

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS



**“CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE MUESTRAS
DE SEDIMENTOS DE LA CUENCA DEL RÍO MENDOZA.
DETERMINACIÓN DE ÉTERES BIFENILOS POLIBROMADOS”.**

**Seminario de investigación presentado por la alumna
María Eugenia Sosa para optar al grado de
Licenciada en Ciencias Básicas
Orientación Química.**

Director: Dr. José Alejandro D'Angelo
Co-Directora: Dra. Jorgelina Cecilia Altamirano

-2010-

A mi esposo Fabián.

A mis corazoncitos Joaquín y Constanza.

A mis padres Hugo y Norma.

PRÓLOGO

El presente trabajo de investigación fue realizado en el Grupo de Investigación y Desarrollo en Química Analítica (QUIANID) del Laboratorio de Investigaciones y Servicios Ambientales de Mendoza (LISAMEN - CCT-CONICET, Mendoza, Argentina), en el cual se contó con las siguientes prestaciones de infraestructura, equipamiento de mediana y alta complejidad, y material general de laboratorio. Entre el instrumental empleado se incluyen: Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (GC-MS) con Trampa de Iones (marca Varian, modelos GC3900 y Saturn 2100D) y sistema de ionización por impacto electrónico; además de instrumental de mediana complejidad tal como pH-metro, conductímetro, baño ultrasónico, mufla, estufa, destiladores, etc.

Además se contó con la ayuda del Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, en el cual se pudo disponer del Espectrómetro de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) (marca Perkin Elmer, modelo Spectrum BX) y la prensa para la preparación de muestras.

Los resultados presentados en este trabajo son parte de las actividades que se están llevando a cabo dentro del marco de los proyectos “Investigación y monitoreo de retardadores de fuego bromados como contaminantes peligrosos emergentes en el ambiente de la Republica Argentina”; PICT 33776 (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica) y “Determinación de contaminantes persistentes en ambiente y alimentos”, 2009-2010, ambos bajo la dirección de la Dra. Jorgelina Altamirano.

El presente trabajo se enfoca en la caracterización química de sedimentos de la cuenca del Rio Mendoza y su correlación con el contenido de compuestos retardadores de fuego polibromados (BFR), específicamente éteres bifenilos policromados (PBDEs). El estudio de este tipo de contaminantes en el ambiente argentino es de interés nacional e internacional por su amplio grado de distribución y acumulación, sumado a su potencial toxico para el ambiente y la población en general. Sin embargo, existen pocos antecedentes sobre el estudio de BFRs en el ambiente, alimentos y población encontrados en el territorio nacional. En este sentido, el trabajo aquí presentado es una contribución a los estudios de monitoreo ambiental llevado a cabo por el QUIANID.

AGRADECIMIENTOS

Después de tantos años, de tantos aplazamientos y de tantos esfuerzos he llegado a concluir una nueva etapa de mi vida. Para ello tuve la ayuda de muchas personas que estuvieron presentes en este camino, a quienes quiero agradecer las horas que me dedicaron, los conocimientos que afianzaron en mí, las palabras de aliento y de confianza, la ayuda incondicional y los abrazos cuando flaqueaba.

*En primer lugar quiero agradecer a mis directores de tesis **Dra. Jorgelina Altamirano** y **Dr. José D'Ángelo** por el tiempo y esfuerzo puesto en este trabajo, por compartir sus conocimientos, por el apoyo y la amistad que me brindaron; además por confiar en mí y darme la oportunidad de realizar este trabajo junto a ellos.*

*A todo el personal del Laboratorio de Investigación y Servicios Ambientales Mendoza (**LISAMEN-CCT-CONICET**) por darme la oportunidad, el apoyo y por haber puesto todo a mi disposición para la realización de este trabajo, especialmente a la **Lic. Belén Lana** y a la **Bqca Paula Bertón** por su ayuda técnica en todo momento, las horas de cátedras dadas con tanto desinterés, por compartir tan hermosos momentos en el laboratorio, por los mates y los almuerzos.*

*A mi esposo el **Lic. Fabián Puchol** por alentarme a hacer lo que tanto me gusta, estudiar, por desvelarse conmigo cuando tenía que estudiar, por hacerse cargo de las cosas de casa, por haberme ayudado en algunas ocasiones a empujar el “carrito” cuando se ponía pesado y por no haberme soltado la mano.*

*A mis hijos **Joaquín** y **Constanza** porque me permitieron que les quitara “sus horas conmigo” para poder estudiar, porque entendieron que lo que mamá hacía era bueno para los cuatro, por no reclamarme nada y ayudarme en todo.*

*A mis padres, **Hugo** y **Norma**, por su fiel y total apoyo, por su confianza en mí, porque cuidaron de mis hijos cuando estaba en la facultad, sin ellos no habría podido llegar hasta aquí.*

*A mi gran amigo **David Flores** por enseñarme que hay que ser paciente para llegar a la meta, por contagiarme su optimismo, por tan solo ESTAR.*

*A todos mis compañeros del ICB que me dieron un lugar junto a ellos como una más del grupo, especialmente **Nancy, Melisa, Alejandro y Andrea**, en quienes pude confiar y de los que recibí un cariño impagable.*

*A todos los profesores del **Instituto de Ciencias Básicas** por responder a todas mis inquietudes.*

*A **Claudia y Gabriela** del área de alumnos de **Instituto de Ciencias Básicas** por recibir todas mis preguntas a las que siempre les encontraron una respuesta favorable.*

María Eugenia Sosa

INDICE**CAPITULO I****1. CONSIDERACIONES GENERALES**

1.1. Retardantes de llama bromados	8
1.2. Éteres bifenilos polibromados (PBDEs)	10
1.2.1. Producción mundial	11
1.2.2. Emisiones al ambiente durante la producción y uso del producto	12
1.3. Estudios toxicológicos	14
1.3.1. Rutas de exposición	14
1.3.2. Datos toxicológicos	14
1.3.2.1. Toxicidad Fetal	17
1.3.2.2. Perspectivas futuras y legislación	18
1.4. Hipótesis de trabajo y justificación	19
1.5. Objetivos	19
1.5.1. Objetivos generales	19
1.5.2. Objetivos específicos	20
1.6. Área de estudio y muestreo	20
1.6.1. Cuenca del Río Mendoza	20
1.6.2. Embalse El Carrizal	21

CAPITULO II**2. MATERIALES Y METODOS**

2.1. Técnicas de análisis químico	23
2.1.1. Determinación de conductividad y pH	23
2.1.2. Determinación de materia orgánica en suelos	24
2.1.2.1. Descomposición en Horno-Mufla	24
2.1.2.2. Método de Walkey-Black	26
2.2. Técnicas instrumentales	28
2.2.1. Equipo de extracción Soxhlet	28
2.2.1.1. Descripción del Equipo	29
2.2.1.2. Operación de Extracción por medio de Soxhlet	29
2.2.2. Cromatografía GC-MS/MS	30

2.2.2.1. Descripción del equipo	31
2.2.3. Espectrometría de Infrarrojo	33
2.2.3.1. Espectrometría de Infrarrojo por Transformada de Fourier	34
2.2.4. Método multivariado de datos mediante análisis de componentes principales (PCA)	36
 CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1. Determinación de materia orgánica por el método Horno-Mufla	37
3.2. Determinación de materia orgánica por el método Walkley- Black	38
3.3. Determinación de PBDEs mediante el análisis por GC-MS/MS	39
3.4. Resultados de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier	42
3.5. Análisis multivariado de datos mediante análisis de componentes principales (PCA)	44
3.6. Discusión general	49
 CAPITULO IV	
4. CONCLUSIÓN GENERAL	51
 CAPITULO V	
5. BIBLIOGRAFIA	52

CAPÍTULO I

1. CONSIDERACIONES GENERALES

1.1. Retardantes de llama bromados

Los retardantes de llama son sustancias químicas que son incorporadas en la masa polimérica de plásticos y textiles, los cuales son empleados en circuitos eléctricos, carcasas de computadoras y televisores, muebles, materiales de construcción, alfombras, partes de vehículos, etc. Su función es reducir la inflamabilidad de un material o demorar la propagación de las llamas a lo largo y a través de su superficie, capturando radicales libres en las reacciones de combustión⁽¹⁾. Los productos que contienen retardantes de llama se encuentran distribuidos ampliamente en locales y edificios públicos, tales como: oficinas y centros de trabajo; en teatros, cines, y otros centros recreativos; así como en aeropuertos, hoteles, hospitales, escuelas, etc. De igual forma, se encuentran presentes en el hogar en productos como las alfombras, telas de tapicería y cortinas; en recubrimientos, elementos de construcción, muebles de procedencia industrial y en una multitud de electrodomésticos.

Los retardantes de llama se han considerado durante mucho tiempo como altamente benéficos para los consumidores y el público en general dado que, al reducir la inflamabilidad de los productos, han abatido la tasa de incendios y accidentes menores. En los casos inevitables de siniestro actúan reduciendo la agresividad de las llamas, su velocidad de propagación y la producción de humos y gases de combustión, minimizando así la pérdida de vidas y los costos económicos. Sin embargo, recientemente estos compuestos han recibido una atención diferente, ya que varias investigaciones han comenzado a advertir sobre sus propiedades tóxicas para la salud.

Hay varias clases de retardantes de llama incluyendo:

- ✚ **Hidrocarburos halogenados:** compuestos que contienen cloro y bromo.
- ✚ **Retardantes de llama inorgánicos:** compuestos de boro, óxido de antimonio, hidróxido de aluminio, compuestos de molibdeno, óxidos de zinc y de magnesio.
- ✚ **Compuestos que contienen fósforo:** ésteres de fosfatos orgánicos, fosfatos, compuestos halogenados de fósforo y sales inorgánicas que contienen fósforo.

Dentro de los hidrocarburos halogenados encontramos sustancias que contienen bromo como los polibromodifeniléteres (PBDE, Fig. 1), tetrabromobisfenol A (TBBPA, Fig. 2), el hexabromociclododecano (HBCD, Fig. 3), y bifenilos polibromados (PBB, Fig. 4).

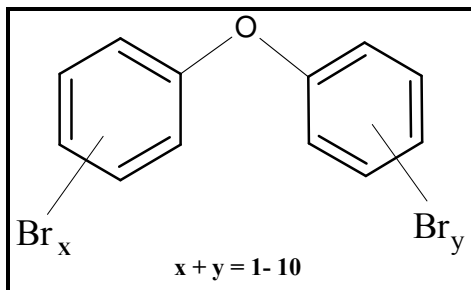


Fig. 1: Polibromodifenil éteres (PBDEs)

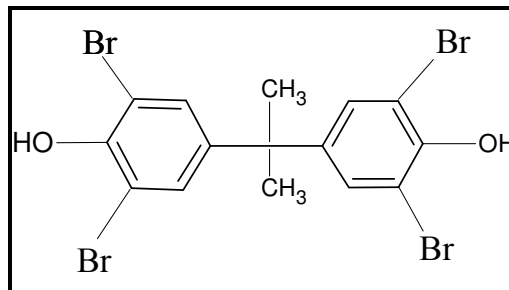


Fig. 2: Tetrabromobisfenol A (TBBPA)

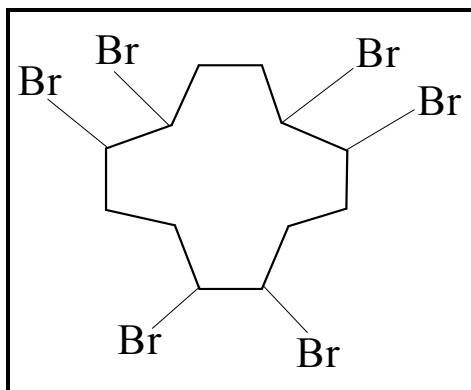


Fig. 3: Hexabromociclododecano (HBCD)

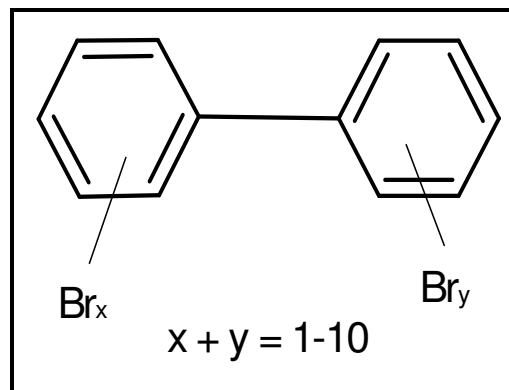


Fig. 4: Bifenilos Polibromados (PBB)

En general, éstos Retardantes de Llama se pueden clasificar en compuestos “aditivos” y “reactivos”. Por un lado, los aditivos (como PBDEs, PBBs, HBCD) son agregados y mezclados con la masa polimérica no siendo ligados a la estructura química del polímero, por lo tanto, pueden migrar dentro de la matriz sólida y lixiviarse desde la superficie de los productos durante su ciclo de vida y posterior disposición. Una vez liberados al ambiente, estos tienden a adherirse a las partículas atmosféricas en suspensión siendo transportados a lo largo de extensas distancias. En este sentido, los BFRs son ampliamente dispersados en el ambiente convirtiéndose en contaminantes ubicuos. Adicionalmente, dado sus propiedades físico-químicas (no-polares), los mismos tienden a acumularse en materiales sedimentarios y tejidos adiposos de organismos vivos. Asimismo se ha reportado que pueden bioacumularse en la sangre, en la leche materna y en tejidos grasos del hombre. Los PBDEs se incluyen dentro de los BFRs aditivos. El PBDE comercial se utiliza exclusivamente como aditivo en una mezcla física con el polímero. Por otro lado, los BFRs reactivos (como TBBPA) se unen covalentemente a la estructura polimérica y por tanto no son liberados al medio tan fácilmente como los aditivos. Además, los reactivos son no-polares y muestran un metabolismo mucho más rápido debido a sus grupos HO^- presentes en la estructura.

Uno de los motivos por los cuales los retardantes de llama han captado gran atención en los últimos años es debido al alarmante incremento de los niveles de estos compuestos en

el ambiente y en particular en organismos vivientes incluso en humanos. Otra razón por la cual se ha incrementado la preocupación por la presencia de los retardantes de llama en el ambiente, se relaciona con datos toxicológicos reveladores los cuales demuestran los serios efectos sobre la salud provocados por este tipo de compuesto.

1.2. Éteres bifenilos polibromados (PBDEs)

Los PBDEs son sustancias químicas sintéticas que han sido ampliamente utilizados como retardantes de llama. Estructuralmente, estas sustancias consisten en dos anillos bencénicos unidos por un oxígeno a través de enlace éter, y con el resto de las posiciones, 1-10, ocupadas total o parcialmente por átomos de bromo. Los PBDEs con 1 y 2 átomos de bromo son líquidos viscosos, los que tienen tres o más átomos de bromo son sólidos con bajas presiones de vapor e insolubles en agua por su carácter apolar. En la Tabla 1 se muestran algunos congéneres e isómeros de PBDEs^(2,3) y en la Tabla 2 las propiedades fisico-químicas⁽⁴⁾ de cinco PBDEs en estudio:

Grupo	Átomos de Bromo	Isómeros	Ejemplo
MonoBDE	1	3	BDE-2
DiBDE	2	12	BDE-7
TriBDE	3	24	BDE-17
TetraBDE	4	42	BDE-47
PentaBDE	5	46	BDE-99, BDE-100
HexaBDE	6	42	BDE-153, BDE-154
HeptaBDE	7	24	BDE-183
OctaBDE	8	12	BDE-203
NonaBDE	9	3	BDE-207
DecaBDE	10	1	BDE-209
Total		209	

Tabla 1: Congéneres e isómeros de PBDEs.

Congéneres	Fórmula química	P.M. (g/mol)	Presión de vapor (Pa)	Log k_{ow}
TetraBDE	$C_{12}H_6OBr_4$	485,8	$2,6-3,3 \times E^{-4}$, 25°C	5,9-6,2
PentaBDE	$C_{12}H_5OBr_5$	564,8	$2,9-7,3 \times E^{-5}$, 25°C	6,5-7,0
HexaBDE	$C_{12}H_4OBr_6$	643,6	$4,2-9,4 \times E^{-6}$, 25°C	6,9-7,9
OctaBDE	$C_{12}H_2OBr_8$	801,5	$1,2-2,7 \times E^{-7}$, 25°C	8,4-8,9
DecaBDE	$C_{12}OBr_{10}$	959,2	$< 1 \times E^{-4}$, 20°C	10

Tabla 2: Propiedades fisico-químicas de los cinco congéneres de PBDEs en estudio.

1.2.1. Producción Mundial

Los éteres bifenilicos polibromados, PBDEs, están entre los más efectivos y económicos retardantes de llama, especialmente aquellos que se emplean como aditivos en las formulaciones de plásticos. A mediados de los años '90, los compuestos bromados representaban hasta un 25% de la producción mundial de retardantes de llama, estimada en 600.000 ton/año. En el 2001 se estimó la demanda mundial de PBDEs en casi 70.000 ton, de las cuales el DecaBDE representó aproximadamente el 80% del total del mercado⁽⁵⁾, con un consumo aproximado del 50% en E.E.U.U., y del 12% en Europa⁽⁶⁾.

Las informaciones más recientes sobre la demanda total de PBDE comercial en el mercado, presentadas en el Foro Científico y Ambiental del Bromo, permiten afirmar que desde 1970 se ha utilizado un total acumulado estimado de 100.000 ton de PBDE. La demanda total del mercado disminuyó entre los años 1999 y 2001 (Tabla 3):

Año	América	Europa	Asia	Resto del mundo	Total
1999	8.290	210	-	-	8.500
2001	7.100	150	150	100	7.500

Tabla 3: Estimaciones del volumen de pentaBDE comercial: demanda total del mercado por región, en toneladas métricas (BSEF, 2001).

Estas cifras deben considerarse en el contexto de la demanda global de piroretardantes polibromados de todo tipo, que supera ampliamente la demanda comercial de PBDE. Los consumos totales mundiales⁽⁷⁾ de PBDE se pueden ver en la Tabla 4:

CONSUMOS TOTALES MUNDIALES	
AÑO	TONELADAS METRICAS
1999	204.325
2001	203.740
2002	237.727
2003	223.482

Tabla 4: Consumos mundiales en toneladas métricas.

Algunas mezclas comerciales de PBDEs son conocidas por sus nombres registrados, como DE-60F Special, DE-61, DE-62, DE-71, DE-79, DE-83R, Saytex® 102E⁽⁸⁾. Existen

dos fabricantes principales de PBDE en el mundo: Great Lakes Chemical en Estados Unidos y Dead Sea Bromine en Israel. Otras compañías incluyen Riedel de Haen (de Hoechst Group), Ceca (ATOCHEM), Potasse et Produit Chimiques (Rhone Poulenc Group) en Francia, Warwick Chemicals (UK), Albemarle S.A. (Belgium) así como Nippo y Tosoh & Matsunaga, estas últimas de Japón⁽⁹⁾.

1.2.2. Emisiones al ambiente durante la producción y el uso del producto

La síntesis de PBDE implica una bromación de éter bifenilo mediante su bromación con bromo elemental en presencia de un catalizador Friedel-Craft de hierro en polvo. Los productores de PBDE han informado de que las principales rutas de emanación de este producto hacia el medio son los desechos del filtro y el material rechazado que van a parar ambos a vertederos. También se puede liberar PBDE en las aguas residuales a partir de soluciones detergentes utilizadas⁽¹⁰⁾.

Los PBDEs se liberan durante el proceso de fabricación, en la manufactura de productos, durante la vida útil del producto y después que se descarta. La mayor parte del PBDE se libera en la forma de contaminación difusa durante la vida útil de artículos que incorporan el producto comercial y como contaminación de pequeña escala en la fuente emisora de la cadena de manejo de los desechos de productos finales.

Según la evaluación del riesgo del PBDE realizada por la Unión Europea (UE), se estima que ocurran emisiones en la producción de poliuretano antes del proceso de espumado, cuando se manipulan los aditivos (descargas en el agua) y durante la curación (emisiones a la atmósfera). La liberación al aire puede tener lugar durante la fase de curado en la producción de espuma. Durante esta fase, la espuma permanece a temperaturas elevadas por varias horas, según el tamaño del bloque fabricado. Se estima que la emisión al aire en esta etapa es de 1 kg /ton de PBDE utilizado, pero aparentemente una parte del PBDE volatilizado se condensa en la sala de producción y va a parar al agua residual. En la evaluación de riesgo llevada a cabo por la UE, se llega a la conclusión de que de este modo se liberan 0,6 kg de PBDE al aire por cada tonelada métrica de PBDE utilizada en la producción comercial de espuma de poliuretano⁽¹¹⁾. En la evaluación de riesgo de la UE, se estimó que cada año se liberaba aproximadamente 3,9 % del PBDE presente en los productos mediante volatilización durante la vida útil hipotética de 10 años. En el año 2005 Wilford, Shoeib y Harner⁽¹²⁾, condujeron experimentos en cámara controlada en los que se hacía pasar aire a través de muestras de productos de espuma tratados con PBDE (con un contenido del 12% de PBDE). Observaron que éstos se volatilizaban de la espuma de

poliuretano en niveles considerables siendo el promedio 500 ng de PBDE/g total de espuma. Las cantidades indicadas en la Tabla 5 y la tasa de pérdida del 3,9%, permiten calcular que, cada año, entre 585 y 1.053 ton de PBDE ingresan al ambiente de esta forma.

Producción de espuma de poliuretano	Cantidad De PeBDE	Liberación de PeBDE en aguas residuales	Emisiones de PeBDE a la atmósfera durante la producción
150.000 toneladas métricas/año	15.000 a 27.000 toneladas métricas/año	9.000 a 16.200 kg/año	7.500 a 13.500 kg/año

Tabla 5: Producción comercial y uso de PBDE en la producción de espuma de poliuretano en todo el mundo y cálculo de las emisiones conexas en 2000 (espuma con un contenido de 10 a 18% de PBDE).

En otros estudios realizados por Hale, La Guardia, Harvey y Mainor⁽¹³⁾, se demostró que la espuma de poliuretano tratada con pirorretardantes, expuesta a la luz solar directa y a las condiciones climáticas habituales del verano en Virginia, con temperaturas de entre 30 y 35°C y una humedad del 80% o más, se tornaba quebradiza y mostraba indicios de desintegrarse en un plazo de cuatro semanas. Los autores plantean que las pequeñas partículas de espuma de baja densidad resultantes podrían ser fácilmente transportable por la evacuación del agua de lluvia o las corrientes de aire. Esos procesos de degradación pueden constituir una ruta de exposición a los organismos mediante inhalación o ingestión de las partículas de espuma y de poliuretano con PBDE.

Dado el uso de PBDE en artículos de uso doméstico, tales como muebles, alfombras y electrodomésticos; diversos estudios han examinado la exposición al polvo del aire con contenido de PBDE en ambientes interiores. Otros estudios⁽¹⁴⁾ han dado a conocer los resultados de un estudio llevado a cabo en el área metropolitana de Washington, D.C., y en un hogar en Charleston, Carolina del Sur. Las concentraciones de PBDE en el polvo de 16 hogares variaron de 780 ng/g de masa seca hasta 30.100 ng/g de masa seca. Predominaban los congéneres del pentaBDE y el decaBDE comerciales. Se estimó que los niños entre 1 y 4 años ingerirían de 120 a 6.000 ng/día de PBDE. En cinco de los hogares se analizó también la pelusa de las secadoras de ropa, donde se encontraron concentraciones de PBDE de 480 a 3.080 ng/g de masa seca. Estos datos revelaron que la exposición es mayor que la registrada en Europa; los investigadores atribuyen este hecho a que la mayoría de los mercados de PBDE están en los E.E.U.U.

También hay emisiones producto de la erosión, desgaste, lixiviación y volatilización al final de la vida útil de los productos, durante las operaciones de eliminación o reciclado (desmantelamiento, trituración u otro tipo de manipulación de desechos, transporte y

almacenamiento, por ejemplo). Se calcula que las emisiones anuales en la región de la UE durante el ciclo de vida de los productos de poliuretano se distribuyen entre los distintos compartimientos del siguiente modo: 75% al suelo, 24,9% a aguas superficiales y 0,1% al aire (UE 2000).

1.3. Estudios toxicológicos

1.3.1. Rutas de exposición

Los PBDEs son lixiviados al ambiente y adheridos al material particulado atmosférico, el cual se convierte en vehículo de transporte alcanzando las aguas residuales de las viviendas y fábricas, cuyos residuos se depositan en los lodos de las plantas de tratamiento de aguas negras. En el ambiente, los PBDEs entran a la cadena alimentaria y se acumulan en la grasa del ganado y peces. Las rutas de exposición más comunes en seres humanos son el consumo de comida contaminada (carnes, pescado, productos lácteos, etc.) o respirar aire contaminado en el interior de casas o edificios. Los infantes pueden estar expuestos a los PBDEs a través de la leche materna contaminada y el polvo doméstico. Durante el desarrollo fetal, los PBDEs atraviesan la placenta con facilidad. Ésta puede ser la más importante ruta de exposición en términos de salud pública, por los potenciales efectos sobre los periodos críticos del desarrollo cerebral. Numerosos estudios muestran que los niveles encontrados en el feto, la placenta y la sangre materna son muy parecidos, con menos de un 2% de diferencia.

1.3.2. Datos toxicológicos

Los estudios toxicológicos han demostrado la toxicidad para la reproducción, el desarrollo neurológico y sus efectos en la tiroides de organismos acuáticos y mamíferos. Son evidentes sus posibles efectos tóxicos en la fauna silvestres, incluidos los mamíferos.

Muestras de leche humana de Suecia, Japón, Canadá y E.E.U.U. fueron comparadas, encontrándose diferencias en los niveles promedio de Suecia y Japón, de 3,2 y 1,4 ng/g lípido, respectivamente⁽¹⁵⁾, con los de Canadá y E.E.U.U. que son de 25 y 41 ng/g lípido, respectivamente⁽¹⁶⁾. La tendencia temporal de los PBDEs indica un aumento en los niveles en E.E.U.U., ya que existen reportes de niveles de PBDEs en sangre en los E.E.U.U. que oscilan entre 15 y 580 ng/g lípido y éstos son 50 veces mayores a los reportados en Europa y Japón, los cuales son de 0,3 ng/g lípido y 12 ng/g lípido, respectivamente^(15,16).

Como puede verse en la Fig. 5, en el plasma de mujeres mexicanas se encontraron los mayores niveles de PBDEs, 29,1 ng/g lípido, siguiéndoles los de leche materna en mujeres suecas, 5,2 ng/g lípido y finalmente los de leche materna en mujeres mexicanas, 4,4 ng/g lípido⁽¹⁷⁾.

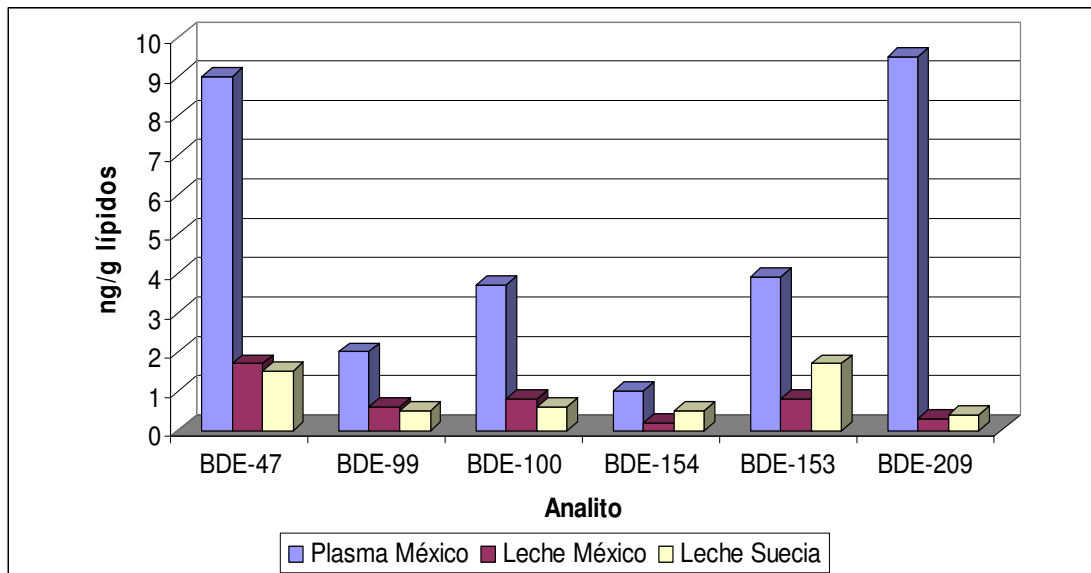


Fig. 5: Perfiles de niveles promedio de los congéneres de PBDEs en plasma leche de mujeres mexicanas, y leche de madres suecas.

Los resultados obtenidos en sangre muestran que el BDE-209 obtuvo la mayor concentración que el resto de los congéneres, siendo este valor de 9,5 ng/g lípido. Con respecto a los valores que se obtuvieron en leche materna, el BDE-47 presenta los mayores niveles en México, 1,7 ng/g lípido, en tanto para Suecia los más significativos fueron 1,7 ng/g lípido de BDE-153 y 1,5 ng/g lípido de BDE-47.

El metabolismo de los PBDE consta de reacciones de hidroxilación y metoxilación, y debrominación oxidativa en el caso de los congéneres que tienen un grado más alto de brominación. Por lo general, la eliminación suele realizarse a través de la excreción fecal, sin embargo, existen diferencias entre las especies. Hay datos limitados sobre la vida media de los PBDE, pero los valores preliminares oscilaban entre 30 y 90 días en el caso de los congéneres de Tetra a Hexa sustituidos.

Los datos existentes sugieren que los congéneres de PBDE más bajos (Tetra a Hexa) pueden ser carcinógenos, tóxicos para el desarrollo neuronal y perturbadores endocrinos. Los estudios en ratas con C-PeBDE, mezcla comercial, indican una baja toxicidad aguda por exposición vía oral y dérmica, con valores de DL50 mayores a 2.000 mg/kg peso corporal. En un estudio de 30 días en ratas, se observaron efectos hepáticos con dosis de 2 mg/kg pc/día, y un nivel de efectos no observables (NOEL) de 1mg/kg pc/día. También se ha

estudiado la toxicidad para la *Daphnia magna*⁽¹⁸⁾, crustáceo planctónico conocido vulgarmente como pulga de agua, y se ha observado una CL50 de 14 µg/l con una concentración de efectos no observables (NOEC) de 4,9 µg/l. Aunque los datos sobre toxicología son limitados, los PBDE pueden tener características de perturbación endocrina y los efectos de la exposición en la salud humana son motivo de preocupación⁽¹⁹⁻²²⁾. La mayoría de los efectos en animales han sido observados a niveles de exposición muy altos. Entre los efectos más comunes reportados se incluyen los siguientes⁽²³⁾:

- ✚ **Efectos neurológicos** – Exposiciones a edad temprana causaron hiperactividad en ratas adultas y en ratones.
- ✚ **Efectos sobre la hormona de la tiroides** – Perjudicó el desarrollo del cerebro y la capacidad para aprender.
- ✚ **Efectos en desarrollo** – Malformaciones óseas fueron identificadas en la segunda generación de ratas expuestas a PBDEs.
- ✚ **Reproducción** – Disminución en la función de los espermatozoides en ratones expuestos a deca-BDE. También se observaron cambios estructurales en los ovarios de ratas tratadas con PBDE.
- ✚ **Cáncer** – Se detectaron tumores en el hígado de ratas expuestas a altos niveles de deca-BDE.

Los resultados de casi todas las pruebas de genotoxicidad⁽²⁴⁾ indicaron que los compuestos de PBDE y los congéneres únicos no son genotóxicos. El único estudio de largo plazo se realizó con el compuesto de decaBDE en ratones y ratas, pero los datos de carcinogénesis de los decaBDE son limitados. A conocimiento de la tesista, no hay información sobre el potencial carcinogénico de otros congéneres de PBDE. Algunos datos de toxicidad pueden confundirse por la presencia de residuos de impurezas (como dioxinas) que son agonistas de los receptores Ah⁽²⁵⁾.

La neurotoxicidad de los PBDE se debe a las acciones indirectas sobre el eje hormonal tiroideo y por acciones directas en los mecanismos de señalización y crecimiento cerebral. Las agresiones del sistema nervioso central (SNC) desde la octava semana de gestación hasta los dos años de vida son determinantes y capaces de provocar alteraciones en la inteligencia y en las habilidades psicomotoras⁽²⁶⁻²⁹⁾. Los PBDE alteran la función tiroidea por dos mecanismos: al igual que las dioxinas, pueden activar las enzimas que disminuyen los niveles de hormonas tiroideas, o a través de enzimas de detoxificación (hidroxilación)

que convierten PBDEs en metabolitos estructuralmente parecidos con las hormonas tiroideas⁽³⁰⁾. Estos metabolitos se unen a la proteína transportadora de tiroxina, alterando la función apropiada del sistema tiroideo. Como resultado de estos procesos, la exposición de PBDE produce disminución de los niveles de hormona tiroidea y cambios físicos glandulares. Estos efectos son sinérgicos con los PCB (Bifenilos Policlorados) y dioxinas sobre las hormonas tiroideas⁽³¹⁾.

1.3.2.1. Toxicidad fetal

El periodo de máximo crecimiento del SNC va desde el tercer trimestre de gestación a los dos primeros años de vida, y está bajo una influencia determinante del sistema hormonal tiroideo^(32,33). Informes sugieren que la molécula de PBDE imita a las hormonas tiroideas y se une a la proteína transportadora de hormona tiroidea para alcanzar el cerebro fetal y concentrarse⁽³⁴⁾. Ratones expuestos a PBDE presentan desde el nacimiento alteraciones en el aprendizaje y problemas motores que empeoran con el envejecimiento; un efecto similar a lo visto con los PCB⁽³⁵⁻³⁹⁾. En estudios de laboratorio, una sola dosis oral de 0,8 mg de PBDE / kg peso corporal, en el décimo día de vida, que equivaldría al momento de máximo crecimiento cerebral humano, sería capaz de provocar alteraciones en los impulsos nerviosos y daños de la función celular con alteraciones en los sistemas de comunicación interneuronal⁽⁴⁰⁾.

Hasta la fecha, los efectos de los PBDE en el desarrollo neuronal sólo se han visto en animales. Sin embargo, los datos de exposición humana se acercan mucho a los datos que provocan lesión cerebral en ratones. Aunque se carece de datos sobre la afectación neurológica en humanos: a) no se ha encontrado un «nivel seguro» en los estudios experimentales; b) los efectos de los PBDE pueden ser aditivos a los de los PCB; c) el cerebro humano es mucho más sofisticado que el de los ratones, por lo que pequeñas exposiciones en poblaciones susceptibles podrían ser muy importantes; d) existe un intervalo de variabilidad amplio (factor 50) de la carga de PBDE en la población, por lo que hay un segmento poblacional con una exposición en sus tejidos muy importante. En otras palabras, niños en el intervalo superior de exposición están en niveles muy similares a los que en ratones causan alteraciones neurológicas en el desarrollo. Actualmente, existe un gran interés científico por mejorar el conocimiento de los efectos neurotóxicos de estos productos.

Un equipo de investigadores daneses y finlandeses procedió a estudiar las posibles asociaciones entre los contenidos de PBDEs y la incidencia en la criptorquidia^(41,42), una

anomalía del desarrollo genital que hace que los testículos no desciendan debidamente de la cavidad abdominal hacia la bolsa escrotal. La investigación se basó en analizar la presencia de 14 PBDEs en placentas y en leche materna. Se encontró una clara asociación entre las concentraciones de PDBEs en la leche materna, tomada como indicadora de la carga de estas sustancias en general en el cuerpo de las madres, y la criptorquidia. En mujeres norteamericanas y sus respectivos hijos se han encontrado altos niveles de concentración de PBDEs (concentraciones de 580 ppb) y se comprobó que dichas concentraciones se duplican cada dos a cinco años. Los norteamericanos llevan en su sangre, leche materna y tejidos un contenido de PBDE de 10 a 70 veces mayor que los europeos.

1.3.2.2. Perspectivas futuras y legislación

Para evitar el uso de PBDEs se han desarrollado otros compuestos, que cumplen con la misma función, pero se espera que no sean tan tóxicos como los anteriores. Algunas industrias de electrónica están comenzando a utilizar estos químicos, que se suponen, libres de toxicidad y además, están investigando la posibilidad de sustituir el uso del plástico, que evitaría utilizar estos toxiquímicos retardantes de llama.

El esparcimiento global de la contaminación por PBDE tendría que impulsar la implementación de medidas precautorias. Hace algunos años, se sabía mucho menos sobre PCB de lo que se sabe hoy en día sobre PBDEs; sin embargo, no se ha aprendido de las consecuencias originadas por los PCBs y se sigue permitiendo el uso de los PBDEs. Estas sustancias se usan como productos ignífugos pero están restringidas en la UE y a nivel mundial, por la Convención de Estocolmo, desde 2003. La restricción comunitaria se aplica a todos los congéneres del pentaBDE y el octaBDE y, por tanto, tiene un alcance más amplio que las formas comerciales específicas de las dos sustancias. El Consejo Estatal de Concertación para la Obra Pública (CECOP) concluía que era probable que todos los PBDE con cuatro o cinco átomos de bromo y todos los éteres de polibromodifenilo (PBDE) con seis o siete átomos de bromo presentes en los pentaBDE y octaBDE comerciales provocasen efectos perjudiciales en la salud humana y el ambiente, debido a las características de sus componentes y a consecuencia del transporte ambiental a larga distancia. Por lo tanto, el CECOP recomendaba la inclusión de todos esos congéneres en el anexo A de la Convención⁽⁴³⁾. La legislación comunitaria no es idéntica a las normas propuestas a nivel internacional, pero la Comisión ha valorado que, en la práctica, la incorporación de los PBDE con entre cuatro y siete átomos de bromo al anexo I del Reglamento de los Contaminantes Orgánicos Persistentes no modificará las restricciones ya existentes. Sin

embargo, las actuales restricciones sólo se aplican a la salida al mercado y, por tanto, no restringen la producción de estas sustancias, que puede tener lugar con miras a su exportación fuera de la UE.

1.4. Hipótesis de trabajo y justificación

La elevada producción y aplicación de BFRs registrada en la última década ha producido un problema de contaminación global que no sólo afecta a países altamente industrializados sino también a aquellos en desarrollo tales como la República Argentina. Dada su particular aplicación y sus propiedades físico-químicas, los BFRs se encuentran altamente distribuidos en el ambiente y son persistentes en él, con una importante y creciente capacidad de acumulación en el ambiente.

En los últimos años los datos toxicológicos han mostrado los serios efectos provocados por los retardantes de llama sobre la salud, incluyendo efectos teratógenos, genotóxicos, disrupción endocrina, neurotóxicos y cancerígenos. El uso de retardantes de llama bromados ha sido prohibido en Europa, y en E.E.U.U. está en vías de instrumentar dicha reglamentación, mientras que Argentina no registra antecedentes de estudios relacionados con la presencia y/o toxicidad de estos compuestos.

Cabe destacar que si bien los estudios actuales relacionan la presencia de BFRs con países altamente industrializados, estos contaminantes no son exclusivos de una determinada región y pueden encontrarse en países en desarrollo como la Argentina. Por lo que es altamente probable la exposición de la población a los mismos debido a su creciente acumulación en la cadena alimenticia y el ambiente.

En este sentido, el desarrollo del presente trabajo es obtener información altamente crucial y novedosa sobre la presencia de contaminantes emergentes tales como éteres bifenilos polibromados (PBDEs) en material sedimentario de la cuenca del Río Mendoza. En particular se determinarán BDE-47, BDE-99, BDE-100, y BDE-153, los cuales son los más ampliamente estudiados en muestras ambientales.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivos generales

- ✚ Introducir al alumno en el ámbito de la investigación científica, familiarizándolo con el uso de equipamiento y sistemas de adquisición de datos. Esto permitirá estimular la creatividad e inventiva a la vez de propiciar el trabajo en equipo.

- ✚ Realizar una correcta interpretación de los resultados experimentales para obtener conclusiones sobre el sistema en estudio.
- ✚ En este trabajo el alumno hará uso de las técnicas tradicionales de análisis químico (por vía húmeda) como así también de modernas técnicas instrumentales de análisis tales como Espectrometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) y Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).
- ✚ El desarrollo del presente plan de trabajo contribuirá al estudio de relevamiento ambiental de la presencia de contaminantes emergentes, tales como compuestos bromados retardadores de fuego (BFRs).

1.5.2. Objetivos específicos

- ✚ Obtención de información cualitativa y cuantitativa a partir de análisis químicos de muestras de sedimentos de la cuenca del Río Mendoza.
- ✚ Monitoreo ambiental de PBDEs en diferentes regiones de la provincia de Mendoza, incluyendo zonas urbanas, sub-urbanas y rurales.
- ✚ Relevamiento bibliográfico del estado de contaminación de otras regiones del mundo y comparación con el estado actual de contaminación de la cuenca del Río Mendoza.

1.6. Área de estudio y muestreo

1.6.1. Cuenca del Río Mendoza

La provincia de Mendoza se localiza en el centro oeste de la República de Argentina (32 °-38 S °, 66 ° 30 ' - 70 ° 30 ' W) y tiene un área total de 150.839 km². Toda la actividad productiva y comercial se encuentra localizada en los oasis de la provincia: norte, centro y sur, los cuales constituyen un 3% del territorio provincial. El oasis norte comprende las zonas más densamente pobladas (departamento de Ciudad de Mendoza, Guaymallén, Godoy Cruz, Las Heras, Maipú y Lujan de Cuyo) con un total de 986.341 habitantes⁽⁴⁴⁾. Esta área es irrigada por el Río Mendoza, afluentes y canales de riego. El Río Mendoza realiza un recorrido de 300 km comenzando en la Cordillera de Los Andes (aproximadamente 6962 m s.n.m.) y finalizando en la Laguna de Guanacache (aproximadamente 600 m s.n.m). Tiene un caudal medio de 50,03 m³ s⁻¹ ⁽⁴⁵⁾ y es originado por la confluencia de los ríos Cuevas, Tupungato y Vacas.

El programa de muestreo de material sedimentario fue realizado en la zona media y baja de la mencionada cuenca⁽⁴⁶⁾, considerando los sitios potencialmente más afectados por actividades antrópicas e industriales. Estos sitios reciben la afluencia de desagües pluviales,

aguas servidas, descargas industriales y agrícolas de toda la gran área metropolitana. Para la toma de muestra se consideraron los cauces de ríos y canales de riego en un total de 30 estaciones (Fig. 6). En cada estación se colectaron un total de tres muestras de aproximadamente 500 g cada una, las cuales fueron almacenadas en frascos de vidrio color ámbar a 4 °C sin espacio de aire. Inmediatamente fueron trasladadas al laboratorio y conservadas a -14 °C al resguardo de la luz. En todo el proceso de recolección y manipulación de las muestras se tomaron los cuidados necesarios para reducir al mínimo la contaminación del material.

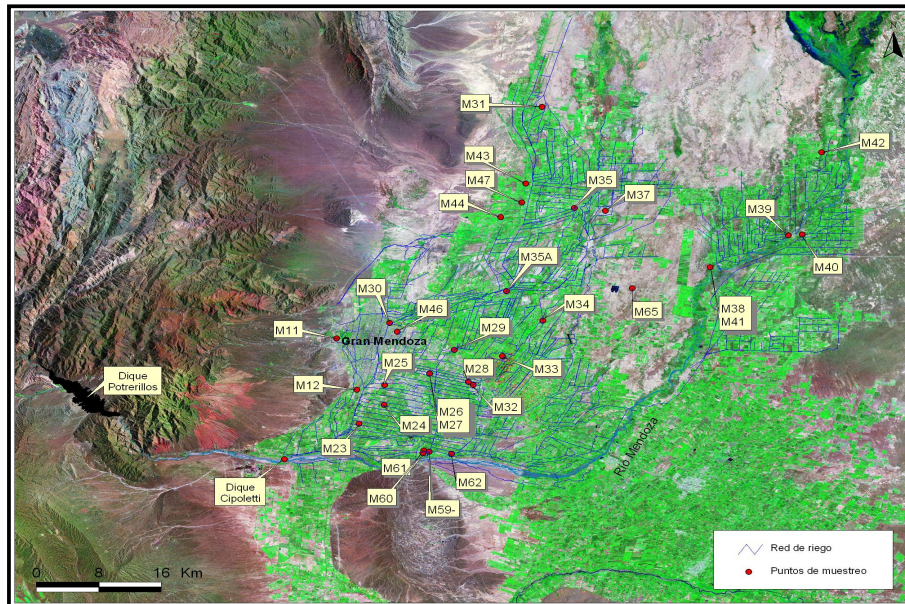


Fig. 6: Oasis Norte de la provincia de Mendoza. El Río Mendoza, ríos tributarios y red de riego se indican en el mapa. Los círculos representan los sitios de muestreo.

1.6.2. Embalse El Carrizal

El embalse El Carrizal se encuentra localizado en la Cuenca del Río Tunuyán. El espejo de agua divide dos sub-cuencas: hacia el oeste se encuentra la cuenca del Río Tunuyán Superior con un área total de 10.848 km², y hacia el este, desde el dique hasta su desembocadura en el Río Desaguadero se encuentra la cuenca del Río Tunuyán Inferior con un área total de 19.523 km². El dique es el segundo más grande de la provincia con una capacidad máxima de 344 Hm³. Fue construido con el objetivo de regularizar las aguas del Río Tunuyán y de este modo optimizar el riego de las áreas de cultivo del oasis centro de la provincia, aunque también se instaló una central hidroeléctrica para la producción de energía.

El monitoreo del material sedimentario del dique fue realizado en setiembre de 2009. Para garantizar la representatividad de los datos obtenidos se planificó y diseñó un programa

que abarcara todo el espejo, comenzando en la entrada del río (Costa Anzorena) y finalizando en la zona de presa. También se consideraron las zonas costeras, con sus correspondientes actividades turísticas y recreativas, y zona centro del embalse. En total se establecieron 17 puntos de muestreo, con un número de réplica por sitio igual a dos ($n=2$) (Fig. 7). Las muestras de sedimentos fueron colectadas con una draga tipo Petersen y almacenadas en frascos de color ámbar, en un total de tres muestras de aproximadamente 500 g cada una, a 4 °C sin espacio de aire. Inmediatamente fueron trasladadas al laboratorio y conservadas a -14 °C al resguardo de la luz. En todo el proceso de recolección y manipulación de las muestras se tomaron los cuidados necesarios para reducir al mínimo la contaminación del material.

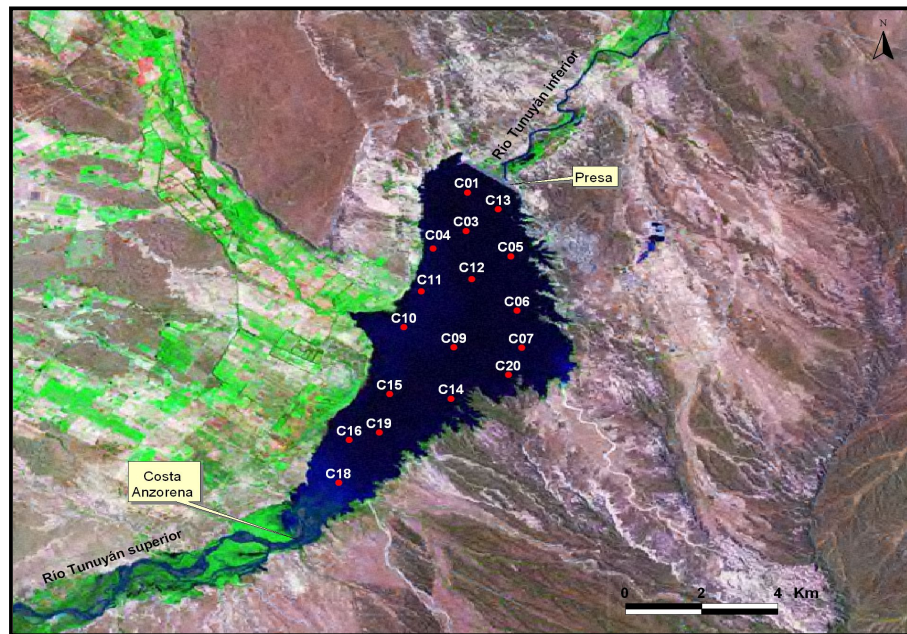


Fig. 7: Embalse El Carrizal. Los círculos representan los sitios de muestreo.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Técnicas de análisis químico

2.1.1. Determinación de conductividad y pH

Para la determinación de la conductividad eléctrica es necesario preparar una pasta saturada, la cual representa el máximo volumen de agua que admite el suelo (total de poros llenos de agua). La misma se coloca en un embudo Buchner y se conecta a una bomba de vacío para obtener el Extracto de Saturación⁽⁴⁷⁻⁴⁹⁾. La conductividad, expresada en $\mu\text{S}/\text{cm}$, se mide sobre el extracto, utilizando un conductímetro.

Para determinar conductividad y pH de los barros, se debe preparar la muestra de la siguiente manera:

1. Colocar en un vaso de precipitado una cantidad suficiente de suelo (más de 80 gr) para asegurarnos que absorba una cantidad significativa de agua.
2. Agregar agua destilada de a poco revolviendo suavemente hasta tener una consistencia adecuada, pero que no se vea con exceso de agua. Ésta pasta saturada obtenida debe ser brillante. Dejar descansar por una hora.
3. Para obtener el extracto de Saturación, se coloca la pasta saturada, preparada de la forma antes mencionada, en un filtro a presión (Fig.11). Se debe tomar la precaución de no dejar la pasta saturada de suelo demasiado tiempo antes de extraerla. Esto puede afectar los resultados.
4. Tanto para determinar conductividad o pH se utiliza el extracto directamente, para el primer caso se coloca el electrodo del pH digital (Fig. 12) o del conductímetro (Fig. 13), ya calibrados, dentro del recipiente que contiene el extracto y se leen los resultados.



Fig. 11: Equipo de filtrado al vacío.



Fig. 12: pHmetro del laboratorio.



Fig. 13: Imagen de conductímetro.

2.1.2. Determinación de materia orgánica en suelos

La materia orgánica (MO) se encuentra en los suelos formando parte de tres tipos de compuestos: formas muy condensadas de composiciones próximas al carbono elemental (carbón vegetal, grafito, carbón de hulla), residuos de plantas, animales y microorganismos, alterados y resistentes, denominados humus y humatos y residuos orgánicos poco alterados de vegetales, animales y microorganismos.

La determinación de la MO puede hacerse por diferentes técnicas analíticas, dos de las cuales están muy difundidas y son las que se utilizaron en éste estudio:

- ✚ Método de pérdida por ignición⁽⁵⁰⁾.
- ✚ Método de combustión húmeda de Walkley-Black⁽⁵¹⁾.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la relación entre los valores de MO obtenidos por pérdida por ignición y por combustión húmeda de Walkley-Black en suelos.

2.1.2.1. Descomposición en Horno-Mufla.

El método de pérdida por ignición se basa en determinar la pérdida de peso de una muestra de suelo al someterla a una temperatura de 430 °C en horno-mufla durante 24 h. Con temperaturas de 430 °C se lograría una completa oxidación de la MO. Así este método permite la determinación de la MO total del suelo, incluyendo las formas condensadas, humus, humatos y residuos orgánicos poco alterados. Temperaturas mayores a 500 °C pueden implicar importantes errores en la determinación por pérdidas de dióxido de carbono de los carbonatos, agua estructural de los minerales de arcilla, oxidación del ión ferroso, descomposición de sales hidratadas y óxidos. El método de pérdida por ignición resulta un método económico dado que no se utilizan reactivos químicos y requiere pocas horas hombre para su realización.

El método se basa en la cuantificación de la materia orgánica en muestras de suelos mediante la pérdida directa de peso por el calentamiento en un horno-mufla. Para la

realización del método se utilizan los equipos y el material de vidrio de uso habitual en el laboratorio y en particular, los siguientes:

- ✚ Cápsulas o crisoles de porcelana, de 30cm³ de capacidad.
- ✚ Desecador.
- ✚ Tamiz de 2 mm de chapa perforada.
- ✚ Balanza analítica, con una tolerancia de ± 0,001 g.
- ✚ Horno-mufla.
- ✚ Estufa.

El procedimiento llevado a cabo consiste en:

1. **Acondicionamiento del crisol:** se trata la cápsula de porcelana o crisol en el horno-mufla a 430 °C aproximadamente durante 1 h para eliminar los compuestos que puedan generar errores en el peso. Se deja enfriar en el desecador hasta que alcance la temperatura ambiente y se pesa. Se registra el valor de la masa obtenido como M₁.
2. **Determinación del contenido de agua:** se colocan entre 5 g y 10 g de muestra de ensayo en la cápsula de porcelana o crisol de manera de no exceder la mitad de su volumen y se pesa. Se registra el valor de la masa obtenido como M₂. Se coloca el crisol en la estufa a 105 °C durante 2 h. Se deja enfriar en el desecador y se pesa. Se registra el valor de la masa obtenido como M₃. (**NOTA:** En suelos con alto contenido de yeso u otros minerales como carbonato de sodio, sulfato de magnesio y cloruro de calcio se recomienda extender el tratamiento previo a 105 °C durante 24 h, con el objeto de contemplar posibles pérdidas de agua estructural).
3. **Incineración de la materia orgánica:** Se coloca nuevamente en el horno-mufla y se eleva gradualmente la temperatura hasta alcanzar los 430 °C, manteniéndolo a esta temperatura durante 2 h. Se deja enfriar en el horno-mufla hasta 150 °C, luego se coloca en el desecador, se espera a que alcance la temperatura ambiente y se pesa. Se registra el valor de la masa obtenido como M₄.
4. **Cálculo de los resultados:** Se calcula el contenido de materia orgánica de la muestra de suelo en base a la pérdida de peso debida a la combustión seca, según la siguiente ecuación:

$$\text{M.O.} = [(M_3 - M_4) / (M_2 - M_1)] * 1000$$

M.O.: contenido de materia orgánica, en gramos por kilogramo.

M₁: masa de la cápsula de porcelana o crisol tratada a 430 °C (tara), en gramos.

M_2 : masa de suelo seco (muestra de ensayo) más la masa del crisol (M_1), en gramos.

M_3 : masa de suelo y crisol tratados a 105 °C, en gramos.

M_4 : la masa de la cápsula de porcelana y suelo calcinado a 430 °C, en gramos.

2.1.2.2. Método de Walkley – Black.

La materia orgánica tiene una gran importancia en la génesis y fertilidad del suelo. Protege al suelo de la contaminación adsorbiendo plaguicidas y otros contaminantes, evitando que éstos percolen hacia los acuíferos. Influye en el pH, produciendo compuestos orgánicos que tienden a acidificar el suelo, en el estado de dispersión del suelo y es un agente de alteración por su carácter ácido que permite descomponer los minerales⁽⁵²⁾. Los métodos analíticos para conocer el contenido aproximado de materia orgánica se basan en la utilización de fuertes oxidantes químicos (en algunas ocasiones en presencia de catalizadores). Los métodos más usuales son el método de dicromato al reflujo y el método del permanganato.

El Método del Dicromato al reflujo es de gran reproductividad y de oxidación más completa que el del permanganato. La mayor parte de la materia orgánica resulta oxidada por una mezcla a ebullición de los ácidos crómico y sulfúrico. Se somete a reflujo una muestra en una disolución ácida fuerte con un exceso de dicromato potásico. Después de la digestión, el dicromato no reducido que quede, se determina con sulfato ferroso amónico, sal de Mohr $(SO_4)_2 Fe(NH_4)_2$, para determinar la cantidad de dicromato consumido y calcular la materia orgánica oxidable en términos de equivalente de oxígeno.

La determinación de materia orgánica por el método de Walkley-Black o también llamado Método del Ácido Crómico está basada en la calefacción espontánea por dilución del Ácido Sulfúrico. La calefacción menos tensa permite diferenciar, en gran parte, la materia que integra el humus del suelo de las fuentes extrañas de carbón orgánico, como grafito y carbón vegetal, lo que constituye una ventaja evidente. Entre el instrumental y los reactivos utilizados se incluyen:

- ✚ Dicromato de Potasio ($K_2 Cr_2 O_7$) 1N.
- ✚ Indicador Difenilamina ($C_{12} H_{11} N$).
- ✚ Ácido Sulfúrico ($H_2 SO_4$).
- ✚ Ácido Fosfórico ($H_3 PO_4$).
- ✚ Disolución Ferrosa, sulfato ferroso de hierro (II) amoníaco hexahidratado o Sal de Mohr ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$).

- ✚ Matraces erlenmeyer de 500 ml.
- ✚ Pipetas de 10, 20 y 25 ml de enrase automático preferentemente.
- ✚ Bureta para titular.
- ✚ Matraces aforados de 250 ml.
- ✚ Balanza analítica.

El procedimiento consiste en:

A. **Oxidación de la materia orgánica:** Luego de pesar 0,5 gr. de muestra de suelo que fue previamente pasada por un tamiz no ferroso de 0,2 mm, se coloca en un matraz erlenmeyer de 500 ml. A continuación se añaden 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ sobre el suelo, mezclando suavemente. Se añaden con cuidado 20 ml de H_2SO_4 concentrado (éste paso se realiza bajo campana debido a los vapores que se emanan) y se sigue mezclando mediante un giro suave durante 1 minuto, para asegurar el contacto íntimo del reactivo con el suelo, con cuidado para evitar que el suelo quede adherido a las paredes del matraz fuera de contacto con el reactivo. Se deja la mezcla en reposo durante 20 a 30 minutos. Simultáneamente se realiza el ensayo de valoración en blanco (sin suelo).

B. **Valoración:** Se transfiere la solución al matraz aforado de 250 ml y se diluye hasta ése volumen con agua destilada, se deja decantar por 10 minutos. Del sobrenadante colocar una alícuota de 25 ml en un erlenmeyer, se añade 1ml de H_3PO_4 y 10 gotas del indicador Difenilamina. La solución pasa de color naranja o color azul oscuro. La solución se valora con la solución de sulfato ferroso amónico o sal de Mohr $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ procedente de una bureta, hasta que el color del indicador vire de azul oscuro a verde claro. El color es verde oscuro debido a los iones Cr^{+3} en un principio y se desplaza hacia un azul turbio a medida que avanza la valoración. En el punto final éste color cambia bruscamente a verde brillante, dando el viraje con una gota.

C. **Cálculo de los resultados:** Los resultados se calculan mediante la ecuación:

$$M.O.\% = (1 - T/S) * 12/4000 * 100/77 * 100/58 * 100/0,5 \text{ gr muestra.}$$

T = ml de sal de Mohr gastados en la muestra problema.

S = ml de sal de Mohr gastados en el blanco.

12 = peso molecular del carbono.

4000 = $4 * 1000$ = para pasar a miliequivalentes de carbono.

100/77 - eficiencia de la oxidación; es el 77 % del carbono recuperado.

100/58 - es para llevar el dato de carbono a materia orgánica (se establece que el humus del suelo posee en término medio 58% de carbono).

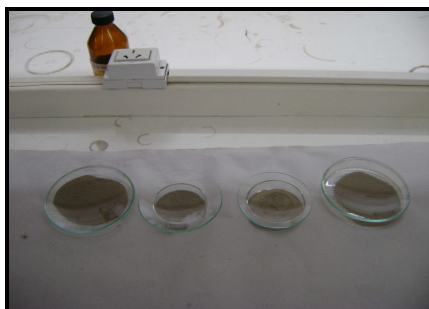


Fig. 14: Muestras tamizadas.

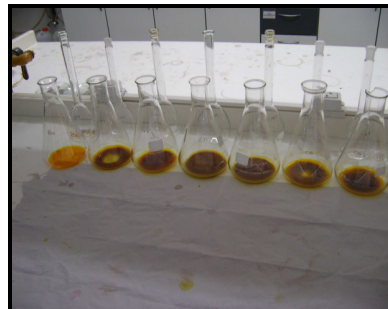


Fig. 15: Soluciones en reposo.

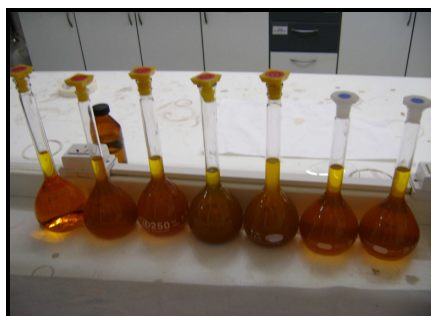


Fig. 16: Soluciones diluidas para valorar.



Fig. 17: Alícuota de sobrenadante lista para titular



Fig. 18: Alícuotas tituladas.

2.2. Técnicas instrumentales

2.2.1. Equipo de extracción Soxhlet

El extractor Soxhlet⁽⁵³⁾ es un equipo de vidrio utilizado para la extracción de compuestos, generalmente de naturaleza no polar, contenidos en un sólido, a través de un solvente afín. El condensador está provisto de una chaqueta de 100 mm de longitud, con espigas para la entrada y salida del agua de enfriamiento. El extractor tiene una capacidad,

hasta la parte superior del sifón, de 10 ml; el diámetro interior del extractor es de 20 mm y su longitud de 90 mm. El matraz es de 500 ml de capacidad.

2.2.1.1. Descripción del Equipo

En la Fig. 8 se puede ver un equipo de extracción Soxhlet sin ensamblar y ensamblado en el que se explica en breve su funcionamiento. Las partes del mismo son las siguientes:

1. Buzo / agitador / granallas o esferas.
2. Balón.
3. Brazo para ascenso del vapor.
4. Cartucho de extracción o cartucho Soxhlet.
5. Muestra (residuo).
6. Entrada del sifón.
7. Descarga del sifón.
8. Adaptador.
9. Refrigerante (condensador).
10. Entrada de agua de refrigeración.
11. Salida de agua de refrigeración.

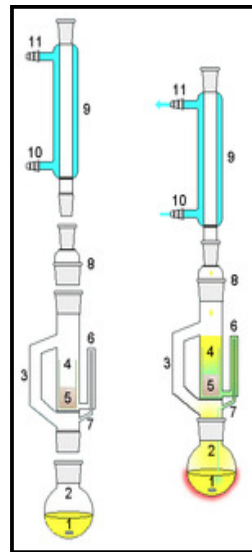


Fig. 8: Equipo sin ensamblar y ensamblado

2.2.1.2. Operación de Extracción por medio de Soxhlet

En la extracción Soxhlet (Fig. 9 y 10) el material sólido que se desea extraer es colocado dentro de un sujetador vertical, conocido como cartucho de extracción o cartucho Soxhlet, y el solvente líquido es colocado en un matraz de bola, el cual está acoplado justo debajo del cartucho. En la parte superior se encuentra acoplado un condensador refrigerado con agua de enfriamiento. De forma paralela al cartucho Soxhlet se encuentran dos tubos conductores de vapor y líquido: el primer conducto se encarga de conducir el solvente evaporado desde el matraz de bola hasta el extremo inferior del refrigerante, sin pasar por el cartucho; el segundo tubo con forma de “U” invertida, se conoce como sifón y se encarga de transportar el líquido condensado de regreso hacia el matraz, en donde volverá a evaporarse para cerrar el ciclo.

El funcionamiento del equipo Soxhlet podría describirse de la siguiente forma: el solvente se volatiliza en el balón por calentamiento, sube por el tubo y llega al condensador, en donde regresa a su forma líquida. En este punto, cae y moja al material que se encuentra

empacado dentro del cartucho de extracción, lugar en donde se da el contacto sólido-líquido a la temperatura de saturación del solvente, y se lleva a cabo la transferencia de masa interfacial y selectiva de componentes hacia el solvente. Conforme el cartucho se comienza a inundar con solvente, el sifón se empieza a llenar hasta rebasar la altura de la “U” invertida. Cuando esto ocurre, el líquido cae y regresa al matraz, en donde vuelve a ser evaporado para completar el ciclo. El proceso se interrumpe cuando se alcanza la concentración deseada de un componente en el solvente.

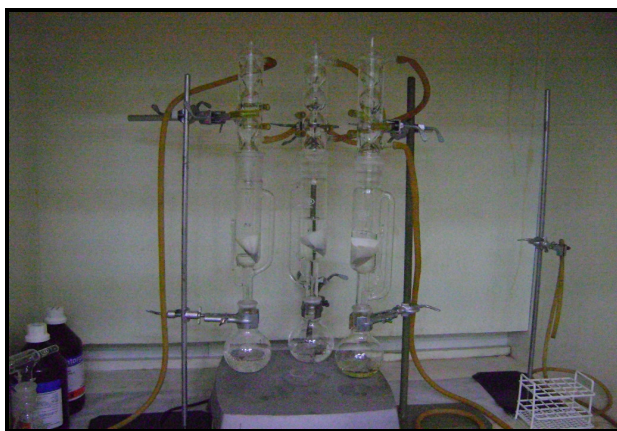


Fig. 9: Equipo Soxhlet del laboratorio.

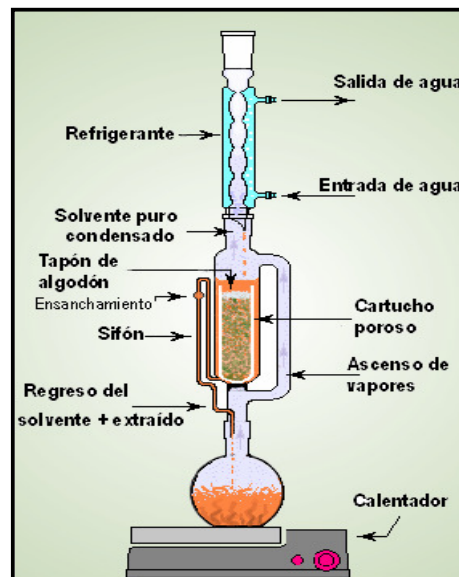


Fig. 10: Ensamble del equipo

2.2.2. Cromatografía GC-MS/MS

La Cromatografía Gaseosa (CG)⁽⁵⁴⁾ es una técnica utilizada para la separación y análisis de mezclas de sustancias volátiles y semi-volátiles. La muestra es vaporizada e introducida en un flujo de un gas apropiado denominado de fase móvil (FM) o gas de arrastre (Fig. 20). Este flujo de gas con la muestra vaporizada pasa por un tubo conteniendo la fase estacionaria (FE, columna cromatográfica), donde ocurre la separación de la mezcla. La FE puede ser un sólido adsorbente (Cromatografía Gas-Sólido) o, más comúnmente, una película de un líquido de baja presión de vapor, soportado sobre un sólido inerte (Cromatografía Gas-Líquido con Columna Empaquetada o Rellenada) o sobre la propia pared del tubo (Cromatografía Gaseosa de Alta Resolución o HPLC). En la cromatografía gas-líquido (CGL), los dos factores que gobiernan la separación de los constituyentes de una muestra son afinidad del analito por la fase estacionaria y punto de ebullición del mismo.

2.2.2.1. Descripción del equipo

1. Depósito de Gas y Controles de flujo.
2. Inyector (Vaporizador) de la muestra.
3. Columna Cromatográfica y Horno de la Columna.
4. Detector.
5. Amplificador de Señal.
6. Registro de la Señal (Registrador o Computador).



Fig. 19: Cromatógrafo gaseoso con detector de masas.

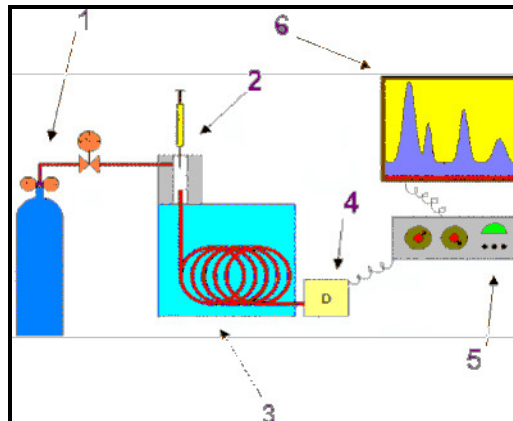


Fig. 20: Esquema de un GC-MS

Las sustancias separadas salen de la columna transportadas en el gas de arrastre y hacia el detector; dispositivo que genera una señal eléctrica proporcional a la cantidad del analito eluido. El registro de esta señal en función del tiempo es el cromatograma, en donde las sustancias aparecen como picos con áreas proporcionales a sus masas, lo que posibilita el análisis cuantitativo.

El acoplamiento técnico cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) ha revolucionado el análisis de muestras complejas para la identificación y caracterización de compuestos ya que combina el alto poder de resolución de la cromatografía de gases, con la alta sensibilidad suministrada del espectrómetro de masas, para la cuantificación de moléculas orgánicas volátiles.

La espectrometría de masas es una técnica experimental que permite la medición de iones derivados de moléculas. El espectrómetro de masas molecular es un detector que permite analizar con gran precisión la composición de los analitos en estudio, separando los fragmentos moleculares en función de su relación masa-carga (m/z). Puede utilizarse con fines cuali- o cuantitativos. Cada analito produce un patrón específico de fragmentación en el detector, que permite analizar el compuesto.

Se determinó que ambas técnicas eran lo suficientemente útiles para el análisis de los sedimentos en estudio. Para ello, de cada estación de muestreo se tomó una alícuota de 5 g de muestra y se mezcló con 5 g de Na₂SO₄. Posteriormente los analitos fueron extraídos en un extractor Soxhlet durante 4 hs⁽⁵⁵⁾ con una mezcla de 150 ml de acetona y hexano (1:1) conteniendo 5 g de cobre activado. El extracto fue reducido a un volumen aproximado de 20 ml y pasado a través de un cartucho de florisil el cual fue lavado con 9 ml de hexano. El eluato fue llevado a sequedad bajo corriente suave de N₂ y reconstituido con 200 µl de isooctano para su posterior análisis por cromatografía gaseosa. La identificación y cuantificación de los picos fue realizada según el método de estándar agregado. Para la preparación de los patrones de cuantificación, se tomo una alícuota de 5 g de muestra por cada punto de muestreo y se prepararon patrones de 5 ng g⁻¹ de cada congénere de PBDEs. Posteriormente fueron homogeneizadas y almacenadas al resguardo de la luz durante 4 hs para su estabilización⁽⁵⁶⁾. Las muestras de sedimento adicionadas fueron tratadas según la descripción anterior. Los análisis cromatográficos (GC-MS/MS) fueron realizados con un cromatógrafo de gases Varian 3900 equipado con detector de masas Varian Saturn 2000 con trampa de iones (Varian, Walnut Creek, CA, USA). El sistema fue operado por el software Saturn GC-MS WorkStation v6.4.1. La columna capilar fue VF-5ms (25m × 0,25 mm, 0,25 µm film thickness; Varian, Lake Forest, CA, USA). El programa de temperatura fue: 150 °C, mantenida por 1 min.; posteriormente se elevó 250 °C en una relación de 15 °C min⁻¹; finalmente se llevó a 300 °C a un promedio de 10 °C min⁻¹ y se mantuvo durante 7 min. El gas transportador utilizado fue Helio (pureza 99,999%) con un flujo de 1,0 ml min⁻¹. La temperatura del inyector fue de 250 °C y las inyecciones fueron realizadas en el modo sin división. El espectrómetro de masas fue operado en el modo de ionización por impacto de electrones a 70 eV. La temperatura de la trampa, controlador de gases y línea de transferencia fueron programados en 220 °C, 50 °C y 280 °C, respectivamente. Las muestras se analizaron en el modo MS/MS. La identificación de los picos estuvo basada en los tiempos de retención de los compuestos y sus espectros de masa. La cuantificación de cada congénere se basó en el cromatograma del ion base del espectro MS/MS, empleando los fragmentos distintivos como iones de confirmación (Tabla 6). Los límites de detección de los analitos calculados como tres veces la relación señal-ruido (S/N=3) estuvieron en el rango de 3-7 pg g⁻¹.

Tabla 6: GC-MS-SIR parámetros para la determinación de PBDEs

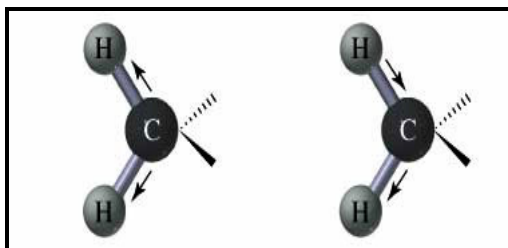
Analitos	IUPAC	t_R (min.)	Ion Precursor (m/z)	Iones de cuantificación (m/z)
2,2',4,4'-tetra-BDE	BDE-47	9,831	486 (± 8 u.m.a.)	324, 326, 328
2,2',4,4',6-penta-BDE	BDE-100	11,067	566 (± 8 u.m.a.)	402, 404, 406
2,2',4,4',5-penta-BDE	BDE-99	11,514	566 (± 8 u.m.a.)	402, 404, 406
2,2',4,4',5,5'-hexa-BDE	BDE-153	13,192	644 (± 8 u.m.a.)	482, 484, 486

2.2.3. Espectrometría de Infrarrojo

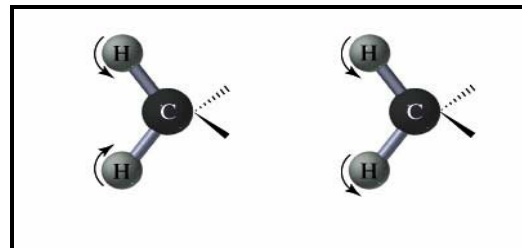
Los métodos de análisis que se basan en la medición de luz y otras formas de radiación electromagnética son los que más se utilizan en la química analítica. La espectrometría es una ciencia que estudia las interacciones que suceden entre la radiación y la materia. Estos métodos se pueden clasificar según la región del espectro electromagnético que se utilice para hacer la medición. Dentro de ellas encontramos los Rayos γ , X, ultravioleta (UV), infrarrojo (IR), microondas y radiofrecuencias (RF). La espectrometría de infrarrojo trata con la región infrarroja del espectro electromagnético, la cual se encuentra entre los 12.800 y los 10 cm^{-1} . Esta zona se divide en tres regiones: IR cercano, medio y lejano, con rangos de número de onda comprendidos entre 12.800-4.000 cm^{-1} , 4.000-200 cm^{-1} y 200-10 cm^{-1} , respectivamente.

Para absorber radiación infrarroja, una molécula debe experimentar un cambio neto en el momento dipolar durante el movimiento vibracional o rotacional. Sólo en estas circunstancias el campo eléctrico alternante de la radiación puede interaccionar con la molécula, y causar así cambios en la amplitud de sus movimientos. El momento dipolar está determinado por la magnitud de la diferencia de carga y por la distancia entre los centros de carga. Si la frecuencia de la radiación iguala exactamente a la frecuencia de vibración natural de la molécula, se produce una transferencia neta de energía que da lugar a un cambio en la amplitud de la vibración molecular, como consecuencia se absorbe radiación. Un enlace polar es generalmente activo para el IR. Un enlace no polar en una molécula simétrica tendrá poca o ninguna eficacia absorbente. Una molécula homonuclear biatómica no será activa en el IR. La absorción de radiación infrarroja se limita en gran parte a especies moleculares para las cuales existen pequeñas diferencias de energía entre los distintos estados vibracionales y rotacionales. Las vibraciones pueden involucrar la longitud o el

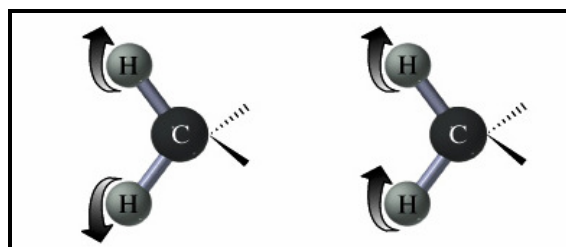
ángulo de enlace de una molécula. Se produce un estiramiento cuando la distancia entre dos átomos aumenta y disminuye, pero los ángulos permanecen en el mismo eje de enlace. Los estiramientos pueden ser simétricos (symmetric stretching) o asimétricos (asymmetric stretching) (Fig. 21). Por otra parte, ocurre una deformación o flexión cuando la posición de los átomos varía en relación al eje del enlace original. Dentro de ellas podemos encontrar cuatro tipos: tijereteo en el plano (scissoring), balanceo (wagging) (Fig. 22), aleteo (rocking) y torsión fuera del plano (twisting) (Fig. 23).



symmetric stretching asymmetric stretching
Fig. 21: Estiramientos



scissoring wagging
Fig. 22: Tijereteos



rocking twisting
Fig. 23: Aleteo y torsión.

Un espectro de infrarrojo se obtiene comúnmente haciendo pasar radiación a través de una muestra y determinando qué fracción de radiación incidente es absorbida a una energía particular. La energía en la cual aparece un pico en el espectro corresponde a la frecuencia de una vibración de una parte de una molécula. Esa información puede ser muy útil para la caracterización de un nuevo compuesto, para determinar la presencia o no de un determinado compuesto o para el seguimiento de la evolución de una síntesis. Esta técnica no sólo proporciona información cualitativa sino que también pueden obtenerse datos semicuantitativos.

2.2.3.1. Espectrometría de Infrarrojos por Transformada de Fourier.

La espectrometría infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) es una técnica de análisis para obtener el espectro infrarrojo con mayor rapidez. En lugar de registrar los datos variando la frecuencia de luz infrarroja monocromática, se guía la luz IR (con todas las

longitudes de onda de pista utilizada) a través de un interferómetro. Después de pasar por la muestra, la señal medida da el interferograma.

La Fig. 24 muestra un espectrofotómetro FTIR y la Fig. 25 representa el camino óptico dentro de un espectrofotómetro FTIR. Un generador de IR (un material cerámico) produce un haz IR policromático que se separa en dos haces al 50 % al pasar por un separador. Uno de los haces se refleja en un espejo inmóvil mientras que el segundo haz lo hace en uno móvil y recorre así una distancia extra Δx . Una vez reflejados, ambos haces se superponen e inciden sobre la muestra que absorbe parte de la radiación IR. La intensidad del haz transmitido se registra con un detector de IR (material piroeléctrico). La realización de una transformada de Fourier de la señal produce un espectro idéntico al de la espectrometría infrarroja convencional (dispersiva).



Fig. 24: Espectrofotómetro FTIR

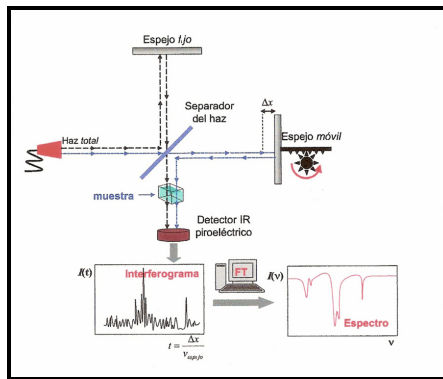


Fig. 25: Camino óptico dentro de un espectrofotómetro

Los espectrofotómetros FTIR son más baratos que los convencionales, porque es más simple construir un interferómetro que un monocromador. Además, la medida de un solo espectro es mucho más rápida en esta técnica, debido a que la información de todas las frecuencias se toman al mismo tiempo. Esto permite hacer múltiples lecturas de una sola muestra y obtener un promedio, lo que aumenta la sensibilidad del análisis. Debido a sus múltiples ventajas, casi todos los modernos espectrofotómetros de infrarrojos son FTIR.

Los espectros de infrarrojos (IR) fueron obtenidos con un espectrómetro Spectrum 100 FTIR (PerkinElmer) con un detector DTGS, un interferómetro DynaScan, fuente estabilizada y ópticas de KBr cubiertas de Ge selladas y desecadas. El detector DTGS, de temperatura estabilizada, permite un rango de barrido de 7.800 a 350 cm^{-1} , una resolución de $0,5 \text{ cm}^{-1}$ y una relación señal-ruido (S/N) = $7.000/1$ para un barrido de 5 segundos. El software del espectrómetro incluye un algoritmo de corrección de H_2O y CO_2 atmosférico. Se trabajó en modo de transmisión utilizando pellets de KBr (preparados con 230 mg de KBr y 1 mg de muestra). Las condiciones de adquisición de datos incluyeron una resolución

4 cm^{-1} y la adición de 8 interferogramas antes de la transformación de Fourier. El rango de barrido fue 4.000 a 400 cm^{-1} . Las asignaciones de bandas fueron realizadas de acuerdo con métodos de estudios anteriores. Los datos semicuantitativos derivados de los espectros de IR se obtuvieron utilizando diferentes tratamientos de los espectros digitalizados: aplicación de métodos de integración de área⁽⁵⁷⁾; cálculo de cocientes de áreas^(58,59) y procedimiento de autodeconvolución de Fourier⁽⁶⁰⁾; empleado para la deconvolución de la zona de estiramiento C-H alifático (aprox. 2.825-3.000 cm^{-1}). Definición de los cocientes semicuantitativos derivados de los espectros de IR Relación metileno metilo: se relaciona con la longitud y el grado de ramificación de las cadenas alifáticas laterales (mayor relación implica cadenas más largas y pocas ramificaciones).

Las asignaciones de los grupos funcionales se realizaron de acuerdo con Painter, Colthup, Shurvell, Stuart y Wang and Griffiths⁽⁶¹⁻⁶⁷⁾. Se aplicaron diferentes tratamientos a los espectros digitalizados para refinar y mejorar la información proporcionada por los mismos. Se emplearon las siguientes técnicas: métodos de integración de áreas⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾; cálculos de cocientes de áreas⁽⁷¹⁻⁷³⁾ y auto-deconvolución de Fourier⁽⁷⁴⁾. Esta última se utilizó para separar los picos de la región 2.800 – 3.000 cm^{-1} (estiramientos C-H alifáticos de CH_2 y CH_3), obteniéndose cuatro picos (que corresponden a estiramientos C-H de metilenos y metilos) que posteriormente fueron usados para calcular la relación CH_2/CH_3 .

2.2.4. Método multivariado de datos mediante análisis de componentes principales (PCA)

El análisis de componentes principales (PCA) es un método no paramétrico de reconocimiento de patrones que puede usarse para reducir la complejidad original de un sistema de datos multidimensionales. A partir de las variables originales que definen al sistema, el PCA encuentra nuevas variables hipotéticas (componentes principales) que explican tanto como es posible la variabilidad de los datos originales. En general, reducir el número de variables utilizadas para describir los datos conduce a alguna pérdida de información (varianza) pero permite que la visualización de los datos sea sencilla y su interpretación menos compleja. El PCA se realizó sobre un conjunto de datos que incluyeron variables fisicoquímicas, variables derivadas de espectros de FTIR y concentraciones de materia orgánica y de PBDEs. Se utilizó el programa STATISTICA®⁽⁷⁵⁾.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Determinación de materia orgánica por el método Horno-Mufla

En la cuantificación de la materia orgánica en muestras de suelos del embalse El Carrizal y del Río Mendoza mediante la pérdida directa de peso por el calentamiento en un horno-mufla, se obtuvieron los siguientes resultados (Tablas 7 y 8, Fig. 26 y 27):

Tabla 7: Resultados del método Horno-Mufla de embalse El Carrizal

Muestra	Materia Orgánica (g/kg)	Muestra	Materia Orgánica (g/kg)
C01	14,818	C12	34,797
C03	35,491	C13	29,311
C04	29,918	C14	16,343
C05	15,664	C15	37,028
C06	36,275	C16	41,155
C07	21,969	C18	28,500
C09	28,276	C19	24,349
C10	155,317	C20	24,726
C11	7,380		

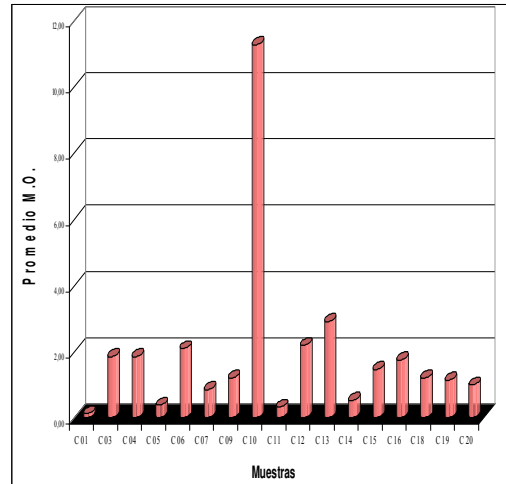


Fig. 26: Descomposición en Horno-Mufla de muestras de El Carrizal.

Tabla 8: Resultados del método Horno-Mufla del Río Mendoza

Muestra	Materia Orgánica (g/kg)	Muestra	Materia Orgánica (g/kg)
M25	26,584	M35A (dcha.)	10,246
M26	25,600	M35A (izq.)	5,780
M27	22,465	M37	18,553
M28	59,571	M42	14,316
M29	45,160	M43	11,307
M30	11,947	M44	14,994
M31	10,301	M46	63,664
M32	24,047	M47	10,402
M33	14,882	M59	28,435
M34	23,126	M62	15,039
M35	20,175	M65	14,953

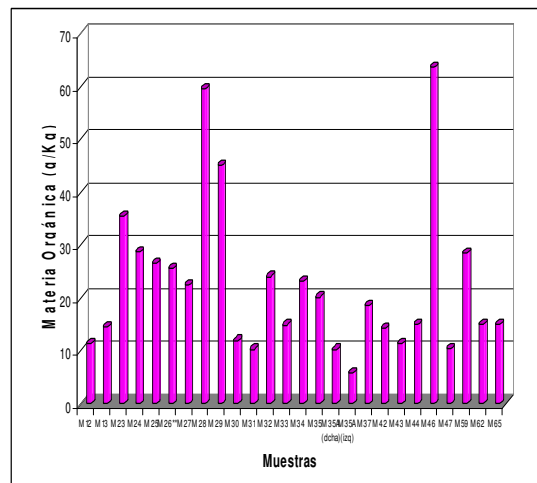


Fig. 27: Descomposición en Horno-Mufla de muestras del Río Mendoza.

3.2. Determinación de materia orgánica por el método Walkley-Black

En la cuantificación de la materia orgánica en muestras de suelos del embalse El Carrizal y del Río Mendoza mediante el método Walkley-Black, se obtuvieron los siguientes resultados (Tablas 9 y 10, Fig. 28 y 29):

Tabla 9: Resultados del método Walkley-Black del embalse El Carrizal			
Muestras	M.O. %	Muestras	M.O. %
C 01	0,127	C 12	2,187
C 03	1,837	C 13	2,917
C 04	1,839	C 14	0,531
C 05	0,382	C 15	1,458
C 06	2,093	C 16	1,743
C 07	0,851	C 18	1,205
C 09	1,201	C 19	1,133
C 10	11,286	C 20	0,992
C 11	0,319		

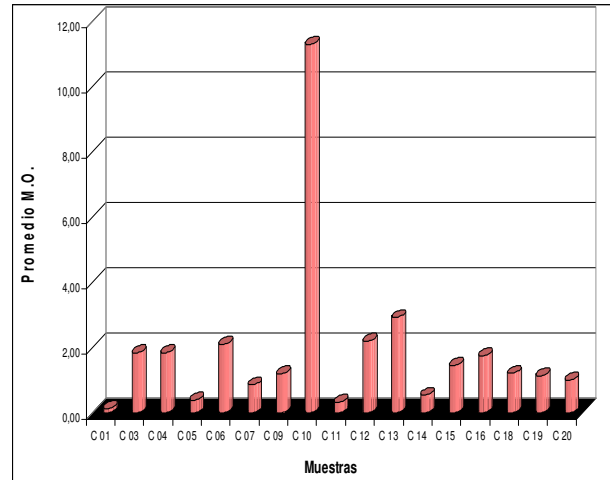


Fig. 28: Determinación de materia orgánica por método Walkley-Black en muestras de El Carrizal.

Tabla 10: Resultados del método Walkley-Black del Río Mendoza			
Muestra	M.O. %	Muestra	M.O. %
M 01	0,191	M 29	4,605
M 03	0,065	M 30	0,133
M 06	0,191	M 31	0,600
M 07	0,196	M 32	1,608
M 8	0,845	M 33	1,437
M 10	0,973	M 34	2,145
M 12	0,315	M 35	1,939
M 13	1,006	M 35A	0,393
M 14	0,663	M 37	2,393
M 15	0,902	M 42	0,959
M 16	0,910	M 43	0,467
M 17	0,192	M 44	0,861
M 20	0,732	M 46	3,808
M 21	2,783	M 47	0,263
M 23	2,535	M 51	1,907
M 24	0,868	M 52	0,458
M 25	1,539	M 59	1,341
M 26	2,775	M 62	0,602
M 27	1,062	M 65	0,3349
M 28	3,655		

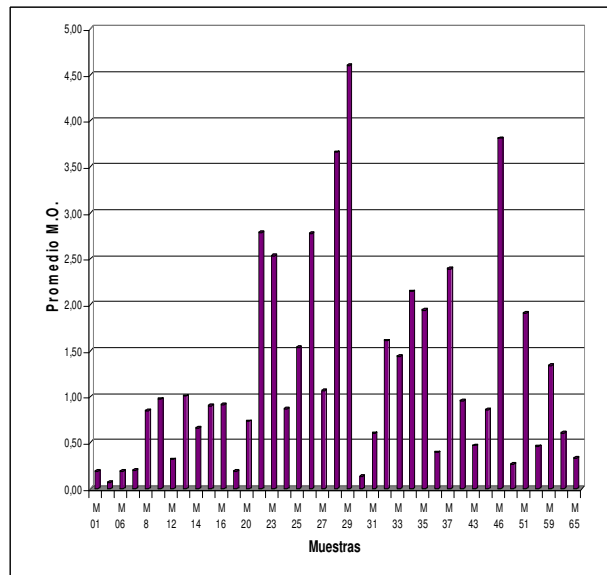


Fig. 29: Determinación de materia orgánica por método Walkley-Black en muestras de Canales de Riego.

3.3. Determinación de PBDEs mediante el análisis por GC-MS/MS

La Tabla 11 y la Fig. 30 muestran las concentraciones promedio de PBDEs en muestras de barros y sedimentos provenientes del embalse El Carrizal. Los congéneres de PBDEs más abundantes fueron BDE-47, BDE-99, BDE-100 y BDE-153 con una suma total de concentraciones de 179,1; 15,3; 4,7 y 9,8 pg g^{-1} respectivamente. Los valores más significativos fueron encontrados en la costa sur-este del embalse en las proximidades de campings y clubes náuticos.

Tabla 11: Concentración de PBDEs en muestras de barros y sedimentos del embalse El Carrizal (pg g^{-1} peso seco)						
Ref.	Profundidad (m)	PBDE (pg g^{-1})				Σ PBDE
		BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-153	
C01	14	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C03	22	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C04	10	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C05	10	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C06	22	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C07	13	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C09	12	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C10	1	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C11	5	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C12	10	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C13	30	n.d	< LOQ	< LOQ	n.d	-
C14	15	163	n.d	n.d	n.d	163
C15	20	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C16	1	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C18	0,5	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C19	1	n.d	n.d	n.d	n.d	-
C20	1	16,1	4,7	15,3	9,8	45,9
Σ PBDE		179,1	4,7	15,3	9,8	208,9

LOQ= Limite de cuantificación: 11,4 pg g^{-1} ; 10,0 pg g^{-1} ; 18,6 pg g^{-1} ; 24 pg g^{-1} para BDE-47, BDE-100, BDE-99 y BDE-153.
n.d= no detectable

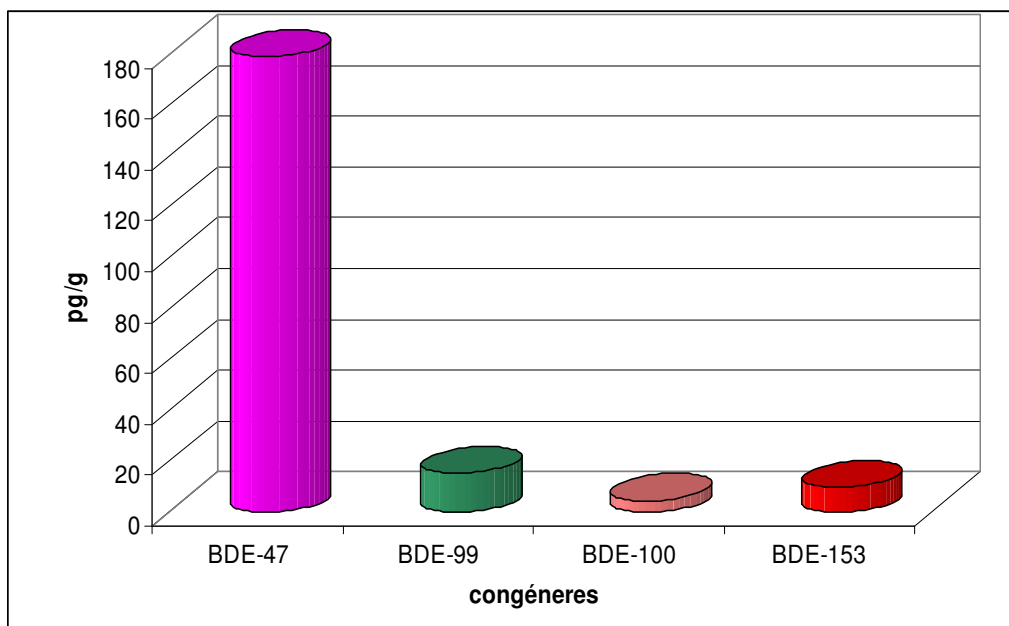


Fig. 30: Congéneres más abundantes en la costa sur-este del embalse El Carrizal.

La Tabla 12 y la Fig.31 muestran las concentraciones de PBDEs presente en ríos y canales de riego de zonas medias y bajas de la cuenca del Río Mendoza. Los congéneres de PBDEs más abundantes fueron BDE-47, BDE-100 y BDE-99 con una suma total de concentraciones de 1483,6; 1644,1 y 1273,6 pg g^{-1} respectivamente.

Ref	Descripción	PBDE (pg g^{-1})				Σ PBDE
		BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-153	
M11	Canal Civit	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M12	Canal Jarillal	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M13	Dique Cipolletti	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M23	Hijuela M 2da Guiñazú	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M24	Hijuela Palma	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M25	Hijuela Pereyra	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M26	Canal Pescara (aguas arriba)	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M27	Canal Naciente	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M28	Arroyo Negro	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M29	Pescara (Cámara de mezcla)	58,7	< LOQ	< LOQ	< LOQ	58,7
M30	Dique el Algarrobal	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M31	Desagüe Jocolí	96,8	114,8	39,8	63,4	314,8
M32	Canal Chachingo	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M33	Arroyo Fernández	178,2	144,1	67,5	68,9	458,7
M34	Arroyo Tulumaya	< LOQ	47,1	54,1	n.d	101,2

M35	Basural Pescara	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M35A	Basural Pescara –Aux.Tulum	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M37	Arroyo Santos Lugares	12,3	< LOQ	< LOQ	< LOQ	12,3
M38	Canal San Pedro y San Pablo	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M39	Natalio Estrella	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M40	Concepción California	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M41	Canal G. Segura y Estrella	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M42	Colector final (C. de Araujo)	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M43	Cuádruple Comparto (Jocoli)	14,7	< LOQ	< LOQ	< LOQ	14,7
M44	Desagüe Moyano	1122,9	1338,1	1112,2	593	4166,2
M46	Hijuela Guaymallén	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M47	Canal Jocolí	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M59	Canal Naciente	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M62	Canal Chachingo (A. Arriba)	n.d	n.d	n.d	n.d	-
M65	Paramillo	n.d	n.d	n.d	n.d	-
Σ PBDE		1483,6	1644,1	1273,6	725,3	5126,6

LOQ= Limite de cuantificación: 11,4 pg g⁻¹; 10,0 pg g⁻¹; 18,6 pg g⁻¹; 24 pg g⁻¹ para BDE-47, BDE-100, BDE-99 y BDE-153; n.d= no detectable

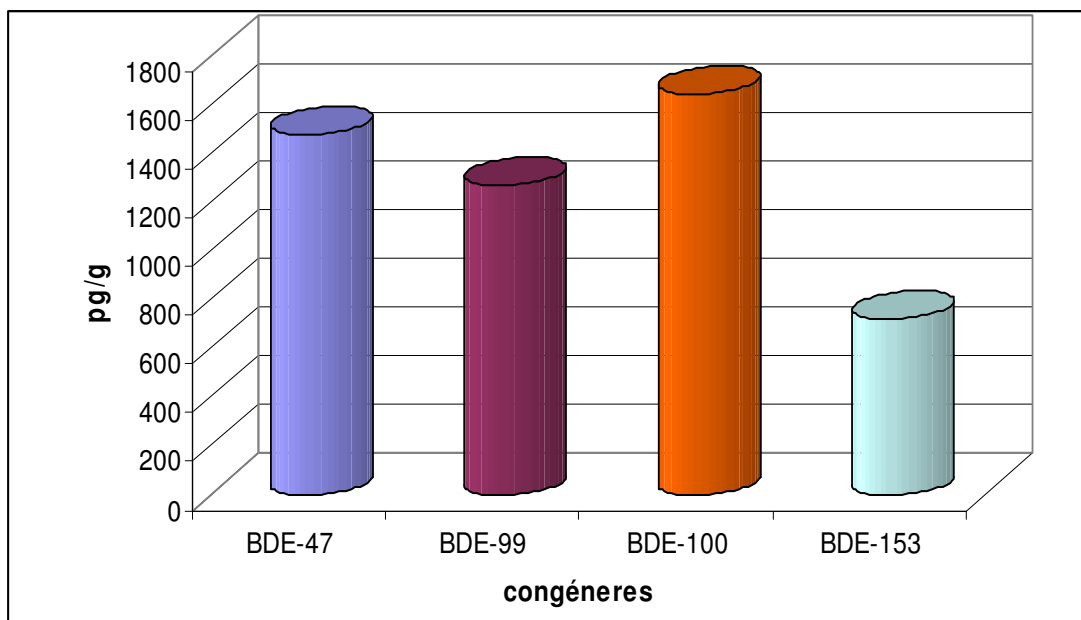


Fig. 31: Congéneres más abundantes en ríos y canales de riego de zonas medias y bajas de la cuenca del Río Mendoza.

La Fig. 32 representa un cromatograma para una muestra de sedimentos proveniente del Desagüe Moyano (Ref. M44). En el análisis cromatográfico de las muestras se observaron algunos corrimientos significativos en los tiempos de retención y efectos de matriz. Estas conclusiones fueron obtenidas mediante el análisis de muestras adicionadas con una mezcla de 0,5 ng g⁻¹ de BDE-47, -100, -99 y -153. Por tal motivo se decidió realizar

la cuantificación de los congéneres mediante el método de estándar agregado el cual contempla estas interferencias⁽⁷⁶⁾.

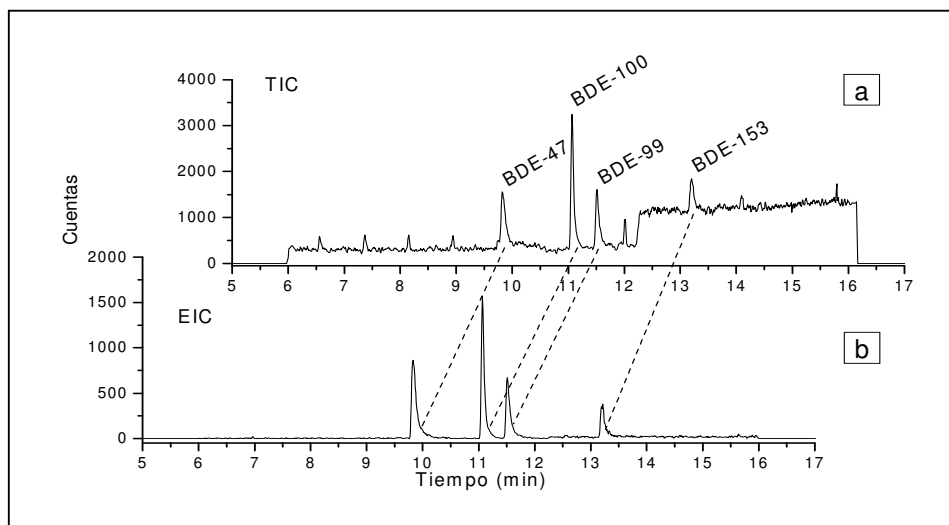


Fig. 32: Cromatograma de sedimentos provenientes de Desagüe Moyano (Ref. M44). 4a. Cromatograma de Iones Totales (300-650 u.m.a) 4b. Cromatograma de Iones Extraídos: 324, 326 y 328 para BDE-47; 402, 404 y 406 para BDE-100 y -99; 482, 484, 486 para BDE-153

3.4. Resultados de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

En los espectros de IR de las muestras estudiadas se pudo observar la presencia de compuestos alifáticos y aromáticos. En la zona comprendida entre 2.800 a 3.000 cm^{-1} se encontraron los picos correspondientes a los estiramientos C-H alifático. Entre los 3.000 y 3.100 cm^{-1} los picos asignados corresponden a los estiramientos C-H aromáticos (ver Fig. 33). También pudo observarse, entre 1.600 y 1.800 cm^{-1} , la zona correspondiente a los estiramientos C=C en compuestos aromáticos junto con la contribución combinada de grupos que contienen oxígeno. En primer lugar se determinaron las áreas de cada una de las zonas utilizando un programa de procesamiento de espectros de IR (OMNIC). Posteriormente, se obtuvieron cocientes de áreas. La banda correspondiente a la zona 2.800 – 3.000 cm^{-1} (estiramientos C-H alifáticos de CH₂ y CH₃) fue sometida a una autodeconvolución de Fourier, cuyo objetivo es la separación de bandas. De esta manera, se obtuvieron cuatro picos (que corresponden a estiramientos C-H de metilenos y metilos) que posteriormente fueron usados para calcular la relación CH₂/CH₃. En la Tabla 13 se muestra la interpretación de las relaciones de áreas de picos utilizadas en este trabajo. Los valores numéricos de las relaciones Al/Ox y CH₂/CH₃ se muestran en la Tabla 14.

Tabla 13. Cocientes de áreas obtenidos a través de los espectros IR. Interpretación de dichas relaciones		
Relación	Región (cm ⁻¹)	Interpretación de las relaciones y comentarios
	Cocientes de áreas	
CH ₂ /CH ₃	(2.800 a 3.000)	<p>Relación metileno/ metilo (CH₂/CH₃). Este cociente se relaciona con la longitud de cadena alifática y el grado de ramificación de grupos alifáticos laterales.</p> <p>Interpretación: Mientras mayor es la relación CH₂/CH₃ más lineales y largas son las cadenas, y cuanto menor es dicha razón, el largo de la cadena hidrocarbonada disminuye y aumentan las ramificaciones</p>
Al/Ox	(2.800 a 3.000) / (1.600 a 1.800)	<p>Relación alifático/compuestos que contienen oxígeno (Al/Ox). La contribución relativa de bandas de estiramiento alifático (Al) a la contribución combinada de grupos que contienen oxígeno y carbono aromático (Ox).</p> <p>Interpretación: A mayor relación Al/Ox sugiere una disminución de grupos que contienen oxígeno versus los alifáticos, y viceversa.</p>

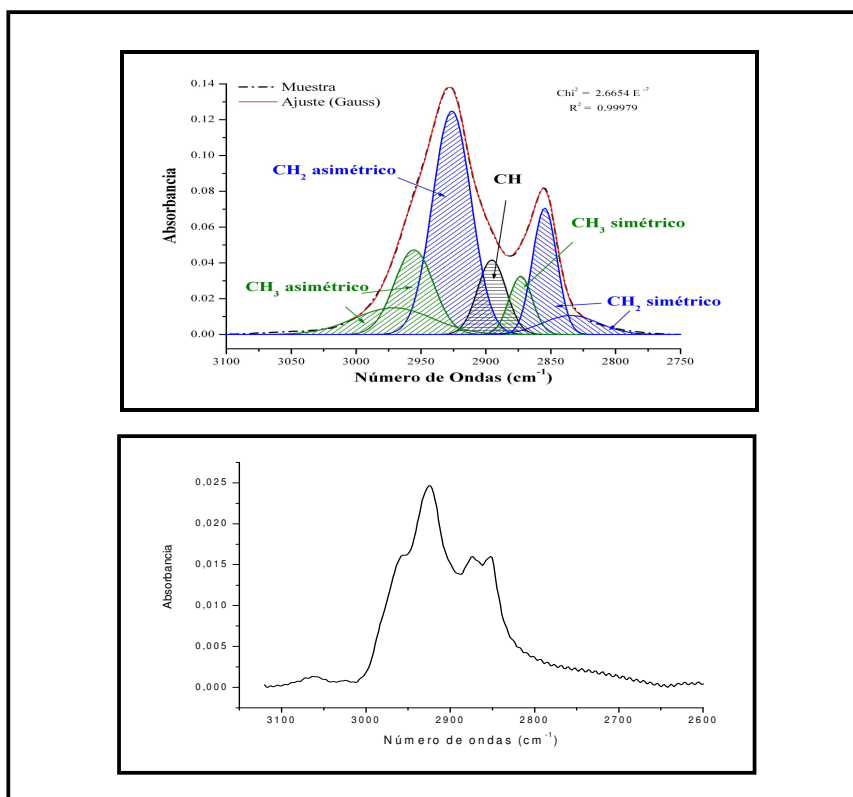


Fig. 33: Espectro IR para muestra M29 Canal Pescara. Región 2.600-3.000 cm⁻¹, Región de estiramiento C-H alifático.

3.5. Análisis multivariado de datos mediante análisis de componentes principales (PCA)

En el análisis estadístico mediante PCA se consideraron las muestras mayormente sospechadas de presentar PBDEs según estudios preliminares⁽⁷⁷⁾. El PCA incluyó 15 muestras de barros y sedimentos de la zona media y baja de la cuenca del Río Mendoza. Los datos incluyeron 9 variables (materia orgánica, pH, conductividad eléctrica, concentraciones de BDE-47, BDE-100, BDE-99, BDE-153, CH₂/CH₃ y Al/Ox) y 15 determinaciones (matriz de 9 por 15). En la Fig. 34, se muestra la representación de las variables en el plano definido por las componentes 1 y 2 y en la Fig. 35 se pueden ver las muestras representadas en el plano definido por las mismas variables. En la Tabla 14 se muestra la matriz de datos químicos y fisicoquímicos de las muestras estudiadas.

Muestra	Materia Orgánica (g/Kg)	pH	C.E. (μs/cm)	BDE-47	BDE-100	BDE-99	BDE-153	CH ₂ /CH ₃	Al/Ox
M12	11,357	5,5	1023	0	0	0	0	1	1,51
M25	26,584	5	2280	0	0	0	0	2,4	0,6
M26	25,6	5	3030	0	0	0	0	2,6	0,74
M28	59,571	5,5	3710	0	0	0	0	2,3	0,31
M29	45,16	6	4160	58,7	10	18,6	24	1,8	0,48
M30	11,947	5	1569	0	0	0	0	2,2	0,73
M31	10,301	5	1145	96,8	114,8	39,8	63,4	1,1	0,54
M33	14,882	7,47	1796	178,2	144,1	67,5	68,9	1,2	0,69
M34	23,126	7,24	1826	11,4	47,1	54,1	0	1,8	0,31
M35A	5,78	7,29	1926	0	0	0	0	2,3	0,2
M37	18,553	4,5	3780	12,3	10	18,6	24	1,6	0,29
M42	14,316	7,27	2730	0	0	0	0	3	0,07
M43	11,306	5,5	5580	14,7	10	18,6	24	0,9	0,25
M47	10,402	7,8	2480	0	0	0	0	1,6	0,43
M65	14,953	5	5430	0	0	0	0	1,7	0,1

La matriz de correlación se muestra en la Tabla 15 y en la Fig. 34. La solución aceptada de tres componentes se muestra en la Tabla 16. Aquí se puede ver que las tres primeras componentes explican el 78,3% de la varianza total del sistema. En la Fig. 35 se observa que las muestras M29, M31, M33, M34 y M43, están ubicadas fundamentalmente en los cuadrantes dominados los congéneres de PBDEs (variables que explican la componente principal 1, ver Tabla 16 y Fig. 35). La única excepción es la muestra M37 caracterizada por sus bajas concentraciones de PBDEs y su elevado valor de C.E.

Tabla 15, documento adjunto.

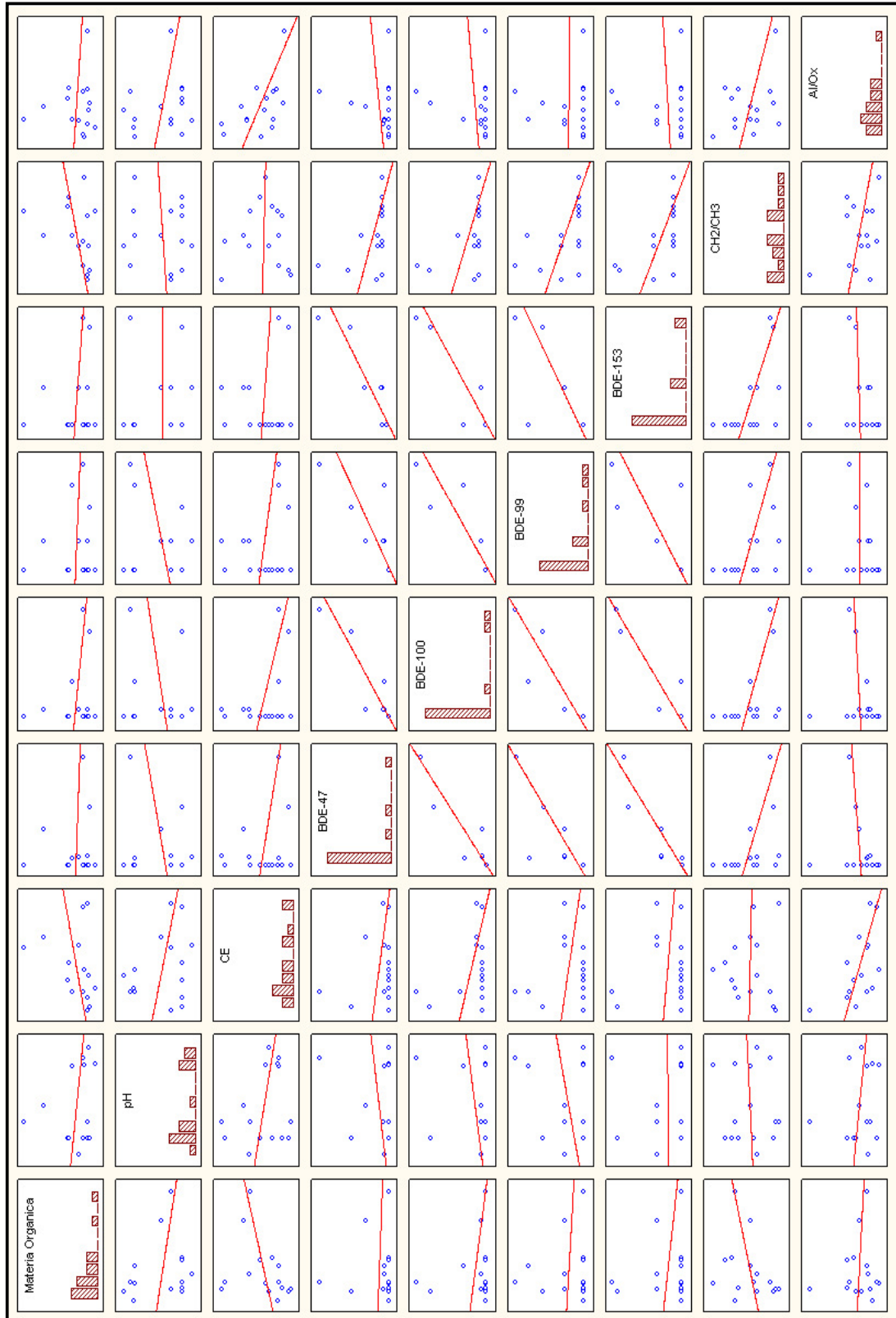


Fig. 34: Matriz de correlación.

Tabla 16. Solución aceptada de tres componentes después de rechazar los componentes con autovalores menores que la unidad.				
Variable	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Varianza
Mat. Org.	-0,24846	-0,46601	-0,20657	32,16
pH	0,23171	0,04285	0,8673	80,77
CE	-0,35574	-0,78542	-0,29953	83,32
BDE-47	0,93571	-0,161	0,00742	90,15
BDE-100	0,96678	-0,06822	0,07532	94,50
BDE-99	0,88808	-0,20876	0,12549	84,80
BDE-153	0,91657	-0,22065	-0,17283	91,87
CH ₂ /CH ₃	-0,63019	-0,05588	0,47283	62,38
Al/Ox	0,21008	0,78024	-0,44585	85,17
Autovalores	4,12226	1,57061	1,3583	7,05117
Varianza explicada acumulada (%)	45,8029	63,2542	78,3464	

Las muestras M25, M26, M30, M35A y M47 se agrupan de acuerdo con sus elevados valores de la relación Al/Ox y moderados a bajos valores de materia orgánica y C.E., respectivamente (variables que explican la componente principal 2, ver Tablas 14 y 16 y Fig. 35). No se detectaron PBDEs en este sub-grupo de muestras.

La muestra M12, en la que no se detectaron PBDEs, posee características particulares, ubicándose alejada de las demás. Esto puede explicarse por su elevado valor de la relación Al/Ox (el más alto de todas las muestras estudiadas). Esto podría indicar una mayor oxidación de la materia orgánica evidenciada por la disminución de los picos en la zona 1600-1800 cm⁻¹ de los espectros de IR (disminución del área del pico Ox y el respectivo aumento de la relación Al/Ox).

Las muestras M28, M42 y M65 son las que, en efecto, presentan los mayores valores de conductividad eléctrica y contenido de materia orgánica y en las que tampoco se detectaron PBDEs.

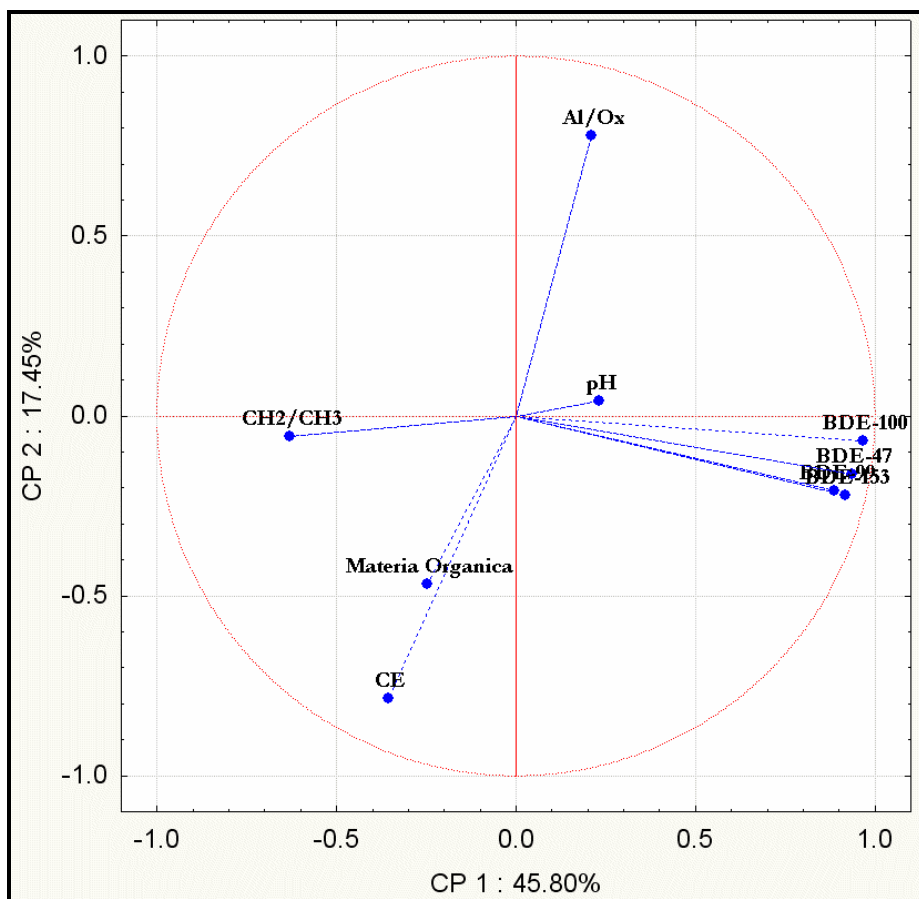


Fig. 35. Representación de las variables en el plano definido por las componentes 1 y 2

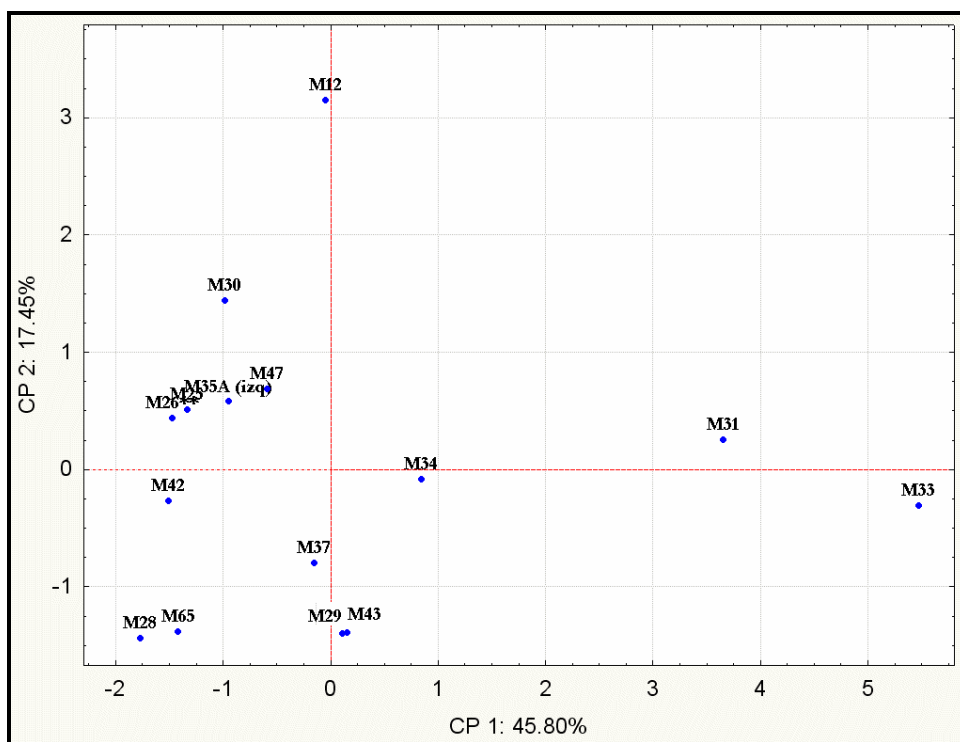


Fig. 36. Representación de las muestras en el plano definido por las componentes 1 y 2

3.6. Discusión general

Este es uno de los primeros estudios que reporta la presencia de PBDEs en barros y sedimentos en Argentina y en particular en la Cuenca del Río Mendoza. En un estudio preliminar realizado por el equipo de Investigación y Desarrollo en Química Analítica (QUIANID, LISAMEN – CCT – CONICET - Mendoza) en las aguas superficiales de la mencionada cuenca se encontró que el BDE-47 fue el congénere más abundante⁽⁷⁸⁾, lo cual concuerda con los datos reportados en la bibliografía para este tipo de muestras⁽⁷⁹⁾. Este resultado puede ser explicado teniendo en cuenta las polaridades de los compuestos. Los PBDEs con menor número de átomos de bromo (Tabla 6) presentan mayor carácter polar que aquellos congéneres con un número mayor de sustituciones bromadas⁽⁸⁰⁾. En lo que respecta a los resultados de las muestras de barros y sedimentos, se encontraron concentraciones de estos cuatro congéneres significativamente mayores que en las muestras de agua de las mismas estaciones de muestreo. Estos resultados conciden con⁽⁸¹⁾ quien reporta que los PBDEs presentan una gran afinidad por la materia orgánica presente en este tipo de muestras. En base a estos resultados significativos es de interés del grupo de investigación ampliar las regiones de estudio en futuras campañas de muestreo considerando las zonas con menor actividad antrópica.

El canal Pescara (Ref. M26 y M29) es un conducto artificial utilizado para riego agrícola y colector industrial. El canal tiene una longitud de 15 km y en su recorrido es posible encontrar un tramo a cielo abierto (Ref. M26) y otro cuyas aguas vienen en un ducto cerrado. En este acueducto aproximadamente 60 establecimientos industriales vuelcan sus efluentes⁽⁸²⁾. Ambos tramos (abierto y cerrado) confluyen a una cámara de mezcla (Ref. M29) donde continúan su recorrido a cielo abierto. Posteriormente se une con el canal Auxiliar Tulumaya (Ref. M34) y finalizan su recorrido en el departamento de Lavalle donde irrigan aproximadamente 7000 hectáreas de cultivo.

Por otro lado, el arroyo Fernández (Ref. M33) y Santos Lugares (Ref. 37) constituyen canales de riego y reciben los desagües provenientes de la zona urbana, industrial y agrícola. Por tal motivo es factible encontrar este tipo de contaminante cuyo origen está relacionado con actividades antrópicas.

Desagüe Moyano, Cuádruple Comparto, Desagüe Jocoli y Paramillos (Ref. M44, M43, M47 y M65 respectivamente) son canales colectores que reciben efluentes de las plantas de tratamiento de líquidos cloacales. De acuerdo con los lodos y barros residuales⁽⁸³⁾ son considerados una de las matrices que mayormente acumulan PBDEs. Los valores

hallados en el presente trabajo son menores a los reportados en la bibliografía para este tipo de muestras⁽⁸⁴⁾. Sin embargo son notoriamente superiores a los valores hallados en el resto de las muestras analizadas en el presente estudio.

El análisis de la matriz de correlación (Tabla 15 y Fig. 34) indica que las correlaciones existentes entre las concentraciones de los distintos congéneres de PBDEs y las variables estudiadas (químicas y fisicoquímicas) no son superiores a 0,58 en ninguno de los casos. Estos resultados indican que hay poca dependencia (entendida como relación lineal) entre las distintas variables (considerando el número de variables y el número de muestras aquí estudiadas). Sin embargo, resultan interesantes las correlaciones observadas (negativas; $r > -0,46$) entre las concentraciones de PBDEs y las relaciones CH_2/CH_3 (derivadas de espectros de FT-IR) de los componentes alifáticos de la materia orgánica encontrada en cada muestra (ver Tabla 15 y Fig. 34). La correlación más alta encontrada ($r = -0,58$) corresponde al congénere BDE-153. Esto podría indicar una relación de proporcionalidad inversa entre el contenido PBDEs y la relación CH_2/CH_3 . Así por ejemplo, se podría decir que al disminuir la relación CH_2/CH_3 , aumentaría el contenido de PBDEs (por otro lado la Tabla 10 indica que las muestras con los mayores valores de la relación CH_2/CH_3 no registran PBDEs). Como se mencionó anteriormente, una menor relación CH_2/CH_3 indicaría cadenas laterales más cortas y/o más ramificadas y por ende, un carácter no-polar más remarcado^(85,86). La disminución de la relación CH_2/CH_3 podría estar asociada con la ruptura de cadenas laterales alifáticas⁽⁸⁷⁾ presentes en la materia orgánica de los sedimentos, lo que estaría de acuerdo con la afinidad existente entre los PBDEs y la materia orgánica presente en este tipo de muestras, agregando además la característica de degradación de la materia orgánica (bajas relaciones CH_2/CH_3).

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIÓN GENERAL

Si bien en la República Argentina aún no se había estudiado la presencia de PBDEs en el ambiente, era de sospechar que estuviesen presentes en nuestros ecosistemas debido a que muchos materiales poliméricos son empleados doméstica e industrialmente en el territorio nacional. Además, las propiedades físico-químicas de los mismos le confieren una alta afinidad al material particulado atmosférico presente en corrientes de agua y aire, por lo que son fácilmente transportados en estos medios. Su notoria estabilidad química, hace posible encontrar concentraciones elevadas en muestras de sedimento, siendo el caso de los ecosistemas estudiados.

Estas características de transporte y acumulación que presentan los PBDEs se encuentran favorecidas por aquellos sustratos donde la materia orgánica presenta mayor estado de degradación. Como se propone aquí, esto podría estudiarse utilizando espectrometría infrarroja semi-cuantitativa y calculando algunas relaciones de áreas derivadas de los espectros de IR. Por ejemplo, bajas relaciones CH_2/CH_3 indicarían cadenas laterales cortas y/o ramificadas producidas por la degradación (ruptura de enlaces) de cadenas hidrocarbonadas largas unidas a macromoléculas.

Si bien los niveles de PBDEs presentes en las muestras de barros y sedimentos provenientes de la Cuenca del Río Mendoza y embalse El Carrizal son menores a los reportados por la bibliografía, no hay que desestimar la exposición de la población a estos nuevos contaminantes emergentes de los cuales disponemos de poca información sobre su presencia y distribución en nuestros ecosistemas.

Sin duda alguna, debido a la implicancia que este nuevo grupo de contaminantes persistentes tiene sobre el ambiente y la salud, es de interés local y regional su análisis cuali- y cuantitativo. Por este motivo, en futuros trabajos de investigación, el mayor esfuerzo será volcado al estudio de estos compuestos en otras muestras ambientales sospechadas de contaminación.

CAPÍTULO V

5. BIBLIOGRAFÍA

1. Alae, M., Arias, P., Sjödin, A., Bergman, Å., 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ. Int.* 29, 683-689.
2. Watanabe, I. y R. Tatsukawa 1990. Anthropogenic brominated aromatics in the Japanese environment. Workshop on brominated aromatic flame retardants. Swedish National Chemicals Inspectorate, Suecia.
3. Darnerud, P.O., Eriksen, G.S., Joë hannesson, T., Larsen, P.B., Viluksela, M., 2001. Polybrominated diphenyl ethers: Occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environ. Health Persp.* 109, 49-68.
4. Darnerud, P.O. 2003. Toxic effects of brominated flame retardants in man and wildlife. *Environ. Int.* 29: 841-853.
5. Lista de niveles máximos para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos, parte 1 CF/2 INF/2.
6. BSEF. (2001). Major Brominated Flame Retardants Volume Estimates Total Market Demand by Region. Brussels Bromine Science and Environmental Forum. Available http://www.bsef-sit-com/docs/BFR_vols_2001.doc.
7. BSEF, 2006. Information provided by the BSEF in July 2006. Figures for 2004 and 2005 will be forthcoming. Brominated Science and Environmental Forum. 2001. Major brominated flame retardants volume estimates. Total market demand by region 2001. 21 January 2003. www.bsef.com.
8. **ATSDR**: Agency for toxic Substance & Disease Registry. Resumen de Salud Pública. Éteres de polibromobifenilos (Polybrominated Diphenyl Ethers), Septiembre 2004.
9. KEMI, 1994a; WHO/IPCS, 1994b: Listado adicional al Convenio de Estocolmo: Sustancias de uso industrial: RETARDANTES DE FLAMA; Juan Barrera Cordero, Arturo Gavilán García, José Castro Díaz.
10. Peltola, J. y Yla-Mononen, L. (2001). Pentabromodiphenyl ether as a global POP. *TemaNord* 2001, Vol. 579. Copenhagen: Nordic Council of Ministers; ISBN 92-893-0690-4: 78 págs.
11. Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes, Comité de Examen de los Contaminantes Orgánicos Persistentes. Segunda reunión, Ginebra, 6 a 10 de noviembre de 2006.

12. Wilford, B.H., Shoeib, M., Harner, T., Zhu, J. and Jones, K.C. 2005. Polybrominated Diphenyl Ethers in Indoor Dust in Ottawa, Canada: Implications for Sources and Exposure. *Environ. Sci. Technol.* 39(18): 7027-7035.
13. Hale RC, La Guardia MJ, Harvey EP, Mainor TM. Potential role of FIRE_retardant-treated polyurethane foam as a source of brominated_diphenyl ethers to the US environment. *Chemosphere* 2002; 46: 729-735.
14. Stapleton HM, Dodder NG, Offenberg JH, Schantz MM and Wise SA. Polybrominated Diphenyl Ethers in House Dust and Clothes Dryer Lint. *Environmental Science Technology* 2005; 39: 925-931.
15. Sjödin, A., Patterson D., Bergman A. (2003). A review on human exposure to brominated flame retardants-particularly polybrominated diphenyl ethers. *Environment International.* 29,829-839.
16. Ryan J., Patry B. (2002). Recent trends in levels of brominated flame retardants in human milks from Canada. Presented at Dioxin 2002, 11-16 August 2002, Barcelona, Spain.
17. López, D., Athanasiadou, M. and Athanassiadis, I. 2004. A preliminary study on PBDEs and HBCD in blood and milk from Mexican women. The third international workshop on brominated flame retardants, BFR 2004.
18. Källqvist, T., Grung, M. and Tollefsen, K-E. Chronic toxicity of 2,4,2',4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) on the marine alga *Skeletonema costatum* and the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* (accepted for publication).
19. Hallgren S, Sinjari T, Hakansson H, Darnerud PO Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated 162 biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice. *Archives of Toxicology* 2001; 75: 200-208.
20. Darnerud PO, Eriksen GS, Johannesson T, Larsen PB, Viluksela M. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environmental Health Perspectives* 2001; 109: 49-68. Review.
21. Darnerud PO, Risberg S. Tissue localisation of tetra- and pentabromodiphenyl ether congeners (BDE-47, -85 and -99) in perinatal and adult C57BL mice. *Chemosphere* 2006; 62: 485-493.
22. Darnerud PO. Brominated flame retardants as possible endocrine disruptors. *International Journal of Andrology* 2008; 31: 152-160.

23. PROGRAMA DEL CÁNCER DEL SENO Y FACTORES AMBIENTALES DE RIESGO (BCERF). Program on Breast Cancer and Environmental Risk Factors (BCERF) <http://envirocancer.cornell.edu>.
24. GENOTOXICIDAD: Capacidad de algunos elementos (físicos, químicos o biológicos) de producir alteración en el material genético por cambios en el ADN o en las estructuras intracelulares vinculadas al funcionamiento o propiedades de los cromosomas.
25. RECEPTOR Ah: factor de transcripción que parece funcionar asociado con una segunda proteína. Una vez activado, se genera el aumento de la transcripción de un conjunto de genes con elementos sensibles en sus regiones promotoras.
26. Pop VJ. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clinical Endocrinol.* 1999; 50: 149-155.
27. Morreale de Escobar G, et al. Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism or to maternal hypothyroxinemia? *Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 3.975-3.987.
28. Howdeshell K. A model of the development of the brain as a construct of the thyroid hormone system. *Environ Health Perspect.* 2002; 110: 337-348.
29. Haddow JE, et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med.* 1999; 341: 549-555.
30. Zhou T, Ross DG, Michael J, DeVito MJ, Crofton KM. Effects of short term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicol Science.* 2001; 61: 76-82.
31. Hallgren S, Darnerud PO. Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and chlorinated paraffins (CPs) on thyroid hormone levels and enzyme activities in rats. *Organohalogen Compounds.* 1998; 35: 391-394.
32. Fowles JR. Immunologic and endocrine effects of the flame-retardant pentabromodiphenyl ether (DE-71) in C57BL/6J Mice. *Toxicology.* 1994; 86: 49-61.
33. Porterfield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development current perspectives. *Endocrinol Rev.* 1993; 14: 94-106.
34. Oern U, Klasson-Whehler E. Metabolism of 2, 2', 4, 4'-tetrabromodiphenyl ether in rat and mouse. *Xenobiotica.* 1998; 28: 199-211.

35. McDonald T, California EPA. A perspective on the potential health risks of PBDEs, *Chemosphere*. 2002; 46: 745-755.
36. Eriksson P. Brominated flame retardants: A Novel class of developmental neurotoxicants in our environment? *Environ Health Perspect*. 2001; 109: 903-908.
37. Eriksson P. A brominated flame retardant, 2, 2', 4, 4', 5- pentabromodiphenyl ether: uptake, retention, and induction of neurobehavioral alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicol Sci*. 2002; 67: 98-103.
38. Viberg H, Fredriksson A, Jakobsson E. Developmental neurotoxic effects of 2, 2', 4, 4', 5-pentabromodiphenyl ether in the neonatal mouse. *Toxicologist*. 2000; 54: 1.360.
39. Eriksson P, Viberg H, Jakobsson E, Orn U, Fredriksson A. A brominated flame retardant, 2, 2', 4, 4', 5-pentabromodiphenyl ether: uptake, retention, and induction of neurobehavioral alterations in mice during a critical phase of neonatal brain development. *Toxicol Sci*. 2002; 67: 98-103.
40. Darnerud, P.O. 2003. Toxic effects of brominated flame retardants in man and wildlife. *Environ. Int*. 29: 841-853.
41. Main et al. Flame Retardants in Placenta and Breast Milk and Cryptorchidism in Newborn Boys. *Environmental Health Perspectives* Vol. 115. Num. 10. oct 2007).
42. Jacobson JL, Jacobson SW, Humphrey HB. Effects in utero of exposure to polychlorinated biphenyls and related contaminants on cognitive-functioning in young children. *J Pediatr*. 1990; 116: 38-45.
43. Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. Comité de Examen de los Contaminantes Orgánicos Persistentes. Primera reunión, Ginebra, 7 a 11 de noviembre de 2005.
44. INDEC, 2004. National Institute of Statistics and Censuses of the Argentine Republic. <http://www.indec.mecon.gov.ar/>.
45. Públicas, S.d.O. 2004. Estadística Hidrológica de la República Argentina 2004. Subsecretaría de Recursos Hídricos, <http://www.hidricosargentina.gov.ar/estad2004/sus-1412.htm>.
46. "Determinación de Retardantes de Llama (Polibromados Difenil Éteres) en Material Sedimentario de la Cuenca del Río Mendoza y Embalse El Carrizal, Mendoza, Argentina". Nerina Belén Lana, Carolina I. Masi, José A. D'Angelo, Néstor Ciocco y Jorgelina Altamirano.
47. ISO 11265:1994 (E). Soil quality – Determination of the specific electrical conductivity.

48. www.drcalderonlabs.com/.../MetodosQuimicosSuelos.htm.
49. Jackson, M. 1976. Análisis químico de suelos. Ed. Omega. Barcelona. 662 pp.
50. Davies, B. 1974. Loss-on ignition as an estimate of soil organic matter. *Soil Sci. Proc.* 38: 150.
51. Walkley, A & I Black. 1934. An examination of the Degtjareff method and a proposed modification of the chromic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 34: 29-38.
52. Lección 2: Constituyentes del suelo. Fase Sólida, Materia Orgánica. Departamento de Edafología y Química Agrícola, Universidad de Granada. España. Unidad Docente e Investigadora de la Facultad de Ciencias. 28/05/2010. www.edafologia.ugr.es/introeda/tema02/prop.htm.
53. De Wikipedia, la enciclopedia libre.
54. Cromatografía Gaseosa; Fábio Augusto, Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química; www.chemkeys.com.
55. Allchin, C.R., Law, R.J., Morris, S., 1999. Polybrominated diphenylethers in sediments and biota downstream of potential sources in the UK. *Environ Pollut* 105, 197-207.
56. Salgado-Petinal, C., Llompart, M., García-Jares, C., García-Chao, M., Cela, R., 2006. Simple approach for the determination of brominated flame retardants in environmental solid samples based on solvent extraction and solid-phase microextraction followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry. 1124, 139-147.
57. M. Sobkowiak, P. Painter, 1992. Determination of the aliphatic and aromatic CH contents of coals by FT-i.r.: studies of coals extracts. 71, 1105-1125.
58. Mastalerz, M., Bustin, R.M., 1993. Electron microprobe and micro-FTIR analyses applied to Maceral chemistry. 24, 333-345
59. D'Angelo, J.A., 2006. Analysis by Fourier transform infrared spectroscopy of *Johnstonia*_(*Corystospermales*, *Corystospermaceae*) cuticles and compressions from the Triassic of Cacheuta, Mendoza, Argentina 43 (4), 669–685.
60. Kauppinen, J.K., Moffatt, D.J., Mantsch, H.H., Cameron, D.G., 1981. Fourier transform in the computation of self-deconvoluted and first order derivative spectra of overlapped band contours. 53, 1454-1457.

61. Painter, P.C., Coleman, M.M., Snyder, R.W., Mahajan, O., Komatsu, M., Walker, P.L. Jr., 1981a. Low temperature air oxidation of coking coals: Fourier transform infrared studies. *Applied Spectroscopy* 35, 106-110.
62. Painter, P.C., Snyder, R.W., Starsinic, M., Coleman, M.M., Kuehn, D.W., Davis, A., 1981b. Concerning the application of FT-IR to the study of coal: A critical assessment of band assignments and the application of spectral analysis programs. *Applied Spectroscopy* 35, 475-485.
63. Painter, P.C., Starsinic, M., Coleman, M.M., 1985. Determination of functional groups in coal by Fourier transform interferometry. In: Ferraro, J.R., Basile, L.J. (Eds.), *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*, Vol. 4. Academic Press, New York. pp. 169–240.
64. Shurvell, H.F., 2002. Spectra–Structure Correlations in the Mid- and Far-infrared. In: J. Chalmers and P. Griffiths (Eds.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, Volume 3: Sample Characterization and Spectral Data Processing. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 611 pp.
65. Colthup, N.B., Daly, L.H., Wiberley, S.E., 1990. *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*. Academic Press, New York, 547 pp.
66. Stuart, B., 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons Ltd., England, 224 pp.
67. Wang, S.H., Griffith, P.R., 1985. Resolution enhancement of reflectance IR spectra of coals by Fourier self-deconvolution. 1. C-H stretching and bending modes. *Fuel* 64, 229-236.
68. Sobkowiak, M., Painter, P., 1992. Determination of the aliphatic and aromatic CH contents of coals by FT-i.r.: studies of coals extracts. *Fuel* 71, 1105-1125.
69. D'Angelo, J., 2004. FT-IR determination of aliphatic and aromatic C-H contents of fossil leaf compressions. Part 2: applications. *Anuario Latinoamericano de Educación Química (ALDEQ)* 18, 34- 38.
70. D'Angelo, J., Marchevsky, E., 2004. FT-IR determination of aliphatic and aromatic C-H contents of fossil leaf compressions. Part 1: analysis, curve-resolving and choice of bands. *Anuario Latinoamericano de Educación Química (ALDEQ)* 17, 37-41.
71. Mastalerz, M., Bustin, R.M., 1993. Electron microprobe and micro-FTIR analyses applied to Maceral chemistry. *International Journal of Coal Geology* 24, 333-345.

72. D'Angelo, J. A., 2006. Analysis by Fourier transform infrared spectroscopy of *Johnstonia* (Corystospermales, Corystospermaceae) cuticles and compressions from the Triassic of Cacheuta, Mendoza, Argentina. *Ameghiniana* 43, 669-685.
73. Zodrow, E.L., D'Angelo, J. A., Mastalerz, M., Keefe, D., 2009. Compression-cuticle of seed ferns: Insights from liquid-solid states FTIR (Late Palaeozoic-Early Mesozoic, Canada-Spain-Argentina). *International Journal of Coal Geology* 79, 61-73.
74. Kauppinen, J. K., Moffatt, D. J., Mantsch, H. H., Cameron, D. G., 1981a. Fourier transform in the computation of self-deconvoluted and first order derivative spectra of overlapped band contours. *Analytical Chemistry* 53, 1454-1457.
75. StatSoft, I., 2001. STATISTICA (data analysis software system). version 6, www.statsoft.com.
76. Quattrocchi, O.A., Andrizzi, S.A.d., Laba, R.F., 1992 *Introducción a la HPLC, aplicación y práctica*.
77. Lana, N.B., Fontana, A.R., Silva, M.F., D'Angelo, J.A., W.Volkheimerb, Ciocco, N.F., Altamirano, J., 2008. Determinación de contaminantes persistentes del ambiente (polibrominados difenil éteres) en aguas superficiales de la cuenca del Río Mendoza mediante cromatografía gaseosa con detección de masas. XVII CONGRESO GEOLOGICO ARGENTINO, San Salvador de Jujuy, Argentina, pp. 1148-1149.
78. Lana, N. B., Masi, C. I., D'Angelo, J. A., Ciocco, N. y Altamirano, J. Determinación de retardantes de llama (Polibromados Difenil Éteres) en material sedimentario de la cuenca del Río Mendoza y Embalse El Carrizal, Mendoza, Argentina, "ENCUENTRO INTERNACIONAL ICES 5" 24-27/09/2009.
79. Ikonomou, M.G., Rayne, S., Addison, R.F., 2002. Exponential increases of the brominated flame retardants, polybrominated diphenyl ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1886-1892. Hale, R.C., La Guardia, M.J., Harvey, E., Gaylor, M.O., Mainor, T.M., 2006. Brominated flame retardant concentrations and trends in abiotic media. *Chemosphere* 64, 181-186.
80. Braekevelt, E., Tittlemier, S.A., Tomy, G.T., 2003. Direct measurement of octanol-water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. *Chemosphere* 51, 563-567.

81. Oros, D.R., Hoover, D., Rodigari, F., Crane, D., Sericano, J., 2005. Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers in water, surface sediments, and bivalves from the San Francisco. *Environ. Sci. Technol.* 39, 33-41.
82. OIKOS. 2004. Oikos Environmental network.
<http://www.oikosredambiental.org.ar/documentos/canalpescara.pdf>.
83. Law, R.J., Allchin, C.R., de Boer, J., Covaci, A., Herzke, D., Lepom, P., Morris, S., Tronczynski, J., de Wit, C.A., 2006. Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment. *Chemosphere* 64, 187-208.
84. North, K.D., 2004. Tracking polybrominated diphenyl ether releases in a wastewater treatment plant effluent, Palo Alto, California. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4484-4488.
85. Lin, R., Ritz, G.P., 1993a. Reflectance FT-IR microspectroscopy of fossil algae contained in organic-rich shale. 47, 265- 271.
86. Lin, R., Ritz, G.P., 1993b. Studying individual macerals using i.r. microspectroscopy, and implications on oil versus gas/condensate proneness and “low-rank” generation. 20, 695-706.
87. Guo, Y., Bustin, R.M., 1998. Micro-FTIR spectroscopy of liptinite macerals in coal 36 (3-4), 259-275.