

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

Análisis de organoestañados por el metodo de generación de hidruros y
detección por espectrofotometría de absorción atómica (HG-AAS)
en el Puerto de Ensenada B.C.

TESIS
que para obtener el título de
Oceanólogo
Presenta
Victor Alfonso Macias Carranza

Ensenada B.C., Marzo de 1996

RESUMEN

Durante los meses de Septiembre y Octubre de 1995 se llevó a cabo en el Puerto de Ensenada, Baja California, la colecta de doce muestras de sedimento y catorce de agua con el objetivo de aplicar un sistema de análisis y cuantificación para compuestos organometálicos (tributil, dibutil y monobutilestaño), empleando para ello la técnica descrita por Stallard (1989).

Las concentraciones encontradas fueron altas (En sedimento de 33 a 1021 ng-Sn/g, y en agua de 66 a 469 ng-Sn/L), comparadas con las obtenidas en trabajos realizados en diferentes zonas del Reino Unido y en la Bahía de San Diego, California, EUA. Sin embargo, con los resultados obtenidos, no puede determinarse si el Puerto de Ensenada es una zona contaminada por organoestaños, sería necesario llevar a cabo estudios para determinar la vida media de los compuestos, sus mecanismos de degradación en la zona y la manera en que se ve afectada la biota del área.

Otro de los objetivos fue la identificación de las fuentes principales de compuestos organoestaños en el Puerto. Fue posible señalar dos zonas como principales aportes de organometálicos: los astilleros, en la parte norte del Puerto, y el dique flotante, cercano a la entrada. En ambas zonas el enriquecimiento de TBT's se debe a las labores de reparación de embarcaciones, que incluyen raspado y pintura, siendo estas las actividades que aportan mayor porcentaje.

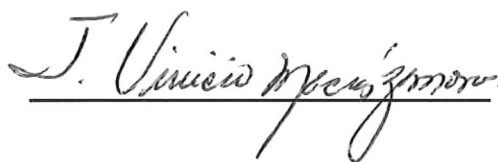
Se estableció una correlación lineal entre la cantidad de materia orgánica y las concentraciones totales de organoestaños. Encontrando que esta variable ejerce un cierto efecto sobre la distribución de los compuestos.

Se ofrecen posibles explicaciones para las distribuciones observadas.

**Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Marinas**

Análisis de organoestaños por el método de generación de hidruros
y detección por espectrofotometría de absorción atómica (HG-AAS)
en el Puerto de Ensenada, B. C.

TESIS
que para obtener el título de
OCEANOLOGO
Presenta
Victor Alfonso Macias Carranza



Dr. José Vinicio Macías Zamora
Director



M.C. Julio Alberto Villaescusa Celaya
Sinodal



M.C. Sergio Raúl Canino Herrera
Sinodal

Ensenada, Baja California, Marzo 1996.

Agradecimientos

El logro que este trabajo representa es la suma de muchos esfuerzos, por lo cual deseo agradecer a todos aquellos que me brindaron su ayuda.

Al Dr. Vinicio Macias Zamora por la oportunidad que me brindó al permitirme trabajar con él y aprovechar su experiencia.

Al M. en C. Julio Villaescusa por prestar siempre esa ayuda incondicional y ser siempre tan paciente.

Al M. en C. Raúl Canino por su disponibilidad y sus valiosos consejos.

A mis papás por apoyarme siempre en la decisiones que tomo.

A la Facultad de Ciencias Marinas por la formación y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas por las facilidades y apoyos para la realización de este trabajo

A los maestros y compañeros que significaron puntos de apoyo a lo largo de mi carrera: Amando Dieguez, Dora Waumann, Dr. Alberto Zirino, Martín, Lorena, Pedro y Francisco Delgadillo.

A la casi Oceanóloga Francisca por su incondicional apoyo y ayuda.

A los amigos que me prestaron su coche, su computadora, me dieron de comer (entre otras muchas cosas) e invariablemente me brindaron su apoyo durante todo este tiempo mis más sinceras gracias: Tex y Maira, Zuray y Aida, Carlos y Selene, Flor, Chiquis, Gigi, Mariana, Lety, Aaron, Nats y Miguel Angel.

Y todas aquellas personas cuyos nombres podrían llenar muchas páginas pero no son menos importantes.

Dedicatoria

Con todo mi cariño

A mis Padres

Victor Alfonso y María del Refugio

A mi hermana

Erika

A mi novia

Francisca

A mis abuelos y mis tios

ÍNDICE

	Página
INTRODUCCIÓN	1
Tipos de pinturas antivegetativas	3
Degradación y Toxicidad	4
Legislación y Control	7
ANTECEDENTES	9
OBJETIVOS	11
DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO	12
METODOLOGÍA	15
Colecta de las muestras	15
Desarrollo analítico	
Limpieza del material	16
Extracción de compuestos organoestañados.	16
Cuantificación de los compuestos organoestañados	18
Procesamiento de la información	24
RESULTADOS	25
DISCUSIONES	40
CONCLUSIONES	49
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla I .- Valores de LC ₅₀ para diferentes compuestos organoestañados	6
Tabla II .- Parámetros optimos de operación para el instrumento analítico	20
Tabla III .- Concentración de los compuestos butilestañados en sedimentos, así como el contenido de materia orgánica y fracción menor a 63µm	26
Tabla IV .- Concentración de compuestos butilestañados en agua, así como la salinidad y el pH	26
Tabla V .- Comparación de los resultados obtenidos en este trabajo, con estudios realizados en la bahia de San Diego Y Reino Unido	43

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Localización de la zona de muestreo	13
Figura 2.- Localización de las estaciones de muestreo dentro del puerto de Ensenada B.C	14
Figura 3.- Esquema del instrumento analítico	17
Figura 4.- Diagrama de flujo para el análisis de las muestras de agua	21
Figura 5.- Diagrama de flujo para la extracción y análisis de las muestras de sedimento	22
Figura 6.- Cromatogramas característicos para organoestaños en estándares (a), Blancos (b), muestras de agua (c) y sedimentos (d)	27
Figura 7.- Concentración de momo, di y tributilestaño en muestras de agua (a) y sedimento (b)	28
Figura 8.- Correlación de la materia orgánica y la concentración total de butil estaños totales por estación en muestras de sedimento	30
Figura 9.- Distribución espacial del porcentaje de materia orgánica en sedimentos	31
Figura 10.- Distribución espacial del monobutilestaño en sedimentos superficiales en concentraciones de ng-Sn/g	32
Figura 11.- Distribución espacial del dibutilestaño en sedimentos superficiales en concentraciones de ng-Sn/g	34
Figura 12.- Distribución espacial del tributilestaño en sedimentos superficiales en concentraciones de ng-Sn/g	35

Figura 13.- Distribución espacial del monobutilestaño en agua superficial en concentraciones de ng-Sn/L	36
Figura 14.- Distribución espacial del dibutilestaño en agua superficial en concentraciones de ng-Sn/L	37
Figura 15.- Distribución espacial del tributilestaño en agua superficial en concentraciones de ng-Sn/L	38
Figura 16.- Diagramas de agrupamiento para muestras de sedimento (a) y agua (b)	39

INTRODUCCIÓN

Los compuestos organometálicos son moléculas en las que un carbono se encuentra unido directamente a un elemento metálico. El carbón pertenece a una molécula orgánica que puede ser desde una simple cadena lineal de alcanos, hasta moléculas ramificadas o aromáticas. Los compuestos organometálicos se obtienen de la reacción directa de un metal con un haluro alquílico (fórmula general $C_nH_{2n+1}X$, donde X es el halógeno) en presencia de un disolvente, donde el halógeno es reemplazado por un átomo de metal (Noller 1968). Durante la formación del complejo organometálico, el carbón presenta una valencia positiva, mientras que al enlazarse con el átomo del metal presenta una valencia negativa (Roberts 1977).

Entre los compuestos organometálicos con metales alcalinos, los de litio y sodio son útiles en reacciones de síntesis orgánica, pero los más importantes son los de magnesio conocidos como reactivo de Grignard (Noller, 1968).

La gran cantidad de aplicaciones que tienen los compuestos organometálicos ha permitido que desde hace 60 años se empleen en diversas áreas de la industria. La primera aplicación fue como agentes repelentes a la polilla en 1925. Después de 1930 se utilizaron en la estabilización de los bencenos y difenilos clorados y, también, como estabilizadores de plásticos polivinil clorados (conocidos como PVC por sus siglas en inglés). Para 1950 ya se conocían las características biocidas de los organometales y 10 años después fueron utilizados como biocidas para organismos de agua dulce. Hoy el uso de los organoestañados se extiende a un gran número de sectores industriales. Se utilizan para estabilizar los polímeros de PVC, evitando la rápida degradación por calor, luz y oxígeno, como un auxiliar para reducir estos problemas, especialmente en el PVC rígido. En la industria alimenticia se utilizan en la elaboración de empaques para alimentos pues presentan una baja toxicidad (botellas y plásticos adhesivos).

Una gran cantidad de compuestos dialquilestaños son también utilizados en la vulcanización de silicones a temperatura ambiente. Otros, como los dibutilestaños, son comúnmente utilizados como catalizadores en la producción de poliuretano (Champ 1986).

En el control de plagas, los óxidos y el acetato de trifenilestaño (TPTA) son usados para controlar a distintas enfermedades del café, en cambio los compuestos organometálicos de trimetilestaño (TBT's) son usados en forma limitada pues resultan tóxicos para los mamíferos.

El tributilestaño ha sido incorporado en la formulación de pinturas como una base para evitar la fijación de organismos y el constante deterioro en las estructuras sumergidas (barcos, pilotes de muelles, bodegas, etc.), tanto en agua dulce como en agua salada. Este tipo de compuestos ahorran gran cantidad de dinero en combustible para embarcaciones, pero ocasionan contaminación (Duncan, 1987).

El uso de los tributilestaños en las pinturas representa una protección que evita la fijación y crecimiento de los organismos y como consecuencia disminuye el desgaste. En el caso de las embarcaciones, esto genera beneficios económicos, pues con un aumento de 10 μ m en la rugosidad del casco de un barco se aumenta de 0.3 a 1.0 % el consumo de combustible. Esta cantidad, significa un gasto en combustible igual al 50% del costo total de la operación para barcos de grandes magnitudes, como super tanques (Champ, 1987).

Las pinturas con bases de TBT fueron más populares por ser más eficientes (10 a 100 veces más eficiencia que las de base de cobre), y representar un costo más bajo y un mayor tiempo de vida (de 5-7 años), comparado con el de las de cobre (solo de 1 año) (García-Romero, 1988). Esto favoreció su producción a gran escala. En 1976 se produjeron proxímadamente 27000 toneladas de compuestos organoestaños, de los cuales el 10 % fue usado en la producción de pinturas (Donard y Weber, 1985).

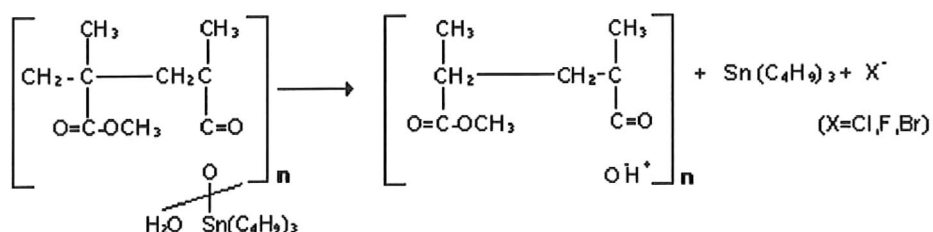
Tipos de pinturas antivegetativa

Existen tres tipos de pinturas formuladas con TBT, las conocidas como de libre asociación, las de derrame y las de copolímero de autopulido.

El primer tipo presenta una asociación química libre entre la pintura y el biocida. El biocida se libera por lixiviación de la matriz insoluble, y se pierde la actividad a lo largo del tiempo de manera exponencial. Durante este periodo se va formando una capa de carbonato de calcio que inhabilita la salida del biocida al medio. Por esto tienen un corto periodo de eficiencia, después del cual hay que limpiar y repintar, liberando los remanentes de TBT's (Champ, 1986).

El segundo tipo de pintura es similar al primero, con excepción de que la matriz es soluble en agua y ésta, al penetrar, la disuelve, exponiendo el nuevo biocida a la superficie. A este tipo de pintura se le conoce como de matriz soluble o de derrame. Igual que en el caso anterior, la efectividad del biocida va decayendo por la formación de una capa insoluble en la superficie, dando un tiempo de vida promedio de 2 años.

Por último la conocida como copolímero de autopulido, donde no existe una asociación libre entre la pintura y el biocida, sino un enlace químico, de este modo al ser introducida al agua, la pintura produce una reacción química únicamente en la superficie, rompiendo los enlaces y liberando pequeñas cantidades de biocida, autopuliendo la superficie. La matriz es hidrofóbica, por lo tanto el agua no penetra, solo tiene contacto con la superficie, liberando pequeñas dosis de biocida de la siguiente forma (Collin 1986):



Metacrilato de tributilestaño

Su tiempo de vida puede llegar a ser de hasta 7 años y para repintar, la capa anterior no tiene que ser removida (Wade, et al., 1988).

Degradación y toxicidad

Los botes pequeños (yates y veleros) son la principal fuente de ingreso TBT's en las áreas encerradas, como estuarios y marinas, ya que por estar la mayor parte del tiempo anclados en aguas de poca circulación la pintura no se dispersa, a diferencia de los cargeros o buques tanque, que tienen cortos periodos de anclaje que permiten una mayor dilución en aguas oceánicas (Wade, García-Romero y Brooks, 1988).

Los TBT's son extremadamente tóxicos para muchos organismos planctónicos, incluyendo larvas de moluscos (que son de 10 a 100 veces más sensibles que los adultos) para las que, concentraciones de 1.0 µg/L pueden resultar mortales (Clark, 1992). Por ejemplo, se ha observado que concentraciones de 0.01 µg/L causan reducción del crecimiento en juveniles del pelecípodo *Crassostrea gigas* y en etapas más desarrolladas causan un ensanchamiento esponjoso de la concha, reduciendo el tamaño del animal (Clark 1992). El mismo efecto es reportado en *Mytilus edulis* (Stepaenson, et al., 1986; Humphery, 1987).

Otro tipo de problemas asociados a la contaminación por TBT's a sido observado en el neogasteropodo *Nucella lapillus* donde se descubrió un efecto de tipo mutagénico denominado Imposex. En el macho, el conducto espermático y el pene se desarrollan hasta transformarse en lo que aparentemente son los órganos sexuales de una hembra y al contrario, transformando aparentemente el sistema reproductor de una hembra en el de un macho (Clark, 1992; Widdows, 1991; Huggett 1992).

Chiliamovitch (1977) realizó estudios de conducta, hematológicos e histológicos en los peces *Salmo gairdneri* y *Tilapia rendalli*. Observó que en pruebas de toxicidad aguda las agallas fueron dañadas, mientras que a bajas concentraciones se produjeron daños corneales y de las células conjunto biliar, además de la pérdida orientación y problemas respiratorios. Se presume que el efecto es muy similar en otras especies de peces.

En el ser humano, se ha comprobado que los TBT's causan daño a las membranas de las células sanguíneas. Concentraciones mayores a $1\mu\text{M}$ causan un cambio irreversible en la forma de los eritrocitos y concentraciones por encima de $5\mu\text{M}$ pueden producir hemólisis (Peterson, et al., 1993). También es importante mencionar que los TBT's no se descomponen con la cocción del organismo pudiendo afectar indirectamente al hombre (Gray, 1986).

La toxicidad de un compuesto organoestañado depende del número de sustituyentes orgánicos que presenta (de uno a cuatro), la toxicidad resulta mayor cuando presenta tres sustituyentes y decrece cuando presenta cuatro, siendo más tóxico cuando presenta grupos alquilos que grupos arilos (Champ, 1987).

El aumento de la toxicidad también depende del incremento en la longitud de la cadena sustituyente, probablemente por un comportamiento lipofílico. Frecuentemente la toxicidad de cada uno de los compuestos de esta familia (TBTO, TBTF, TBTCI) es básicamente igual (Carwell y Meador, 1989).

De acuerdo con los criterios adoptados para el control de la calidad del agua, por la Agencia para el Control del Medio Ambiente (EPA) el 95% de las especies están protegidas de los efectos agudos si las concentraciones de los TBT's se mantienen por debajo de los $0.162\mu\text{g/L}$ en agua dulce y de $0.537\mu\text{g/L}$ para agua de mar (la toxicidad aguda se presentan arriba de los $0.5\mu\text{g/L}$ y muchos organismos sucumben a concentraciones de $10\mu\text{g/L}$). La EPA sugiere que las concentraciones arriba de los 10ng/L pueden causar ciertos efectos crónicos en algunas especies marinas. Los niveles que se proponen como seguros para los organismos, tanto de agua dulce como de agua salada son, de 26ng/L y 47ng/L .

respectivamente. Cabe mencionar que el valor de 10ng/L representa la mitad de la concentración en la cual ocurrieron efectos adversos en experimentos de toxicidad crónica para 3 especies de almejas y ostras (Carwell y Meador, 1989).

Por otra parte en los criterios para la calidad del sedimento se considera que la toxicidad aguda ocurre a concentraciones de 1593µg/Kg y por debajo de 141µg/Kg no se presenta toxicidad crónica en aproximadamente el 95 % de las especies (Carwell y Meador, 1989; Dawson, 1992; Schebek, 1991). Otros autores, han realizado estudios de toxicidad en diferentes organismos para determinar la concentración media letal ó LC₅₀ (Duncan, 1987; Carwell, 1986 y Champ, 1986). En la tabla I se presentan algunos organismos y los valores de LC₅₀ calculados para los diferentes compuestos organoestañados:

Tabla I .- Valores de LC₅₀ para diferentes organoestañados

COMPUESTO	ORGANISMO	LC ₅₀
Oxido de tributilestaño	<i>Salmo gardneri</i>	0.69 mg/l (Trucha arcoiris)
	<i>Skeletomena costatum</i>	0.033 mg/l (Diatomea)
	<i>Homarus americanus</i>	0.1 mg/l (larva de langosta)
	<i>Crassostrea gigas</i>	0.16 mg/l (Larva de ostion)
	<i>Bulinus contortus</i>	0.075** mg/l (Molusco)
Acetato de tributilestaño	<i>Biomphalaria glabrata</i>	0.05 mg/l (Molusco)
	<i>Bulinus contortus</i>	0.30 mg/l (Molusco)
Cloruro de tributilestaño	<i>Salmo gardneri</i>	0.50 mg/l (Trucha arcoiris)

** muestra la concentración letal total (LC₁₀₀).

Es oportuno mencionar que los efectos de los TBT's sobre la mayoría de las especies tanto en vertebrados como en invertebrados son mas graves en etapas embrionarias y larvales (Champ, 1986).

Puesto que la mayoría de los organoestañados se sintetizan artificialmente y gran parte de éstos son muy estables, la degradación de los TBT's en el medio marino presenta una gran variedad de procesos. La mayor parte de las veces se lleva a cabo por debutilación, donde los grupos butilo pueden ser oxidados a CO₂ por actividad microbiana:



En el agua de mar las concentraciones de TBT's de 1 µg/L o menos, son degradadas biológicamente resultando vidas medias de 4-14 días; en cambio las altas concentraciones tienen rangos de degradación muy lentos, presumiblemente por inhibición de los organismos que degradan el TBT (Cardwell, 1990).

Los TBT's que se encuentran en el agua se adsorben rápidamente por las partículas que se encuentran en suspensión y son arrastrados al fondo por procesos de sedimentación. En estas condiciones presentan una degradación muy lenta, alcanzando tiempos de vida media de hasta 5 meses (Lee, 1989).

Por otra parte los rangos de degradación en moluscos (vida media) son de 10 a 14 días, a diferencia de los peces donde tienen un rango de degradación de 3 a 7 días. En los mamíferos que presentan metabolismos más rápidos, la vida media de los TBT's es menor a los 7 días.

Entre los procesos físicos que degradan las moléculas organoestañadas el más importante es la fotólisis. Cardwell y Meador (1989) ha mostrado que la radiación ultravioleta en el rango de los 300nm provoca rápida degradación (vidas medias de 1 día).

Legislación y control

Debido a los efectos adversos sobre la biota marina, en la década de los 80's varios países desarrollaron legislaciones prohibiendo el uso de las pinturas antivegetativas con un ingrediente activo basado en estaño. En el Reino Unido en 1986 se prohibió la venta y abastecimiento de pinturas que excedieran el 5.5% de copolimero, y en pinturas que no

contienen copolímeros el estaño no puede exceder el 2.5%. En ese mismo año, el Departamento del Medio Ambiente (DOE) propuso mantener un plan para comprobar la eficacia de dicha legislación: 1) Mantener el estándar de calidad del agua en 20ng/L de estaño y 2) Mantener programa de monitoreo de las zonas mas afectadas.

En 1987 de acuerdo a los resultados del programa de monitoreo, la DOE prohibió el uso de pinturas con base de estaño en botes pequeños (que se mantienen por largos periodos anclados en los muelles) y se redujo la cantidad que determina el estándar de calidad del agua a 2ng/L.

Como resultado de lo anterior y en vista de la necesidad de mantener las instalaciones que se encuentran de alguna manera asociadas con agua (de mar o dulce), países como Australia, Japón y Reino Unido han propuesto nuevas alternativas a este problema, que se centran en la eliminación total del uso de TBT como agente antivegetativo y la implimentación de ciertos dispositivos: Los Británicos han integrado un tipo de pintura que se iguala en eficiencia y duración a las que contienen TBT, esta pintura es denominada BP, y ha sido reconocida como amigable con el medio ambiente (Anonimo, 1992). En Japón la empresa Mitsubishi junto con la Fundación Oceánica y algunos constructores de embarcaciones, ha desarrollado un sistema antivegetativo para los cascos de barcos, este sistema es denominado, por sus siglas en ingles como MAGPET (Marine Growth Prevention by Electrolysis Technology) (Anonimo, 1994). Científicos australianos han adicionado tetraciclina (antibiótico) en las pinturas de cobre tradicionales aumentando así su eficiencia (Peterson, 1993).

En México todavía no se han realizado estudios previos sobre esa clase de compuestos, de manera que no se ha propuesto ninguna ley para la regulación del uso y emisión de TBT's. Sin embargo su utilización es común, por las ventajas que estas representan.

En particular, el puerto de Ensenada, cuenta con la infraestructura suficiente para dar servicio de mantenimiento a todo tipo de embarcaciones, y con una marina en funcionamiento, el uso de pinturas antivegetativas con base de estaño es continuo.

Este hecho aunado con los planes de desarrollo derivados de la privatización del puerto; como el de una estación para cruceros turísticos y el desarrollo de una segunda marina, así como la prohibición de este tipo de pinturas en el estado de California, incrementará el número de embarcaciones turísticas pequeñas que se trasladen a Ensenada, para reparación y pintado, y por lo tanto la emisión de estos compuestos se incrementaría. Por estas razones se hacen necesarios estudios de líneas de referencia de TBT's.

ANTECEDENTES

Diversos estudios realizados para determinar la contaminación de bahías y esteros, dentro de los cuales exista una instalación portuaria, han puesto de manifiesto la importancia de un programa de control de la calidad de las condiciones de las mismas (Salas-Flores, 1984), evitándose de esa manera el impacto que sufre el medio marino con el uso de organometálicos.

Hace aproximadamente 35 años los compuestos organoestañados empezaron a usarse como agentes antivegetativos, pero no es sino hasta apenas 12 años que se inician estudios para observar los efectos sobre el medio ambiente (Champ, 1986).

Algunos autores han estudiado los niveles de estaño y compuestos organoestañados en agua (Hodge y Seidel 1979), sedimento (Cleary, 1987; Donard, 1985; Valkirs, 1986) y en determinados organismos como el ostión (Han, 1988). En estos estudios se ha encontrado que las concentraciones en las zonas costeras con un elevado tráfico de embarcaciones presentaban valores promedio de 45 ng/L en agua, 306 ng/g, 490 ng/g en sedimento y de 2230 ng/g en los ostiones.

En 1986, 1987 y 1990 se realizaron tres congresos con la finalidad de presentar los trabajos de investigación más destacados en cuanto al comportamiento y niveles de compuestos organoestañados en el medio ambiente. La mayoría de los trabajos publicados provienen de Estados Unidos y el Reino Unido, pero otros países como Japón, Australia y Francia también han realizado una gran cantidad de trabajos, la mayoría enfocados a conocer y evitar los efectos dañinos al medio.

El Reino Unido, en 1986, fue el primero en emitir una ley donde se regulara la emisión de estos compuestos al agua, tanto dulce como de mar, con base en esto otros países, como Estados Unidos tomaron medidas similares.

Después de las limitaciones impuestas para el uso de los organoestañados, los trabajos realizados por Dawson (1991), Dyrinda (1992), Chen (1992), Huggett (1992), Cai (1993), Evans (1995) y Langston (1995) muestran la disminución en las concentraciones de dichos compuestos y proponen mejoras a las metodologías para su detección en diferentes sustratos.

OBJETIVOS

General:

Evaluar la concentración de monobutilestaño, dibutilestaño y tributilestaño en agua y sedimentos superficiales del puerto de Ensenada B.C., aplicando un sistema de análisis y cuantificación para estos compuestos, con el fin de establecer los niveles de referencia y las posibles fuentes.

Particulares:

- a) Aplicar un sistema de análisis y cuantificación para compuestos organometálicos.
- b) Establecer los niveles de compuestos organometálicos provenientes de las pinturas antivegetativas.
- c) Identificar las fuentes y los sitios con mayores problemas de contaminación.
- d) Tratar de deducir los procesos que controlan la distribución de los compuestos organoestañados en el puerto.

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

La Bahía de Todos Santos (figura 1) se encuentra localizada sobre la costa oeste de la península de Baja California, entre los $116^{\circ} 36'$ y los $116^{\circ} 46'$ de longitud oeste y a los $31^{\circ} 43'$ y $31^{\circ} 55'$ de latitud norte, cubriendo un área aproximada de 25 hectáreas. La Bahía presenta una forma trapezoidal con una longitud de 18.5 Km de largo y 14.4 Km de ancho. Tiene un promedio de profundidad menor a los 50m y presenta bajos de 6m, entre las Islas Todos Santos y Punta Banda. Al sur de la Bahía se encuentra un cañón submarino con profundidades de hasta 400 metros (González-Villagran, 1992).

En la Bahía se encuentra el Puerto de Ensenada (figura 2) situado en el extremo nororiental a los $116^{\circ} 38' 15''$ y $116^{\circ} 37' 10''$ de longitud oeste y, los $31^{\circ} 51' 26''$ y $30^{\circ} 50' 20''$ de latitud norte. Limita al oeste con puntas rocosas intercaladas con playas de bolsillo donde el tamaño del sedimento va de arenas a cantos rodados. Al sur colinda con una extensa playa arenosa por la cual desemboca el arroyo El Gallo y del este, dentro del puerto, se reciben las descargas intermitentes del arroyo Ensenada (Van Dooren, 1991).

El puerto se encuentra protegido por un rompeolas, cuya longitud es de 1640 m. Cuenta también con un espigón denominado El Gallo localizado al norte de la rada con una longitud de 855 m. Es clasificado como puerto de altura y cuenta con una superficie aproximada de 1.95 km². La batimetría presenta una pendiente suave con profundidades de 1.5 m a 11 m. Los puntos adyacentes a los muelles de cabotaje y altura son los que presentan las mayores profundidades y en general las isóbatas decrecen del extremo oriental al occidental (Salas-Flores, 1984).

Actualmente es considerado como uno de los más modernos y mejor equipados de México, considerándose relevante por su cercanía con los Estados Unidos y otros de los países que componen la cuenca del Pacífico (González-Villagran 1992).

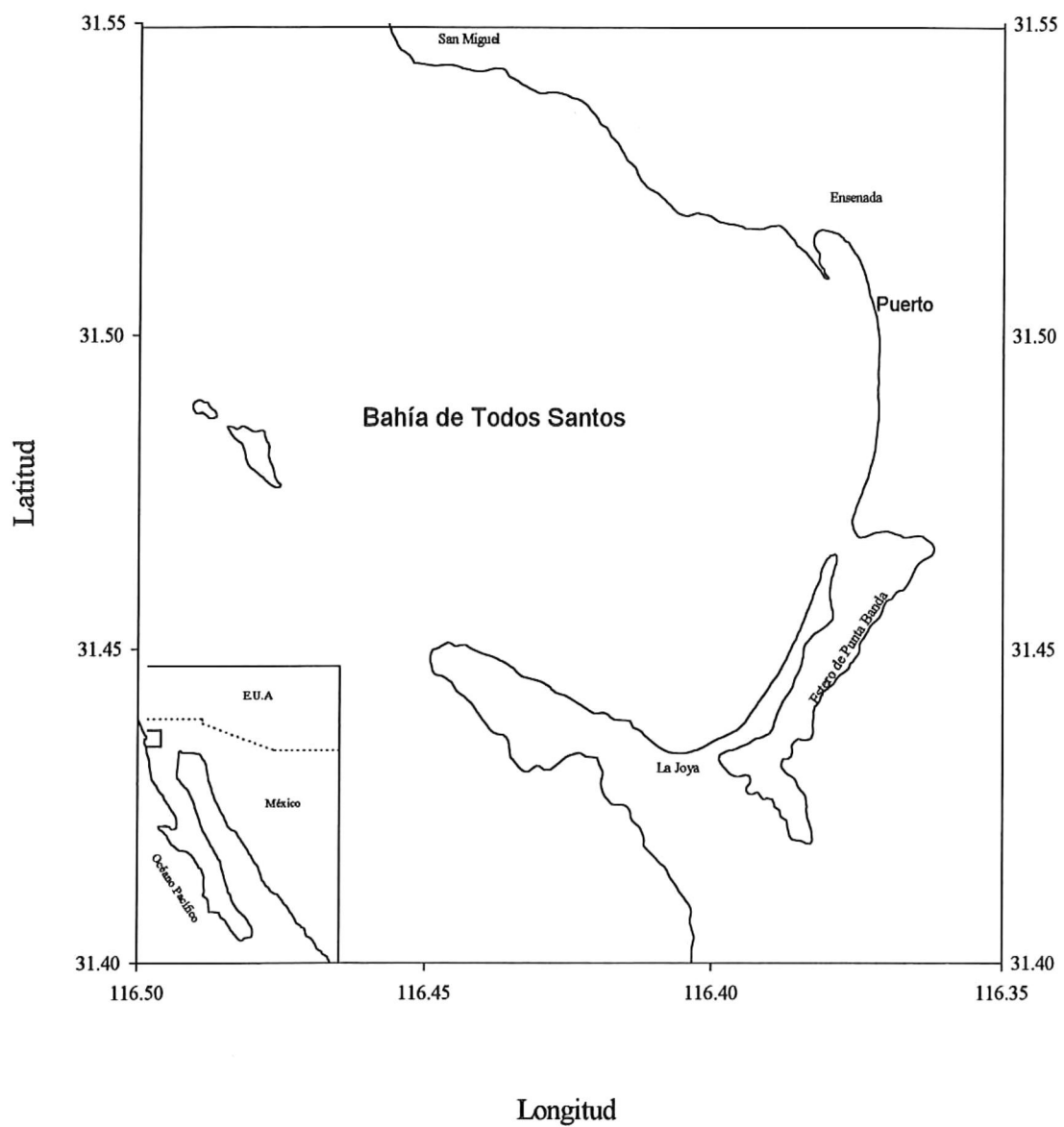


Figura 1.- Localización de la de la zona de muestreo.

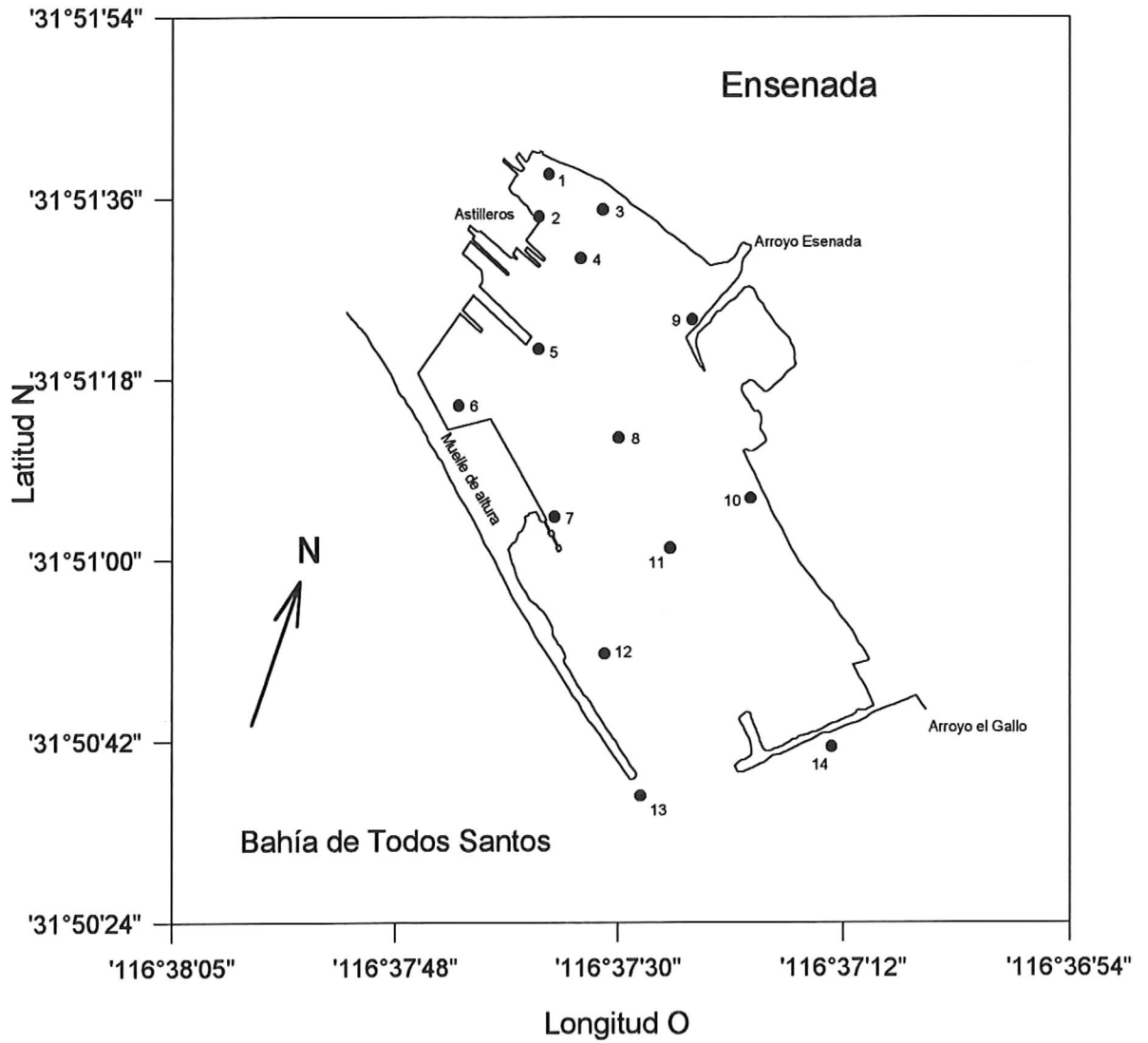


Figura 2.- Localización de las estaciones de muestreo dentro del Puerto de Ensenada B.C.

METODOLOGÍA

Colecta de las muestras

La colecta de muestras de sedimento se llevó a cabo en el mes de septiembre y las muestras de agua en el mes de octubre de 1995. Se establecieron 14 estaciones divididas en cinco transectos, 4 de los cuales se realizaron dentro del puerto (Figura 2) con dirección este-oeste y el quinto transecto se realizó en la entrada del puerto avanzando hacia la zona de descarga del arroyo El Gallo.

Las muestras de sedimentos se obtuvieron con una draga Van Veen de 1kg de capacidad. Fueron extraídas de la parte superficial del sedimento contenido en la draga usando una espátula y guantes de plástico. Cada muestra fue de aproximadamente 300g que se guardaron en bolsas de plástico grueso previamente lavadas con jabón Micro® y enjuagadas con agua deionizada. Las muestras se enfriaron con hielo en el transcurso del muestreo y se mantuvieron congeladas a -20°C cubiertas de la luz hasta su análisis para minimizar la degradación biológica y fotolítica. De la misma muestra se tomó una porción para determinar porcentaje de materia orgánica, humedad y tamaño de grano.

Las muestras de agua se tomaron en botellas de policarbonato (250 y 500 ml) previamente lavadas y secas. El agua se tomó, introduciendo la botella rápidamente a unos 40cm de la superficie y tapándola antes de sacarla del agua. Tanto las muestras de agua como las de sedimento fueron tomadas por duplicado (replicas reales).

Durante el muestreo se midió pH, salinidad y temperatura en la superficie del agua.

El pH fue medido por medio de un potenciómetro equipado con un electrodo marca Orion. El electrodo fue calibrado con soluciones buffer (tris en agua de mar) de 7.424 y 8.879 unidades de pH, la temperatura se tomó con un sensor que se conectó al

potenciometro y donde se registraron las temperaturas en $^{\circ}\text{C}$, y la salinidad fue determinada por medio de un refractómetro.

Desarrollo analítico

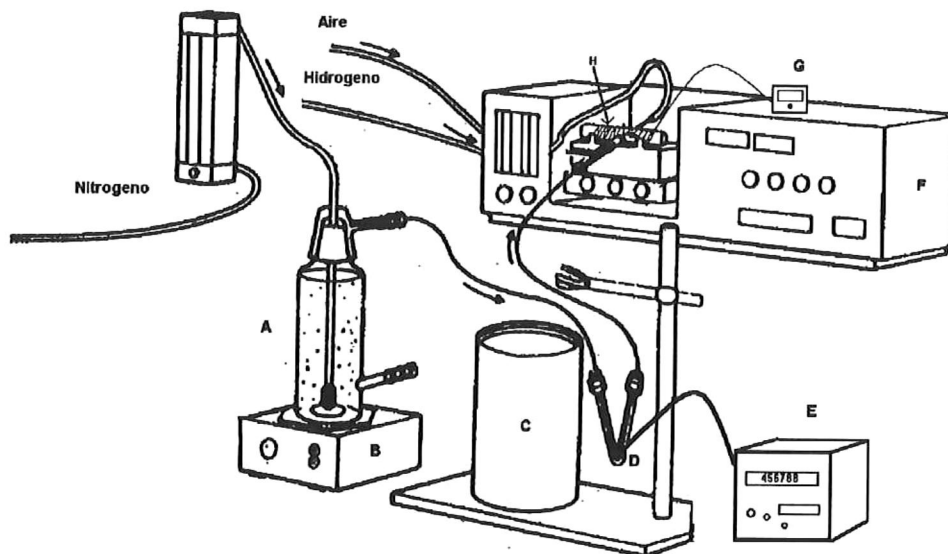
Limpieza del material

El material se descontaminó de la siguiente manera: La cristalería fue lavada y sumegida en una solución de jabón micro al 3% durante una semana, posteriormente se enjuagó hasta eliminar completamente el jabón y se colocó en ácido nítrico al 33% (Baker Analyzed) durante una semana, por ultimo se sumergió en agua deionizada, en donde se mantuvo hasta su uso. El material de plástico siguió un protocolo similar, a excepción del ácido nítrico que fue sustituido por ácido clorhídrico (Baker Analyzed). Antes de ser usado, el material se enjuagó con metanol (B&J, HPLC).

Las trampas cromatográficas (tubo de vidrio) se silanizaron durante 24 horas con Trimetilclorosilano (Sigma) al 10% y las líneas de teflón fueron lavadas con un flujo de metanol. El reactor se lavó con jabón Micro[®] y se enjuagó con agua deionizada y metanol.

Extracción de los compuestos organoestañados

La extracción de los butilestaños en muestras de sedimento, se realizó de acuerdo al método descrito por Cai (1992), con algunas modificaciones. Esta metodología consiste en secar el sedimento a una temperatura de 40°C y colocar aproximadamente 3g de sedimento seco en tubos de plástico de 50 ml para centrifuga y se les adicionaron 25ml de ácido clorhídrico 0.5N en metanol, se taparon y se colocaron en un baño con ultrasonido por 2 horas, una vez terminada la extracción se centrifugó por 20 min a 10000 r.p.m. para separar el sedimento. El sobrenadante se transfiriere por decantación a botellas de plástico de 30ml para su posterior análisis.



- A) Generador de hidruros (reactor)
- B) Agitador magnético
- C) Nitrógeno líquido
- D) Trampa cromatográfica
- E) Controlador de temperaturas para la trampa
- F) Espectrofotómetro de absorción atómica (AAS)
- G) Controlador de temperatura para la celda
- H) Celda de cuarzo

Figura 3.- Esquema del instrumento analítico

Las botellas conteniendo el extracto se almacenaron a 5°C y se mantuvieron forradas con papel aluminio para evitar el contacto con la luz hasta el momento de su análisis, el cual se realizó al día siguiente para evitar pérdidas por degradación.

A la par de las muestras se analizaron blancos de procedimiento (sin sedimento), para mantener un control de calidad en la metodología. Se efectuó también un análisis con sedimento libre de TBT's y enriquecido con soluciones estándares de concentración conocida para estimar el porcentaje de recuperación. Para eliminar los TBT's que pudiera contener el sedimento, se colocó en la mufla a 450°C durante 4 horas, este proceso quema todo el material orgánico y por tanto desintegra totalmente a las moléculas de TBT's.

El análisis de las muestras de agua se realizó colocando la muestra directamente en el sistema analizador, de igual forma se corrieron blancos y estándares de recuperación.

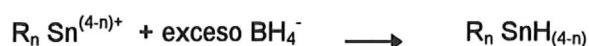
Cuantificación de los compuestos organoestañados

El equipo utilizado para el análisis de los organometales se muestra en la figura 3. Este consta de un envase de reacción de vidrio pyrex (reactor), que tiene una entrada en la parte superior, por la cual se introduce un burbujeador. El reactor tiene también otra entrada en la parte inferior por la que se inyecta el agente reductor y una salida por la parte superior del reactor (para las sustancias volátiles). Esta salida está conectada a través de un tubo de teflón a una microcolumna pyrex en forma de "V" que contiene 25mg de empaque cromatográfico (3% OV-1 en cromosorb 80-100 mallas) cuya función es atrapar a las sustancias volátiles en frío. Esto se logra sumergiendo la trampa en nitrógeno líquido, previamente a la adición del agente reductor. Después de atrapar los compuestos se le retira del nitrógeno líquido y se calienta por medio de una resistencia eléctrica. La resistencia está regulada por un controlador de temperatura programable que permite generar rampas de temperatura. La separación de las distintas especies en análisis se basa en los puntos de ebullición de cada especie. La trampa se conecta a una celda de cuarzo montada sobre el

haz de luz de absorción atómica, se calienta a 800°C con una resistencia eléctrica regulada por otro controlador de temperatura que la mantiene constante (tabla II).

Para generar la flama que produce la combustión de las moléculas orgánicas y permite la cuantificación del estaño, se utiliza hidrógeno y aire, que están conectados directamente a la celda de cuarzo. Por la parte inferior de la celda se conecta la línea que conduce al nitrógeno que funciona como gas acarreador de los compuestos volátiles que se generan en el reactor. La tubería que se usa para la conducción de la muestra es de teflón y todas las uniones de esta con la trampa y la celda son selladas con cinta de teflón.

Para las muestras de sedimento, el reactor se llena con 100ml de agua deionizada a la cual se agregan 2ml de ácido acético 2N (Spectrum 99%) y 1 ml del extracto de sedimentos, se tapa y se pone en agitación. Al mismo tiempo, se coloca el flujo de nitrógeno y la trampa dentro del nitrógeno líquido. Luego se inyecta por la base del reactor 2 ml de borohidruro de sodio (Fisher Scientific) preparado al 4% en una solución de hidróxido de sodio. El borohidruro de sodio reacciona con los organoestañados de la siguiente manera:



Después de 5 minutos la trampa es retirada del N₂ líquido y se mantuvo a temperatura ambiente hasta que se detecta el estaño libre, seguido de este el monobutilestaño, después se inicia el calentamiento que va de 10°C a 200°C en tres minutos para obtener primero el dibutil y después el tributilestaño.

Para el análisis de las muestras de agua, se coloca la muestra dentro del reactor y se llevan a cabo los mismos pasos que se siguieron para el análisis del sedimento (Chen 1992, Stallard 1988). La tabla II muestra las condiciones de trabajo.

Tabla II .- Parámetros óptimos de para HG-AAS

Generación de hidruros y en la trampa criogénica.

Gas transportador a 50 ml/min.
 Ajustar a un pH de 2
 Agregar 2ml de borohidruro de sodio
 Sumergir en trampa criogénica a -196 C por 5min. y calentar a 200°C.

La detección por Espectrometría de Absorción Atómica

Atomización en la celda de cuarzo
 Temperatura 800° C
 Flujo del Hidrógeno 220ml/min.
 Flujo del Aire 140ml/min.
 Fuente de luz a 7.5Volts
 Con longitud de onda de 286.3nm
 No se usa corrección por lámpara de deuterio (Chen 1992).

En las fig. 4 y 5 se resume el procedimiento analítico que comprendió la determinación de los butilestaños para agua y sedimento respectivamente.

Para cuantificar los compuestos se realizaron curvas de calibración con estándares individuales de DBT y TBT (Fluka Chemika 97% pureza) y MTB (Aldrich Chem. Co. 95% de pureza), la determinación de los tiempos de retención para cada compuesto se realizó directamente de la inyección, primero del compuesto individual y después de la inyección de una mezcla de los 3 estándares

La captura y procesamiento de las señales se realizó con un integrador electrónico marca PE nelson modelo 1020x. Los ajustes que se emplearon para los tres compuestos son lineales realizados con 4 puntos, y todos presentaron una buena correlación ($r^2 > 0.9$).

Las concentraciones empleadas en las calibraciones fueron de 50, 100, 200 y 300 ng-Sn/ml para el MBT y DBT. Para el TBT se utilizaron concentraciones de 100, 200, 300 y 400 ng-Sn/ml.

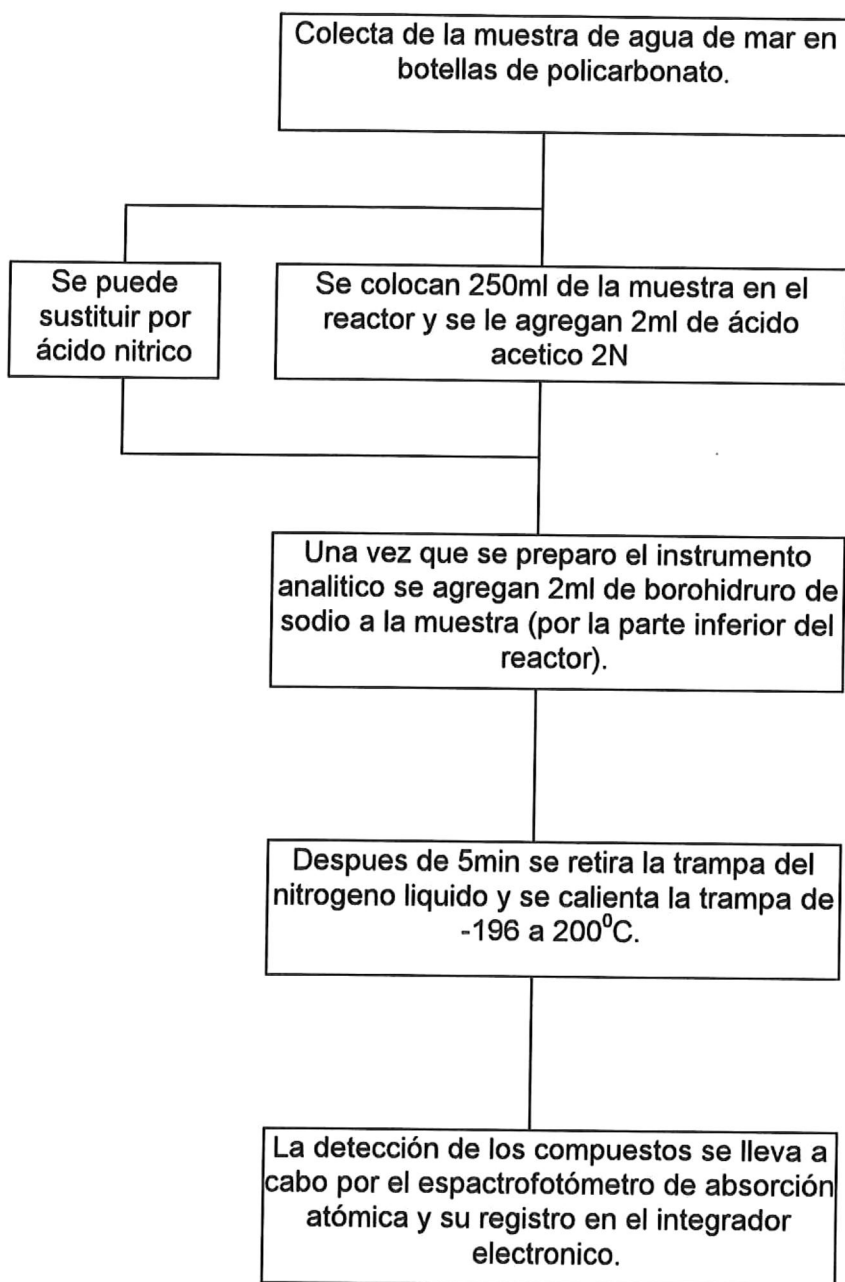


Figura 4 .- Procedimiento para el análisis de las muestras de agua.

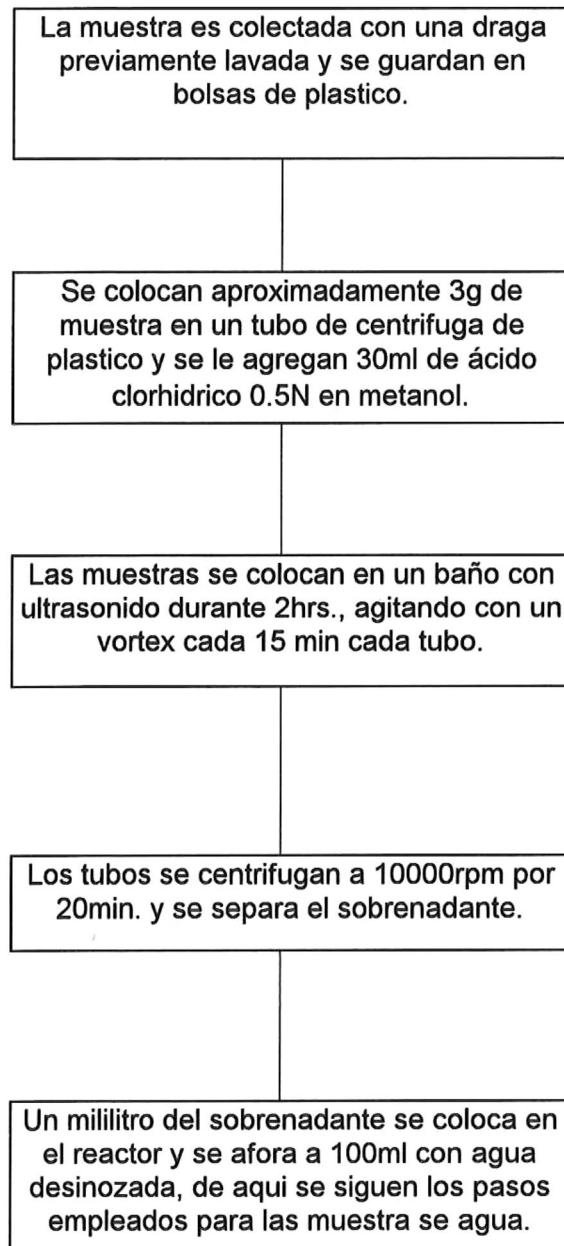


Figura 5 .- Proceso para la extracción y el análisis de la muestras de sedimentos.

El límite de detección (LD) fue calculado por el cociente obtenido de utilizar 3 veces la desviación estándar del ruido, el cual está definido como la señal total comprendida en el cromatograma de un blanco que incluya el rango de aparición de los compuestos de interés, entre la pendiente generada para cada compuesto (Porter, 1988).

$$LD = \frac{3 \text{ SD (ruido)}}{\text{Pendiente}}$$

Los compuestos se identificaron en base a los tiempos de retención (t_r) obtenidos de los estándares. En algunos casos existieron desfases en los tiempos de retención, ya que el manejo del aparato en su mayoría es manual.

La cuantificación de los butilestaños se realizó utilizando el área de los picos en los cromatogramas correspondientes a cada compuesto. Con el objeto de verificar la integración de los picos se revisó cada uno de los cromatogramas y se corrigió manualmente, pues en ocasiones el programa integró señales de dos picos diferentes.

Las concentraciones se obtuvieron a partir de la curva de calibración, empleando los valores de la pendiente y la ordenada al origen, sustituyendo en la ecuación de la recta

$$y=mx+b$$

Donde: **m** es la pendiente, **x** el área del compuesto, **b** la ordenada y **y** la concentración. Para las muestras de sedimento, la concentración (**y**) se refiere al volumen contenido en el extracto y a la cantidad de sedimento analizada. En las muestras de agua se refieren solamente al volumen analizado, lo que nos da la concentración real de las muestras, en ng-Sn/g de sedimento y de agua de mar en ng/L.

Las pruebas realizadas al sedimento consistieron de la determinación de humedad así como el contenido de materia orgánica que fue obtenido mediante la pérdida por ignición

(LOI por sus siglas en inglés) de la muestra (Dean 1974) y el porcentaje de material menor a 63mm fue determinado por tamizado en húmedo.

Procesamiento de la información

De los resultados obtenidos para las muestras de agua y sedimento se crearon las distribuciones espaciales por medio de isoclinas de concentración. Las isoclinas se desarrollaron por el método de Interpolación de Krigin (Davis, 1989). También se efectuó la regresión lineal con la materia orgánica en las muestras de sedimento.

Para el análisis de agrupamientos (Davis, 1989) se incluyeron las estaciones con las concentraciones individuales de los compuestos analizados, así como el porcentaje de materia orgánica y porcentaje de sedimento menor a 63 μ m. En muestras de agua se integraron como variables el pH y salinidad. El análisis fue realizado en el modo **Q**, y se generó utilizando distancias Euclidianas previa estandarización (**Z**) de estos, para eliminar las diferencias de escalas entre los valores, con el objetivo de asociar los principales grupos e identificar zonas con características similares.

RESULTADOS

En la tabla III se muestran los valores para la salinidad y el pH los cuales se mantienen sin cambio aparente, mientras que las concentraciones de los butilestaños se presentan en forma irregular, estando ausentes en las estaciones 10 y 13, la 2 y 6 solamente presentan MTB estando el valor más alto de este en la estación 6. Casi todas las estaciones presentan MTB, DTB y TBT. En la estación 3 se observan las concentraciones más altas, a diferencia de la estación 6 donde no se presentan. Por otra parte, los valores de materia orgánica (M.O.) y fracción menor a $63\mu\text{m}$ muestran una clara tendencia a aumentar en dirección a la estación 1, en ambos casos.

En la tabla IV se presentan las variables medidas para las muestras de agua, donde es posible observar la ausencia de compuestos en la estación 10 y 13. Los valores más altos se presentaron en la estación 1 y 3 para el DBT y TBT respectivamente. La salinidad, el pH y la temperatura se mantuvieron constantes durante toda la medición.

En la figura 6 se muestran algunos cromatogramas característicos que se obtuvieron durante el análisis de las muestras. La figura 6a muestra el cromatograma de la mezcla de estándares, presenta la señal del estaño así como la de mono, di y tributilestaño respectivamente. La figura 6b, muestra un cromatograma del blanco que sin contaminación por los compuestos analizados, aunque se observa un pico considerable en los primeros momentos de la corrida que se debe a contaminación por estaño contenido en el borhidruro de sodio, esto sin embargo, no interfiere con las determinaciones.

Por último las figuras 6c y 6d muestran los cromatogramas característicos del análisis de muestras de agua y sedimento. Se aprecia que el monobutil se presenta muy cerca del estaño libre.

La figura 7 presenta de manera gráfica las concentraciones totales de los Butilestaños (BT) tanto en las muestras de agua como de sedimento. En el inciso (a) se

Tabla III.- Concentración (ng-Sn/g) de los compuestos butilestañados en sedimento y variables fisicoquímicas sedimentológicas

Estaciones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S%	34	35	38	36	35	37	38	37	38	36	38	36
pH	8.202	8.3407	8.082	8.495	8.495	8.582	8.289	8.341	7.841	8.289	8.5475	8.5131
T C	27.9	28.8	28.2	27.7	27.8	26.8	27.5	28.1	29.4	27.7	27.7	27.3
%Hum	44.98	50.036	44.53	40.601	33.317	43.913	34.846	33.49	33.59	38.023	36.981	33.71
%MO	10.409	5.566	9.164	9.208	5.1695	7.2264	4.4519	5.274	4.918	7.1708	4.5757	3.2329
%<4phi	53.762	62.89	69.38	68.918	35.018	55.433	28.033	39.87	8.16	32.341	36.353	22.818
Mono	116.72	172.43	54.93	54.364	35.263	*	75.171	33	81.62	88.124	50.727	32.116
Dibutil	370.39	369.61	235.15	189.12	*	*	*	*	*	216.69	66.373	63.672
Tributil	534.27	543.05	569.05	504.28	*	*	*	*	*	462.41	*	537.08
TBT total	1021.4	1085.1	859.13	747.76	35.263		75.171	33	81.62	767.22	117.1	632.87

*Concentraciones por debajo del límite de detección (Monobutil 1ng-Sn/ml, Dibutil <1ng-Sn/ml y Tributil 49.8 ng-Sn/ml)

** El calculo se realizó en base a peso seco

Tabla IV .- Concentración (ng-Sn/L) de los compuestos butilestañados en muestras de agua y variables fisicoquímicas

Estaciones	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
S%	34	35	34.5	35	34	35	35	35	34.5	35	35	35	35	33
Ph	7.9	7.9	8	8	8.1	8.1	8.2	8.1	8	8.1	8.2	8	8.1	7.9
T C	19	20	21	21	21	20	21	19	21	21	19	20	20	20
Mono	6.2871	27.08	15.811	28.033	18.549	66.024	21.168	43.73	14.65	^	19.934	17.355	^	12.396
Dibutil	95.887	^	119.91	62.842	65.753	^	48.938	102.9	37.78	^	87.755	38.224	^	42.342
Tributil	306.23	^	333.93	286.15	270.35	^	252.17	314.3	239.3	^	296.87	239.77	^	244.52
TBT Total	408.4	27.08	469.65	377.03	354.65	66.024	322.28	460.93	291.73		404.56	295.35		299.26

^Concentraciones por debajo del límite de detección (Monobutil 1ng-Sn/ml, Dibutil <1ng-Sn/ml y Tributil 49.8 ng-Sn/ml)

^^ en ng-Sn/g

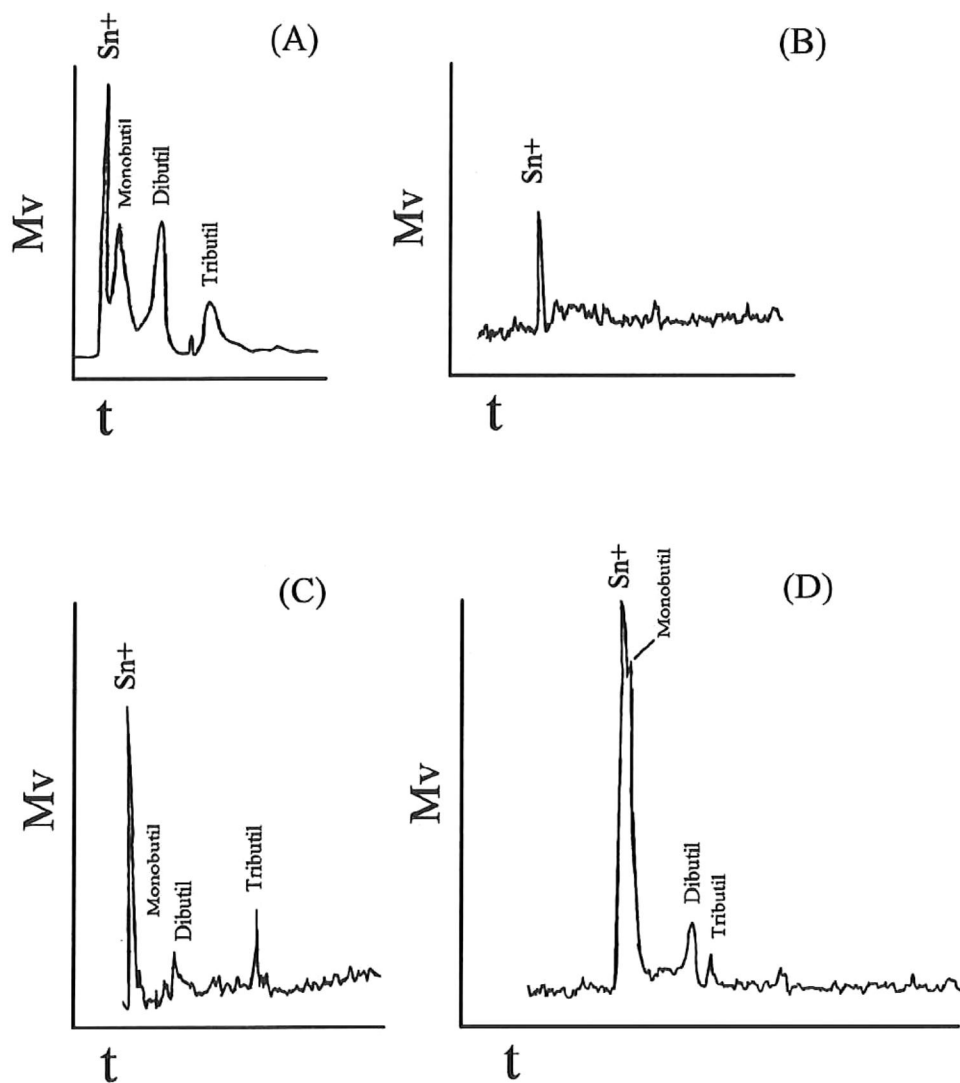


Figura 6.- Crogratogramas característicos para oranoestañados en estándares (a), Blancos (b), muestras de agua (c) y sedimento (d).

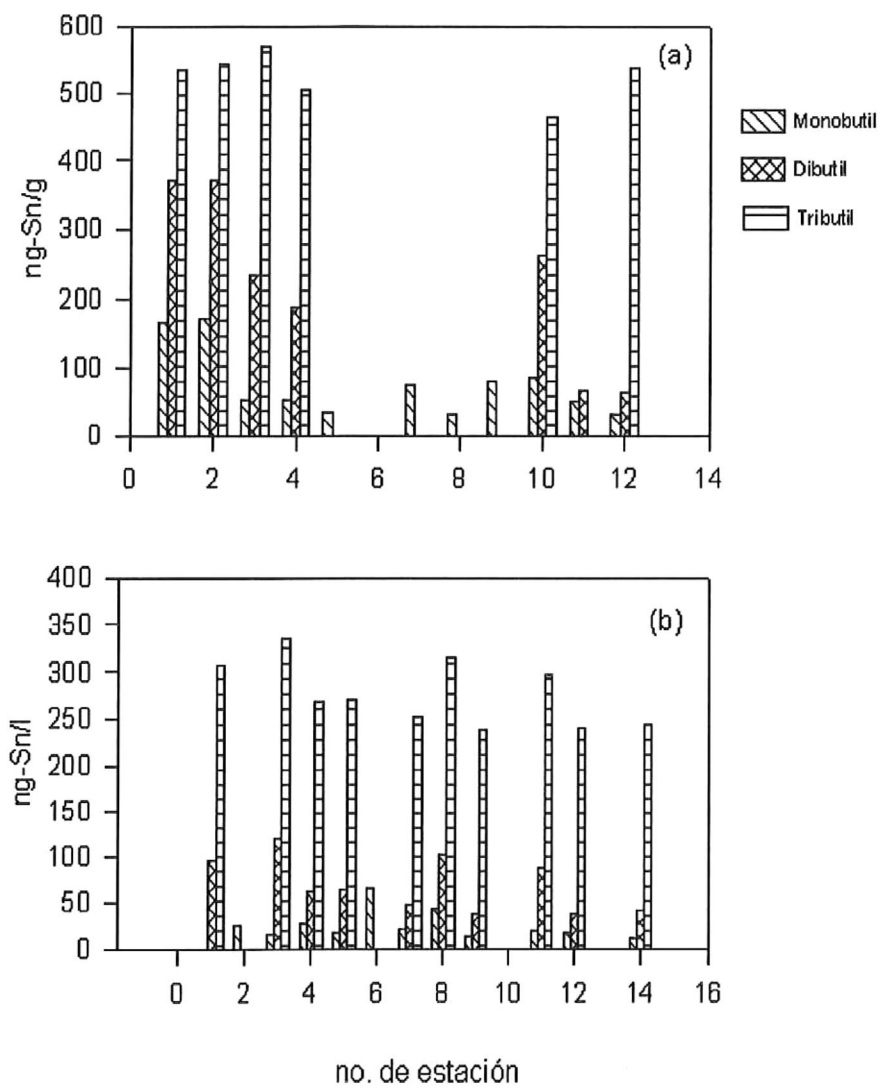


Figura 7.- Concentración de mono, di y tributil estaño en muestras de sedimento (a) y agua (b).

observa de manera clara la ausencia de los compuestos en las estaciones del centro, mientras que en los extremos encontramos altas concentraciones, sin embargo en el inciso (b) la distribución de la concentración es más homogénea a lo largo de todas las estaciones. La secuencia observada de la concentración en todas las estaciones fue TBT>DBT>MTB.

La correlación de la materia orgánica y la concentración para muestras de sedimento se presenta en la figura 8, donde se observa un agrupamiento de estaciones en la parte inferior izquierda de la gráfica con un bajo contenido de material orgánico y de butilestaños. La estación 12 destaca por su bajo contenido de materia orgánica y alto contenido de butilestaños, mientras que el resto de las estaciones se mantienen alejadas hacia valores altos de materia orgánica y butilestaños. Por último se presenta un coeficiente de correlación de $r^2 = 0.614$.

La distribución espacial de la materia orgánica muestra (figura 9) los valores más altos en las estaciones más alejadas de la entrada y la concentración disminuye de manera gradual hacia la entrada del puerto.

La figura 10 muestra un punto de alta concentración que se encuentra en las estaciones 1, 2, 3 y 4 y como con la materia orgánica, se presentan concentraciones relativamente altas en la parte izquierda del puerto, mientras que hacia la entrada disminuyen.

El dibutil (figura 11) muestra un fuerte gradiente descendiente de concentración en la parte superior del puerto, y otro sobre el costado izquierdo, provocando que las concentraciones más bajas se localicen en la darsena de maniobras. Por otro lado en la figura 12 se observa una distribución muy similar a las anteriores; en el punto más alejado de la entrada, sin embargo en la parte cercana a la entrada, el gradiente se presenta de la estación 12 disminuyendo hacia el centro del puerto y manteniendo bajas concentraciones en la darsena de maniobras.

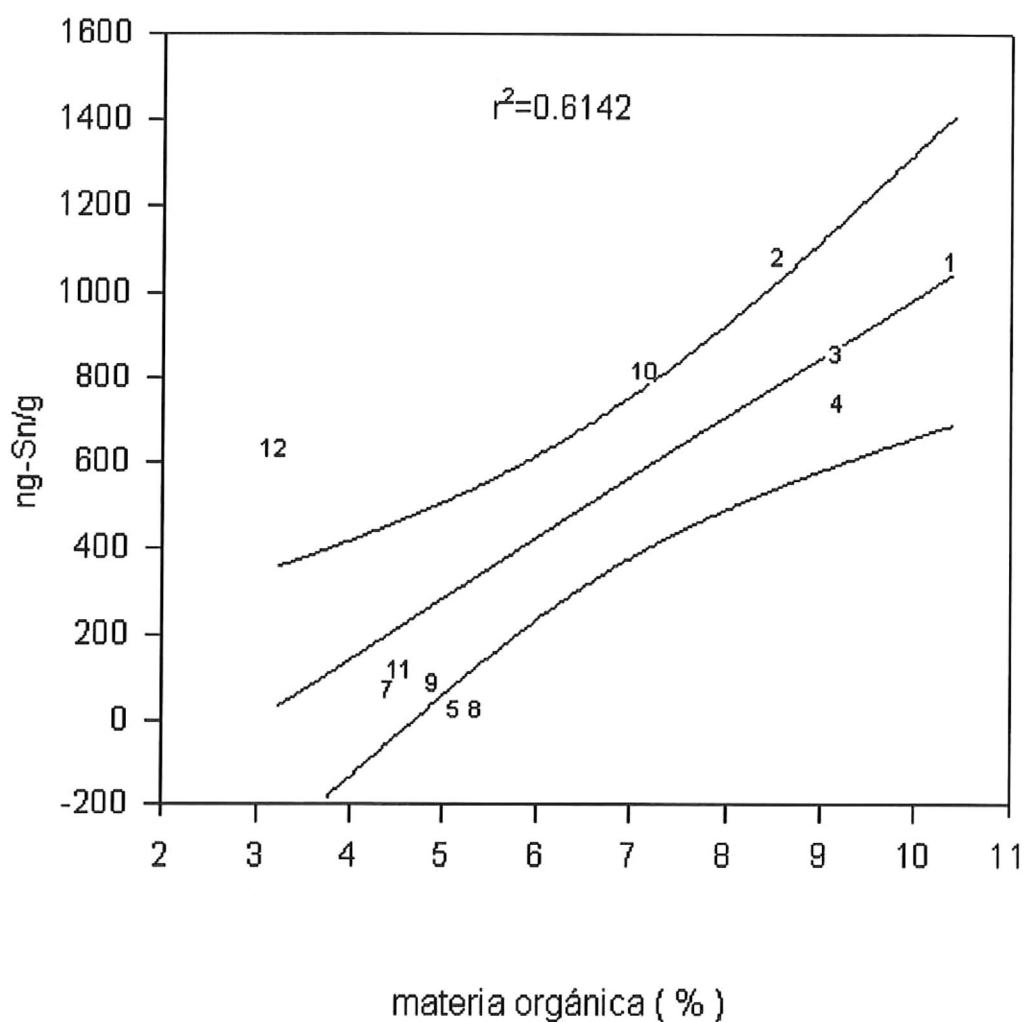


Figura 8.- Correlación de la materia orgánica y la concentración total de butilestaños por estación en muestras de sedimento.

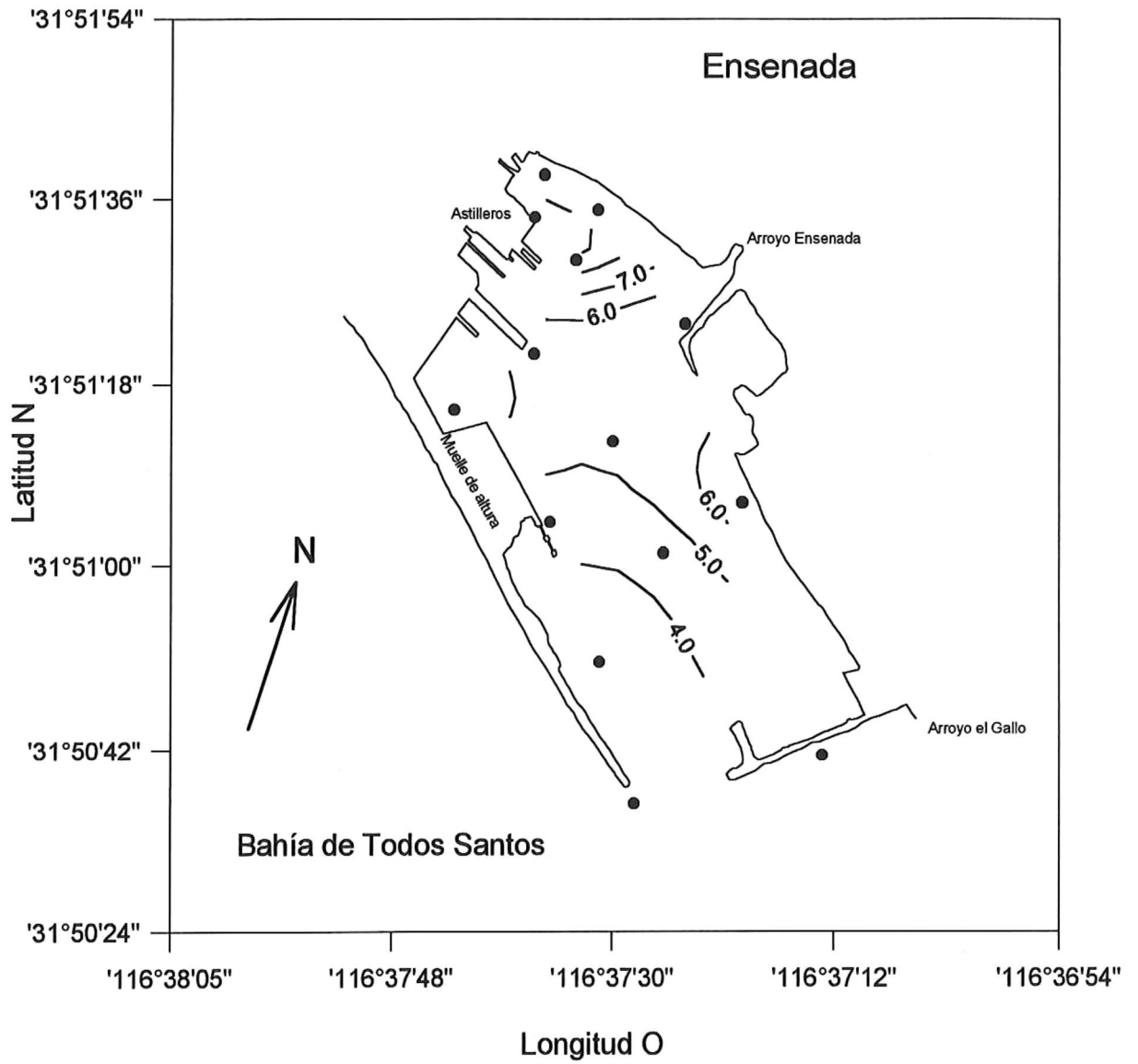


Figura 9.- Distribución espacial del porcentaje de materia organica en sedimentos.

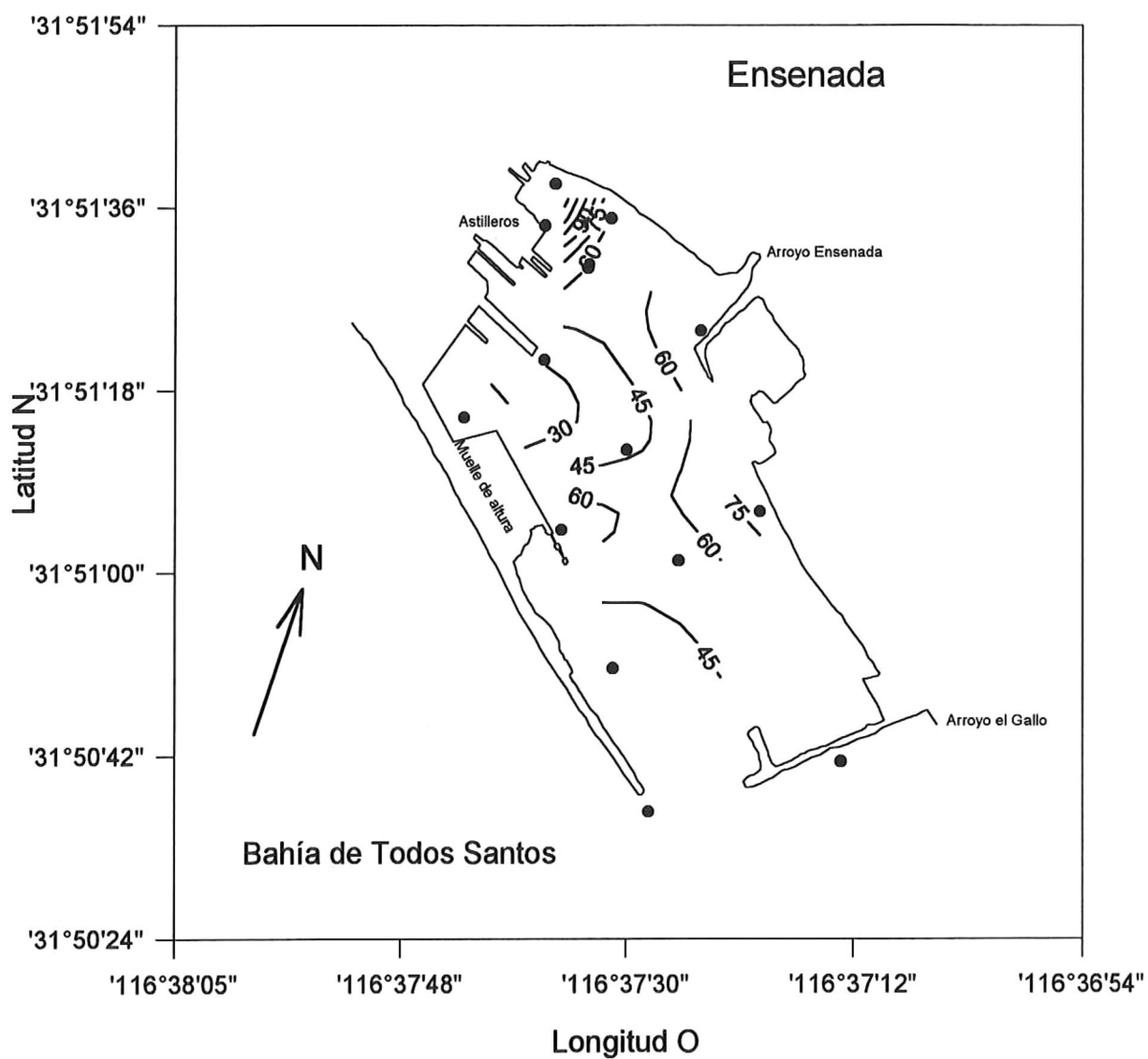


Figura 10.- Distribución espacial de monobutilestaño en sedimentos superficiales en concentraciones de ng-Sn/g.

En la figura 13 el valor máximo se presenta en la darsena de maniobras, con un decremento de la concentración hacia la parte izquierda del puerto, siendo muy baja en la entrada del puerto. En cuanto al DBT (figura 14) se presenta una alta concentración justo en el centro del puerto, y otra de igual magnitud alrededor de las estaciones 1 y 2, disminuyendo la concentración hacia los extremos.

La figura 15 muestra el comportamiento del tributilestaño donde se observa una banda en el centro del puerto, partiendo de las estaciones 1 y 2, y disminuye su concentración hacia los extremos, de manera muy similar que en los casos anteriores, pero con la marcada diferencia en las concentraciones.

Por último se aplicó un análisis de agrupamientos.

Para las muestras de agua (figura 16b) se identificaron los principales grupos a una distancia Euclidiana de 0.4, este valor se eligió revisando agrupamientos realizados con diferentes métodos, sin encontrarse diferencias significativas.

Se presentaron 3 grupos. La estación 6 como un grupo aislado, las estaciones 13, 10 y 2 como un segundo grupo y las restantes conformaron el tercer grupo.

De la misma manera se realizó el análisis para las muestras de sedimento (figura 16a), encontrando una distancia Euclidiana de 0.5 que nos genera 3 grupos.

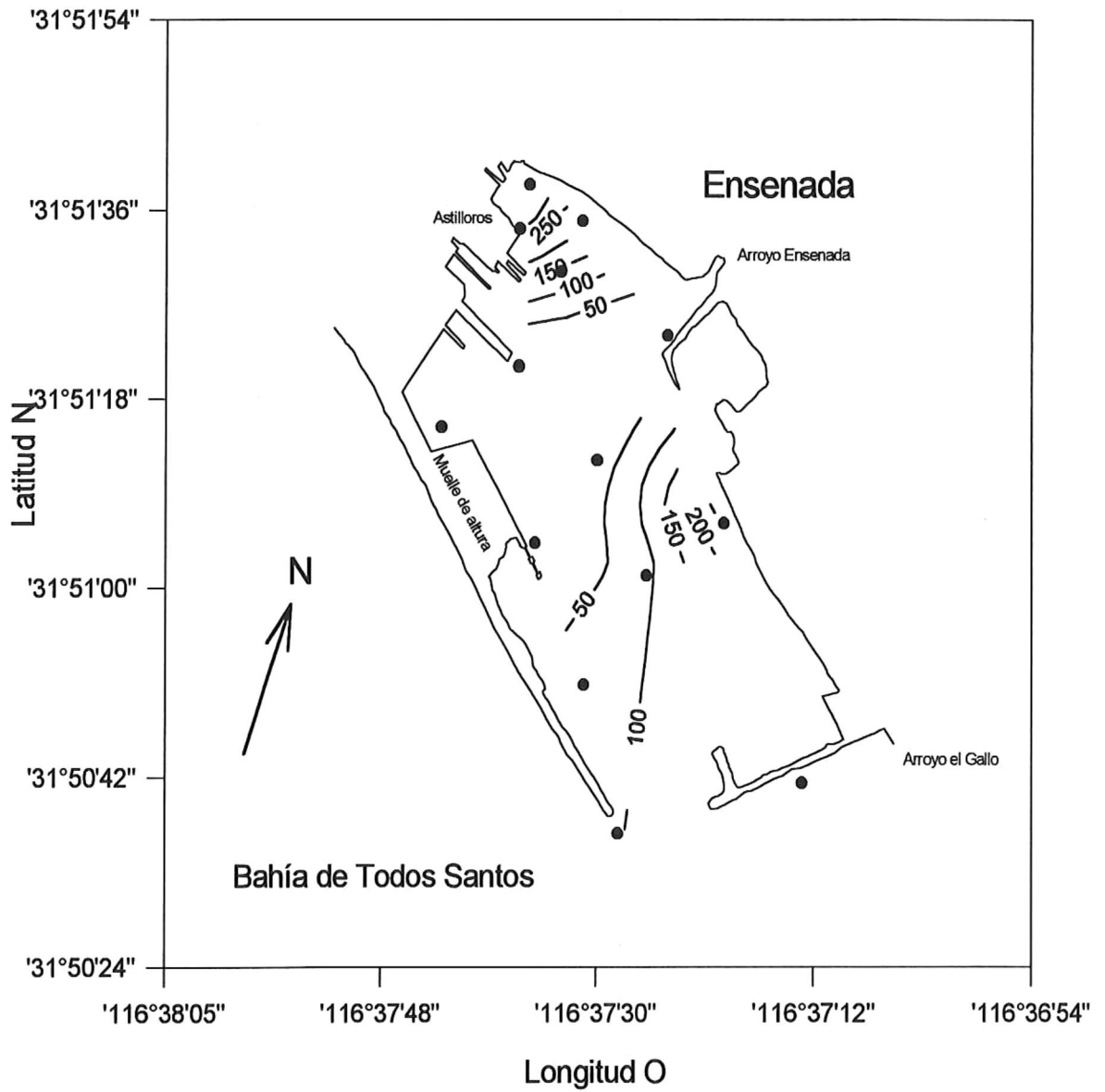


Figura 11.- Distribución espacial de dibutilestaño en sedimentos superficiales en concentraciones de ng-Sn/g.

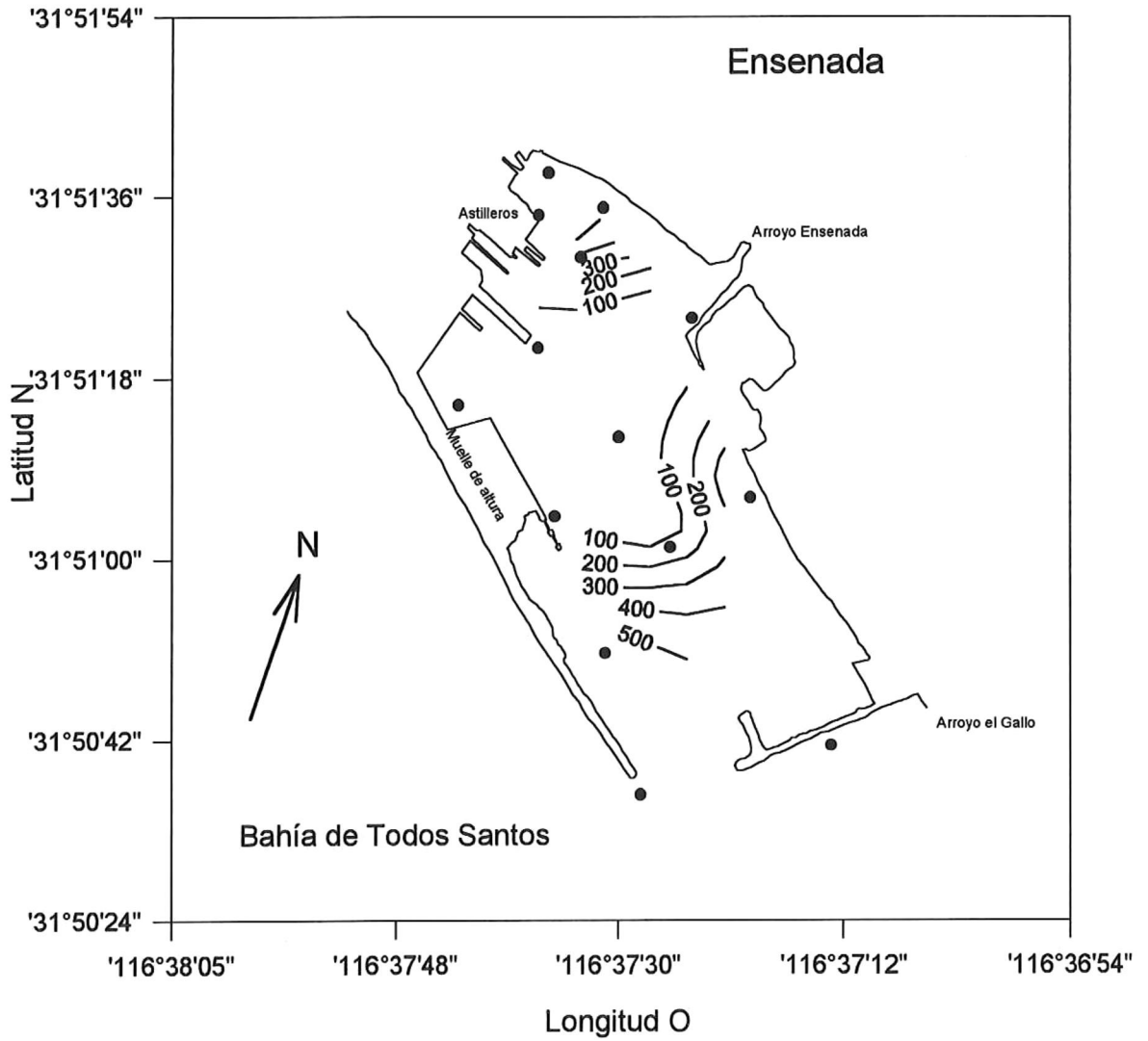


Figura 12.- Distribución espacial del tributilestaño en sedimentos superficiales en concentraciones de ng-Sn/g.

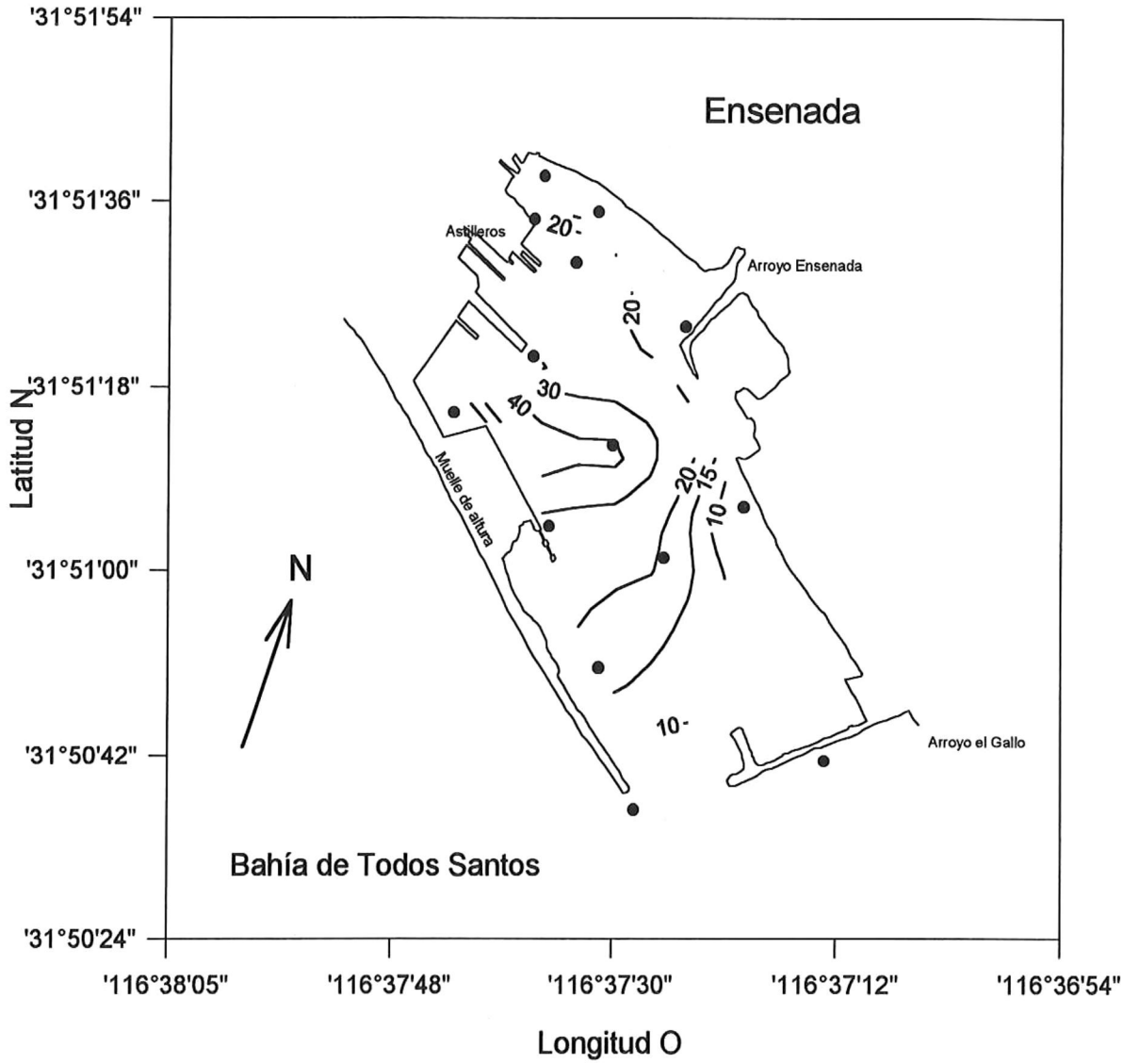


Figura 13.- Distribución espacial de monobutilestaño en agua superficial en concentraciones de ng-Sn/l.

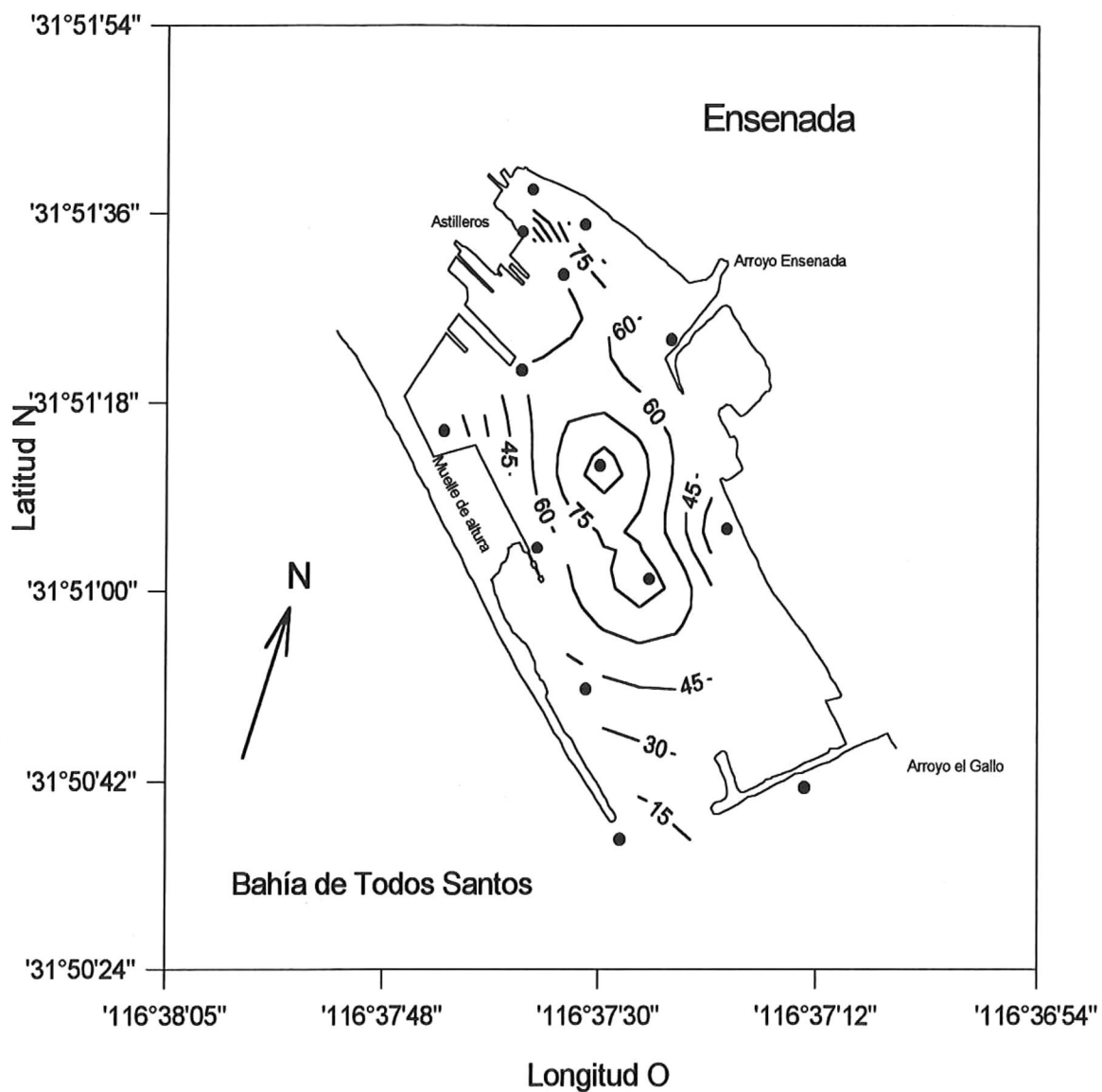


Figura 14.- Distribución espacial de dibutilestaño en agua superficial en concentraciones de ng-Sn/l.

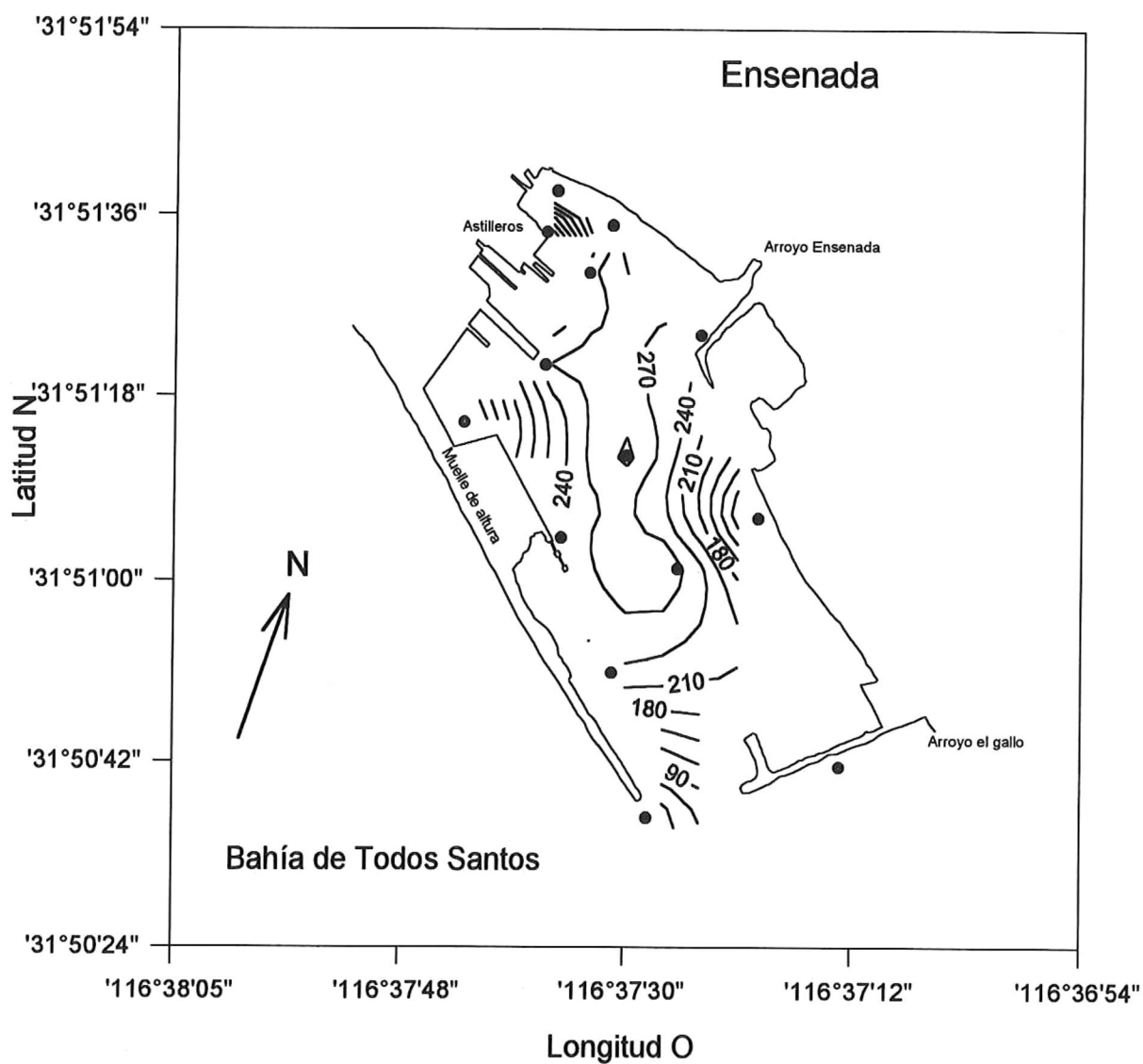


Figura 15.- Distribución espacial de tributilestaño en agua superficial en concentraciones de ng-Sn/l.

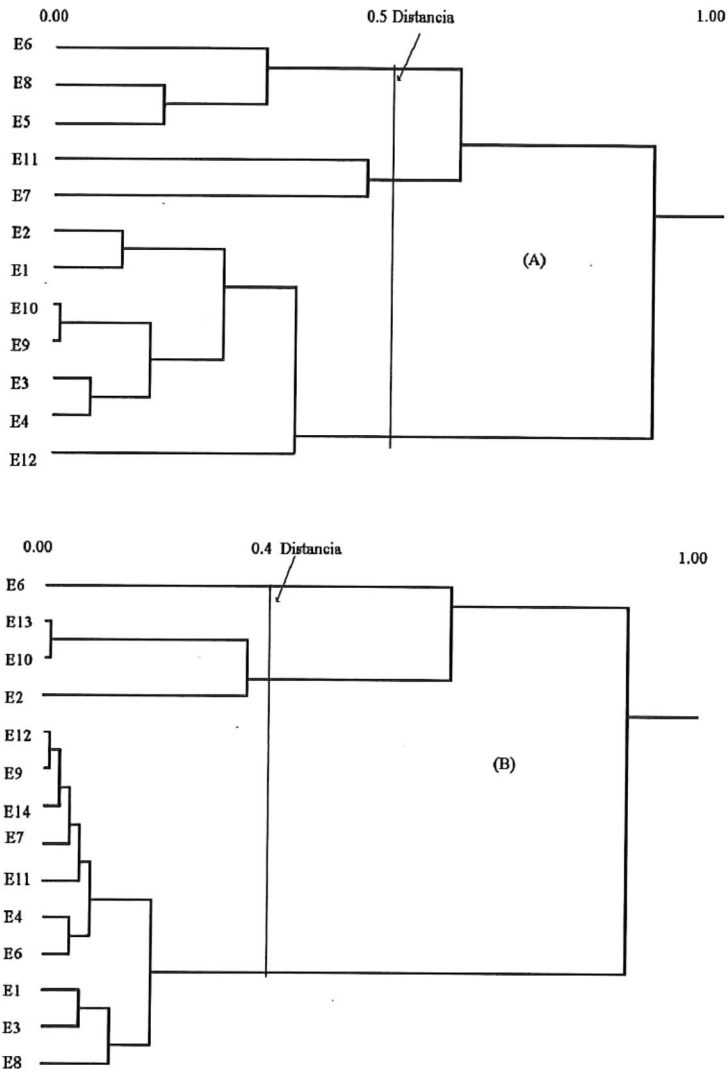


Figura 16 .- Diagramas de agrupamiento para muestras de sedimento (a) y agua (b).

DISCUSIONES

Actualmente se han aplicado varias metodologías analíticas para la cuantificación de los compuestos organoestañados, esta variedad incluye: cromatografía de gases con detección por ionización de flama (Cai, 1995,GC/FID); cromatografía de gases con espectroscopía de masas (GC/MS); espectrometría de absorción atómica (AAS) con horno de grafito (Pannier, 1994,Cardellicchio, 1992); polarografía de pulso diferencial (Pettinato 1993); cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); espectrofotometría de emisión de plasma (ICP) y generación de hidruros detectado por AAS (HG-AAS). Esta última presenta ventajas por ser muy rápida y sencilla tanto en el tratamiento de muestras como en el análisis. Varios autores han utilizado esta metodología obteniendo buenos resultados (Stallard, 1988; Chen, 1992; Donard, 1986; Hodge, 1979; Astruc, 1992; Cai, 1992). Motivado por la implementación de una gran variedad de metodologías, Uhider (1989) realizó un estudio comparativo entre las diferentes técnicas mostrando que no existen diferencias significativas entre ellas.

Como se mencionó, el método de HG-AAS es muy versátil. Sin embargo el método presenta interferencias durante el análisis, provenientes de la misma muestra, tales como la salinidad, el pH y el contenido de material orgánico, lo que afecta principalmente a la reacción con el borohidruro de sodio (Pannier, 1994). Por esta razón se determinó, en muestras de sedimento, el porcentaje de materia orgánica y el porcentaje de tamaño del grano menor a $63\mu\text{m}$ y en el agua la salinidad y el pH.

Otras interferencias, se presentan por el equipo empleado.

El flujo estable de los gases es primordial para obtener una señal limpia, es decir, que no presente picos ocasionados por el cambio del flujo (figura 6). En nuestro caso no se pudo evitar la presencia de un pico que aparece entre el dibutil y el tributilestaño, este pico

es producto del abrupto calentamiento que se genera para la separación del tributilestaño. El calibrar los flujos de los gases con la trampa a la mayor temperatura a la cual va a ser elevada, se realiza para evitar una disminución del flujo del gas transportador al expanderse el empaque, lo que provoca un ensanchamiento y por lo tanto una pérdida en la resolución.

En relación al contenido de materia orgánica se observa que existe una distribución muy marcada con altas concentraciones en la zona norte del puerto (estaciones 1, 2, 3 y 10). Esto se debe a que estas zonas son muy someras y sin flujos; de manera que el sedimento en suspensión se deposita más rápidamente, sin olvidar que las grandes cantidades de materia orgánica son producto de los drenajes y residuos de los barcos que son derramados en la rada. En cambio, la zona cercana al rompeolas, en la cual se encuentra el canal de acceso, con mayor profundidad y gran circulación de barcos, dificulta la depositación de materia orgánica en el sedimento. Dichas variables pueden estar controlando, de igual forma, la distribución del sedimento fino (Tabla III). Cabe mencionar que se realizó la normalización de las estaciones con respecto al porcentaje de materia orgánica encontrando que las distribuciones sin normalizar y normalizadas no presentaron diferencias significativas, lo cual, no indica que la materia orgánica no tiene influencia sobre la distribución de los butilestaños, por el contrario se sabe que los butilestaños son fuertemente influenciados por la materia orgánica (Fent y Langston, 1995). Por tanto lo que sucede es que, el comportamiento de la materia orgánica y de los butilestaños es similar en toda la zona.

Queuvauiller (1990) encontró que los TBT's, así como sus productos de degradación (MTB y DBT) tienen una fuerte tendencia a asociarse sobre fragmentos de detritus y minerales ligeros en forma de hoja. La relación de la materia orgánica mantiene una buena correlación con el contenido de TBT's.

Los grupos de estaciones que se forman, muestran claramente la asociación que existe entre la cantidad de materia orgánica y la concentración de TBT's.

Una observación importante es que la estación 12 presenta un comportamiento inverso a lo obtenido en otras estaciones; altas concentraciones de TBT y relativamente bajos valores de materia orgánica, debido a que las condiciones de esta zona no permiten la sedimentación de materia orgánica.

El pH y la salinidad provocan variaciones sobre la fase en la que se va a encontrar el TBT, por ejemplo a valores bajos y altos de salinidad (agua dulce y agua salada) se incrementa la adsorción, mientras que a salinidades intermedias decrece considerablemente. El pH muestra un comportamiento inverso, es decir, valores extremos de pH muestran una alta desadsorción, mientras que a intervalos de 7 a 8 unidades de pH la desadsorción es muy baja (Langston, 1995). Los valores de pH y salinidad medidos en el área se encuentran en un intervalo de 7.8 a 8.5 unidades de pH y entre salinidades de 34 a 35 ‰ por lo que se esperaría una adsorción alta y una remoción rápida del agua a los sedimentos. De acuerdo con los resultados obtenidos (tablas III y IV), las concentraciones son relativamente altas en el agua (pero menores que en sedimento), pues recordemos que las muestras no se filtraron y el agua del puerto mantiene una carga considerable de material en suspensión.

Las concentraciones de mono, di y tributilestaño para las muestras de agua y sedimento, presentan en la columna de agua una distribución más homogénea, que puede ser producto del movimiento de los barcos y las corrientes del puerto.

En las muestras de sedimento se observó un enriquecimiento en dos zonas del puerto, una de mayor magnitud en las estaciones 1, 2, 3 y 4 y otra de menor magnitud en las estaciones 10 y 12.

Los siguientes datos presentados por Dawson (1992), Peter (1986), Valkirs (1986) y Caricchia (1992) muestran valores promedio de TBT's para agua y sedimento que se consideran elevados, para una zona de la Bahía de San Diego y un estuario en el Reino Unido.

Tabla V.- Comparación de los resultados obtenidos en este trabajo con estudios realizados en la Bahía de San Diego y Reino Unido.

	Monobutil		Dibutil		Tributil	
	(ng-Sn/L)	(ng-Sn/g)	(ng-Sn/L)	(ng-Sn/g)	(ng-Sn/L)	(ng-Sn/g)
Bahía de San Diego	a 120	s 40	a 280	s 80	a 490	s 180
Reino Unido	a 3.31	s 116	a 10.9	s 1500	a 23.7	s 647
Este estudio	a 28.03	s 88.1	a 87.7	s 235	a 306	s 543

a= agua s = sedimento

Se puede observar que los resultados de dicho estudio son comparativamente similares a los obtenidos en esta investigación. Por otro lado, los niveles de TBT's en el presente trabajo se encuentran por arriba de los valores reportados por la Agencia de Protección al Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés) como seguras para el medio ambiente acuático.

La distribución espacial que presenta el tributilestaño (figura 13) sugiere tres fuentes principales; una localizada en el extremo norte, en las estaciones 1, 2, 3 y 4, próximas a la zona de los astilleros, teniendo estos un promedio de 10 barcos de gran calado realizando labores de limpieza y mantenimiento (raspado y pintado). El raspado se realiza por medio de un chorro de arena (sandblast) que se inyecta a presión sobre el casco para remover la pintura de la superficie. En este proceso se recupera al rededor del 60% del polvo con pintura, mientras que el restante es transportado por acción eólica a otras zonas incluyendo las aguas cercanas al astillero (Ing. Hernandez Grupo SIDEK, comunicación personal). Es probable que este proceso sea la fuente principal de aporte de TBT's al puerto. Otro aporte menor aunque significativo, es el proveniente del dique flotante localizado en la estación 12. En cambio en la estación 10 se presenta una zona de depósito de TBT's más que una fuente, pues no se

observa ningun posible aporte en el lugar. De tal forma que la gran cantidad de algas y la baja profundidad sean la causa de la acumulación en esta zona.

La presencia del DBT y MTB es debida a la degradación del TBT, de tal forma que su distribución esta dada por la ubicación original del TBT en los sedimentos. Mora (1995) propone un tiempo de vida media para el TBT de 2.8 años. En contraste, Lee (1990) sugiere tiempos de vida media para el TBT de 5 meses cuando existen algunos metales que catalizan las reacciones de degradación. En este trabajo se encontro que los patrones de concentración mantienen siempre la siguiente secuencia: $MTB < DBT < TBT$ que se debe probablemente a degradaciones muy lentas en el sedimento, siendo las concentraciones del MTB las primeras degradaciones del DBT. Un comportamiento similar es sugerido por Dawson (1992) para muestras de sedimento.

La estaciones 5, 6, 7, 8 y 11 muestran una baja o casi nula concentración de BT's (figura 7a), esto se debe, probablemente, a su localización cerca del canal de acceso y la dársena de maniobras, en los que existe un continuo tráfico de barcos de gran calado. Lo que puede provocar que los sedimentos sean resuspendidos y arrastrados por corrientes depositandose en otros sitios del puerto. Periódicamente el canal y la dársena son dragados para mantener las profundidad que requieren los barcos para su navegación, dentro del puerto (Villegas-Jimenez, 1994; Gonzalez-Villagran, 1992), de tal forma que los compuestos son removidos junto con el sedimento.

La estación 9 se encuentra en la desembocadura del Arroyo Ensenada (figura 2), siendo esta zona muy somera y con sedimento grueso, que es fácilmente lavado por acción oleaje y el flujo del mismo arroyo, en estas condiciones es difícil que se deposite material fino que contenga TBT.

En la tabla III se observa que la estación 12 presenta una alta concentración de TBT y muy bajas de DBT y MTB, esto ocurre cuando las partículas que contienen TBT's se depositan rapidamente en zonas donde los procesos de degradación son mas lentos de tal

manera que los productos de degradación no se presentan de manera representativa (Champ, 1986). Sin embargo posibles patrones de degradación se esten presentando en los sedimentos y estos pueden ser enmascarados por constantes aportes de TBT al medio (Dawson, 1992).

Concentraciones altas se observan en las estaciones de la 3, 4 y 9, zona donde se encuentran anclados una gran cantidad de botes y yates turísticos, aquí también se localiza el Astillero Baja Naval S.A., (Sr. Miguel Larriba, comunicación personal.) el cual alberga aproximadamente 30 embarcaciones no menores a los 20 pies.

Las concentraciones de TBT que se presentan en las muestras para agua son muy similares para todas las estaciones, por lo que podemos deducir que a las corrientes producidas por viento o por marea distribuyen los organoestañados de manera homogénea.

Las concentraciones de DBT y MBT con respecto al TBT son muy bajas, pero con indicios de degradación de TBT. Diversos autores como Lee (1987) reportan que en presencia de nutrientes (materia orgánica) la diatomea *Skeletonema sp* puede degradar eficientemente TBT para formar DBT e hydroxibutildibutilestaño, calculando vidas medias para el TBT de 4 a 9 días. Olson (1986) menciona que la degradación en agua es más rápida en presencia que en ausencia de luz. Brinckman (1988) realizó un estudio donde encontró que los microorganismos del agua de mar en presencia de nutrientes son los principales degradadores del TBT. Carwell (1990) y Lee (1990) mencionan que la degradación de estos compuestos se puede acelerar por la presencia de algas verdes (*Dunaliella sp.* e *Isocriis galbana*) y algunas alofitas como *Zostera marina*, hasta presentar tiempos de vida media de 4 a 14 días, mientras que en ausencia de luz las bacterias y hongos llevan a cabo la degradación. Las degradaciones no biológicas son por fotólisis y por la volatilización de los organometales, sin embargo el segundo mecanismo aun no está bien estudiado.

Todas estas formas en que el TBT se degrada, son relativamente rápidas y por tanto se esperaría encontrar altas concentraciones de DBT y MTB en el agua. En el presente

trabajo se encontraron cantidades bajas, por lo que se presume que el TBT que se encuentra en el agua, es rápidamente adsorbido por la materia orgánica y transportado hacia el fondo.

Langton (1995) realiza estudios experimentales del coeficiente de partición (K_d) sedimento-agua (definido como la razón entre la concentración de TBT en el sedimento y en el agua, siendo este una medida relativa entre la afinidad del TBT y la fase particulada). En este estudio se determinó el efecto del pH y salinidad sobre K_d encontrando que la adsorción es mayor a valores extremos de salinidad (10 y 35 ‰) y valores intermedios de pH (7 a 8); de tal forma que existe una rápida adsorción hacia los sedimentos, por lo que se espera que la exportación de estos compuestos hacia la Bahía sea relativamente baja. Tomando en cuenta que los rangos de degradación del agua de mar son rápidos, de 4 a 7 días dependiendo de las características del lugar (Adelman, 1990), es poco probable que dañe áreas importantes, como zonas de cultivo, aunque un muestreo más amplio aportaría conocimiento al respecto.

La estación 14 queda en un grupo aislado, pues se encuentra fuera del muelle. Aunque no se tomó una muestra directamente sobre la desembocadura del arroyo, no podemos descartar que pueda existir una contribución de TBT's del arroyo, aunque no sería comparable el impacto que puede causar este compuesto con la enorme cantidad de otros contaminantes que son desechados por esa vía, sin embargo se debe tomar en cuenta que algunos procesos en la industria maderera, de plásticos y alimentos emplean este tipo de compuestos y que los están vertiendo sin control. También existe la posibilidad de que en esta zona se acumule el agua que sale del puerto cuando baja la marea por lo que este sería un posible aporte.

Cleary (1987) y Green (1986), presentan valores para TBT, DBT y MBT en agua de mar. Los dos primeros muestran valores en marinas y sitios de recreo en años previos a la prohibición de estos productos, encontrando rangos que van de 10 a 930 ng/L para TBT, de 10 a 440 ng/L para el DBT y de 10 a 120 ng/L para el MBT. Dawson (1992) reporta valores 8

años después de la prohibición, que van, desde 3 a 49.3 ng-Sn/L para TBT, de 1 a 114 ng-Sn/L para el DBT y de 1 a 56.3 ng-Sn/L, esto en diferentes sitios del Reino Unido y California. Mientras que en sedimento se presentan valores hasta de 1890 ng-Sn/l en Canada.

El análisis de agrupamiento que se realizó a las muestras de sedimento, muestra tres grupos principales, el primero muestra a las estaciones 5, 6, y 8 que están agrupadas por su similitud en cuanto a composición de M.O y fracción menor a $63\mu\text{m}$, que comprenden la dársena del puerto y por tanto tienen una distribución similar del material. El grupo dos (estaciones 7 y 11) se relaciona por su contenido de M.O, se encuentran sobre el canal de acceso y relativamente cerca entre sí. Por otro lado el tercer grupo reúne al resto de las estaciones, las cuales presentan los valores más altos de todas las variables, con excepción de la estación 9 que fue agrupada aquí de acuerdo a la concentración del MBT que es muy parecido al de la estación 10 (Figura 16a), este último grupo es el que contiene a las estaciones que representan las fuentes o los aportes principales.

La figura 16b muestra el dendograma formado para las muestras de agua. En esta se observan tres grupos, el primer grupo se encuentra la estación 6, ya que es la única que presenta una alta concentración de monobutilestaño; en el segundo grupo se observan las estaciones que no presentaron organoestañados y el tercer grupo presenta a todas las demás estaciones que presentaron organoestañados, lo que sugiere una distribución muy homogénea en el puerto. La figura 16a destacan 3 grupos de los cuales el tercero representa a las estaciones con un alto contenido de butilestaños. Estos análisis sirvieron para identificar de manera clara el comportamiento de las TBT's con las distintas variables.

El puerto de Ensenada ha sido objeto de disputas en cuanto a su vocación. En 1991 el Gobierno del Estado propuso un plan de desarrollo que comprende un reordenamiento y modernización del puerto (Arredondo, 1995). A raíz de esto se autorizó la creación de marinas turísticas dentro del puerto, esto aunado con los astilleros y marinas que ya operan

dentro del puerto, puede originar como consecuencia el incremento en la contaminación por los compuestos organoestañados en la zona.

CONCLUSIONES

Este trabajo muestra la presencia significativa en el Puerto de Ensenada, B.C. de monobutilestaño, dibutilestaño y tributilestaño provenientes de las pinturas antivegetativas que se aplican a los barcos.

Los gradientes de concentración de estos compuestos marcan las fuentes más importantes de tributilestaño. A su vez, la distribución de estos compuestos en los sedimentos está regulada parcialmente por el contenido de materia orgánica, pH, salinidad, mareas y corrientes.

Las concentraciones importantes encontradas tanto en agua como en sedimento sugieren un aporte reciente y continuo de tributilestaño, ubicando dos fuentes principales; al norte, los astilleros y al sur, el dique flotante (estación 12).

Aunque las concentraciones encontradas en este trabajo son comparativamente altas a las encontradas en otras zonas, no se puede emitir un juicio certero sobre la salud del puerto en lo que se refiere a contaminación por TBT, pues no se han realizado estudios de tiempos de vida media o mecanismos de degradación, así como del impacto que produce sobre los organismos de la zona y los resultados de estudios similares en otras regiones no se pueden extrapolar a la zona de estudio.

La metodología desarrollada para esta trabajo cumplió de una manera satisfactoria con los objetivos planteados.

Por limitaciones financieras y de tiempo durante los muestreos no se puede determinar si el Puerto mantiene una exportación de organoestañados a la bahía. Sin embargo los trabajos de dragado podrían ser el mecanismo de salida de sedimentos contaminados con organoestañados.

El presente estudio establece los niveles actuales de monobutilestaño, dibutilestaño y tributilestaño. Esto permitirá monitorear el comportamiento de estos compuestos en

comparación con el aumento en las actividades del Puerto; el crecimiento de otros puertos como el del Sauzal y la construcción de otras marinas en la Bahía, alertando del peligro que estos compuestos pueden causar al medio ambiente.

Dado que los valores encontrados tanto en agua como en sedimento superan los establecidos por organizaciones internacionales, se recomienda a futuro revisar la legislación de control y manejo de residuos para disminuir los aportes al Puerto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Adelman, D.; Hinga, K. y Pilson, M. (1990). Biogeochemistry of butyltins in an enclosed marine ecosystem. *Environ. Sci. Technol.* 24:1027-1032.
- Anonimo (1993). *Marine Pollution Bulletin, New Products: Non toxic antifouling.* Vol 26, No. 5: 232.
- Anonimo (1991). *Marine Pollution Bulletin, New Products: TBT-free anti-fouling developments,* Vol 22, No. 9: 427.
- Arredondo-García, M. (1995). Análisis del sistema portuario de Ensenada B.C.: Sectores problemática y alternativas preferentes de utilización, Tesis de Licenciatura FCM, UABC.
- Astruc, M.; Pinel, R. y Astruc, A. (1992). Determination of tributyltin in sediments by Hydride Generation/GC/QFAAS, *Mikrochim Acta*, 109:73-77.
- Brinckman, F.; Olson, G.; Blair, W. y Parks, E. (1988) Implications of molecular speciation and topology of environmental metals: Uptake mechanisms and toxicity of organotins. American society for testing and materials, Special Technical Publication, 971.
- Cai, Y.; Rapsomanikis, S. y Andreae, M. (1993). Determination of butyltin compounds in sediment using gas chromatography-atomic absorption spectrometry: comparison of sodium tetrahydroborate and sodium tetraethylborate derivatization methods, *Analytica Chimica Acta*, 274: 243-251.
- Cardwell, R. y Meador, J. (1990). Oceans'90. Tributyltin in the environment: an overview and key issues, Organotin Symposium, USA.
- Carruthers, W. (1980) Some modern methods of organic synthesis, Cambridge, Ed. Mac Graw Hill 532pp.

- Champ, M.A. (1986). Organotin Symposium: Introduction and overview, Proceedings of the Oceans'86 Organotin Symposium, Vol.4.USA.
- Chen, J.; Lou, Y. y Whang, C.(1992). Determination of tributyltin in sea water by hydride generation-atomic absorption spectrometry, Journal of the Chinese Chemical Society, 39:461-464.
- Clearly, J.J. y Stebbing, A.R.D. (1987). Organotin in the surface microlayer and subsurface waters of southwest England. Marine Pollution Bulletin, 18:238-246.
- Davis, C.J. (1986). Statistics and data analysis and geology, Second edition, Ed John Wiley & sons, Canada 646pp.
- Dean, E.W. (1974). Determination of carbonate and organic water in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition : comparison with other methods, Journal of sedimentary petrology, Vol 44. No 1: 242-248.
- Donard, O.F.X. y Webber, J.H. (1985). Behavior of methyltin compounds under simulated estuarine conditions, Environ. Sci. Technol, 19:1104-1110.
- Donard, O.F.X.; Rapsomanikis, S. y Weber, J.H. (1986). Speciation of inorganic tin and alkyltin compounds by atomic absorption spectrometry using electrothermal quartz furnace after hydride generation, Anal.Chem, 58:772-777.
- Dowson, P.H., Bubb, J.M. y Lester, J.N. (1992). Organotin distribution in sediments and waters of selected East Coast estuaries in the UK, Marine Pollution Bulletin, 24:492-498.
- Dowson, P.H.; Pershke, D. J.; Bubb, M. y Lester, J. (1991). Spatial distribution of organotins in sediments of lowland river catchments, Environmental Pollution, 76:256-266
- Dyrynda, E.A (1992). Incidence of abnormal shell thickening in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in Poole Harbour (UK), subsequent to the 1987 TBT restrictions, Marine pollution bulletin, Vol 24, No3: 156-163.

- Duncan, J. (1987). The toxicology of molluscicides, the organotins. International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics, Ed Pergamon Press, UK. pp,167.
- Dooley, M. (1986). Measurement of butyltin compounds in San Diego Bay, Marine Pollution Bulletin, 17:317-324.
- Ewing, W.G. (1978). Métodos instrumentales de análisis químico, Mc Graw-Hill, México D.F. 592pp.
- Evans, S.M.; Lekosono, T. y McKinnell, P.D. (1995). Tributyltin pollution: A diminishing problem following legislation limiting the use of tbt-based anti-fouling paints, Marine Pollution Bulletin, 30: 14-21.
- Francois, R. y Weber, J.H. (1988). Speciation of methyl and butyltin compounds in eelgrass (*Zostera marina* L.) leaf tissue from the Great Bay (NH), Marine Chemistry, 25: 279-289.
- Fent, K. y Looser, P.W. (1995). Bioaccumulation and bioavailability of tributyltin chloride: Influence of pH and humic acids, Wat. Res.7: 1631-1637.
- García-Romero, B. (1988). Temporal and spatial variations of butyltin concentrations in bivalve and sediment samples from some coastal areas of the United States, Tesis de Maestría en Ciencias, Texas A&M University.
- Huggett, R.J.; Seligman, P.F. y Valkris, A.O. (1992). The marine biocide tributyltin: Assessing and managing the environmental risks, Environ. Sci. Technol, 26:233-237.
- Han, S.J. y Webber, J.H. (1988). Speciation of methyl- and butyltin compounds and inorganic tin in oysters by hydride generation atomic absorption spectrometry, Anal. Chem. 60:316-319.
- Hinga K.R., Adelman, M.E. y Pilson, M.E.Q. (1987). Oceans'87 Radiolabeled butyltin studies in the Merlenclosed ecosystem, Organotin Symposium, USA.

- Hodge, V.; Seidel, S.L y Goidberg, E.D. (1979). Determination of tin (IV) and organotin Compounds in natural waters, costal sediments and macro alge by atomic absorption spectrometry, *Analytical Chemistry*, 51:1256-1259.
- Huggett R.J. (1992) The marine biocide tributyltin, *Environ. Sci. Technol.*, Vol 26, No 2: 233-237.
- Iwata, H., Tanabe, S.; Miyazaki, N. y Tatsukawa, R. (1994). Detection of butyl compound residues in the blubber of marine mammals, *Marine Pollution Bulletin*, 28:607-612.
- Krone, C.A., Burrows, D.G D.; Brown, W.; S. Chan y U. Varanasi. (1989). Oceans'90, Tributyltin concentration of sediment and English sole from Puget Sound, Organotin Symposium, USA.
- Langston, W.J. y Pope, N.D (1995).Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments, *Marine Pollution Bulletin*, 31:32-43.
- Laughlin, R.B., Guard, H.E y Coleman, W.M. (1986) Tributyltin in seawater: Speciation and octanol-water partition coefficient, *Environ. Sci. Technol*, 20:201-204.
- Lee, R.F. (1987). Fate of tributyltin in estuarine waters, Oceans'87 Organotin Symposium.
- Lee, R.F. (1989). Fate of tributyltin. Oceans'90 Organotin Symposium, USA.
- March, J. (1985) *Advanced organic chemistry*, New York., 1346pp.
- Mora, S.J.; Stewart, C. y Phillips, D. (1995). Sources and rate of degradation of tri (n-butyl) tin in marine sediments Near Auckland, New Zealand, *Marine Pollution Bulletin*, 1:50-57.
- Noller, C.R. (1968) *Química orgánica*, Ed. Interamericana, 1235pp., México.
- Pannier, F.; Astruc, A. y Astruc, M. (1994) Quality control in the speciation analysis of butyltin compounds in marine biological samples by hydride generation-cold trapping and on-line quartz furnace atomic absorption spectrometry, *Applied organometallic chemistry*, Vol 8, 595-600.

- Peterson, S.M.; Batley, G.E. y Scamell, M.S. (1993). Tetracycline in antifouling paints. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 96-100.
- Quevauviller, P.; Etchever, H.; Raoux, C. y Donard, O. (1990) Grain-size partitioning of butyltins in estuarine and coastal sediments, *Proceedings of the international Symposium on environment of epicontinental seas, lille*, 20-22.
- Roberts, P. y Caseiro, M. (1977) *Basic principles of organic chemistry.*, Ed. Benjamin Inc. , California, 1596pp.
- Salas-Flores, L.M, (1984). Determinación de hidrocarburos derivados del petroleo en grasas y aceites de la capa superficial del agua y sedimento en la darsena del puerto de Ensenada B.C., en condiciones de baja producción pesquera. Tesis de licenciatura, UABC, ESCM, pp,87.
- Schebek, L. y Andrae, M. (1991). Methyl- and butyltin compounds in water and sediment of the Rhine river, *Environ.Sci.Technol.* 25:871-887.
- Schulze, G. y Lehmann, C. (1994). Separation of mono-, di- and tributyl compounds by socratic ion-exchange liquid chromatography coupled with hydride-generation atomic absorption I spectrometric determination, *Analitica Chimica Acta*, 288: 215-220
- Seligman, P.F.; Valkirs, A.O. y Lee, R.F. (1986) Degradation of tributyltin in marine and estuarine waters, *Oceans 86'*, Organotin Symposium.
- Stallard, M.O.; Cola, S.Y. y Dooley, C.A. (1989). Optimization of butyltin measurements for seawater, tissue, and marine sediment samples, *Applied Organometallic Chemistry*. 3:105-114.
- Stewart , C. y Thompson, A.J. (1994). Extensive butyltin contamination in southwestern costal British Columbia, Canada. *Marine Pollution Bulletin*. 28:601-606.
- Tester, M. y Ellis, D. (1995). TBT controls and the recovery of whelks from imposex, *Marine Pollution Bulletin*. 30:90-91.

- Thain, J.E.; Waldock, M.J y Waite, M.E.(1987) Toxicity and degradation studies of tributyltin and dibutyltin in aquatic environment, Oceans 87, Organotin Symposium.
- Uhler, A.D. y Durell, G.S. (1989). Analytical methods for the analysis of butyltin compounds in environmental matrices: an overview, Oceans'90 Organotin Symposium, USA.
- Valkirs, A.O.; Stallard, M.O.; Stang, P.M. y Frank, S. (1990). Assessment of frozen storage of tributyltin in sea water samples using hydride derivatisation. *Analyst*. 115:1327-1328.
- Villegas-Jiménez, A. (1994). Determinación de algunos hidrocarburos alifático y poli-aromáticos en sedimentos recientes de la Bahía de Todos Santos. Tesis de licenciatura, FCM, UABC.
- Widows, J. y Page, D. (1993) Effects of Tributyltin and Dibutyltin on the Physiological Energetics of the Mussel, *Mytilus edulis*, *Marine Environmental Research*, 35:233-249