



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

TESIS DE DOCTORADO

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE SEDIMENTOS CONDICIONANTES
DE LA ACUMULACIÓN Y TRANSPORTE DE RETARDANTES DE
LLAMA BROMADOS

Tesista: Lic. Emilia del C. Abraham

Directora: Dra. Jorgelina C. Altamirano

Codirector: Dr. José A. D'Angelo

Mendoza 2023



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE SEDIMENTOS CONDICIONANTES
DE LA ACUMULACIÓN Y TRANSPORTE DE RETARDANTES DE
LLAMA BROMADOS

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Tesista: Lic. Emilia del C. Abraham
Directora: Dra. Jorgelina C. Altamirano
Codirector: Dr. José A. D'Angelo

Mendoza 2023

A mis ángeles Pino Víctor, abuela Carmen y abuela Emilia;

a mi madre Carmen, hermana Emilce y ahijado Lisandro;

y a la persona que me acompaña día a día en este camino, Silvina.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer toda mi familia por su apoyo y acompañamiento incondicionales. A mi papá, que estuvo presente en el comienzo de este camino, y que a pesar de que ya no se encuentra físicamente con nosotros, sé que me acompaña en cada paso que doy. A mi mamá que ha hecho posibles todos mis logros a lo largo de toda la vida siempre transmitiendo su orgullo y apoyo incondicional. A mi hermana que junto a mi papá ha sido mi consejera, brindándome su apoyo y motivación, y que además me ha hecho la tía madrina más feliz del mundo. A Silvina que día a día ha vivido cada uno de mis pasos en este camino, dando su amor y comprensión en los momentos más complejos. Y a mis abuelas que siempre dieron todo su amor y bendiciones para que todo vaya bien. A mi familia de Neuquén y Córdoba: Padrino, tía Lili, July, Ar, Fiore, Jess, Emi, Hele, Lean y Pablo; Nati, Cuchu, Adriana, Hugo, Mica, nuestro ángel Guille, Lachu y Vito ¡Los amo familia, cada momento compartido con ustedes está lleno de disfrute y me recarga de energías para continuar!

Gracias a mis amigas Sabri y Flor, las conocí gracias a vivir esta etapa, y creo que sin ustedes, sin su apoyo y amistad no estaría hoy acá escribiendo estas palabras. A mis amigos los Aris, en especial gracias Ariana por habernos reencontrado y haber hecho mucho más grande nuestra amistad. Gracias al grupo de amigas más único que existe: Vicky (mi primis), Meli, Tanita, Cin, Silvi y Emi ¡por compartir tantas locuras juntas, y por muchas más! Gracias Nieto, que aunque nos vemos casi una vez al año, cuando nos encontramos parece que el tiempo no pasara. Gracias a Ariel y Andrea por compartir tantos lindos momentos. Gracias Sofi, Nati, Lali y Gabi por adoptarme en su grupo de amigas y hacerme sentir siempre parte de ustedes. Gracias Joa por todos tus consejos y apoyo en esta etapa, aunque la mayor parte del tiempo hablamos de manera virtual, ha sido muy importante para mí compartir este último tiempo con vos. Gracias a mis nuevos amigos Profe Arita, Profe Belén, Lucho y Dragón, espero que sigamos compartiendo más momentos de disfrute y de música.

Un agradecimiento especial a mis directores Jorgelina y José, que gracias a su guía, a su confianza en mí y a sus consejos, puedo estar dando este paso para concretar este gran logro. Gracias a Alejandra y Daniela por abrirme las puertas del Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos y por su acompañamiento, permitiéndome desarrollar una de las etapas experimentales de la tesis.

Quiero agradecer al Doctorado en Ciencia y Tecnología de la FCEN-UNCuyo por el seguimiento y la dedicación en hacer posibles tan enriquecedores intercambios, tanto con la comisión de seguimiento como con docentes, compañeras y compañeros del Doctorado.

Por último agradecer a las instituciones que posibilitaron el desarrollo de esta tesis. A CONICET por la posibilidad de desarrollar el Doctorado con una beca Doctoral y a los proyectos otorgados por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, la UNCuyo, la Organización para la Prohibición de las Armas Químicas y a la U. S. A. Research Office.

Gracias a cada una de las personas que pasaron por mi vida en estos seis años y compartieron conmigo este gran proceso de superación tanto profesional como personal. Sin ustedes esto no sería posible.

Con amor, Emilia.

ÍNDICE

RESUMEN	9
ABREVIATURAS	11
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	13
1.1 CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES.....	14
CONVENIO DE ESTOCOLMO	15
LEGISLACIÓN ARGENTINA SOBRE POP	16
1.2 RETARDANTES DE LLAMA BROMADOS	18
1.3 ÉTERES DE DIFENILO POLIBROMADOS.....	20
1.3.1 <i>PBDE EN EL AMBIENTE</i>	21
PBDE EN SEDIMENTOS	24
1.3.2 <i>TOXICIDAD DE LOS PBDE</i>	25
1.4 FUNDAMENTOS ANALÍTICOS	26
1.4.1 <i>ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER</i>	26
1.4.2 <i>CROMATOGRAFÍA DE GASES</i>	27
1.4.3 <i>MÉTODOS DE APRENDIZAJE MULTIVARIADO</i>	28
ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES	28
MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES	29
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	30
CAPÍTULO II: REACTIVOS, INSTRUMENTACIÓN ANALÍTICA Y MUESTRAS	32
2.1 MUESTRAS DE SEDIMENTO.....	33
2.1.1 <i>DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SOM</i>	33
2.2 EQUIPOS DE SOPORTE Y REACTIVOS.....	33
2.2.1 <i>EQUIPOS DE SOPORTE</i>	33
2.2.2 <i>REACTIVOS</i>	35
2.3 EQUIPOS	35
2.3.1 <i>ESPECTRÓMETRO DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER</i>	35
2.3.2 <i>CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES</i>	35
CAPÍTULO III: OPTIMIZACIÓN QUIMIOMÉTRICA DE UN MÉTODO DE DESMINERALIZACIÓN DE SEDIMENTOS PARA EL ANÁLISIS DE MATERIA ORGÁNICA POR FTIR	38
3.1 INTRODUCCIÓN	39
3.2 EXPERIMENTAL.....	41
3.2.1 <i>DESMINERALIZACIÓN CON ÁCIDO FLUORHÍDRICO</i>	41
3.2.2 <i>OBTENCIÓN DE ESPECTROS FTIR</i>	42

3.2.3	ANÁLISIS FTIR CUALITATIVOS Y SEMICUANTITATIVOS.....	42
3.2.4	ANÁLISIS MULTIVARIADO	44
3.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
3.3.1	OPTIMIZACIÓN DE LA PREPARACIÓN DE PASTILLAS DE BROMURO DE POTASIO PARA EL ANÁLISIS DE SOM POR FTIR.....	45
3.3.2	DESMINERALIZACIÓN DE SEDIMENTOS	46
	ANÁLISIS DE ESPECTROS FTIR.....	46
	ANÁLISIS ESTADÍSTICO MULTIVARIADO	48
3.4	CONCLUSIONES PARCIALES DEL CAPÍTULO III	53
 CAPÍTULO IV: LA DEGRADACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DETERMINA LAS CONCENTRACIONES DE PBDE EN SEDIMENTOS. APRENDIZAJE MULTIVARIADO EN MODELOS AMBIENTAL Y EXPERIMENTAL.		
.....		55
4.1	INTRODUCCIÓN	56
4.2	EXPERIMENTAL	57
4.2.1	MODELOS AMBIENTAL Y EXPERIMENTAL	58
4.2.2	ANÁLISIS Y DETERMINACIONES	58
	PBDE EN SEDIMENTOS	58
	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LOS SEDIMENTOS	59
	ANÁLISIS FTIR DE LA SOM Y DERIVACIÓN DE COCIENTES DE ÁREA.....	59
4.2.3	CÁLCULO DE DENSIDAD DE LA SOM	60
4.2.4	MÉTODOS DE APRENDIZAJE MULTIVARIADO: PCA Y PLS	61
4.3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.3.1	ANÁLISIS ESPECTRAL FTIR DE LA SOM	61
4.3.2	MODELO DE DENSIDAD DE LA SOM.....	62
4.3.3	MÉTODOS DE APRENDIZAJE MULTIVARIADO PARA CORRELACIONAR CONCENTRACIONES DE PBDE Y PROPIEDADES DE SEDIMENTOS	65
4.4	CONCLUSIONES PARCIALES DEL CAPÍTULO IV	70
 CONCLUSIONES FINALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS		72
BIBLIOGRAFÍA.....		75
ANEXO I: MATERIAL SUPLEMENTARIO		84
ANEXO II: PUBLICACIONES.....		89

TABLAS

TABLA 1. SUSTANCIAS QUÍMICAS IDENTIFICADAS COMO CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES POR EL CONVENIO DE ESTOCOLMO Y SUS SUCESIVAS ENMIENDAS.....	17
TABLA 2. COMPOSICIÓN Y PRINCIPALES USOS DE MEZCLAS COMERCIALES DE PBDE.	21
TABLA 3. PROPIEDADES FISCOQUÍMICAS DE LOS PBDE MAYORITARIOS EN LA MEZCLA COMERCIAL PENTA-BDE	23
TABLA 4. CONCENTRACIONES DE SEDIMENTOS EN PG G ⁻¹ (DW, POR SUS SIGLAS EN INGLÉS <i>DRY WEIGHT</i>) REPORTADAS A NIVEL MUNDIAL.	24
TABLA 5. EQUIPOS DE SOPORTE Y SUS PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS.	34
TABLA 6. LÍMITES DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN, RANGO LINEAL Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA DE LOS BLANCOS DE PROCEDIMIENTO PARA LOS CUATRO CONGÉNERES EN ESTUDIO	37
TABLA 7. DEFINICIÓN DE COCIENTES DE ÁREAS SEMICUANTITATIVOS DERIVADOS DE LOS ESPECTROS FTIR.	43
TABLA 8. RESULTADOS DEL ANOVA (N=3, A=0,05). COMPARACIONES ENTRE SCORES RESPECTO A PC1 DE LOS TRIPLICADOS DE LOS SEDIMENTOS A, B Y C LUEGO DE CADA UNO DE LOS 5 CICLOS DE DHF A 25 °C O A 60 °C.	50
TABLA 9. RESULTADOS DEL ANOVA (N=3, A=0,05). COMPARACIONES ENTRE SCORES RESPECTO A PC2 DE LOS TRIPLICADOS DE LOS SEDIMENTOS A, B Y C LUEGO DE CADA UNO DE LOS 5 CICLOS DE DHF A 25 °C O A 60 °C.	51
TABLA 10. COCIENTES DE ÁREA SEMICUANTITATIVOS DEFINIDOS A PARTIR DE LOS ESPECTROS FTIR DE LA SOM.....	59
TABLA 11. VALORES DE DENSIDAD EN G CM ⁻³ DE LA MATERIA ORGÁNICA PRESERVADA DE PLANTAS FÓSILES OBTENIDOS DE LOS MODELOS 3D Y LINEALES CITADOS Y EL MODELO LINEAL PROPUESTO UTILIZANDO DOS COCIENTES DE ÁREA ENCONTRADOS EN AMBOS TIPOS DE MUESTRAS.....	64
TABLA 12. RESULTADOS DE ANOVA (A = 0,05). COMPARACIONES ENTRE LOS VALORES DE DENSIDAD (Δ) OBTENIDOS UTILIZANDO EL MODELO 3D Y EL AJUSTE LINEAL CITADOS Y EL MODELO LINEAL PROPUESTO.....	65
TABLA 13. MATRIZ DE CORRELACIÓN ASOCIADA CON LOS MODELOS AMBIENTALES DE PCA Y PLS.....	67
TABLA 14. MATRIZ DE CORRELACIÓN ASOCIADA CON LOS MODELOS EXPERIMENTALES DE PCA Y PLS.	68
TABLA S1-15. COCIENTES DE ÁREA FTIR SEMICUANTITATIVOS CALCULADOS A PARTIR DE LOS ESPECTROS DE LOS SEDIMENTOS A, B Y C OBTENIDOS LUEGO DE REALIZAR LAS DHF A 25 O 60 °C. LOS COCIENTES DE ÁREAS FUERON USADOS COMO VARIABLES ORIGINALES EN EL PCA.	84
TABLA S2-16. MATRIZ DE CORRELACIÓN DE LAS CUATRO VARIABLES ORIGINALES INTRODUCIDAS EN EL PCA.	86
TABLA S3-17. SOLUCIÓN DEL PCA ASOCIADO A LA DESMINERALIZACIÓN DE LOS SEDIMENTOS A, B Y C.....	86
TABLA S4-18. VARIABLES ASOCIADAS CON EL MODELO AMBIENTAL (E). LA DENSIDAD ESTÁ EXPRESADA EN G CM ⁻³ , LA SOM EN G KG ⁻¹ , LA EC EN μS CM ⁻¹ , Y LAS CONCENTRACIONES DE PBDE EN PG G ⁻¹ , DW.	86
TABLA S5-19. VARIABLES ASOCIADAS CON EL MODELO EXPERIMENTAL. LA DENSIDAD ESTÁ EXPRESADA EN G CM ⁻³ , LA SOM EN G KG ⁻¹ , LA EC EN μS CM ⁻¹ , Y LAS CONCENTRACIONES DE PBDE EN NG G ⁻¹ , DW.....	87
TABLA S6-20. SOLUCIÓN DEL PCA ASOCIADO CON EL MODELO AMBIENTAL (E).....	87
TABLA S7-21. SOLUCIÓN DEL PCA ASOCIADO CON EL MODELO EXPERIMENTAL (X).....	88

FIGURAS

FIGURA 1. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS PRINCIPALES BFR ADITIVOS.....	20
FIGURA 2. RAMPA DE TEMPERATURA PROGRAMADA PARA EL HORNO DEL GC-ECD.....	36
FIGURA 3. ESPECTROS FTIR DE LOS SEDIMENTOS A, B Y C SIN DHF.	44
FIGURA 4. SNR DE UN PICO IR REPRESENTATIVO DE LOS SEDIMENTOS A Y B CENTRADO A 2925 cm^{-1} EN FUNCIÓN DE LAS MASAS DE SEDIMENTO ENSAYADAS PARA PREPARAR PASTILLAS CON 200 MG DE KBR.	45
FIGURA 5. ESPECTROS FTIR DE SEDIMENTOS A, B Y C DESPUÉS DEL PRIMER CICLO DE DHF A 25 °C O A 60 °C	46
FIGURA 6. BC DE REGIONES A) CH_{AL} Y B) OX. 1 ESPECTROS SIN CORREGIR 2 ESPECTROS LUEGO DE APLICAR BC.	48
FIGURA 7. ESPECTROS A) ANTES Y B) DESPUÉS DE LA AUTODECONVOLUCIÓN DE FOURIER. ESTIRAMIENTOS 1 CH_3 ASIMÉTRICO, 2 CH_2 ASIMÉTRICO, 3 CH, 4 CH_3 SIMÉTRICO Y 5 CH_2 SIMÉTRICO.	48
FIGURA 8. PCA CORRESPONDIENTE A LOS SEDIMENTOS A, B Y C DESPUÉS DE LOS CICLOS DE DHF A 25 °C Y 60 °C . A) GRÁFICO DE <i>LOADINGS</i> DE PC1 VERSUS PC2 Y B) GRÁFICO DE <i>SCORES</i> DE PC1 VERSUS PC2.	49
FIGURA 9. ESPECTROS FTIR DE LOS SEDIMENTOS A, B, Y C LUEGO DE APLICAR LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE DHF: 2 CICLOS A 60 °C	53
FIGURA 10. ESPECTROS FTIR DE A) MUESTRAS DE SEDIMENTOS ANTES DE LA DHF B) ESPECTROS DE LA SOM: MUESTRAS DE SEDIMENTOS DESPUÉS DE LA DHF OPTIMIZADA EN EL CAPÍTULO III.....	62
FIGURA 11. MODELO DE DENSIDAD PROPUESTO QUE MUESTRA LA INTERDEPENDENCIA ENTRE LOS TRES PARÁMETROS: $\Delta=1,4315-0,0731\text{ CH}_2/\text{CH}_3 -0,3705\text{ CH}_{\text{AL}}/\text{OX}$	63
FIGURA 12. GRÁFICO 3D DE <i>LOADINGS</i> DE LOS MODELOS A) AMBIENTAL Y B) EXPERIMENTAL.	66
FIGURA 13. GRÁFICOS DE <i>LOADINGS</i> DE PLS (LOS DOS PRIMEROS FACTORES) QUE MUESTRAN LA COVARIACIÓN ENTRE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES (AMARILLAS) Y DEPENDIENTES (VERDES) DE A) EL MODELO AMBIENTAL (E-PLS) Y B) EL MODELO EXPERIMENTAL (X-PLS).....	69

RESUMEN

Los éteres de difenilo polibromados (PBDE) son compuestos químicos sintéticos utilizados principalmente como retardardantes de llama para reducir el riesgo de inflamabilidad de materiales poliméricos combustibles. Los PBDE son agregados como aditivos (y no como reactivos) para que no queden enlazados químicamente a la matriz polimérica y se encuentren fácilmente disponibles para reaccionar neutralizando los radicales libres producidos durante la ignición.

Algunos PBDE son considerados contaminantes orgánicos persistentes (POP) debido a que producen efectos tóxicos en los seres vivos, presentan resistencia a la degradación, se pueden transportar a través de corrientes atmosféricas o hídricas y se depositan a grandes distancias desde su fuente de emisión pudiéndose acumular en el ambiente, bioacumular en seres vivos y magnificarse a través de las cadenas tróficas.

En ambientes acuáticos, los PBDE tienden a adsorberse en suelos o sedimentos a causa de su hidrofobicidad. En la bibliografía se han reportado tanto correlaciones positivas entre las concentraciones de PBDE y el contenido de carbono orgánico de sedimentos, como la ausencia de correlaciones. Estas discrepancias sugieren que algunos aspectos de dicha relación aún permanecen inciertos, por lo que el objetivo de la presente tesis es estudiar si existe una posible asociación de cuatro PBDE (BDE-47, -99, -100 y -153) con la cantidad y el tipo de materia orgánica de sedimentos, bajo condiciones tanto ambientales como experimentales. Las muestras utilizadas fueron sedimentos colectados de canales de riego y acequias del Oasis Norte de la Provincia de Mendoza. A dichos sedimentos se les determinaron sus propiedades fisicoquímicas, su contenido de materia orgánica (SOM) y la concentración de PBDE. Además, se caracterizó químicamente la SOM por medio de espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

Para llevar a cabo la caracterización de la SOM por FTIR primero fue necesario optimizar una metodología de preparación de muestras que permitiera eliminar las interferencias minerales de los sedimentos mediante una desmineralización con ácido fluorhídrico (DHF). La optimización de la metodología combinó el potencial del análisis espectral por medio del uso de cocientes de áreas semicuantitativos y herramientas de la estadística multivariada como el análisis de

componentes principales (PCA). La aplicación del análisis de varianza (ANOVA, $\alpha = 0,05$) a los datos obtenidos del PCA permitió identificar las condiciones óptimas que se alcanzaron luego de realizar dos ciclos de desmineralización con HF 10 % v/v a 60 °C. La DHF bajo condiciones óptimas no solo mejoró la eficiencia de desmineralización frente a la de métodos previamente publicados, sino que además no provocó modificaciones indeseables estadísticamente significativas en la SOM que pudieran interferir en el análisis por FTIR.

Con el objetivo de determinar los factores que pudieran influenciar la correlación entre la concentración de PBDE y las características de los sedimentos, se contrastaron dos modelos, ambiental y experimental. Las muestras utilizadas para el modelo experimental provinieron de los sedimentos ambientales cuyas concentraciones resultaron por debajo del límite de detección de la metodología, que luego fueron enriquecidas con estándares de los cuatro congéneres analizados. La concentración final de los PBDE en cada uno de los sedimentos se determinó por cromatografía gaseosa con detección de captura de electrones. El método de preparación de muestras previo al análisis instrumental consistió en realizar una extracción de los analitos por Soxhlet y una posterior limpieza.

Los resultados de la caracterización de la SOM por FTIR usando el método de DHF optimizado y las concentraciones de PBDE, junto al pH, la conductividad eléctrica y la densidad de la SOM se integraron haciendo uso de métodos de aprendizaje multivariado. Se utilizaron el PCA y la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) para evaluar las correlaciones entre las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos y sus concentraciones de PBDE tanto para el modelo ambiental como experimental. Los resultados obtenidos del PCA y del PLS fueron consistentes y revelaron que las concentraciones de PBDE en los sedimentos se correlacionaron con una SOM más degradada, caracterizada por cadenas de hidrocarburos relativamente más cortas y ramificadas. Las concentraciones de PBDE también se correlacionaron con valores relativamente más altos de densidad de la SOM, que a su vez se correlacionaron con una mayor degradación de la misma. Estos resultados evidencian que no solo el contenido de materia orgánica determina las concentraciones de PBDE en los sedimentos, sino también, lo que es más importante, su grado de degradación, permitiendo dar respuesta al interrogante abordado en la presente tesis, el cual se deriva de las controversias bibliográficas encontradas hasta el momento en las publicaciones científicas sobre la concentración de PBDE en sedimentos.

ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO EN INGLÉS	SIGNIFICADO EN ESPAÑOL
ANOVA	<i>analysis of variance</i>	análisis de la varianza
BFR	<i>brominated flame retardants</i>	retardantes de llama bromados
BC	<i>baseline correction</i>	corrección de línea de base
DHF	<i>demineralization with hydrofluoric acid</i>	desmineralización con ácido fluorhídrico
dw	<i>dry weight</i>	peso seco
E	<i>environmental</i>	ambiental
EC	<i>electrical conductivity</i>	conductividad eléctrica
ECD	<i>electron capture detector</i>	detector de captura de electrones
FR	<i>flame retardants</i>	retardantes de llama
FTIR	<i>Fourier transform infrared</i>	infrarrojo por transformada de Fourier
GC	<i>gas chromatography</i>	cromatografía de gases
HBCD	<i>hexabromocyclododecane</i>	hexabromociclododecano
HCB	<i>hexachlorobenzene</i>	hexaclorobenceno
HCBD	<i>hexachlorobutadiene</i>	hexaclorobutadieno
IR	<i>infrared</i>	infrarrojo
LD50	<i>lethal dose 50</i>	dosis letal media
LOD	<i>limit of detection</i>	límite de detección
LOQ	<i>limit of quantification</i>	límite de cuantificación
LRAT	<i>long range atmospheric transport</i>	transporte atmosférico de largo alcance
MS	-	material suplementario
NMR	<i>nuclear magnetic resonance</i>	resonancia magnética nuclear
NSD	<i>not significantly different</i>	no significativamente diferente
PBB	<i>polybrominated biphenyls</i>	bifenilos polibromados
PBDE	<i>polybrominated diphenyl ethers</i>	éteres de difenilo polibromados
PC	<i>principal components</i>	componentes principales
PCA	<i>principal component analysis</i>	análisis de componentes principales
PCB	<i>polychlorinated biphenyls</i>	bifenilos policlorados
PCN	<i>polychlorinated naphthalenes</i>	naftalenos policlorados
PeCB	<i>pentachlorobenzene</i>	pentaclorobenceno
PFHxS	<i>perfluorohexane sulfonic acid</i>	ácido perfluorohexano sulfónico
PLS	<i>partial least squares</i>	mínimos cuadrados parciales
PNA	-	Plan Nacional de Acción
POP	<i>persistent organic pollutants</i>	contaminantes orgánicos persistentes
RfD	<i>reference dose</i>	dosis de referencia

ABREVIATURA	SIGNIFICADO EN INGLÉS	SIGNIFICADO EN ESPAÑOL
RSD	<i>relative standard deviation</i>	desviación estándar relativa
SD	<i>significantly different</i>	significativamente diferente
SNR	<i>signal-to-noise-ratio</i>	relación señal-ruido
SOM	<i>sediment organic matter</i>	materia orgánica de los sedimentos
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>	Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
X	<i>experimental</i>	experimental

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES

Los contaminantes orgánicos persistentes (POP, por sus siglas del inglés, *persistent organic pollutants*) son compuestos químicos de origen antropogénico producidos tanto de manera intencional como involuntaria [1]. Se liberan al ambiente desde fuentes primarias y secundarias. Las fuentes de los POP varían tanto temporal como espacialmente, siendo las fuentes primarias de diferentes orígenes tales como agrícolas, industriales, derivadas de aplicaciones relacionadas con la salud, e inclusive la liberación no intencional a partir de la combustión. Una vez en el ambiente, los POP pueden reemitirse desde los reservorios donde puedan haberse acumulado (fuentes secundarias), tales como los suelos, los océanos, la nieve o el hielo. El perfil de los POP en una dada ubicación es único y se ve influenciado por la combinación de las emisiones primarias y secundarias[2].

Los POP, como bien expresa su nombre, se denominan persistentes debido a que presentan resistencia a la degradación. Son resistentes tanto a la degradación química como biológica (hidrólisis, fotólisis y transformación microbiana), y es por esto que pueden permanecer en el ambiente durante años e inclusive décadas [1]. Además, los POP presentan un transporte atmosférico de largo alcance o LRAT (del inglés, *long range atmospheric transport*), pudiendo depositarse en áreas remotas como por ejemplo en el Ártico, o en la meseta tibetana [3]. Dadas sus características lipofílicas y su gran estabilidad, los POP pueden potencialmente ingresar a la cadena trófica, bioacumularse y biomagnificarse, llegando a afectar a animales, plantas y seres humanos, generando efectos adversos en la salud [1].

La creciente preocupación a nivel global por el deterioro del ambiente ha generado la participación e interacción de países de todo el mundo con el objetivo de resolver problemas ambientales. En este sentido, se han celebrado e implementado acuerdos ambientales internacionales como principal medio y forma efectiva de atender a éstas problemáticas. Por medio del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente se ha generado un conjunto de convenios que cubre los elementos centrales del manejo y el desecho de sustancias químicas, y estos son los Convenios de Basilea, Rotterdam y Estocolmo. En conjunto, estos tres convenios constituyen el marco internacional que regula la gestión ecológicamente racional de productos químicos peligrosos durante su ciclo de vida [4].

En 1983 se aprobó el Convenio de Basilea sobre el control de los movimientos transfronterizos de los desechos peligrosos y su eliminación. Este convenio surgió como resultado de la preocupación generada en torno a los desechos tóxicos vertidos en países en desarrollo por parte de países industrializados, y su objetivo, proteger la salud humana y el ambiente contra los efectos adversos de los desechos peligrosos. Posteriormente, en el año 1998 se aprobó el Convenio de Rotterdam sobre el procedimiento de consentimiento fundamentado previo aplicable a ciertos plaguicidas y productos químicos peligrosos objeto de comercio internacional. El Convenio de Rotterdam exige a las partes que implementen un conjunto de procedimientos de toma de decisiones para la importación y exportación de algunos productos químicos y pesticidas extremadamente peligrosos. Por su parte, el Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes fue aprobado en el año 2001 como consecuencia de la urgente necesidad de implementar medidas de alcance global para proteger la salud humana y el medio ambiente de los POP [4], [5]. A cada uno de estos convenios la Argentina se ha suscripto, siendo además ratificados por medio de leyes [6].

CONVENIO DE ESTOCOLMO

El Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes se adoptó en el año 2001 y entró en vigor en el 2004. Con el objetivo de proteger la salud humana y el medio ambiente frente a los POP, los Estados Parte se comprometen a adoptar medidas para reducir o eliminar emisiones, intercambiar información y difundirla, y alentar actividades de investigación, desarrollo, vigilancia y cooperación, entre otras [7].

Inicialmente, en el Convenio de Estocolmo del 2001 se listaron 12 compuestos químicos (Tabla 1), los cuales fueron clasificados en tres categorías según sus fuentes: pesticidas, productos químicos industriales y producción no intencional [8]. Además, se separaron en tres anexos según las Partes se comprometieran a:

- **Anexo A:** Eliminar la producción y el uso, pudiendo algunas partes especificar exenciones para su implementación.
- **Anexo B:** Restringir la producción y el uso para cualquier propósito, especificando también exenciones.
- **Anexo C:** Reducir la emisión involuntaria con el objetivo de continuamente minimizarla, y cuando sea factible, finalmente eliminarla.

En subsiguientes reuniones, las Conferencias de las partes fueron realizando las correspondientes enmiendas, las cuales dejaban expreso, ya sea incorporar nuevos POP o también modificar su distribución según los diferentes anexos, o sus exenciones (Tabla 1). Aún en la actualidad, se siguen revisando las enmiendas y sugiriendo cambios tales como el propuesto en la última reunión llevada a cabo del 6 al 17 de Junio del 2022 (ver Tabla 1), la cual enmendó el Anexo A del Convenio incluyendo el ácido perfluorohexano sulfónico (PFHxS), sus sales y compuestos relacionados sin exenciones específicas [9]. Como puede observarse en la Tabla 1, entre los POP más tóxicos se encuentran la endrina con una dosis letal media (LD50, por *lethal dose 50*) de 3 mg kg⁻¹, y el pentaclorofenol con una LD50 de 27 mg kg⁻¹.

LEGISLACIÓN ARGENTINA SOBRE POP

El 16 de diciembre del 2004 por medio de la Ley N° 26.011 se aprobó en Argentina el Convenio de Estocolmo sobre los contaminantes orgánicos persistentes. Por ser un Estado Parte del Convenio de Estocolmo, Argentina realizó la presentación de su Plan Nacional de Acción (PNA) en el año 2007. El PNA reúne la información sobre el estado de situación de cada producto químico y establece los objetivos y acciones a implementar por el país para garantizar su manejo ambiental. El PNA se actualiza periódicamente para incluir los nuevos POP que se incorporen en las diferentes enmiendas del Convenio. En noviembre del 2017 se publicó la última actualización del PNA. Además, los Estados Parte deben realizar reportes periódicos del estado de implementación y cumplimiento del Convenio cada cuatro años. En el año 2018 Argentina realizó el cuarto reporte nacional [10].

Por otra parte, existe un Comité Internacional de Evaluación de los POP que se encarga de evaluar las propuestas de los países para incluir nuevos productos químicos en los anexos A, B y C del Convenio. En la actualidad, la Argentina dispone de un representante experto que forma parte del Comité en representación de la región de Latinoamérica y el Caribe.

Tabla 1. Sustancias químicas identificadas como Contaminantes Orgánicos Persistentes por el Convenio de Estocolmo y sus sucesivas enmiendas.

Anexo	Químico	Tipo	Toxicidad Oral en Ratas (LD50) [mg kg ⁻¹][11]
Convenio de Estocolmo 2001			
A	aldrina	pesticida	39-45
	clordano	pesticida	200
	dieldrina	pesticida	38
	endrina	pesticida	3
	heptacoloro	pesticida	ND
	mirex	pesticida	306
	toxafeno	pesticida	50
	hexaclorobenceno (HCB)	pesticida e industrial	3500
	bifenilos policlorados (PCB)	industrial	grupo de compuestos
B	dicloro difenil tricloroetano	pesticida	ND
C	dibenzodioxinas policloradas y dibenzofuranos policlorados	no intencional	grupos de compuestos
	HCB	no intencional	3500
	PCB	no intencional	grupo de compuestos
Enmienda 2009			
A	α-hexaclorociclohexano	pesticida	88-190
	β-hexaclorociclohexano	pesticida	88-190
	clordecona	pesticida	132
	lindano	pesticida	88-190
	Pentaclorobenceno (PeCB)	pesticida e industrial	940-1125
	hexabromobifenilos	industrial	grupo de compuestos
	éter de hexabromobifenilo (hexa-BDE) y éter de heptabromobifenilo (hepta-BDE) presentes en Octa-BDE comercial	industrial	grupos de compuestos
	éter de tetrabromobifenilo (tetra-BDE) y éter de pentabromobifenilo (penta-BDE) en Penta-BDE comercial	industrial	grupos de compuestos
B	sulfonato de perfluorooctano, sus sales y fluoruro de perfluorooctano sulfonilo	industrial	154-251
C	PeCB	no intencional	940-1125
Enmienda 2011			
A	endosulfán técnico y sus isómeros relacionados	pesticida	18-110
Enmienda 2013			
A	hexabromociclododecano	industrial	> 10000
Enmienda 2015			
A	pentaclorofenol y sus sales y ésteres	pesticida	27
	naftalenos policlorados (PCN)	industrial	grupo de compuestos
	hexaclorobutadieno (HCBd)	Industrial	90
C	PCN	no intencional	grupo de compuestos

Anexo	Químico	Tipo	Toxicidad Oral en Ratas (LD50) [mg kg ⁻¹][11]
Enmienda 2017			
A	éter de decabromobifenilo (mezcla comercial Deca-BDE)	industrial	grupo de compuestos
	Parafinas cloradas de cadena corta	industrial	grupo de compuestos
C	HCBD	no intencional	90
Enmienda 2019			
A	dicofol	pesticida	595
	ácido perfluorooctanoico, sus sales y compuestos relacionados	industrial	ND
Enmienda 2022			
A	PFHxS, sus sales y compuestos relacionados	industrial	ND

ND: no disponible

1.2 RETARDANTES DE LLAMA BROMADOS

Los retardantes de llama (FR, por sus siglas en inglés, *flame retardants*) son compuestos químicos utilizados para reducir el riesgo de inflamabilidad de materiales poliméricos combustibles [12]. Existen registros del uso de FR por parte de los egipcios que se remontan a los años 450 A.C.; esta civilización utilizó sulfato de potasio y aluminio para reducir la inflamabilidad de la madera. Cerca de dos siglos más tarde, los romanos mejoraron el proceso incorporando además el uso de vinagre [13].

En la actualidad, las estadísticas muestran que la mayor parte de las pérdidas humanas y económicas que se producen en incendios son causadas por muebles tapizados, seguidos por la red de distribución eléctrica [14]. Es por esto que uno de los métodos de prevención y protección contra el fuego más utilizado se enfoca en el uso de FR sintetizados artificialmente por el ser humano.

Los FR intervienen en el proceso de combustión, el cual consiste en una reacción en fase gaseosa que involucra una fuente combustible y oxígeno, y se desarrolla en cuatro pasos: precalentamiento, volatilización/descomposición, combustión y propagación [15]. Durante el proceso de combustión se producen radicales libres, agentes altamente oxidantes que son esenciales para que la llama se propague.

Existen diferentes tipos de FR, tales como los compuestos halogenados, organofosforados, inorgánicos, nitrogenados, a base de silicio, intumescentes (basados en la formación de una capa voluminosa y aislante que actúa como protección a través de la carbonización y del espumado simultáneo), nanocompuestos y sinergistas [16].

Los compuestos organohalogenados han sido históricamente utilizados como FR debido a que presentan ciertas características que son difícilmente reemplazables, generándose un desafío al momento de encontrar sustitutos no halogenados. Los halógenos son efectivos para atrapar los radicales libres producidos durante la combustión, y por ende, para eliminar la capacidad de que la llama se propague. La eficiencia de atrapamiento de radicales libres por parte de los halógenos es la siguiente: $I > Br > Cl > F$ [17]. Los compuestos organohalogenados son útiles para almacenar y liberar halógenos en los polímeros a los cuáles se adicionan los FR. Sin embargo, algunos de ellos, como los compuestos fluorados presentan una estabilidad tal que se descomponen a una temperatura mayor a la que los polímeros se combustionan. En el otro extremo, los compuestos que contienen yodo, no son muy inestables, descomponiéndose a temperaturas menores, por lo cual, ninguno de los dos tipos de compuestos sería indicado para cumplir su función como FR. En consecuencia, los compuestos organoclorados y organobromados son aquellos utilizados principalmente como FR halogenados; y dado que presentan una menor temperatura de descomposición y una mayor eficiencia para atrapar radicales libres, los compuestos organobromados son los más usados [14].

Los retardantes de llama bromados (BFR, por sus siglas en inglés, *brominated flame retardants*) se dividen en tres grupos dependiendo de la manera en la que se incorporan a los materiales poliméricos: aditivos, reactivos y poliméricos [18]. Los BFR reactivos forman enlaces covalentes con los plásticos, por lo cual son más estables y no se liberan fácilmente al ambiente [15]. En los BFR poliméricos, los átomos de bromo forman parte de la estructura polimérica, resultando más estables. Dado que los BFR aditivos se agregan a la matriz polimérica sin enlazarse químicamente a la misma, pueden lixiviarse con facilidad liberándose al medio ambiente [19].

Debido a su fácil liberación desde las matrices poliméricas, los BFR aditivos son los que representan la mayor preocupación a la hora de evaluar impactos ambientales y en la salud [20]. Los principales BFR aditivos son los bifenilos polibromados, los éteres de difenilo polibromados y el hexabromociclododecano. Las estructuras químicas de los mencionados compuestos se muestran en la Figura 1.

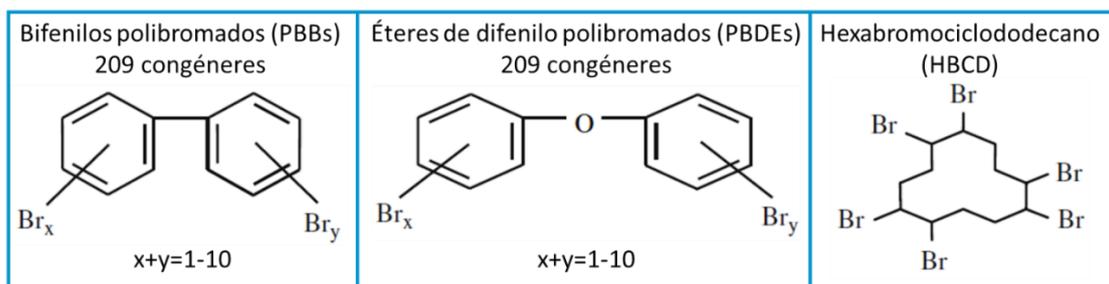


Figura 1. Estructura química de los principales BFR aditivos.

1.3 ÉTERES DE DIFENILO POLIBROMADOS

Los éteres de difenilo polibromados (PBDE, del inglés, *polybrominated diphenyl ethers*) están formados por dos anillos bencénicos unidos por un oxígeno a través de un enlace éter. Los 10 átomos de hidrógeno de los anillos bencénicos pueden estar sustituidos total o parcialmente por 1 a 10 átomos de bromo (Figura 1). Respecto al número de átomos de bromo en la molécula se pueden identificar 10 grupos homólogos (mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-, hepta-, octa-, nona- y decabromo difenil éteres). A su vez, cada uno de estos grupos puede estar compuesto por uno o más isómeros o congéneres. Dependiendo del número y la posición de los átomos de bromo existe la posibilidad de formar 209 congéneres [15].

La producción comercial de PBDE de grado técnico es por medio de la bromación del difenil éter bajo condiciones catalíticas, resultando en mezclas de PBDE con diferentes grados de bromación [18]. Las mezclas de PBDE que han sido mayormente comercializadas se denominan Penta-BDE, Octa-BDE y Deca-BDE. En la Tabla 2 puede observarse que la mezcla comercial Penta-BDE está compuesta en mayor proporción por penta-BDE, luego tetra-BDE y en menor proporción por hexa-BDE. Los principales usos de la mezcla comercial Penta-BDE son en textiles y en espumas de poliuretano. Por su parte la mezcla comercial Octa-BDE está compuesta principalmente por hepta- y octa-BDE, mientras que contiene aproximadamente 10 % de hexa- y de nona-BDE, y menos del 1% de deca-BDE (Tabla 2). Sus principales usos son en estirenos, policarbonatos y termoestables. Por último, la mezcla comercial Deca-BDE está compuesta principalmente por deca-BDE (> 97%), conteniendo una muy baja proporción de nona- y octa-BDE. La mezcla comercial Deca-BDE es usada en la mayoría de los materiales sintéticos, incluidos textiles y electrónicos.

Tabla 2. Composición y principales usos de mezclas comerciales de PBDE [12], [21].

Grupo	Mezcla comercial		
	Penta-BDE	Octa-BDE	Deca-BDE
tetra-BDE	24-37 %	-	-
penta-BDE	50-60 %	-	-
hexa-BDE	4-8 %	10-12 %	-
hepta-BDE	-	44 %	-
octa-BDE	-	31-35 %	muy pequeña proporción
nona-BDE	-	10-11%	≈ 3 %
deca-BDE	-	< 1 %	> 97 %
Usos	Textiles y espumas de poliuretano	Estirenos, policarbonatos y termoestables	En la mayoría de materiales sintéticos, incluidos textiles y electrónicos

Las mezclas comerciales Deca-BDE y Penta-BDE eran las más utilizadas dada su función como retardantes de llama y sus tan diversas y extendidas aplicaciones [15]. Sin embargo, debido a su toxicidad [22], en el año 2001 la Unión Europea anunció la prohibición para el 2003 de las formulaciones Penta-BDE y Octa-BDE [15], las cuales fueron agregadas a la Enmienda del 2009 de la Convención de Estocolmo (Tabla 1). Finalmente, en la Tabla 1 también puede observarse que el Deca-BDE fue prohibido en la Enmienda del Convenio de Estocolmo en el año 2017.

Históricamente, los PBDE han sido los BFR más utilizados, y a pesar de sus restricciones (Tabla 1) y debido a su persistencia, son aún en la actualidad los BFR más importantes en cuanto a su presencia y asociación con plásticos, liberación al ambiente y circulación social [23]. En particular, los componentes de la mezcla comercial Penta-BDE aún siguen generando preocupación debido a que los congéneres que la componen son algunos de los más encontrados en el ambiente abiótico [24]. Pese a la prohibición más temprana (respecto a la formulación Deca-BDE), su presencia actual en el ambiente podría atribuirse tanto a su persistencia como a la posibilidad de que los congéneres más bromados (Deca-BDE) sufran desbromación por degradación o biotransformación [25].

1.3.1 PBDE EN EL AMBIENTE

Los PBDE fueron identificados por primera vez en el ambiente en los años 80 [26] y desde entonces se han distribuido en todos los compartimentos ambientales [27].

El comportamiento ambiental y el destino de los compuestos químicos dependen tanto de sus propiedades fisicoquímicas como de la naturaleza del ambiente circundante. Dichas propiedades, a su vez, están determinadas por la estructura de las moléculas y la naturaleza de los átomos constituyentes [28].

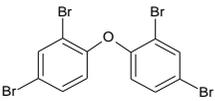
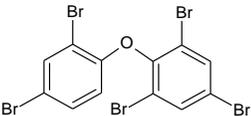
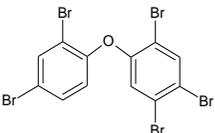
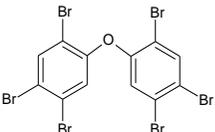
Dependiendo de la estructura de los compuestos, las propiedades fisicoquímicas abarcan rangos de valores que se corresponden con diferentes grados de toxicidad, persistencia, bioacumulación, o movilidad en los ecosistemas. Por consiguiente, estas relaciones entre la estructura y las propiedades de una molécula permiten predecir el comportamiento ambiental de diferentes compuestos e inclusive seleccionar técnicas adecuadas para la preparación de muestras y facilitar el análisis [29].

Una vez que los PBDE se liberan en el ambiente, tanto desde fuentes primarias como secundarias, son sorbidos en las partículas del aire pudiendo transportarse a ambientes acuáticos y terrestres, e inclusive presentar un LRAT por medio del cual se los ha identificado en áreas remotas, alejadas de sus fuentes de emisión, como en el Ártico y el Antártico [30].

Algunos de los congéneres de PBDE más comúnmente encontrados en sedimentos en ambientes acuáticos son aquellos contenidos en mayor proporción en la mezcla comercial Penta-BDE: éter 2,2',4,4'-tetrabromo difenilo (BDE-47), éter 2,2',4,4',6-pentabromo difenilo (BDE-99), éter 2,2',4,4',5-pentabromo difenilo (BDE-100) y éter 2,2',4,4',5,5'-hexabromo difenilo (BDE-153) [15]. Estos cuatro congéneres son los que serán estudiados en la presente tesis.

Teniendo en cuenta las propiedades fisicoquímicas de los PBDE en estudio (Tabla 3), dada su muy baja solubilidad en agua, alto coeficiente de partición octanol-agua ($\log K_{oa}$) y baja presión de vapor, los PBDE en ambientes acuáticos tienden a adsorberse en las partículas suspendidas, la fracción orgánica de los sedimentos, o incorporarse a los organismos acuáticos [31].

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas de los PBDE mayoritarios en la mezcla comercial Penta-BDE [28].

Nombre común N° CAS	Nombre químico	Estructura química	Peso molecular [u.m.a.]	Punto de ebullición [°C, 1 atm]	Solubilidad en agua [μg l ⁻¹ , 25°C, pH=7]	Presión de vapor [Pa, 25°C]	log K _{OA} ^a
BDE-47 5436-43-1	éter 2,2',4,4'- tetrabromo difenilo		485,79	395	11	2,5.10 ⁻⁴	6,81
BDE-99 60348-60-9	éter 2,2',4,4',6- pentabromo difenilo		564,69	se descompone a > 300	2,4	5,0.10 ⁻⁵	6,5-8,4
BDE-100 189084-64-8	éter 2,2',4,4',5- pentabromo difenilo		564,69	416	40	2,1.10 ⁻⁷	7,24
BDE-153 68631-49-2	éter 2,2',4,4',5,5'- hexabromo difenilo		643,58	471	0,9	5,8.10 ⁻⁶	7,9

^a log K_{OA}: logaritmo del coeficiente de partición octanol-agua

PBDE EN SEDIMENTOS

Dada la afinidad de los PBDE por los sedimentos, su análisis se ha establecido como una forma útil de evaluar los niveles de contaminación en el medio ambiente [32]. Las concentraciones de PBDE en sedimentos a nivel global pueden variar ampliamente dependiendo de la ubicación. En la Tabla 4 se muestran algunos reportes actualizados de concentraciones de los PBDE en estudio a nivel global. Puede identificarse que los niveles más bajos se han detectado tanto en América del Sur (Argentina y Colombia) como en Australia, Oceanía. Como contraparte, los valores más elevados se observan en la frontera entre Estados Unidos y Canadá, en Nigeria y en Italia. Las mayores concentraciones superan a las reportadas en Argentina por hasta 5 órdenes de magnitud.

Tabla 4. Concentraciones de sedimentos en pg g^{-1} (dw, por sus siglas en inglés *dry weight*) reportadas a nivel mundial.

Continente	Ubicación	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153	Ref.
África	Estanques de agua de Lagos, Nigeria	2260-14900	3260-18600	880-14710	2520-23200	[33]
América	Río Detroit, frontera de Canadá y EE. UU.	426-55600	359-72500	85,7-16300	44,5-8260	[34]
	Estuario de Bahía Blanca, Argentina	< 8-13	< 7-10	< 5-20	< 4	[35]
	Bahía de Cartagena, Colombia	< 20-250	nd-110	nd-90	nd	[36]
Asia	Río Yangtze, China	10-13900	10-570	10-560	10-13500	[37]
	Arrollo Thane, India	240-4190	< 0,99-1770	< 0,68-760	< 1,16-140	[38]
	Bahía de İzmit, Turquía	2069-3745	1,7-732	nd-180	nd-56	[39]
Europa	Río Nevá, Rusia	180-1000	< LOQ*-190	< LOQ*-70	< LOQ*-80	[40]
	Lago di Cavazzo, Italia	4660-83500	305-6540	nd-2500	nd-1630	[41]
	Estuario de Escalda, Bélgica	< 70 - 6100	< 100-6100	< 20-1900	< 10-1000	[42]
Oceanía	Río Brisbane, Australia	30-50	40-70	4-10	< 13-20	[43]

nd: no detectado, *Límite de cuantificación no reportado para cada congénere, rango: 0,1-30

Se han estudiado diferentes características de los sedimentos y los suelos que podrían influenciar la adsorción y, en consecuencia, la biodisponibilidad de los PBDE, como por ejemplo el tamaño de grano, el contenido de carbono negro o *black carbon*, el contenido de materia orgánica y sus fracciones, entre otras. Respecto al tamaño de grano de los sedimentos, se ha encontrado una tendencia de los PBDE a asociarse con partículas más finas [44], la cual se relaciona principalmente a una mayor área superficial de los granos más pequeños [45]. Por su parte, el *black carbon* ha demostrado mejorar la capacidad de sorción de los contaminantes orgánicos hidrofóbicos como los PBDE en los suelos y los sedimentos, e inclusive ha sido utilizado en intentos de remediación de ríos contaminados para secuestrar estos contaminantes y evitar que se filtren hacia las aguas subterráneas [46].

La materia orgánica de los sedimentos y suelos (SOM, por sus siglas en inglés, *soil/sediment organic matter*) desempeña un importante rol en la captura y retención de los contaminantes, estableciendo complejas y numerosas interacciones, pudiendo generar una fuerte sorción [47]. Respecto a las correlaciones entre las concentraciones de los PBDE en los sedimentos y su contenido de materia orgánica, existen discrepancias entre los datos publicados. En este sentido, muchos autores reportan correlaciones significativas entre las concentraciones de PBDE y el contenido de SOM [48]–[50]. En contraposición, estudios recientes reportaron que no hallaron correlaciones significativas entre las concentraciones de PBDE y los compuestos orgánicos de los sedimentos [51]–[53]. Además, entre las fracciones de suelos o sedimentos, se ha reportado que la humina parece exhibir importantes capacidades de sorción, sin embargo, al presentar también una alta desorción, esto podría implicar que la acumulación de PBDE en los suelos o sedimentos esté regulada por otras fracciones de la SOM [54].

En relación al contenido de SOM, la discrepancia entre reportes que lo correlacionan con las concentraciones de PBDE y las complejas interacciones entre estos contaminantes y los componentes de la SOM, sugieren que sería importante estudiar otros potenciales factores que podrían condicionar la correlación entre los PBDE y los sedimentos. Con el objeto de contribuir a dar respuesta a esta brecha, es que posteriormente se plantean la hipótesis y objetivos de la presente tesis doctoral.

1.3.2 TOXICIDAD DE LOS PBDE

Debido a la persistencia y ubicuidad de los PBDE, estos compuestos representan una gran amenaza tanto para la salud humana como para los ecosistemas [55]. Una vez en el ambiente,

los PBDE tienen la capacidad de bioacumularse en los tejidos de los organismos y de biomagnificarse a través de la cadena trófica pudiendo alcanzar niveles que generen implicaciones directas para la salud humana [56].

Las principales vías de exposición de los humanos a los PBDE son la inhalación, la ingestión oral (de polvo y de alimentos contaminados) y el contacto dérmico. La carga corporal humana de PBDE podría resultar tanto de una combinación entre cada una como simplemente de una sola vía de exposición [57]. La exposición dietaria ha demostrado ser una de las principales vías de exposición de los humanos a los PBDE [58]. En particular, el consumo de pescado es una importante fuente de exposición debido a que este alimento es uno de los más contaminados [55]. El nivel de dichos contaminantes presente en los peces se asocia a su contenido de grasa; en general, los PBDE presentan mayores concentraciones en alimentos con alto contenido de lípidos o grasas, y en consecuencia, generan una elevada biodisponibilidad [59].

Respecto a las consecuencias sobre la salud humana causadas por la exposición a PBDE, numerosos estudios han demostrado su asociación con disfunción y disrupción endócrina, desórdenes reproductivos, neurotoxicidad y carcinogenicidad [55]. Los PBDE son estructuralmente semejantes a la tiroxina (hormona tiroidea T4) y es por esto que, desde una perspectiva toxicológica, pueden alterar la homeostasis de dicha hormona, la síntesis de estradiol y causar neurotoxicidad [60]. La dosis de referencia (RfD) es una estimación de una exposición oral diaria de la población humana (incluidos los subgrupos sensibles) que probablemente no presente un riesgo apreciable de efectos nocivos durante toda la vida. La RfD reportada por la USEPA (*United States Environmental Protection Agency*) para la exposición oral al BDE-47, y al BDE-99 es de $100 \text{ ng kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$, la del BDE-153 es de $200 \text{ ng kg}^{-1} \text{ día}^{-1}$, mientras que la del BDE-100 no se reporta [61].

1.4 FUNDAMENTOS ANALÍTICOS

1.4.1 ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER

La espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés, *Fourier transform infrared spectroscopy*) es una técnica instrumental simple, rápida y no destructiva que se utiliza para caracterizar la composición de la SOM [62] mediante el análisis de sus grupos funcionales [63].

A partir de los espectros FTIR puede derivarse información tanto cualitativa como semicuantitativa respecto a los grupos funcionales característicos de los compuestos presentes en la materia orgánica. Los datos semicuantitativos se obtienen a partir de la definición de cocientes de áreas de picos correspondientes a dichos grupos funcionales [64]. Los cálculos de áreas se realizan por medio de técnicas establecidas para el procesamiento de las señales espectroscópicas, es decir, corrección de línea de base (BC, por sus siglas en inglés, *baseline correction*), métodos de integración de áreas, cálculo de cocientes de áreas y autodeconvolución de Fourier [65]–[68].

La combinación de análisis semicuantitativos de espectros FTIR y análisis estadísticos multivariados ha sido ampliamente reportada para caracterizar la materia orgánica preservada en muestras de plantas fósiles con implicaciones para la tafonomía molecular y la quimiotaxonomía [64], [69], [70].

En la presente tesis haremos uso de esta herramienta quimiométrica para caracterizar la SOM y luego poder correlacionarla con la concentración de los PBDE en los sedimentos.

1.4.2 CROMATOGRAFÍA DE GASES

La cromatografía de gases (GC, por sus siglas en inglés *gas chromatography*), es la técnica mayormente utilizada para el análisis de contaminantes orgánicos tales como los PBDE [71]. La inyección sin división es la preferida debido a los bajos niveles de PBDE esperados en las muestras ambientales [72]. Los parámetros a tener en cuenta durante la inyección comprenden el volumen de muestra, la temperatura y el tiempo en el inyector. La temperatura usualmente se mantiene entre 250 y 300 °C [73]. Las temperaturas o los tiempos de residencia en el *liner* muy elevados podrían causar la degradación de los PBDE más bromados, con mayores pesos moleculares [73], [74]. El volumen de muestra en el modo sin división se limita entre 1 y 3 μ l [74].

Respecto a las columnas cromatográficas, los PBDE son separados principalmente usando fases estacionarias no polares (por ejemplo, VF-5 o DB-5) y longitudes de columna de entre 30 y 50 m, con diámetros de hasta 0,25 mm [75]. La programación de la temperatura del horno por medio de la implementación de rampas también resulta relevante para lograr mejores separaciones de los analitos en menores tiempos [76].

Los sistemas de detección de PBDE más comúnmente utilizados son por espectrometría de masas y por captura de electrones (ECD, por sus siglas en inglés *electron capture detector*) [75]. GC acoplada a ECD presenta una alta selectividad por los compuestos halogenados, por lo cual resulta una técnica favorable para el análisis de PBDE en diferentes matrices ambientales. Sin embargo, se debe tener la precaución de eliminar previamente interferencias comúnmente encontradas en sedimentos, en especial los compuestos con azufre [77].

1.4.3 MÉTODOS DE APRENDIZAJE MULTIVARIADO

El aprendizaje estadístico hace referencia a una serie de herramientas para modelar y comprender conjuntos de datos complejos. Estas herramientas se pueden clasificar en dos categorías, supervisadas y no supervisadas. El aprendizaje estadístico supervisado involucra la generación de modelos estadísticos para estimar o predecir una respuesta o un *output* a partir de uno o más datos de entrada o *inputs*. En el aprendizaje estadístico no supervisado se parte de *inputs* sin producir un correspondiente *output*, sin embargo, se pueden generar estructuras y relaciones a partir de los *inputs* [78].

Durante el desarrollo de la presente tesis se hará uso de dos métodos de aprendizaje multivariado: uno supervisado, la regresión por mínimos cuadrados parciales; y el otro no supervisado, el análisis de componentes principales.

ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES

El análisis de componentes principales (PCA, del inglés *principal component analysis*) es uno de los métodos quimiométricos más importantes y potentes [79]. El PCA permite reducir la dimensionalidad de un sistema y revelar factores ocultos que subyacen a conjuntos de variables aleatorias, mediciones o señales. El principal objetivo del PCA es reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos en el cual existe una determinada cantidad de variables interrelacionadas, mientras se retiene la mayor variación posible del conjunto de datos [80]. Esta reducción se logra por medio de la generación de un nuevo conjunto de variables denominadas componentes principales (PC, en inglés, *principal components*), las cuales son combinaciones lineales de las variables originales [79]. Las PC resultantes no se encuentran correlacionadas y se ordenan en función de la mayor retención de la variación asociada a todas las variables originales [80].

La combinación de PCA y el análisis de la varianza (ANOVA, del inglés, *analysis of variance*), ha sido ampliamente utilizada en el análisis por FTIR de la materia orgánica preservada en

plantas fósiles [81], [82] permitiendo inclusive el desarrollo de un modelo lineal para determinar su densidad por medio del análisis de datos semicuantitativos derivados de grupos funcionales [70]. Este enfoque quimiométrico que combina datos FTIR semicuantitativos, PCA y ANOVA ha sido aplicado también en el control del reciclado de xilol proveniente de desechos histológicos [83].

MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES

La regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS, por sus siglas en inglés, *partial least squares*) es un método de aprendizaje estadístico supervisado. Como el PCA, el PLS es un método de reducción de la dimensión que genera combinaciones lineales a partir de las variables originales. Pero a diferencia del PCA, el PLS reconoce nuevas características de forma supervisada, intentando encontrar direcciones que ayuden a explicar tanto predictores como respuestas [78].

La regresión PLS combina el PCA con la regresión lineal y se aplica cuando se desea predecir un conjunto de variables dependientes a partir de un conjunto de variables predictoras. El método PLS es particularmente útil cuando se tiene más variables que observaciones (sobreajuste) y cuando existe también multicolinealidad entre las variables predictoras, es decir que se encuentran correlacionadas. Además, se considera al PLS un método confiable para identificar variables relevantes y sus magnitudes de influencia [84].

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

La caracterización química de la materia orgánica de sedimentos es una herramienta (eficaz, rápida y económica) para identificar áreas con mayor potencial para acumulación y transporte de BFR.

OBJETIVO GENERAL

Profundizar sobre el conocimiento de la relación entre las características químicas de los sedimentos y la acumulación de BFR, tales como los PBDE.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Ampliar estudios sobre el impacto de las características químicas de sedimentos sobre la capacidad de acumulación y transporte de POP, tales como los PBDE.

2) Poner a punto y validar un método de preparación de muestra para la caracterización de la SOM mediante espectroscopia FTIR.

3) Integrar en un análisis multivariado las características químicas de los sedimentos con la finalidad de identificar el conjunto de aquellas que estarían favoreciendo la acumulación y potencial transporte de POP.

4) Aplicar los resultados obtenidos en el objetivo 3) para diagnosticar ambientes con potencial de acumulación de POP en función de las características químicas de sus sedimentos.

**CAPÍTULO II: REACTIVOS,
INSTRUMENTACIÓN ANALÍTICA Y
MUESTRAS**

2.1 MUESTRAS DE SEDIMENTO

Las muestras de sedimento utilizadas fueron seleccionadas a partir de un trabajo previo del grupo de investigación [85], en el cual se colectaron sedimentos de canales de riego y acequias del Oasis Norte de la Provincia de Mendoza ($32^{\circ} 53' S$, $68^{\circ} 50' W$) siguiendo un gradiente altitudinal (881-583 m sobre el nivel del mar) en el período 2009-2010. Se recolectaron tres submuestras de 200 cm^3 de cada sitio de muestreo a una profundidad entre 0 y 10 cm. Las submuestras se integraron en frascos color caramelo de 600 cm^3 y se transportaron al laboratorio a $4^{\circ}C$. Las muestras se almacenaron a $-14^{\circ}C$ hasta su análisis. Posteriormente, se descongelaron, secaron a $40^{\circ}C$ y homogeneizaron a través de un tamiz de acero inoxidable 75 mesh antes del análisis.

2.1.1 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE SOM

El contenido de SOM de cada muestra se determinó por gravimetría [86]: alícuotas de 10 g de sedimento tamizado fueron secadas a $105^{\circ}C$ hasta peso constante, y posteriormente calcinadas en una mufla a $430^{\circ}C$ durante 24 horas. El contenido de SOM fue determinado por diferencia de peso entre estos dos procedimientos.

2.2 EQUIPOS DE SOPORTE Y REACTIVOS

2.2.1 EQUIPOS DE SOPORTE

Los equipos de soporte utilizados durante las etapas experimentales correspondientes al desarrollo de la presente tesis se enumeran en la Tabla 5, junto a sus datos de fabricación y principales características.

Tabla 5. Equipos de soporte y sus principales características.

Equipos de Soporte	Marca/Modelo (País)	Características
Agitador Vórtex	Neuation iSwix (India)	Hasta 2800 rpm. Diámetro orbital 4mm.
Balanza Analítica	AND HR-200 (EE.UU.)	Capacidad máxima: 210 g, resolución 0,0001 g.
Baño Termostático con Agitación	Arcano SHZ-88 (China)	Agitación: Oscilante, velocidad máxima de agitación: 280 rpm, límite de temperatura: 100°C con resolución de 1 °C, límite de tiempo 999 minutos.
Centrífuga	Luguimac LC-15 (Argentina)	Rotor CL-0450. Radio de rotor más adaptador: 15 cm. Límite de programación de tiempo: 99 minutos, velocidad: 3600 rpm (0 a 2177 g). Adaptadores A14-1615 con capacidad para cuatro tubos de centrífuga de 15 ml.
Conductímetro	HACH sensION 7 (EE. UU.)	Resolución de 0,01 $\mu\text{S cm}^{-1}$.
Concentrador por corriente de Nitrógeno	Arcano MD-200-1 (China)	Bloque para 12 tubos de 16 mm de diámetro. Límite de temperatura 150 °C. Resolución 0,5/1 °C. Largo de agujas 15 cm. Evaporación de hasta 330 ml min^{-1} por muestra, bajo consumo de nitrógeno.
Evaporador Rotatorio	IKA-DEST RV 05 (Alemania)	Rango de velocidad 30-240 rpm.
Extractores Soxhlet	IVA (Argentina)	Compuestos por tres cuerpos: balones de 250 ml de capacidad, extractores con sifón de reflujo y refrigerantes.
Liofilizador	Biobase BK-FD10PT (China)	Temperatura de la trampa -60 °C. Vacío < 10 Pa. Capacidad de captura de agua: 3 kg 24 h^{-1} .
Mantas Calefactoras	Arcano MCS (China)	Temperatura máxima: 320 °C. Resolución 1 °C.
Mufla	ORL (Argentina)	Controlador de temperatura Dhacel DH100. Temperatura máxima: 1250 °C, resolución 1 °C.
Pastillero	Perkin-Elmer (EE.UU.)	Diámetro interno 13 mm, máximo de seguridad 10 ton.
pH-metro	HACH sensION 3 (EE. UU.)	Rango de pH: 0-14. Resolución 0,01.
Agitador Magnético	AREC Velp Scientifica (Italia)	Rango de velocidad 50-1300 rpm. Temperatura máxima 540 °C, resolución 5 °C.
Prensa Hidráulica	H. B. Torletti (Argentina)	Límite 700 kg cm^{-2} , resolución de 10 kg cm^{-2} .

2.2.2 REACTIVOS

Los estándares comerciales de PBDE (BDE-47, -99, -100 y -153 en isooctano) usados en este trabajo fueron adquiridos por medio de Accustandard (EE. UU.). Se usó como estándar interno el bifenilo de decacloro (PCB-209 en isooctano, Chem-Lab, Bélgica). Las diluciones se prepararon en isooctano y se almacenaron en viales color caramelo a -20 °C.

Se utilizó también, ácido fluorhídrico 40 % y ácido sulfúrico (Biopack, Argentina), bromuro de potasio calidad IR (Cole-Parmer, EE. UU.), azida de sodio 99 % y cobre en polvo tamaño de partícula $\approx 40 \mu\text{m}$ (Anedra, Argentina), n-hexano, acetona, diclorometano e isooctano de grado cromatográfico (J. T. Baker, EE. UU.), sulfato de sodio anhidro y sílica gel 70-230 mesh (Merck, Alemania).

2.3 EQUIPOS

2.3.1 ESPECTRÓMETRO DE INFRARROJO CON TRANSFORMADA DE FOURIER

La SOM se caracterizó haciendo uso de un espectrómetro Spectrum BX FT-IR System marca Perkin Elmer (EE. UU.), con interferómetro DynaScan y detector de sulfato de triglicina deuterada (DTGS). El espectrómetro posee un láser Helio Neón (HeNe) de clase II categorizado por el Centro de Dispositivos y Salud Radiológica [87], que emite radiación continua y visible a una longitud de onda de 633 nm. El sistema óptico permite un rango de barrido de 7800 a 100 cm^{-1} con resolución máxima de 1 cm^{-1} . El sistema electrónico está basado en el procesador integrado Motorola 68340. El sistema óptico se encuentra separado del compartimento de muestras por medio de ventanas de KBr, manteniéndolo purgado, libre de humedad y de dióxido de carbono [88]. Los espectros FTIR se obtuvieron dentro del intervalo de número de onda de $4000\text{--}400 \text{ cm}^{-1}$, con una resolución de 4 cm^{-1} y 16 escaneos.

2.3.2 CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

La determinación de los congéneres de PBDE estudiados en muestras de sedimento (BDE-47, -99, -100 y -153) se realizó en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 (Series II) acoplado a un detector de captura de electrones (GC-ECD) Hewlett Packard (Avondale, PA, EE. UU.) operado a 300 °C. La columna GC usada fue la VF-5ms (30 m \times 0,25 mm, 0,25 μm de espesor de la película; Varian, Lake Forest, CA, EE.UU.). Las inyecciones manuales fueron de 1 μl y se

efectuaron bajo el modo sin división usando un *liner* HP 4/3, 5181-3316 de 78 mm de largo y 4 mm de diámetro interno. Se utilizó como gas portador nitrógeno 5.0 (99,999 %) con un flujo de 1 ml min⁻¹ (12 Pa). La temperatura del inyector fue de 250 °C. La programación de temperaturas que se muestra en la Figura 2 fue: 90 °C, 1 min; rampa 1: 35 °C min⁻¹ hasta 250 °C; rampa 2: 20 °C min⁻¹ hasta 280 °C, 20 min.

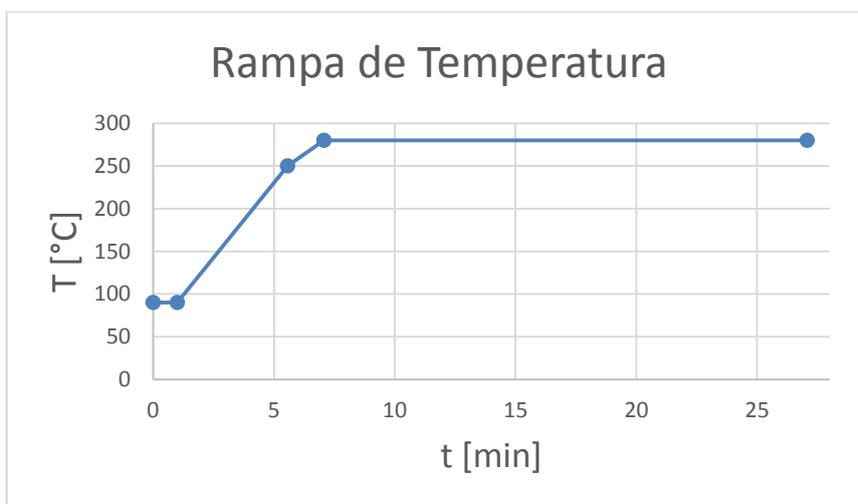


Figura 2. Rampa de temperatura programada para el horno del GC-ECD.

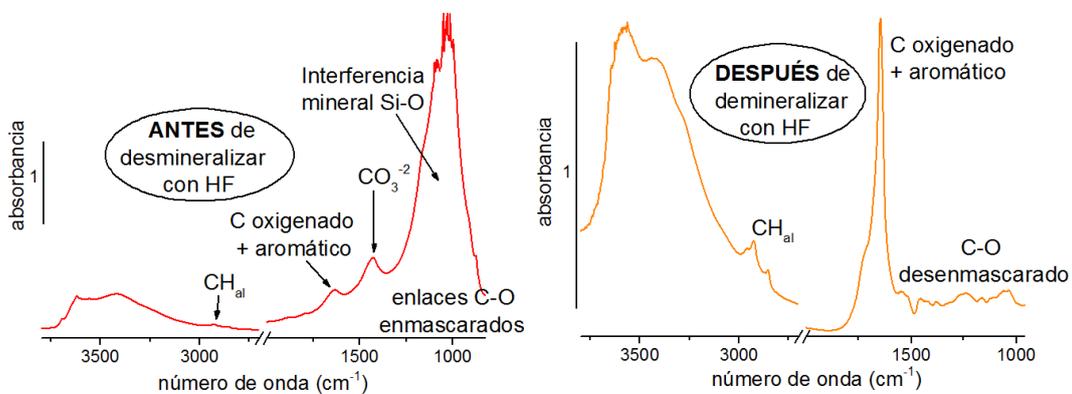
La identificación y cuantificación de los picos se realizaron frente al estándar interno (PCB-209) y se alcanzaron valores del coeficiente de correlación de Pearson $r > 0,99$. Los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) se calcularon de acuerdo con la recomendación actual de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) [89]. Los LOQ para los PBDE analizados oscilaron entre 2,2 y 2,5 ng g⁻¹ y los LOD entre 0,8 y 0,9 ng g⁻¹ (Tabla 6). El control de calidad también se realizó mediante la inyección aleatoria de estándares, la inyección de duplicados de muestras y de blancos de solventes cada cinco muestras de sedimentos y después de los blancos de procedimiento, cuya desviación estándar relativa (RSD) fue $< 12,7$ %.

Tabla 6. Límites de detección y de cuantificación, rango lineal y desviación estándar relativa de los blancos de procedimiento para los cuatro congéneres en estudio.

	LOD [ng g⁻¹]	LOQ [ng g⁻¹]	Rango Lineal [ng g⁻¹]	RSD [%]
BDE-47	0,764	2,187	2,187-35	12,654
BDE-99	0,776	2,222	2,222-35	9,652
BDE-100	0,831	2,380	2,380-35	4,540
BDE-153	0,887	2,542	2,542-35	3,405

CAPÍTULO III: OPTIMIZACIÓN QUIMIOMÉTRICA DE UN MÉTODO DE DESMINERALIZACIÓN DE SEDIMENTOS PARA EL ANÁLISIS DE MATERIA ORGÁNICA POR FTIR

CARACTERIZACIÓN DE LA SOM: ESPECTROS FTIR



Aportes destacados del Capítulo III:

- Optimización quimiométrica de un método de desmineralización de muestras de sedimentos para analizar la materia orgánica por FTIR
- Combinación de herramientas de análisis espectral y estadística multivariada para caracterizar químicamente la SOM
- Análisis semicuantitativos de la SOM por FTIR
- Optimización de desmineralización con HF para eliminar interferencias espectrales en el análisis de la SOM por FTIR
- Eficiencia de la desmineralización optimizada y ausencia de modificaciones estadísticamente significativas de los grupos funcionales presentes en la SOM

3.1 INTRODUCCIÓN

La SOM es la fracción de suelos o sedimentos que incluye compuestos orgánicos como residuos de plantas, hojarasca, humus, compuestos orgánicos solubles en agua y biomasa microbiana [90]. Aunque la SOM es un componente menor de los sedimentos y suelos [63], regula sus principales propiedades biológicas y fisicoquímicas y es la fuente más importante de nutrientes [91]. La caracterización de las estructuras moleculares de la SOM permite una mejor comprensión de su origen, secuestro de carbono y ciclo de nutrientes, entre otros [63], [92].

La espectroscopia FTIR es una técnica ampliamente utilizada para caracterizar grupos funcionales presentes en la materia orgánica [63], [64], [70]. Sin embargo, los componentes minerales de las muestras de sedimentos/suelos generalmente interfieren en el análisis de la SOM por FTIR, mostrando fuertes absorciones principalmente debido a la presencia de silicatos [93] superponiéndose con bandas distintivas de grupos funcionales de dicha SOM [94].

Tanto la sustracción espectral [63], [95] como la desmineralización con ácido fluorhídrico [63], [92] se han reportado como alternativas para eliminar las interferencias espectrales en el análisis de la SOM por FTIR.

La sustracción espectral se basa en remover la materia orgánica de una muestra de suelo/sedimento por oxidación térmica o química, y restar su espectro FTIR al espectro de la muestra de suelo/sedimento original [96]. De esta manera, el espectro obtenido después de la

sustracción representa los componentes minerales de las muestras en estudio, que luego se usa para ser restado de todas las muestras de suelos/sedimentos. Como resultado de la sustracción se obtienen los espectros FTIR de la materia orgánica presente en cada una de las muestras. La sustracción espectral asume que la SOM se elimina completamente después de la oxidación, sin afectar significativamente las estructuras minerales [62]. Aunque este procedimiento mejora la absorbancia de los grupos funcionales de la SOM, genera artefactos debido a que se ha reportado que si pueden generarse modificaciones en los minerales, y a que los enlaces mineral-SOM pueden no eliminarse de manera completa [63], [93]. Finalmente, la sustracción espectral resulta en una opción poco confiable [97].

La desmineralización con ácido fluorhídrico (DHF) es un método de digestión utilizado en la caracterización de la composición de la SOM, ya sea mediante FTIR o por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR, por sus siglas en inglés) [63], [92]. Aunque la DHF puede provocar pérdidas de la SOM, es eficaz para eliminar las interferencias minerales y se ha reportado que no altera significativamente la distribución relativa de los grupos funcionales que contienen carbono [62], [94], [98].

Estudios previos sobre el efecto de la DHF en el análisis de la SOM por FTIR o NMR han utilizado diferentes condiciones experimentales: la masa de muestra (0,02-20 g), la concentración de HF (2-10 % v/v), el volumen de HF (5-50 ml), el número de ciclos de DHF (2-13) y la cantidad de lavados (3-5) [62], [98]-[102].

En cuanto a los aspectos más relevantes de los trabajos citados, Rumpel et al. [101], evaluaron el efecto de la concentración de HF y reportaron que la desmineralización con HF 10 % v/v mejoró los espectros FTIR de suelos ricos en minerales, posibilitando el análisis de su materia orgánica. Analizando las muestras desmineralizadas por espectrometría de masas de relación isotópica y por espectroscopias NMR de ^{13}C y FTIR determinaron que la composición química básica de la materia orgánica y las firmas isotópicas no cambiaron. Como se mencionó anteriormente, Gonçalves et al. [98] informaron que luego de la DHF no se observaron alteraciones sustanciales en la distribución de grupos funcionales con carbono determinado por NMR de ^{13}C , lo que sugiere que las pérdidas de C no fueron selectivas para grupos funcionales específicos. Además, dicho estudio reportó que el número de ciclos de DHF necesarios para mejorar los espectros NMR de ^{13}C dependía de la composición mineral y el contenido de carbono de los suelos. Por su parte, Merlín et al. [102] concluyeron que para el análisis de SOM por FTIR

dos ciclos de DHF no fueron suficientes para eliminar los minerales presentes en las muestras analizadas.

Dada la amplia variación en las condiciones experimentales reportadas para la DHF, en el presente capítulo se tuvo como objetivo optimizar una metodología de preparación de muestras para análisis de SOM por espectroscopia FTIR. En este sentido, se propuso evaluar el efecto de la temperatura y el número de ciclos en la mejora de la eficiencia de la metodología de DHF, teniendo en cuenta que no se produjeran modificaciones significativas en el contenido de materia orgánica de las muestras estudiadas. La temperatura propuesta, 60 °C, había sido utilizada previamente por Zhang et al. [103] con fines tecnológicos para disolver efectivamente una matriz de vidrio con HF 10 % p/p. Mejorar la eficiencia de DHF también podría llevar a minimizar la cantidad requerida de muestras, el consumo de reactivos, la duración del trabajo experimental y la exposición del analista. La DHF se evaluó aplicando herramientas quimiométricas mediante la combinación de datos FTIR semicuantitativos calculados a partir de espectros de la SOM, y el método de aprendizaje multivariado PCA. Además, también se evaluó y optimizó la masa de muestras desmineralizadas necesaria para obtener espectros FTIR con una relación señal-ruido (SNR, *signal-to-noise ratio*, por sus siglas en inglés) máxima. Los parámetros óptimos de la DHF se seleccionaron a partir de aplicar un ANOVA ($\alpha = 0,05$) a los datos obtenidos por medio del PCA.

3.2 EXPERIMENTAL

3.2.1 DESMINERALIZACIÓN CON ÁCIDO FLUORHÍDRICO

Para desarrollar el estudio de DHF, se seleccionaron tres submuestras de sedimento con diferentes contenidos de SOM: A, con el menor ($5,78 \text{ g kg}^{-1}$); B, con el mayor ($59,57 \text{ g kg}^{-1}$) y C, con un valor intermedio ($14,32 \text{ g kg}^{-1}$).

Teniendo en cuenta las metodologías previamente reportadas para el análisis de la SOM por FTIR [62], [101], [102], y asegurando obtener suficiente masa de muestra para posteriormente preparar pastillas de KBr para el análisis por FTIR, se evaluaron dos variables durante la DHF. Se consideraron tanto el efecto de la temperatura, 25 °C o 60 °C [103], como el número de ciclos necesarios para obtener espectros FTIR de la SOM que resultaran satisfactorios. Los sedimentos A, B y C se trataron por triplicado bajo las mismas condiciones experimentales. A los tubos de

centrífuga de polipropileno se les añadieron alícuotas de 0,25 g de sedimento, y luego, cada ciclo de DHF se realizó de la siguiente manera: a cada tubo se le agregaron 8 ml de HF 10 % v/v; los tubos fueron agitados en vórtex durante 10 s y seguidamente colocados en un baño termostático con agitación orbital a 150 rpm durante 6 h, ya sea a 25 °C o a 60°C; posteriormente, los tubos se centrifugaron a 672 g durante 5 min y se descartaron los sobrenadantes manteniendo los sedimentos en los tubos; luego, se añadieron alícuotas de 8 ml de HF fresco al 10 % v/v, se agitaron durante 10 s y se dejaron reposar a 25 °C o a 60 °C durante la noche (\approx 16 h). El ciclo de DHF anteriormente descrito se realizó de 1 a 5 veces consecutivas, por triplicado para cada uno de los tres sedimentos, a las dos temperaturas ensayadas, dando un total de 90 alícuotas a analizar. Finalmente, luego de realizar cada uno de los ciclos de DHF ensayados, los tubos se centrifugaron nuevamente a 672 g por 5 min y se descartaron los sobrenadantes; los pellets se lavaron 5 veces con alícuotas de 8 ml de agua desionizada [94], corroborando que el pH resultara invariable; y por último se secaron a 105 °C hasta peso constante [104]. Los tubos se conservaron en un desecador de vidrio hasta su análisis por FTIR.

3.2.2 OBTENCIÓN DE ESPECTROS FTIR

Las muestras de sedimento obtenidas después de cada ciclo de DHF fueron analizadas por espectroscopia FTIR de transmisión utilizando la técnica de preparación de pastillas de KBr [83]. La masa de muestra desmineralizada necesaria para preparar pastillas de KBr que dieran lugar a espectros FTIR con una SNR máxima se evaluó en el rango de 2 a 8 mg. Brevemente, en un mortero de ágata se mezclaron 200 mg de KBr con alícuotas de 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 mg de muestra. Las mezclas sólidas se transfirieron al pastillero y fueron prensadas aplicando 10 toneladas durante 15 min. Finalmente se obtuvieron pastillas que fueron portadas en el equipo para obtener los espectros FTIR correspondientes. Los espectros de las muestras se corrigieron respecto a los espectros de los blancos obtenidos con 200 mg de KBr puro preparado del mismo modo que se describió, pero sin el agregado de las muestras.

3.2.3 ANÁLISIS FTIR CUALITATIVOS Y SEMICUANTITATIVOS

Para mejorar y refinar la información obtenida mediante los espectros FTIR de la SOM se aplicaron las técnicas de procesamiento de la señal: BC [68], autodeconvolución de Fourier [105], métodos de integración de área [106], [107], y cálculo de cocientes de áreas de picos [66], [108], [109]. Las regiones IR seleccionadas y utilizadas para desarrollar el análisis quimiométrico descrito en la siguiente sección se asociaron con grupos funcionales distintivos de la SOM y se

identificaron en todos los espectros obtenidos después de la DHF. Las regiones IR se integraron y utilizaron para calcular y generar los cocientes de área semicuantitativos definidos e interpretados en la Tabla 7.

Tabla 7. Definición de cocientes de áreas semicuantitativos derivados de los espectros FTIR.

Cociente	Region (cm ⁻¹)	Interpretaciones
Variable PCA	Cocientes de regiones	
CH ₂ /CH ₃	3000–2800	Metileno/metilo: Cociente relacionado con la longitud de la cadena alifática y el grado de ramificación de los grupos laterales alifáticos (cadenas laterales unidas a la estructura macromolecular) [110], [111]. Valores más bajos indican cadenas más cortas y ramificadas, valores más altos implican cadenas comparativamente más largas y lineales.
CH _{al} /Ox	(3000-2800)/ (1800-1600)	Compuestos alifáticos/oxigenados: Contribución relativa de las bandas de estiramiento C-H alifáticas (CH _{al}) a la contribución combinada de grupos que contienen oxígeno y carbono aromático (Ox). Valores más bajos indican un aumento de grupos funcionales que contienen oxígeno. Cuanto mayor es la relación CH _{al} /Ox, menor es el término Ox. Esta relación podría brindar información sobre la oxidación de la materia orgánica [112]–[114].
SiO/(CH ₂ /CH ₃)	(950-1100)/ (3000-2800)	Enlaces Si-O/(metileno/metilo): Representa la influencia relativa de la contribución combinada de los enlaces Si-O (de silicatos y sílice) y las absorciones de estiramiento C-O [62], [115] al cociente metileno/metilo [110], [111]. Valores más altos de esta relación implican un contenido comparativamente mayor de compuestos que contienen Si-O. Valores más bajos podrían ser indicativos de la eficacia de la DHF.
SiO/Ox	(950-1100)/ (1800-1600)	Enlaces Si-O/compuestos que contienen oxígeno: Representa la influencia relativa de la contribución combinada de los enlaces Si-O (de silicatos y sílice) y las absorciones de estiramiento C-O [62], [115] al aporte combinado de grupos oxigenados y carbono aromático (Ox) [112]–[114]. Valores más altos de esta relación implican un contenido comparativamente mayor de compuestos que contienen Si-O. Valores más bajos podrían ser indicativos de la eficacia de la DHF.

3.2.4 ANÁLISIS MULTIVARIADO

Las variables semicuantitativas definidas en la Tabla 7 se analizaron e interpretaron mediante un PCA para identificar la agrupación de datos estadísticos en función de la estructura química (grupos funcionales). Los resultados obtenidos del PCA se evaluaron estadísticamente mediante ANOVA ($\alpha = 0,05$). Con respecto a los *scores* de PC1 y PC2, la hipótesis nula probada por ANOVA fue que no existen diferencias significativas entre los triplicados de sedimentos A, B o C obtenidos después de cada uno de los cinco ciclos de DHF a las dos temperaturas ensayadas.

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los espectros FTIR de los sedimentos A, B y C sin DHF se muestran en la Figura 3. La región truncada ($2700\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$) en todos los espectros analizados no mostró señales significativas para los análisis posteriores. Los espectros de la Fig. 3 exhibieron fuertes absorciones minerales de Si-O en $\approx 1350\text{--}820\text{ cm}^{-1}$ que enmascararon bandas orgánicas características. En acuerdo con las interpretaciones visuales realizadas por Yeasmin et al. [62], las absorciones de CH_{al} ($3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) y Ox ($1800\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$) no fueron enmascaradas pero resultaron relativamente insignificantes debido a las intensas señales minerales. Además, en los sedimentos A y B, se observa una señal asociada a la presencia de carbonatos a $\approx 1430\text{ cm}^{-1}$ [115].

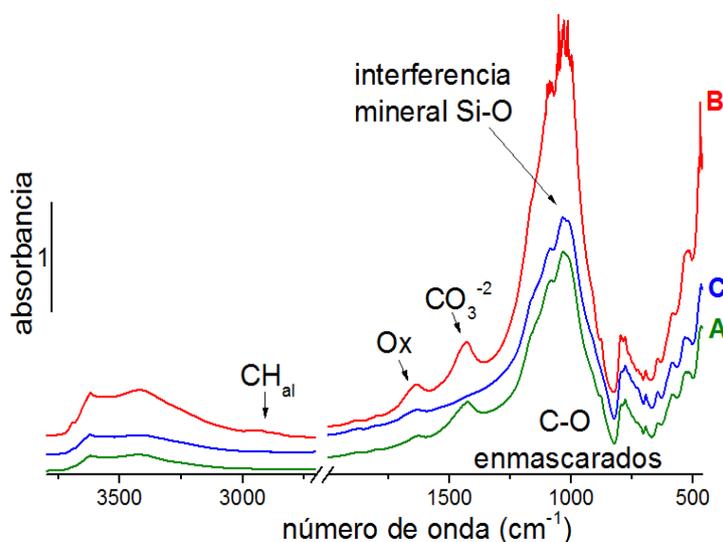


Figura 3. Espectros FTIR de los sedimentos A, B y C sin DHF.

3.3.1 OPTIMIZACIÓN DE LA PREPARACIÓN DE PASTILLAS DE BROMURO DE POTASIO PARA EL ANÁLISIS DE SOM POR FTIR

Se analizó la masa de sedimento para preparar pastillas con 200 mg de KBr en el rango de 2 a 8 mg de muestra. Para seleccionar la masa óptima de sedimento, se calculó la relación SNR de un pico específico presente en todos los espectros (C–H alifático a 2925 cm^{-1}). Se ensayaron cinco valores de masa (2, 4, 5, 6 y 8 mg) de los sedimentos A (contenido más bajo de SOM) y B (contenido más alto de SOM). La SNR se calculó de acuerdo con Smith (2011) [68] como la relación entre la intensidad de la señal seleccionada y el ruido pico a pico (resta del pico con ruido más bajo al pico con ruido más alto). La Figura 4 muestra que la SNR más alta se logró cuando se usaron alícuotas de sedimento de 5 mg para ambos tipos de sedimento, A y B. Se observó que, de acuerdo con la Ley de Beer, a mayor masa de sedimento en las pastillas de KBr, mayor SNR para las alícuotas dentro del rango de 2–5 mg. Sin embargo, para las alícuotas con 6 mg en adelante, la SNR disminuyó debido al incremento del ruido asociado al exceso de masa de sedimento [68]. Por lo tanto, la masa de sedimento necesaria para preparar pastillas con 200 mg de KBr que derivaran en espectros FTIR óptimos fue de 5 mg.

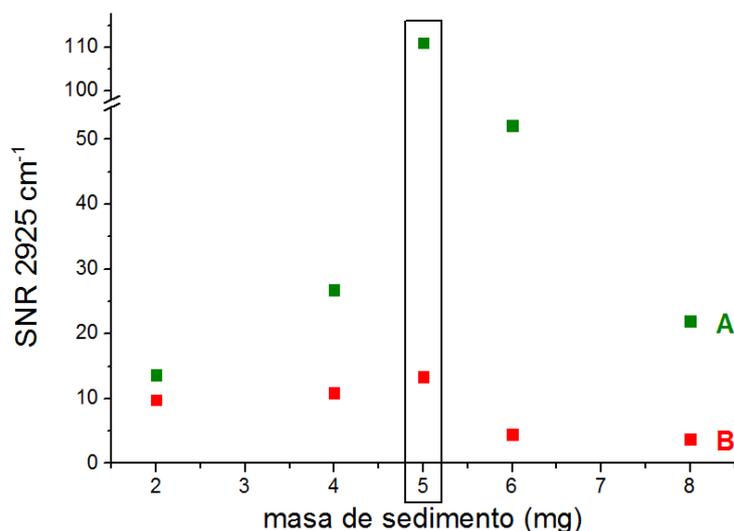


Figura 4. SNR de un pico IR representativo de los sedimentos A y B centrado a 2925 cm^{-1} en función de las masas de sedimento ensayadas para preparar pastillas con 200 mg de KBr.

3.3.2 DESMINERALIZACIÓN DE SEDIMENTOS

ANÁLISIS DE ESPECTROS FTIR

La Figura 5 muestra los espectros FTIR de los sedimentos A, B y C después del primer ciclo de DHF a las temperaturas ensayadas (25 °C y 60 °C). La DHF, ya sea a 25 °C o a 60 °C, mejoró notablemente los espectros FTIR de los sedimentos analizados: las señales minerales interferentes de Si–O centradas en $\approx 1080\text{ cm}^{-1}$ disminuyeron en comparación con las presentes en los espectros de los sedimentos sin tratamiento de DHF (Fig. 3) y las señales de carbonato ($\approx 1430\text{ cm}^{-1}$) desaparecieron por completo. Además, la DHF reveló las señales espectrales ubicadas dentro del rango de $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ que estaban enmascaradas en la Fig. 3 y mejoró la resolución de las señales CH_{al} ($3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$).

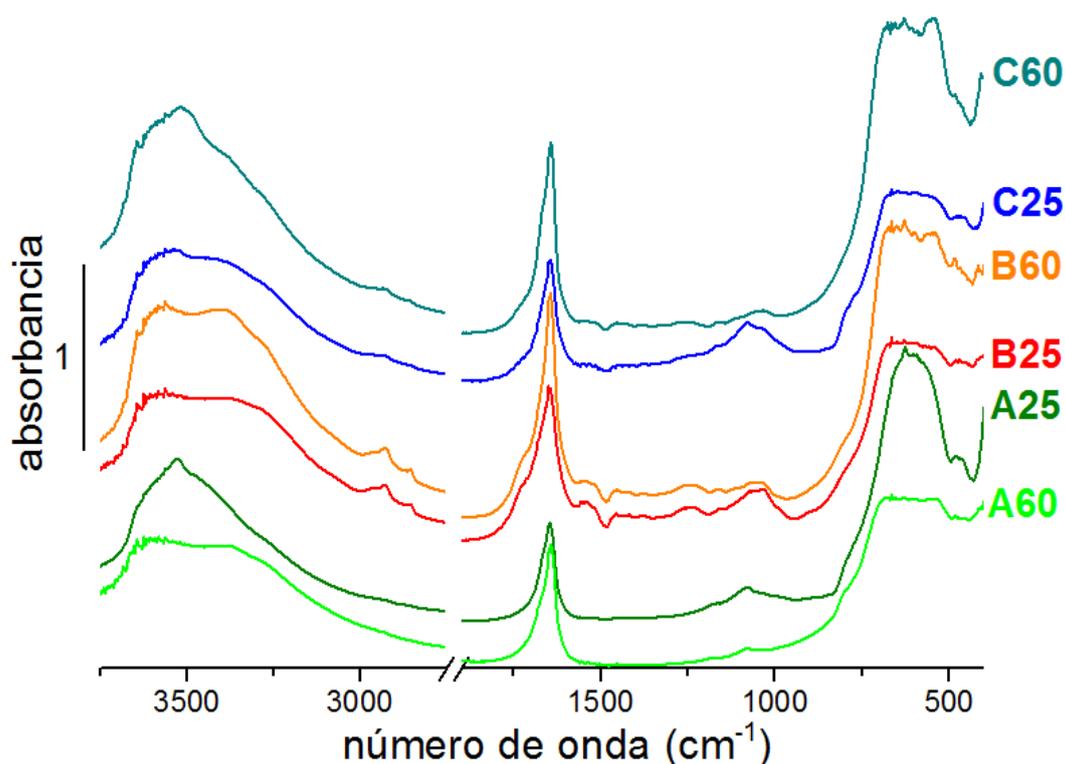


Figura 5. Espectros FTIR de sedimentos A, B y C después del primer ciclo de DHF a 25 °C o a 60 °C.

En la Figura 5 se pueden identificar diferencias visuales entre los espectros de todos los sedimentos después del primer ciclo de DHF a ambas temperaturas ensayadas. Las señales minerales asignadas a los enlaces Si-O ($1100-950\text{ cm}^{-1}$) fueron más intensas para la DHF a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ que a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, lo que indica que a $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ las interferencias minerales se eliminaron de manera más eficiente que a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Además, el sedimento A (menor contenido de SOM), a diferencia de los sedimentos B y C, no mostró absorciones dentro de la región de $1550-900\text{ cm}^{-1}$ (estiramientos C-O, C=C y C=O [115]). En consecuencia, al comparar la eficiencia de la metodología de DHF aplicada para sedimentos con diferente contenido de SOM, la región mencionada ($1550-900\text{ cm}^{-1}$) no fue incluida en el PCA (ver Tabla 7) ya que no contemplaría a los tres tipos de sedimento en análisis.

Las señales de la SOM presentes en todas las muestras desmineralizadas fueron integradas para, posteriormente, calcular los cocientes de área que se muestran en la Tabla 7. A las regiones CH_{al} y Ox se las integró luego de realizar una BC como se muestra en las Figuras 6a y 6b, respectivamente. Se aplicó la autodeconvolución de Fourier a la región de las bandas de estiramiento C-H alifáticas ($3000-2800\text{ cm}^{-1}$) para resolver los picos superpuestos que el instrumento no pudo resolver. Como se puede observar en la Figura 7, la técnica de deconvolución condujo a espectros con bandas más estrechas y permitió distinguir entre características espectrales poco espaciadas y diferenciar significativamente las señales espectrales específicas [67]. Así, se calcularon las áreas de los picos correspondientes a los estiramientos simétrico y asimétrico de metilenos y metilos y al estiramiento de metinos. Finalmente, los resultados de los cálculos de los cocientes de las áreas integradas se presentan en la Tabla S1 del Material Suplementario (MS), Anexo I.

En la Tabla S1 se puede identificar que los valores obtenidos para el cociente CH_2/CH_3 tienden a ser constantes y característicos para cada uno de los sedimentos, independientemente de las condiciones de DHF (temperatura y número de ciclos), por lo cual este cociente fue seleccionado como uno de los denominadores de las variables asociadas al Si-O mostradas en la Tabla 7. Los valores constantes y característicos del cociente CH_2/CH_3 (CH_{al} desenmascarado, Figs. 3 y 4) para cada sedimento muestran que los enlaces CH_{al} no se ven afectados por las variaciones en las condiciones de la DHF.

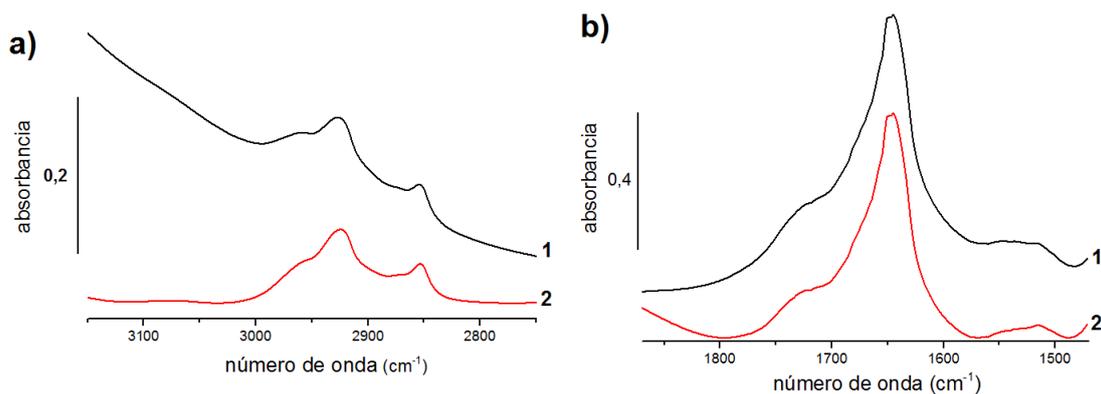


Figura 6. Regiones **a)** CH₂ y **b)** Ox **1** Espectros sin corregir **2** Espectros luego de aplicar BC.

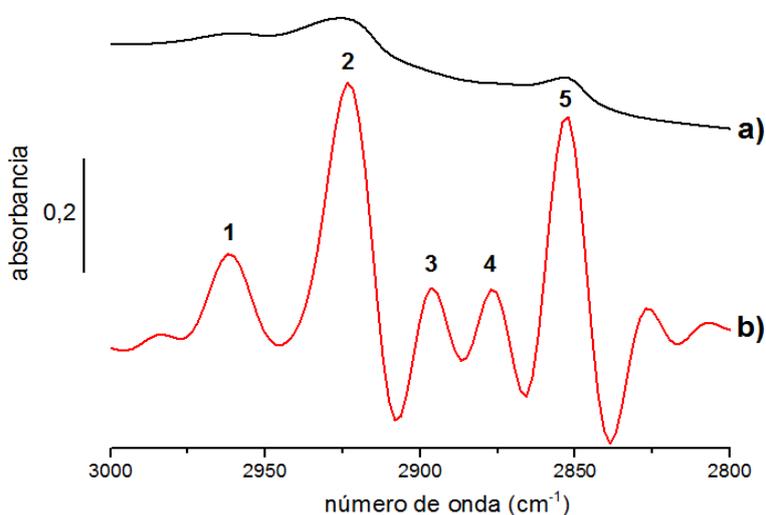


Figura 7. Espectros **a)** antes y **b)** después de la autodeconvolución de Fourier. Estiramientos **1** CH₃ asimétrico, **2** CH₂ asimétrico, **3** CH, **4** CH₃ simétrico y **5** CH₂ simétrico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO MULTIVARIADO

Los cocientes de áreas FTIR semicuantitativos de la Tabla 7 se introdujeron como variables en el PCA. Cuatro variables y noventa muestras dieron lugar a un total de 360 datos (Tabla S1), que se analizaron para seleccionar las mejores condiciones experimentales de la DHF en función de los grupos funcionales característicos del SOM analizada. La matriz de correlación y la solución del PCA se muestran respectivamente en las Tablas S2 y S3 del MS (Anexo I). El PCA obtenido a partir de los cocientes de áreas introducidos como variables originales permitió

reducir la dimensionalidad del sistema al seleccionar dos componentes principales (PC1 y PC2), las cuales acumularon una explicación de la varianza de los datos del 94,33 % (Tabla S3).

Los gráficos de *loadings* y *scores* se muestran en las Figuras 8a y 8b, respectivamente. La primera PC explicó el 61,20 % de la varianza del total de los datos y tuvo contribuciones negativas de todas las variables (Fig. 8a). La segunda PC explicó el 33,13 % de la varianza total de los datos y tuvo contribuciones positivas moderadas de las variables asociadas a la presencia de enlaces Si-O ($\text{SiO}/(\text{CH}_2/\text{CH}_3)$ y SiO/Ox), y contribuciones negativas moderadas de las variables $\text{CH}_{\text{al}}/\text{Ox}$ y CH_2/CH_3 (Fig. 8a y Tabla 7).

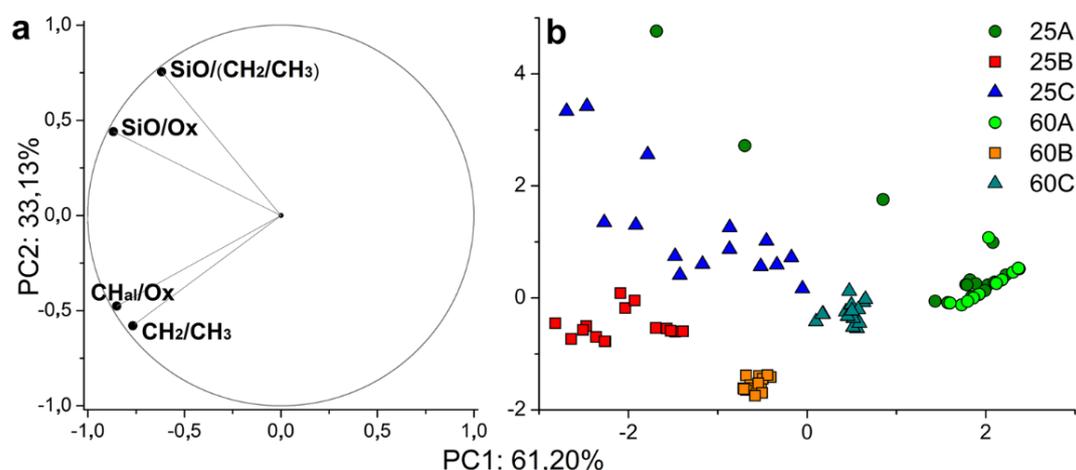


Figura 8. PCA correspondiente a los sedimentos A, B y C después de los ciclos de DHF a 25 °C y 60 °C. **a)** Gráfico de *loadings* de PC1 versus PC2 y **b)** Gráfico de *scores* de PC1 versus PC2.

Los *scores* de las muestras después de los ciclos de DHF a 25 °C se dispersaron a lo largo del eje definido por las variables asociadas al Si-O, a diferencia de las muestras de sedimento después de los ciclos DHF a 60 °C, que se agruparon estrechamente mostrando los *scores* más altos respecto a PC1 y los más bajos respecto a PC2 (Figs. 8a y 8b). Esto indicó que los ciclos de DHF a 60 °C permitieron una desmineralización más eficiente de las muestras, lo que condujo a la obtención de espectros como los que se muestran en la Fig. 5.

Es importante señalar que, independientemente de las condiciones de DHF, los sedimentos A, B y C conservaron sus *scores* a lo largo del eje definido por los cocientes CH₂/CH₃ y CH_{al}/Ox, que son las variables relacionadas con las características químicas de los grupos funcionales específicos de la SOM. En este sentido, el conjunto de datos correspondientes al sedimento A tuvo los *scores* más altos respecto a PC1 y a PC2 asociados con los valores más bajos de CH₂/CH₃ y CH_{al}/Ox (Tabla S1). En el otro extremo, el conjunto de datos correspondiente al sedimento B mostró los *scores* más bajos frente a PC1 y a PC2 en correspondencia con los valores más altos de CH₂/CH₃ y CH_{al}/Ox. Finalmente, el conjunto de datos del sedimento C presentó valores de *scores* intermedios respecto a los obtenidos para los sedimentos A y B, mostrando también valores intermedios de respecto a PC1 y a PC2. Este patrón de distribución de *scores* indica que la SOM del sedimento A tenía cadenas más cortas y ramificadas, y más grupos que contenían oxígeno respecto a los que tenía el sedimento C, e inclusive, más aún que los correspondientes al sedimento B, lo que es indicativo de una SOM más degradada, con mayor grado de oxidación [112].

Tabla 8. Resultados del ANOVA (n=3, α=0,05). Comparaciones entre *scores* respecto a PC1 de los triplicados de los sedimentos A, B y C luego de cada uno de los 5 ciclos de DHF a 25 °C o a 60 °C.

Número de ciclos y temperatura de cada DHF	Sedimento A		Sedimento B		Sedimento C	
	<i>p</i>	M	<i>p</i>	M	<i>p</i>	M
25 °C: 1 versus 2	0,032	SD	0,005	SD	0,006	SD
25 °C: 2 versus 3	0,340	NSD	0,628	NSD	0,229	NSD
25 °C: 3 versus 4	0,778	NSD	0,080	NSD	0,738	NSD
25 °C: 4 versus 5	0,338	NSD	0,056	NSD	0,723	NSD
25 °C: 1 versus 5	0,026	SD	0,003	SD	0,055	NSD
25 °C: 2 versus 5	0,330	NSD	0,001	SD	0,187	NSD
25 °C: 3 versus 5	0,105	NSD	0,030	SD	0,999	NSD
25 °C: 5 versus 60 °C: 1	0,304	NSD	0,000	SD	0,014	SD
60 °C: 1 versus 2	0,380	NSD	0,718	NSD	0,167	NSD
60 °C: 2 versus 3	0,662	NSD	0,402	NSD	0,076	NSD
60 °C: 3 versus 4	0,800	NSD	0,654	NSD	0,939	NSD
60 °C: 4 versus 5	0,450	NSD	0,672	NSD	0,154	NSD
60 °C: 1 versus 5	0,095	NSD	0,831	NSD	0,363	NSD
60 °C: 2 versus 5	0,387	NSD	0,408	NSD	0,533	NSD
60 °C: 3 versus 5	0,487	NSD	0,971	NSD	0,134	NSD

M: Media de los triplicados, **SD:** Significativamente diferentes, **NSD:** No significativamente diferentes.

Se realizó una prueba estadística ANOVA (95 % de confianza) entre los *scores* respecto a PC1 y a PC2 de los triplicados de los sedimentos A, B y C, obtenidos bajo el mismo número de ciclos de DHF y temperatura, para evaluar diferencias significativas entre ellos. Las tablas 8 y 9 muestran, respectivamente, los resultados de la prueba ANOVA realizada sobre los *scores* de PC1 y PC2.

Tabla 9. Resultados del ANOVA (n=3, $\alpha=0,05$). Comparaciones entre *scores* respecto a PC2 de los triplicados de los sedimentos A, B y C luego de cada uno de los 5 ciclos de DHF a 25 °C o a 60 °C.

Número de ciclos y temperatura de cada DHF	Sedimento A		Sedimento B		Sedimento C	
	<i>p</i>	M	<i>p</i>	PM	<i>p</i>	M
25 °C: 1 versus 2	0,049	SD	0,003	SD	0,002	SD
25 °C: 2 versus 3	0,219	NSD	0,233	NSD	0,059	NSD
25 °C: 3 versus 4	0,823	NSD	0,964	NSD	0,261	NSD
25 °C: 4 versus 5	0,386	NSD	0,557	NSD	0,402	NSD
25 °C: 1 versus 5	0,034	SD	0,009	SD	0,001	SD
25 °C: 2 versus 5	0,351	NSD	0,802	NSD	0,988	NSD
25 °C: 3 versus 5	0,544	NSD	0,539	NSD	0,010	SD
25 °C: 5 versus 60 °C: 1	0,120	NSD	0,001	SD	0,020	SD
60 °C: 1 versus 2	0,132	NSD	0,452	NSD	0,405	NSD
60 °C: 2 versus 3	0,651	NSD	0,733	NSD	0,429	NSD
60 °C: 3 versus 4	0,805	NSD	0,709	NSD	0,224	NSD
60 °C: 4 versus 5	0,551	NSD	0,114	NSD	0,050	NSD
60 °C: 1 versus 5	0,045	SD	0,021	SD	0,767	NSD
60 °C: 2 versus 5	0,459	NSD	0,094	NSD	0,155	NSD
60 °C: 3 versus 5	0,617	NSD	0,114	NSD	0,918	NSD

M: Media de los triplicados, **SD:** Significativamente diferentes, **NSD:** No significativamente diferentes.

En relación con los *scores* respecto a PC1 (Tabla 8), después de la DHF a 25 °C, el primer ciclo resultó significativamente diferente del segundo ciclo para los sedimentos A, B y C ($p < 0,05$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los ciclos consecutivos del 2 al 5 ($p > 0,05$). Esto podría indicar que la desmineralización más sustancial ocurrió entre el primer y el segundo ciclo de DHF. También se observó que en el caso del sedimento B aún existían diferencias

significativas entre los ciclos 2 versus 5, y 3 versus 5, a 25 °C. Esto puede deberse a la dificultad de eliminar los minerales que están unidos a la SOM y la estabilizan [62], [116].

Respecto a los cinco ciclos de DHF a 60 °C (consecutivos o no), no hubo diferencias significativas entre los *scores* respecto a PC1. Realizando una comparación entre el último ciclo de DHF a 25 °C (quinto ciclo) y el primero a 60 °C resultaron significativamente diferentes para los sedimentos B y C (mayor contenido de SOM que el sedimento A), lo cual sugiere que cinco ciclos DHF a 25 °C resultaron insuficientes para eliminar las fases minerales de los sedimentos estudiados.

En cuanto a PC2, se observó la misma tendencia que en el caso de PC1 para ciclos consecutivos a 25 °C y a 60 °C (Tabla 9). Los ciclos de DHF 1 versus 2 fueron significativamente diferentes para los tres sedimentos estudiados ($p < 0.05$) a 25 °C, y los ciclos consecutivos del 2 al 5 no mostraron diferencias significativas entre ellos ($p > 0.05$). A 60 °C, no hubo diferencias significativas entre todos los ciclos consecutivos. Sin embargo, se observó que para los sedimentos A y B, los ciclos de DHF 1 versus 5 a 60 °C resultaron significativamente diferentes; pero los ciclos 2 frente al 5 y 3 frente al 5 no fueron significativamente diferentes. Esto indicó que con 2 ciclos de DHF a 60 °C se logra una desmineralización eficiente de las muestras de sedimentos, mostrando valores de cocientes de áreas FTIR constantes (variables originales) para sedimentos con una amplia gama de contenido de SOM (Figuras 8a y 8b).

La Figura 9 muestra los espectros FTIR de los sedimentos A, B y C después de aplicar las condiciones óptimas de la metodología de DHF: 2 ciclos a 60 °C. Se puede notar que el sedimento A no presentó la señal observada en la Fig. 5 centrada en $\approx 1080 \text{ cm}^{-1}$ mostrando una desmineralización eficiente, esencial para el análisis SOM por FTIR. Las señales de los sedimentos B y C dentro del rango de $1800\text{--}900 \text{ cm}^{-1}$ resultaron completamente desenmascaradas después de aplicar las condiciones óptimas de DHF (Fig. 9).

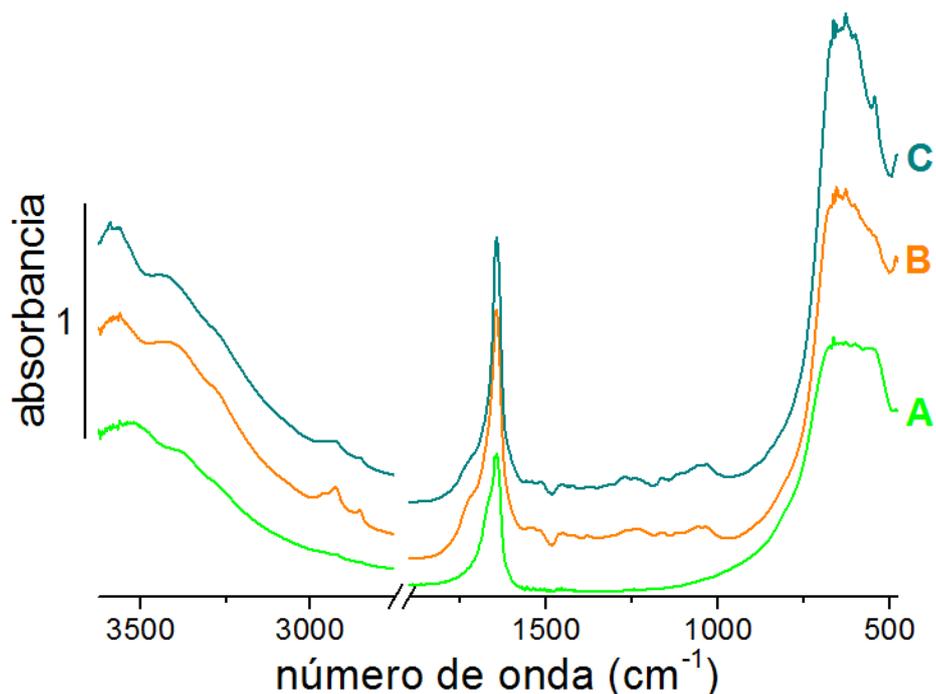


Figura 9. Espectros FTIR de los sedimentos A, B, y C luego de aplicar las condiciones óptimas de DHF: 2 ciclos a 60 °C.

3.4 CONCLUSIONES PARCIALES DEL CAPÍTULO III

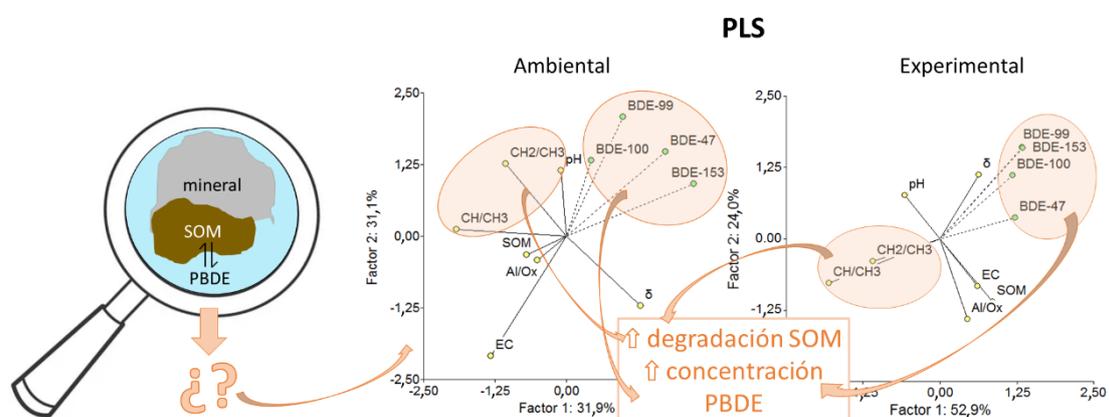
El estudio quimiométrico desarrollado en el presente capítulo combinó la información espectral FTIR de la estructura química de la SOM, el PCA y el ANOVA para evaluar el efecto de las variables experimentales de la DHF, y su interacción, sobre la eficiencia de desmineralización de las muestras de sedimento, permitiendo desenmascarar las señales espectrales distintivas de la SOM. Para tal fin, se utilizaron datos semicuantitativos, es decir, cocientes de áreas FTIR derivados de los grupos funcionales de la SOM. Estos datos semicuantitativos fueron introducidos como variables originales en el PCA, resultando en una explicación de la varianza de los datos del 94,33 % teniendo en cuenta las dos primeras PC.

Se aplicó un ANOVA (95 % de confianza) a los *scores* respecto a PC1 y a PC2 de tres sedimentos con un amplio rango de contenido de SOM (5,78–59,57 g kg⁻¹) y se concluyó que dos ciclos de DHF a 60 °C resultaron óptimos para preparar las muestras para su análisis de SOM por FTIR. La DHF realizada empleando las condiciones óptimas mencionadas anteriormente no solo

mejoró la eficiencia de desmineralización sino que además no generó modificaciones en la SOM que podrían ser significativas para su análisis por FTIR. Estos resultados tienen significancia estadística y no sólo están basados en información espectral cualitativa (estimaciones visuales), sino en un desarrollo semicuantitativo.

Después de aplicar la metodología de DHF óptima se obtuvieron espectros FTIR de buena calidad para los tres sedimentos estudiados. En este sentido, se alcanzaron altas SNR, una mejora en la resolución de las señales de las regiones no enmascaradas y completa eliminación de las interferencias minerales, permitiendo desenmascarar las absorciones características de los grupos funcionales presentes en la SOM. Esta metodología de preparación de muestras también podría resultar útil para el análisis de SOM aplicando otras técnicas diferentes a FTIR, como la NMR y la microscopía, que necesitan aislar la materia orgánica de la fracción mineral de los sedimentos para su caracterización.

CAPÍTULO IV: LA DEGRADACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA DETERMINA LAS CONCENTRACIONES DE PBDE EN SEDIMENTOS. APRENDIZAJE MULTIVARIADO EN MODELOS AMBIENTAL Y EXPERIMENTAL.



Aportes destacados del Capítulo IV:

- Uso de datos semicuantitativos FTIR para caracterizar químicamente la SOM
- Propuesta de un novedoso modelo lineal para calcular la densidad de la SOM
- Correlación de las propiedades de los sedimentos con las concentraciones de PBDE mediante métodos de aprendizaje multivariado
- Correlaciones positivas entre la degradación de la SOM y las concentraciones de PBDE
- Correlaciones positivas entre la densidad de la SOM y las concentraciones de PBDE

4.1 INTRODUCCIÓN

Los POP pueden liberarse involuntariamente al medio ambiente durante diferentes etapas de su ciclo de vida, incluida la producción, el uso y la eliminación de materiales a los que se encuentran asociados [117]. Se han reportado importantes fuentes de liberación de POP, tales como la descarga de aguas y lodos provenientes de las plantas de tratamiento de aguas residuales [118] o los desechos electrónicos [119], entre otros. A partir de su liberación en el ambiente pueden presentar un LRAT, lo que finalmente resulta en su contaminación ubicua [117].

Los POP han sido ampliamente detectados en diferentes compartimentos ambientales y, dadas sus propiedades hidrofóbicas, tienden a acumularse en los sedimentos de los ambientes acuáticos [117], [120]. Por lo tanto, el análisis de sedimentos se ha convertido en un enfoque ampliamente utilizado para evaluar la contaminación ambiental asociada a los POP y estudiar su ciclo global [32], [121]. Como se mencionó en el Capítulo I, dada su afinidad por los compuestos lipofílicos e hidrofóbicos, la SOM juega un papel importante en la captura de los POP durante su ciclo global [47].

En lo que respecta a las correlaciones entre las concentraciones de PBDE y el contenido de SOM existen discrepancias entre los datos reportados en la bibliografía. Se han reportado tanto correlaciones positivas significativas entre las concentraciones de PBDE y el contenido de SOM [48]–[50] como la ausencia de dicha correlación [51]–[53]. Por ejemplo, Hellar-Kihampa et al. [32] monitorearon compuestos organohalogenados en sedimentos y encontraron correlaciones positivas significativas entre el contenido de SOM y las concentraciones de pesticidas

organoclorados; sin embargo, no encontraron correlaciones significativas entre el contenido de SOM y las concentraciones de PBDE [32]. Estos informes sugieren que es importante estudiar otros factores que potencialmente pudieran afectar las correlaciones entre las concentraciones de PBDE y los sedimentos, tales como las características de la SOM.

Como se ha indicado, la espectroscopia FTIR es una técnica instrumental simple, rápida y no destructiva que se utiliza para caracterizar la composición de la SOM [62] mediante el análisis de los grupos funcionales de la materia orgánica [63]. En el Capítulo III de la presente tesis, algunos cocientes de área semicuantitativos FTIR pudieron asociarse con la degradación de la SOM. Este enfoque permite brindar una visión más profunda sobre las características de los grupos funcionales de la materia orgánica que podrían determinar las concentraciones de los PBDE en sedimentos. Además, dichos cocientes de área también pueden ser utilizados para predecir y calcular la densidad de la materia orgánica, como demostraron D'Angelo y Zodrow [70]. El cálculo de la densidad de la SOM por medio del análisis espectral FTIR semicuantitativo proporciona una variable adicional para estudiar las correlaciones entre las características de la SOM y las concentraciones de PBDE que, hasta el momento, no se ha tenido en cuenta.

Como se mencionó en el Capítulo II, en un estudio preliminar [85] se analizaron muestras de sedimentos de la provincia de Mendoza, Argentina, para determinar la presencia de PBDE en ambientes acuáticos locales. La calidad de las fuentes de agua en Mendoza es de alta relevancia dado que la provincia viene atravesando por crecientes eventos de escasez de agua y sequía [122], [123]. En el presente capítulo, se realizará un estudio multivariado comparativo entre las muestras ambientales colectadas y un modelo experimental. Se desarrollará un enfoque quimiométrico mediante la combinación de dos métodos de aprendizaje multivariado, PCA y PLS. Además de las concentraciones de PBDE y las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos, como la EC, el pH, el contenido y la densidad de la SOM, se introducirán los datos semicuantitativos obtenidos de los espectros FTIR de la SOM como variables originales en los análisis multivariados.

4.2 EXPERIMENTAL

Dado que el presente capítulo tiene como objetivo analizar qué características de la SOM podrían determinar las concentraciones de PBDE en los sedimentos, se realizó un estudio comparativo entre dos modelos, ambiental y experimental, utilizando métodos de aprendizaje

multivariados (PCA y PLS). Las muestras de sedimentos ambientales con concentraciones de PBDE por debajo de los LOD de la metodología se enriquecieron con los congéneres BDE-47, -99, -100 y -153, y se usaron en el modelo experimental. Aunque se conoce que el congénere BDE-209 es uno de los congéneres más predominantes en el medio ambiente, no se determinó debido a limitaciones analíticas [31].

4.2.1 MODELOS AMBIENTAL Y EXPERIMENTAL

El modelo ambiental se obtuvo a partir del análisis de muestras de sedimentos colectadas según la descripción del Capítulo II. Para desarrollar el modelo experimental propuesto, las muestras de sedimentos ambientales con concentraciones de PBDE por debajo de los LOD de la metodología analítica se enriquecieron de acuerdo a reportes previos [121], [124]. Brevemente, a tubos de centrífuga de 10 ml se agregaron alícuotas de 1 g de las muestras de sedimentos y se enriquecieron con 20 ng de BDE-47, -99, -100 y -153, se mezclaron con 2 ml de solución de azida de sodio al 0,2 % para imitar las condiciones de campo, y se agitaron con vórtex durante 1 min a intervalos de 1 h durante 14 días consecutivos, dejándolos reposar toda la noche. Posteriormente, los tubos se centrifugaron y los sobrenadantes se descartaron manteniendo los sedimentos en los tubos. Las muestras de sedimento fueron liofilizadas para ser extraídas posteriormente para la determinación de PBDE como se describe en la siguiente sección.

4.2.2 ANÁLISIS Y DETERMINACIONES

PBDE EN SEDIMENTOS

Las muestras de sedimentos se extrajeron con un extractor Soxhlet de acuerdo con los métodos descritos por Covaci et al. [125] y Jans [126]. Brevemente, alícuotas de 1 g de los sedimentos liofilizados se mezclaron con 3 g de cobre en polvo y se extrajeron durante 40 h con 120 ml de solvente de extracción (n-hexano:acetona, 3:1, v/v). Después de las extracciones Soxhlet, los extractos se concentraron hasta alcanzar aproximadamente 1 ml utilizando un evaporador rotatorio. Luego, se transfirieron a cartuchos de extracción en fase sólida conteniendo (de abajo hacia arriba) 8 g de sílica acidificada (44 % p/p de ácido sulfúrico concentrado), 0,5 g de sulfato de sodio anhidro y 1 g de cobre en polvo. Los analitos se eluyeron con 15 ml de n-hexano seguido de 10 ml de diclorometano. Los eluatos se sometieron a evaporación rotatoria y luego a una corriente suave de nitrógeno, siendo evaporados hasta casi sequedad. Los extractos se reconstituyeron en 100 µl de isoocetano y finalmente se inyectaron alícuotas de 1 µl en el GC-ECD.

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LOS SEDIMENTOS

Las determinaciones de pH y EC se realizaron con alícuotas de 500 g de muestras de sedimentos secos y tamizados según Allison [127]: las alícuotas se saturaron con agua desionizada obteniendo una pasta uniforme que se dejó reposar durante 2 horas. Posteriormente, se filtraron para determinar el pH y la EC del extracto acuoso.

ANÁLISIS FTIR DE LA SOM Y DERIVACIÓN DE COCIENTES DE ÁREA

Para caracterizar químicamente la SOM por FTIR, las muestras de sedimentos fueron desmineralizadas siguiendo el método optimizado en el Capítulo III, es decir, con 2 ciclos de DHF a 60 °C. Después de la desmineralización, la SOM se analizó mediante FTIR aplicando las técnicas de procesamiento de señales previamente mencionadas: BC [68], métodos de integración de área [106], [128] y autodeconvolución de Fourier [105].

Las regiones IR identificadas en todos los espectros de la SOM se integraron y utilizaron para calcular los cocientes de área semicuantitativos [66], [108], [109] definidos e interpretados en la Tabla 10.

Tabla 10. Cocientes de área semicuantitativos definidos a partir de los espectros FTIR de la SOM.

Cociente	Región (cm⁻¹)	Interpretaciones
Variable PCA	Cocientes de regiones	
CH ₂ /CH ₃ y CH/CH ₃	3000–2800	Metileno/metilo y metino/metilo: Cocientes relacionados con la longitud de la cadena alifática y el grado de ramificación de los grupos laterales alifáticos (cadenas laterales unidas a la estructura macromolecular) [110], [111]. Valores más bajos indican cadenas más cortas y ramificadas, valores más altos implican cadenas comparativamente más largas y lineales.
CH _{al} /Ox	(3000-2800)/ (1800-1600)	Compuestos alifáticos/oxigenados: Contribución relativa de las bandas de estiramiento C-H alifáticas (CH _{al}) a la contribución combinada de grupos que contienen oxígeno y carbono aromático (Ox). Valores más bajos indican un aumento de grupos funcionales que contienen oxígeno. Cuanto mayor es la relación CH _{al} /Ox, menor es el término Ox. Esta relación podría brindar información sobre la oxidación de la materia orgánica [112]–[114].

4.2.3 CÁLCULO DE DENSIDAD DE LA SOM

Para obtener una ecuación de densidad de la SOM, se adaptó una metodología previamente desarrollada para calcular la densidad de la materia orgánica preservada de plantas fósiles [70]. En dicha metodología aplicaron un método de contribución de grupos, que es una herramienta para predecir o estimar las propiedades de un sistema utilizando datos experimentales. El método se basa en el supuesto de que la propiedad predicha se puede describir como una suma de contribuciones individuales [129].

Los valores de densidad de la materia orgánica conservada en plantas fósiles son casi imposibles de obtener por medios experimentales debido al tamaño insuficiente de la muestra. D'Angelo y Zodrow (2018) aplicaron el método de contribución de grupos para calcular el peso molecular y el volumen molar. Estas propiedades moleculares se utilizaron para calcular la densidad (peso molecular/volumen molar) de estructuras moleculares propuestas hipotéticamente como presentes en las plantas fósiles. Las estructuras propuestas se basaron en datos de la literatura y las proporciones relativas de grupos funcionales que se encuentran experimentalmente en las plantas fósiles. Los valores de densidad calculados se usaron como estándares de densidad para cálculos posteriores. Luego, las muestras de plantas fosilizadas fueron analizadas por FTIR obteniendo cocientes de área semicuantitativos derivados de los grupos funcionales de la materia orgánica preservada. Las muestras se asignaron a valores de densidad aproximados utilizando las densidades calculadas a partir de los estándares propuestos previamente. Reuniendo toda esta información, se generó un modelo de densidad 3D basado en los cocientes de área semicuantitativos derivados de los grupos funcionales de los espectros FTIR de las plantas fósiles y en los estándares propuestos. Finalmente, para obtener una relación empírica entre la densidad (variable dependiente) y dos cocientes de área FTIR (variables independientes) se realizó un análisis de regresión lineal (Figs. 4 y 5, D'Angelo y Zodrow [70]). Con un 95 % de confianza, los valores de densidad obtenidos por medio de la ecuación lineal empírica no fueron significativamente diferentes de los valores obtenidos con el modelo 3D. En la presente tesis se propuso generar una nueva regresión lineal utilizando dos cocientes de área derivados de los espectros FTIR de la SOM.

4.2.4 MÉTODOS DE APRENDIZAJE MULTIVARIADO: PCA Y PLS

Las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos, los datos derivados de los espectros FTIR de la SOM (los cocientes de área semicuantitativos) y las concentraciones de PBDE se integraron en dos análisis multivariados, PCA y PLS, comparando los modelos ambiental y experimental.

En el presente capítulo se realizó un PCA para explorar y contrastar el agrupamiento de las variables estudiadas del modelo ambiental (E-PCA) versus el modelo experimental basado en los sedimentos enriquecidos (X-PCA). Consecutivamente, se llevó a cabo el método supervisado PLS utilizando las concentraciones de PBDE como variables dependientes para evaluar las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos, los cocientes de área de picos FTIR de la SOM y la densidad de SOM como variables predictoras en ambos modelos, ambiental (E-PLS) y experimental (X-PLS).

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 ANÁLISIS ESPECTRAL FTIR DE LA SOM

Los espectros FTIR de los sedimentos antes y después de la DHF se muestran en las Figuras 10a y 10b, respectivamente. La región truncada ($2700\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$) no mostró señales involucradas en análisis posteriores. Del mismo modo que se observó en el Capítulo III, los espectros antes de la DHF exhibieron absorciones intensas asociadas principalmente a enlaces Si-O a $1100\text{--}950\text{ cm}^{-1}$ (Fig. 10a). Las señales de silicatos/sílice, junto con las de carbonatos ($\approx 1430\text{ cm}^{-1}$) representaron las interferencias espectrales minerales al caracterizar la SOM por FTIR. Comparando la Fig. 10a y la Fig. 10b, la DHF mejoró la resolución de las bandas de estiramiento de C-H alifáticas ($3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$) y las bandas de absorción asignadas a los grupos funcionales que contienen oxígeno ($1800\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$), que se encontraban superpuestas con las interferencias minerales identificadas en la Figura 10a. Se puede notar que la DHF también reveló los picos de la SOM ubicados dentro del rango de $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ (Fig. 10b), que estaban completamente enmascarados en la Fig. 10a.

Como se puede observar en la Figura 10b, algunos espectros de la SOM no mostraron picos dentro de la región de $1550\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ relacionados con los estiramientos C-O, C=C y C=O [115]. Por lo tanto, para poder hacer comparaciones y estudiar todas las muestras de sedimento, la región espectral antes mencionada no se incluyó durante la aplicación de los métodos de

aprendizaje multivariado. Finalmente, las señales que estaban presentes en todos los espectros de la SOM se integraron para calcular los cocientes de área de los picos FTIR definidos en la Tabla 10.

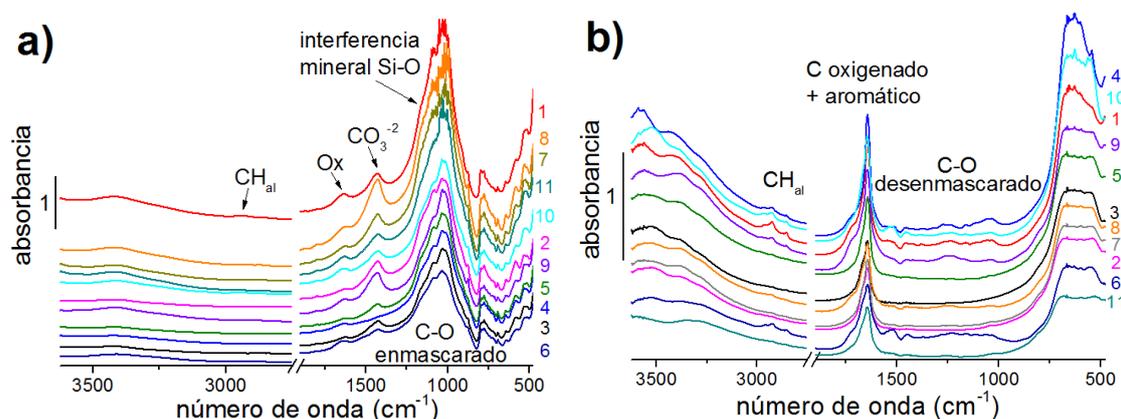


Figura 10. Espectros FTIR de **a)** Muestras de sedimentos antes de la DHF **b)** Espectros de la SOM: muestras de sedimentos después de la DHF optimizada en el Capítulo III.

Tal y como se describió en el Capítulo III se aplicaron las técnicas de procesamiento de señales espectroscópicas: a las regiones CH_{ol} y Ox la BC, y la autodeconvolución de Fourier para resolver los picos asociados a las absorciones de los estiramientos simétricos y asimétricos de metilenos y metilos, y del estiramiento de los metinos.

Los cocientes CH₂/CH₃ y CH/CH₃ fueron seleccionados debido a su utilidad para inferir el grado de degradación de la SOM. Este enfoque semicuantitativo derivado de la información espectral obtenida por medio de la espectroscopia FTIR permite identificar las propiedades químicas de la SOM que pudieran tener implicancias al ser correlacionadas con las concentraciones de contaminantes en sedimentos, tales como los PBDE.

4.3.2 MODELO DE DENSIDAD DE LA SOM

Reportes previos han estudiado la distribución de POP tales como hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH) o bifenilos policlorados (PCB) en fracciones de suelo/sedimento con diferentes densidades [130], [131]. En este sentido, Krauss y Wilcke no reportaron correlaciones

significativas entre la fuerza de sorción de los PAH y la distribución entre las fracciones de densidad del suelo.

D'Angelo y Zodrow propusieron un modelo de regresión lineal derivado de un modelo 3D para calcular la densidad en g cm^{-3} de la materia orgánica preservada de plantas fósiles usando la siguiente ecuación: $\delta=0,94-1,86 \text{ C=O/C=C} +0,45 \text{ CH}_{\text{ar}}/\text{CH}_{\text{al}}$ [70]. Los grupos funcionales utilizados para calcular los cocientes de área incluidos en esa ecuación lineal no estaban presentes en los espectros de la SOM obtenidos en la presente tesis (Fig. 10b), por lo cual no se tenía la posibilidad de utilizar dicha ecuación. Sin embargo, para las muestras de plantas fósiles se calcularon otros cocientes de área al realizar el modelo 3D, pero que no fueron seleccionados para proponer la ecuación lineal. Entre ellos, los cocientes CH_2/CH_3 y $\text{CH}_{\text{al}}/\text{Ox}$ se calcularon al analizar tanto las plantas fósiles como las muestras de la SOM analizadas en la presente tesis. Por lo tanto, se propuso una nueva ecuación lineal de densidad basada en estos dos cocientes de área (Tabla 10). Finalmente, se obtuvo una ecuación de densidad basada en los valores calculados de los cocientes CH_2/CH_3 y $\text{CH}_{\text{al}}/\text{Ox}$ para las plantas fósiles que habían sido utilizados en el modelo 3D y publicados (Tabla 7 del Material Complementario de D'Angelo y Zodrow, 2018). La ecuación obtenida es la siguiente (Fig. 11): $\delta=1,4315-0,0731 \text{ CH}_2/\text{CH}_3 -0,3705 \text{ CH}_{\text{al}}/\text{Ox}$.

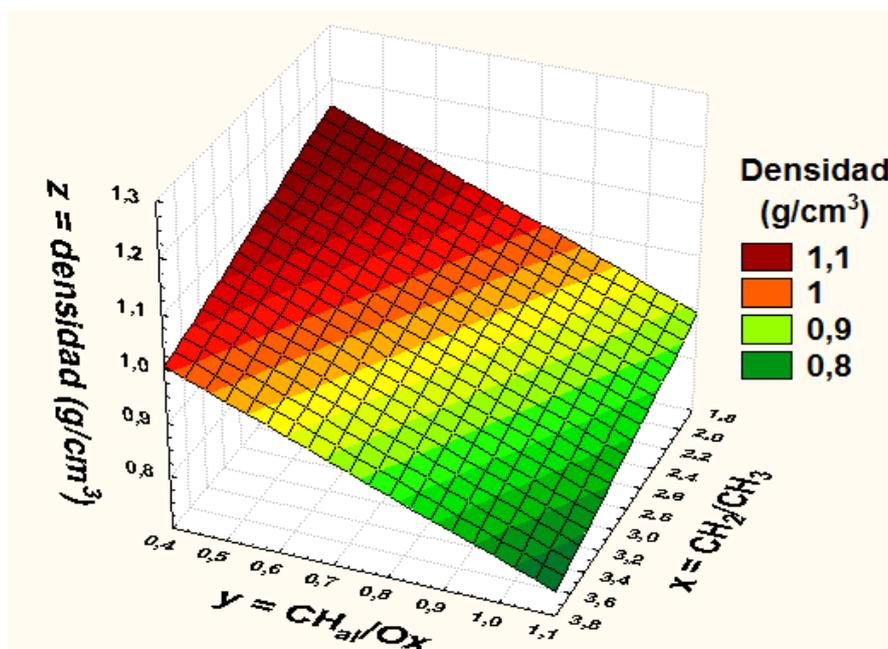


Figura 11. Modelo de densidad propuesto que muestra la interdependencia entre los tres parámetros: $\delta=1,4315-0,0731 \text{ CH}_2/\text{CH}_3 -0,3705 \text{ CH}_{\text{al}}/\text{Ox}$.

Tabla 11. Valores de densidad en g cm^{-3} de la materia orgánica preservada de plantas fósiles obtenidos de los modelos 3D y lineales citados [70] y el modelo lineal propuesto utilizando dos cocientes de área encontrados en ambos tipos de muestras.

Muestra de planta fósil	Valor citado de CH_2/CH_3	Valor citado de CH_{al}/Ox	δ modelo propuesto	δ modelo 3D citado	δ modelo lineal citado
1Pi	2,5	0,78	0,96	0,94	1,01
2Pi	2,0	0,50	1,10	1,19	1,14
3Pi	2,5	0,54	1,05	1,19	1,12
4Pi	2,0	0,50	1,10	1,19	1,11
5Pi	1,9	0,50	1,11	1,19	1,11
6Pi	1,9	0,46	1,12	1,19	1,12
7Pi	2,3	0,61	1,04	1,01	1,06
8Pi	2,2	0,58	1,06	1,01	1,07
9Pi	2,3	0,57	1,05	1,01	1,04
10Pi	1,9	0,52	1,10	0,92	1,07
11Pi	2,2	0,47	1,10	0,98	1,05
12Pin	2,1	0,56	1,07	1,01	1,07
13Ur	2,9	1,00	0,85	0,88	0,85
14Ur	3,2	0,68	0,95	0,99	0,92
15Ur	3,7	0,68	0,91	0,99	0,91
16PUr	2,7	0,90	0,90	0,88	0,81
17PUr	2,8	0,59	1,01	0,96	1,01
18PUr	2,8	0,51	1,04	0,98	1,06
19PUr	2,8	0,51	1,04	1,00	1,05
20PUr	2,7	0,54	1,03	0,92	1,05
21PUr	3,1	0,61	0,98	0,94	1,03
22APUr	2,6	0,99	0,87	0,88	0,88
23APUr	2,1	0,45	1,11	1,18	1,11
24APUr	2,5	0,48	1,07	1,19	1,11
25APUr	2,7	0,54	1,03	0,92	1,07
26APUr	2,6	0,54	1,04	1,19	1,08
27APUr	2,4	0,50	1,07	0,92	1,08
28APUr	2,1	0,52	1,09	1,19	1,07

Para evaluar el nuevo modelo propuesto, se compararon los valores de densidad obtenidos por medio de los tres modelos, 3D y lineal propuesto por D'Angelo y Zodrow y el modelo lineal propuesto en la presente tesis. Los valores de densidad de los tres modelos se muestran en la Tabla 11. La realización de un ANOVA (95 % de confianza) indicó que no hubo diferencias significativas (Tabla 12, $p > 0,05$) entre los tres modelos, por lo que pueden usarse indiscriminadamente. Luego, la ecuación lineal propuesta (Fig. 11) se utilizó para calcular la

densidad de la SOM. Estos valores fueron incorporados en los métodos de aprendizaje multivariado presentados en la siguiente sección.

Tabla 12. Resultados de ANOVA ($\alpha = 0,05$). Comparaciones entre los valores de densidad (δ) obtenidos utilizando el modelo 3D y el ajuste lineal citados [70] y el modelo lineal propuesto.

Modelo de densidad	n	M	SD	F	p	Decisión ^a
3D citado	28	1,03	0,12	3,32 E-8	1,00	NSD
Lineal propuesto	28	1,03	0,08			
Lineal citado	28	1,04	0,08	0,13	0,72	NSD
Lineal propuesto	28	1,03	0,09			

M: Media, SD: Significativamente Diferentes, NSD: No Significativamente Diferentes.

4.3.3 MÉTODOS DE APRENDIZAJE MULTIVARIADO PARA CORRELACIONAR CONCENTRACIONES DE PBDE Y PROPIEDADES DE SEDIMENTOS

Las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos, los cocientes de área FTIR semicuantitativos y las concentraciones de PBDE de las muestras de sedimentos de los modelos ambientales y experimentales fueron las variables utilizadas para el PCA (respectivamente, Tablas S4 y S5 del MS, Anexo I). En el modelo E-PCA, tres PC representaron el 86,40 % de la varianza acumulada del conjunto de datos (Tabla S6 del MS, Anexo I), y el modelo X-PCA representó el 94,12 % de la varianza acumulada (Tabla S7, MS, Anexo I). Los gráficos de *loadings* 3D de E-PCA y X-PCA se muestran en las Figuras 12a y 12b, respectivamente.

Con respecto a E-PCA (Fig. 12a), PC1 (Tabla S6, MS, Anexo I) explicó el 36,90 % de la varianza del conjunto de datos. Respecto a PC1, el pH tuvo una contribución moderadamente positiva, mientras que las variables asociadas con la degradación de SOM (CH_2/CH_3 y CH/CH_3 , Tabla 10) tuvieron aportes positivos altos. Las concentraciones de PBDE contribuyeron negativamente a PC1 de manera alta a moderada, la densidad tuvo un aporte negativo alto y las contribuciones negativas de EC, SOM y el cociente CH_a/Ox fueron de moderadas a bajas. Por su parte, PC2 (Tabla S6, MS, Anexo I) explicó el 34,34 % de la varianza total del conjunto de datos. Las concentraciones de PBDE presentaron aportes negativos de altos a moderados, y para las variables pH, CH_2/CH_3 y CH/CH_3 los aportes fueron también negativos, pero de moderados a

bajos. La densidad tuvo una contribución positiva baja, mientras que se observaron aportes positivos de moderados a altos por parte de las variables CH_{al}/Ox , SOM y EC.

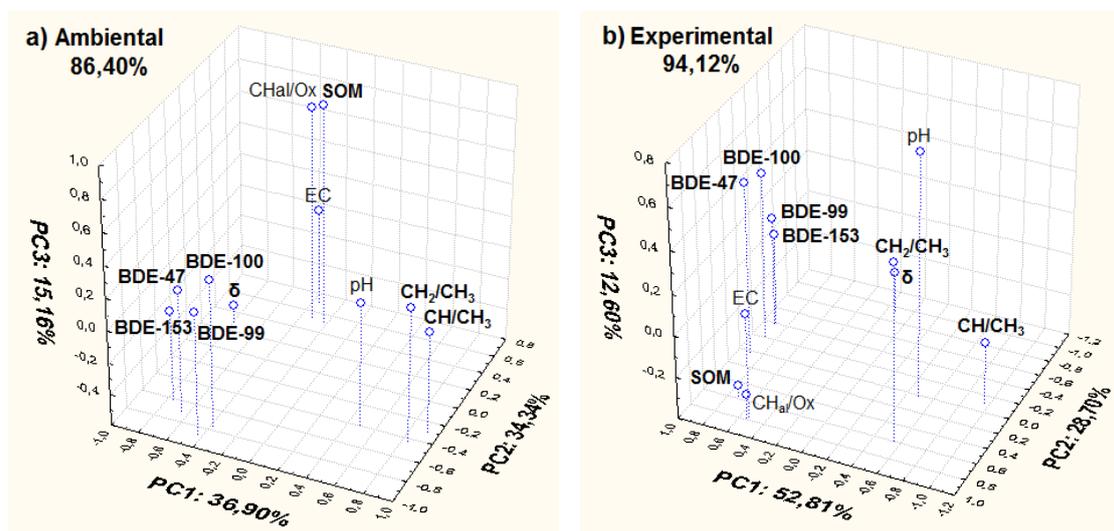


Figura 12. Gráfico 3D de *loadings* de los modelos **a)** Ambiental y **b)** Experimental.

Con respecto a X-PCA (Fig. 12b), PC1 (Tabla S7, MS, Anexo I) explicó el 52,81 % de la varianza total del conjunto de datos y tuvo aportes negativos de moderados a altos por parte de las variables asociadas con la degradación de SOM (CH/CH_3 y CH_2/CH_3), y una contribución negativa moderada del pH. Se observaron aportes positivos altos de las concentraciones de PBDE y de moderados a altos de las variables SOM, EC y CH_{al}/Ox . El aporte de la densidad a PC1 resultó bajo. Sin embargo, PC2 (varianza explicada del 28,70 %, Tabla S7 del MS, Anexo I) tuvo un aporte negativo alto de la densidad, así como contribuciones positivas de moderadas a altas de las variables SOM, CH_2/CH_3 , EC y CH_{al}/Ox . PC2 también tuvo aportes negativos moderados a bajos de las concentraciones de PBDE, CH/CH_3 , mientras que el aporte del pH fue casi nulo.

En ambos modelos, las concentraciones de PBDE en los sedimentos mostraron las correlaciones negativas más altas con CH/CH_3 , hasta -0,51 para E-PCA y -0,91 para X-PCA (Tablas 13 y 14). Este patrón sugiere que las concentraciones de PBDE se correlacionaron con la SOM que contenía cadenas hidrocarbonadas relativamente más ramificadas y más cortas, lo que indica una SOM más degradada [110]–[112]. Además, las matrices de correlación de E-PCA y X-

PCA (Tablas 13 y 14) muestran que, a diferencia del contenido de SOM, CH_{al}/Ox, EC y pH, los cocientes CH₂/CH₃ y CH/CH₃ mantuvieron sus correlaciones negativas con las concentraciones de PBDE en ambos modelos. Con respecto a la densidad de la SOM, presentó correlaciones más bajas con las concentraciones de PBDE en comparación con los cocientes CH₂/CH₃ y CH/CH₃, pero también mantuvo las correlaciones (en su mayoría positivas, hasta 0,42 para E-PCA y 0,49 para X-PCA, Tablas 13 y 14). Estas correlaciones se encuentran en acuerdo con los resultados informados por Krauss y Wilcke, quienes encontraron que las concentraciones de PAH de alto peso molecular, normalizadas con el carbono orgánico del suelo, eran más altas en las fracciones más densas, lo que indica un enriquecimiento relativo de estos compuestos con un mayor grado de degradación de la SOM [131]. Finalmente, es importante notar que, de acuerdo con las correlaciones antes mencionadas, se obtuvieron distribuciones tridimensionales similares de CH₂/CH₃, CH/CH₃ y de las concentraciones de PBDE en ambos modelos (explicación de la varianza total de los datos con 3 PC de 86.40 % y 94.12 % para E-PCA y X-PCA, respectivamente).

Tabla 13. Matriz de correlación asociada con los modelos ambientales de PCA y PLS.

Variables	CH ₂ / CH ₃	CH/ CH ₃	CH _{al} / Ox	δ	SOM	pH	EC	BDE -47	BDE -99	BDE -100	BDE -153
CH ₂ /CH ₃	1.00	0.92	-0.34	-0.95	-0.24	0.54	-0.53	-0.22	0.06	0.09	-0.36
CH/CH ₃	0.92	1.00	-0.44	-0.84	-0.31	0.43	-0.57	-0.41	-0.11	-0.11	-0.51
CH _{al} /Ox	-0.34	-0.44	1.00	0.05	0.91	-0.24	0.42	-0.04	-0.20	-0.05	-0.11
δ	-0.95	-0.84	0.05	1.00	-0.03	-0.50	0.43	0.25	0.00	-0.08	0.42
SOM	-0.24	-0.31	0.91	-0.03	1.00	-0.22	0.39	-0.07	-0.20	-0.10	-0.16
pH	0.54	0.43	-0.24	-0.50	-0.22	1.00	-0.30	0.10	0.09	0.13	-0.19
EC	-0.53	-0.57	0.42	0.43	0.39	-0.30	1.00	-0.28	-0.47	-0.27	-0.14
BDE-47	-0.22	-0.41	-0.04	0.25	-0.07	0.10	-0.28	1.00	0.92	0.78	0.92
BDE-99	0.06	-0.11	-0.20	0.00	-0.20	0.09	-0.47	0.92	1.00	0.87	0.88
BDE-100	0.09	-0.11	-0.05	-0.08	-0.10	0.13	-0.27	0.78	0.87	1.00	0.72
BDE-153	-0.36	-0.51	-0.11	0.42	-0.16	-0.19	-0.14	0.92	0.88	0.72	1.00

Se aplicó el método PLS para modelar las relaciones entre dos grupos de variables: concentraciones de PBDE (variables respuesta o dependientes) y las variables predictoras fisicoquímicas. Estas relaciones se evaluaron tanto en E-PLS como en X-PLS.

Tabla 14. Matriz de correlación asociada con los modelos experimentales de PCA y PLS.

Variables	CH ₂ /CH ₃	CH/CH ₃	CH _{al} /Ox	δ	SOM	pH	EC	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153
CH ₂ /CH ₃	1.00	0.32	0.01	-0.28	-0.28	0.44	0.08	-0.28	-0.70	-0.41	-0.67
CH/CH ₃	0.32	1.00	-0.56	-0.70	-0.67	0.49	-0.54	-0.91	-0.82	-0.89	-0.85
CH _{al} /Ox	0.01	-0.56	1.00	-0.41	0.95	-0.42	0.90	0.39	0.15	0.20	0.14
δ	-0.82	0.06	-0.58	1.00	-0.31	-0.12	-0.58	0.00	0.49	0.22	0.47
SOM	-0.28	-0.67	0.95	-0.31	1.00	-0.51	0.86	0.52	0.39	0.37	0.37
pH	0.44	0.49	-0.42	-0.12	-0.51	1.00	-0.03	-0.11	-0.33	-0.17	-0.47
EC	0.08	-0.54	0.90	-0.58	0.86	-0.03	1.00	0.55	0.20	0.33	0.13
BDE-47	-0.28	-0.91	0.39	0.00	0.52	-0.11	0.55	1.00	0.86	0.97	0.82
BDE-99	-0.70	-0.82	0.15	0.49	0.39	-0.33	0.20	0.86	1.00	0.94	0.98
BDE-100	-0.41	-0.89	0.20	0.22	0.37	-0.17	0.33	0.97	0.94	1.00	0.92
BDE-153	-0.67	-0.85	0.14	0.47	0.37	-0.47	0.13	0.82	0.98	0.92	1.00

La Figura 13 muestra que los dos primeros factores explicaron el 63,0 % y el 76,9 % de la variación de datos para E-PLS (a) y X-PLS (b), respectivamente. El Factor 1 (mayor varianza explicada), en los modelos E-PLS y X-PLS, tuvo los aportes positivos más altos por parte de las concentraciones de PBDE (variables dependientes). Por lo demás, las variables predictoras tendieron a modificar su distribución a lo largo del eje definido por el Factor 1, excepto las variables que en el PCA también fueron identificadas como las más correlacionadas con las concentraciones de PBDE: densidad (aporte positivo), CH₂/CH₃ y CH/CH₃ (mayores contribuciones negativas en el Factor 1, en ambos modelos). Además, en X-PLS (Fig. 13b) las concentraciones de PBDE y los cocientes CH₂/CH₃ y CH/CH₃ se encontraron casi orientados en la misma dirección pero en sentido opuesto, lo que significa que estos dos grupos de variables, respuesta y predictoras, respectivamente, presentan las mayores correlaciones, siendo estas negativas: entre -0,28 y -0,70 para CH₂/CH₃ y entre -0,82 y -0,91 para CH/CH₃ (Tabla 14). Esto implica que las concentraciones de PBDE aumentan cuando los cocientes CH₂/CH₃ y CH/CH₃ disminuyen, lo que indica correlaciones altamente positivas entre las concentraciones de PBDE y una SOM relativamente más degradada.

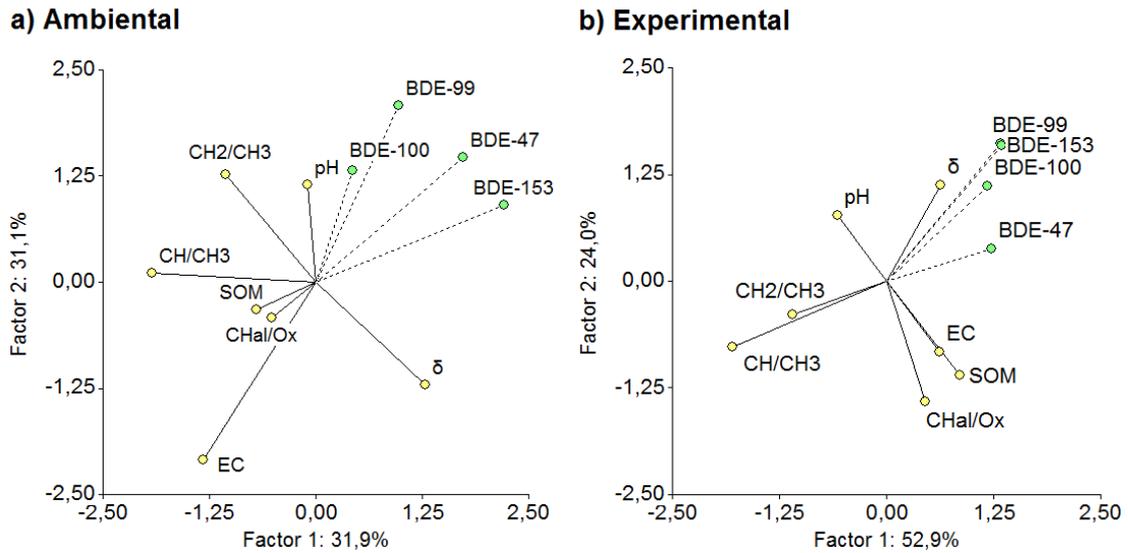


Figura 13. Gráficos de *loadings* de PLS (los dos primeros factores) que muestran la covariación entre las variables independientes (amarillas) y dependientes (verdes) de **a)** el modelo ambiental (E-PLS) y **b)** el modelo experimental (X-PLS).

Integrando la información obtenida por medio de la aplicación de ambos modelos de aprendizaje multivariado, el modelo experimental (X) implica que todos los sedimentos estudiados están enriquecidos con la misma concentración de PBDE, lo que no representa la realidad del modelo ambiental (E). Los sedimentos superficiales están expuestos a varios factores y dinámicas complejas que pueden introducir variaciones en las concentraciones de los contaminantes. Estas variaciones podrían estar relacionadas con los procesos de degradación, con la tasa de entrada de contaminantes, la tasa de entrada de sedimentos, la resuspensión y redistribución de contaminantes y partículas de sedimentos y/o la mezcla vertical debido a procesos físicos o biológicos como la bioturbación [132], [133]. Además, en algunos casos, la desbromación microbiana [117] y/o los procesos de fotodegradación pueden afectar significativamente los patrones de concentración de PBDE en los sedimentos, por ejemplo, se han reportado cambios notables en los perfiles de congéneres de nona- y octa-BDE y la prevalencia de congéneres como BDE-28 y BDE-202, que rara vez se encuentran en mezclas técnicas comerciales [134].

Considerando que las matrices de correlación de las variables estudiadas en ambos modelos (E y X) son las mismas para los dos métodos de aprendizaje multivariado (PCA y PLS, Tablas 13 y 14), las diferencias más significativas entre X y E, al enfocarse en las correlaciones con las

concentraciones de PBDE, se identificaron en el contenido de SOM y en la EC. En un sistema más controlado como es el X, fue posible identificar, con un mayor porcentaje de la varianza explicada, la dependencia entre las concentraciones de PBDE en sedimentos y las variables estudiadas.

Con respecto a la EC, a medida que aumenta la salinidad y, por lo tanto, la EC, la solubilidad de muchas sustancias químicas disminuye. Este fenómeno denominado efecto salino podría causar que estos contaminantes orgánicos tengan mayor afinidad por las partículas suspendidas y por los sedimentos [135].

Respecto al contenido de SOM, como se mencionó al plantear el problema de investigación de la presente tesis, varios estudios encontraron correlaciones positivas entre el contenido de compuestos orgánicos de sedimentos y las concentraciones de PBDE, pero otros también reportaron la ausencia de dichas correlaciones. Esto también pudo haberse reflejado en las diferencias observadas entre los modelos E y X. Dadas las propiedades hidrofóbicas de los PBDE, se espera que se correlacionen con el contenido de SOM; sin embargo, las fuentes de variación en las concentraciones de PBDE en sedimentos antes mencionadas podrían generar la ausencia de dichas correlaciones en ambientes acuáticos. Resulta probable que bajo condiciones controladas (X), sin la influencia de factores ambientales, el contenido de SOM mostrara correlaciones evidentes con las concentraciones de PBDE. Sin embargo, solo el contenido de SOM puede no ser lo suficientemente influyente para retener los contaminantes, a diferencia de su grado de degradación.

4.4 CONCLUSIONES PARCIALES DEL CAPÍTULO IV

El presente capítulo tuvo como objetivo hacer un aporte sobre las posibles causas de las discrepancias reportadas en la bibliografía al estudiar las correlaciones entre las concentraciones de PBDE y el contenido de SOM. Se pretendió hacer foco en determinar qué factores podrían determinar tales correlaciones. Se contrastaron dos modelos, ambiental y experimental, utilizando métodos de aprendizaje multivariado, PCA y PLS. Las variables consideradas fueron las concentraciones de PBDE y las propiedades fisicoquímicas de los sedimentos y los cocientes de área semicuantitativos derivados de espectros FTIR de la SOM obtenidos luego de aplicar el método de desmineralización optimizado en el Capítulo III.

Además, se propuso un modelo lineal para determinar la densidad de la SOM utilizando los cocientes de área FTIR, y se incluyó como una variable adicional en los análisis multivariados.

Los métodos de aprendizaje multivariado PCA y PLS respectivamente sugirieron y confirmaron las correlaciones entre las concentraciones de PBDE en las muestras de sedimentos estudiadas y una SOM más degradada, con cadenas hidrocarbonadas más cortas y ramificadas, tanto en los modelos ambiental como experimental. La degradación de la SOM también se correlaciona con valores de densidad de la SOM relativamente más altos, que a su vez se correlacionan con concentraciones más altas de PBDE. Esta contribución podría explicar los resultados reportados en publicaciones recientes sobre la falta de correlaciones estadísticamente significativas entre las concentraciones de PBDE en los sedimentos y su contenido de materia orgánica.

Los resultados obtenidos demuestran que, independientemente de las discrepancias respecto a las correlaciones entre las concentraciones de PBDE y las variables estudiadas en los modelos X y E, y sus posibles fuentes de variación en ambientes acuáticos, las correlaciones entre las concentraciones de PBDE y la degradación de materia orgánica en sedimentos se mantuvieron en el estudio de ambos modelos E y X.

CONCLUSIONES FINALES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Hasta el momento, el estudio de la asociación entre los PBDE y el contenido orgánico de los sedimentos ha dado lugar a ciertas controversias. En este sentido, la bibliografía reporta tanto correlaciones positivas como la ausencia de correlaciones entre las concentraciones de los PBDE y el contenido orgánico de los sedimentos. A partir de esta problemática es que se desprenden la hipótesis y los objetivos de la presente tesis doctoral: la caracterización química de la materia orgánica de sedimentos (SOM) es una herramienta para identificar áreas con mayor potencial para acumulación y transporte de retardantes de llama bromados tales como los PBDE.

Con el objetivo de profundizar sobre el conocimiento de la relación entre las características químicas de los sedimentos y la acumulación de los PBDE, se propuso en primera instancia caracterizar la SOM por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR). En trabajos previos del grupo de investigación se había identificado que la presencia de interferencias minerales en sedimentos dificultaba tal caracterización. Esto es debido a que las señales de silicatos, sílice y carbonatos enmascaran las señales características de la SOM, por lo cual, fue necesario optimizar una metodología de desmineralización que lograra eliminar las interferencias minerales sin afectar de manera significativa los grupos funcionales presentes en la SOM. En el Capítulo III, con el objetivo de optimizar una metodología de desmineralización de sedimentos para el análisis de SOM por FTIR, se combinaron el potencial del análisis espectral semicuantitativo y la estadística multivariada. La metodología optimizada proporcionó un medio para desmineralizar los sedimentos haciendo uso de HF al 10 % v/v, y efectuando dos ciclos de desmineralización a 60 °C. Esta metodología permitió no sólo cumplir el objetivo de desmineralizar las muestras sin afectar significativamente la SOM para su análisis por FTIR, sino también, reducir el número de ciclos de desmineralización usualmente reportados por la bibliografía y, en consecuencia, reducir la cantidad de reactivos y tiempo de trabajo. Es importante destacar que en el Capítulo III también se demostró con significancia estadística que a 25 °C (temperatura reportada en las publicaciones previas) la desmineralización sigue siendo insuficiente aun luego de 5 ciclos.

En el Capítulo IV, aplicando la metodología de desmineralización de sedimentos desarrollada en el Capítulo III, se pudo efectuar la caracterización química de la SOM por medio del cálculo

de cocientes de área FTIR semicuantitativos derivados de las señales espectrales de los grupos funcionales presentes en dicha materia orgánica, los cuales pueden asociarse a su grado de degradación. Además, a partir de los cocientes FTIR semicuantitativos se pudo obtener un modelo lineal para calcular la densidad de la SOM, la cual, junto a propiedades como el pH y la conductividad eléctrica fueron estudiadas en relación a las concentraciones de PBDE contrastando dos modelos, ambiental y experimental. Ambos modelos fueron analizados aplicando métodos de aprendizaje multivariado: análisis de componentes principales (PCA) y mínimos cuadrados parciales (PLS). Los resultados obtenidos del PCA y del PLS fueron consistentes y revelaron que las concentraciones de los PBDE en los sedimentos se encuentran correlacionadas con una SOM más degradada, caracterizada por cadenas hidrocarbonadas relativamente más cortas y ramificadas. Las concentraciones de PBDE adicionalmente se correlacionaron con valores de densidad relativamente mayores, que, a su vez, se asocian con una mayor degradación de la SOM. Estos resultados permiten superar las debilidades previamente reportadas respecto a la caracterización de la SOM, y refuerzan y profundizan los indicios de que no sólo el contenido de materia orgánica determina la concentración de los PBDE en los sedimentos, sino, más importante aún, su grado de degradación.

Finalmente, como punto a destacar, en la presente tesis se aplicaron de manera integral metodologías analíticas usadas previamente en paleobotánica, es decir, datos espectrales semicuantitativos combinados con herramientas de estadística multivariada para explicar modelos y problemáticas ambientales contemporáneos. Los resultados alcanzados podrían ofrecer un factor a tener en consideración respecto a las discordancias encontradas en la bibliografía en relación a las correlaciones entre las concentraciones de PBDE y el contenido de SOM. Además, presentan implicancias al momento de distinguir áreas con mayor potencial de acumulación y transporte de PBDE en el ambiente, debido a que se espera que estos contaminantes se encuentren en sedimentos cuya materia orgánica se encuentre más degradada.

En futuros estudios sería de interés y gran valor evaluar la correlación entre las concentraciones tanto de otros PBDE como de POP adicionales, y sedimentos pertenecientes a diferentes ambientes acuáticos tales como diques, humedales, plantas de tratamiento de efluentes cloacales, etc. El análisis de contaminantes en ambientes acuáticos resulta de relevancia, más aún en regiones como la de Cuyo, la cual se caracteriza por presentar un clima semiárido. En particular, dentro de Cuyo, la Provincia de Mendoza se encuentra atravesando crecientes episodios de sequías y escasez de agua, por lo cual, estudios sobre el transporte, la

ocurrencia y el destino de contaminantes tales como los PBDE en ambientes acuáticos permitiría identificar zonas de mayor riesgo de contaminación asociadas a sedimentos con una SOM más degradada, y así, poder tener en consideración a la hora de gestionar los recursos hídricos en lo que respecta a los niveles de exposición a los contaminantes, tanto de los organismos acuáticos como de los seres humanos.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] D. Negrete-Bolagay *et al.*, "Persistent organic pollutants: The trade-off between potential risks and sustainable remediation methods," *J. Environ. Manage.*, vol. 300, no. May, p. 113737, 2021.
- [2] H. Hung *et al.*, "Toward the next generation of air quality monitoring: Persistent organic pollutants," *Atmos. Environ.*, vol. 80, pp. 591–598, 2013.
- [3] H. Huang *et al.*, "How persistent are POPs in remote areas? A case study of DDT degradation in the Qinghai-Tibet Plateau, China," *Environ. Pollut.*, vol. 263, p. 114574, 2020.
- [4] S. C. Delaney, "Los convenios sobre productos químicos y desechos peligrosos," *Programa las Nac. Unidas para el Medio Ambient.*, 2004.
- [5] L. Liu, G. Wu, Y. Ren, Y. Chen, and Q. Feng, "China's synergy in the implementation of international conventions on chemicals and waste," *Emerg. Contam.*, vol. 7, no. 2021, pp. 132–138, 2021.
- [6] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible, "Acuerdos Multilaterales Ambientales y cooperación internacional." [Online]. Available: <https://www.argentina.gob.ar/ambiente/control/acuerdos>.
- [7] Secretaría del Convenio de Estocolmo, "Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes," 2020.
- [8] Stockholm Convention Secretariat, "The 16 new POPs. An introduction to the chemicals added to the Stockholm Convention as Persistent Organic Pollutants by the Conference of the Parties.," no. June. pp. 1–25, 2017.
- [9] UNEP, "The new POPs under the Stockholm Convention," 2022. [Online]. Available: <http://www.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx>.
- [10] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible de Argentina, "Convenio de Estocolmo." [Online]. Available: <https://www.argentina.gob.ar/ambiente/control/acuerdos/estocolmo>.
- [11] National Center for Biotechnology Information, "PubChem Compound Summary," 2023. [Online]. Available: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [12] WHO, "Flame-retardants: a general introduction," *Environ. Heal. Criteria*, vol. 192, 1997.
- [13] M. Alaei, P. Arias, A. Sjödin, and Å. Bergman, "An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release," *Environ. Int.*, vol. 29, no. 6, pp. 683–689, 2003.
- [14] J. H. Troitzsch, "Fires, statistics, ignition sources, and passive fire protection measures," *J. Fire Sci.*, vol. 34, no. 3, pp. 171–198, 2016.
- [15] E. Eljarrat and D. Barceló, *Brominated flame retardants*, vol. 16. Springer Science & Business Media, 2011.
- [16] S. D. Jadhav and J. Jhabarmal, "A review of non-halogenated flame retardant," *Pharma Innov. J.*, vol. 380, no. 5, pp. 380–386, 2018.
- [17] C. A. Wilkie and A. B. Morgan, *Fire retardancy of polymeric materials*. CRC press, 2009.

- [18] Kirk-Othmer, *Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology*. New York: Wiley, 2007.
- [19] H. Guo, X. Zheng, X. Luo, and B. Mai, "Leaching of brominated flame retardants (BFRs) from BFRs-incorporated plastics in digestive fluids and the influence of bird diets," *J. Hazard. Mater.*, vol. 393, no. January, p. 122397, 2020.
- [20] A. Covaci, S. Voorspoels, M. A.-E. Abdallah, T. Geens, S. Harrad, and R. J. Law, "Analytical and environmental aspects of the flame retardant tetrabromobisphenol-A and its derivatives," *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, no. 3, pp. 346–363, 2009.
- [21] T. D. Anderson and J. D. MacRae, "Polybrominated diphenyl ethers in fish and wastewater samples from an area of the Penobscot River in Central Maine," *Chemosphere*, vol. 62, no. 7, pp. 1153–1160, 2006.
- [22] A. Mendes, J. Madureira, K. Arnold, S. Costa, and A. Salamova, "A pilot study on semivolatile organic compounds in senior care facilities : Implications for older adult exposures *," vol. 240, pp. 908–915, 2018.
- [23] A. Turner, "PBDEs in the marine environment : Sources , pathways and the role," *Environ. Pollut.*, vol. 301, no. January, p. 118943, 2022.
- [24] R. C. Hale, M. J. La Guardia, E. Harvey, M. O. Gaylor, and T. M. Mainor, "Brominated flame retardant concentrations and trends in abiotic media," *Chemosphere*, vol. 64, no. 2, pp. 181–186, 2006.
- [25] K. Ji, K. Choi, J. P. Giesy, J. Musarrat, and S. Takeda, "Genotoxicity of Several Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Hydroxylated PBDEs , and Their Mechanisms of Toxicity," pp. 5003–5008, 2011.
- [26] Ö. Andersson and G. Blomkvist, "Polybrominated aromatic pollutants found in fish in Sweden," *Chemosphere*, vol. 10, no. 9, pp. 1051–1060, 1981.
- [27] United States Environmental Protection Agency, "An Exposure Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers," *U.S. Environ. Prot. Agency (EPA). An Expo. Assess. polybrominated diphenyl ethers. Natl. Cent. Environ. Assessment, Washington, DC; EPA/600/R-08/086F.*, no. May, p. 378, 2010.
- [28] A. C. Dirtu, M. Abdallah, and A. Covaci, "Advances in the sample preparation of brominated flame retardants and other brominated compounds," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 43, pp. 189–203, Feb. 2013.
- [29] D. Mackay, W.-Y. Shiu, and S. C. Lee, *Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals*. CRC press, 2006.
- [30] X. Ma *et al.*, "Mirror image between gas–particle partitioning and soil–moss distribution of polybrominated diphenyl ethers in the polar regions," *Sci. Total Environ.*, vol. 656, pp. 1199–1206, 2019.
- [31] D. Klinčić, M. Dvorščak, K. Jagić, G. Mendaš, and S. Herceg Romanić, "Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers in humans and environmental compartments: a comprehensive review of the last five years of research," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 27, no. 6, pp. 5744–5758, 2020.
- [32] H. Hellar-Kihampa, K. De Wael, E. Lugwisha, G. Malarvannan, A. Covaci, and R. Van Grieken, "Spatial monitoring of organohalogen compounds in surface water and sediments of a rural-urban river basin in Tanzania," *Sci. Total Environ.*, vol. 447, pp. 186–197, 2013.
- [33] K. Oloruntoba, O. Sindiku, O. Osibanjo, and R. Weber, "Polybrominated diphenyl ethers

- (PBDEs) concentrations in soil, sediment and water samples around electronic wastes dumpsites in Lagos, Nigeria,” *Emerg. Contam.*, vol. 8, pp. 206–215, 2022.
- [34] C. Marvin, J. Waltho, J. Jia, and D. Burniston, “Spatial distributions and temporal trends in polybrominated diphenyl ethers in Detroit River suspended sediments,” *Chemosphere*, vol. 91, no. 6, pp. 778–783, 2013.
- [35] N. Tombesi *et al.*, “Tracking polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediments and soils from the southwest of Buenos Aires Province, Argentina (South eastern part of the GRULAC region),” *Sci. Total Environ.*, vol. 575, pp. 1470–1476, 2017.
- [36] E. Duarte-Restrepo, K. Noguera-Oviedo, D. Butryn, J. S. Wallace, D. S. Aga, and B. E. Jaramillo-Colorado, “Spatial distribution of pesticides, organochlorine compounds, PBDEs, and metals in surface marine sediments from Cartagena Bay, Colombia,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 28, no. 12, pp. 14632–14653, 2021.
- [37] C. Da *et al.*, “Sediment Records of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) from the Anhui Province Section of Yangtze River, China,” *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 106, no. 2, pp. 334–341, 2021.
- [38] M. Tiwari, S. K. Sahu, R. C. Bhangare, P. Y. Ajmal, and G. G. Pandit, “Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in core sediments from creek ecosystem: occurrence, geochronology, and source contribution,” *Environ. Geochem. Health*, vol. 40, no. 6, pp. 2587–2601, 2018.
- [39] S. Giuliani *et al.*, “The impact of the 1999 Mw 7.4 event in the İzmit Bay (Turkey) on anthropogenic contaminant (PCBs, PAHs and PBDEs) concentrations recorded in a deep sediment core,” *Sci. Total Environ.*, vol. 590–591, pp. 799–808, 2017.
- [40] L. Metelkova, Z. Zhakovskaya, G. Kukhareva, A. Rybalko, and V. Nikiforov, “Occurrence of PCDD/PCDFs, dioxin-like PCBs, and PBDEs in surface sediments from the Neva River and the Eastern Gulf of Finland (Russia),” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 26, no. 8, pp. 7375–7389, Mar. 2019.
- [41] S. Pizzini *et al.*, “PAHs, PCBs, PBDEs, and OCPs trapped and remobilized in the Lake of Cavazzo (NE Italy) sediments: Temporal trends, quality, and sources in an area prone to anthropogenic and natural stressors,” *Environ. Res.*, vol. 213, no. May, p. 113573, 2022.
- [42] S. Voorspoels, A. Covaci, J. Maervoet, and P. Schepens, “PBDEs in marine and freshwater sediments from Belgium: Levels, profiles and relations with biota,” *J. Environ. Monit.*, vol. 6, no. 11, pp. 914–918, 2004.
- [43] A. K. Anim, D. S. Drage, A. Goonetilleke, J. F. Mueller, and G. A. Ayoko, “Distribution of PBDEs, HBCDs and PCBs in the Brisbane River estuary sediment,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 120, no. 1–2, pp. 165–173, 2017.
- [44] B. Burd, C. Lowe, C. Morales Caselles, M. Noel, P. Ross, and T. Macdonald, “Uptake and trophic changes in polybrominated diphenyl ethers in the benthic marine food chain in southwestern British Columbia, Canada,” *FACETS*, vol. 4, no. 1, pp. 20–51, Feb. 2019.
- [45] X. Zhao, B. Zheng, Y. Qin, L. Jiao, and L. Zhang, “Grain size effect on PBDE and PCB concentrations in sediments from the intertidal zone of Bohai Bay, China,” *Chemosphere*, vol. 81, no. 8, pp. 1022–1026, 2010.
- [46] Y. Yan, Y. Li, M. Ma, W. Ma, X. Cheng, and K. Xu, “Effects of coexisting BDE-47 on the migration and biodegradation of BDE-99 in river-based aquifer media recharged with reclaimed water,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 25, no. 6, pp. 5140–5153, 2018.

- [47] N. Rodríguez-Eugenio, M. McLaughlin, and D. Pennock, *Soil pollution: a hidden reality*. FAO, 2018.
- [48] Y. Huang, D. Zhang, Y. Yang, X. Zeng, and Y. Ran, "Distribution and partitioning of polybrominated diphenyl ethers in sediments from the Pearl River Delta and Guiyu, South China," *Environ. Pollut.*, vol. 235, pp. 104–112, 2018.
- [49] P. I. Kilunga *et al.*, "Accumulation of toxic metals and organic micro-pollutants in sediments from tropical urban rivers, Kinshasa, Democratic Republic of the Congo," *Chemosphere*, vol. 179, pp. 37–48, 2017.
- [50] G. Wang, L. Feng, J. Qi, and X. Li, "Influence of human activities and organic matters on occurrence of polybrominated diphenyl ethers in marine sediment core: A case study in the Southern Yellow Sea, China," *Chemosphere*, vol. 189, pp. 104–114, 2017.
- [51] C. R. Ohoro, A. O. Adeniji, L. Semerjian, A. I. Okoh, and O. O. Okoh, "Occurrence and Risk Assessment of Polybrominated Diphenyl Ethers in Surface Water and Sediment of Nahoon River Estuary, South Africa," *Molecules*, vol. 27, no. 3, p. 832, 2022.
- [52] B. Pérez-Fernández, L. Viñas, and V. Besada, "A new perspective on marine assessment of metals and organic pollutants: A case study from Bay of Santander," *Sci. Total Environ.*, vol. 691, pp. 156–164, 2019.
- [53] X. Yuan *et al.*, "Spatial distribution, source analysis, and ecological risk assessment of PBDEs in river sediment around Taihu Lake, China," *Environ. Monit. Assess.*, vol. 192, no. 5, 2020.
- [54] Y. Olshansky, T. Polubesova, W. Vetter, and B. Chefetz, "Sorption e desorption behavior of polybrominated diphenyl ethers in soils," *Environ. Pollut.*, vol. 159, no. 10, pp. 2375–2379, 2011.
- [55] Z. Wu *et al.*, "Exposure pathways , levels and toxicity of polybrominated diphenyl ethers in humans : A review," *Environ. Res.*, vol. 187, no. April, p. 109531, 2020.
- [56] S. Byrne *et al.*, "PFAS and PBDEs in traditional subsistence foods from Sivuqaq, Alaska," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 29, no. 51, pp. 77145–77156, 2022.
- [57] A. P. Daso, O. S. Fatoki, J. P. Odendaal, and J. O. Okonkwo, "A review on sources of brominated flame retardants and routes of human exposure with emphasis on polybrominated diphenyl ethers," vol. 254, pp. 239–254, 2010.
- [58] V. Linares and J. L. Domingo, "Human exposure to PBDE and critical evaluation of health hazards," pp. 335–356, 2015.
- [59] Y. Yu, N. Huang, X. Zhang, J. Li, Z. Yu, and S. Han, "Polybrominated diphenyl ethers in food and associated human daily intake assessment considering bioaccessibility measured by simulated gastrointestinal digestion," *Chemosphere*, vol. 83, no. 2, pp. 152–160, 2011.
- [60] Z. J. Chen *et al.*, "Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human samples of mother-newborn pairs in South China and their placental transfer characteristics," *Environ. Int.*, vol. 73, pp. 77–84, 2014.
- [61] United States Environmental Protection Agency, "Integrated Risk Information System (IRIS)," 2008. [Online]. Available: https://iris.epa.gov/AtoZ/?list_type=alpha.
- [62] S. Yeasmin, B. Singh, C. T. Johnston, and D. L. Sparks, "Evaluation of pre-treatment procedures for improved interpretation of mid infrared spectra of soil organic matter," *Geoderma*, vol. 304, pp. 83–92, 2017.

- [63] A. J. Margenot, S. J. Parikh, and F. J. Calderón, "Improving infrared spectroscopy characterization of soil organic matter with spectral subtractions," *J. Vis. Exp.*, vol. 2019, no. 143, pp. 1–15, 2019.
- [64] M. A. Lafuente Diaz, J. A. D'Angelo, G. M. Del Fueyo, and M. A. Carrizo, "FTIR spectroscopic features of the pteridosperm *Ruflorinia orlandoi* and host rock (Springhill Formation, Lower Cretaceous, Argentina)," *J. South Am. Earth Sci.*, vol. 99, no. January, p. 102520, 2020.
- [65] J. A. D'Angelo, E. L. Zodrow, and A. Camargo, "Chemometric study of functional groups in Pennsylvanian gymnosperm plant organs (Sydney Coalfield, Canada): Implications for chemotaxonomy and assessment of kerogen formation," *Org. Geochem.*, vol. 41, no. 12, pp. 1312–1325, 2010.
- [66] E. L. Zodrow, J. A. D'Angelo, M. Mastalerz, and D. Keefe, "Compression-cuticle relationship of seed ferns: Insights from liquid-solid states FTIR (Late Palaeozoic-Early Mesozoic, Canada-Spain-Argentina)," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 79, no. 3, pp. 61–73, 2009.
- [67] B. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Chippenham, Wiltshire: Wiley, 2004.
- [68] B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, 2nd ed. CRC Press, 2011.
- [69] E. L. Zodrow, J. A. D'Angelo, W. A. Taylor, T. Catelani, J. A. Heredia-Guerrero, and M. Mastalerz, "Secretory organs: Implications for lipid taxonomy and kerogen formation (seed ferns, Pennsylvanian, Canada)," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 167, pp. 184–200, 2016.
- [70] J. A. D'Angelo and E. L. Zodrow, "Density and biomechanical properties of fossil fronds. A case study of *Neuropteris ovata* (seed fern, Late Pennsylvanian, Canada)," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 198, no. June, pp. 63–76, 2018.
- [71] R. M. B. O. Duarte, J. T. V. Matos, and N. Senesi, *Organic pollutants in soils*. Elsevier Inc., 2017.
- [72] S. L. Badea, V. C. Niculescu, R. E. Ionete, and E. Eljarrat, "Advances in enantioselective analysis of chiral brominated flame retardants. Current status, limitations and future perspectives," *Sci. Total Environ.*, vol. 566–567, pp. 1120–1130, 2016.
- [73] E. Barón, E. Eljarrat, and D. Barceló, "Analysis of halogenated flame retardants by gas chromatography coupled to LRMS, HRMS, MS-MS, and TOF-MS," *Compr. Anal. Chem.*, vol. 61, pp. 373–401, 2013.
- [74] S. Król, B. Zabiegała, and J. Namieśnik, "PBDEs in environmental samples: Sampling and analysis," *Talanta*, vol. 93, pp. 1–17, 2012.
- [75] M. M. Barbooti, *Environmental applications of instrumental chemical analysis*. 2015.
- [76] M. S. Klee and L. M. Blumberg, "Theoretical and practical aspects of fast gas chromatography and method translation," *J. Chromatogr. Sci.*, vol. 40, no. 5, pp. 234–247, 2002.
- [77] M. M. Mwanza, E. N. Ndunda, G. O. Bosire, V. O. Nyamori, and B. S. Martincigh, "Journal of Hazardous Materials Advances Advances in sample pretreatment and detection of PCBs in the environment," *J. Hazard. Mater. Adv.*, vol. 4, no. November, p. 100028, 2021.
- [78] G. James, D. Witten, T. Hastie, and R. Tibshirani, *An introduction to statistical learning*, vol. 112. Springer, 2013.

- [79] R. Bro and A. K. Smilde, "Principal component analysis," *Anal. Methods*, vol. 6, no. 9, pp. 2812–2831, 2014.
- [80] G. R. Naik, *Advances in principal component analysis: Research and development*. 2017.
- [81] J. A. D'Angelo and E. L. Zodrow, "Chemotaxonomic comparison of the seed ferns *Odontopteris cantabrica* and *Odontopteris schlotheimii*, Middle Pennsylvanian Sydney Coalfield, Canada," *Lethaia*, vol. 55, no. 2, pp. 1–8, Sep. 2022.
- [82] J. A. D'Angelo, E. L. Zodrow, and J. C. Hower, "Seminal infrared-based chemometric analysis of oxygen-bearing structural groups in vitrain samples from ten successive coal seams (Sydney Coalfield, Canada)," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 263, p. 104114, 2022.
- [83] E. del C. Abraham, J. A. D'Angelo, S. B. Mammana, G. E. Lascalea, and J. C. Altamirano, "Recycling Control of Histological Xylol: A Chemometric Approach," *ChemistrySelect*, vol. 4, no. 36, pp. 10856–10862, 2019.
- [84] B. Kohlmann, D. Vásquez, A. Arroyo, and M. Springer, "Taxonomic and Functional Diversity of Aquatic Macroinvertebrate Assemblages and Water Quality in Rivers of the Dry Tropics of Costa Rica," *Front. Environ. Sci.*, vol. 9, no. August, pp. 1–19, 2021.
- [85] N. B. Lana, E. Koch, J. A. D'Angelo, N. F. Ciocco, and J. C. Altamirano, "Sediment physicochemical properties condition pollutant association: A multivariate study of polybrominated diphenyl ethers on the Mendoza river irrigation areas," *Rev. la Fac. Ciencias Agrar.*, vol. 46, no. 2, pp. 57–71, 2014.
- [86] B. E. Davies, "LOSS-ON-IGNITION AS AN ESTIMATE OF SOIL ORGANIC MATTER," *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol. 38, no. 1, pp. 150–151, 1974.
- [87] U. S. Department of Health and Human Services, "Center for Devices and Radiological Health (CDRH)," 2017. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDRH/>.
- [88] I. Perkin Elmer, "User's Guide Spectrum BX," 2000.
- [89] L. A. Currie, "Detection and quantification limits: origins and historical overview," *Anal. Chim. Acta*, vol. 391, no. 2, pp. 127–134, 1999.
- [90] C. Cuypers, T. Grotenhuis, W. Rulkens, K. G. J. Nierop, E. M. Franco, and A. De Jager, "Amorphous and condensed organic matter domains: The effect of persulfate oxidation on the composition of soil/sediment organic matter," *Chemosphere*, vol. 48, no. 9, pp. 919–931, 2002.
- [91] D. S. Orlov and L. K. Sadovnikova, "Soil Organic Matter and Protective Functions of Humic Substances in the Biosphere BT - Use of Humic Substances to Remediate Polluted Environments: From Theory to Practice," I. V. Perminova, K. Hatfield, and N. Hertkorn, Eds. Dordrecht: Springer Netherlands, 2005, pp. 37–52.
- [92] I. Kögel-Knabner and C. Rumpel, *Advances in Molecular Approaches for Understanding Soil Organic Matter Composition, Origin, and Turnover: A Historical Overview*, 1st ed., vol. 149. Elsevier Inc., 2018.
- [93] F. Calderón, M. Haddix, R. Conant, K. Magrini-Bair, and E. Paul, "Diffuse-Reflectance Fourier-Transform Mid-Infrared Spectroscopy as a Method of Characterizing Changes in Soil Organic Matter," *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol. 77, no. 5, pp. 1591–1600, 2013.
- [94] A. J. Margenot, F. J. Calderón, K. A. Magrini, and R. J. Evans, "Application of DRIFTS, ¹³C NMR, and py-MBMS to Characterize the Effects of Soil Science Oxidation Assays on Soil

- Organic Matter Composition in a Mollic Xerofluvent," *Appl. Spectrosc.*, vol. 71, no. 7, pp. 1506–1518, 2017.
- [95] J. E. Padilla *et al.*, "Diffuse-reflectance mid-infrared spectroscopy reveals chemical differences in soil organic matter carried in different size wind eroded sediments," *Aeolian Res.*, vol. 15, pp. 193–201, 2014.
- [96] F. J. Calderón, J. B. Reeves, H. P. Collins, and E. A. Paul, "Chemical Differences in Soil Organic Matter Fractions Determined by Diffuse-Reflectance Mid-Infrared Spectroscopy," *Soil Sci. Soc. Am. J.*, vol. 75, no. 2, pp. 568–579, 2011.
- [97] J. B. Reeves, "Mid-infrared spectral interpretation of soils: Is it practical or accurate?," *Geoderma*, vol. 189–190, pp. 508–513, 2012.
- [98] C. N. Gonçalves, R. S. D. Dalmolin, D. P. Dick, H. Knicker, E. Klamt, and I. Kögel-Knabner, "The effect of 10% HF treatment on the resolution of CPMAS ¹³C NMR spectra and on the quality of organic matter in Ferralsols," *Geoderma*, vol. 116, no. 3–4, pp. 373–392, 2003.
- [99] M. W. I. Schmidt, H. Knicker, P. G. Hatcher, and I. Kögel-Knabner, "Improvement of ¹³C and ¹⁵N CPMAS NMR spectra of bulk soils, particle size fractions and organic material by treatment with 10% hydrofluoric acid," *Eur. J. Soil Sci.*, vol. 48, no. 2, pp. 319–328, 1997.
- [100] D. P. Dick, J. H. Z. Santos, and E. M. Ferranti, "Chemical Characterization and Infrared Spectroscopy of Soil Organic Matter From Two Southern Brazilian Soils," *Rev. Bras. Cienc. do Solo*, vol. 27, no. 3, pp. 29–39, 2003.
- [101] C. Rumpel *et al.*, "Alteration of soil organic matter following treatment with hydrofluoric acid (HF)," *Org. Geochem.*, vol. 37, no. 11, pp. 1437–1451, 2006.
- [102] N. Merlin, V. A. Lima, and L. M. Santos-Tonial, "Instrumental and experimental conditions for the application of Fourier transform infrared analysis on soil and humic acid samples, combined with chemometrics tools and scanning electron microscopy," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 26, no. 9, pp. 1920–1927, 2015.
- [103] C. Zhang *et al.*, "Preparation of mullite whiskers from kaolin via the addition of tribasic calcium phosphate," *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*, vol. 14, no. 6, pp. 1206–1212, 2017.
- [104] M. Miyazawa, M. A. Pavan, E. L. de Oliveira, M. Ionashiro, and A. K. Silva, "Gravimetric determination of soil organic matter," *Brazilian Arch. Biol. Technol.*, vol. 43, no. 5, pp. 475–478, 2000.
- [105] J. K. Kauppinen, D. J. Moffatt, H. H. Mantsch, and D. G. Cameron, "Fourier Self-Deconvolution: A Method for Resolving Intrinsically Overlapped Bands," *Appl. Spectrosc.*, vol. 35, no. 3, pp. 271–276, May 1981.
- [106] M. Sobkowiak and P. Painter, "Determination of the aliphatic and aromatic CH contents of coals by FT-IR: studies of coal extracts," *Fuel*, vol. 71, no. 10, pp. 1105–1125, 1992.
- [107] J. A. D'Angelo and E. Marchevsky, "FT-IR determination of aliphatic and aromatic CH contents of fossil leaf compressions. Part 2: applications.," *Anu. Latinoam. Educ. Química*, vol. 2, pp. 34–38, 2004.
- [108] M. Mastalerz and R. Marc Bustin, "Electron microprobe and micro-FTIR analyses applied to maceral chemistry," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 24, no. 1–4, pp. 333–345, Dec. 1993.
- [109] J. A. D'Angelo, "Analysis by Fourier transform infrared spectroscopy of *Johnstonia* (*Corystospermales*, *Corystospermaceae*) cuticles and compressions from the Triassic of Cacheuta, Mendoza, Argentina," *Ameghiniana*, vol. 43, no. 4, pp. 669–685, 2006.

- [110] R. Lin and G. P. Ritz, "Reflectance FT-IR Microspectroscopy of Fossil Algae Contained in Organic-Rich Shales," *Appl. Spectrosc.*, vol. 47, no. 3, pp. 265–271, Mar. 1993.
- [111] R. Lin and G. P. Ritz, "Studying individual macerals using i.r. microspectrometry, and implications on oil versus gas/condensate proneness and 'low-rank' generation," *Org. Geochem.*, vol. 20, no. 6, pp. 695–706, 1993.
- [112] J. A. D'Angelo and E. L. Zodrow, "3D chemical map and a theoretical life model for *Neuropteris ovata* var. *simonii* (index fossil, Asturian, Late Pennsylvanian, Canada)," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 153, pp. 12–27, 2016.
- [113] M. Mastalerz and R. M. Bustin, "Variation in the chemistry of macerals in coals of the Mist Mountain Formation, Elk Valley coalfield, British Columbia, Canada," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 33, no. 1, pp. 43–59, 1997.
- [114] E. L. Zodrow and M. Mastalerz, "Chemotaxonomy for naturally macerated tree-fern cuticles (Medullosales and Marattiales), Carboniferous Sydney and Mabou Sub-Basins, Nova Scotia, Canada," *Int. J. Coal Geol.*, vol. 47, no. 3–4, pp. 255–275, 2001.
- [115] N. B. Colthup, L. H. Daly, and S. E. Wiberley, *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*, 1st ed. New York and London: Academic Press, 1964.
- [116] O. Fernández-Ugalde, P. Barré, I. Virto, F. Hubert, D. Billiou, and C. Chenu, "Does phyllosilicate mineralogy explain organic matter stabilization in different particle-size fractions in a 19-year C3/C4 chronosequence in a temperate Cambisol?," *Geoderma*, vol. 264, pp. 171–178, 2016.
- [117] Q. Lu *et al.*, "Spatial Distribution, Bioconversion and Ecological Risk of PCBs and PBDEs in the Surface Sediment of Contaminated Urban Rivers: A Nationwide Study in China," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 55, no. 14, pp. 9579–9590, 2021.
- [118] G. Xu *et al.*, "Insights into the Occurrence, Fate, and Impacts of Halogenated Flame Retardants in Municipal Wastewater Treatment Plants," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 55, no. 8, pp. 4205–4226, 2021.
- [119] S. Lin, M. U. Ali, C. Zheng, Z. Cai, and M. H. Wong, "Toxic chemicals from uncontrolled e-waste recycling: Exposure, body burden, health impact," *J. Hazard. Mater.*, vol. 426, no. October 2021, p. 127792, 2022.
- [120] G. Xu, N. Zhang, X. Zhao, C. Chen, C. Zhang, and J. He, "Offshore Marine Sediment Microbiota Breathe Structurally Distinct Organohalide Pollutants," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 56, no. 5, pp. 3065–3075, 2022.
- [121] F. Jia and J. Gan, "Comparing black carbon types in sequestering polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediments," *Environ. Pollut.*, vol. 184, pp. 131–137, 2014.
- [122] M. L. Gomez, G. Hoke, S. D'Ambrosio, S. Moreiras, and A. Castro, "Review: Hydrogeology of Northern Mendoza (Argentina), from the Andes to the eastern plains, in the context of climate change," *Hydrogeol. J.*, vol. 30, no. 3, pp. 725–750, 2022.
- [123] M. Hurlbert and P. Mussetta, "Creating resilient water governance for irrigated producers in Mendoza, Argentina," *Environ. Sci. Policy*, vol. 58, pp. 83–94, 2016.
- [124] M. Liu, S. Tian, P. Chen, and L. Zhu, "Predicting the bioavailability of sediment-associated polybrominated diphenyl ethers using a 45-d sequential Tenax extraction," *Chemosphere*, vol. 85, no. 3, pp. 424–431, 2011.
- [125] A. Covaci *et al.*, "Polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in sediment cores from the Western Scheldt river (Belgium):

- Analytical aspects and depth profiles," *Environ. Int.*, vol. 31, no. 3, pp. 367–375, 2005.
- [126] U. Jans, "Emerging Brominated Flame Retardants in Sediments and Soils: a Review," *Curr. Pollut. Reports*, vol. 2, no. 4, pp. 213–223, 2016.
- [127] L. E. Allison, *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*, no. 60. US Department of Agriculture, 1954.
- [128] J. D'Angelo and E. Marchevsky, "FT-IR determination of aliphatic and aromatic CH contents of fossil leaf compressions. Part 1: analysis, curve-resolving and choice of bands," *Anu. Latinoam. Educ. Química*, vol. 17, pp. 37–41, 2004.
- [129] H. E. Yang and Y. C. Bae, "Group contribution method for the swelling behavior of thermo-responsive hydrogels," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 55, no. 5, pp. 455–463, 2017.
- [130] A. El-Mufleh, B. Béchet, I. Basile-Doelsch, C. Geffroy-Rodier, A. Gaudin, and V. Ruban, "Distribution of PAHs and trace metals in urban stormwater sediments: Combination of density fractionation, mineralogy and microanalysis," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 21, no. 16, pp. 9764–9776, 2014.
- [131] M. Krauss and W. Wilcke, "Persistent organic pollutants in soil density fractions: Distribution and sorption strength," *Chemosphere*, vol. 59, no. 10, pp. 1507–1515, 2005.
- [132] M. Babut *et al.*, "Where has the pollution gone? A survey of organic contaminants in Ho Chi Minh city / Saigon River (Vietnam) bed sediments," *Chemosphere*, vol. 217, pp. 261–269, 2019.
- [133] S. Josefsson, K. Leonardsson, J. S. Gunnarsson, and K. Wiberg, "Bioturbation-driven release of buried PCBs and PBDEs from different depths in contaminated sediments," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 19, pp. 7456–7464, 2010.
- [134] A. Q. Hoang, D. Aono, I. Watanabe, M. Kuwae, T. Kunisue, and S. Takahashi, "Contamination levels and temporal trends of legacy and current-use brominated flame retardants in a dated sediment core from Beppu Bay, southwestern Japan," *Chemosphere*, vol. 266, p. 129180, 2021.
- [135] Y. Wu, X. Wang, Y. Li, M. Ya, H. Luo, and H. Hong, "Polybrominated diphenyl ethers, organochlorine pesticides, and polycyclic aromatic hydrocarbons in water from the Jiulong River Estuary, China: levels, distributions, influencing factors, and risk assessment," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 10, pp. 8933–8945, 2017.

ANEXO I: MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla S1-15. Cocientes de área FTIR semicuantitativos calculados a partir de los espectros de los sedimentos A, B y C obtenidos luego de realizar las DHF a 25 o 60 °C. Los cocientes de áreas fueron usados como variables originales en el PCA.

Muestra	CH ₂ /CH ₃	CH _{al} /O _x	SiO/(CH ₂ /CH ₃)	SiO/O _x
25A1a	2,3	0,0	7,2	0,2
25A1b	2,4	0,0	22,9	0,5
25A1c	3,0	0,0	14,8	0,3
25A2a	1,8	0,0	1,9	0,1
25A2b	2,6	0,0	0,8	0,0
25A2c	2,5	0,0	0,9	0,0
25A3a	3,0	0,0	0,5	0,0
25A3b	2,5	0,0	0,7	0,0
25A3c	2,6	0,0	0,9	0,0
25A4a	2,4	0,0	0,2	0,0
25A4b	2,3	0,1	0,4	0,0
25A4c	2,5	0,0	0,0	0,0
25A5a	2,1	0,0	0,1	0,0
25A5b	2,3	0,0	0,1	0,0
25A5c	2,7	0,0	0,1	0,0
60A1a	1,8	0,0	2,5	0,1
60A1b	2,0	0,0	0,0	0,0
60A1c	1,9	0,0	0,0	0,0
60A2a	1,9	0,0	0,1	0,0
60A2b	2,7	0,0	0,0	0,0
60A2c	2,6	0,0	0,0	0,0
60A3a	2,3	0,0	0,0	0,0
60A3b	2,6	0,0	0,0	0,0
60A3c	2,7	0,0	0,0	0,0
60A4a	2,3	0,0	0,0	0,0
60A4b	2,2	0,0	0,0	0,0
60A4c	2,9	0,0	0,0	0,0
60A5a	2,8	0,0	0,0	0,0
60A5b	2,3	0,0	0,0	0,0
60A5c	2,2	0,1	0,1	0,0
25B1a	4,3	0,2	6,0	0,4
25B1b	4,1	0,2	5,9	0,4
25B1c	4,1	0,2	6,1	0,4
25B2a	4,3	0,2	4,6	0,3
25B2b	4,2	0,2	4,3	0,3
25B2c	4,2	0,2	4,2	0,3
25B3a	4,1	0,2	3,8	0,3
25B3b	4,1	0,3	4,3	0,4
25B3c	4,2	0,2	4,1	0,3
25B4a	4,0	0,3	4,5	0,4
25B4b	4,1	0,3	4,4	0,4
25B4c	4,1	0,3	4,3	0,4

25B5a	4,1	0,3	4,7	0,4
25B5b	4,2	0,3	4,9	0,5
25B5c	4,3	0,3	4,3	0,4
60B1a	4,2	0,2	1,6	0,1
60B1b	4,0	0,2	1,0	0,1
60B1c	4,3	0,2	1,3	0,1
60B2a	4,2	0,2	0,9	0,1
60B2b	4,1	0,2	1,4	0,1
60B2c	4,3	0,2	1,1	0,1
60B3a	4,4	0,2	1,3	0,1
60B3b	4,1	0,2	1,2	0,1
60B3c	4,3	0,2	1,0	0,1
60B4a	4,0	0,2	1,1	0,1
60B4b	4,2	0,2	1,1	0,1
60B4c	4,4	0,2	1,1	0,1
60B5a	4,3	0,2	0,7	0,0
60B5b	4,4	0,2	0,8	0,0
60B5c	4,4	0,2	1,2	0,1
25C1a	3,1	0,1	19,6	0,6
25C1b	3,2	0,1	18,0	0,7
25C1c	3,2	0,1	16,3	0,4
25C2a	3,4	0,1	5,0	0,2
25C2b	3,1	0,1	6,6	0,2
25C2c	3,5	0,1	7,9	0,3
25C3a	3,1	0,1	7,8	0,3
25C3b	3,2	0,1	8,6	0,3
25C3c	3,1	0,2	8,9	0,5
25C4a	3,4	0,1	5,8	0,3
25C4b	3,3	0,2	9,2	0,6
25C4c	3,0	0,2	5,6	0,4
25C5a	3,2	0,2	7,3	0,4
25C5b	3,4	0,2	6,3	0,4
25C5c	3,2	0,1	5,1	0,3
60C1a	3,3	0,1	2,9	0,1
60C1b	3,0	0,1	3,6	0,1
60C1c	3,4	0,1	1,7	0,0
60C2a	3,5	0,1	2,8	0,1
60C2b	3,7	0,1	3,2	0,1
60C2c	3,4	0,1	1,6	0,1
60C3a	3,0	0,1	2,6	0,1
60C3b	3,3	0,1	1,7	0,1
60C3c	3,3	0,1	2,2	0,1
60C4a	2,9	0,1	2,1	0,1
60C4b	3,1	0,1	2,2	0,1
60C4c	3,1	0,1	1,9	0,1
60C5a	3,3	0,1	2,1	0,1
60C5b	3,2	0,1	2,3	0,1
60C5c	3,5	0,1	2,8	0,1

Tabla S2-16. Matriz de correlación de las cuatro variables originales introducidas en el PCA.

Variables	CH ₂ /CH ₃	CH _{al} /Ox	SiO/(CH ₂ /CH ₃)	SiO/Ox
CH ₂ /CH ₃	1,00	0,87	0,08	0,37
CH _{al} /Ox	0,87	1,00	0,14	0,55
SiO/(CH ₂ /CH ₃)	0,08	0,14	1,00	0,82
SiO/Ox	0,37	0,55	0,82	1,00

Tabla S3-17. Solución del PCA asociado a la desmineralización de los sedimentos A, B y C.

Variables	PC1	PC2	PC3	PC4
CH ₂ /CH ₃	-0,77	-0,58	0,27	0,07
CH _{al} /Ox	-0,85	-0,48	-0,19	-0,12
SiO/(CH ₂ /CH ₃)	-0,62	0,76	0,20	-0,09
SiO/Ox	-0,87	0,44	-0,19	0,12
Eigenvalor	2,45	1,33	0,18	0,04
% varianza acumulada explicada	61,20	94,33	98,88	100,00

Tabla S4-18. Variables asociadas con el modelo ambiental (E) [85]. La densidad está expresada en g cm⁻³, la SOM en g kg⁻¹, la EC en μS cm⁻¹, y las concentraciones de PBDE en pg g⁻¹, dw.

Sed.	CH ₂ /CH ₃	CH/CH ₃	CH _{al} /Ox	δ	SOM	pH	EC	BDE-47	BDE-99	BDE-100	BDE-153
1	4,64	0,48	0,18	1,03	59,57	5,50	3710	0,0	0,0	0,0	0,0
2	4,71	0,52	0,04	1,07	11,95	5,00	1569	0,0	0,0	0,0	0,0
3	4,78	0,59	0,03	1,07	5,78	7,29	1023	0,0	0,0	0,0	0,0
4	5,74	0,55	0,09	0,98	14,32	7,27	2730	0,0	0,0	0,0	0,0
5	4,83	0,51	0,03	1,07	10,40	7,80	2480	0,0	0,0	0,0	0,0
6	3,04	0,26	0,17	1,15	45,16	6,00	4160	58,7	10,0	18,6	24,0
7	4,63	0,48	0,04	1,08	10,30	5,00	1145	96,8	114,8	39,8	63,4
8	4,44	0,38	0,07	1,08	14,88	7,47	1796	178,2	144,1	67,5	68,9
9	6,27	0,66	0,09	0,94	23,13	7,24	1826	11,4	47,1	54,1	0,0
10	3,28	0,34	0,13	1,14	18,55	4,50	3780	12,3	10,0	18,6	24,0
11	4,10	0,40	0,04	1,12	11,31	5,50	5580	14,7	10,0	18,6	24,0

Tabla S5-19. Variables asociadas con el modelo experimental. La densidad está expresada en g cm⁻³, la SOM en g kg⁻¹, la EC en μS cm⁻¹, y las concentraciones de PBDE en ng g⁻¹, dw.

Sed.	CH ₂ / CH ₃	CH/ CH ₃	CH _{al} / Ox	δ	SOM	pH	EC	BDE- 47	BDE- 99	BDE- 100	BDE- 153
1	4,64	0,48	0,18	1,03	59,57	5,50	3710	11,04	14,68	13,43	14,48
2	4,71	0,52	0,04	1,07	11,95	5,00	1569	9,14	13,53	12,34	14,80
3	4,78	0,59	0,03	1,07	5,78	7,29	1023	6,99	8,42	8,71	4,73
4	5,74	0,55	0,09	0,98	14,32	7,27	2730	8,57	6,99	10,02	3,79
5	4,83	0,51	0,03	1,07	10,40	7,80	2480	11,54	15,91	15,03	15,60

Tabla S6-20. Solución del PCA asociado con el modelo ambiental (E).

Variables	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
CH ₂ /CH ₃	0,84	-0,43	0,24	-0,06	-0,16	0,10	0,06	0,05	-0,01	0,00
CH/CH ₃	0,92	-0,30	0,04	-0,17	-0,05	0,01	-0,13	-0,11	0,05	0,00
CH _{al} /Ox	-0,33	0,53	0,75	-0,03	0,10	-0,09	0,15	-0,07	0,02	0,00
δ	-0,79	0,29	-0,49	0,08	0,14	-0,08	-0,11	-0,03	0,01	0,00
SOM	-0,23	0,52	0,79	-0,08	0,11	0,10	-0,19	0,03	-0,02	0,00
pH	0,48	-0,40	0,17	0,74	0,18	-0,01	-0,02	-0,03	-0,02	0,00
EC	-0,36	0,71	0,01	0,33	-0,50	0,11	-0,02	-0,02	0,02	-0,01
BDE-47	-0,65	-0,70	0,17	0,12	0,12	0,10	0,01	0,06	0,08	0,01
BDE-99	-0,44	-0,87	0,17	-0,09	-0,03	0,08	-0,03	-0,03	-0,02	-0,03
BDE-100	-0,39	-0,76	0,32	0,02	-0,30	-0,28	-0,06	0,02	-0,01	0,01
BDE-153	-0,77	-0,61	-0,04	-0,06	-0,05	0,15	0,04	-0,08	-0,04	0,02
Eigenvalor	4,06	3,78	1,67	0,73	0,46	0,16	0,10	0,03	0,01	0,00
% de varianza acumulada explicada	36,90	71,24	86,40	93,01	97,18	98,65	99,55	99,87	99,98	100,0

Tabla S7-21. Solución del PCA asociado con el modelo experimental (X).

Variables	PC1	PC2	PC3	PC4
CH₂/CH₃	-0,55	0,60	0,45	0,38
CH/CH₃	-0,96	-0,11	-0,11	-0,25
CH_{a1}/Ox	0,54	0,78	-0,28	-0,09
δ	0,14	-0,94	-0,20	-0,26
SOM	0,72	0,57	-0,35	-0,19
pH	-0,48	0,02	0,75	-0,45
EC	0,54	0,77	0,10	-0,33
BDE-47	0,90	0,03	0,43	0,01
BDE-99	0,91	-0,40	0,12	-0,04
BDE-100	0,89	-0,21	0,40	0,07
BDE-153	0,90	-0,41	0,04	0,13
Eigenvalor	5,81	3,16	1,39	0,65
% de varianza acumulada explicada	52,81	81,51	94,12	100,00

ANEXO II: PUBLICACIONES

El desarrollo de la presente de tesis doctoral permitió la publicación de los siguientes artículos científicos en revistas de prestigio internacional, y la publicación de trabajos de investigación presentados en eventos científicos nacionales e internacionales.

- Artículos publicados durante el desarrollo del doctorado:

Emilia C. Abraham, José A. D'Angelo, Daniela A. Ramírez, Alejandra B. Camargo & Jorgelina C. Altamirano (2023). Organic matter degradation determines the concentrations of polybrominated diphenyl ethers in sediments. Multivariate learning on environmental and experimental models. *Science of The Total Environment*, 162766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162766>.

Emilia C. Abraham, José A. D'Angelo & Jorgelina C. Altamirano (2021). Chemometric Optimization of a Demineralization Method for Analysing Sediment Organic Matter by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *International Journal of Environmental Research*, 15(4), 645-654. <https://doi.org/10.1007/s41742-021-00338-w>.

Emilia C. Abraham, José A. D'Angelo, Sabrina B. Mammana, Gustavo E. Lascalea & Jorgelina C. Altamirano (2019). Recycling control of histological xylol: a chemometric approach. *ChemistrySelect*, 4(36), 10856-10862. <https://doi.org/10.1002/slct.201901659>.

Sabrina B. Mammana, **Emilia C. Abraham**, Alejandra B. Camargo, Álvaro J. Vázquez & Jorgelina C. Altamirano (2020). Enzymatic Digestion Coupled to Surfactant-Assisted Dispersive Liquid-Liquid Microextraction: A Mild Approach for Determining Polybrominated Diphenyl Ethers in Human Hair Sample. *ChemistrySelect*, 5(7), 2179-2184. <https://doi.org/10.1002/slct.201904795>.

- Artículo del grupo de trabajo pendiente de envío para su publicación:

Sabrina B. Mammana, **Emilia C. Abraham**, Juan M. Ríos, María F. Ruggeri, Adrián Covaci & Jorgelina C. Altamirano. First report of phosphate flame retardants, plasticizers, and their metabolites in wastewater treatment plants from Argentina: occurrence and levels.

- Trabajos publicados en congresos nacionales e internacionales:

Emilia del C. Abraham; José A. D'Angelo; Jorgelina C. Altamirano. Optimización quimiométrica de un método de desmineralización de sedimentos para análisis de materia orgánica por FTIR. Argentina. Corrientes. 2021. XI Congreso Argentino de Química Analítica. ISBN: 978-987-88-5110-5.

Emilia C. Abraham; Facundo Marquesini; José A. D'Angelo; Jorgelina C. Altamirano. Estudio de asociación entre éteres difenilo polibromados y las características químicas de la materia orgánica de sedimentos basado en análisis estadísticos multivariados. Argentina. San Luis. 2021. Jornadas Internacionales de Conocimiento Científico y Técnico. ISBN 978-987-688-492-1.

E. C. Abraham; J. A. D'Angelo; J. C. Altamirano. Preparación de muestras de sedimentos con alto contenido de silicatos para análisis de materia orgánica por FTIR. Argentina. Santa Rosa. 2019. 10º Congreso Argentino de Química Analítica. Universidad Nacional de La Pampa. ISBN: 978-950-863-375-0.

Abraham, E. C.; D'Angelo, J. A.; Lascalea, G. E.; Altamirano, J. C. Combinación de espectroscopía de infrarrojo y quimiometría para el seguimiento de la purificación de xilol usado en técnicas histológicas. Argentina. Río Cuarto. 2017. Congreso. 9º Congreso Argentino de Química Analítica. Universidad Nacional de Río Cuarto. ISBN: 978-987-688-238-5.

Abraham, Emilia del C.; D'Angelo, José A.; Lascalea, Gustavo E.; Altamirano, Jorgelina C. Purificación de xilol usado en técnicas histológicas. Seguimiento del proceso por espectrometría de infrarrojo y análisis estadístico multivariado. Argentina. Mendoza. 2017. Congreso Internacional Aguas, Ambiente y Energía ¿Uso o conservación de los recursos? Universidad Nacional de Cuyo y Asociación de Universidades Grupo Montevideo. ISBN: 978-987-575-171-2.

A continuación se incluye el código QR del CV de la tesista:

