters*. *J. Chromatog. A* 807, 151-164.
- Simó R y Pedrós-Alió C. (1999). *Role of vertical mixing in controlling the oceanic production of dimethyl sulphide*. *Let. Nature* 402, 396-399.
- Simó R. (2001). *Production of atmospheric sulfur by oceanic plankton: biogeochemical, ecological and evolutionary link*. *Trends in Ecology and Evolution* 16(No. 6), 287-294.
- Sorensen J. (1988). *Dimethylsulfide and methane thiol in sediment porewater of as Danish estuary*. *Biogeochem.* 6, 201-210.
- Stefels J. y van Boekel W.H.M. (1993). *Production of DMS from dissolved DMSP in axenic cultures of the marine phytoplankton species*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 97: 11-18.
- Stefels J. Greskes W.C. y Dijkhuizen (1996). *Intriguing Functionality of the production and conversion of DMSP in *Phaecystis* sp. Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), Plenum Press. New York, 305-324.
- Steinke M., Daniel C., et al. (1996). *DMSP Lyase in Marine Macro-and Microalgae. Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), Plenum Press. New York, 317-324.
- Strickland J.D.H. (1968). *A practical Handbook of seawater analysis*. Fishenes research board of Canada, Ottawa.
- Sunesson A.L., Nilsson C.A., et al. (1995). *J. Chromatog. A* 699, 203.
- Suylen G.M.H., Steless G.C. y Kuenen J.G. (1986). *Chemolithotrophic potential of a *Hyphomicrobium* specie, capable of grown on methylated sulphur compounds*. *Arch. Microbiol.* 146, 192-198.
- Tangerman A. (1986). *Determination of volatile sulphur compounds in air at the parts per trillion level by tenax trapping and gas chromatography*. *J. Chromatog.* 366, 205-216.
- Taylor B.F. y Kiene R.P. (1989). *Microbial metabolism of dimetyl sulfide. Biogenic Sulfur in the Environment*. (Saltzman E.S., Cooper W.J, eds.), Academic Chemistry Society. Washington D.C., 202-221.
- Tchernia P. (1980). *Descriptive regional Oceanography*. New York.

- Tocher C.S., Ackman R.G., et al. (1966). *The identification of dimethyl-b-propiothetin in the algae Syracosphaera carterae and Ulva lactuca*. Can J. Biochem. 44,519-522.
- Toon O.B., Turco J.B., et al. (1987). *The sulfur cycle in the marine atmosphere*. J. Geophys. Res. 92, 943-963.
- Townsend D.W. y Keller M.D. (1996). *Dimethylsulfide (DMS) and dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in relation to phytoplankton in the Gulf of Maine*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 137, 229-241.
- Triska M.K., et al. (1990). Anal. Chem 338, 77.
- Turner S. M. y Liss P. S. (1985). *Measurement of various sulphur gases in a coastal marine environment*. J. Atmos. Chem. 2, 223-232.
- Turner S.M., Malin G., et al., (1988). *The seasonal variation of dimethyl sulfide and dimethylsulfoniopropionate concentrations in nearshore waters*. Limn. Oceanogr. 33, 364-375
- Turner S.M., Malin G., et al. (1989). *Dimethylsulfide and (dimethylsulfonio)propionate in European. Biogenic Sulfur in the Environment*. (Saltzamn E.S and Cooper W.J, eds.), Academic Chemistry Society Series, Washington, DC, 183-201.
- Turner S.M., Malin G. et al., (1990). *Interlaboratory calibration and sample analysis of dimethyl sulphide in water*. Mar. Chem. 29, 47-62.
- USEPA Methods 524.2, 601 y 602 (<http://www.epa.gov/>) Optimization of method parameters for the evaluation of USEPA 524.2 using a purga y trap with CG/MS.
- Vairavamurthy A., Andreae M. O., et al. (1985). *Biosynthesis of dimethylsulfide and dimethylpropiothetin by Hymenomonas cartarae in relation to sulfur source and salinity variations*. Limnol. Oceanogr. 30, 59-70.
- Varian 3000 (1995). User Manual updated august.
- Visscher P.T. y Taylor B.F. (1993). *A New Mechanism for the Aerobic Catabolism of Dimethyl Sulfide*. Appl. Environ. Microbiol. 59(No.11), 3784-3789.
- Wakeham S.G. y Dacey J.W.H. (1989). *Biogeochemical cycling of dimethyl sulfide in marine environment. Biogenic Sulfur in the Environmental*. (Saltzman E.S., Cooper W.J, eds.), Washington DC, 393, 152-166.
- Wardencki W. (1998). *Problems with the determination of environmental sulphur compounds by gas chromatography*. J. Chromatog. A 793, 1-19.
- Weare B.C, Strub P. T, et al. (1981). *Annual mean surface heat fluxes in the Tropical Pacific Ocean*. J. Phys. Oceanog. 11(5), 705-717.
- Webster P.J. (1994). *The role of hydrological processes in ocean-atmosphere interactions*. Rev. Geophysics 32, 427-476.

White R.H. (1982). *Analysis of dimethyl sulfonium compounds in marine algae*. J. Mar. Res. 40, 529-536.

Wolfe G.V. (1996). *Accumulation of dissolved DMSP by marine bacteria and its degradation via bacterivory*. *Biological and Environmental Chemistry of DMSP and Related Sulfonium*. (Kiene R.P., Visscher P.T., Keller M.D., Kirst G.O, eds.), Plenum Press. New York, 277-291.

Wyrtki K (1965b). *The annual and semi-annual variation of sea surface temperature in the North Pacific Ocean*. Limn. Oceanogr. 10(3), 307-313.

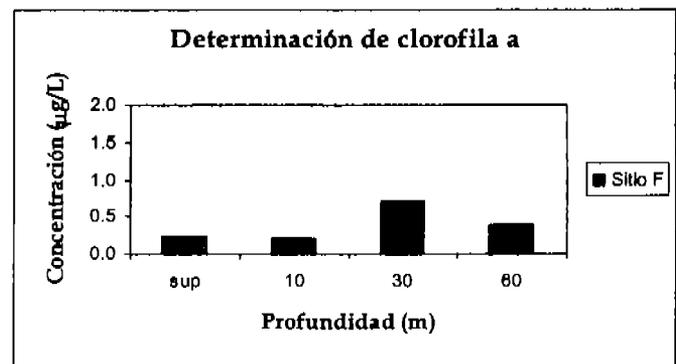
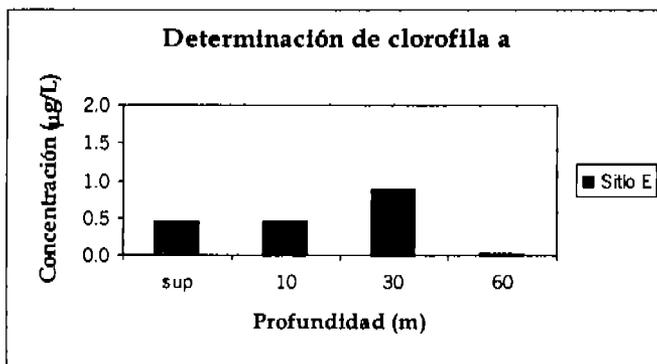
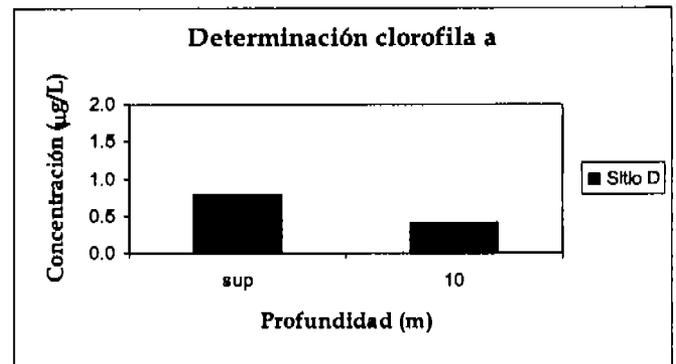
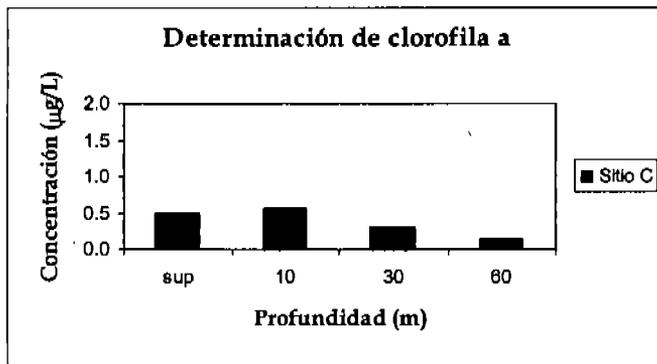
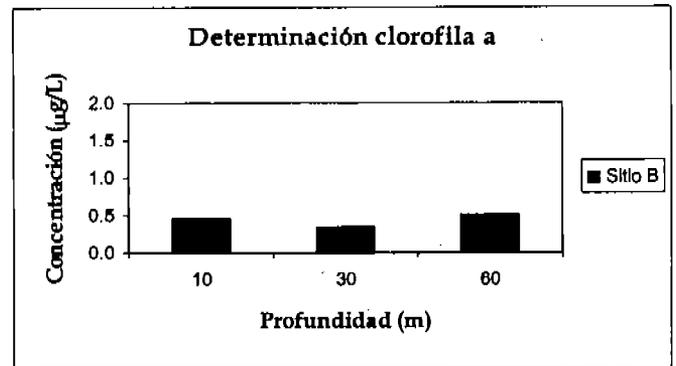
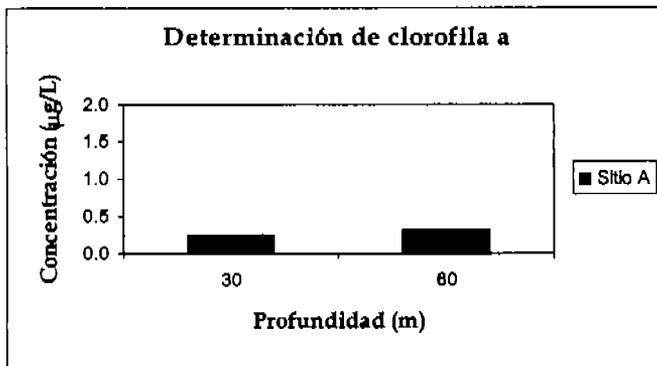
Yentsch C.S. y M. D.W. (1963). *A method for determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluoresce*. Deep-Sea Res. I 10, 221-231.

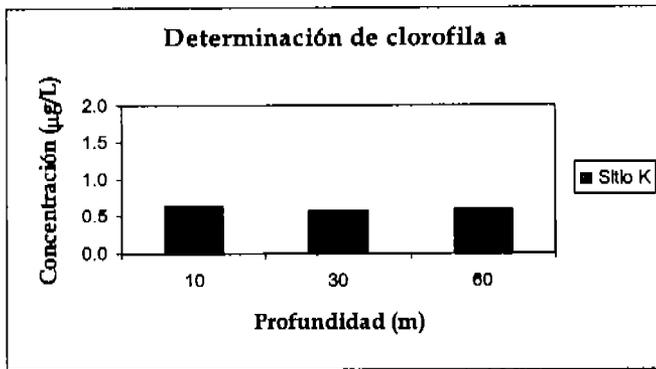
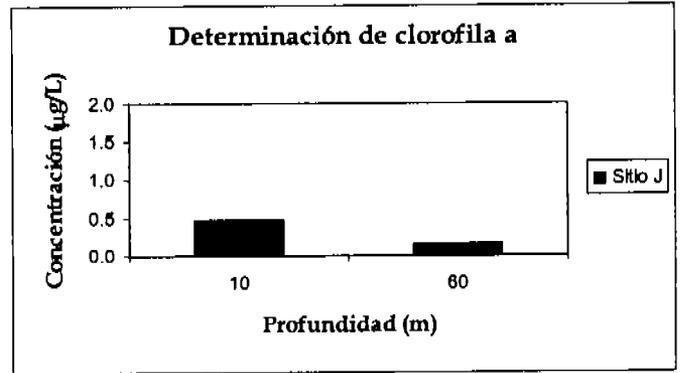
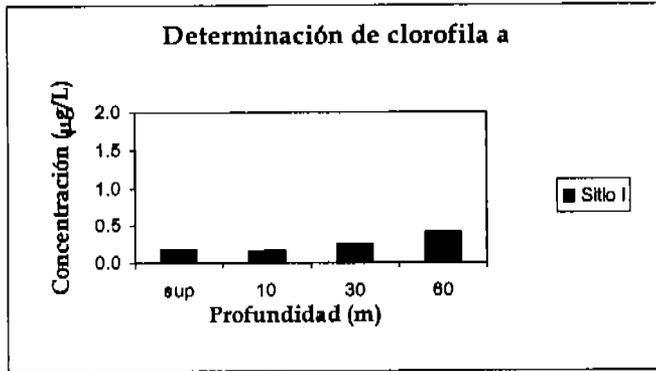
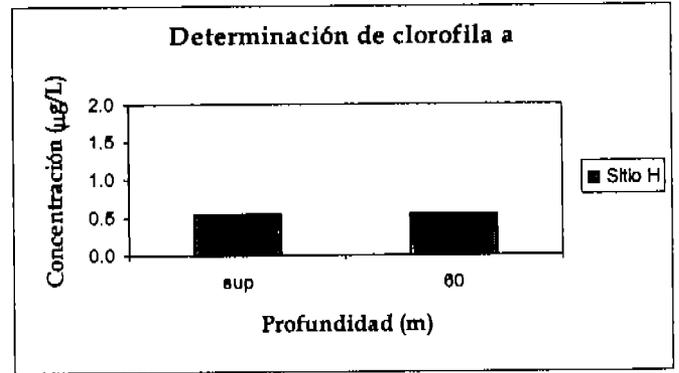
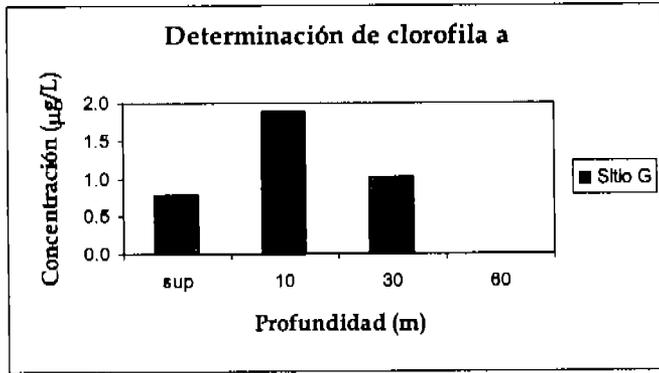
Yin F., Grosjean D., et al. (1986). *Analysis of atmospheric photo-oxidation mechanisms for organic sulfur compounds*. J. Geophys. Res. 91, 417-438.

Zinder S.H., Doemel W.N. y Brock T.D. (1977). *Production of volatile sulfur compounds during the decomposition of algal mats*. App. Environ. Microbiol. 34-859-860.

ANEXO 1

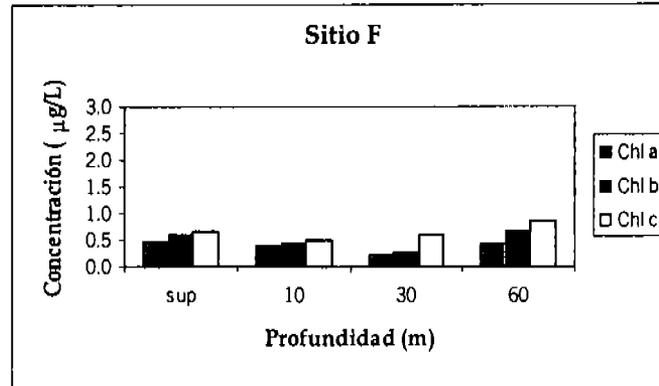
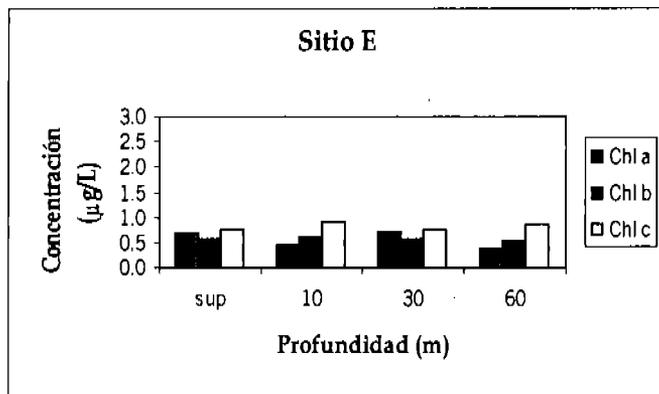
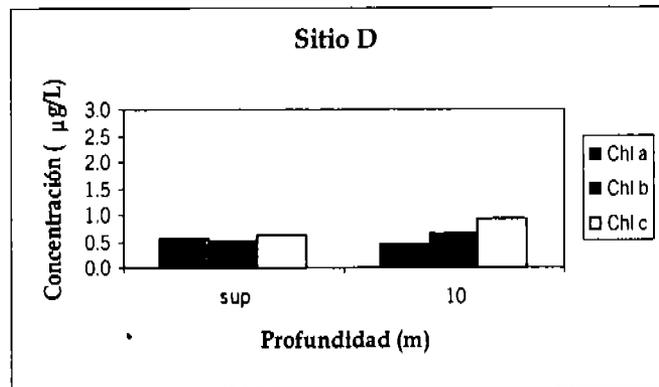
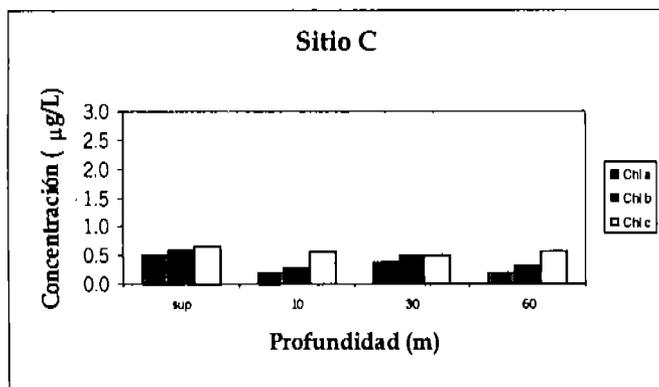
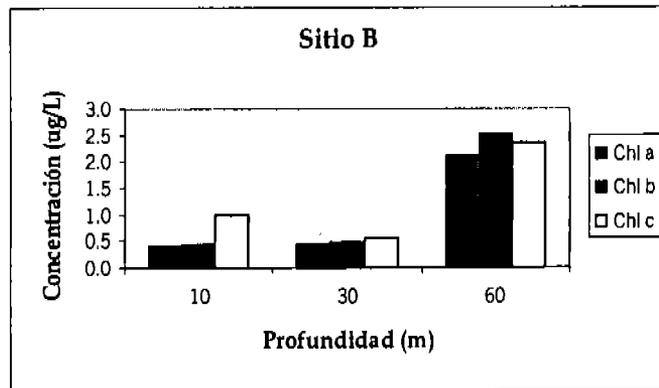
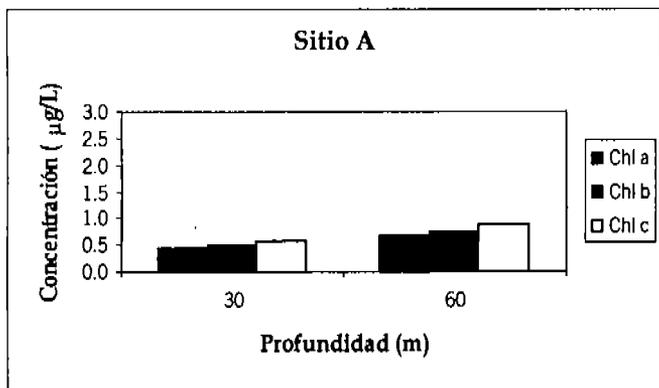
Determinación de clorofila *a* por el fluorómetro de cada sitio de muestreo.

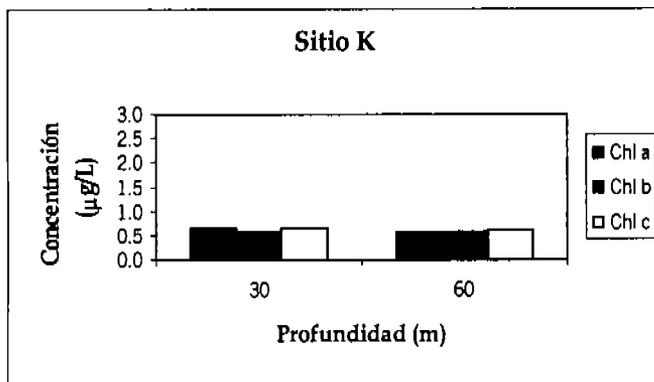
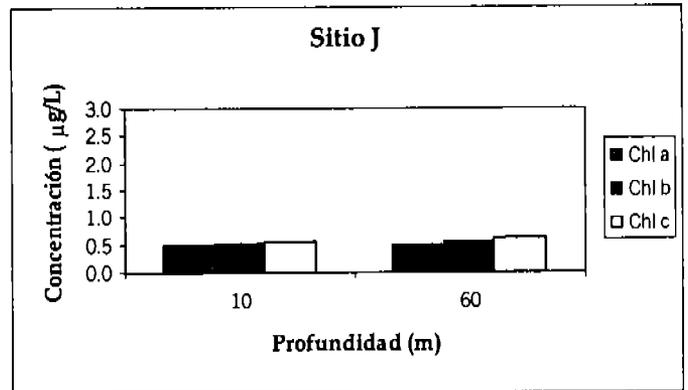
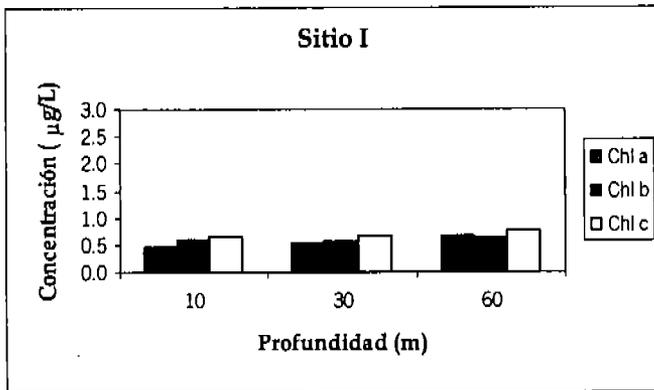
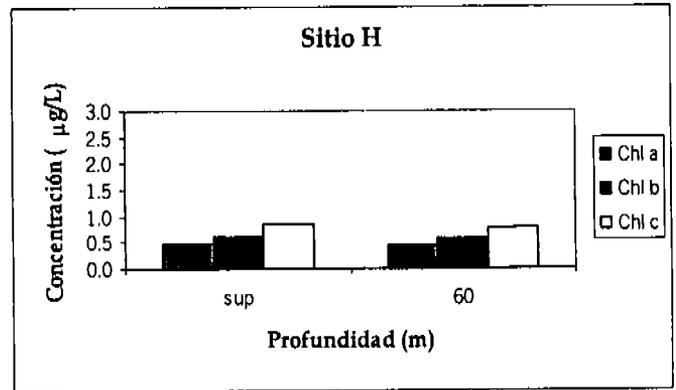
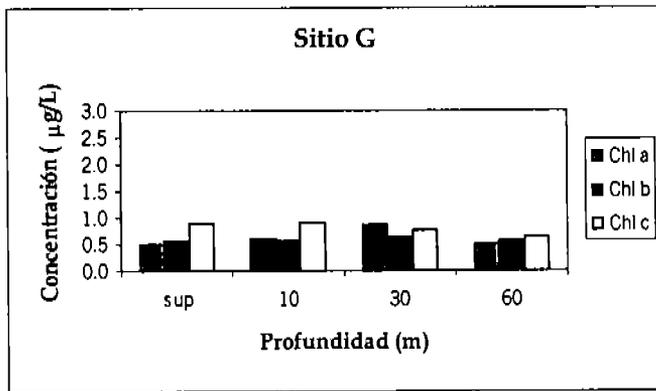




ANEXO 2

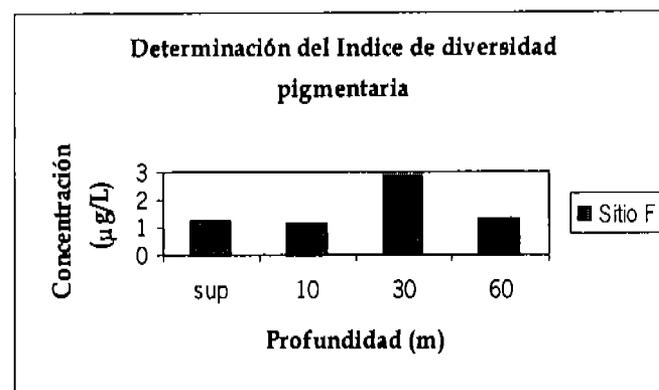
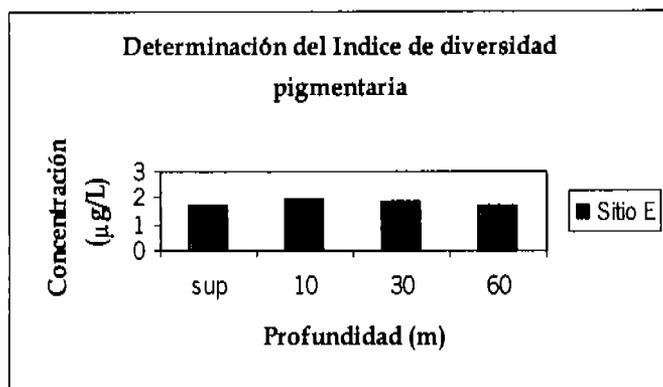
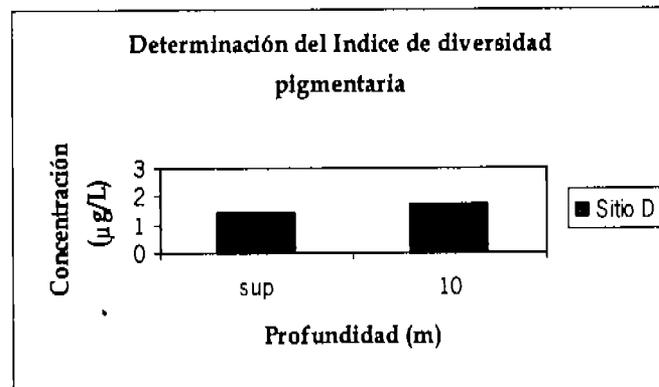
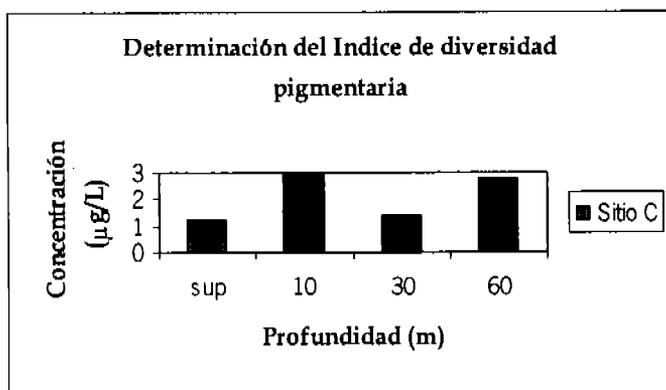
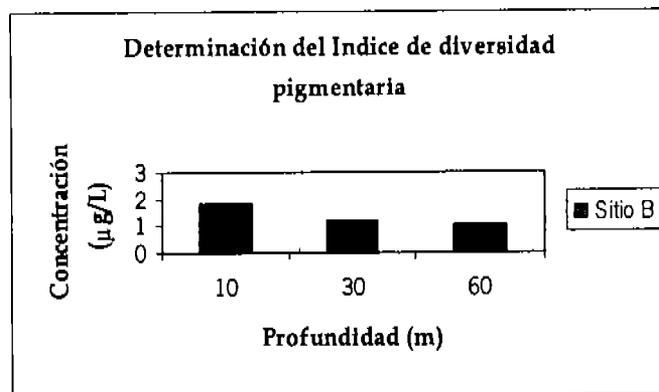
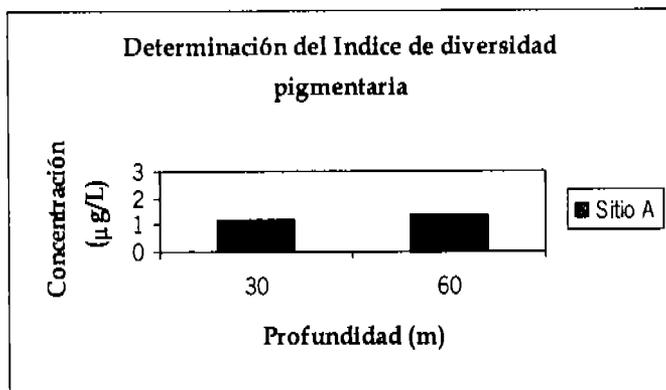
Determinación de clorofila *a*, *b* y *c* por el espectrofotómetro de cada sitio de muestreo.

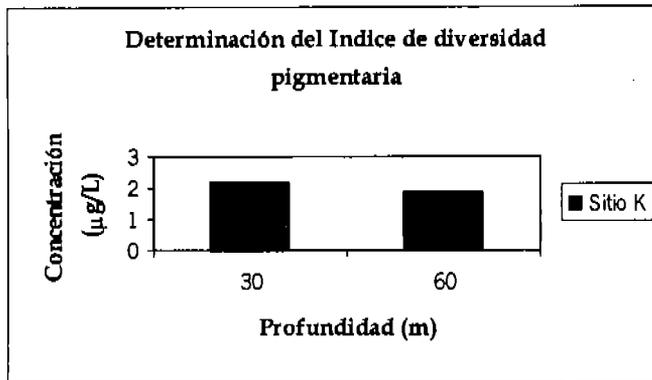
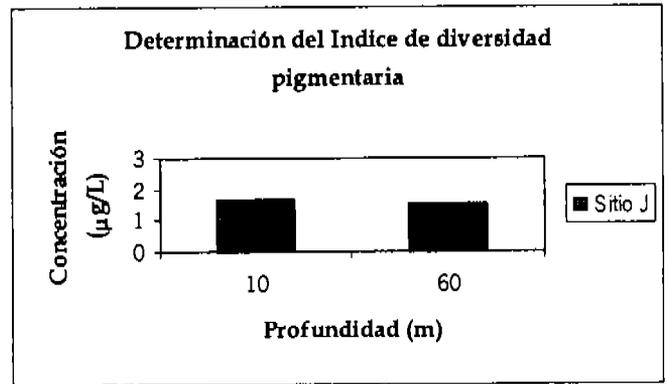
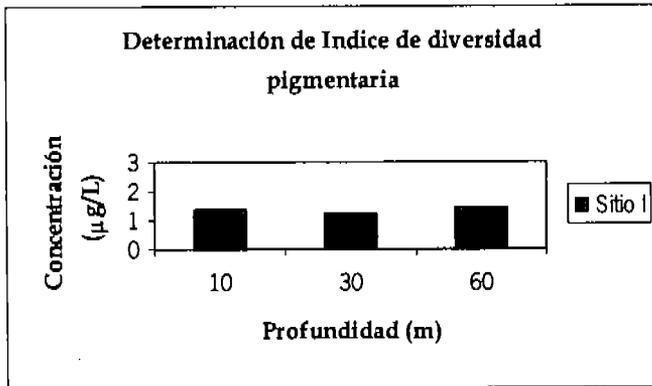
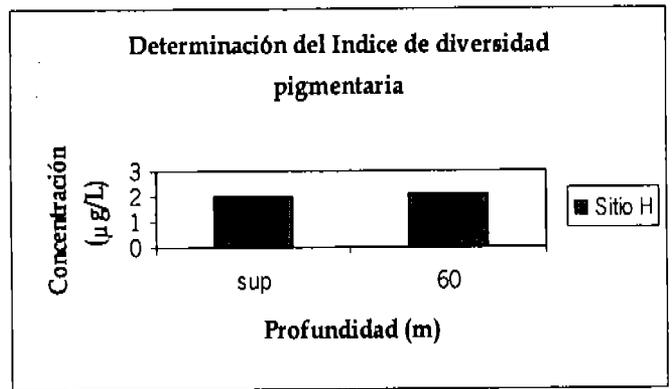
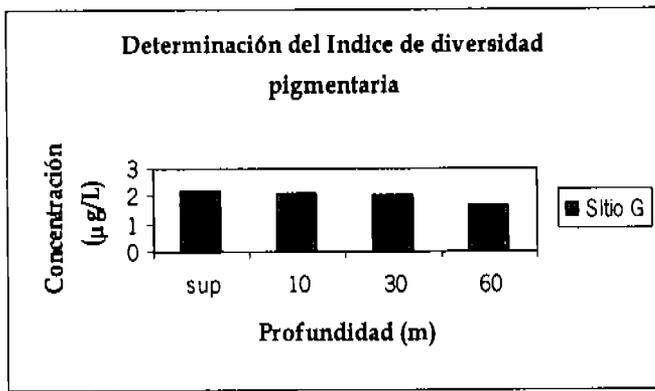




ANEXO 3

Determinación del índice de diversidad pigmentaria por el espectrofotómetro de cada sitio de muestreo.





ANEXO 4

Termoclinas de cada sitio de muestreo.

