

**“ESTUDIO Y DESARROLLO DE ESTRATEGIAS
MODERNAS DE EXTRACCIÓN PARA LA
DETERMINACIÓN DE DIFENIL ÉTER
POLIBROMADOS EN MATRICES AMBIENTALES
SÓLIDAS”**

Facultad de Ciencias

Tesis entregada a la Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

Doctor en Química

Por

Jorge Esteban Rivas Pérez

Marzo, 2011

Director de Tesis: **Dr. Pablo Richter Duk**

Co-Director de Tesis: **Prof. María Inés Toral Ponce**



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE



INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato.

JORGE ESTEBAN RIVAS PEREZ

Ha sido aprobada por la comisión de Evaluación de la tesis como requisito para optar al grado de Doctor en Química, en el examen de Defensa de Tesis rendido el 26 de noviembre de 2010

Director de Tesis:

Dr. Pablo Richter Duk

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "Pablo Richter Duk", written over a dotted line.

Co-Director de Tesis:

Prof. María Inés Toral Ponce

A handwritten signature in blue ink, appearing to be "María Inés Toral Ponce", written over a dotted line.

Comisión de Evaluación de la Tesis

Dr. Hernán Ríos

Dr. Mauricio Escudey

Dr. Guillermo Díaz

Dr. Jorge Mendoza

Four handwritten signatures in blue ink, corresponding to the names listed on the left, written over dotted lines.



DEDICATORIA



*“Todo lo mío...
...a ti Benjamín Esteban”*

“Mientras los hombres sean libres para preguntar lo que deben; libres para decir lo que piensan; libres para pensar lo que quieran; la libertad nunca se perderá y la ciencia nunca retrocederá”

Julius Robert Oppenheimer

“...Don't let the day go by/ Don't let it end/ Don't let a day go by in doubt/The answer lies within...”

The answer lies within – Dream Theater

***“...So understand
Don't waste your time always searching for those wasted years
Face up...make your stand
And realise you're living in the golden years...”***

Wasted Years, Iron Maiden

No es para tomarlo literal, sólo hay que aprovechar cada momento de la vida

RESUMEN BIBLIOGRÁFICO



Jorge Esteban Rivas Pérez nació en Santiago de Chile el 28 de Enero de 1980, recibió su enseñanza básica en el Colegio Kennedy y media en el Liceo de Aplicación. A la edad de 18 años ingresó a la Facultad de Ciencias de la Universidad de Chile donde obtuvo el grado de Licenciado en Ciencias con mención en Química. Luego de una serie de decisiones, en 2006 ingresó al programa de Doctorado en Química de la misma Universidad, donde bajo la tutela del Dr. Pablo Richter y Prof. María Inés Toral, desarrolló su tesis doctoral sobre el desarrollo de metodologías de extracción y estudios de sorción de retardantes de llamas bromados en muestras ambientales sólidas. El 27 de septiembre de 2007, nació su más grande alegría y razón de vivir, su hijo Benjamín Esteban. El Licenciado Rivas se ha desempeñado durante sus estudios de pregrado y postgrado en la docencia en el área de la química analítica, tanto en cátedras y laboratorio en la Universidad de Chile, Universidad Nacional Andrés Bello, y actualmente es académico de la Universidad Iberoamericana de Ciencias y Tecnología.

AGRADECIMIENTOS



Esta etapa, el doctorado, finaliza, pero su comienzo es desde el pre-grado, y quiero agradecer a aquellas personas que han estado conmigo, y en especial durante el tiempo que ha durado esta tesis:

A mis profesores María Inés Toral y Dr. Pablo Richter, por todo su apoyo, dedicación, y ayuda en este período, por entregarme un apoyo no sólo en la formación científica y experiencia entregada, sino en lo personal.

A los miembros de mi comisión evaluadora, los profesores Dr. Hernán Ríos, Dr. Mauricio Escudey, Dr. Guillermo Díaz y Dr. Jorge Mendoza, por su disposición y consejos durante todo el desarrollo de este trabajo.

A todos los profesores de la Facultad de Ciencias y de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, que me aportaron en mi formación durante el pre- y post-grado, en especial quiero agradecer a la Profesora Sylvia Copaja por toda su ayuda y consejos y a la Profesora Inés Ahumada por recibirme en su laboratorio y por su paciencia.

A las becas otorgadas por CONICYT, de doctorado y apoyo a la realización de tesis doctoral N°24080053, y los proyectos FONDECYT N° 1070616 y N° 1100085, que posibilitaron el desarrollo de esta tesis.

Al CEPEDEQ de la Universidad de Chile, por su colaboración en la parte cromatográfica, sobre todo Carolina Acuña, Javiera Parra, Paola Salgado, Jorge Manríquez, Juan Calderón, "Juanito", y en especial a Betsabel Sepúlveda, gracias "super betsa"

A mi familia, María Ximena por sobre todo su infinita paciencia para estar conmigo en las buenas y en las malas, y mis padres Susana y Jorge, por confiar en mí, comprenderme y darme todo su cariño.....gracias a ustedes

A Cristian Poblete, Victoria "Pato" Ortega, Sandra Orellana, Marcelo Muñoz, Rodrigo Segura, Paulina Dreyse, Big Boss o Christian González, Roxana Tessada, la chica, Carmen Saavedra, la china, Claudio Escobar, que me han dado su amistad y compañía en diferentes etapas de este doctorado, en especial las no-académicas.

A los integrantes del Laboratorio de Química Ambiental de "Olivos", actual "Sapito" por los buenos momentos y por su ayuda, Gracias Catalina Pérez, la prima, Claudio Leiva ("Ani"), Mauricio Retamal, Mario Riquelme, Carla Toledo, Gabriela Rocco.

Gracias a ustedes, Ady, Loreto, Adolfo (*et al.*) por todo....

Y gracias a todos las personas que estuvieron en estos años y que sin ellos este tiempo hubiese sido más difícil de superar y cumplir.....gracias a mis pasiones mi bicicleta y roock....que me estimularon y relajaron de manera simultánea en algunos casos..... **GRACIAS A TODOS**

LISTA DE MATERIAS



DEDICATORIA	iv
RESUMEN BIBLIOGRÁFICO	v
AGRADECIMIENTOS	vi
LISTA DE MATERIAS	viii
LISTA DE TABLAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xix
RESUMEN	xxi
ABSTRACT	xxiv
CAPÍTULO I:	1
Introducción	1
1.- INTRODUCCIÓN	2
1.1.- Proceso de medida química	2
1.2.- Sistemas de Extracción	4
1.3.- Comportamiento de un contaminante orgánico en matrices sólidas	10
1.4.- Características de los AH	16
1.5.- Modelamiento de matrices sólidas	19
1.6.- Características de los PBDEs y Problemática Ambiental	23
CAPÍTULO II:	31
Hipótesis y Objetivos	31
. HIPÓTESIS	32
3. OBJETIVOS	33
3.1. Objetivo General	33
3.2. Objetivos Específicos	33
CAPÍTULO III:	35
Materiales y Métodos	35
4. MATERIALES Y MÉTODOS	36
4.1. Aparatos	36
4.2. Instrumentación	36
4.3. Reactivos	37
4.4. Procedimiento Analítico	37

4.4.1. Optimización del programa de temperatura para GC–ECD	37
4.4.2. Eliminación de la MO de una muestra de biosólido por calcinación.....	38
4.4.3. Eliminación de la MO de una muestra de biosólido por reacción de óxido-reducción	38
4.4.4. Purificación de ácido húmico (AH).....	39
4.4.5. Extracción de AH de muestras de suelo y biosólido	39
4.4.6. Caracterización de AH utilizado como material de referencia para la MO de las muestras-modelo.....	40
4.4.6.1. Determinación de la acidez total de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido	40
4.4.6.2. Determinación de la acidez carboxílica y fenólica de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido	41
4.4.6.3. Determinación de la relación E ₄ /E ₆ de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido	41
4.4.7. Preparación de muestras-modelos de sedimento.....	42
4.4.8. Preparación de muestras-modelos de biosólido A.....	42
4.4.9. Preparación de muestras-modelos de biosólido B.....	42
4.4.10. Preparación de muestras-modelos de biosólido C	43
4.4.11. Caracterización del contenido de carbono orgánico en muestras sólidas	43
4.4.12. Optimización del tratamiento de limpieza de los extractos de biosólido	43
4.4.13. Tratamiento de los extractos de sedimento	44
4.4.14. Procedimiento para estudio del efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en las muestras-modelo de biosólidos y sedimento	44
4.4.15. Efecto del medio acuoso sobre la adsorción de PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento	45
4.4.16. Efecto del tiempo de agitación sobre la adsorción de PBDEs en las muestras-modelo de biosólidos y sedimento.....	45
4.4.17. Elaboración de las isotermas de adsorción de PBDEs sobre las muestras-modelo de biosólidos y sedimento.....	46
4.4.18. Elaboración de la muestra de referencia para los estudios de extracción de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento	46
4.4.19. Estudio del tiempo de envejecimiento de la muestra-modelo de referencia de biosólido y sedimento	47
4.4.20. Elección del tipo de disolvente para la extracción de PBDEs	47
4.4.21. Estudios de extracción por extracción con disolvente presurizado (PLE) de los PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento.....	48

4.4.21.1. Diseño de “screening” para extracción en las muestras-modelo de biosólido y sedimento	49
4.4.21.2. Diseño de compuesto central para extracción en las muestras-modelo de biosólido.....	50
4.4.21.3. Diseño de compuesto central para extracción en las muestras-modelo de sedimento	52
4.4.22. Procedimiento optimizado de extracción con disolvente presurizado (PLE) de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento.	55
4.4.23. Procedimiento optimizado de extracción con disolvente presurizado y ultrasonido (PLE-USE) de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento.	55
4.4.24. Aplicación a muestras reales y muestras reales fortificadas.....	56
4.4.25. Extracción Soxhlet de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento	57
CAPÍTULO IV:	58
Resultados y Discusión	58
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
5.1. Optimización del programa de temperatura para GC–ECD.....	59
5.2. Caracterización de AH utilizado como material de referencia para la MO de las muestras-modelo.....	64
5.2.1. Determinación de la acidez total, acidez carboxílica y acidez fenólica de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido.....	64
5.2.2. Determinación de la relación E ₄ /E ₆ de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido	66
5.3. Optimización del tratamiento de limpieza de los extractos de biosólido.....	68
5.4. Preparación de muestras-modelo de sedimento y biosólido.....	72
5.4.1. Muestra-modelo de sedimento	72
5.4.2. Muestra-modelo de biosólido	75
5.4.2.1. Muestras-modelo de biosólido A, B y C	78
5.5. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en las muestras-modelos de biosólido	81
5.6. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en las muestras-modelo de sedimento	87
5.7. Estudio de sorción de PBDEs en las muestras-modelos de biosólido y sedimento.....	91
5.7.1. Estudio del medio acuoso.....	91
5.7.2. Estudio del tiempo de agitación.....	93
5.7.3. Isotermas de sorción.....	96

5.8. Estudio del tiempo de envejecimiento del material de referencia para la extracción de PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento.	126
5.9. Selección del disolvente para la extracción de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento seleccionados.....	129
5.10. Optimización de las variables químicas para la extracción de los PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido con extracción con disolvente presurizado (PLE), a través un diseño factorial de "screening"	136
5.11. Optimización de las variables químicas para la extracción de los PBDEs desde las muestras-modelo de sedimento con extracción con disolvente presurizado (PLE), a través un diseño factorial de screening.....	143
5.12. Optimización de las variables de extracción con disolvente presurizado (PLE) para las muestras-modelo de biosólido, a través de un diseño de compuestos centrales.....	149
5.13. Optimización de las variables de extracción con disolvente presurizado (PLE) para las muestras-modelo de sedimento.	157
5.14. Parámetros analíticos del método propuesto para la extracción de PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento.....	164
5.15. Aplicación a muestras sintéticas. Comparación con el sistema de extracción Soxhlet.....	166
5.16. Comparación de Técnicas de extracción.....	168
5.17. Aplicación a muestras reales	172
CAPÍTULO VI:	175
Conclusiones y Proyecciones de Tesis.....	175
6.- CONCLUSIONES.....	176
7. APORTES Y PROYECCIONES DE TESIS.....	179
CAPÍTULO VII:	181
Bibliografía	181
8. BIBLIOGRAFÍA.....	182
ANEXO I. PRESENTACIONES A CONGRESOS	190
ANEXO II. PUBLICACIONES	192

LISTA DE TABLAS



Tabla 1. Propiedades físicas y químicas generales de algunos congéneres de PBDEs (Kuramochi y col., 2007).....	23
Tabla 2. Diseño experimental factorial para la extracción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido y sedimento. Entre paréntesis se muestran las cantidades de muestra en mg y disolvente usado.	50
Tabla 3. Diseño experimental factorial para la extracción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido. Entre paréntesis se muestran la temperatura en °C, el tiempo de extracción en minutos y el flujo de disolvente en mL/min usados.	51
Tabla 4. Diseño experimental factorial para la extracción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido y sedimento. Entre paréntesis se muestran la temperatura en °C, el tiempo de extracción en minutos, el flujo de disolvente en mL/min y el tipo de disolvente* usados.	53
Tabla 5. Condiciones óptimas de extracción por PLE para las muestras de biosólido y sedimento.....	55
Tabla 6. Condiciones óptimas de extracción por PLE-USE para las muestras de biosólido y sedimento	56
Tabla 7. Estudio del programa de temperatura para la determinación de PBDEs por GC – ECD*	60
Tabla 8. Datos de eficiencia de la columna para la determinación de PBDEs por GC-ECD*	62
Tabla 9. Determinación de la acidez carboxílica, fenólica y total para los AH comercial y extraídos de suelo y biosólido.....	65
Tabla 10. Determinación de la acidez carboxílica, fenólica y total, t de la Relación E ₄ /E ₆ , para los AH comercial y extraídos de suelo y biosólido	67
Tabla 11. Porcentaje de recuperaciones de los PBDEs* para la optimización del tratamiento de limpieza.....	71
Tabla 12. Caracterización de las muestras-modelo de sedimento.....	73
Tabla 13. Caracterización de las muestras-modelo de biosólidos A, B y C.	79
Tabla 14. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en biosólido A	83
Tabla 15. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en biosólido B	84

Tabla 16. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en biosólido C	85
Tabla 17. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en muestra-modelo de sedimento.....	89
Tabla 18. Parámetros del modelo de sorción de Freundlich.....	107
Tabla 19. Parámetros del modelo de sorción de Langmuir.....	108
Tabla 20. Parámetros del modelo de sorción de modelo DRM.....	109
Tabla 21. Parámetros del modelo de sorción de modelo DMM	110
Tabla 22. Datos del modelo de correlación de log K_{OC} v/s log K_{OW} para los PBDEs en muestras de biosólido y sedimento.....	119
Tabla 23. Comparación del coeficiente de determinación (r^2) y análisis de chi-cuadrado para los modelos de sorción de los PBDEs seleccionados en las muestras-modelo de biosólido y sedimento.	122
Tabla 24. Cálculo de la energía libre de Gibbs para el proceso de sorción en los sistemas de estudio.....	125
Tabla 25. Elección del disolvente. Media geométrica del porcentaje de recuperación para la extracción de los PBDEs en estudio	134
Tabla 26. Parámetro de Hindebrand y Hanson teóricos para los PBDEs y de los disolventes utilizados.....	135
Tabla 27. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para biosólido	141
Tabla 28. Valores óptimos de cada factor, para cada grupo de compuestos en la optimización para la extracción desde la muestra de biosólido.....	143
Tabla 29. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para sedimento.....	147
Tabla 30. Valores óptimos de cada factor, para cada grupo de compuestos en la optimización para la extracción desde la muestra de sedimento	148
Tabla 31. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para biosólido	154
Tabla 32. Valores óptimos de los factores estudiados para cada analito y la Función D en la muestra-modelo de biosólido	156
Tabla 33. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para sedimento.....	161

Tabla 34. Valores óptimos de los factores estudiados para cada analito y la Función D en la muestra-modelo de sedimento..... 162

Tabla 35. Parámetros analíticos del método cromatográfico para los PBDEs estudiados (n = 12)..... 165

Tabla 36. Porcentajes de Recuperación de los PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento por extracción PLE y Soxhlet..... 167

Tabla 37. Comparación de condiciones de trabajo para la extracción de PBDEs desde muestras de biosólido y sedimento..... 167

Tabla 38. Comparación de condiciones de trabajo para la extracción de PBDEs desde muestras de biosólido y porcentaje de recuperación de los analitos..... 170

Tabla 39. Comparación de condiciones de trabajo para la extracción de PBDEs desde muestras de sedimento y porcentaje de recuperación de los analitos. 171

Tabla 40. Aplicación del método propuesto en muestras reales fortificadas de sedimentos y biosólidos..... 172

Tabla 41. Porcentajes de Recuperación de los PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento por extracción PLE y Soxhlet..... 174

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de las etapas del proceso de medida química, desde la toma de muestra hasta el análisis de resultados.....	3
Figura 2. Procesos involucrados en la extracción de muestras heterogéneas contenidas en partículas sólidas porosas. K_{es} es la constante de distribución fase de extracción/matriz, k_d es la constante de velocidad de disociación del complejo analito-matriz, y D_s y D_e representan la difusión del analitos en matriz y la fase de extracción, respectivamente.....	6
Figura 3. Clasificación de las sustancias húmicas de suelo.....	11
Figura 4. Representación del humus y los grupos fenolatos y carboxilato.....	16
Figura 5. Formación de sustancia húmicas desde la formación de quinonas a partir de productos de la degradación de la lignina provocada por microorganismo.....	18
Figura 6. Formación de sustancia húmicas a partir de quinonas y aminoácidos.....	19
Figura 7. Estructura de algunos retardantes de llama bromados.....	24
Figura 8. Formación de HBr, PBDDs y PBDFs a partir de BDE-209 (Ebert y Bahadir, 2003).....	25
Figura 9. Congéneres octabromados obtenidos a partir de debromación reductiva de congéneres BDE-206, BDE-207 y BDE-208.....	29
Figura 10a. Esquema del equipo de extracción con disolvente presurizado (PLE).	48
Figura 10b. Fotografía del equipo de extracción PLE.....	49
Figura 11. Cromatograma de los PBDEs en estudio por GC-ECD. Condiciones cromatográficas: Volumen de inyección $1\mu\text{L}$, split 1:10, Temperatura del inyector 250°C , Programa de temperatura: 160°C (1min), $160 - 260^\circ\text{C}$ a $15^\circ\text{C}/\text{min}$, $260 - 280^\circ\text{C}$ a $1,5^\circ\text{C}/\text{min}$ (280°C x 2min).....	63
Figura 12. Modelos de la estructura química de ácido húmico (AH).....	74
1: Modelo de Steelink, 2: Modelo de Temple-Northeastern-Birmingham (TNB).....	74
3: Modelo de Flaig, 4: Modelo de Fuchs, 5: Modelo de Dragunov 6: Modelo de Stevenson.....	74
Figura 13. TGA para la muestra de biosólido utilizada en elaboración de muestras-modelo.....	76
Figura 14. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido A, B y C.....	86

Figura 15. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en muestras-modelo de sedimento.....	88
Figura 16. Efecto del medio acuoso para la sorción de los PBDEs en muestras-modelo de biosólido y sedimento	92
Figura 17. Efecto del tiempo de agitación para la sorción de los PBDEs en muestras-modelo de biosólido.....	94
Figura 18. Efecto del tiempo de agitación para la sorción de los PBDEs en muestras-modelo de sedimento	95
Figura 19a. Isoterma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de biosólido B.	98
Figura 19b. Isoterma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de biosólido B	99
Figura 19c. Isoterma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de biosólido B	100
Figura 20a. Isoterma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de sedimento	101
Figura 20b. Isoterma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de sedimento	102
Figura 20c. Isoterma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de sedimento	103
Figura 21a. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de biosólido B.....	111
Figura 21b. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de biosólido B.....	112
Figura 21c. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de biosólido B.....	113
Figura 22a. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de sedimento.....	114
Figura 22b. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de sedimento.....	115
Figura 22c. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de sedimento.....	116
Figura 23. Correlación de log K_{OC} v/s log K_{OW} para los PBDEs en muestras de biosólido y sedimento	118
Figura 24. Tiempo de envejecimiento de PBDEs sobre la muestra-modelo de biosólido	128

Figura 25. Tiempo de envejecimiento de PBDEs sobre la muestra-modelo de sedimento.....	128
Figura 26. Efecto del disolvente sobre la extracción de PBDEs en la muestra-modelo de biosólido	131
Figura 27. Efecto del disolvente sobre la extracción de PBDEs en la muestra-modelo de sedimento.....	132
Figura 28a. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de biosólido	138
Figura 28b. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de biosólido	139
Figura 28c. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de biosólido	140
Figura 29a. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de sedimento.....	144
Figura 29b. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de sedimento.....	145
Figura 29c. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de sedimento.....	146
Figura 30a. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de biosólido	151
Figura 30b. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de biosólido	152
Figura 30c. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de biosólido	153
Figura 31. Gráfico de Pareto estandarizado y superficie de respuesta estimada para la función de Derringer de los PBDEs en la muestra de biosólido.	155
Figura 32a. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de sedimento.....	157
Figura 32b. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de sedimento.....	158
Figura 32c. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de sedimento.....	159

Figura 33. Gráfico de Pareto estandarizado y superficie de respuesta estimada para la función de Derringer de los PBDEs en la muestra de sedimento..... 163

LISTA DE ABREVIATURAS

PBDEs	difenil éter polibromados
PMQ	Proceso de medida química
PLE	Extracción con disolvente presurizado
MAE	extracción asistida con microondas
SFE	Extracción con fluidos supercríticos
USE	Extracción asistida con ultrasonido
PLE-USE	Extracción con disolvente presurizado-ultrasonido
SOM	materia orgánica disuelta
MO	Materia orgánica
PCBs	Bifenilos policlorados
AH, AF	Ácidos húmicos, ácidos fúlvicos
ATSDR¹	Agencia para sustancias tóxicas y el registro de enfermedades
BFRs	retardante de llamas bromados
ABS	acrilonitrilo-butadieno-estireno
HIPS	poliestireno de alto impacto
PCDDs	dibenzo- <i>p</i> -dioxinas policloradas
PCDFs	dibenzofuranos policlorados
PBDDs	dibenzo- <i>p</i> -dioxinas polibromadas
PBDFs	dibenzofuranos polibromados
EPA²	Agencia de protección ambiental
EDCs	disruptores endocrinos
TBA	tribromoanisol

GC-ECD	cromatografía de gases – detector de captura de electrones
MS	Espectrometría de masas
UV-visible	Ultravioleta-visible
DRM	modelo de reactividad distribuida
DMM	modelo de modo-dual
ASE	Extracción con solventes acelerados
FFD	Diseño fraccionario completo
CCD	Diseño de compuestos centrales

RESUMEN

Los avances científicos y tecnológicos han permitido la síntesis y utilización de nuevos productos químicos sintéticos, lo que conlleva a un creciente desarrollo económico e industrial, y por ende a una mejor calidad de vida. Sin embargo, también se ha producido un aumento creciente de la contaminación del medio ambiente, ocasionando diferentes efectos tóxicos y nocivos en los seres vivos. Uno de éstos, son los difenil éter polibromados (PBDEs), utilizados como retardantes de llama dentro del proceso de fabricación de plásticos, cuyas propiedades generales son alta hidrofobicidad, resistencia a la degradación y relativamente baja presión de vapor, entre otras, lo que los hace similares a algunos plaguicidas, bifenilos policlorados (PCBs), dioxinas y furanos; estos últimos clasificados como contaminantes orgánicos persistentes (COPs).

La medición química de este tipo de contaminantes es compleja y requiere de procesos de medida robustos y muy eficientes, particularmente la preparación de la muestra. Frente a esto, el grado de avance en las operaciones previas para la preparación de muestra permite que los procesos de medida química sean mucho más eficientes, y por lo tanto, los resultados obtenidos sean más exactos. En este plano, el estudio de cuáles son las variables más importantes en la retención de un compuesto orgánico en las matrices ambientales, permitiría conocer cuáles serían las vías por las cuales estos compuestos reaccionan con los componentes de dichas matrices y su comportamiento en el ambiente.

Durante el desarrollo de esta tesis se desarrollaron metodologías analíticas cuantitativas, basadas en la extracción de PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento, seleccionadas según estudios previos de sorción. La extracción de los PBDEs se realizó a través de la técnica de extracción con solvente presurizado (PLE), optimizando las variables en estudio a través de un diseño de experimentos.

Dado que existen materiales de referencia certificados para estos analitos en matrices ambientales sólidas, en la primera etapa de esta tesis se desarrollaron muestras-modelo de sedimento y biosólido. Se elaboraron 5 modelos de matriz sedimento con un contenido variable de carbono orgánico, entre 0,56 y 2,3% y 5 modelos de matriz biosólido con un máximo de 25,6% de carbono orgánico. De estos modelos se seleccionaron como muestras representativas y de referencia un sedimento y un biosólido, para los estudios posteriores. Los estudios de sorción de los PBDEs en las muestras-modelo seleccionadas mostraron la tendencia de que un contenido orgánico mayor, la sorción de los analitos es más alta, obteniendo una mayor sorción a medida que el compuesto es más apolar.

Se establecieron las condiciones de medición de los analitos desde todos los extractos obtenidos a través de cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones (GC-ECD) y la comprobación de las señales cromatográficas con cromatografía gaseosa con detector de masa (GC-MS). Previo a los estudios de sorción y extracción se seleccionaron las condiciones de limpieza (clean up) de los extractos obtenidos.

Con las condiciones seleccionadas se realizaron estudios de recuperación de los analitos desde muestras sintéticas con altos porcentajes de recuperación; se comparó el sistema de extracción propuesto, con un sistema de extracción presurizados con ultrasonidos, y el sistema convencional Soxhlet. El método se aplicó en muestras reales de sedimento y biosólido, donde no se detectó PBDEs. Los resultados obtenidos la extracción por PLE, resultó ser eficiente ya que en un tiempo de extracción (30–45 min) y cantidad de disolvente bajas (50 – 60 mL) logró porcentajes de extracción similares a la técnica Soxhlet siendo, por lo tanto, una alternativa viable para la extracción de estos analitos.

ABSTRACT

The scientific and technological advances have enabled the synthesis and use of new chemicals, leading to an economic and industrial development, and hence a better life's quality. However, there is also an increasing environmental pollution, causing different toxic and harmful effects on living beings. One of these products are the polybrominated diphenyl ether (PBDEs), used as flame retardants in the plastics manufacturing process, whose general properties are high hydrophobicity, resistance to degradation and relatively low vapor pressure, that makes them similar to some pesticides, polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins and furans, all of them classified as persistent organic pollutants (POPs).

The chemical determination of such pollutants is complex and requires a robust and very efficient measurement processes, particularly during sample preparation. Recent developments in sample preparation process allow chemical analysis more accurate and the results obtained more precise. The study of the most important variables in the retention of an organic compound in environmental matrices, would show the pathways by which these compounds react and their behavior in the environment.

The chemical determination of such pollutants is complex and requires a robust and very efficient measurement processes, particularly during sample preparation. Recent developments in sample preparation process allow chemical analysis more precise and to obtain accuracy in the results. The study of the most important variables in the retention of an organic compound in environmental matrices, would

show the pathways by which these compounds react and their behavior in the environment.

During the work of this thesis a quantitative analytical method for the extraction of PBDEs was developed. The extraction of PDBEs was performed using the technique of pressurized solvent extraction (PLE), optimizing the variables under study through an experimental design. It was applied in biosolid samples and sediment models, selected according to previous studies of sorption.

The first step of this thesis was to developed model samples of sediment and biosolids: 5 models of sediment matrix with variable amount of organic carbon, between 0.56 and 2.3% and 5 biosolid matrix models with a maximum of 25.6% of organic carbon. These models were selected as representative samples of reference sediment and sewage sludge for further studies. Sorption studies of PBDEs in samples selected-model trend showed a higher organic content, sorption of the analytes is higher, resulting in a greater sorption as more apolar compound.

Conditions were established for measuring the analytes from the extracts obtained by gas chromatography with electron capture detector (GC-ECD) and the verification of the chromatographic signals with gas chromatography with mass detector (GC-MS). Prior to the study of sorption and extraction conditions were selected cleaning (clean up) of the extracts.

The extractions of analytes from synthetic samples were obtained at the optimum condition with high recovery rates, the comparison between the proposed extraction system, a system pressurized with ultrasonic extraction and Soxhlet

conventional system was done. The results obtained by PLE extraction, proved to be efficient as an extraction time (30-45 min) and low amount of solvent (50-60 mL) achieved similar rates of extraction Soxhlet technique being, therefore, a viable alternative for the extraction of these analytes.

The method was applied to actual samples of sediment and sewage sludge, which was not, detected PBDEs.

CAPÍTULO I:
Introducción

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Proceso de medida química

La química analítica es una ciencia metrológica que a través del desarrollo, optimización y aplicación de distintas herramientas, se obtiene información de calidad, tanto parcial como global sobre materia o sistemas de estudio, lo que permitirá la resolución de problemas de distinta índole (Valcárcel, 1999). La química analítica tiene varios componentes que se deben considerar, entre ellos, una *investigación* y *desarrollo* eficaces, de manera que las herramientas analíticas sean la base para la implementación de nuevos procesos analíticos innovadores, mejorar los ya descritos o resolver nuevos problemas analíticos, utilizar el *conjunto de herramientas y procesos analíticos* existentes, que se encuentran en la literatura, para resolver problemas analíticos más o menos semejantes a los ya planteados y resueltos con un nulo o mínimo componente de información. Para la obtención de resultados de calidad es necesario desarrollar un sinnúmero de procesos que sean de calidad con el objetivo que dichos resultados sean confiables, con baja incertidumbre y representativos de los sistemas.

Al plantearse el análisis químico de una muestra se deben considerar los tipos de muestra, los analitos de interés que contiene, la metodología a usar, entre otras. La manera de realizar el análisis se concreta en los procesos de medida en química (PMQ); éste se define como un *conjunto de operaciones que separa a la muestra (sin*

tomar, sin medir, sin tratar) de los resultados generados y expresados según los requerimientos del problema analítico planteado (Valcárcel, 1999). Un PMQ se puede dividir en tres etapas generales, las *operaciones previas*, que incluye la toma y preparación de muestra; *medición y transducción de la señal*, directamente relacionada con las características/concentración de los analitos e implica el uso de un instrumento (técnica analítica) y *adquisición y tratamiento de datos*, que entregan los resultados según lo requerido (Figura 1).

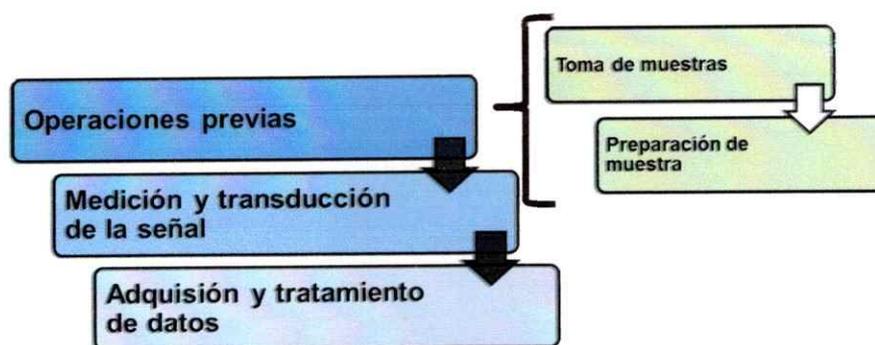


Figura 1. Esquema de las etapas del proceso de medida química, desde la toma de muestra hasta el análisis de resultados.

La primera etapa del PMQ es una de las más importantes, ya que tiene un impacto clave en la calidad de los resultados, incidiendo directamente sobre las características del proceso analítico (precisión, selectividad y sensibilidad), e indirectamente sobre las propiedades de los resultados obtenidos (exactitud y representatividad) (Valcárcel, 1999).

Las operaciones previas son complejas y diferentes entre sí, existe una alta participación humana, son fuentes potenciales de errores aleatorios como sistemáticos, y de un control sistemático más complejo que sobre el uso de un instrumento. Son las

etapas que plantean mayor variabilidad, debido a la cantidad de sub-etapas implícitas que incluye, además que éstas son muy diferentes en número y complejidad, como homogeneización, secado, técnicas de separación/extracción, triturado/tamizado, medición de masa y volumen, etc.) (Valcárcel, 1999).

En los desarrollos actuales existe una tendencia a simplificar (reducir sub-etapas), automatizar y miniaturizar para disminuir las características negativas de las operaciones previas (Pawliszyn, 2003). De esta forma la química analítica plantea algunas soluciones para optimizar las operaciones previas, que permitan disminuir los errores y hacer más eficiente el proceso analítico, lo que naturalmente influye en la obtención de resultados de mayor calidad; entre estas soluciones están la minimización o eliminación de reactivos y disolventes que sean tóxicos o que deterioren el medio ambiente, la utilización de nuevas herramientas metodológicas y/o materiales y el desarrollo de nuevas sub-etapas (metodologías) en el PMQ en las que se destruyan o inactiven las herramientas materiales dañinas.

1.2.- Sistemas de Extracción

En los últimos 30 años, el interés en los contaminantes ambientales se debe a sus efectos sobre los seres vivos y el medio ambiente, lo que ha ido de la mano con el aumento en el monitoreo de estos compuestos en diferentes matrices. Para esto se hace necesario el uso de metodologías que incluyan una etapa de extracción, para aislar y preconcentrar el compuesto de interés, sobre todo en aquellos casos donde se deben determinar concentraciones a nivel de trazas de éste.

Las técnicas analíticas de separación, en las que se incluyen los procesos de extracción, juegan un papel relevante en las operaciones previas de los PMQ. Éstas se basan en la transferencia de materia entre dos fases, que pueden plantearse técnicamente de manera estática y dinámica. La materia transferida pueden ser los analitos extraídos desde una matriz o las especies que pueden interferir en la determinación. La extracción preferida se basa esencialmente en la eficiencia de la extracción, selectividad, simplicidad de operación, pequeñas cantidades de disolvente utilizado, tamaño de muestra, rapidez, posibilidad de automatización y costo.

El proceso de extracción se basa en principios termodinámicos y cinéticos. En el caso del primero, el principio común de todas las técnicas se basan en la distribución del analito entre la matriz (C_s) y la fase extractante (C_e).

$$K_{es} = \frac{C_e}{C_s} \quad (1)$$

Esta constante ha sido extensamente estudiada con la distribución que se produce dentro de la columna cromatográfica, y puede entregar información para los procesos de extracción. K_{es} puede estimar algunas propiedades de los analitos, como sucede con la constante de distribución octanol-agua (K_{ow}).

Dentro de los procesos de extracción se deben considerar varios aspectos, y los dos más importante son los *efectos que ejerce la matriz* (en general sólida), sobre la retención de los analitos, entre ellos los espacios de cabeza (fases gaseosas), líquidos inmiscibles y tamaño de sólidos, por lo que los analitos se pueden distribuir en

diferentes fases de la matriz. El otro aspecto a considerar son las *propiedades que debe tener la fase de extracción* (polaridad, estabilidad térmica, reactividad y capacidad de solubilización con los analitos, etc.) (Pawliszyn, 2003).

Si consideramos efectos cinéticos, por ejemplo en una matriz sólida, con una capa de MO sobre un núcleo de poro impermeable, la remoción del analitos por parte de la fase de extracción, en general líquida para estos casos (Figura 2), debe ser capaz de desorber el analito de la superficie, luego el analito se debe difundir a través de la matriz orgánica, para después reaccionar con la fase matriz/extractante, para que el analito sea finalmente solvatado por el extractante y poder salir de la matriz. Este fenómeno puede ser observado en una extracción Soxhlet, con microondas, con ultrasonido, o con disolventes presurizados, y ha sido estudiado a través de los fenómenos de transporte de masa en medio porosos (Pawliszyn, 2003).

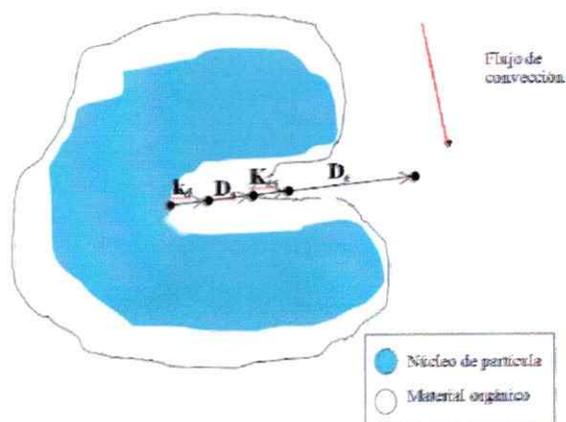


Figura 2. Procesos involucrados en la extracción de muestras heterogéneas contenidas en partículas sólidas porosas. $K_{e,s}$ es la constante de distribución fase de extracción/matriz, k_d es la constante de velocidad de disociación del complejo analito-matriz, y D_s y D_e representan la difusión del analitos en matriz y la fase de extracción, respectivamente

Las técnicas convencionales de extracción, como la extracción líquida (Burreau y col., 2004; Kazda y col., 2004; Shen y col., 2006) y Soxhlet (Kivirantaa y col., 2004; Gevao y col., 2006), han mostrado buenos resultados, siendo usadas para el monitoreo de algunos analitos en una muestra. Es así, que se han modificado las condiciones de extracción utilizando fuentes de energía externa que asistan la extracción, ya que una extracción a mayor temperatura permitiría una mayor recuperación de analito (Pawliszyn, 2003). Dentro de las técnicas modernas que usan fuentes adicionales de energía, que modifican las propiedades del disolvente, están la extracción con microondas (MAE) (Bayen y col., 2004; Tan y col., 2007), fluidos supercríticos (SFE) (Kou y Mitra, 2003), disolvente presurizado (PLE) (De la Cal y col., 2003), ultrasonido (USE) (C. Salgado-Petinal y col., 2006, Marvin y col., 2007), entre otras.

Desde el punto de vista de los componentes de la matriz, los analitos pueden interactuar con parte de estos componentes, de tal manera que queden muy retenidos y por ende sea dificultoso lixiviarlos con algún disolvente, a pesar de que éste tenga propiedades similares a las del analito, e independiente del carácter de las interacciones y el mecanismo asociado a dicho comportamiento. Naturalmente, las posibilidades de una extracción cuantitativa se ven disminuidas, porque sólo se podrían extraer aquellas moléculas de analitos que se encuentren en zonas más lábiles y de fácil acceso para el disolvente.

Es recomendable que el disolvente tenga propiedades similares a la de los analitos que se desean extraer, para que las interacciones que los mantienen unidos a los componentes de la matriz se puedan romper y éstos puedan interactuar con el

medio. De esta forma, disolventes con valores relativamente altos de constante dieléctrica (acetona, etanol, acetato de etilo), podrán disolver analitos relativamente polares. A su vez, disolventes con valores pequeños de constante dieléctrica (n-hexano, n-pentano, benceno) serán capaces de interactuar con analitos apolares, pero en algunos casos, el uso de mezclas de disolventes de distintas polaridades, aumenta los porcentajes de recuperación, debido a que un mismo analito puede interactuar con la matriz a través de interacciones de carácter polar y apolar.

Por la complejidad de las matrices ambientales sólidas, la elección de un disolvente de extracción es también compleja, ya que un mismo disolvente no lixiviará de la misma manera un compuesto en matrices similares, porque las interacciones analito/matriz no serán las mismas, por ejemplo se ha utilizado con disolvente presurizado mezcla 1:1 de diclorometano/n-hexano (Shen y col., 2006), con microondas mezclas de acetona/n-hexano, 1:3 (Yusa y col., 2006) y 4:1 (Salgado-Petinal y col., 2006) y con Soxhlet, tolueno (Won Choi y col., 2006), mezclas acetona/n-hexano 1:3 (Kiviranta y col., 2006) y 1:1 (Cai y Jiang, 2006) para la extracción de difenil éter polibromados (PBDEs) en sedimentos.

En la extracción PLE, el punto de ebullición del disolvente aumenta bajo alta presión, por lo que la extracción se produce en temperaturas más altas. La alta presión también permite que el disolvente penetre más profundo en la matriz de la muestra, facilitando la extracción de los analitos atrapados en poros de la matriz. A estas temperaturas elevadas, se produce un aumento de la solubilidad del analito y la transferencia de masa es más rápida; además la alta temperatura debilita las interacciones analito/matriz debido a fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno

o interacciones dipolo–dipolo y reduce la viscosidad del disolvente y la tensión de superficial. Esto permite una extracción más rápida y una mejor recuperación del analito (Ikarashi y col., 2005).

La extracción USE es, junto con la Soxhlet, la técnica convencional de extracción más ampliamente aceptada, pero proporciona mejor reproducibilidad. La reducción del tiempo de extracción (respecto al método desarrollado en ausencia de ultrasonidos) se debe a un incremento tanto en la presión (lo que favorece la penetración y el transporte), como en la temperatura (que mejora la solubilidad y difusividad); incrementando así el fenómeno de transporte y desplazando el equilibrio de partición (Fifield, 2000).

Dentro de las modalidades de trabajo para la extracción se distinguen los *sistemas batch o estáticos y en continuo o dinámicos*. El primero es el método más utilizado, en la cual dos fases se agitan dentro de un recipiente, o se somete a algún tipo de energía externa, hasta que se alcanza un equilibrio y se realiza la separación de fases, donde en una de ellas se encuentra el analito de interés. Este método es bastante lento, ya que se pueden procesar pocas muestras y contaminante porque se utiliza una gran cantidad de disolvente. Los *sistemas en continuo* permiten el ingreso al dispositivo de extracción, volúmenes de disolvente fresco, lo que permite que la extracción de analitos sea más eficiente y rápida (Mitra, 2003).

Al igual que con la elección del disolvente, el uso de un técnica de extracción se basa en su eficiencia sobre la capacidad de extraer analitos desde un matriz sólida, pero una misma técnica no puede ser igualmente efectiva para matrices del mismo

tipo, porque éstas no están compuestas por la misma cantidad y tipo de componentes. De este modo, el uso de modelo de matriz, proporcionará la información que permita elegir una técnica que sea adecuada para un tipo de matriz.

1.3.- Comportamiento de un contaminante orgánico en matrices sólidas

Los suelos y sedimentos son sistemas heterogéneos y complejos, formados por una fase orgánica e inorgánica, por ende las interacciones de un contaminante con los componentes de estas matrices dependerá de las propiedades químicas y estructurales que ambas posean.

La materia orgánica (MO) que incluye a los organismos vivos, fracciones fácilmente disponibles y complejas como el humus, está formada por fase expandida ("carbono suave o amorfo") y otra condensada ("carbono duro o vidrioso"). Estas fases son las principales responsables del enlace y transporte de contaminantes orgánicos en suelos y sedimentos. El carbono amorfo es el responsable primario de los mecanismos de partición de los contaminantes orgánicos, mientras que el carbono condensado sirve como medio de adsorción y posible formación de residuos atrapados. La fase condensada es menos polar y considerada más aromática que la amorfa, de acuerdo a estudios espectroscópicos (Ehlers y Loibner, 2006).

La MO se puede clasificar, de acuerdo al tipo de sustancia que forma, en sustancias no húmicas y húmicas, estando las últimas en mayor proporción con respecto a las no húmicas. Las sustancias húmicas poseen una conformación

supramolecular de moléculas heterogéneas autoensambladas que derivan de la degradación del material biológico muerto. Al extraer las sustancias húmicas con NaOH y posterior separación se obtienen el *ácido fúlvico (AF)*, soluble en ácidos y bases, el *ácido húmico (AH)*, soluble en álcalis, pero insoluble en ácidos y la *humina*, la fracción más polimérica e insoluble en ácidos y bases. A su vez, los AH se clasifican en *pardos* (solubles en Ca^{2+}) y *grises* (insolubles en Ca^{2+}) (Figura 3). El AH tiene un menor contenido de grupos carboxílicos y fenólicos, siendo menos polar que el AF. Las propiedades de la humina son más desconocidas debido a su no extractabilidad con NaOH (Ehlers y Loibner, 2006).

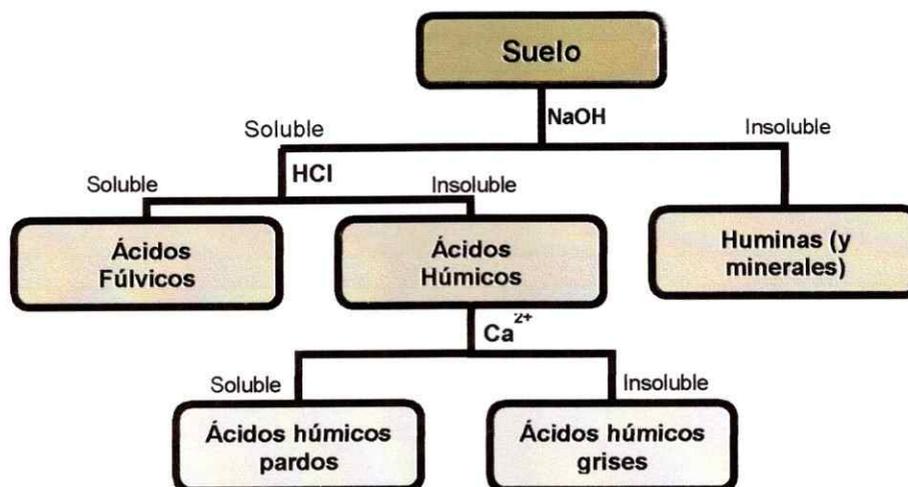


Figura 3. Clasificación de las sustancias húmicas de suelo

La fase inorgánica formada por minerales primarios (feldespatos, cuarzos, micas) y secundarios (arcillas, silicatos, aluminosilicatos), incluye superficies de poro interno y superficies externa e intercapa interna. Estas áreas superficiales producen diversos comportamientos de sorción que dependen de la diferente accesibilidad del sorbato, debido esencialmente a la geometría del poro y la sorción preferencial por

moléculas de agua. Muchos minerales comunes exponen hacia la superficie exterior del poro una capa que contiene grupos hidroxilos que son empujados hacia el medio por metales deficientes de electrones, como el Si, Al y Fe, y ligandos ricos en electrones como carbonatos e hidroxilos (Ehlers y Loibner, 2006).

Debido a la cantidad y composición variable en el espacio y tiempo de los componentes que forman las matrices ambientales, existen diferentes mecanismos por los cuales las moléculas orgánicas pueden asociarse con sedimentos, suelos y biosólidos (Ehlers y Loibner, 2006), por ende, la cantidad de interacciones matriz/analito son múltiples; entre ellas puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, fuerzas de van der Waals, dipolo-dipolo, entre otras (Ikarashi y col., 2005).

Entre los mecanismos de asociación están la *sorción*, que involucra las interacciones de un contaminante por un sorbente sin hacer referencia a un proceso específico; la *adsorción*, que hace referencia a las interacciones superficiales, la *absorción*, en el cual el contaminante penetra en las matrices tridimensionales y la *partición*, que es la distribución de una especie entre las fases acuosa y sólida (orgánica y/o inorgánica) (Ehlers y Loibner, 2006). Como resultado de estos procesos, pueden ocurrir otros que afecten al contaminante como el *secuestro* de moléculas (se produce cuando los contaminantes permanecen un tiempo prolongado en la matriz) o formación de *residuos atrapados*, que quedan remanentes después de una extracción exhaustiva (Ehlers y Loibner, 2006).

Tomando en cuenta los componentes de las matrices sólidas, un contaminante orgánico interaccionaría con los componentes inorgánicos y orgánicos de suelos, sedimentos y biosólidos. La sorción por superficies inorgánicas naturales podría ser una ruta importante de recaptación para algunos tipos de contaminantes orgánicos, sobre todo si el contenido de MO es bajo. Entre los mecanismos por los cuales las moléculas del contaminante interactuarían con los componentes de las matrices están la adsorción desde el aire con sitios de bajo contenido de agua, adsorción por interacciones donador/aceptor o interacciones electroestáticas. Cuando el contaminante participa en reacciones superficiales de formación y ruptura de enlaces, especialmente aquellas en donde las superficies inorgánicas dejan expuestos a metales como el hierro y aluminio, el cual el sorbato utiliza como suplemento de ligandos, se produce una quimisorción (Ehlers y Loibner, 2006).

Por su parte, la MO, juega un rol fundamental en la sorción y persistencia de contaminantes orgánicos. La materia orgánica disuelta (SOM) se puede encontrar en aguas, suelos y sedimentos naturales, y distribuirse desde el suelo o sedimento a poros de agua o a aguas circundantes. El comportamiento de distribución o de sorción/desorción entre los compartimientos ambientales sólidos y acuosos depende de la concentración y naturaleza de la SOM, del pH y fuerza iónica de la solución (Haftka 2006). Además, la SOM influye en la biodegradación microbiana y puede actuar como un surfactante, desplazando los equilibrios de partición desde la fase sólida hacia la fase acuosa, incrementando la velocidad de transferencia de masa hacia la fase acuosa (Haftka, 2006).



Dentro de las matrices sólidas, los procesos de transporte de las moléculas de un contaminante son importantes, ya que por esta vía, las moléculas alcanzarán sitios potenciales de interacción, como también influirán en la cinética de los procesos químicos que se produzcan entre los contaminantes y los componentes de las matrices.

Entre los mecanismos de difusión, existen dos tipos que son responsables de la desorción, la difusión a través de la MO con distinción entre la fase amorfa y condensada, siendo la última la que provoca una desorción muy lenta, y la difusión a través y a lo largo de meso-, micro- y nanoporo (difusión intraporo) (Ehlers y Loibner, 2006). Si los contaminantes orgánicos están en un nanoporo, la entrada de bacterias sería limitada y por ende su descomposición más lenta (Ehlers y Loibner, 2006).

Desde otra perspectiva, se sabe que algunas especies vegetales alteran la disponibilidad y degradación en los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en el suelo. Muller y colaboradores (Muller y col., 2006) estudiaron el efecto de rábanos y zapallos italianos sobre la recuperación de PBDEs desde suelos, demostrando un aumento en el porcentaje de recuperación en presencia de estas especies vegetales. Si el desplazamiento dentro de los tejidos de los vegetales fuera simplemente debido al movimiento pasivo en la corriente de la transpiración del vegetal, se esperaría que contaminantes orgánicos más livianos sean transportados más fácilmente, pero la recaptación depende de otras variables, como la morfología de la raíz de la especie, fisiología, cantidad de agua y alimento, y los mecanismos específicos de la adquisición (Muller y col., 2006).

En el caso de las plantas de tratamiento de aguas residuales, los compuestos sintéticos son removidos de las corrientes de desecho durante el proceso de tratamiento por degradación biológica o química, sorción al flóculo biológico o volatilización (Langford y col., 2005). El grado y la velocidad de remoción de un compuesto son dependientes de las propiedades fisicoquímicas del compuesto (Langford y col., 2005). Conocer el comportamiento de partición entre la fase sólida y acuosa es esencial para determinar la velocidad de un compuesto en tratamiento de las aguas residuales, y la extensión de los posibles efectos ambientales (Langford y col., 2005).

Una de las variables que influyen en los procesos de eliminación de compuestos sintéticos de los lodos durante el tratamiento de aguas residuales corresponde al tiempo hidráulico de la retención (HRT) y la relación entre el contenido de MO y el mecanismo de partición (K_{OM}). El HRT representa la edad del lodo (θ_c), y es la cantidad de tiempo que las aguas residuales pasan en el compartimiento de aireación durante el tratamiento del lodo activado y es un factor importante, ya que determina si el tiempo que tendrán las bacterias será lo suficientemente largo para degradar o de adsorber un compuesto (Langford y col., 2005). K_{OM} es la cantidad sorbida por unidad de peso de la MO en la fase sólida y como el contenido orgánico del carbón tiene un impacto en el potencial de la absorción del flóculo, debe ser considerado en el cálculo del coeficiente de partición (Langford y col., 2005). En los biosólidos, compuestos con $\log K_{OW}$ menores a 2,5 exhiben mínimo potencial de sorción y probablemente el principal mecanismo de remoción es la degradación si es que los compuestos son susceptibles. Para compuestos con valores de $\log K_{OW}$ mayor de 4, como los PBDEs, la asociación con los sólidos será el principal mecanismo de

remoción debido a su alto potencial y velocidad de sorción (Langford y col., 2005). La naturaleza hidrofóbica de los PBDEs influyen en su acumulación en los biosólidos, ya que si los compuestos son altamente hidrofóbicos y estables, mayor será la cantidad que se acumulará en el biosólido (Langford y col., 2005).

1.4.- Características de los AH

Los AHs son los constituyentes principales de la MO vegetal en un estado avanzado de descomposición. La humificación es, por lo tanto, un proceso evolutivo por el cual la MO se va transformando, primero en humus joven, para pasar a humus (Figura 4) estable hasta llegar a la definitiva mineralización formando el AH, el cual ya

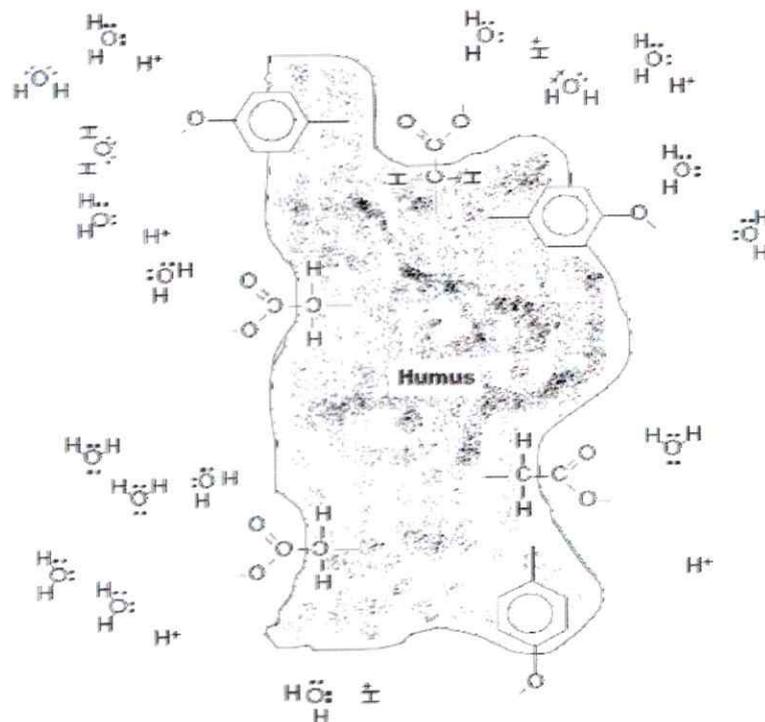


Figura 4. Representación del humus y los grupos fenolatos y carboxilato.

está estabilizado y cuya composición no cambiará sustancialmente, y es el utilizado en todos los ensayos realizados.

Las sustancias húmicas son de color negro a pardo muy oscuro y su intensidad, se relaciona con la concentración de los grupos funcionales estables con un alto grado de resonancia, presentes en los AHs, como también en los ácidos fúlvicos (AFs), generalmente del tipo semiquinona (Schnitzer y Khan, 1978), como grupos aromáticos nitrogenados (indólico y pirrólico), grupos bencénicos aromáticos (naftaleno y benceno), y grupos reactivos, responsables de importantes propiedades de la MO (hidroxilo, carboxilo, amino, metoxilo, etc.), puentes de unión (nitrilo, amino, cetónicos, etc.) y cadenas alifáticas.

Asimismo, empíricamente, la intensidad del color se relaciona con la aromaticidad, incrementándose con el grado de transformación de las sustancias húmicas (hecho relacionado con el grado de humificación – grado de diagénesis de las moléculas biogénicas que pueden constituir el material de origen para la formación del humus) (Traina y col., 1990).

La formación de las sustancias húmicas es uno de los aspectos menos conocidos de la química del humus, aunque se sabe que el proceso de obtención del humus es realizado por diferentes microorganismos. Existen varias vías para la formación de sustancias húmicas, cuyo origen es principalmente restos animales y vegetales en el suelo. Entre las teorías existentes, la teoría de Selman Waksman (Sparks, 2003) o teoría de la lignina expresa que las sustancias húmicas se forman a partir de ligninas modificadas que quedan remanentes después del ataque bacteriano.

Las ligninas modificadas se caracterizan por perder un grupo metoxilo, la presencia de un grupos *orto*-hidroxifenoles y oxidación de cadenas alifáticas para formar grupos carboxílicos, para luego formar los AHs y finalmente los AFs.

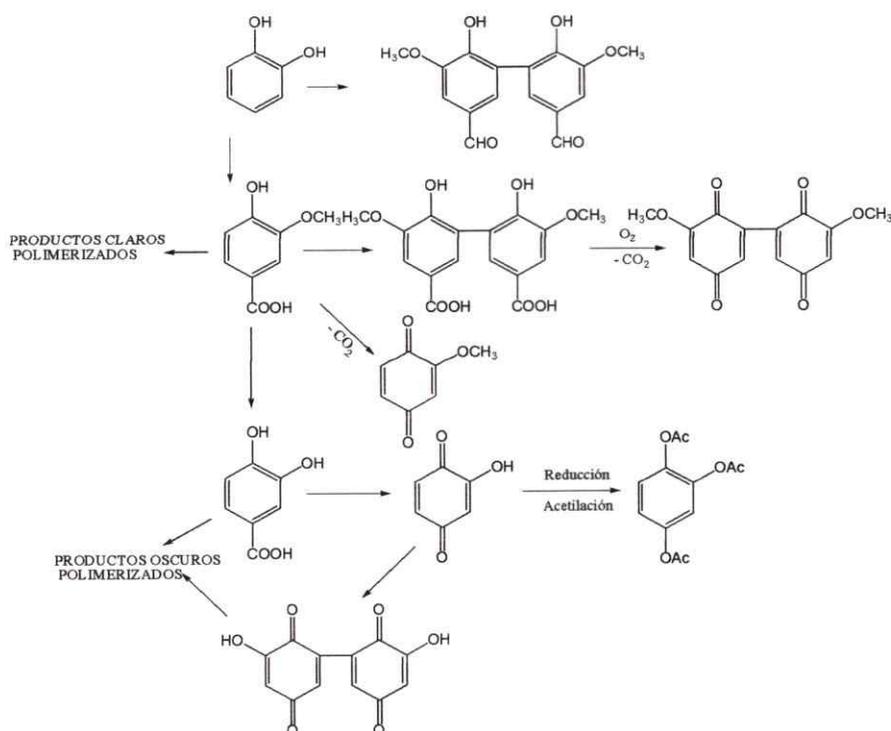


Figura 5. Formación de sustancia húmicas desde la formación de quinonas a partir de productos de la degradación de la lignina provocada por microorganismo

Esta teoría no sólo incluye esta vía de formación sino otra, la que incluye mecanismos en los cuales se forman intermediarios quinonas (Figura 5), hasta la formación a partir de condensaciones de azúcares con grupos aminas (Figura 6).

No existe predominancia de una u otra vía para la formación de las sustancias húmicas, sino que dependerá del tipo de suelo y/o sedimento, y de las condiciones de temperatura, humedad, luz solar, microorganismos, etc.

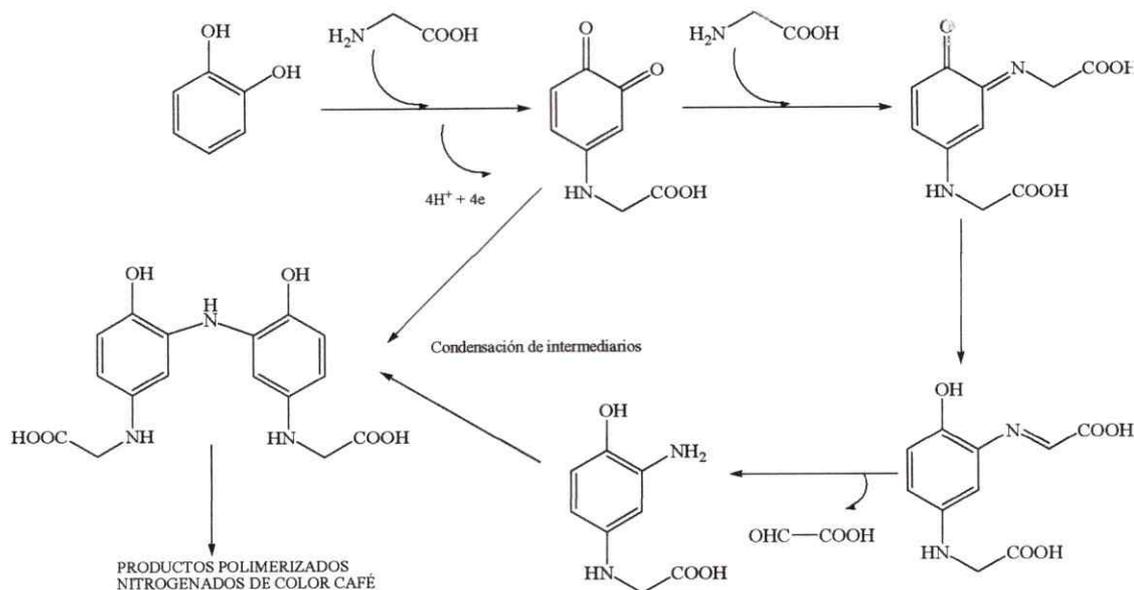


Figura 6. Formación de sustancia húmicas a partir de quinonas y aminoácidos.

1.5.- Modelamiento de matrices sólidas

Al realizar el estudio de un contaminante orgánico dentro de una matriz sólida, se deben tomar en cuenta una serie de factores. En el caso de las superficies inorgánicas, no se ha establecido sistemáticamente cual es su rol sobre su capacidad de sorción de contaminantes orgánicos, pero sí que puede alterar la capacidad de enlace de las sustancias húmicas (Ehlers y Loibner, 2006).

En el caso de la MO, ésta se ve afectada por el pH y la presencia de iones en aguas naturales. A pH alcalinos, los grupos funcionales, como ácidos carboxílicos y los grupos fenólicos están desprotonados, aumentando la polaridad, por ende la interacción hidrofóbica disminuirá. Al mismo tiempo la SOM se expandirá debido a su carga superficial, y por lo tanto, proporcionará pocos sitios para la sorción de

contaminantes orgánicos. A pH ácidos, estos grupos estarán protonados, y las condiciones serán contrarias, aumentando la posibilidad de interacciones hidrofóbicas por la disminución de la polaridad de la SOM, lo cual crea sitios de sorción adicionales (Haftka, 2006).

Aunque la mayoría de la MO es intrínsecamente lábil, una cierta porción de ella se preserva en suelos y sedimentos, donde permanecería inalterable a procesos microbianos de descomposición, además las interacciones mineral/MO son de importancia central para explicar los diversos fenómenos tales como el secuestro, migración y posible remediación de contaminantes orgánicos.

Se han observado correlaciones directas entre el área superficial y el material orgánico de suelos y sedimentos, lo que sugiere que el complejo mineral/MO pueda estabilizar las formas lábiles de MO contra ataque degradante de bacterias o enzimas extracelulares bacterianas. A través de diferentes estudios se ha sugerido que los mesoporos minerales influyen en el secuestro y preservación de la MO en sedimentos, protegiendo la MO de la degradación bacteriana dentro del poro por oclusión física (Harmes y Bosma, 1996; Mayer, 1994). Las moléculas sorbidas en microporos minerales se encuentran más atrapadas dentro de las paredes del poro, debido a que las energías de adsorción son más fuertes que en mesoporos; además, los efectos estéricos pueden también inhibir la remoción de los compuestos orgánicos de microporos (Zimmerman y col., 2004).

Gouin y colaboradores (Gouin y Harner, 2003) sugirieron el uso de un modelo simple multimedia de 4 compartimientos (agua, aire, suelo y sedimento) para explicar

la posible partición de compuestos orgánicos. Este método es usado para determinar la persistencia total de una sustancia, y basado en los coeficientes de partición se identifica la ubicación más probable del contaminante.

De acuerdo a lo expuesto, los estudios de contaminantes orgánicos en matrices sólidas son complejos, debido a que la interpretación de resultados es dificultosa ya que existen muchas interacciones entre las moléculas a través de diversos mecanismos, como también diferentes procesos de transporte de las moléculas orgánicas dentro de estas matrices.

En este contexto, la utilización de modelos mineral/MO, con porcentajes conocidos de MO y material inorgánico simple, permite tener un conocimiento de cuáles serían las interacciones de las moléculas orgánicas dentro de las matrices reales. Esto permitiría conocer si estas interacciones se producirían en zonas más lábiles o inertes de la misma MO y/o material inorgánico. De esta forma, la elección de los materiales inorgánicos y orgánicos debe ser tal, que éstos sean representativos y por ende se logre una interpretación más simple de las posibles interacciones y mecanismos.

La MO que se puede utilizar en estos modelos, puede ser aquella que contenga distintos monómeros, dímero, trímeros y polímeros (proteínas) de aminoácidos, debido a su ubicuidad en el ambiente y porque se encuentran a menudo en suelos y sedimentos. Además, los grupos amina y carboxilos de los aminoácidos son predominantes en una variedad amplia de MO natural tal como ligninas y materiales húmicos.

La sílica (SiO_2) y alúmina (Al_2O_3) son muy útiles como sorbentes inorgánicos, ya que son representativos de las superficies inorgánicas, frecuentemente encontrados en ambientes naturales y exhiben características químicas superficiales muy diversas, lo que proporciona un contraste fuerte en reactividad. Por ejemplo, el punto de la carga neta cero (p.z.n.c.) de SiO_2 está a pH 2,0, mientras que el de Al_2O_3 es a pH 8.7. Así, la sílica se carga sobre todo negativamente a través de la gama del pH de aguas naturales, mientras que la alúmina se carga positivamente excepto bajo condiciones altamente alcalinas. Las superficies hidroxiladas de óxidos de Fe y Al débilmente ácidas han mostrado promover el enlace fuerte de MO carboxiladas y aromáticas a través de un mecanismo del intercambio del ligandos. En contraste, la sorción de MO a los silicatos se ha atribuido a efectos tales como los hidrofóbicos (Zimmerman y col., 2004).

Para estudiar los fenómenos de sorción de contaminantes orgánicos y otros dentro de matrices, existen diferentes modelos matemáticos que describen el comportamiento de estos contaminantes en las matrices sólidas. Entre los modelos matemáticos, los *modelos de sorción de Langmuir y de Freundlich*, son los más utilizados (Huang y col., 2003). Estos modelos permiten describir la relación entre la concentración de la especie no adsorbida en la fase líquida o gaseosa y la cantidad que es adsorbida por el sólido a una temperatura dada.

1.6.- Características de los PBDEs y Problemática Ambiental

Los PBDEs (Figura 7) tienen estructuras similares a los PCBs, pero con un átomo de oxígeno entre los anillos aromáticos. El número teórico de congéneres es de 209, lo que corresponden a los distintos compuestos e isómeros de PBDEs con 1 hasta 10 átomos de bromo. La numeración es análoga a la usada por la IUPAC para la numeración de los PCBs (Sánchez-Prado y col., 2005). Dentro de sus propiedades fisicoquímicas generales más características están su alta hidrofobicidad, resistencia a la degradación y una relativamente baja presión de vapor, entre otras (ATSDR, 2004) (Tabla 1).

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas generales de algunos congéneres de PBDEs (Kuramochi y col., 2007)

Congéneres	Presión de vapor [mmHg]	Solubilidad en agua [µg/L]	Constante de ley de Henry [atm m ³ /mol]	logK _{ow}
BDE-28	1,64x10 ⁻⁵	70	5,03x10 ⁻⁵	5,94
BDE-47	1,40x10 ⁻⁶	15	1,48x10 ⁻⁵	6,81
BDE-85	7,40x10 ⁻⁸	6	1,09x10 ⁻⁶	ND
BDE-99	1,32x10 ⁻⁷	9	2,27x10 ⁻⁶	7,32
BDE-100	2,15x10 ⁻⁷	40	6,81x10 ⁻⁷	7,24
BDE-153	1,57x10 ⁻⁸	1	6,61x10 ⁻⁷	7,90
BDE-154	2,85x10 ⁻⁸	1	2,37x10 ⁻⁶	7,82

Los compuestos de grado técnico de los PBDEs son producidos comercialmente por bromación del difenil éter bajo condiciones catalíticas dando por resultado mezclas de productos con diferentes grados de bromación (Alaee, 2003).

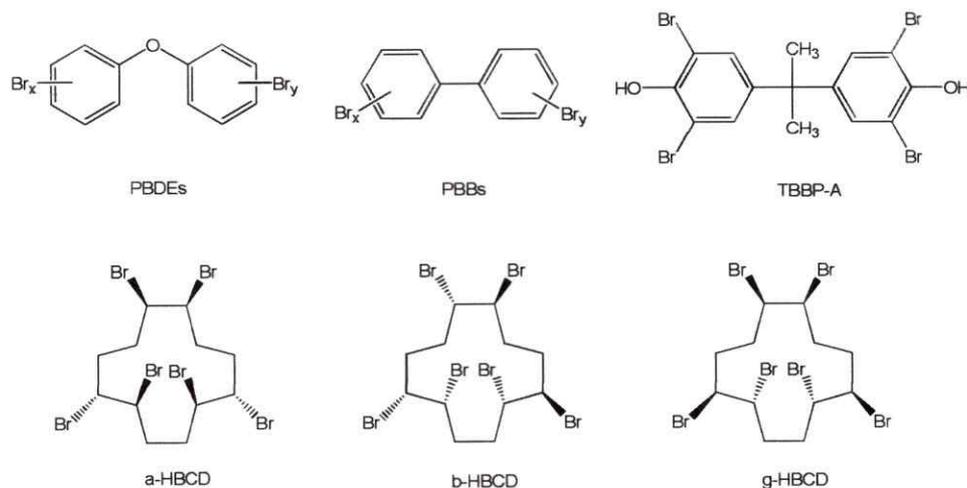


Figura 7. Estructura de algunos retardantes de llama bromados

Los PBDEs son un tipo de retardante de llama bromado (BFRs) clasificado como aditivos, ya que se mezclan con el material polimérico y no se encuentran enlazados covalentemente como los BFRs reactivos, por lo tanto presentan un mayor riesgo, ya que se pueden lixiviar en el ambiente más fácilmente que los BFRs reactivos (Hyoëtyläinen y Hartonen, 2002). Bajo stress térmico, los BFRs producen HBr, el que inhibe la expansión del fuego por sustitución de radicales H· y ·OH, más reactivos, y por radicales Br·, menos reactivos, en la reacción radicalaria en cadena (Figura 8). Debido a la formación de HBr, la concentración de compuestos inflamables en la llama se reduce, y se forma una capa protectora sobre la superficie del plástico (Ebert y Bahadir, 2003).

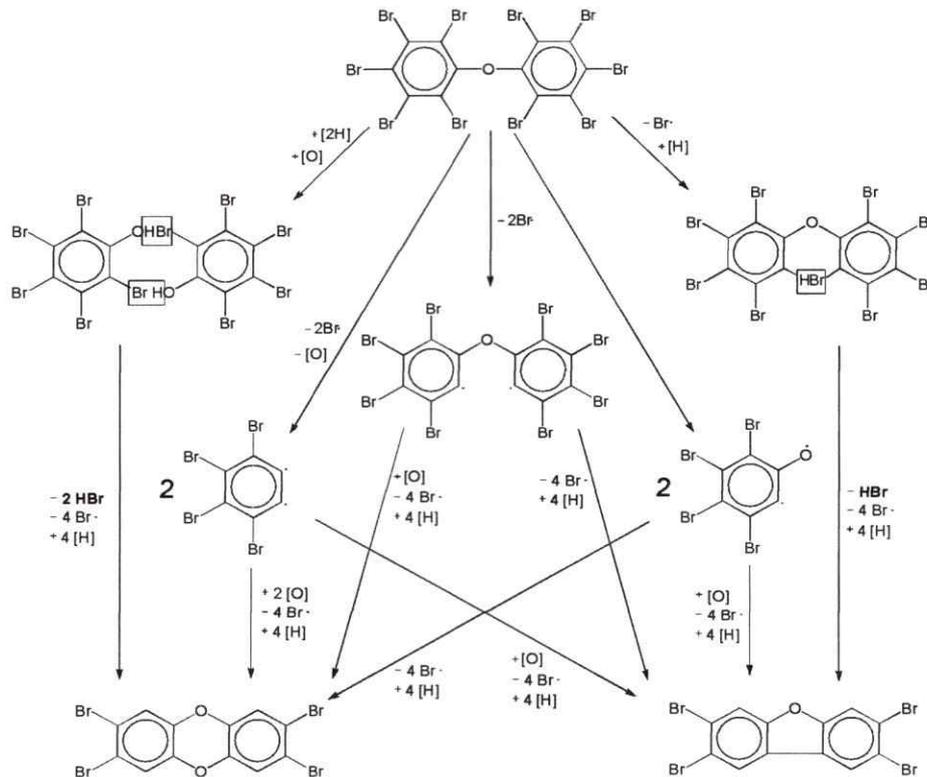


Figura 8. Formación de HBr, PBDDs y PBDFs a partir de BDE-209 (Ebert y Bahadir, 2003)

En la práctica, no todos los congéneres de PBDE son utilizados en los productos comerciales. Los tres principales productos son el pentaBDE (DE-71[®]), octaBDE (DE-79[®]) y decaBDE (DE-83R[®], Saytex 102E[®]). Los productos penta- y octa-bromados contienen distintos congéneres, mientras que el producto deca está compuesto casi enteramente de decaBDE (Moon y col., 2007). El pentaBDE se usa comúnmente en textiles, espumas de poliuretano, paneles de aislamiento del sonido; el octaBDE en resinas de acrilonitrilo-butadieno-estireno (ABS); y el decaBDE en numerosas resinas y polímeros como el poliestireno de alto impacto (HIPS) (Huwe y col., 2007).

Aunque el decaBDE es el más frecuentemente usado, congéneres menos bromados han sido encontrados en muestras ambientales. El BDE-209, el congénere principal del decaBDE, es pobremente absorbido, rápidamente eliminado y por ende no es bioacumulado. Este congénere es el que presenta la menor bioactividad de los PBDEs. En contraste, los congéneres de menor masa molar (tri- y hexa-bromados) son casi completamente absorbidos, lentamente eliminados y altamente bioacumulados, siendo el BDE-47, BDE-99 y BDE-100, los tres más abundantemente encontrados en muestras ambientales (Sánchez-Prado y col., 2005).

Durante el proceso de manufactura de PBDEs, se forman dibenzo-*p*-dioxinas polibromadas (PBDDs) y dibenzofuranos polibromados (PBDFs) (Figura 8). Además, la combustión de PVC y PBDEs pueden generar PBDDs y PBDFs, además de otros productos como dibenzo-*p*-dioxinas bromadas y cloradas, dibenzofuranos bromados y clorados, dibenzo-*p*-dioxinas policloradas (PCDDs) y dibenzofuranos policlorados (PCDFs) (Wang y col., 2007), que son compuestos altamente tóxicos en concentraciones muy bajas (Convenio de Estocolmo, 2004).

Los PBDEs se encuentran distribuidos en los sedimentos, suelos y vegetación, y su cantidad depende de su interacción con estas matrices. A pesar de exhiben una baja solubilidad en agua tienden a unirse fuertemente con material particulado de estos sistemas (Alaee y col., 2003; Marvin y col., 2007).

Los PBDEs se pueden encontrar en el aire, esto debido a las diferentes fluctuaciones de temperaturas estacionales, con lo que puede producirse un intercambio activo entre la superficie de los suelos y el aire (Gouin y Harner, 2003). Si

bien no está completamente claro el transporte y movilidad de los PBDEs en el ambiente una de las fuentes más importantes de estos analitos son las plantas de tratamientos de agua residuales (Alcock y col., 2003; EPA, 2006), otra vía de entrada de los PBDEs al ambiente es a través de la basura (Harrad y col., 2004), o desde la fabricación directa o productos que los contienen, o por la eliminación o reciclado de productos en desuso que los contienen (ATSDR, 2004).

De acuerdo a su estructura, se presume que la degradación en el ambiente podría ser limitada, debido a la baja solubilidad que presentan estos compuestos. Por lo que la degradación de los PBDEs se produciría en la superficie de sedimentos y suelos, en donde primaría la debromación reductiva en un medio anaeróbico, en estos compartimientos (Granelli y col., 2010). En muestras de lodos, Gerecke y colaboradores (Gerecke y col., 2005) mostraron que la degradación reductiva se produce en estas muestras, estudiando la degradación del BDE-209, la cual se produjo luego de 238 días de incubación de las muestras.

La fotodegradación de los PBDEs sería otra vía por la cual estos compuestos se degradan, por ejemplo se han reportado estudios de fotólisis del BDE-209 en mezcla de solventes bajo la acción de radiación UV y de luz solar directa (Niu y col., 2006). Por lo que estas vías serían las más importantes transformaciones abióticas de los PBDEs en el ambiente. En la atmósfera, la vía de degradación para los PBDEs es probablemente similar a la de los PCBs, comparados a través de la reacción con radicales hidroxilos (Gouin y Harner, 2003).

Independiente de la vía por la cual los PBDEs pueden llegar a medio ambiente, las posibilidades de exposición de los seres vivos, incluyendo los seres humanos es alto, siendo una de las principales formas de ingreso a la biota y a los seres humanos la cadena alimenticia (EPA, 2006). En el caso de los seres humanos otra fuente de PBDEs son los ambientes de interior (polvo de la casa, aire interior, y superficies de interior de la ventana) donde la migración de PBDEs se produce desde diferentes artículos, incluyendo los muebles, espumas y los plásticos de la alfombra en televisores y computadoras etc.

Granelli y colaboradores (Granelli y col., 2010) estudiaron la degradación de los PBDEs nona bromados. De acuerdo a los resultados obtenidos, el BDE-206 pierde un átomo de bromo formando los congéneres BDE-194, BDE-196 y BDE-199 en proporciones iguales, sin encontrar un patrón con respecto a la reactividad del borohidruro de sodio (NaBH_4) ocupado para la reducción del congénere nona bromado. El resultado mostró una tendencia, que la transformación tomó lugar sobre el anillo que poseía mayor cantidad de átomos de bromo (Figura 9). Este resultado se repitió con el congénere BDE-207, a partir del cual se obtuvo en mayor proporción el congénere BDE-196, y con el congénere BDE-199 que se obtuvo a partir del congénere BDE-208

Los PBDEs son de carácter ubicuo, por lo que se han detectado en diferentes muestras ambientales y biológicas desde el Ártico a la Antártica. Estos compuestos se detectaron por primera vez en el medio ambiente en 1979 (Alaee y Wenning, 2003), y en la biota en 1980 (Jansson y col., 1987), y se ha demostrado que son bioacumulables y biomagnificables (Haglund y col., 1997; Hites y col., 2004; Erdogru y col., 2005; Isosaari y col., 2006).

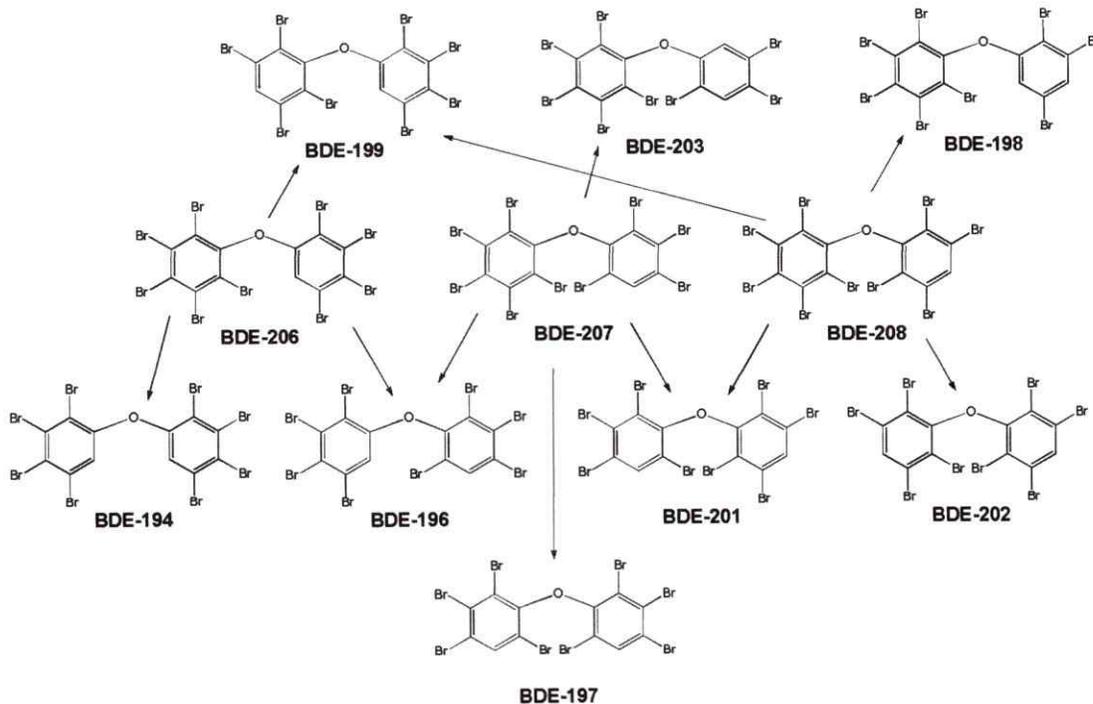


Figura 9. Congéneres octabromados obtenidos a partir de debromación reductiva de congéneres BDE-206, BDE-207 y BDE-208

Se han realizado estudios toxicológicos en ratas, lo cuales indicaron que los PBDEs inducen toxicidad hepática, hiperplasia tiroidea y adenomas de tiroides, neurotoxicidad cuando se mantiene contacto durante el período sensible del crecimiento cerebral (Hui-Ying y col., 1998). Además se ha sugerido que varios PBDEs y/o sus metabolitos son compuestos disruptores endocrinos (EDCs) (Fowles y col., 1994; Meerts y col., 2000).

De esta manera en este proyecto de tesis, se propone el desarrollo de diferentes metodologías que mejoren las operaciones previas, esencialmente la etapa de extracción, para la determinación de los PBDEs desde matrices ambientales sólidas (sedimentos, biosólidos), con un estudio exhaustivo del comportamiento de diferentes disolventes para el proceso de la extracción de los PBDEs por técnicas convencionales

y aquellas metodologías que utilizan fuentes de energías adicionales (PLE en batch y en continuo y USE en continuo). Para los estudios de optimización del comportamiento de los PBDEs en las matrices sólidas, se utilizarán modelos con contenidos simples y cantidades conocidas de material inorgánico (sílica y/o alúmina) y de materia orgánica.

CAPÍTULO II:

Hipótesis y Objetivos

2. HIPÓTESIS

Las hipótesis se sustentan en los siguientes postulados:

- Los difenil éter polibromados son compuestos que poseen propiedades físicas y químicas variadas entre los diferentes congéneres, lo que provoca diferentes interacciones de éstos con los componentes de distintas matrices.
- Las etapas de tratamiento y preparación de muestra, dentro del proceso analítico, consumen mucho tiempo siendo una importante fuente de errores.
- Las técnicas de extracción modernas utilizan fuentes de energía externa, que asisten el proceso de extracción de los analitos desde diferentes matrices.

En consecuencia, se establecen las siguientes hipótesis de trabajo:

“Debido a las diferentes interacciones que pueden existir entre una matriz sólida y los analitos (difenil éter polibromados, PBDEs), una extracción convencional con disolvente permitirá lixiviar la fracción más lábil de los analitos, siendo necesaria la utilización de energía adicional (temperatura, presión, o ultrasonido) que asista el proceso de extracción para liberar la fracción más inerte de ellos”.

“El estudio del comportamiento de un analito (difenil éter polibromados, PBDEs) en una matriz compleja a través de las muestras-modelo propuestas, permitirá identificar si la principal interacción del analito con la matriz es a través del contenido de materia orgánica de ésta y determinar la utilización de una técnica de extracción apropiada para una extracción cuantitativa”.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

El objetivo general de este proyecto es llevar a cabo una comparación crítica en términos de eficiencia, rapidez y uso de disolventes entre diferentes estrategias de extracción modernas y clásicas para la determinación de difenil éter polibromados (PBDEs) en matrices ambientales sólidas (sedimento y biosólido).

3.2. Objetivos Específicos

3.2.1.- Implementar de un método cromatográfico para la separación de PBDEs por cromatografía de gases/espectrometría de masa (GC-MS) y/o captura de electrones (GC-ECD).

3.2.2.- Elaborar muestras-modelo de biosólido y sedimento con contenido variable de MO. Caracterizar las muestras-modelo elaboradas en términos del contenido orgánico

3.2.3.- Optimizar factores que influyen en la adsorción de los PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento seleccionados.

3.2.4.- Confeccionar isotermas de adsorción para los PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento seleccionados.

3.2.5.- Estudiar la eficiencia de extracción de los PBDEs inmovilizados en las muestras-modelo seleccionadas, a través de un sistema de extracción con disolvente en frío, discontinuo y con agitación.

3.2.6.- Desarrollar metodologías de extracción de los PBDEs desde los modelos de las matrices sólidas usando extracción con disolvente presurizado (PLE) en batch y en continuo y extracción asistida por ultrasonido (UAE) en continuo, con el disolvente seleccionado en 3.2.5.

3.2.7.- Aplicar una de las metodologías desarrolladas a la determinación de los analitos en matrices reales (sedimentos y biosólidos). Comprobar la validez de los modelos propuestos.

3.2.8.- Validar el método desarrollado, a través de una muestra certificada y/o muestra real fortificada con los PBDEs. Obtener los parámetros analíticos correspondientes.

3.2.9.- Implementar la metodología de extracción clásica Soxhlet utilizando el disolvente o mezcla seleccionado en 3.2.5.

3.2.10.- Realizar una comparación entre las metodologías indicadas en 3.2.7 y 3.2.9 en términos de eficiencia, rapidez y volumen de disolvente utilizado en cada caso.

CAPÍTULO III:

Materiales y Métodos

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Aparatos

- Material de vidrio (vasos, pipetas, matraces, embudos de decantación, etc.)
- pH-metro WTW, modelo pMX-3000
- Bomba HPLC, LabAlliance, modelo Series II
- Baño de ultrasonido Branston modelo 2210
- Incubadora y agitador Heidolph modelo C24.
- Agitador recíproco Heidolph, modelo 2020.
- Centrífuga Labofurge 400 Haraeus
- Agitador vortex Heidolph, modelo Reax 2000
- Balanza analítica digital Sartorius modelo R200D.

4.2. Instrumentación

- Cromatógrafo de gases FISIONS modelo serie 8000 con una columna capilar Supelco HP 5 de 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm de film, acoplado a un detector de masas FISIONS modelo MD 800.
- Cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 con detector de captura de electrones, con columna capilar ZB-5 de 30 m x 0,25 mm, 0,25 μm film.
- Espectrofotómetro UV-visible, UV-2, Unicam, con celda de paso óptico de 10 mm.

4.3. Reactivos

- Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico o de alto grado de pureza de procedencia MERCK®, SIGMA-ALDRICH®, Dr. Ehrenstorfer®, Fisher Scientific®.
- Solución de mezcla de PBDEs Great Lakes DE-71. TBDE-71X 1150 ± 1 mg/L. Se disolvió 11,5 mg del reactivo en metanol y se llevó a 10 mL con el mismo disolvente.
- Solución de tribromoanisol (TBA) 4 ± 0,01 mg/L. Se disolvió 40 mg del reactivo en ciclohexano y se llevó a 10 mL con el mismo disolvente. Posteriormente se realizó la correspondiente dilución para preparar la disolución ocupada en ciclohexano.
- Solución de dicromato de sodio ($\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,50 mol/L. Se disolvió 149 g del reactivo en agua destilada y se llevó a 1000 mL con el mismo disolvente.
- Solución de sacarosa ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$) 100 mg/mL de carbono. Se disolvió 238 g del reactivo en agua destilada y se llevó a 1000 mL con el mismo disolvente.

4.4. Procedimiento Analítico

4.4.1. Optimización del programa de temperatura para GC-ECD

A partir de una solución de 100 mg/L, se realizaron las diluciones correspondientes, y se inyectó 1 µL de la disolución de PBDEs de 10 µg/mL, en un cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones (GC-ECD), con un split 1:10 con una temperatura del inyector de 250 °C. La fase móvil consistió en nitrógeno

extrapuro (N₂, 99,995%) y la fase estacionaria en una columna capilar del 30 m, HP-5ms. Para este estudio se realizaron los correspondientes cambios de temperatura del horno del cromatógrafo, desde un sistema isotérmico hasta un programa de temperatura.

4.4.2. Eliminación de la MO de una muestra de biosólido por calcinación

Se masó 50 g de una muestra de biosólido de una planta de tratamiento de aguas servidas, abril de 2007 (BET 2007), previamente secada en estufa a 105 °C por 2 h. Esta muestra, se dividió en varias porciones, y se puso dentro de una mufla a 360°C durante 24 h. Posteriormente, la muestra de biosólido se guardó por 6 h dentro de una desecadora.

4.4.3. Eliminación de la MO de una muestra de biosólido por reacción de óxido-reducción

A 20 matraces Erlenmeyer de 250 mL se agregó 2 g de la muestra de biosólido BET 2007. A cada uno de ellos, se agregó 20 mL de agua destilada, 10 mL de ácido clorhídrico (HCl) 1,0 mol/L y volúmenes de 1 mL en forma continua de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 30 % hasta completar 40 mL. Cada matraz se tapó con un embudo de vástago corto y se calentaron hasta 70°C, agregando pequeños volúmenes de agua destilada, para evitar la evaporación total de la disolución.

4.4.4. Purificación de ácido húmico (AH)

Se disolvió 25 g de ácido húmico (AH) impuro (SIGMA-ALDRICH) en 200 mL de una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,10 mol/l. La mezcla se agitó por 30 min a 95°C; una vez enfriada la disolución se llevó a pH = 2 con ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1,0 y 0,1 mol/L, para precipitar el AH. La separación del precipitado se realizó por centrifugación a 2000 rpm por 30 min. El precipitado se lavó 2 veces con agua destilada y luego una mezcla 1:1 v/v de HCl_{conc} y HF_{conc}, la cual previamente se diluyó 1:3 en volumen. Finalmente, la mezcla final se centrifugó a 2000 rpm por 30 min., y el precipitado se secó en estufa a 50 °C por 12 h.

4.4.5. Extracción de AH de muestras de suelo y biosólido

Se masó una muestra de 100 g de suelo Conyuncaví Bajo (mollisol, textura franco arenoso) dividido en 4 porciones. A estas muestras se agregó 250 mL de una disolución de NaOH 0,1 mol/L y se calentó por 30 min a 95°C. Este procedimiento se repitió 2 veces. La disolución resultante se centrifugó a 3000 rpm por 30 min, y se separó el sólido del sobrenadante. El sobrenadante se llevó a pH = 2 con disoluciones de H₂SO₄ 0,1 y 1,0 eq/L para precipitar el AH presente. La separación se realizó centrifugando la disolución a 3000 rpm por 30 min. El precipitado obtenido se lavó con agua destilada y luego con pequeños volúmenes de una mezcla de HCl y HF concentrados 1:1 en volumen que previamente se diluyó 1:3 en volumen. Este procedimiento se repitió 3 veces. Finalmente el AH obtenido, de cada muestra, se trató

con diálisis con agua destilada, se centrifugó a 3000 rpm por 30 min y se secó en una estufa a 50 °C.

Para la extracción del AH del biosólido, se masó 25 g de biosólido BET 2007, y se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente.

4.4.6. Caracterización de AH utilizado como material de referencia para la MO de las muestras-modelo.

4.4.6.1. Determinación de la acidez total de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido

En matraces Erlenmeyer se agregó 50 y 100 mg de las muestras de AH comercial, extraída de suelo y de biosólido. Se preparó cada muestra por duplicado. A cada muestra se agregó 20 mL de una disolución de hidróxido de bario ($\text{Ba}(\text{OH})_2$) 0,2 eq/L. Simultáneamente se preparó una muestra blanco que contenía sólo 20 mL de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 0,2 eq/L. De cada muestra se eliminó el aire, por desplazamiento con N_2 y se tapó cuidadosamente para evitar la entrada de aire al sistema. Cada matraz se agitó por 24 h a temperatura ambiente; luego la suspensión obtenida se filtró y el residuo se lavó con agua destilada exenta de CO_2 . Finalmente, tanto el filtrado como los lavados de cada muestra se combinaron y junto con el blanco se titularon potenciométricamente con una disolución previamente estandarizada de HCl 0,5604 eq/L hasta $\text{pH} = 8,4$.

4.4.6.2. Determinación de la acidez carboxílica y fenólica de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido

En matraces Erlenmeyer, se masó entre 50 y 100 mg de las muestras de AH comercial, extraída de suelo y de biosólido. Se preparó cada muestra por duplicado. A cada muestra se agregó 10 mL de una disolución de acetato de calcio ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) 1,0 eq/L y 40 mL de agua destilada exenta de CO_2 . Simultáneamente se preparó una muestra blanco que contenía sólo 10 mL de $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 1,0 eq/L y 40 mL de agua destilada exenta de CO_2 . Cada matraz se agitó por 24 h a temperatura ambiente; luego la suspensión obtenida se filtró y el residuo se lavó con agua destilada exenta de CO_2 . Combinando el filtrado y los lavados, se procedió a titular potenciométricamente tanto las muestras como el blanco con una disolución previamente estandarizada 0,1140 eq/L hasta $\text{pH} = 9,8$.

La acidez fenólica se obtuvo por la diferencia entre la acidez total y la acidez carboxílica.

4.4.6.3. Determinación de la relación E_4/E_6 de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido

Se preparó 4 disoluciones de las muestras de AH comercial, extraída de suelo y de biosólido de 20, 40, 60 y 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en solución de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) 0,05 eq/L. Se midió la absorbancia a 465 nm (E_4) y 665nm (E_6) de cada muestra en un espectrofotómetro UV-visible con celda de 10 mm de paso óptico.

4.4.7. Preparación de muestras-modelos de sedimento

Se mezcló en distintas proporciones en masa óxido de aluminio 90 activo-neutro (Al_2O_3), MERCK® con AH purificado. Luego, cada mezcla se homogenizó en un mortero de ágata, durante 10 min. Las mezclas realizadas fueron tales que se obtuvieron 5 muestras con distinto contenido de MO.

4.4.8. Preparación de muestras-modelos de biosólido A

Se mezcló en distintas proporciones en masa, biosólido calcinado previamente de la muestra de biosólido BET 2007, con la misma muestra. Luego, cada mezcla se homogenizó en un mortero de ágata, durante 10 min. Las mezclas realizadas fueron tales que se obtuvieron 5 muestras con distinto contenido de MO.

4.4.9. Preparación de muestras-modelos de biosólido B

Se mezcló en distintas proporciones en masa de biosólido calcinado previamente con AH purificado. Luego, cada mezcla se homogenizó en un mortero de ágata, durante 10 min. Las mezclas realizadas fueron tales que se obtuvieron 5 muestras con distinto contenido de MO.

4.4.10. Preparación de muestras-modelos de biosólido C

Se mezcló en distintas proporciones en masa el AH purificado con la muestra de biosólido tratado con H₂O₂. Luego, cada mezcla se homogenizó en un mortero de ágata, durante 10 min. Las mezclas realizadas fueron tales que se obtuvieron 5 muestras con distinto contenido de MO.

4.4.11. Caracterización del contenido de carbono orgánico en muestras sólidas

Se masó entre 100 y 300 mg de cada muestra (biosólido A, B y C y sedimento) en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. Luego, se agregó 10 mL de la disolución de Na₂Cr₂O₇ 0,50 mol/L y 20,0 mL de H₂SO_{4conc}. Esta mezcla se dejó enfriar y reposar bajo campana por 30 min. En seguida, se agregó 70 mL de agua destilada, se mezcló y se dejó en reposo durante la noche. Finalmente, para cada solución se midió la absorbancia a 600 nm en un espectrofotómetro UV-visible con celda de 10 cm de paso óptico.

4.4.12. Optimización del tratamiento de limpieza de los extractos de biosólido

Se mezcló 1 g de la muestra de biosólido BET 2007 con 10 mL de metanol. Esta mezcla se agitó por 2 h y se centrifugó a 2000 rpm por 10 min. El extracto se evaporó casi a sequedad bajo corriente de N₂, y se agregó 5 mL de n-hexano. Al extracto en n-hexano se adicionó 100 µL de la solución estándar de PBDEs 10 µg/mL, sobre el cual se realizó el tratamiento de limpieza. Dentro de un embudo de

decantación se mezcló el extracto orgánico con 2 porciones de 50 mL de H₂SO₄conc; esta mezcla se agitó por 2 min. Alcanzada la separación de fases, se descartó la fase acuosa y se agregaron 3 porciones de 50 mL de NaCl al 5 % p/v; nuevamente la mezcla se agitó por 2 min., y se descartó la fase acuosa. El extracto se secó a través de una columna con 15 g de sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), eluyendo con 5 mL de n-hexano. En la etapa final, al extracto se adicionó 10 µl de tribromoanisol (TBA) 4 µg/mL, y bajo corriente de N₂ se llevó a 1 mL.

4.4.13. Tratamiento de los extractos de sedimento

El extracto obtenido se secó a través de una columna con 15 g de Na₂SO₄, eluyendo con 5 mL de n-hexano. Finalmente, se agregó 10µl de TBA 4 µg/mL, y bajo corriente de N₂ se llevó a 1 mL.

4.4.14. Procedimiento para estudio del efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en las muestras-modelo de biosólidos y sedimento

Para cada muestra de biosólido (A, B y C), se masó 1 g de muestra, se agregó 1 mL de solución en metanol de PBDEs en dos niveles de concentración (0,1 y 1,0 µg/mL) y se llevó a 10 en metanol. La mezcla, contenida dentro de un vial, se agitó por 15 h, luego se dejó reposar y se centrifugó a 2000 rpm por 20 min. El sobrenadante se evaporó casi a sequedad con N₂, cambiando el disolvente por 5 mL de n-hexano. En el caso de los extractos de las muestras-modelo de biosólido, se realizó el tratamiento de

limpieza; posteriormente se inyectó 1 μ l de cada extracto para ser evaluado por GC-ECD. Para el estudio de la muestra de sedimento se realizó el mismo tratamiento.

4.4.15. Efecto del medio acuoso sobre la adsorción de PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento

A 500 mg de biosólido, se agregó 1 mL de solución en metanol de PBDEs 1,0 μ g/mL y se completó con 4 mL de agua destilada. La mezcla se agitó a 25 °C por 15 h y luego se centrifugó a 2000 rpm por 20 min. Se realizó una extracción de la fase acuosa con 5 mL de n-hexano. A continuación, se realizó el tratamiento de limpieza y secado de los extractos de biosólido y sedimento, respectivamente. Posteriormente se inyectó 1 μ l de cada extracto para ser evaluado por GC-ECD.

En el caso de la muestra de sedimento se realizó el mismo procedimiento.

4.4.16. Efecto del tiempo de agitación sobre la adsorción de PBDEs en las muestras-modelo de biosólidos y sedimento

A 500 mg de biosólido, se agregó 1 mL de solución en metanol de PBDEs 1,0 μ g/mL y se completó con 2 mL de metanol y 2 mL de solución de cloruro de calcio (CaCl_2) 0,010 mol/L. La mezcla se agitó a 25 °C en un intervalo de tiempo de 1 a 24 h, y luego se centrifugó a 2000 rpm por 20 min. Se realizó una extracción de la fase acuosa con 5 mL de n-hexano. A continuación, se realizó el tratamiento de limpieza y secado de los extractos de biosólido y sedimento, respectivamente. Posteriormente se inyectó 1 μ l de cada extracto para ser evaluado por GC-ECD.

En el caso de la muestra de sedimento se realizó el mismo procedimiento.

4.4.17. Elaboración de las isotermas de adsorción de PBDEs sobre las muestras-modelo de biosólidos y sedimento

A 500 mg de biosólido o sedimento, se agregó 1 mL de solución en metanol de PBDEs en distintos niveles de concentración (desde 0,1 a 500 µg/mL) y se completó con 2 mL de metanol y 2 mL de solución de CaCl₂ 0,01 mol/L. La mezcla se agitó a 25 °C durante 15 h siendo, posteriormente centrifugada a 2000 rpm por 20 min. Se realizó una extracción de la fase acuosa con 5 mL de n-hexano. A continuación, se realizó el tratamiento de limpieza y secado de los extractos de biosólido y sedimento, respectivamente. Posteriormente se inyectó 1µl de cada extracto para ser evaluado por GC-ECD.

4.4.18. Elaboración de la muestra de referencia para los estudios de extracción de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento

En un matraz Erlenmeyer, se masó 100 g de la muestra de biosólido y/o sedimento, se agregó 50 mL de acetona, seguido de un volumen de la disolución estándar de PBDEs de 1240 µg/mL correspondiente a 200 y 500 µL para sedimento y biosólido, respectivamente. Estas muestras (sin contacto con luz directa) se agitaron a velocidad constante, en un agitador magnético hasta la evaporación del disolvente. Estas muestras se guardaron por un período de 90 días a una temperatura de -18 °C para luego llevar a cabo los estudios de extracción.

4.4.19. Estudio del tiempo de envejecimiento de la muestra-modelo de referencia de biosólido y sedimento

Se masó 500 mg de las muestras-modelo de referencia de biosólido y sedimento, a las cuales se agregó una cantidad de la disolución estándar de PBDEs 1240 µg/mL, para obtener una concentración de 1 mg/kg. Las muestras se extrajeron a distintos tiempos (2 días, 1, 2, 3 y 6 meses).

4.4.20. Elección del tipo de disolvente para la extracción de PBDEs

Se masó 8 muestras de 500 mg por duplicado de las muestras-modelo de biosólido y/o sedimento, se agregó 5 mL de los siguientes disolventes puro y mezclas, a cada una de ellas:

- Acetona
- Metanol
- Diclorometano (DCM)
- n-hexano
- Acetona/DCM
- Metanol/DCM
- Acetona/n-hexano
- Metanol/n-hexano

Cada muestra se agitó por 12 h a 25 °C, luego se centrifugó a 2000 rpm por 20 min, y el sobrenadante se llevó casi a sequedad con N₂, para realizar el cambio de disolvente a n-hexano y seguir con las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente.

4.4.21. Estudios de extracción por extracción con disolvente presurizado (PLE) de los PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento

Las condiciones subcríticas de los disolventes se obtienen al aumentar la presión y temperatura del disolvente, a través de un equipo diseñado en el laboratorio (Figura 10a y b), que consiste en una bomba HPLC conectada en línea a un horno de aluminio con control de temperatura en donde se ingresa la muestra, dispuesta dentro de una columna HPLC sin relleno y un tubo de acero inoxidable enrollado, donde se calienta previamente el disolvente, antes de ingresar a la celda de extracción. Fuera del horno otro trozo de tubo de acero inoxidable enrollado puesto dentro de un baño con agua para enfriar el extracto y finalmente una válvula de paso que permite manejar este equipo en dos modalidades, discontinuo (*Extracción estática o en batch*) y continuo (*Extracción dinámica*), en el cual se hace fluir en forma controlada un flujo de disolvente que finalmente es colectado dentro de un vial.

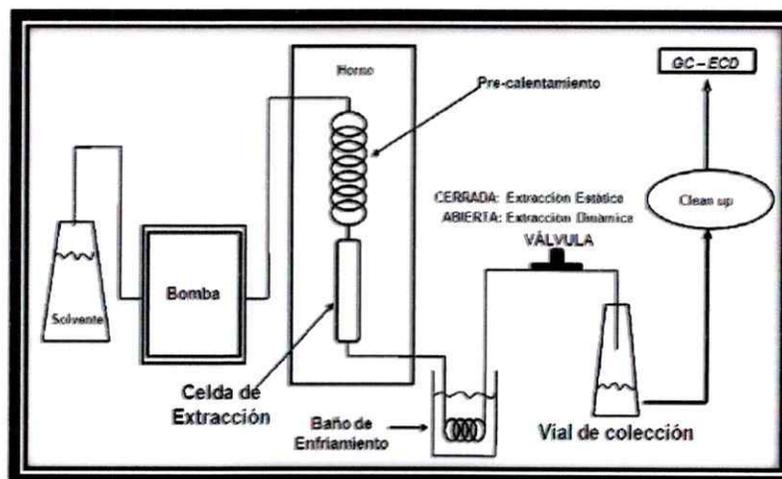


Figura 10a. Esquema del equipo de extracción con disolvente presurizado (PLE).



Figura 10b. Fotografía del equipo de extracción PLE.

Para los estudios de extracción se eligió el método multivariado y para la elaboración de todos los diseños se utilizó el programa STATGRAPHICS XV CENTURION

4.4.21.1. Diseño de “screening” para extracción en las muestras-modelo de biosólido y sedimento

Para este diseño se eligió un diseño factorial completo con dos factores químicos en estudio, cantidad de muestra y tipo de disolvente, el cual dio cuatro experimentos más tres puntos centrales con los siguientes intervalos de estudio: para la cantidad de muestra se eligió un intervalo de 200 (-1) a 600 (+1) mg y como punto central 400 (0) mg de biosólido y/o sedimento. Para el disolvente se eligió el intervalo acetona (+1) a DCM (-1) y como punto central una mezcla 1:1 en volumen de acetona/DCM (0) (Tabla 2). Cada experimento se realizó a una presión del sistema de

1500 psi, temperatura de extracción 100 °C, flujo de disolvente 2 mL/min y un tiempo de extracción dinámico de 20 min. Cada extracto obtenido se evaporó a una cantidad mínima de disolvente con un rotavapor, y posteriormente se llevó casi sequedad bajo una corriente de N₂. A este extracto se le adicionó 5 mL de n-hexano, para seguir con las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente de cada muestra.

Tabla 2. Diseño experimental factorial para la extracción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido y sedimento. Entre paréntesis se muestran las cantidades de muestra en mg y disolvente usado.

Experimento	Cantidad de muestra	Tipo de disolvente
1	- 1 (200)	- 1 (DCM)
2	+ 1 (600)	- 1 (DCM)
3	- 1 (200)	+ 1 (Acetona)
4	+ 1 (600)	+ 1 (Acetona)
5	0 (400)	0 (Acetona/DCM)
6	0 (400)	0 (Acetona/DCM)
7	0 (400)	0 (Acetona/DCM)

4.4.21.2. Diseño de compuesto central para extracción en las muestras-modelo de biosólido

Para esta etapa se utilizó un diseño de compuesto central ortogonal con cuatro factores en estudio (temperatura de extracción, tiempo estático, tiempo dinámico y flujo de disolvente), el cual dio 24 experimentos más tres puntos centrales con los siguientes intervalos de estudio: para la temperatura de extracción se eligió un intervalo

de 40 (-1,55) a 200 °C (+1,55), con un punto central de 120 °C (0), y con dos puntos intermedio de 69 (-1) y 174 °C (+1). Como tiempo de extracción estático y dinámico se eligió un intervalo de 10 (-1,55) a 60 min (+1,55), con un punto central de 35 min (0), y con dos puntos intermedios de 19 (-1) y 52 min (+1). Para el flujo de disolvente se eligió un intervalo de 1 (-1,55) a 5 mL/min (+1,55), con un punto central de 3 mL/min (0), y con dos puntos intermedios de 2 (-1) y 4 mL/min (+1). Para cada experimento (Tabla 3) se tomaron 200 mg de biosólido con una presión del sistema de 1500 psi y acetona como disolvente. Cada extracto obtenido se evaporó a una cantidad mínima de disolvente con un rotavapor, y posteriormente se llevó casi sequedad bajo una corriente de N₂. A este extracto se adicionó 5 mL de n-hexano para seguir con las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente.

Tabla 3. Diseño experimental factorial para la extracción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido. Entre paréntesis se muestran la temperatura en °C, el tiempo de extracción en minutos y el flujo de disolvente en mL/min usados.

Experimento	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo disolvente [mL/min]
1	- 1 (69)	+ 1 (52)	+ 1 (52)	+ 1 (4)
2	- 1,55 (40)	0 (35)	0 (35)	0 (3)
3	0 (120)	0 (35)	+ 1,55 (60)	0 (3)
4	0 (120)	0 (35)	- 1,55 (10)	0 (3)
5	0 (120)	0 (35)	0 (35)	+ 1,55 (5)
6	0 (120)	- 1,55 (10)	0 (35)	0 (3)
7	0 (120)	+ 1,55 (60)	0 (35)	0 (3)
8	0 (120)	0 (35)	0 (35)	- 1,55 (1)
9	- 1 (69)	+ 1 (52)	- 1 (19)	- 1 (2)
10	- 1 (69)	- 1 (19)	+ 1 (52)	+ 1 (4)
11	+ 1 (174)	+ 1 (52)	- 1 (19)	- 1 (2)

Experimento	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo disolvente [mL/min]
12	+ 1 (174)	+ 1 (52)	+ 1 (52)	- 1 (2)
13	+ 1 (174)	+ 1 (52)	+ 1 (52)	+ 1 (4)
14	- 1 (69)	- 1 (19)	- 1 (19)	- 1 (2)
15	+ 1 (174)	+ 1 (52)	-- 1 (19)	+ 1 (4)
16	- 1 (69)	+ 1 (52)	- 1 (19)	+ 1 (4)
17	+ 1 (174)	- 1 (19)	- 1 (19)	+ 1 (4)
18	+ 1 (174)	- 1 (19)	+ 1 (52)	- 1 (2)
19	- 1 (69)	+ 1 (52)	+ 1 (52)	- 1 (2)
20	+ 1,55 (200)	0 (35)	0 (35)	0 (3)
21	+ 1 (174)	- 1 (19)	- 1 (19)	- 1 (2)
22	- 1 (69)	- 1 (19)	- 1 (19)	+ 1 (4)
23	- 1 (69)	- 1 (19)	+ 1 (52)	- 1 (2)
24	+ 1 (174)	- 1 (19)	+ 1 (52)	+ 1 (4)
25	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)
26	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)
27	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)

4.4.21.3. Diseño de compuesto central para extracción en las muestras-modelo de sedimento

Se utilizó un diseño de compuesto central ortogonal con cinco factores en estudio (temperatura de extracción, tiempo estático, tiempo dinámico, flujo de disolvente y tipo de disolvente), el cual dio 26 experimentos más tres puntos centrales con los siguientes intervalos de estudio: para la temperatura de extracción se eligió un intervalo de 40 (-1,66) a 200 °C (+1,66), con un punto central de 120 °C (0), y con dos puntos intermedio de 75 (-1) y 175 °C (+1). Como tiempo de extracción estático y

dinámico se eligió un intervalo de 10 (-1,55) a 60 min (+1,66), con un punto central de 35 min (0), y con dos puntos intermedios de 20 (-1) y 50 min (+1). Para el flujo de disolvente se eligió un intervalo de 1 (-1,66) a 5 mL/min (+1,66), con un punto central de 3 mL/min (0), y con dos puntos intermedios de 2 (-1) y 4 mL/min (+1). Para el tipo de disolvente se eligió DCM (-1,66) y acetona (+1,66), con un punto central de una mezcla de acetona/DCM 50:50 en volumen (0), y con dos puntos intermedios de una mezcla de acetona/DCM 19:81 en volumen (-1) y una mezcla de acetona/DCM 81:19 en volumen (+1). Para cada experimento (Tabla 4) se tomaron 200 mg de biosólido con una presión del sistema de 1500 psi. Cada extracto obtenido se evaporó a una cantidad mínima de disolvente con un rotavapor, y posteriormente se llevó casi sequedad bajo una corriente de N₂. A este extracto se adicionó 5 mL de n-hexano para seguir con las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente.

Tabla 4. Diseño experimental factorial para la extracción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido y sedimento. Entre paréntesis se muestran la temperatura en °C, el tiempo de extracción en minutos, el flujo de disolvente en mL/min y el tipo de disolvente* usados.

Experimento	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo disolvente [mL/min]	Tipo disolvente*
1	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	- 1,66 (A)
2	+1 (175)	- 1 (20)	- 1 (20)	+ 1 (4)	+ 1 (D)
3	+1 (175)	+ 1 (50)	+ 1 (50)	+ 1 (4)	+ 1 (D)
4	+1 (175)	+ 1 (50)	- 1 (20)	- 1 (2)	+ 1 (D)
5	- 1,66 (40)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	0 (C)
6	0 (120)	0 (35)	- 1,66 (10)	0 (3)	0 (C)
7	+ 1,66 (200)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	0 (C)

Experimento	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo disolvente [mL/min]	Tipo disolvente*
8	- 1 (75)	- 1 (20)	- 1 (20)	+ 1 (4)	- 1 (B)
9	0 (120)	0 (35)	0 (35)	- 1,66 (1)	0 (C)
10	- 1 (75)	+ 1 (50)	+ 1 (50)	+ 1 (4)	- 1 (B)
11	+1 (175)	+ 1 (50)	- 1 (20)	+ 1 (4)	- 1 (B)
12	- 1 (75)	+ 1 (50)	- 1 (20)	- 1 (2)	- 1 (B)
13	+1 (175)	- 1 (20)	+ 1 (50)	- 1 (2)	+ 1 (D)
14	0 (120)	0 (35)	+ 1,66 (60)	0 (3)	0 (C)
15	0 (120)	0 (35)	0 (35)	+ 1,66 (5)	0 (C)
16	- 1 (75)	- 1 (20)	- 1 (20)	- 1 (2)	+ 1 (D)
17	+1 (175)	- 1 (20)	- 1 (20)	- 1 (2)	- 1 (B)
18	- 1 (75)	+ 1 (50)	+ 1 (50)	- 1 (2)	+ 1 (D)
19	0 (120)	- 1,66 (10)	0 (35)	0 (3)	0 (C)
20	- 1 (75)	- 1 (20)	+ 1 (50)	- 1 (2)	- 1 (B)
21	- 1 (75)	- 1 (20)	+ 1 (50)	+ 1 (4)	+ 1 (D)
22	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	+ 1,66 (E)
23	- 1 (75)	+ 1 (50)	- 1 (20)	+ 1 (4)	+ 1 (D)
24	+1 (175)	+ 1 (50)	+ 1 (50)	- 1 (2)	- 1 (B)
25	+1 (175)	- 1 (20)	+ 1 (50)	+ 1 (4)	- 1 (B)
26	0 (120)	+ 1,66 (60)	0 (35)	0 (3)	0 (C)
27	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	0 (C)
28	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	0 (C)
29	0 (120)	0 (35)	0 (35)	0 (3)	0 (C)

*Disolventes usados

A: -1,66, Acetona/DCM 0:100

B: - 1, Acetona/DCM 19:81 C: Acetona/DCM 50:50

D: + 1, Acetona/DCM 81:19

E: +1,66, Acetona/DCM 100:0

4.4.22. Procedimiento optimizado de extracción con disolvente presurizado (PLE) de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento.

Con las condiciones de extracción optimizadas (Tabla 5), se prepararon muestras con una cantidad conocida de la solución estándar de PBDEs 1240 µg/mL, y se llevó a cabo el proceso de extracción de ellas para evaluar el porcentaje de recuperación de la metodología para los analitos de interés. Para estos experimentos se utilizó 200 mg de muestra de cada matriz por duplicado. Una vez obtenidos los extractos correspondientes, se realizó las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente. Finalmente se inyectó 1 µL de cada extracto en el GC-ECD.

Tabla 5. Condiciones óptimas de extracción por PLE para las muestras de biosólido y sedimento

Muestra	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo	Disolvente
Biosólido	43	33,2	10,2	2,5	Acetona
Sedimento	40	10,30	20,3	1,7	Acetona

4.4.23. Procedimiento optimizado de extracción con disolvente presurizado y ultrasonido (PLE-USE) de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento.

Con las condiciones de extracción optimizadas (Tabla 6), se modificó el sistema de trabajo de extracción de un horno por un baño de ultrasonido. Se prepararon muestras con una cantidad conocida de la solución estándar de PBDEs 1240 µg/mL, y se llevó a cabo el proceso de extracción de ellas para evaluar el porcentaje de

recuperación de la metodología para los analitos de interés. Para estos experimentos se utilizó 200 mg de muestra de cada matriz por duplicado. El tiempo estudiado correspondió al tiempo de extracción estático con ultrasonido por un intervalo 5 a 60 min para la muestra de biosólido y de 2 a 40 min para la muestra de sedimento. Una vez obtenidos los extractos correspondientes, se realizó las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente. Finalmente se inyectó 1 μL de cada extracto en el GC-ECD.

Tabla 6. Condiciones óptimas de extracción por PLE-USE para las muestras de biosólido y sedimento

Muestra	T [°C]	Intervalo de $t_{\text{ESTÁTICO}}$ [min]	$t_{\text{DINÁMICO}}$ [min]	Flujo	Disolvente
Biosólido	43	5 – 60	10,2	2,5	Acetona
Sedimento	40	2 – 40	20,3	1,7	Acetona

4.4.24. Aplicación a muestras reales y muestras reales fortificadas

El método optimizado se aplicó en muestras reales de biosólido de una planta de tratamiento de aguas servidas, del año 2007 (BET 2007 y 2008 (BET 2008), y de sedimento de las Cuencas del Río Aconcagua (Ríos Colorado y Juncal) y del Río Cachapoal (Ríos Coya y Coinco). Se utilizaron 200 mg de cada muestra, y extrajeron de acuerdo al método optimizado descrito en la Tabla 5.

En el caso de las muestras reales fortificadas de biosólido y sedimento se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente.

4.4.25. Extracción Soxhlet de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento

Se extrajo 2 g de muestra de biosólido y sedimento con 200 mL del disolvente seleccionado de la etapa de optimización PLE para cada matriz. Este procedimiento se realizó por duplicado y por 24 h, con 4 a 6 ciclos/h de extracción. Una vez obtenidos los extractos correspondientes, se realizó las etapas de limpieza y secado para biosólido y sedimento, respectivamente. Finalmente se inyectó 1 μ L de cada extracto en el GC-ECD.

CAPÍTULO IV:
Resultados y
Discusión

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Optimización del programa de temperatura para GC–ECD.

En el último tiempo, se ha dado énfasis a la utilización de técnicas cromatográficas para la determinación de un sinnúmero de analitos, por la posibilidad de analizar una gran cantidad de especies en un tiempo relativamente corto.

La cromatografía es un método físico de separación, en la cual, los analitos que se necesita identificar, se distribuyen en dos fases, donde una de ellas es estacionaria y la otra se mueve en una dirección definida. Para el caso de los PBDEs, se eligió la cromatografía gaseosa (GLC) con detectores de captura de electrones (ECD) y espectrometría de masa (MS), debido a que estos analitos poseen una relativamente baja presión de vapor, por ende se pueden volatilizar a temperatura ambiente y son altamente hidrofóbicos (Braekvelt y col., 2003), entre otras características generales. Por tratarse de compuestos bromados, se seleccionó un detector ECD, dado que este detector es altamente sensible a compuestos con grupos electronegativos, como el bromo, y ha mostrado una buena linealidad a los niveles de concentraciones de trabajo (Skoog y col., 2001).

Dentro las herramientas analíticas, la espectrometría de masas es una técnica que permite identificar la estructura de las moléculas, la composición elemental de muestras y realizar análisis cualitativos y cuantitativos. De esta manera, el detector MS permitió confirmar las señales que se obtuvieron a través del detector ECD, pero este

último se utilizó para la cuantificación de todas las señales obtenidas para los PBDEs (Skoog y col., 2001).

En GC, a medida que la temperatura de la columna aumenta, la presión de vapor del analito aumenta y se eluye más rápidamente dentro de la columna cromatográfica. Cuando se alcanza una determinada temperatura, durante el proceso cromatográfico, se produce la separación de las especies según su intervalo de polaridades (interacción con el film de relleno de la columna) o presión de vapor. De esta forma, en una separación cromatográfica, uno de los objetivos es obtener la mayor resolución de los picos cromatográficos en el menor tiempo posible; para esto se optimizó el programa de temperatura de la columna para la determinación de los PBDEs, a través del uso de muestras estándar de 10 µg/mL para GC-ECD y 50 µg/mL para GC-MS. Los programas de temperatura estudiados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Estudio del programa de temperatura para la determinación de PBDEs por GC – ECD*

Programa 1	Paso 1: 160°C x 2min	Paso 2: 160 – 280°C a 10°C/min
t _{TOTAL} : 14min		
Programa 2	Paso 1: 160°C x 2min	Paso 2: 160 – 260°C a 15°C/min
t _{TOTAL} : 22min	Paso 3: 260 – 280°C a 1,5°C/min (280°C x 1min)	
Programa 3	Paso 1: 160°C x 1min	Paso 2: 160 – 260°C a 20°C/min
t _{TOTAL} : 17min	Paso 3: 260 – 280°C a 1,5°C/min (280°C x 1min)	
Programa 4	Paso 1: 160°C x 1min	Paso 2: 160 – 260°C a 25°C/min
t _{TOTAL} : 17min	Paso 3: 260 – 280°C a 2°C/min (280°C x 2min)	
Programa 5	Paso 1: 160°C x 0min	Paso 2: 160 – 260°C a 15°C/min
t _{TOTAL} : 20min	Paso 3: 260 – 280°C a 1,5°C/min	
Programa 6	Paso 1: 160°C x 1min	Paso 2: 160 – 260°C a 15°C/min

t_{TOTAL} : 23min **Paso 3:** 260 – 280°C a 1,5°C/min (280°C x 2min)

Programa 7 **Paso 1:** 160°C x 1min **Paso 2:** 160 – 260°C a 30°C/min

t_{TOTAL} : 19min **Paso 3:** 260 – 280°C a 1,5°C/min (280°C x 1min)

***T. Inyector:** 250°C, **T. Detector:** 250°C, **Inyección:** 1 μ l, split 1:10, P = 10psi, **Columna:** HP-5ms, 30m

Como se observa en la Tabla 6, el rápido aumento de temperatura, produce una baja resolución de los picos, sobre todo para los analitos más apolares, por lo que los cambios en el programa se realizaron en términos de disminuir el incremento en la temperatura de la columna. En consecuencia, el programa 6 fue el óptimo, ya que además de obtener la mejor resolución (Tabla 8) para los analitos más concentrados. En la tabla 7 se muestran los resultados para los analitos estudiados, y de aquellos que separados entre ellos (Figura 11). Los parámetros cromatográficos se calcularon de acuerdo a las ecuaciones para describir la eficiencia de separación de la columna cromatográfica (Skoog y col., 2001)

Tabla 8. Datos de eficiencia de la columna para la determinación de PBDEs por GC-ECD*

	t_R [min]	t'_R [min]	Ancho de pico [min]	R_s	k'	α	N	H [cm]
BDE-47	11,52	9,93	0,345		6,2		$4,0 \times 10^4$	$7,5 \times 10^{-2}$
				12,3		1,2		
BDE-102	13,53	11,93	0,097		7,5		$3,1 \times 10^5$	$9,6 \times 10^{-3}$
				1,8		1,0		
BDE-100	13,79	12,19	0,192		7,7		$8,3 \times 10^4$	$3,6 \times 10^{-2}$
				4,4		1,1		
BDE-99	14,86	13,27	0,289		8,3		$4,2 \times 10^4$	$7,1 \times 10^{-2}$
				5,0		1,1		
BDE-85	16,57	14,97	0,410		9,4		$2,7 \times 10^4$	$1,1 \times 10^{-1}$
				2,7		1,1		
BDE-154	17,46	15,86	0,236		10,0		$7,1 \times 10^4$	$4,3 \times 10^{-2}$
				4,9		1,1		
BDE-153	19,16	17,57	0,431		11,1		$3,2 \times 10^4$	$6,4 \times 10^{-2}$
							Promedio	$7,7 \times 10^4$
								$6,4 \times 10^{-2}$
t_R : Tiempo de retención				α : factor de selectividad				
t'_R : Tiempo de retención corregido				N: Número de platos teóricos				
R_s : Resolución				H: Altura de plato				
k' : factor de retención								

En resumen, el uso del detector ECD, permitió determinaciones más sensibles, ya que es un detector específico para compuestos halogenados, confirmando las señales por comparación de los tiempos de retención. El detector MS permitió comprobar las señales obtenidas ya que entrega el espectro de masa del analito estudiado.

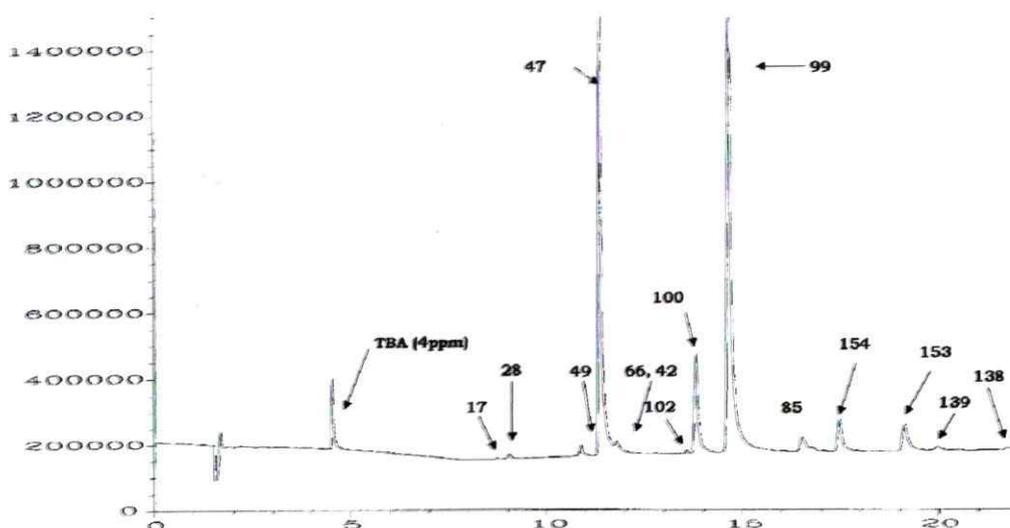


Figura 11: Cromatograma de los PBDEs en estudio por GC-ECD. Condiciones cromatográficas: Volumen de inyección 1 μ L, split 1:10, Temperatura del inyector 250°C, Programa de temperatura: 160°C (1min), 160 – 260°C a 15°C/min, 260 – 280°C a 1,5°C/min (280°C x 2min).

De los parámetros cromatográficos calculados para los PBDEs estudiados, el factor de retención (k') relaciona la velocidad de migración de un analito dentro de la columna. La retención de un analito depende de las interacciones que éste tenga con los sitios activos del film que recubre la columna, y esto es una medida del grado de polaridad que presentan los compuestos estudiados. A través del cálculo del k' , se pueden determinar los valores de $\log K_{ow}$ (Nemeth-Konda y col., 2002).

Es así, que podemos observar que los analitos más apolares son aquellos que tienen tiempos de retención mayores y valores de k' también mayores; y al comparar estos valores con los de $\log K_{ow}$ (ATSDR, 2004) de literatura, se encontró que existe una relación lineal, predicha para estos valores por la polaridad de los PBDEs.

5.2. Caracterización de AH utilizado como material de referencia para la MO de las muestras-modelo.

Para verificar si el tipo de AH utilizado en la elaboración de las muestras-modelo es el adecuado para modelar el contenido de MO de las matrices de trabajo, se realizaron algunos ensayos comparando los resultados con un AH extraído desde una muestra de suelo y de biosólido (Palladino y col., 2007).

5.2.1. Determinación de la acidez total, acidez carboxílica y acidez fenólica de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido

El análisis de la acidez de las sustancias húmicas es de utilidad para el estudio de los grupos ácidos contenidos en la macromolécula. La acidez de las sustancias húmicas (AFs y AHs) se debe principalmente a la presencia de grupos carboxílicos y fenólicos, y esta propiedad influye, por ejemplo, en la solubilidad y la capacidad de complejación (Tan, 1996).

Se han descrito varios métodos experimentales para analizar la acidez total, carboxílica y fenólica, basado en metodologías que incluyen titulaciones ácido-base. Estos métodos se pueden clasificar en dos grupos, los *métodos basados en la valoración directa* con una base, en la cual se titulan los AFs y/o AHs con alguna base, que puede ser NaOH o KOH; y el *método de Schnitzer y Khan* (Schnitzer y Khan, 1978) en el cual, la acidez total se determina con $\text{Ba}(\text{OH})_2$, la acidez carboxílica con $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ y la acidez fenólica por diferencia entre ambos valores (Skhonde y col.,

2007). Para la determinación de la acidez se utilizó el método descrito por Schnitzer y Khan (Tabla 9).

La acidez de las sustancias húmicas se atribuye a la presencia y distribución dentro de la estructura de algunos grupos funcionales (como, -CHO, COOH, PhOH), los cuales se pueden encontrar disponibles en distinto grado de acuerdo a la estabilidad termodinámica de las sustancias húmicas (Palladino y col, 2007). De esta manera la determinación de la acidez por el método de Schnitzer y Khan permite tener una descripción de los tipos de grupos funcionales fenólicos, carboxílicos, y dar una tendencia del grado de acidez total.

Tabla 9. Determinación de la acidez carboxílica, fenólica y total para los AH comercial y extraídos de suelo y biosólido

	Acidez Carboxílica (meq/g \pm σ)	Acidez Fenólica (meq/g \pm σ)	Acidez Total (meq/g \pm σ)
AH comercial	4,7 \pm 0,0	8,3 \pm 1,2	13,0 \pm 1,2
AH de suelo	3,7 \pm 0,7	8,4 \pm 0,7	12,1 \pm 0,0
AH de biosólido	5,6 \pm 0,7	11,4 \pm 0,4	17,0 \pm 0,4

σ : desviación estándar, n = 2

Como se observa en la Tabla 9, los valores de la acidez total del AH comercial y el AH de suelos, son similares, e inferiores a lo obtenido para la acidez del AH de biosólido. Si se analiza la acidez carboxílica para los tres sistemas, los valores obtenidos son relativamente similares, en cambio en la acidez fenólica, lo obtenido para la muestra de AH de biosólido es mucho mayor. Debido a los procesos involucrados en el tratamiento de aguas, el contenido de MO de los biosólidos, en la

cual hay sustancias húmicas, se pueden modificar generándose una mayor cantidad de grupos fenólicos (por procesos de metilación) y carboxílicos (por procesos de oxidación).

5.2.2. Determinación de la relación E_4/E_6 de los AHs comercial, extraída de suelo y de biosólido

La espectroscopía de absorción molecular es uno de los métodos espectroscópicos empleados para la caracterización de las sustancias húmicas. El color de los AHs se debe a los grupos cromóforos y auxóchromos, potenciadores del color. La absorción de radiación UV-visible, por las sustancias húmicas, está dada por el *grado de condensación de los anillos aromáticos presentes en las estructuras; relación entre el carbono contenido en estructuras aromáticas y alifáticas; contenido total de carbono y masa molar* (Rivero y Paolini, 1994). La relación E_4/E_6 propuesta por Kononova (Kononova, 1966) ha sido utilizada como parámetro para caracterizar tanto los AHs como los AFs, determinando desde el espectro de absorción UV-visible, la absorbancia medida de diferentes soluciones en medio básico de los AHs y/o AFs a 465 y 665 nm. Este parámetro se considera como índice de humificación (Kumada y Sato, 1980), estimándose la calidad de los materiales orgánicos, el cual indica la cantidad de carbono no humificado en relación al carbono humificado (Acosta y col., 2004). En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos para la relación E_4/E_6 de los ácidos húmicos comercial, extraída de suelo y de biosólido.

En el caso del AH comercial y de suelo (Tabla 10) se obtuvieron valores promedio para la relación E_4/E_6 de $5,3 \pm 0,4$ y $5,6 \pm 0,8$, respectivamente, valores dentro del intervalo encontrado para los AHs de distintos suelos (Vaca Paulín y col., 2006). De acuerdo a los estudios de Chen y colaboradores (Chen y col., 1977a), la relación E_4/E_6 está inversamente relacionada con el tamaño, masa molar y grado de asociación entre las moléculas de las sustancias húmicas, pudiendo considerarse como un indicador del grado de complejidad. Además esta relación presenta una alta correlación con el contenido de radicales libres, O, C y COOH presentes en la molécula (Chen y col., 1977), y guarda una alta dependencia del pH por cuanto éste define las estructuras químicas y la disociación de los grupos funcionales (Rivero y Paolini, 1994).

Tabla 10. Determinación de la acidez carboxílica, fenólica y total, t de la Relación E_4/E_6 , para los AH comercial y extraídos de suelo y biosólido

Concentración de AH	20 $\mu\text{g/mL}$	40 $\mu\text{g/mL}$	60 $\mu\text{g/mL}$	80 $\mu\text{g/mL}$	$X \pm \sigma$
	E_4/E_6	E_4/E_6	E_4/E_6	E_4/E_6	E_4/E_6
AH comercial	5,9	5,1	5,2	5,0	$5,3 \pm 0,4$
AH de suelo	6,8	5,2	5,1	5,1	$5,6 \pm 0,8$
AH de biosólido	1,6	3,2	4,7	7,9	$4,4 \pm 2,7$

Al comparar los valores de E_4/E_6 para la muestra comercial y extraída de suelo, se puede deducir que su grado de humificación es similar, y ambos serían útiles en su uso como representativo de la MO. Para el AH de biosólido el valor de E_4/E_6 es $4,4 \pm 2,7$ no es representativo ya que al analizar los valores a diferentes concentraciones muestra una dependencia con la concentración del AH (Esta tendencia no se observa

en las otras muestras). Esto se podría deber al origen de la muestra, ya que los diferentes procesos por los cuales pasa el biosólido en el tratamiento de aguas, provocaría una diferencia en los grupos funcionales existentes en la estructura orgánica, y que en este caso reaccionarían con el NaHCO_3 con el cual se prepararon todas las soluciones medidas.

Los resultados obtenidos de estos ensayos indican que el uso de AH comercial como representativo de la MO de sedimento y de biosólido, es una alternativa viable, para la elaboración de muestras-modelo de sedimento y de biosólido. Además, permite suprimir una etapa dentro del proceso de preparación de las muestras-modelo, correspondientes a la extracción de AHs desde una muestra de suelo.

5.3. Optimización del tratamiento de limpieza de los extractos de biosólido

Dentro de las etapas de preparación de muestra del PMQ, hay una serie de procedimientos que se deben realizar antes de la medición de una señal analítica. Todas estas etapas deben efectuarse de tal forma, que hagan al proceso analítico lo más preciso, sensible y selectivo posible y que permitan obtener resultados de alta calidad (Valcárcel, 1999).

Lamentablemente, algunas metodologías de extracción no son selectivas, y en muchos casos las muestras a tratar son complejas y poseen un sinnúmero de otros componentes que afectarán la medida de la señal analítica para el compuesto objetivo. Asimismo, es necesario optimizar metodologías de limpieza que permitan eliminar

componentes que pudiesen interferir en la señal analítica del analito, sin eliminar al analito en cuestión ya que sobre los extractos obtenidos se realizará la determinación cuantitativa.

Existen una serie de procedimientos de limpieza reportados en la literatura, que consisten esencialmente en la utilización de columnas multicapas, que poseen sílica gel, florisil y/o alúmina, modificados en distintos grados y en distintas proporciones (National Environmental Research Institute, 2003; Öberg y col., 2002; Litten y col., 2003; Liu y col., 2006). El tratamiento de limpieza se utiliza luego de la etapa de extracción y es especialmente importante para muestras con un alto grado de interferentes como son los extractos de biosólidos. Se decidió utilizar un tratamiento de limpieza modificado a lo reportado por Eljarrat y Gevao (Eljarrat y col., 2008; Gevao y col., 2008). La metodología consiste en mezclar distintas cantidades de H_2SO_4 concentrado con el extracto de la muestra-modelo de biosólido, y luego con una disolución de NaCl. Finalmente, el extracto se seca con Na_2SO_4 anhidro. Como una última etapa fue necesario agregar cobre en polvo para eliminar la presencia de azufre desde el extracto. En el caso del extracto de la muestra-modelo de sedimento sólo fue necesario realizar el secado con Na_2SO_4 anhidro.

El H_2SO_4 tiene un punto de ebullición alto (290 °C) y una gran afinidad por el agua, por lo que en la dilución de éste se genera una gran cantidad de calor. El H_2SO_4 es un poderoso deshidratante, propiedad que se deja notar especialmente cuando entra en contacto con compuestos orgánicos o tejidos vivos, a los que extrae toda el agua, hasta la carbonización, eliminando así la MO (Mitra, 2003).

Una de las ventajas del uso del H_2SO_4 para la limpieza de extracto de PBDEs se debe a que los éteres son inertes en presencia de un gran número de reactivos, que sí reaccionan con otras sustancias, como los alcoholes. Sólo el ácido yodhídrico (HI) y bromhídrico (HBr) rompen el enlace éter. En el caso de los PBDEs, la estabilidad de este enlace se ve aumentada, por la energía de resonancia propia de los anillos aromáticos de los grupos fenilos (Carey y col., 2000)

Otra etapa importante en la limpieza del extracto de biosólido, fue la eliminación de azufre con cobre en polvo. El azufre presente en los biosólidos y otras matrices sólidas se degrada en forma microbiana por reducción del ión sulfato o se puede encontrar como azufre sólido, el cual es utilizado como fungicida. De esta forma, la molécula de S_8 se descompone en agregados más pequeños, lo que se evidenció en los resultados obtenidos por Bowart y Riis, los cuales detectaron señales claras y definidas correspondientes a estos agregados (Bowart y col., 1994; Riis y col., 1999), que solapan los analitos de interés. Existe una serie de procedimientos que permiten eliminar al azufre, pero la utilización de cobre es la más eficaz (Riis y col., 1999). La eliminación de azufre se produce por la formación de sulfuro de cobre (CuS), precipitado de color negro. Un mecanismo probable de la reacción entre cobre y azufre, es la oxidación del cobre metálico a Cu(II) y la reducción de azufre a sulfuro, que producen el CuS.

Se optimizó la cantidad de ácido que se agregó a las muestras, debido a que este agente es el que elimina la mayor cantidad de interferentes. El protocolo de trabajo fue el siguiente: el extracto de la muestra de biosólido BET 2007, que tiene la mayor cantidad de interferentes, se agregó una alícuota de concentración conocida de

PBDEs. A esta mezcla en n-hexano, se agregó H_2SO_4 , de acuerdo a las siguientes estrategias:

- E-1. 50 mL x 1 H_2SO_4 conc. + 50 mL x 3 NaCl 5 % p/v
- E-2. 50 mL x 2 H_2SO_4 conc. + 50 mL x 3 NaCl 5 % p/v
- E-3. 50 mL x 3 H_2SO_4 conc. + 50 mL x 3 NaCl 5 % p/v

En cada una de las etapas de proceso, se descartó la fase acuosa y se siguió con el tratamiento descrito anteriormente. Los resultados obtenidos para los analitos en estudio se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Porcentaje de recuperaciones de los PBDEs* para la optimización del tratamiento de limpieza

	E-1 (% $\pm \sigma$)	E-2 (% $\pm \sigma$)	E-3 (% $\pm \sigma$)
BDE-47	74,6 \pm 3,2	93,8 \pm 1,5	97,7 \pm 1,4
BDE-85	65,8 \pm 3,0	93,7 \pm 0,5	87,6 \pm 8,8
BDE-99	78,3 \pm 3,2	95,1 \pm 2,1	87,9 \pm 2,5
BDE-100	76,0 \pm 4,9	92,9 \pm 1,4	97,7 \pm 2,3
BDE-153	59,3 \pm 1,0	95,5 \pm 0,3	87,9 \pm 8,5
BDE-154	93,8 \pm 3,0	99,7 \pm 0,5	88,6 \pm 8,8

*Concentración agregada: 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, σ : desviación estándar, n = 2

Al utilizar 50 mL de H_2SO_4 , para el caso del BDE-85, y BDE-153, el solapamiento de las señales cromatográficas, por parte de los interferentes, descartó la posibilidad de realizar el tratamiento. A pesar que con 3 volúmenes de ácido, las recuperaciones son cuantitativas para todos los analitos, los porcentajes de

recuperaciones más bajos en este caso, hizo descartar esta posibilidad. Este resultado puede ser atribuido a pérdidas de los analitos durante la manipulación de la muestra. Este tratamiento de limpieza es similar a una extracción líquido-líquido, ya que se efectúa dentro de un embudo de decantación, y cada vez que se descarta la fase acuosa, cabe la posibilidad de ir perdiendo pequeñas cantidades de la fase orgánica que contiene a los analitos.

Para la eliminación de los restos de ácido de la fase orgánica se utilizó una solución de NaCl 5 % p/v. Esta solución no tiene un efecto sobre las señales cromatográficas de los analitos. Se utiliza una solución salina, para aumentar la fuerza iónica de la fase acuosa, y de esta manera evitar la posibilidad, aunque mínima, de transporte de analitos a esta fase, porque los PBDEs tienen una muy baja solubilidad en agua. Conforme a estos resultados el tratamiento de limpieza se optimizó con 2 porciones de 50 mL H₂SO₄ concentrado y 2 porciones de 50 mL de NaCl al 5% p/v, ya que se obtuvieron las mayores recuperaciones de los analitos.

5.4. Preparación de muestras-modelo de sedimento y biosólido

5.4.1. Muestra-modelo de sedimento

Para la elaboración de la muestra de sedimento se eligieron los materiales representativos de los componentes de un sedimento, alúmina (Al₂O₃) (como material inorgánico), que junto con la sílice son los componentes esenciales en las arcillas (Ehlers y col., 2006), y AH, como componente de las sustancias húmicas de la MO

(Figura 12). En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para la determinación del contenido de MO.

Como se observa en la Figura 12, existen variados modelos de la estructura molecular de los AHs establecidos por diferentes autores. Aunque existen discrepancias entre las estructuras propuestas, éstas poseen semejanzas en cuanto al número y tipo de grupos funcionales presentes (Vivas-Reyes y col., 2007). Los resultados de la Tabla 12 muestran la obtención de muestras-modelo con un contenido de MO representativo, a lo encontrado en muestras reales de sedimentos; y con valores de desviación estándar bajo, con lo que se obtuvo un resultado con alta precisión. La determinación del contenido de MO se realizó a través de un método colorimétrico (Miyasawa y col., 2000; Sadzawka y col, 2006), el cual se basa en la oxidación de la MO con dicromato ($Cr_2O_7^{2-}$) (ecuación 2), y luego con una medición espectrofotométrica del cromo reducido.

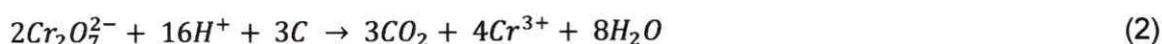


Tabla 12. Caracterización de las muestras-modelo de sedimento

	Carbono orgánico (% \pm σ)	pH
MODELO 1	ND	6,12 \pm 0,01
MODELO 2	0,56 \pm 0,3	5,68 \pm 0,01
MODELO 3	0,93 \pm 0,4	5,65 \pm 0,01
MODELO 4	1,5 \pm 0,3	5,63 \pm 0,01
MODELO 5	2,3 \pm 0,2	5,23 \pm 0,01

ND: no detectado, σ : desviación estándar, n = 2

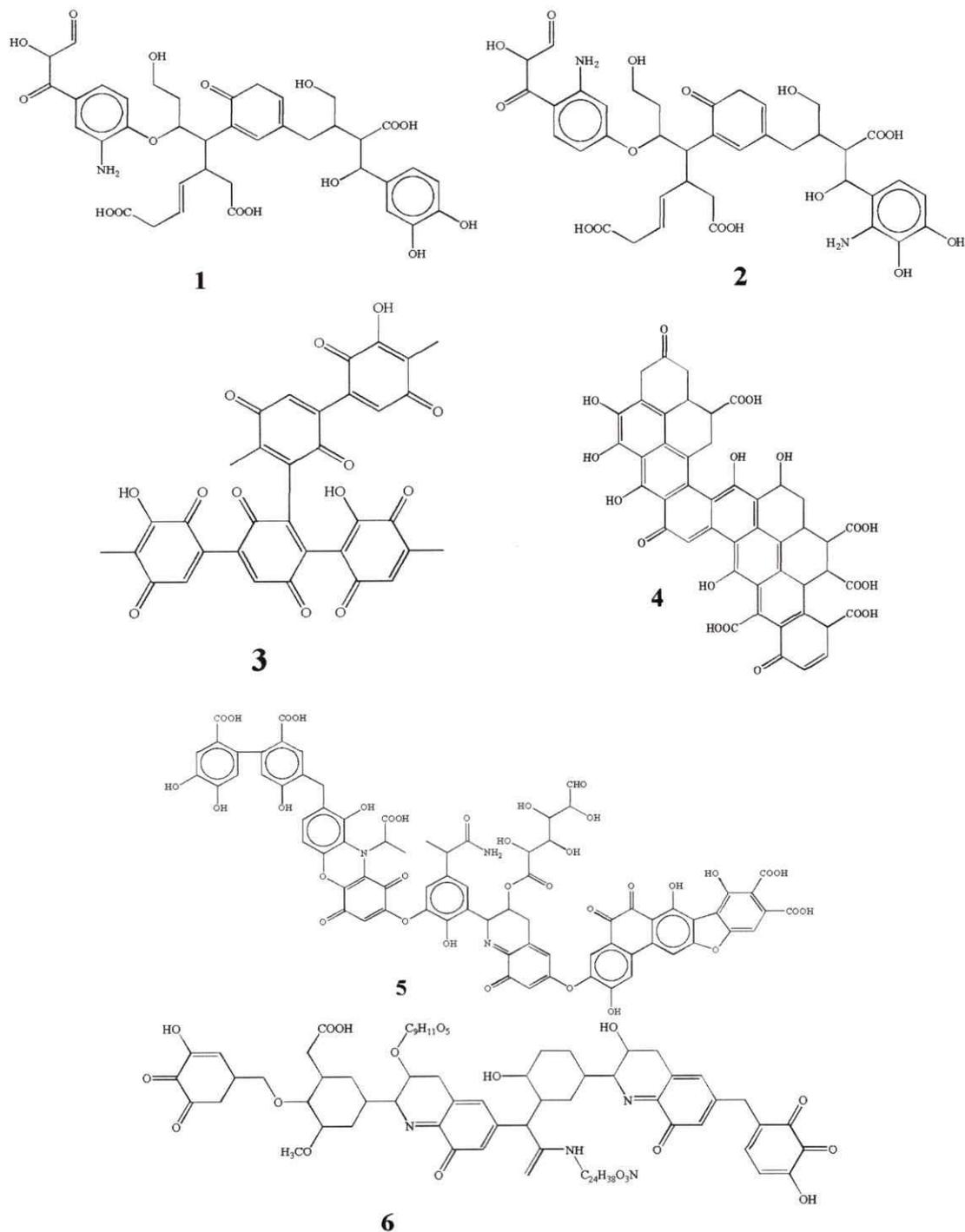


Figura 12. Modelos de la estructura química de ácido húmico (AH).

1: Modelo de Steelink, 2: Modelo de Temple-Northeastern-Birmingham (TNB)

3: Modelo de Flaig, 4: Modelo de Fuchs, 5: Modelo de Dragunov 6: Modelo de Stevenson

El pH de las muestras-modelo se determinó potenciométricamente, y los resultados se muestran en la Tabla 10. La disminución del pH entre las muestras se debe a la cantidad de AH agregado en la elaboración de los diferentes modelos. Para los estudios realizados posteriormente se seleccionó la muestra-modelo 2.

5.4.2. Muestra-modelo de biosólido

Para la elaboración de esta muestra-modelo, se tomaron varias alternativas para destruir parcial y controladamente el carbono orgánico presente en la muestra de biosólido, y así obtener varios modelos con un contenido creciente de MO. El primer paso fue determinar la MO de la muestra de biosólido utilizado (BET 2007). La cantidad de carbono orgánico es de $23,2 \pm 0,2$ %, con un pH de $7,01 \pm 0,01$. Dentro de las estrategias utilizadas para la destrucción de la MO de esta muestra se utilizó en primera instancia la oxidación controlada del carbono orgánico utilizando distintos agentes oxidantes, entre ellos permanganato (MnO_4^-) en medio ácido, y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en medio ácido, etc. Los resultados obtenidos no fueron satisfactorios, ya que en ninguno de los casos estudiados se encontró una relación entre el contenido de MO destruida con respecto a las cantidades estequiométricas de los reactivos agregados. La siguiente estrategia fue disolver y extraer con distintos disolvente la MO presente. Se utilizó agua, diclorometano (DCM), n-hexano y NaOH 0,1 mol/L. Este ensayo se realizó en forma individual y secuencial sobre la muestra de biosólido original. Se esperaba lograr una extracción mayor con NaOH y que fuera disminuyendo hasta agua (NaOH > n-hexano > DCM > agua), pero no se logró ningún resultado óptimo. Además se probó, usando agua y n-hexano a ebullición, no

encontrándose grandes diferencias con lo obtenido con agua y n-hexano a temperatura ambiente. Finalmente, la elaboración de las muestras-modelo de biosólido se basó en la eliminación total del contenido orgánico por combustión seca a 360°C por 24 h de la muestra de biosólido original BET 2007 (Sadzawka y col, 2006), y la mezcla en distintas proporciones de este sustrato inorgánico con material orgánico, preparándose 3 muestras distintas (biosólido A, B y C). Para asegurar que la MO se oxidaba a CO₂, la muestra se separó en varias porciones pequeñas en capsulas de porcelana, las cuales se calentaron en mufla. En todos los casos se midió espectrofotométricamente el contenido orgánico de las muestras (Miyasawa y col., 2000; Sadzawka y col, 2006).

Se realizó un análisis termogravimétrico (TGA), para verificar la pérdida de masa de la muestra de biosólido. Si todavía existía una cierta cantidad de material orgánico en la muestra (Figura 13).

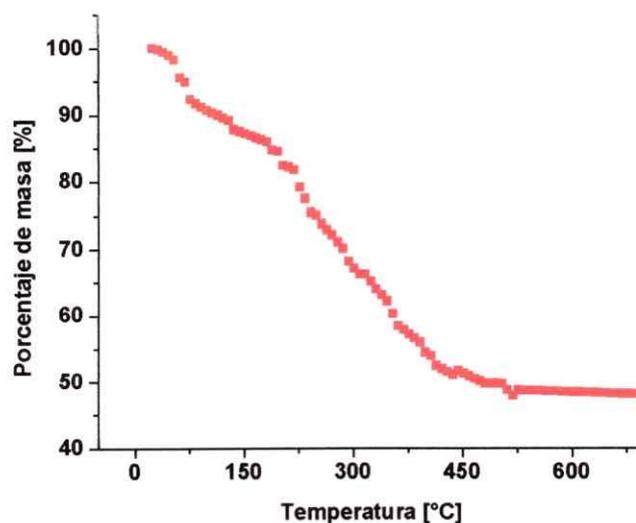


Figura 13. TGA para la muestra de biosólido utilizada en elaboración de muestras-modelo

La obtención de biosólido es parte del proceso de tratamiento de aguas, cuya estrategia es similar en las diferentes plantas de tratamiento, basado en un tratamiento previo del agua, una etapa de sedimentación primaria, un tratamiento biológico y una etapa de desinfección para la eliminación de agentes patógenos. Finalmente el sólido obtenido se trata según la vía de desecho o uso que el biosólido tendrá, ya sea para la enmienda de suelos, incineración u eliminación en monorrellenos (Halcrow, 2005).

La composición de un biosólido es relativa al origen del agua a tratar, y por ende las modificaciones al proceso dependen de los reactivos utilizados. Dentro de los componentes sólidos solubles y no solubles de origen orgánico e inorgánico que se pueden encontrar en un biosólido están carbohidratos, proteínas, grasas, aceites, celulosa, sustancias húmicas, metales como Ni, Mn, Pb, Cr, Cd, Zn, Cu, Fe, Hg, aniones, como cloruros, hidróxidos, carbonatos y bicarbonatos de calcio, magnesio, sodio, potasio, o amonio, óxido de calcio, de potasio, de fósforo (Metcalf & Eddy, 1985), entre otras sustancias sólidas, y una cantidad de agua variable, pero con un alto porcentaje de sustancia de origen orgánico.

Como se observa en la Figura 13, la pérdida de masa de la muestra coincide con los resultados obtenidos de la medición de masa que se atribuye al contenido orgánico, y medido espectrofotométricamente. A temperaturas superiores se continuó perdiendo masa, lo que representaría otras sustancias que se fueron descomponiendo entre ellas un contenido orgánico remanente de material orgánico. En este sentido, en resultados posterior, este remanente sería responsable del comportamiento encontrado en algunas muestras modelo de biosólido para la sorción de los PBDEs sobre éstas. De esta manera el material que es el soporte del modelo de biosólido corresponde a un material orgánico remanente.

5.4.2.1. Muestras-modelo de biosólido A, B y C

Con el objetivo de elaborar una muestra-modelo de manera eficiente y eficaz se decidió calcinar la muestra de biosólido BET 2007, eliminando el contenido de MO y después mezclarlo con un material que represente la MO, para lo cual se mezcló el biosólido calcinado con el biosólido BET 2007, en distintas proporciones en masa (biosólido A) y el otro modelo se mezcló el biosólido calcinado con AH (biosólido B). En orden a comprobar si existe un efecto de la temperatura a la cual se llevó a cabo la calcinación sobre las muestras, se eliminó el contenido orgánico usando H_2O_2 en medio ácido y luego mezclar en distintas proporciones en masa, con AH (biosólido C). Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Dentro de las características que debe tener la muestra-modelo es su homogeneidad, y para mezclar los componentes de cada una de ellas, se utilizaron varias alternativas, la primera de ellas fue mezclar los correspondientes componentes dentro de un balón que se hizo girar con la ayuda de un rotavapor durante 20 min., pero al medir el contenido de materia orgánica en cada muestra, las desviaciones estándar relativas variaron entre 3 y 35%, descartando esta opción de agitación. Luego se homogenizó en un mortero de ágata, para lo cual se mezclaron los correspondientes componentes de cada muestra en el mortero durante 10 min., y finalmente dentro del frasco contenedor por otros 10 min. Esta metodología de homogenización fue efectiva, ya que las mediciones realizadas para el contenido de MO tuvieron una alta precisión, como se muestra en la Tabla 13.

Tabla 13. Caracterización de las muestras-modelo de biosólidos A, B y C.

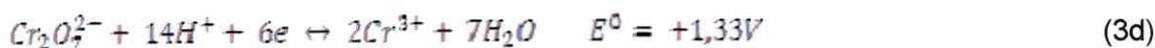
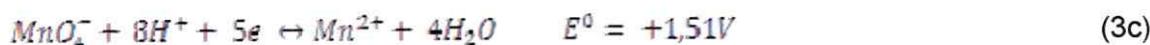
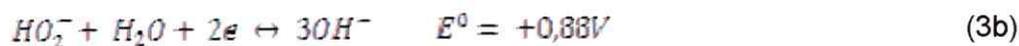
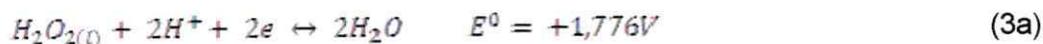
BIOSOLIDO A		
	Carbono orgánico (% \pm s)	pH
MODELO 1-A	ND	6,27 \pm 0,01
MODELO 2-A	5,2 \pm 0,9	6,29 \pm 0,01
MODELO 3-A	11,8 \pm 0,1	6,48 \pm 0,01
MODELO 4-A	16,4 \pm 0,7	6,67 \pm 0,01
MODELO 5-A	23,2 \pm 0,2	6,95 \pm 0,01
BIOSOLIDO B		
MODELO 1-B	ND	6,27 \pm 0,01
MODELO 2-B	7,8 \pm 0,9	4,59 \pm 0,01
MODELO 3-B	14,7 \pm 0,1	4,21 \pm 0,01
MODELO 4-B	19,3 \pm 1,9	4,15 \pm 0,01
MODELO 5-B	24,3 \pm 0,5	4,02 \pm 0,01
BIOSOLIDO C		
MODELO 1-C	ND	6,56 \pm 0,01
MODELO 2-C	5,9 \pm 0,9	4,68 \pm 0,01
MODELO 3-C	12,4 \pm 0,9	4,60 \pm 0,01
MODELO 4-C	18,7 \pm 0,6	4,53 \pm 0,01
MODELO 5-C	25,6 \pm 1,7	4,23 \pm 0,01
ND: no detectado, s: desviación estándar, n = 2		

Los resultados obtenidos para el biosólido A son satisfactorios con respecto al contenido de MO, pero al estar formada por las dos muestras de biosólidos, no existe una concordancia entre los diferentes modelos debido a la distinta cantidad de biosólido BET 2007 y calcinado con los que se elaboran las muestras-modelo, por lo

tanto, existen varios componentes que forman cada muestra, y no se cumple con la condición de que las muestras-modelo sean simples en cuanto a su composición.

De esta manera, se elaboró la muestra-modelo B. Se eligió el AH como representativo de la MO, ya que se ha encontrado la presencia de éste en muestras de biosólido.

En el caso de la muestra-modelo C se utilizó H_2O_2 , debido al alto potencial de oxidación de este agente, comparado con otros agentes (ecuaciones 3a-3d), y que se refuerza en medio ácido, el producto de la semirreacción de reducción del peróxido es agua, y la semirreacción de oxidación del carbono orgánico es CO_2 (ecuación 4), por lo que no se generan sustancias que puedan tener alguna interferencia a diferencia de otros agentes, como permanganato o dicromato, que producen Mn^{2+} y Cr^{3+} , respectivamente; siendo esta propiedad, en el caso de la elaboración de la muestra-modelo, importante para evitar la presencia de nuevas sustancias que interfieran en el estudio, y que puedan afectar el comportamiento del analitos de interés en los experimentos posteriores.



La forma en la cual se elaboró la muestra-modelo de biosólido C fue similar a las anteriores, se tomó una muestra del biosólido BET 2007, se le agregó H₂O₂ en medio de HCl (que sirve para eliminar el carbono inorgánico que pudiese estar presente como carbonato y/o bicarbonato), en forma continua, y se calentó a una temperatura cercana a lo 60°C hasta eliminar el contenido total de carbono orgánico, para luego mezclar en distinta proporción en masa con AH.

Las dificultades de la obtención de este modelo se debe a que la reacción redox genera una gran cantidad de espuma formada por el CO₂ y el vapor de agua generados, con lo que no se puede obtener una cantidad importante de material sin MO, lo que operativamente es complejo, comparado con lo realizado con la muestra-modelo de biosólido B, en la cual se puede tratar una gran cantidad de la muestra de biosólido BET 2007, y de esta manera tener una cantidad importante de la muestra-modelo para los estudios posteriores.

5.5. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en las muestras-modelos de biosólido

El carbono orgánico disuelto se puede encontrar en todas las aguas, suelos y sedimentos naturales como compuestos orgánicos macromoleculares. Éste se puede distribuir dentro del suelo o sedimento hacia la solución suelo o a las aguas circundantes (Ehlers y col., 2006). El carbono orgánico disuelto desempeña un papel importante en la partición de todas las clases de compuestos orgánicos hidrofóbicos (HOCs). La asociación de HOCs al carbono orgánico disuelto ocurre principalmente vía

interacciones hidrofóbicas. El enlace de HOCs al carbono orgánico disuelto influye en su comportamiento dentro del ambiente, aumentando la movilidad de HOCs sorbidos o haciéndolos menos biodisponible, por ejemplo para la biodegradación microbiana y la recaptación por los invertebrados (Haftka y col., 2006).

De esta manera, el estudio del efecto de la MO sobre la sorción de los PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento entrega una orientación de cuáles serían las técnicas de extracción más apropiadas para las especies en determinadas condiciones de las matrices, dadas por sus propiedades, que afectan la retención de los analitos en ellas.

Este estudio consistió en agregar una cantidad conocida de los PBDEs sobre cada una de las muestras-modelo y analizar qué cantidad quedó retenida en la fase sólida y qué cantidad quedó en solución. Se trabajó en dos concentraciones, (0,1 y 1,0 $\mu\text{g/mL}$) para todas las muestras-modelo y estudiar el efecto de la concentración sobre la retención de los analitos. En la Tabla 14, 15 y 16 se muestran los resultados para las muestras-modelo de biosólido.

Tabla 14. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en biosólido A

	MODELO 1	MODELO 2	MODELO 3	MODELO 4	MODELO 5	
	Conc. Sor. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g/mL}$]*	Conc. Ag. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g/mL}$]				
BDE – 47	90	314	510	809	828	3730
BDE – 85	10	28	48	67	66	278
BDE – 99	190	625	795	1230	1226	5050
BDE – 100	40	141	170	25	258	1030
BDE – 153	18	72	99	124	119	442
BDE – 154	15	61	79	108	105	38
BDE – 47	16	61	113	157	187	373
BDE – 85	2	11	12	15	17	28
BDE – 99	25	196	209	258	309	505
BDE – 100	6	41	43	53	61	103
BDE – 153	3	20	25	28	32	44
BDE – 154	2	17	22	24	27	38

*s para cada una de las concentraciones, menor a 0,1%

Tabla 15. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en biosólido B

	MODELO 1	MODELO 2	MODELO 3	MODELO 4	MODELO5	
	Conc. Sor. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g}/\text{mL}$]*	Conc. Ag. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g}/\text{mL}$]				
BDE – 47	16	61	113	804	824	3730
BDE – 85	2	11	1,2	67	255	278
BDE – 99	25	196	209	1220	1220	5050
BDE – 100	6	41	4,3	246	255	1030
BDE – 153	3	20	2,5	123	118	442
BDE – 154	2	17	2,2	123	104	38
BDE – 47	1,6	6,1	11,5	156	186	373
BDE – 85	0,19	1,4	1,2	1,47	67	28
BDE – 99	2,4	18,9	21,9	262	308	505
BDE – 100	0,61	4	4,5	5,02	63	103
BDE – 153	0,32	3,3	3,5	28	31	44
BDE – 154	0,2	1,7	2,3	25	28	38

*s para cada una de las concentraciones, menor a 0,1%

Tabla 16. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en biosólido C

	MODELO 1	MODELO 2	MODELO 3	MODELO 4	MODELO5	
	Conc. Sor. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g/mL}$]*	Conc. Ag. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g/mL}$]				
BDE – 47	12,3	68,3	1051	1496	210,4	3730
BDE – 85	17,1	1168	1692	2117	223,6	278
BDE – 99	8,7	142,1	1474	1956	245,4	5050
BDE – 100	19,1	135,4	203,5	198,6	223,8	1030
BDE – 153	29,3	210,9	209,8	225,1	262	442
BDE – 154	31,1	184,8	198,9	235	255,7	380
BDE – 47	1,3	7,4	10,4	14,9	25,2	373
BDE – 85	1,9	12,7	16,7	21,1	26,8	28
BDE – 99	1	15,5	14,6	19,5	24,3	505
BDE – 100	2,1	14,8	20,1	21,8	25,1	103
BDE – 153	3,2	23,0	20,8	24,8	31,4	44
BDE – 154	3,4	20,1	19,7	25,9	30,7	38

*s para cada una de las concentraciones, menor a 0,1%

Al analizar los resultados obtenidos, se observa que existe una mayor sorción de los PBDEs, a medida que el contenido de MO aumenta, entre los diferentes modelos, por lo que existe un efecto de ésta sobre los analitos, que afectarían su comportamiento dentro de sistemas reales. Esta tendencia se encontró en las tres muestras-modelo de biosólido (Figura 14).

Si se comparan los resultados entre las diferentes muestras, se observan algunas diferencias propias de la constitución de cada muestra-modelo; es así, que el tipo de MO de la muestra-modelo A es diferente que el contenido para las muestras-

modelo B y C, además del contenido inorgánico dentro de la muestra A, ya que está formada por una mezcla del biosólido calcinado y el biosólido BET 2007.

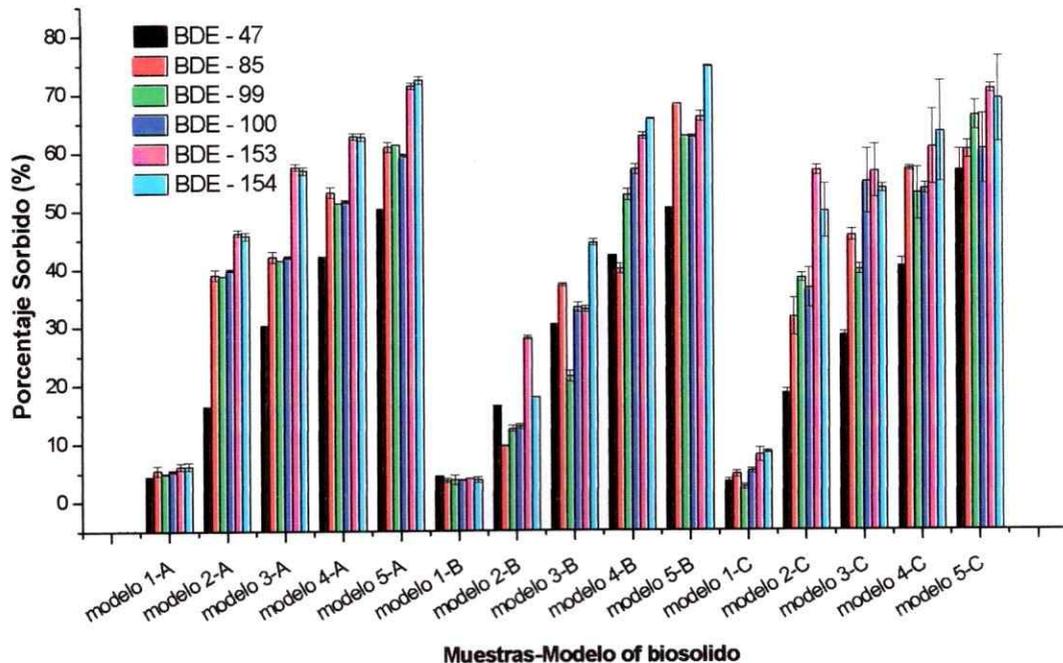


Figura 14. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en muestras-modelo de biosólido A, B y C

Los resultados obtenidos mostraron que en la medida que la concentración agregada de los PBDEs aumentó, la cantidad sorbida de éstos en las muestras mostró un incremento, ya que hay una mayor cantidad de moléculas que ocupan los sitios activos de la fase sólida. Este resultado entrega una importante información para la elaboración de las isotermas de adsorción de los PBDEs sobre la muestra elegida, que de acuerdo a lo obtenido es la muestra-modelo B que está constituido por el biosólido calcinado y AH, como representativo de MO, ya que su elaboración es mucho más simple que el de la muestra C y mucho más representativa que la muestra A.

Se han realizado algunos estudios en los cuales se describe el contenido inorgánico de los biosólidos (Jaynes y Zartman, 2005), aunque los estudios para los biosólidos son principalmente en el conocimiento de la cantidad y tipo de material orgánicos (porcentaje de carbono, nitrógeno, oxígeno, etc.), debido a su uso en la acondicionamiento de suelos agrícolas (Eljarrat y col., 2008; Peng y col., 2009).

Jaynes y Zartman han descrito la presencia de diferentes componentes inorgánicos existentes en un biosólido, como algunas arcillas, presencia de algunos metales (zinc, cobre, plomo, etc.) y óxidos (de aluminio, hierro, manganeso, etc.), entre otros. Estas sustancias se pueden encontrar en los suelos y sedimentos. Jackson (Jackson, 1958) describe numerosas metodologías para la caracterización de suelos, dentro de ellas, en el análisis de MO por calcinación hace referencia que la temperatura de trabajo para oxidar la MO de suelos no debería alterar las propiedades del material que queda sin reaccionar.

5.6. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en las muestras-modelo de sedimento

Para la muestra de sedimento se realizó el mismo estudio de sorción. En el caso de las muestras-modelo de sedimento (Tabla 17), hay una menor retención de los analitos, comparando lo obtenido con las muestras de biosólido, que tienen un mayor contenido de MO, y a medida que el contenido de ésta disminuye en las muestras, la adsorción de los analitos es menor (Figura 15).

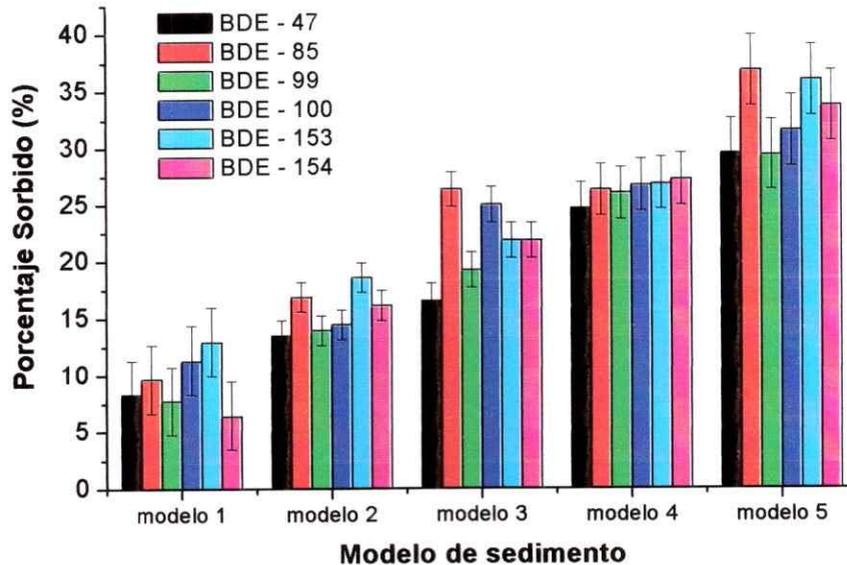


Figura 15. Efecto de la MO sobre la sorción de PBDEs en muestras-modelo de sedimento.

Se obtuvo una tendencia con respecto a la retención de los analitos, en la cual las interacciones hidrofóbicas serían importantes para la sorción de los PBDEs en la matriz, ya que los PBDEs estudiados más apolares son más retenidos que los más polares (hexa-BDE > penta-BDE > tetra-BDE) (Langford y col., 2005).

Para moléculas, como los PBDEs además de tener la posibilidad de unirse por interacciones hidrofóbicas a través de los anillos aromáticos, éstos pueden formar puentes de hidrógeno, a través de los átomos de bromo. Los puentes de hidrógeno son una fuerte interacción dipolo-dipolo, por lo que tienen un fuerte efecto en la estructura y propiedades de muchos compuestos. En el caso de las muestras-modelo de biosólido A, a medida que la cantidad de MO aumentaba, el pH es menos ácido; pero en el biosólido B se da la tendencia contraria.

Tabla 17. Concentraciones sorbida y agregada para los PBDEs en muestra-modelo de sedimento

	MODELO 1	MODELO 2	MODELO 3	MODELO 4	MODELO 5	
	Conc. Sor. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g/mL}$]*	Conc. Ag. $\times 10^{-4}$ [$\mu\text{g/mL}$]				
BDE-47	97	150	280	300	370	3730
BDE-85	12	20	260	39	34	278
BDE-99	250	270	380	440	580	5050
BDE-100	47	84	94	92	109	1030
BDE-153	26	59	40	46	63	442
BDE-154	22	19	30	49	60	380
BDE-47	31	51	62	92	111	373
BDE-85	3	5	7	70	10	28
BDE-99	40	71	97	131	148	505
BDE-100	12	15	26	28	33	103
BDE-153	6	8	10	12	16	44
BDE-154	3	6	8	10	13	38

* σ para cada una de las concentraciones, menor a 0,1%

En el caso de las muestras-modelo de biosólido B, los grupos de carácter ácido del AH son los grupos carboxilos y fenólicos, además de grupos básicos como algunos grupos amino. El pKa de los fenoles varía entre 8 y 10, y de los carboxilos entre 3 y 6 (Carey y col., 2000); es decir, que a los valores de pH de las muestras de biosólido B los grupos fenólicos están protonados, y la mayoría de los grupos carboxilos. Por esta razón las posibilidades de formar puentes de hidrógeno entre los átomos de bromo de los PBDEs y los hidrógenos del AH es probable, lo que haría que la sorción de los analitos se vea acrecentada y no sólo las interacciones hidrofóbicas contribuyen a la retención de los PBDEs.

Cuando los grupos carboxilos y fenólicos se encuentran desprotonados, hay un aumento de la polaridad y las interacciones hidrofóbicas disminuirán, hay una expansión de la MO, y por lo tanto, los sitios activos para la sorción disminuyen. A pH ácidos, estos grupos estarán protonados, la carga superficial disminuirá, lo cual crea sitios de sorción adicionales (Haftka y col., 2006) por este motivo, se encontró una mayor sorción, aunque leve, en la muestra de biosólido B comparado con la muestra de biosólido A. En este contexto, se obtuvo una tendencia de mayor sorción con la muestra-modelo C, ya que el pH de éstas es ácido, debido a la cantidad de AH y el medio ácido agregado para la eliminación de la MO desde la muestra inicial (Tabla 13).

La literatura muestra que en los suelos y sedimentos la sorción a través del material inorgánico será muy difícil, debido al carácter apolar de algunos compuestos orgánicos que ingresan a ellos, como los PBDEs, por lo que la sorción se producirá preferentemente a través de la MO. El proceso será gobernado por la baja solubilidad de las moléculas apolares en la fase líquida, más que por una significativa fuerza de atracción a la MO. Se producirá una atracción hidrofóbica por este tipo de compuestos, es decir la atracción sorbato (analito)/disolvente (agua) es muy débil en comparación con la interacción sorbato/sorbente (MO). Se explica la afinidad de estos compuestos por la MO, en función de su carácter apolar. Éste interferiría en la interacción de las moléculas de agua a través de los puentes de hidrógeno entre moléculas de agua, así las moléculas orgánicas son desplazadas desde la solución hacia las partículas de sólido (Muller y col, 2006; Ehlers y col., 2006; Parsons; Ikarashi y col., 2005).

Se han logrado determinar algunas características fisicoquímicas que entregan indicios de cuál sería el comportamiento de un compuesto dentro de una matriz, y de

esta manera postular mecanismos de transporte y de interacción, posible degradación, etc. Entre ellas están la solubilidad (S), presión de vapor (P_V), constante de la Ley de Henry (H), el coeficiente de partición Octanol-Agua (K_{OW}). El K_{OW} es una medida de cómo una sustancia química puede distribuirse entre dos disolventes inmiscibles, agua (Disolvente polar) y octanol (es un disolvente relativamente no polar), por consiguiente es una medida del comportamiento de un analito dentro de los sistemas polares y/o apolares.

De acuerdo a los resultados obtenidos, las muestras-modelo 5 para biosólido y 2 para sedimento fueron seleccionadas para la elaboración del material de referencia para los estudios de extracción.

5.7. Estudio de sorción de PBDEs en las muestras-modelos de biosólido y sedimento.

5.7.1. Estudio del medio acuoso.

Dentro de todas las condiciones que se necesitan controlar para realizar un estudio de sorción de contaminantes orgánicos, como los PBDEs, el medio de reacción se hace significativo, ya que los analitos necesitan estar disueltos en un determinado medio, para luego mezclarlos con el material sorbente en estudio.

Para esto, debemos tomar en cuenta, las propiedades químicas de los analitos, pero más importante es conocer el efecto del medio acuoso, ya que será en agua, el

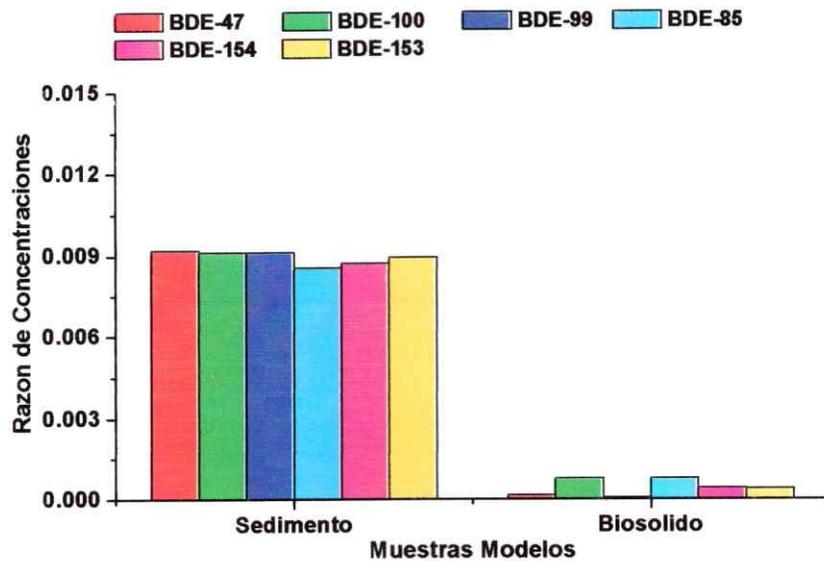


Figura 16. Efecto del medio acuoso para la sorción de los PBDEs en muestras-modelo de biosólido y sedimento

medio con el cual los PBDEs interaccionen en el ambiente. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 16.

Los PBDEs presentan una baja solubilidad en agua (entre 6 y 40 $\mu\text{g/L}$, para los PBDEs en estudio), es decir, que la posibilidad de que estos queden en solución acuosa es muy baja (ATSDR, 2005) y lo más probable es que queden retenidos en la superficie del sorbente o precipiten. Debido a esta baja solubilidad, el intervalo de concentraciones sería muy pequeño y en muchos casos, prácticamente se llegaría a niveles de concentración por debajo del límite de detección de GC-ECD. En este caso, para determinar las concentraciones se consideraron las señales cromatográficas según los tiempos de retención de los estándares de los analitos. Para las muestras de biosólidos, las señales analíticas en la mayoría de los casos se encontraban presente sobre la línea base del equipo. Por ende, la utilización de un medio acuoso para este estudio no daría buenos resultados, por lo que se decidió utilizar un medio mixto, que

permita incrementar la solubilidad de los PBDEs en la fase líquida, el cual corresponde a la mezcla en proporción 60:40 de metanol y una disolución de CaCl_2 0,01 mol/L (Cooke y col., 2004). El Ca^{2+} se utiliza para mantener la fuerza iónica y el metanol porque es un medio donde los PBDEs son muy solubles de acuerdo al nivel de concentración de trabajo (solubilidad de PBDEs en estudio en metanol 20g/mL) y porque es completamente miscible con agua.

El Ca^{2+} actúa como intercambiador entre los sitios activos y los analitos en estudio, por lo que éste podría tener un efecto sobre la sorción de los analitos. Se midió la conductividad de la solución antes y luego de finalizado el proceso de sorción. En este caso no hubo una variación significativa de la conductividad, por lo cual el Ca^{2+} agregado y presente en la muestra-modelo de biosólido no tendría una influencia importante en la sorción de los analitos, considerando que este catión se intercambia en los sitios con los H^+ del sólido, modificando el pH del sistema. Este parámetro modificaría la superficie del componente orgánico disminuyendo la carga, ya que se protonarían los grupos ácidos (fenolatos y carboxilatos, principalmente). Según el pH de las muestras seleccionadas, las variaciones producidas por la presencia de H^+ , sería mínima, según lo obtenido al medir la conductividad del sistema, y tomando en cuenta además, las características apolares de los PBDEs

5.7.2. Estudio del tiempo de agitación

Cada compuesto orgánico tiene un comportamiento diferente dentro de una matriz, el cual depende de sus propiedades físicas y químicas, además depende de

las características que la matriz posea. Por esto, fue necesario estudiar el tiempo que los PBDEs necesitan para alcanzar el equilibrio entre la fase líquida y la fase sólida. Para esto se realizó el estudio, en el medio de metanol/ CaCl_2 0,01 mol/L a 25°C.

Este estudio se llevó a cabo en batch, con un intervalo de tiempo de 0 a 24 horas, y se dejaron de agitar las correspondientes mezclas a intervalo de 3 horas. Como se puede observar para las Figuras 17 y 18, los PBDEs analizados alcanzaron el equilibrio a partir de las 6 h de agitación, excepto para el congénere BDE-153, el

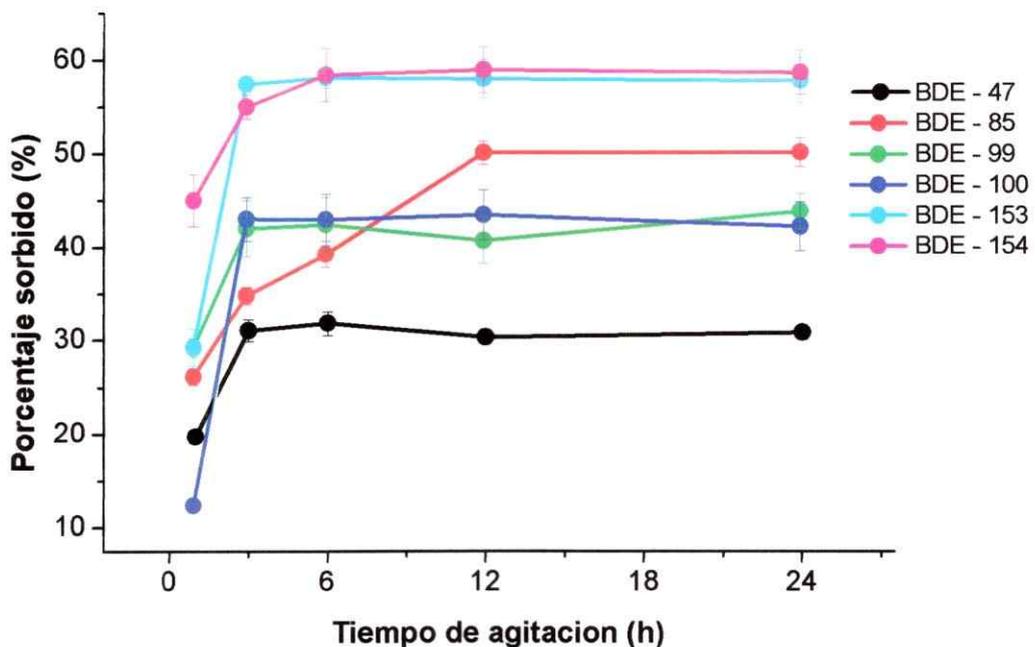


Figura 17. Efecto del tiempo de agitación para la sorción de los PBDEs en muestras-modelo de biosólido

cual alcanzó el punto de equilibrio a partir de las 12 h de agitación, por lo que se decidió dejar como tiempo de agitación para todas las muestras de biosólidos y sedimento de 15 h.

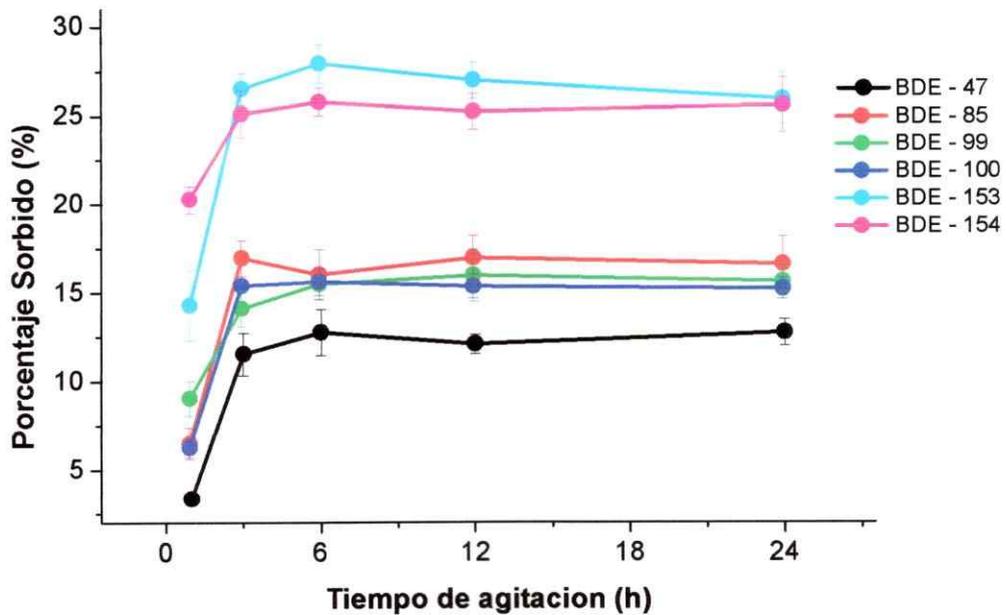


Figura 18. Efecto del tiempo de agitación para la sorción de los PBDEs en muestras-modelo de sedimento

El BDE-153 presentó un comportamiento atípico al respecto de los otros congéneres de PBDEs. No se tiene una explicación certera, al hecho de que el BDE-153 haya sido el único analito que no alcanzó el equilibrio a partir de las 6 h, ya que por comportamiento similar, el BDE-154 es un isómero del BDE-153 (BDE-154 y 153, presentan la misma solubilidad en agua, 1ng/mL). Al cotejar los resultados de los otros congéneres y compararlos con el BDE-153, éste es el más apolar de ellos, y debería interaccionar más rápidamente que los otros analitos, pero el BDE-154 es un poco más polar que el BDE-153 y alcanza el equilibrio mucho antes. En el caso de los otros congéneres, llegarían al equilibrio antes, pues por un efecto estérico su reparto entre las fases es más rápido.

5.7.3. Isotermas de sorción

La sorción es un proceso de acumulación de un analito sobre y en la interfase de una fase sólida y una fase líquida acuosa, en la cual no se hace mención a un mecanismo específico. Existen otros fenómenos como la absorción, donde se produce un arreglo tridimensional, y hay un cambio en la estructura del analito; la adsorción en el cual, el analito se acumula en un arreglo molecular bidimensional sobre la interfase del adsorbente (Sposito 1989), es decir que el material adsorbente posee sitios activos que permiten retener una cierta cantidad de la sustancia adsorbida. La cantidad adsorbida de una determinada especie depende de las propiedades fisicoquímicas del adsorbente, de la especie química y de su concentración en la solución. Pueden existir tres tipos de adsorción según la atracción entre el soluto y adsorbente, la adsorción por intercambio (interacción electrostática), la adsorción física o fisorción (interacciones por Fuerzas de van der Waals) y la adsorción química o quimisorción (formación de fuertes enlaces por el adsorbato en los centros activos del adsorbente). Para estudiar el comportamiento de un analito sobre un material sorbente se realizan isotermas de sorción las cuales describen el equilibrio de la sustancia en una superficie a temperatura constante.

Las isotermas de sorción para los PBDEs estudiados se realizaron en sistema batch y los resultados se muestran en las Figuras 19a, b, c y 20a, b, c. Como se observa en todos los casos, se observó una afinidad constante a bajas concentraciones, comportamiento que siguen la mayoría de los compuestos orgánicos apolares, como los PBDEs. En esta primera etapa, las moléculas se distribuyen entre

la fase interfacial y la solución sin un mecanismo específico entre el sorbente y el sorbato.

A la medida en que la concentración aumenta, las isothermas para los PBDEs en las muestras-modelo de sedimento y biosólido, tienen la forma de una isoterma del tipo I (Sing y col. 1985), también conocida como isoterma de tipo-L. En este tipo de isoterma el sorbato cubre al sorbente hasta que se forma una monocapa y entonces el proceso se detiene.

En el caso de las isothermas elaboradas, en una primera etapa existe una alta afinidad entre el sorbato y el sorbente, y la declinación de la pendiente se produciría porque disminuyen los sitios activos donde quedan sorbidas las moléculas, a medida que existe una mayor concentración. La isoterma de tipo I o L indica una relativamente fuerte afinidad del sorbato y del sorbente a bajas concentraciones y que disminuye a medida que aumenta la concentración (He y col., 2006).

Para describir matemáticamente los fenómenos de sorción de contaminantes orgánicos y otros dentro de matrices, existen diferentes modelos matemáticos que describen el comportamiento de estos contaminantes en las matrices sólidas. Entre los modelos matemáticos están los modelos de sorción *lineal*, *de Langmuir*, *de Freundlich* (Huang y col., 2003), *de modo dual (DMM)* (Song y col., 2005), *de Brunauer-Emmett-Teller (BET)* (Hill, 1996), entre otros.

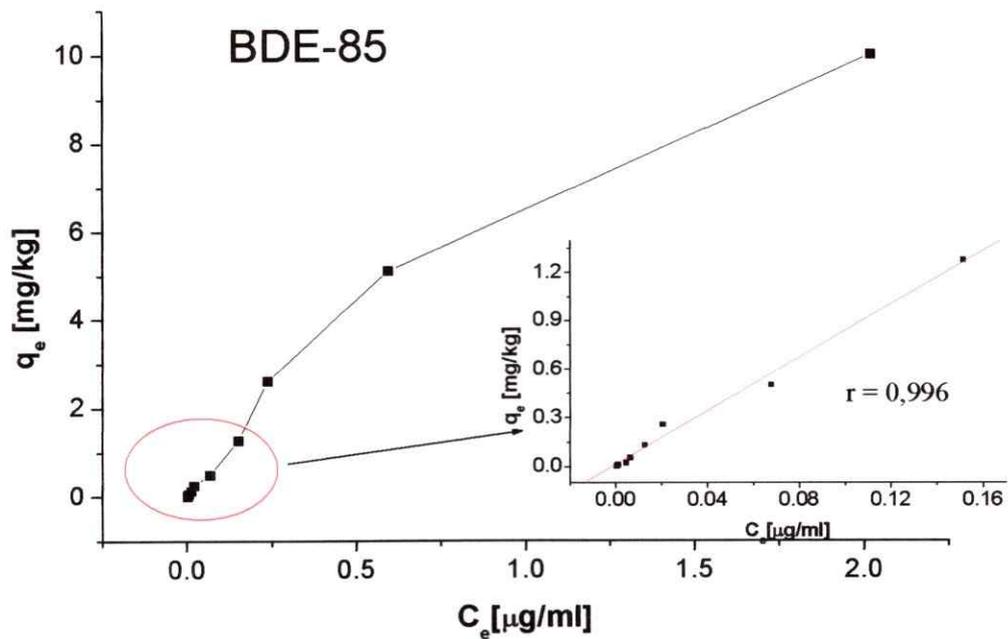
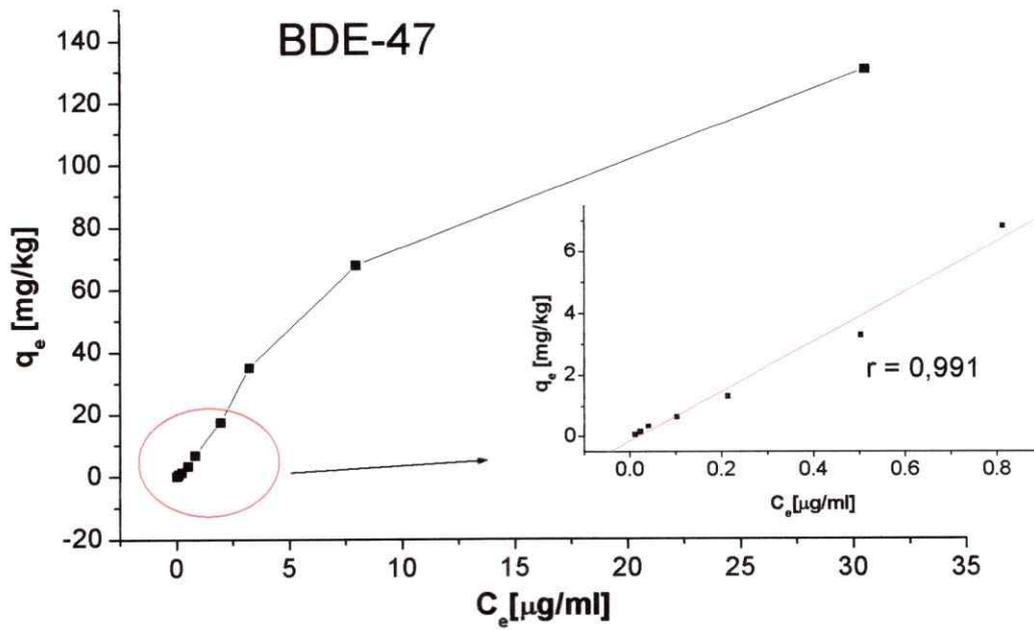


Figura 19a. Isotherma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de biosólido B

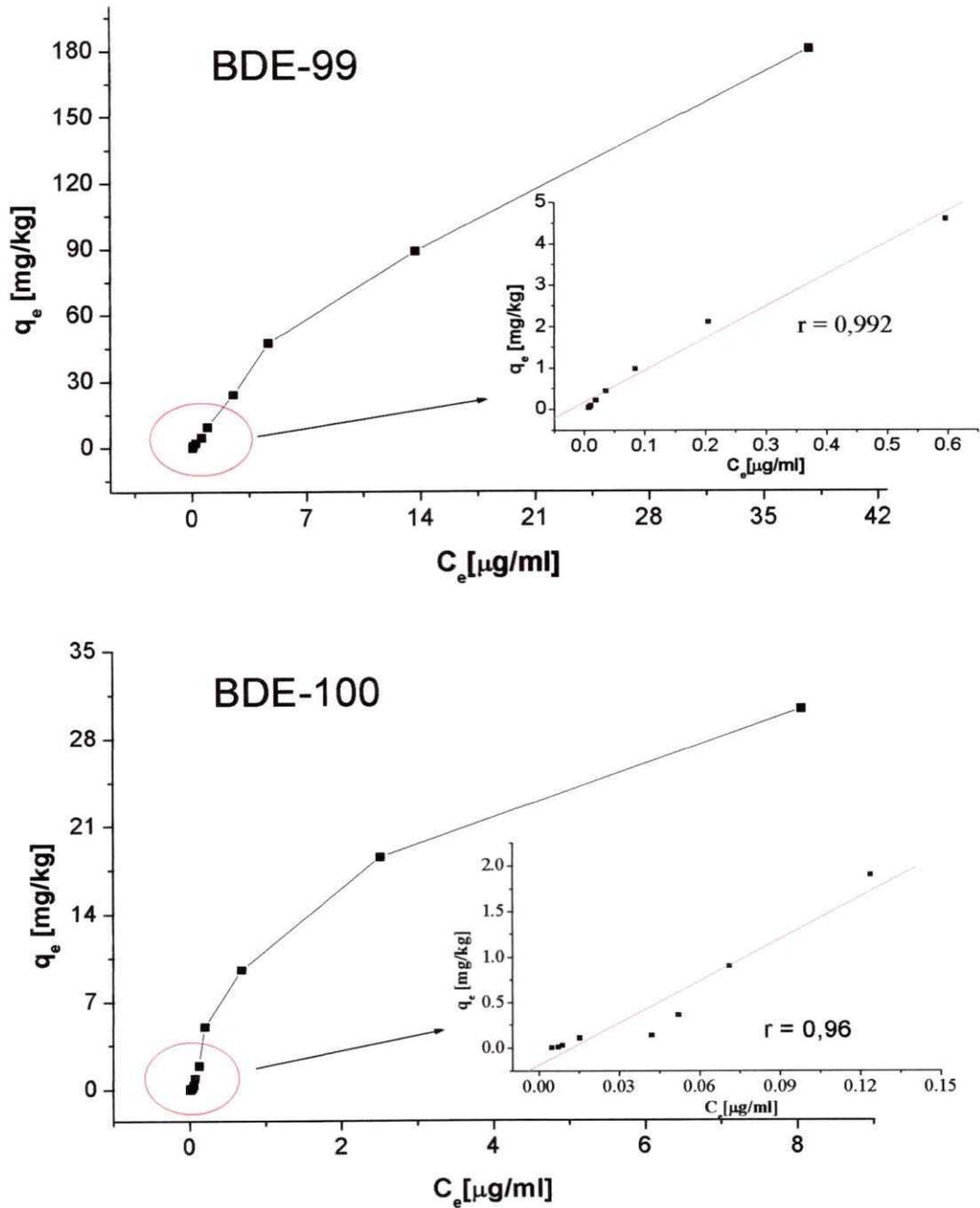


Figura 19b. Isotherma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de biosólido B



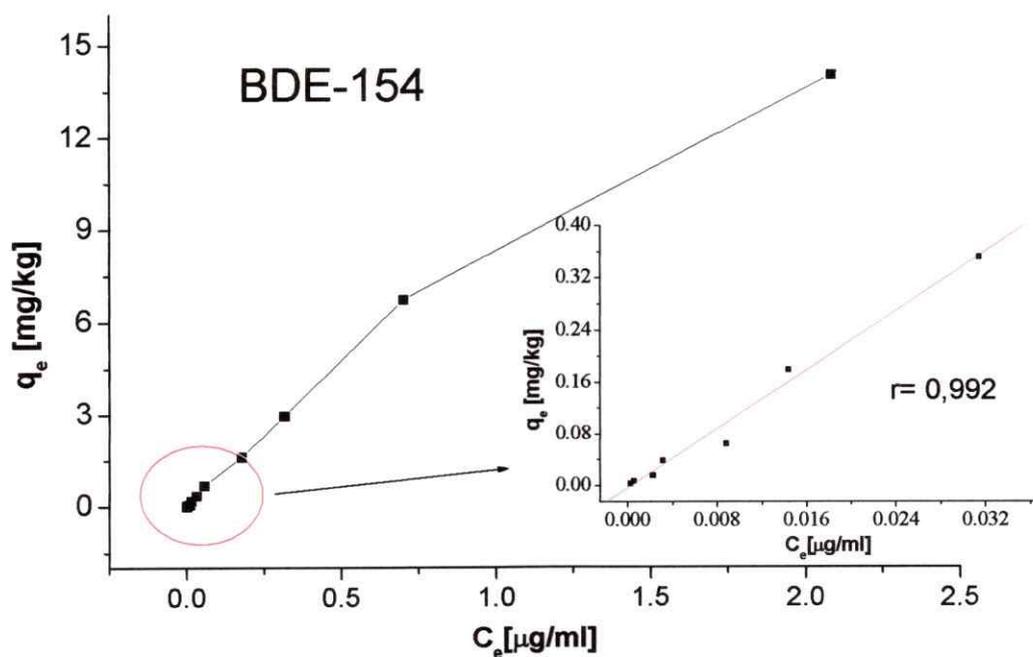
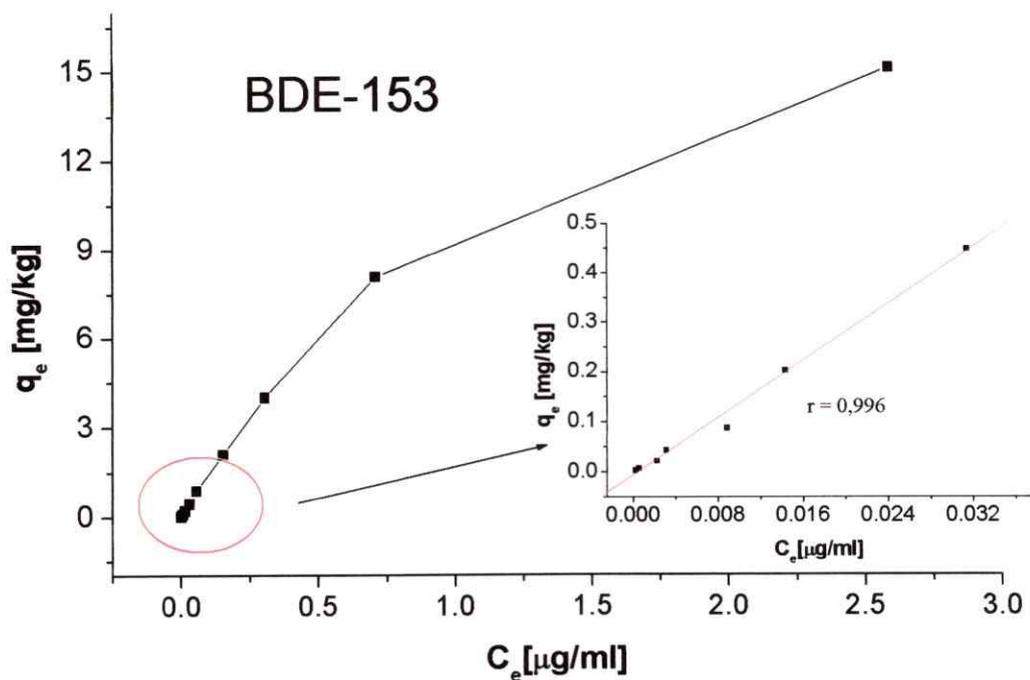


Figura 19c. Isotherma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de biosólido B

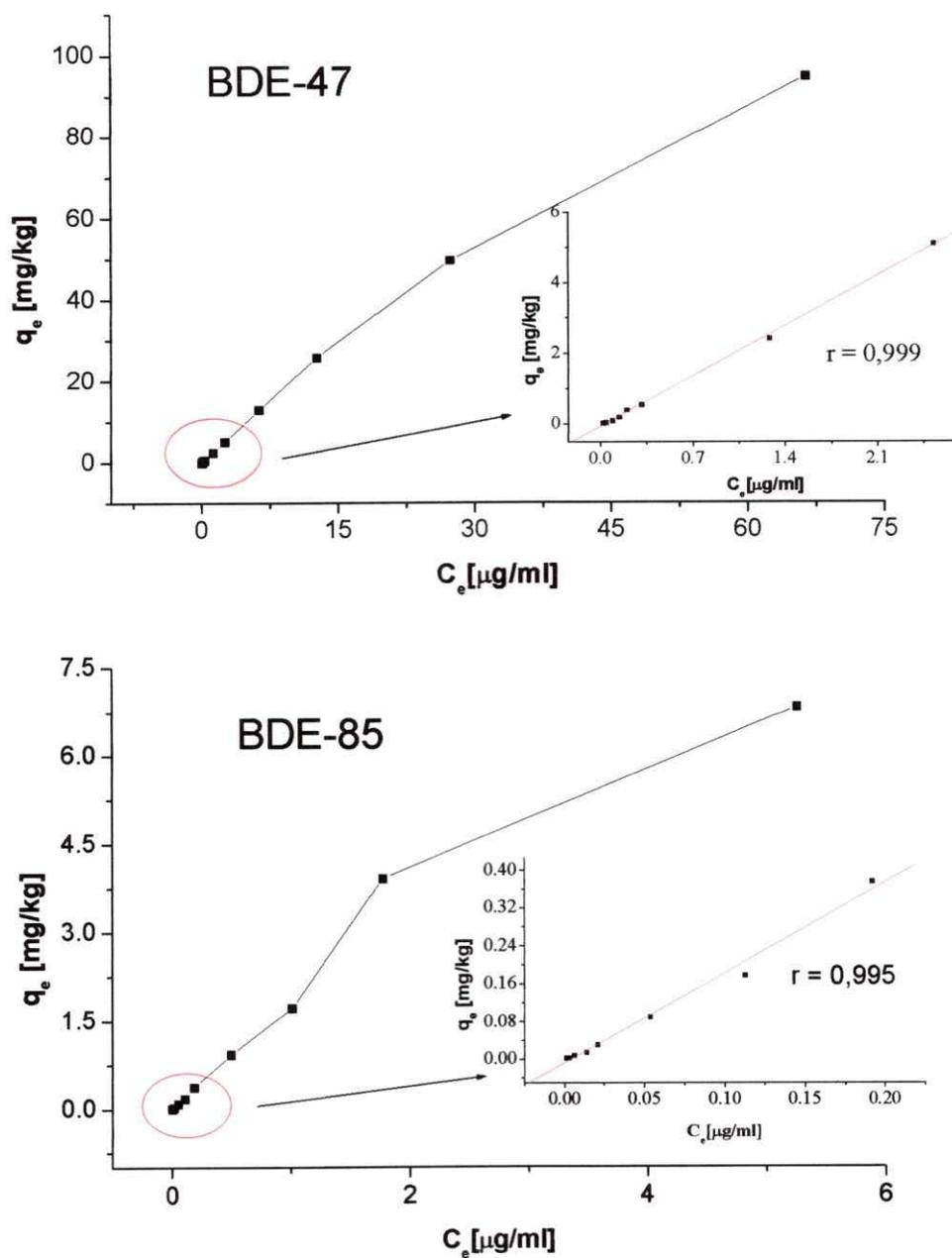


Figura 20a. Isotherma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de sedimento

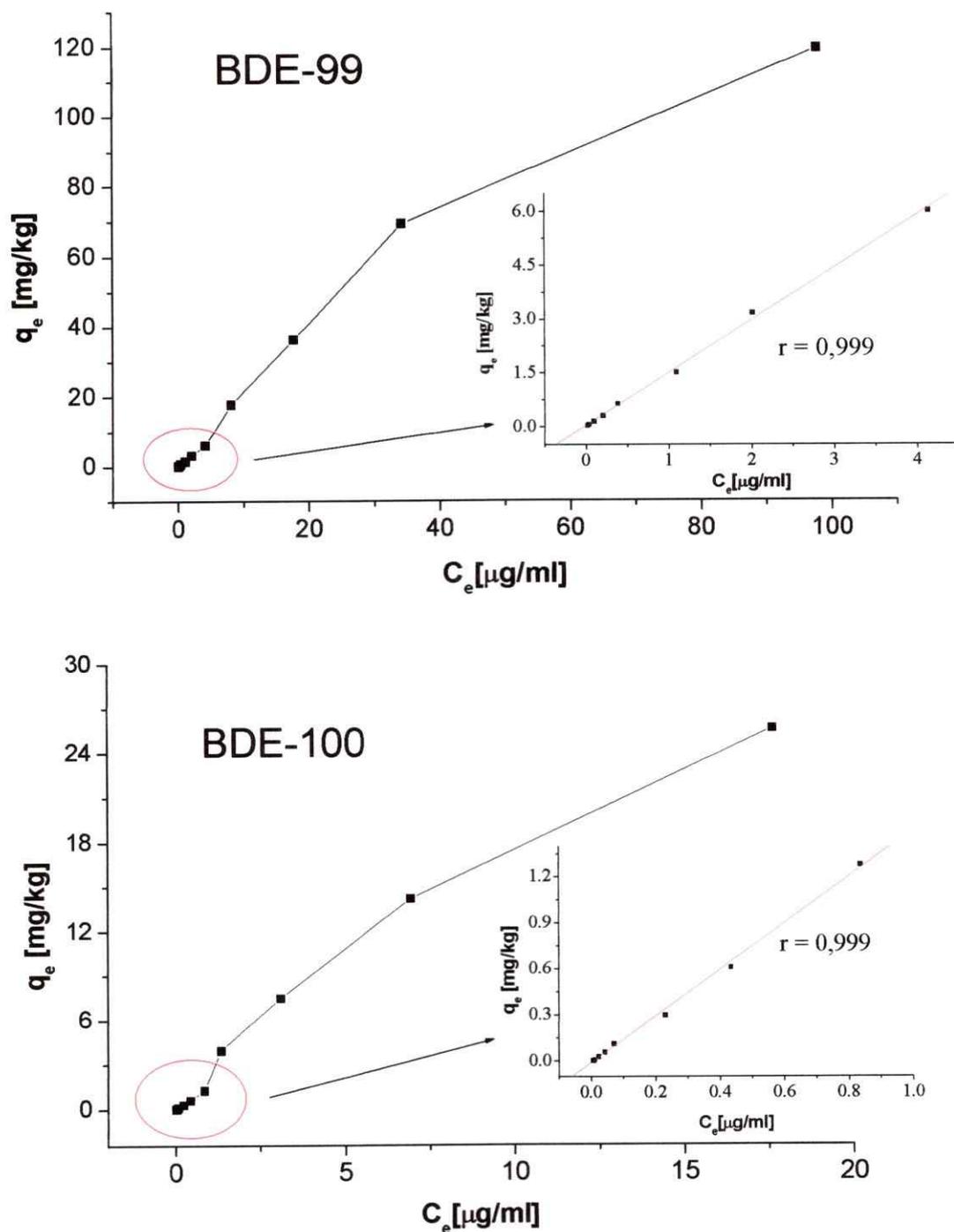


Figura 20b. Isotherma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de sedimento

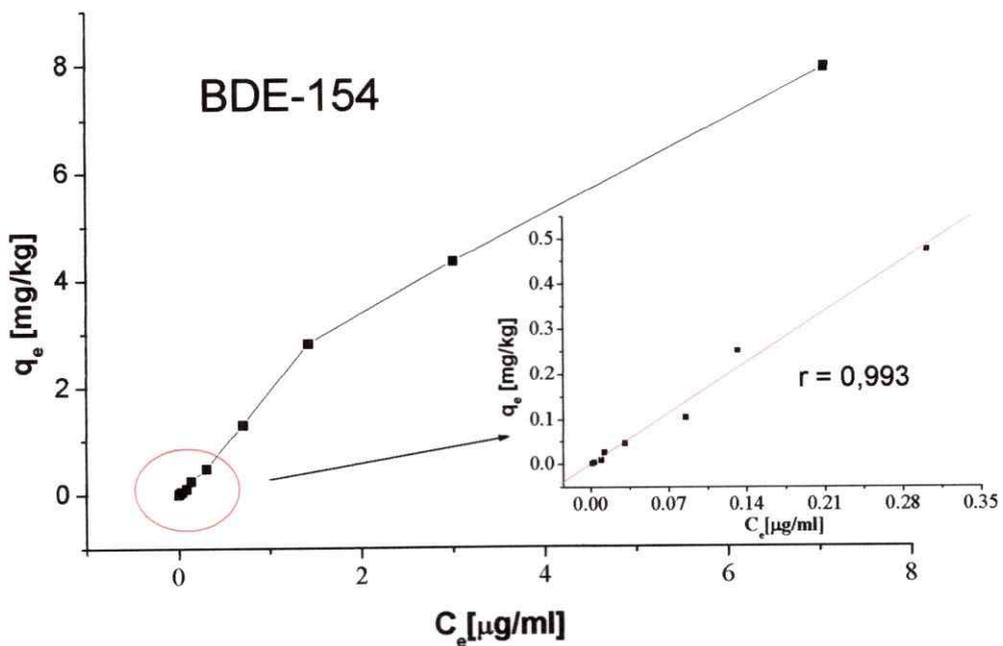
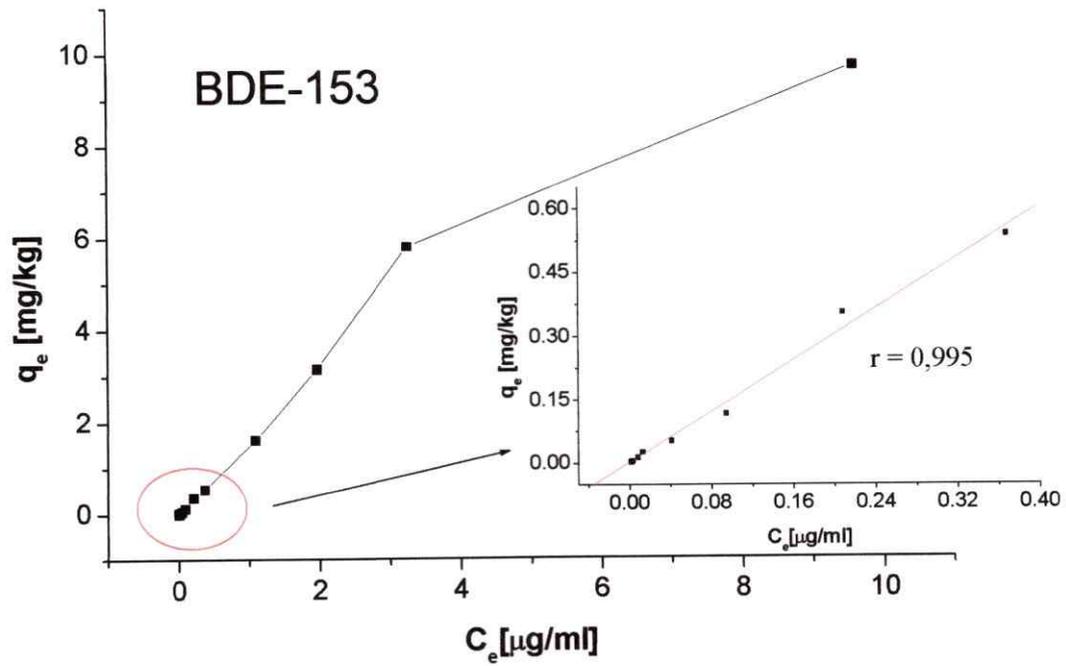


Figura 20c. Isotherma de sorción de los PBDEs en la muestra-modelo de sedimento

El *modelo de sorción lineal* es el más simple de ellos, ya que es dependiente de sólo un parámetro, el coeficiente de distribución (K_D):

$$q_e = K_D C_e \quad (5)$$

donde q_e y C_e son las concentraciones de la especie en la fase sólida y fase acuosa, respectivamente. Cuando el K_D está normalizado a la fracción de carbono orgánico (f_{OC}), éste se convierte en el coeficiente de partición de carbono orgánico (K_{OC}), que permite la clasificación a los contaminantes orgánicos como muy móviles a inmóviles en relación con su potencial de lixiviación (Huang y col., 2003):

$$K_{OC} = K_D \frac{100}{\% f_{OC}} \quad (6)$$

El modelo de partición lineal afirma que la MO de sedimentos o suelos es una fase que no tiene ninguna limitación en los "sitios" o espacios para acomodar las moléculas de contaminantes mientras que la concentración del soluto aumenta. El modelo más simple que describe el sitio de sorción limitado es el *modelo de Langmuir*, expresado por:

$$q_e = \frac{Q^0 b C_e}{1 + b C_e} \quad (7)$$

donde Q^0 es la capacidad máxima de sorción y b es un parámetro de energía relacionado con la interacción soluto/superficie. Esta ecuación indica que q_e y C_e pueden ser linealmente correlacionados como muestra la ecuación 7 cuando $C_e \ll b$.

Si q_e se aproxima a capacidad máxima Q^0 cuando $C_e \gg b$. El modelo de Langmuir es estrictamente aplicado a sorbentes con energías de superficie homogénea para interactuar con los sorbatos, y no sería apropiado para el uso de sorción de contaminantes orgánicos en suelos y sedimentos (Huang y col., 2003). El modelo más comúnmente usado para la cuantificación de equilibrios de sorción de contaminantes orgánicos en suelos y sedimentos es el *modelo de Freundlich*, expresado por:

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (8)$$

donde K_F y n son el factor de capacidad del modelo de Freundlich y el parámetro de linealidad de la isoterma, un indicador del heterogeneidad de la energía del sitio, respectivamente. Esta ecuación se considera a menudo como ecuación empírica de la sorción, pero puede ser derivada desde parámetros termodinámicos (Huang y col., 2003).

De manera de explicar de mejor manera los resultados de sorción, se han introducido algunos cambios a los modelos de Freundlich y Langmuir, con el hecho de satisfacer la Ley de Henry en un amplio rango de concentraciones.

Weber y colaborador (Song y col., 2005), con el fin de explicar el comportamiento de compuestos orgánicos hidrofóbicos en suelos o sedimentos elaboraron el modelo de reactividad distribuida (DRM), el cual incluye los términos de Freundlich y lineal (modelo de Freundlich con Partición lineal)

$$q_e = K_F C_e^{1/n} + K_p C_e \quad (9)$$

Este modelo sólo satisface la ley de Henry en altas concentraciones. De esta manera, los autores con el propósito de simplificar este modelo, introducen un nuevo modelo (modelo de dominio reactivo-dual, DRDM), el cual es similar al modelo de modo-dual, DMM (modelo de Langmuir con Partición lineal), propuesto por Vieth y Sladck (Song y col., 2005):

$$q_e = \frac{Q^0 b C_e}{1 + b C_e} + K_p C_e \quad (10)$$

Este modelo incluye el término lineal y el término de la cantidad de sitios limitado descrito por el modelo de Langmuir. Este modelo incluye el término lineal, dado por el término K_p , y el término de la cantidad de sitios limitados descrito por el modelo de Langmuir. En las Tablas 18 a la 21, se muestran los parámetros calculados para cada modelo.

Tabla 18. Parámetros del modelo de sorción de Freundlich

	K_F	$1/n$	r^2	K_{oc}
BIOSÓLIDO				
BDE-47	$12,9 \pm 1,9$	$0,64 \pm 0,04$	0,986	$30,7 \pm 3,2$
BDE-85	$16,3 \pm 0,2$	$0,68 \pm 0,04$	0,929	$38,8 \pm 3,2$
BDE-99	$13,7 \pm 0,9$	$0,71 \pm 0,02$	0,998	$32,6 \pm 4,6$
BDE-100	$15,0 \pm 0,7$	$0,55 \pm 0,08$	0,936	$23,8 \pm 3,1$
BDE-153	$18,5 \pm 0,3$	$0,63 \pm 0,04$	0,950	$44,0 \pm 2,6$
BDE-154	$18,0 \pm 0,2$	$0,79 \pm 0,03$	0,891	$42,9 \pm 3,0$
SEDIMENTO				
BDE-47	$3,3 \pm 0,3$	$0,80 \pm 0,02$	0,969	$340,2 \pm 11,0$
BDE-85	$2,0 \pm 0,2$	$0,75 \pm 0,06$	0,991	$237,1 \pm 18,2$
BDE-99	$4,7 \pm 0,9$	$0,71 \pm 0,05$	0,993	$484,4 \pm 22,6$
BDE-100	$3,0 \pm 0,3$	$0,75 \pm 0,04$	0,997	$309,3 \pm 14,2$
BDE-153	$4,0 \pm 0,2$	$0,71 \pm 0,05$	0,899	$412,4 \pm 21,0$
BDE-154	$4,9 \pm 0,1$	$0,74 \pm 0,03$	0,909	$505,2 \pm 19,0$

Tabla 19. Parámetros del modelo de sorción de Langmuir

BIOSÓLIDO				
	Q_0	B	r^2	K_M^*
BDE-47	21,3 ± 2,5	0,061 ± 0,005	0,958	16,4 ± 2,1
BDE-85	41,0 ± 0,3	0,053 ± 0,001	0,974	18,1 ± 0,9
BDE-99	48,3 ± 2,2	0,031 ± 0,005	0,899	32,3 ± 1,5
BDE-100	38,3 ± 2,0	0,043 ± 0,006	0,912	30,2 ± 1,5
BDE-153	53,4 ± 0,4	0,011 ± 0,003	0,879	90,9 ± 8,3
BDE-154	55,2 ± 2,2	0,012 ± 0,003	0,888	83,1 ± 5,8
SEDIMENTO				
BDE-47	12,0 ± 4,8	0,85 ± 0,02	0,948	1,2 ± 0,1
BDE-85	14,7 ± 2,0	0,17 ± 0,04	0,998	5,9 ± 0,9
BDE-99	38,1 ± 7,8	0,22 ± 0,09	0,924	4,5 ± 0,5
BDE-100	54,7 ± 3,7	0,50 ± 0,05	0,856	2,0 ± 0,3
BDE-153	48,6 ± 1,9	0,17 ± 0,02	0,843	6,0 ± 0,5
BDE-154	47,2 ± 1,3	0,12 ± 0,01	0,925	8,3 ± 0,6

* $K_M = 1/b$

Tabla 20. Parámetros del modelo de sorción de modelo DRM

BIOSÓLIDO					
	K_F	$1/n$	K_P	r^2	K_{oc}
BDE-47	$14,0 \pm 2,3$	$0,66 \pm 0,07$	$9,0 \times 10^{-3} \pm 3 \times 10^{-4}$	0,984	$33,3 \pm 5,4$
BDE-85	$16,3 \pm 0,5$	$0,68 \pm 0,02$	$3,9 \times 10^{-2} \pm 5 \times 10^{-3}$	0,919	$38,8 \pm 3,3$
BDE-99	$13,3 \pm 2,5$	$0,71 \pm 0,02$	$1,0 \times 10^{-2} \pm 3 \times 10^{-3}$	0,998	$31,6 \pm 5,1$
BDE-100	$19,9 \pm 2,9$	$0,55 \pm 0,09$	$3,0 \times 10^{-4} \pm 2 \times 10^{-4}$	0,945	$47,4 \pm 4,8$
BDE-153	$18,5 \pm 1,0$	$0,63 \pm 0,04$	$3,6 \times 10^{-3} \pm 4 \times 10^{-4}$	0,919	$44,0 \pm 5,3$
BDE-154	$19,0 \pm 0,2$	$0,79 \pm 0,04$	$3,3 \times 10^{-5} \pm 1 \times 10^{-5}$	0,918	$45,2 \pm 4,5$
SEDIMENTO					
BDE-47	$3,2 \pm 0,9$	$0,81 \pm 0,2$	$1,2 \times 10^{-2} \pm 1 \times 10^{-3}$	0,998	$329,9 \pm 10,2$
BDE-85	$3,0 \pm 0,3$	$0,75 \pm 0,05$	$1,0 \times 10^{-2} \pm 3 \times 10^{-3}$	0,982	$309,3 \pm 12,0$
BDE-99	$4,8 \pm 0,4$	$0,71 \pm 0,02$	$5,4 \times 10^{-3} \pm 9 \times 10^{-4}$	0,986	$494,8 \pm 22,2$
BDE-100	$4,0 \pm 0,2$	$0,75 \pm 0,03$	$5,6 \times 10^{-3} \pm 2 \times 10^{-4}$	0,949	$412,4 \pm 13,9$
BDE-153	$6,0 \pm 0,1$	$0,71 \pm 0,02$	$9,9 \times 10^{-3} \pm 1 \times 10^{-4}$	0,913	$618,5 \pm 30,1$
BDE-154	$5,9 \pm 0,6$	$0,74 \pm 0,02$	$1,2 \times 10^{-2} \pm 1 \times 10^{-3}$	0,996	$608,2 \pm 29,5$

Tabla 21. Parámetros del modelo de sorción de modelo DMM

BIOSÓLIDO						
	Q_0	B	K_P	$(Q_0 \cdot b) / K_P$	r^2	K_M
BDE-47	22,5 ± 2,6	0,061 ± 0,002	3,8x10 ⁻³ ± 5x10 ⁻⁴	361 ± 22	0,928	16,4 ± 1,9
BDE-85	38,7 ± 3,1	0,053 ± 0,006	7,1x10 ⁻³ ± 2 x10 ⁻⁴	395 ± 22	0,918	18,9 ± 1,1
BDE-99	48,1 ± 2,1	0,052 ± 0,003	5,1x10 ⁻³ ± 1x10 ⁻⁴	490 ± 30	0,909	19,2 ± 1,2
BDE-100	40,9 ± 3,1	0,049 ± 0,007	1,5x10 ⁻³ ± 3x10 ⁻⁴	1336 ± 21	0,920	20,4 ± 1,1
BDE-153	53,6 ± 0,4	0,037 ± 0,001	2,5x10 ⁻³ ± 7x10 ⁻⁴	793 ± 44	0,948	27,0 ± 3,1
BDE-154	55,2 ± 0,8	0,032 ± 0,009	2,1x10 ⁻³ ± 1x10 ⁻⁴	841 ± 40	0,934	31,3 ± 4,1
SEDIMENTO						
BDE-47	13,7 ± 0,5	0,36 ± 0,06	6x10 ⁻³ ± 3x10 ⁻⁴	850 ± 4	0,958	2,8 ± 0,2
BDE-85	34,3 ± 4,1	0,28 ± 0,05	4,1x10 ⁻³ ± 3x10 ⁻⁴	2342 ± 3	0,990	3,6 ± 0,8
BDE-99	35,3 ± 2,4	0,27 ± 0,02	8,9 x10 ⁻³ ± 8 x10 ⁻⁴	1090 ± 10	0,936	3,7 ± 4,1
BDE-100	42,6 ± 8,8	0,26 ± 0,03	7,3x10 ⁻³ ± 5x10 ⁻⁴	1517 ± 10	0,866	3,8 ± 0,8
BDE-153	48,3 ± 0,7	0,13 ± 0,03	6,6x10 ⁻³ ± 3x10 ⁻⁴	951 ± 21	0,902	7,7 ± 0,9
BDE-154	45,4 ± 0,3	0,14 ± 0,02	5,9 x10 ⁻³ ± 2 x10 ⁻⁴	1077 ± 2	0,998	7,1 ± 0,1

* $K_M = 1/b$

Al analizar los resultados obtenidos, se puede observar que los modelos de Freundlich y DRM, en general se obtienen valores similares de K_F . Esto significa que el comportamiento que tienen los PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento no es lineal, es decir, que la cantidad de sitios activos no son los suficientes, y en un mayor intervalo de concentraciones se llegaría a la saturación del sistema. El comportamiento no lineal de los PBDEs que experimentalmente se obtuvo (Figuras 21 y 22) se ve reflejado en los valores de $1/n$.

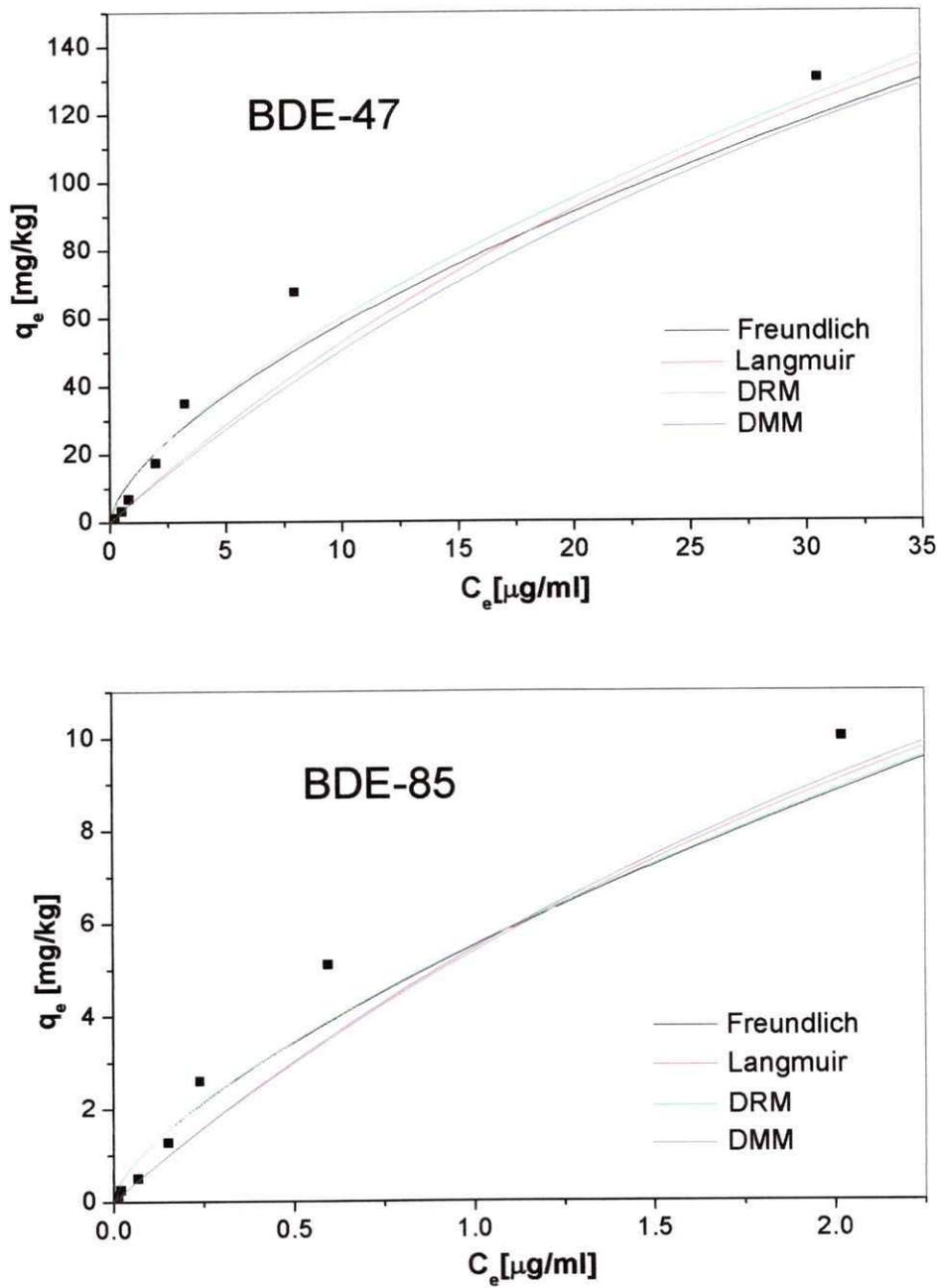


Figura 21a. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de biosólido B

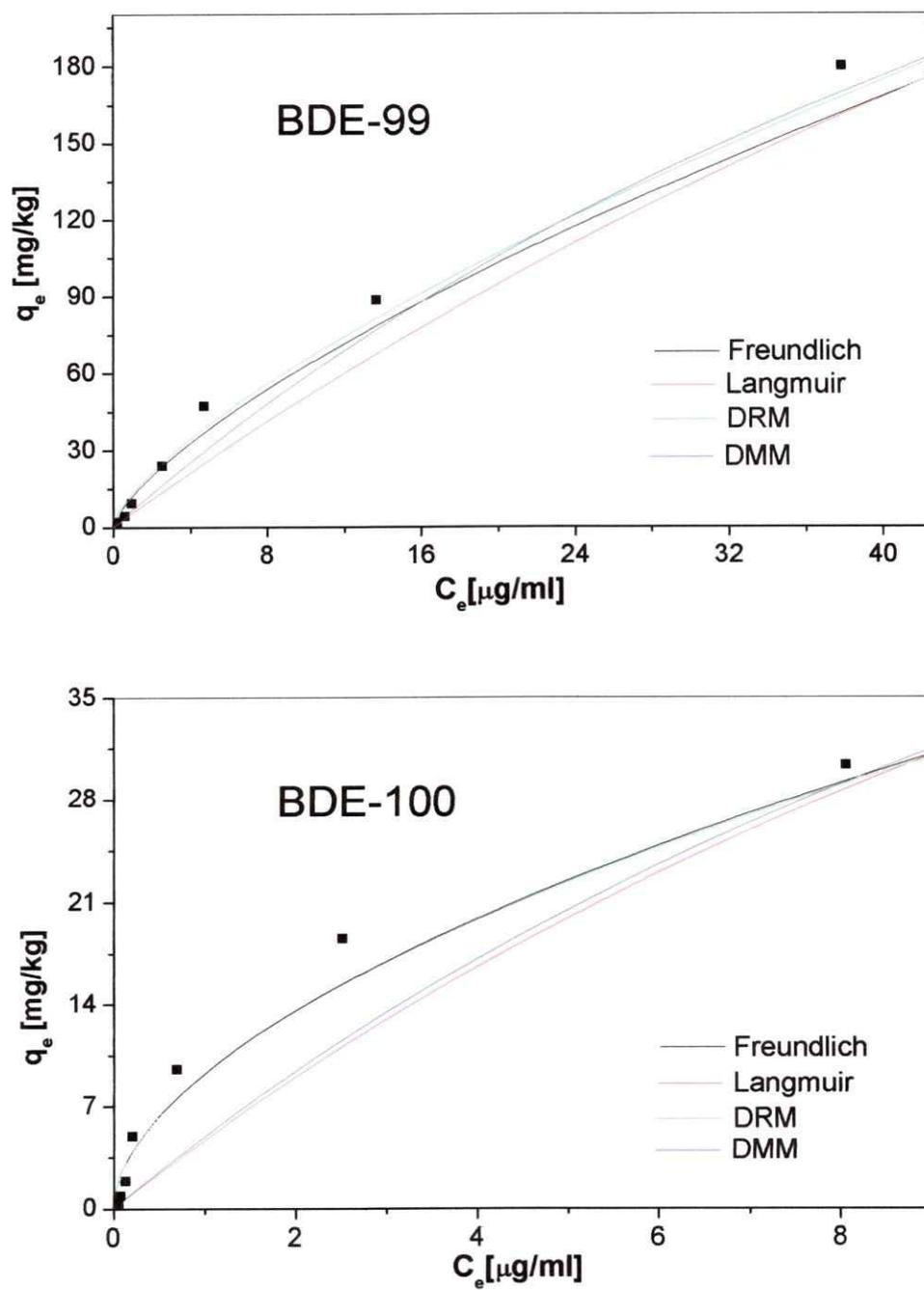


Figura 21b. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de biosólido B

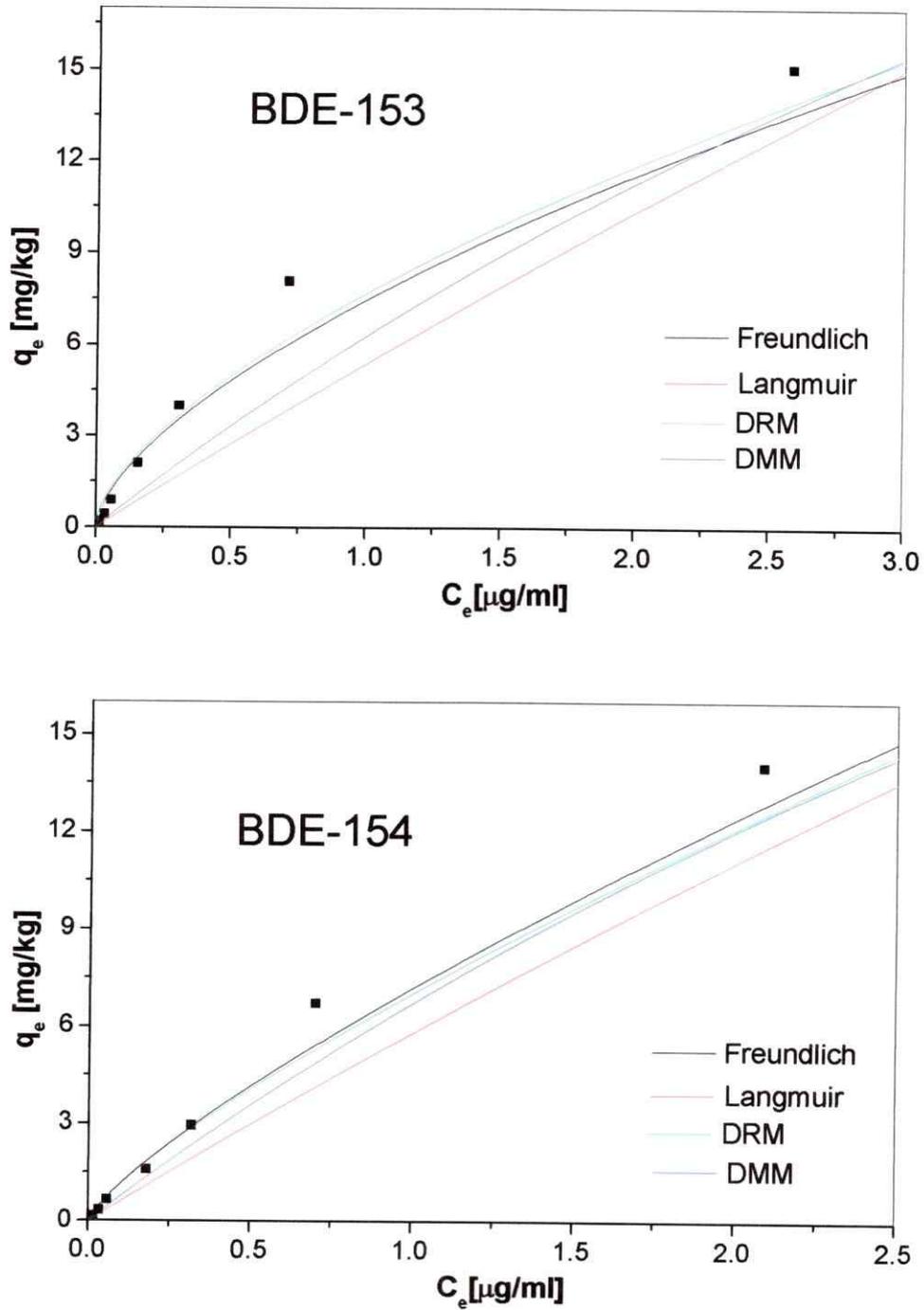


Figura 21c. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de biosólido B

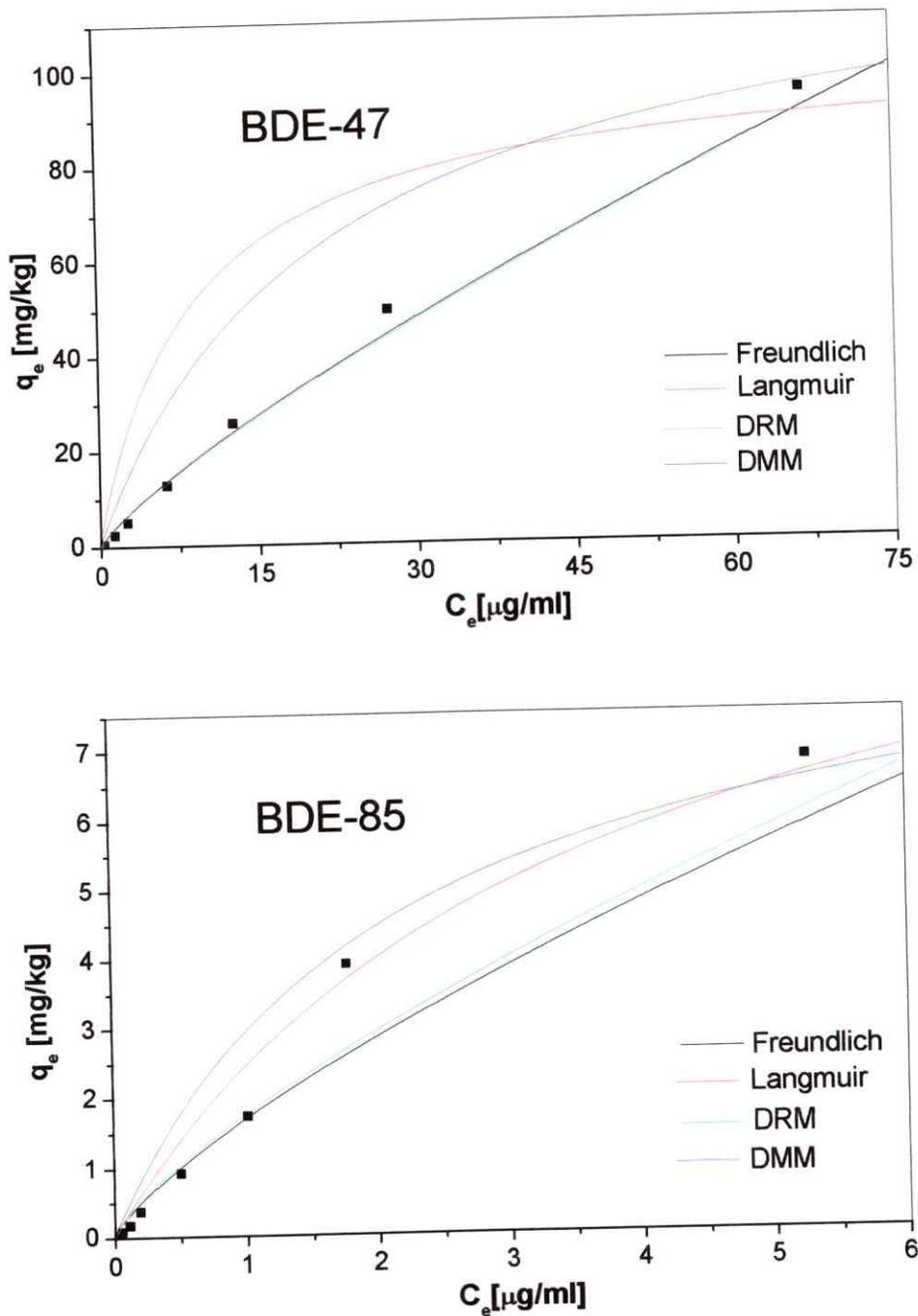


Figura 22a. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de sedimento

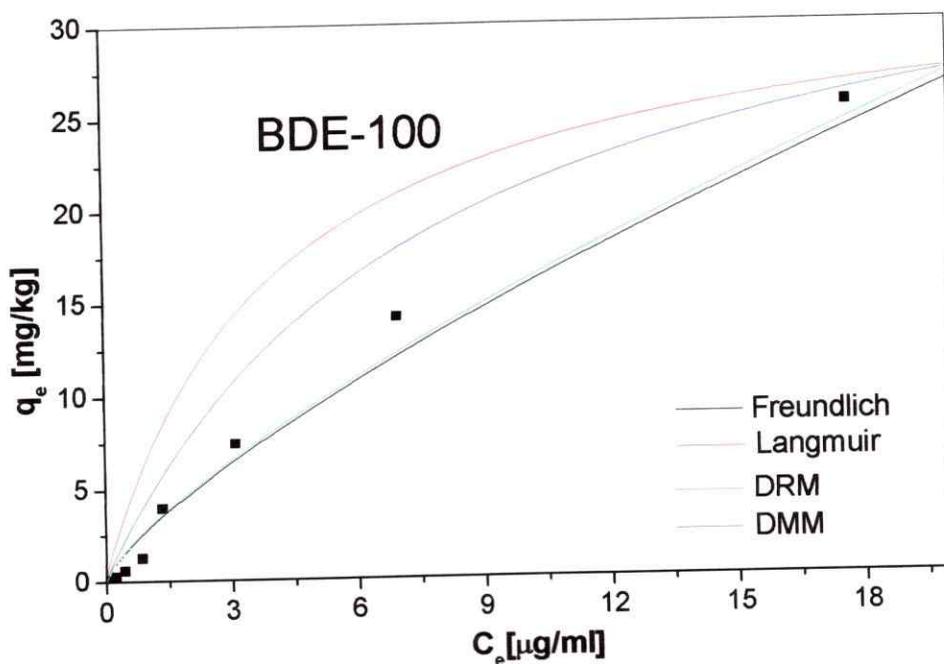
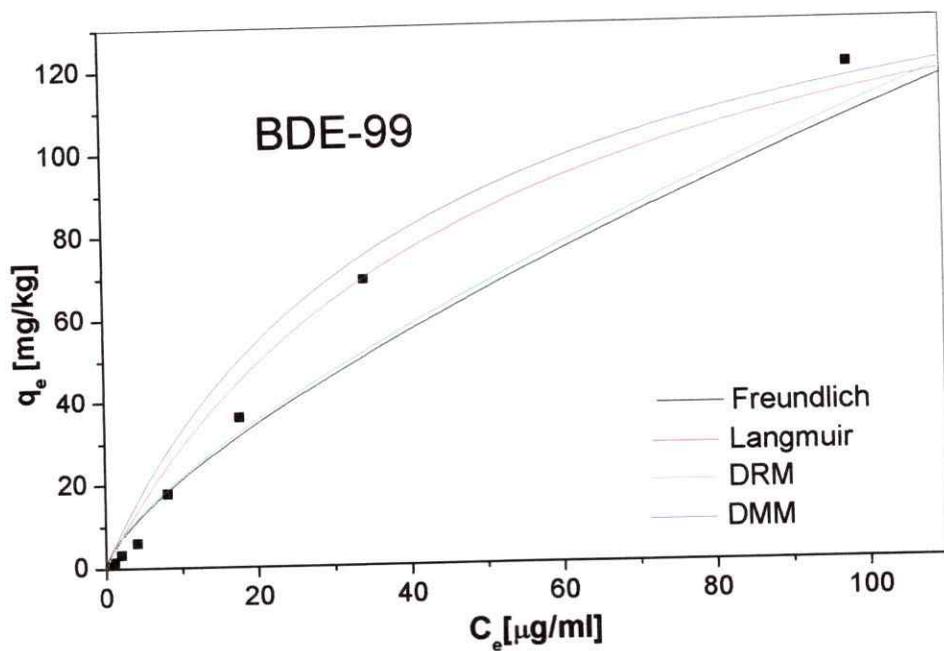


Figura 22b. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de sedimento

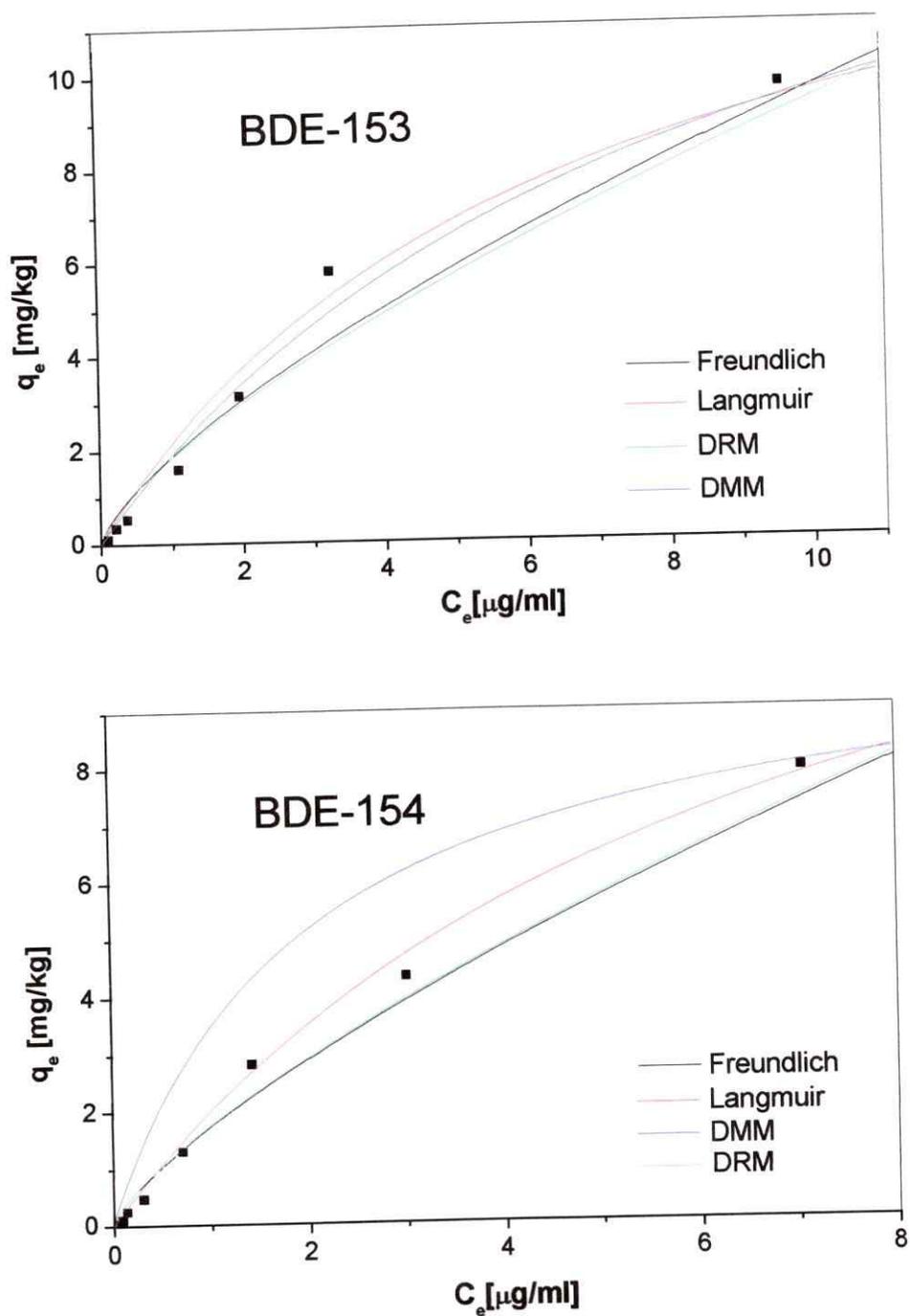


Figura 22c. Comparación de los modelos estudiados en las muestras-modelo de sedimento

Con respecto a los valores $1/n$, Weber y colaboradores (He y col., 2006) sugirieron que el valor puede ser tomado como un índice de distribución de la energía del sitio activo, y con valores menores a 1 el sitio de sorción es heterogéneo. De esta manera estos modelos permitirían interpretar el grado de heterogeneidad del sistema.

Al comparar los analitos de acuerdo a la cantidad agregada de ellos y a la concentración en la cual se encuentran en el estándar utilizado, podemos distinguir que los analitos más retenidos en las muestras de biosólido y sedimento son los congéneres BDE-47, BDE-99 y BDE-100. Este resultado, se corrobora al comparar lo obtenido con el valor de K_M calculado para estos analitos en ambas matrices, donde los mayores valores reflejan que la mayor sorción se produce para los analitos ya mencionados.

Como las constantes de Freundlich varían entre distintas muestras de matrices sólidas y reconociendo el importante papel que juega la MO en la sorción de los PBDEs, estas constantes son normalizadas en alguna medida dividiéndolas por el porcentaje de carbono orgánico. De esa manera se obtiene el valor de K_{OC} que permite la clasificación y comparación de los compuestos orgánicos en relación con su potencial de lixiviación.

En este caso se realizaron correlaciones entre los valores calculados K_{OC} para los PBDEs estudiados por los modelos de Freundlich y DRM, con respecto a los valores de K_{OW} . Los resultados se muestran en la Figura 23 (Li y col., 2010).

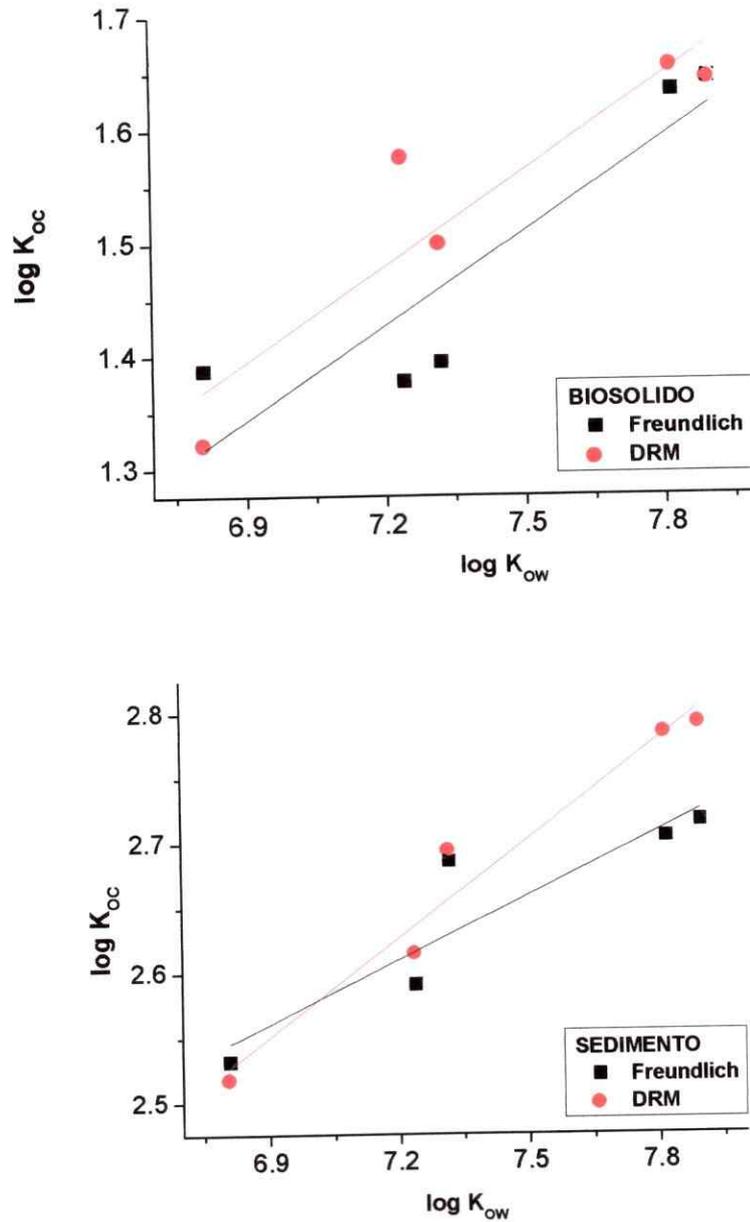


Figura 23. Correlación de $\log K_{OC}$ v/s $\log K_{OW}$ para los PBDEs en muestras de biosólido y sedimento

Como se observa en la Figura 23, existe una correlación lineal entre el K_{OC} y K_{OW} . Los valores de $\log K_{OC}$, son relativamente similares a pesar de las variaciones en

la solubilidad de estos compuestos. A pesar de que los valores de $\log K_{OW}$ son mayores que de $\log K_{OC}$, lo que daría una tendencia de un mayor grado de PBDEs en la fase líquida, debido en este caso al sistema metanol:CaCl₂. Li y colaboradores (Li y col., 2010) encontraron una tendencia similar para sedimentos, a la que se muestra en la Figura 22 y con valores similares de $\log K_{OC}$. Según los valores obtenidos para las correlaciones (Tabla 22), el carbono orgánico tiene una influencia sobre la sorción de los PBDEs en las muestras de biosólido y sedimento y gobernaría la distribución de los analitos en la fase sólida. La pendiente menor que 1 se debería a una posible partición de los analitos o una falta de equilibrio entre las fase (Li y col., 2010)

Tabla 22. Datos del modelo de correlación de $\log K_{OC}$ v/s $\log K_{OW}$ para los PBDEs en muestras de biosólido y sedimento

Biosólido			
	Modelos lineal	r^2 [%]	Valor-p
Freundlich	0,278x -0.573	81.0	0.0374
DRM	0,281x -0.544	85.5	0.0244
Sedimento			
Freundlich	0.164x + 1.42	84.0	0.0286
DRM	0.253x + 0.802	96.1	0.0033

En el caso de los PBDEs estudiados, para los valores de K_{OC} calculados se observa que los congéneres BDE-47, BDE-99 y BDE-100, son lo que se movilizan en menor grado comparado con los otros congéneres, por ende son los más retenidos en la matriz. Este resultado se obtuvo tanto para los datos calculados por el modelo de Freundlich y DRM. Además, los datos calculados sobre la sorción en la muestra-modelo de sedimento mostró la misma tendencia que para la muestra-modelo de

biosólido; así, los congéneres mayormente retenidos fueron BDE-47, BDE-99 y BDE-100.

Los resultados obtenidos en las muestras de sedimento comprueban lo obtenido anteriormente en el estudio del efecto de la MO. Los valores de K_{OC} dan cuenta que los PBDEs se asocian en mayor grado al contenido de MO.

A pesar que la descripción del modelo de Langmuir no sería adecuado para el estudio de contaminantes orgánicos, se realizaron los estudios con este modelo de manera de obtener un resultado comparativo con lo obtenido por el modelo de Freundlich. El modelo de Langmuir cumple con la ley de Henry en un intervalo de concentraciones distinto al que describe Freundlich (Song y Shin, 2005). Al utilizar el modelo de Langmuir se observa que los mayores valores de Q_0 se obtienen para los congéneres BDE-47, BDE-99 y BDE-100.

En general, los valores calculados de K_M para los PBDEs estudiados, se observa que los analitos con la mayor adsorción son aquellos que poseen los valores más altos, lo que coincide con lo encontrado con los modelos anteriores. Además, al utilizar el modelo DMM, éste nos entrega información de la forma en la cual los analitos interaccionan. Como se observa en los valores calculados, el comportamiento de los analitos no es de carácter lineal, sino, que a medida que la concentración aumenta, los sitios van siendo ocupados hasta llegar a la saturación.

Una manera de comparar los modelo utilizados para cada analito en las muestras-modelos de biosólido y sedimento, se graficaron los datos obtenidos, con las

curvas descritas por cada uno de los modelos estudiados (Figuras 19a, b, c y 20a, b, c), siendo el modelo de Freundlich el que describió de mejor manera el comportamiento de la mayoría de los analitos en las muestras-modelo de biosólido y sedimento, tomando en cuenta los valores de coeficiente de correlación (r) y determinación (r^2). Este valor estadístico nos entrega una primera medida de si el modelo elegido, es decir, la ecuación del modelo calculado es adecuado para la descripción de la sorción de los analitos. Otro parámetro que se utiliza es el análisis de chi-cuadrado (χ^2), el cual realiza una comparación entre los datos experimentales de sorción y los calculados con los modelos. Si los datos de los modelos son similares a los datos experimentales, el valor de χ^2 será pequeño y viceversa (Ho y Wuang, 2008). Este parámetro permitiría confirmar cual sería la mejor descripción y el modelo apropiado, según la correlación que los datos describan (Tabla 23).

Según el resultado obtenido de estos parámetros (Tabla 23), ninguno de los modelos estudiados sería el adecuado para todos los congéneres de PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento. De acuerdo a estos valores calculados el modelo de Freundlich, tiene una tendencia mayor de correlación entre los datos calculados y los experimentales; además este modelo entrega valores de constante de distribución de los analitos entre la fase sólida y líquida en la cual existe una tendencia de mayor sorción a medida que los analitos son apolares sobre la fase sólida. El modelo de Langmuir entrega información de la cantidad máxima sorbida y según el modelo utilizado, la formación de una monocapa sobre la superficie del sólido, tendencia que se mostró para estos analitos según resultados, al graficar q_e/C_e v/e q_e .

Tabla 23. Comparación del coeficiente de determinación (r^2) y análisis de chi-cuadrado para los modelos de sorción de los PBDEs seleccionados en las muestras-modelo de biosólido y sedimento.

	r^2				χ^2			
	BIOSÓLIDO							
	Freundlich	Langmuir	DRM	DMM	Freundlich	Langmuir	DRM	DMM
BDE-47	0,986	0,958	0,984	0,928	0,279	3,953	0,178	3,969
BDE-85	0,929	0,974	0,919	0,918	0,990	4,07	0,990	2,00
BDE-99	0,998	0,899	0,998	0,909	0,376	0,468	0,310	1,543
BDE-100	0,936	0,912	0,945	0,920	0,447	2,73	0,420	2,38
BDE-153	0,950	0,879	0,919	0,948	1,675	0,074	1,198	0,072
BDE-154	0,891	0,888	0,918	0,934	0,471	0,104	0,471	0,104
	SEDIMENTO							
BDE-47	0,969	0,948	0,998	0,958	0,128	0,273	0,835	1,10
BDE-85	0,991	0,998	0,982	0,990	0,770	0,304	0,769	0,308
BDE-99	0,993	0,924	0,986	0,936	1,78	2,63	1,15	2,51
BDE-100	0,997	0,856	0,949	0,866	2,64	1,00	2,64	4,69
BDE-153	0,899	0,843	0,913	0,902	1,18	2,031	1,18	0,515
BDE-154	0,909	0,925	0,996	0,998	0,553	1,907	0,558	0,163

Uno de los objetivos de la elaboración de las isothermas para los PBDEs radica en el hecho de interpretar su comportamiento de sorción, dentro del sistema modelo; el cual refleja que los analitos se retienen en un sistema con un contenido orgánico importante. De esta manera se debería tomar en cuenta este factor en el uso de una técnica de extracción, ya que los analitos estarían más fuertemente retenido en dichos sistemas.

En el caso de los modelos DMM y DRM, sirvieron para verificar el comportamiento de los analitos dentro de las muestras-modelo. Por ejemplo, el término Q^0b/K_p , es otro parámetro que indica el comportamiento de sorción no lineal de los PBDEs estudiados. De esta manera, un alto valor de este índice predice que el mecanismo de sorción dominante en estos sistemas, es por la adsorción “hole-filling”, sobre el mecanismo de sorción lineal (He y col., 2006).

He y colaboradores (He y col., 2006) han realizado diferentes estudios de sorción de pentaclorofenol (PCP) en arcillas, AH y muestras de suelos. En estos estudios el PCP no alcanzó la etapa de equilibrio en los diferentes sorbentes estudiados, pero independiente del sistema estudiado, la tendencia de sorción se observa para el pentaclorofenol. Por lo que un estudio, como el realizado con los PBDEs es aceptable, a pesar de que se produzcan cambios en los parámetros calculados para todos los modelos. En el caso de los PBDEs en las muestras-modelo de biosólido y sedimento, se observaría que la tendencia de sorción sería la misma si se hubiese alcanzado la etapa de equilibrio en la isoterma de sorción.

A pesar de que el comportamiento de los PBDEs es descrito principalmente por el modelo de Freundlich, se encontraron algunos casos en los cuales los modelos DMM y DRM ajustaron igual o incluso de mejor manera que el modelo de Freundlich, por ejemplo, el caso del congénere BDE-100 en las muestras de biosólido y sedimento.

De esta manera, los modelos estudiados entregan una información complementaria entre ellos, que permite describir el comportamiento de los analitos, pero en este caso, el modelo de Freundlich ajustó bastante bien los valores calculados

y experimentales, por lo que sería un modelo adecuado para los PBDEs en las muestras-modelo seleccionado; asimismo se encontró un comportamiento lineal no significativo según los modelos DRM y DMM.

Debido a que muchos compuestos orgánicos pueden exhibir un comportamiento variable dentro de una matriz sólida, es difícil establecer un único mecanismo que describa dicho comportamiento. Es así como el modelo de Freundlich reposa sobre las hipótesis de que sólo interviene la fisisorción, no hay asociación de moléculas después de su sorción y no permite representar el caso de sorción competitiva cuando la molécula específica está en presencia de otras sustancias que entran en competición durante la sorción, y el modelo de Langmuir sostiene que todos los sitios de sorción son equivalentes, con un calor de adsorción constante, y un número de sitios de adsorción finito. Una manera de conocer cuál sería el posible mecanismo de los PBDEs en las muestras modelos es calculando la energía libre de Gibbs para el proceso de sorción (ecuación 11). Los valores calculados se muestran en la Tabla 24.

$$\Delta G^{\circ} = -RT \ln K_{oc} \quad (11)$$

Estos resultados reflejan que el proceso de sorción es espontáneo, por lo que las fuerzas de sorción son lo suficientemente fuertes como para romper la barrera de potencial. Los valores calculados en promedio varían entre un -8 y -16 kJ/mol, lo que sugiere que el posible mecanismo de sorción de los PBDEs en las muestras-modelo de biosólidos y sedimentos es por fisisorción (He y col. 2006). Por ende, el modelo más

adecuado para describir el comportamiento de los analitos sería el modelo de Freundlich.

El parámetro termodinámico calculado (ΔG) permite expresar sólo algunas condiciones con respecto al comportamiento de sorción, ya que éste se calculó en función de lo K_{OC} , el carbono orgánico influye sobre la sorción de los analitos, siendo éste un proceso espontáneo, pero no se tienen datos para el cálculo de otros parámetros termodinámicos que permitan reforzar el análisis del comportamiento de los PBDEs.

Tabla 24. Cálculo de la energía libre de Gibbs para el proceso de sorción en los sistemas de estudio.

	Modelo de Freundlich		Modelo DRM	
	BIOSÓLIDO	SEDIMENTO	BIOSÓLIDO	SEDIMENTO
	ΔG° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)	ΔG° (kJ/mol)
BDE-47	-10,20	-15,82	-10,05	-15,76
BDE-85	-8,07	-14,58	-8,06	-14,56
BDE-99	-9,99	-16,67	-9,92	-16,72
BDE-100	-9,21	-15,59	-9,18	-15,57
BDE-153	-8,80	-14,58	-8,80	-14,52
BDE-154	-8,64	-14,40	-8,64	-14,39

ΔG° calculado a partir de los valores de K_{OC} . R: 8,314J/K mol. T: 298,15K

Debido a la imposibilidad de obtener un material certificado para realizar los estudios de extracción de los PBDEs en las matrices sólidas, se decidió realizar el estudio de adsorción con el objetivo de encontrar una concentración adecuada para

elaborar un material de estudio, en el cual los analitos se encuentren fuertemente retenidos y de esta manera asegurar que éstos no serán extraídos fácilmente.

5.8. Estudio del tiempo de envejecimiento del material de referencia para la extracción de PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento.

Una de las consideraciones que se debe tener en cuenta en la elaboración de una muestra fortificada, es el tipo de muestra con el que se trabajará, pero es muy importante considerar la cantidad de analito que se debe agregar y naturalmente el tiempo que éste permanecerá en contacto con la matriz, antes de empezar con los estudios correspondientes, para que se puedan correlacionar con lo obtenido con la matriz real. En este estudio se estableció el tiempo de envejecimiento correspondiente a la fijación de los analitos en las muestras-modelos de biosólido y sedimento. Los resultados se muestran en las Figuras 24 y 25.

Para este experimento se tomó una cantidad de las muestras-modelo de biosólido y sedimento, y se agregó previamente 2 µg/g del estándar de PBDEs, se guardó en frío, para evitar algún cambio en la composición de la matriz, y en oscuridad para evitar cambios en los analitos, ya que estos compuestos se pueden descomponer fotoquímicamente, perdiendo átomos de bromo, (Rayne y col., 2006).

Para comprobar la posibilidad de una descomposición de las soluciones estándares utilizadas en la preparación de las muestras y/o en la cuantificación de los analitos por GC-ECD, se realizaron medidas constantes de las soluciones durante el

desarrollo de los experimentos, comparando el tamaño de las señales (área del pico cromatográfico) y de los tiempo de retención de cada analito, obteniendo variaciones mínimas, atribuidas a variaciones instrumentales y no por la descomposición de los analitos.

Como se observa en las Figuras 24 y 25, en las primeras muestras se obtiene un bajo porcentaje sorbido, lo que significa que en las condiciones de extracción utilizadas se extrajo de manera muy sencilla los analitos (sólo se usó una extracción dinámica), por lo que se encontrarían débilmente retenidos y sólo estarían en la superficie del sólido. A medida que transcurrió el tiempo las interacciones se hicieron más fuertes obteniéndose una constancia en la tendencia de sorción. La parte final del estudio se realizó con 6 meses de envejecimiento, para comprobar la factibilidad de la técnica de extracción. Con estos resultados se seleccionó un tiempo de 45 días como mínimo para asegurarse que la retención de los analitos es la suficiente para tener un material de referencia óptimo y con las condiciones necesarias para realizar una comparación con las matrices reales. Se han realizado estudios sobre la degradación de los PBDEs (Rayne y col., 2006), los cuales pierden átomos de bromo por un mecanismo radicalario. Para asegurarse que los analitos de los estándares no se degradaran en otros, durante los estudios, se midieron diferentes concentraciones de PBDEs a diferentes tiempos, y no se encontraron mayores diferencias que las instrumentales.

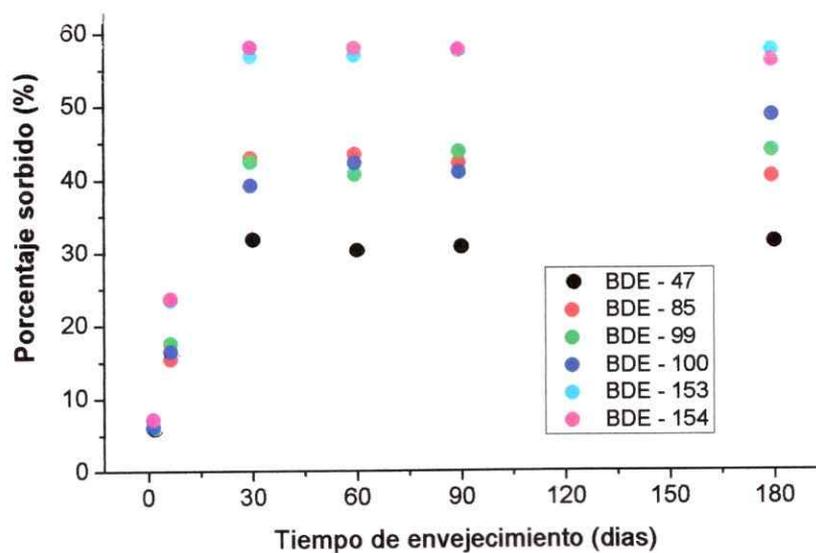


Figura 24. Tiempo de envejecimiento de PBDEs sobre la muestra-modelo de biosólido

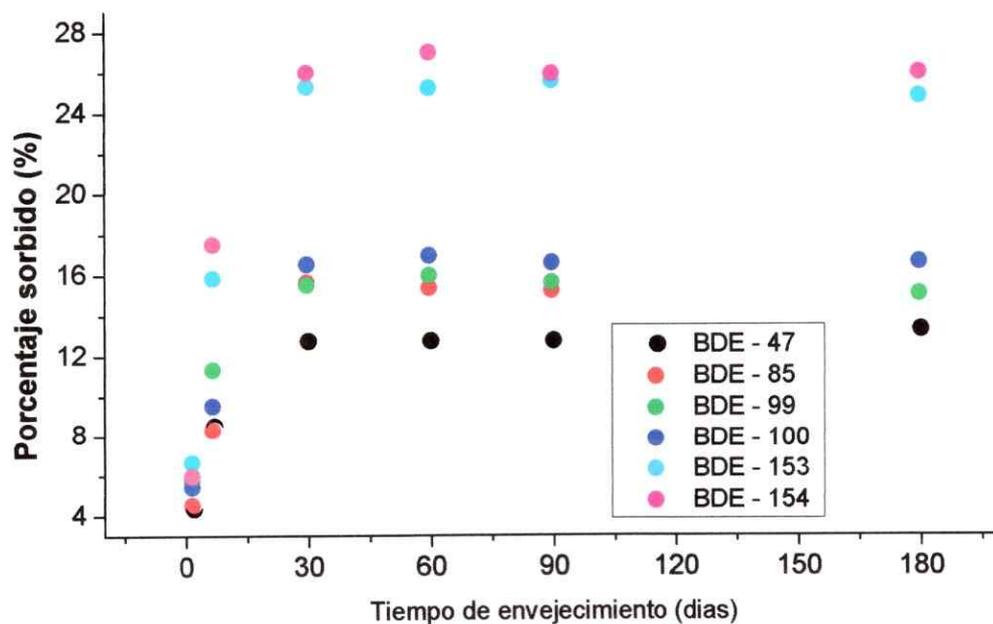


Figura 25. Tiempo de envejecimiento de PBDEs sobre la muestra-modelo de sedimento

5.9. Selección del disolvente para la extracción de PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido y sedimento seleccionados

El proceso de lixiviación se define como la separación de uno o varios componentes de un sólido por contacto con un disolvente adecuado. Este proceso se diferencia de una disolución, ya que una parte del analito queda en la fase sólida. La lixiviación depende de las *características de la muestra sólida* (grado de dispersión, propiedades fisicoquímicas), *características fisicoquímicas del analito*, *características del disolvente* (viscosidad, difusividad, polaridad, capacidad de solubilidad del analito, etc.) y *condiciones experimentales* (temperatura, modos de contacto del sólido y líquido, etc.)(Duque y colaboradores, 1993). Por lo tanto, es necesario utilizar un disolvente que permita penetrar en la fase sólida, y disolver al analito.

A pesar de la utilización de técnicas de extracción clásicas (Soxhlet, agitación o sonicación) o modernas (MAE, ASE, SFE), la elección del disolvente es una característica intrínseca del método de extracción.

La elección de disolvente depende de la experiencia conseguida, o las recomendaciones de métodos estandarizados. Se han realizado algunas aproximaciones para la elección de disolventes en cromatografía. Así, trabajos de Rohrschneider y también de Snyder (Fitzpatrick y Dean, 2002) determinaron el índice de polaridad para el uso de cromatografía, el cual permite clasificar diferentes disolventes de acuerdo a la capacidad aceptora y dadora de protones, y momento dipolar, de acuerdo a una escala establecida con otros disolventes. Existen otros parámetros que permiten estudiar el comportamiento de solubilidad de un compuesto

en una matriz determinada; entre ellos están el parámetro de solubilidad de Hildebrand (δ_t), el cual es una medida de la energía interna de cohesión del sistema soluto/disolvente (Fitzpatrick y Dean, 2002) (ecuación 12), o el parámetro de solubilidad de Hansen (ecuación 13), que propone una extensión del parámetro de Hildebrand, en la cual la energía cohesiva está dividida en tres partes una energía de cohesión dispersiva (δ_d), energía de cohesión polar (δ_p) y energía de enlace de hidrógeno (δ_h) (ecuación 13) (Ya y col., 2008).

$$\delta_t = \sqrt{\frac{E}{V}} \quad (12)$$

$$\delta_t = \delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2 \quad (13)$$

Para moléculas cuyo calor de vaporización puede ser medido o calculado, se puede determinar δ_t . El parámetro de Hansen se ha determinado empíricamente en base a múltiples observaciones experimentales. Así, los valores de δ_t obtenidos por las ecuaciones 12 y 13, se han resultado idénticos, pero no iguales, ya que los parámetros de Hildebrand no siempre se determinan a través del calor de vaporización, sobre todo en sustancias con altos puntos de ebullición (Belmares y col., 2004).

El objetivo de este estudio es encontrar un disolvente que sea capaz de lixiviar a los analitos en un sistema de extracción, pero en condiciones “suaves”, es decir, en las que no se modifiquen las características del disolvente, usando una baja temperatura (25 °C), de forma discontinua y sólo con agitación.

Los disolventes elegidos fueron los usados comúnmente en diferentes metodologías de extracción para contaminantes orgánicos y mezclas 1:1 v/v entre un disolvente polar (acetona, metanol) y un disolvente apolar (n-hexano, y diclorometano). Los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 26 y 27, para el modelo de biosólido y sedimento, respectivamente.

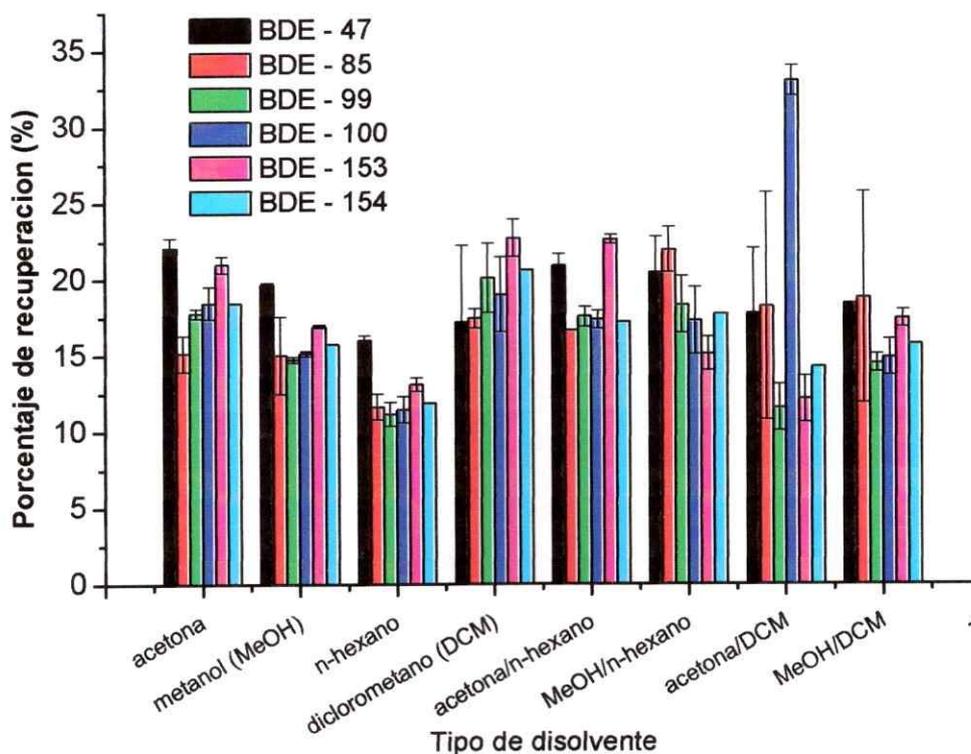


Figura 26. Efecto del disolvente sobre la extracción de PBDEs en la muestra-modelo de biosólido

No se encontró un disolvente que tuviese la capacidad de extraer de la misma forma a todos los analitos. De manera de comparar los resultados se agregó la misma cantidad de la mezcla de PBDEs (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$), haciendo mención que dentro del estándar los analitos estudiados se encuentran en diferente porcentaje que corresponden para el congénere 47, un 32,4%; congénere 100, 8,93%; congénere 99, un 43,9%;

congénere 85, 2,42%; congénere 154, un 3,30% y el congénere 153, un 3,84%. Como se observa en la Figura 26, para la muestra-modelo de biosólido, ningún disolvente o mezcla extrajo en un alto porcentaje a todos los analitos en las condiciones experimentales.

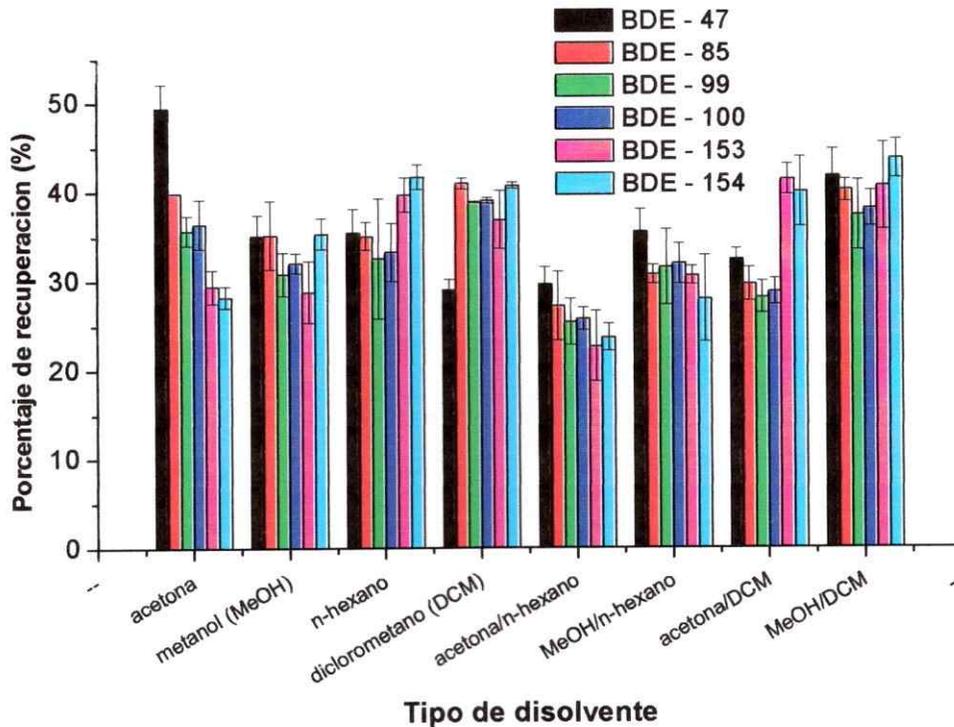


Figura 27. Efecto del disolvente sobre la extracción de PBDEs en la muestra-modelo de sedimento

De los disolventes o mezclas estudiadas, acetona y DCM son los que tienen los mejores resultados, pero no así su mezcla, donde las desviaciones estándares para el BDE-47 y BDE-85, son muy altas. Dentro de la mezcla el BDE-100 fue el único analito para el que se obtuvo un porcentaje de recuperación alto con una alta precisión. En el caso de la acetona se obtienen valores de desviación estándar bajos en todos los congéneres. El resto de los disolventes se descartó por su menor capacidad de

extracción y por las grandes diferencias obtenidas entre las repeticiones de las muestras para los mismos analitos en el mismo disolvente.

El comportamiento obtenido por la mezcla es menor que los disolventes por separado. Al mezclar acetona y DCM se obtiene un nuevo disolvente, disminuyendo la capacidad de solubilización de los PBDEs por la acetona, y la capacidad de interacción de los sitios de carácter apolar que puedan existir dentro de la muestra-modelo.

Para la muestra-modelo de sedimento se obtuvieron resultados similares, y como se observa en la Figura 27, la mezcla acetona/n-hexano se descartó por su baja extracción.

El disolvente elegido para las muestras-modelo de sedimento fue acetona y DCM, debido a que estadísticamente, éstos son los que se extraen en mayor porcentaje (Tabla 25). Para la muestra-modelo de biosólido se seleccionó la acetona y DCM, por el alto porcentaje de recuperación para el BDE-47 con una buena correlación entre las repeticiones. El DCM se eligió debido a que el porcentaje de recuperación es similar en casi todos los analitos estudiados, satisfaciendo la condición de que la extracción debe ser la mayor para todos los analitos y no sobre alguno de ellos.

Como se mencionó anteriormente, debe existir una afinidad entre el analito y disolvente para la que interacción entre ellos sea la más alta, y por ende se produzca la mayor solubilidad. Se han calculado los parámetros de Hildebrand y de Hansen para diferentes disolventes, como también para algunos analitos. Esto se ha realizado

tomando en cuenta la contribución a la solubilidad de cada grupo químico presente en la molécula (Fitzpatrick y Dean, 2002).

Tabla 25. Elección del disolvente. Media geométrica del porcentaje de recuperación para la extracción de los PBDEs en estudio

	$\Pi_{\text{BIOSÓLIDO}} \pm \sigma$ ($\mu\text{g/mL}$)	$\Pi_{\text{SEDIMENTO}} \pm \sigma$ ($\mu\text{g/mL}$)
Acetona	18,7 \pm 2,5	35,8 \pm 0,7
metanol (MeOH)	16,1 \pm 2,7	32,8 \pm 2,8
n-hexano	12,4 \pm 2,6	36,1 \pm 4,6
diclorometano (DCM)	19,4 \pm 3,4	37,3 \pm 3,9
acetona/n-hexano	18,6 \pm 2,8	25,6 \pm 5,5
MeOH/n-hexano	18,3 \pm 2,8	31,3 \pm 4,5
acetona/DCM	16,6 \pm 6,8	33,0 \pm 5,1
MeOH/DCM	16,5 \pm 2,6	30,2 \pm 2,0

Concentración agregada: 1 $\mu\text{g/mL}$, σ : desviación estándar, n = 2

Es así que se calcularon de manera teórica los parámetros de Hildebrand y de Hansen para los compuestos en estudio (Tabla 26), en la cual se muestran los valores para los disolventes utilizados y los analitos clasificados de acuerdo al número de átomos de bromo en la molécula. En el caso de las mezclas de disolvente, se tomó en cuenta el 50% del aporte de cada disolvente (Fitzpatrick y Dean, 2002). De acuerdo a los valores de solubilidad calculados de para los analitos y los diferentes disolventes, los valores de δ_t deben ser los más cercano posible entre el analito y disolvente. Para el estudio realizado existe una relación entre el porcentaje de extracción de todos los analitos obtenido con DCM y los valores de δ_t , en las dos muestras. En el caso de la acetona, a pesar del valor de δ_t es menor, se debe considerar que el disolvente debe

ser capaz de penetrar en la muestra y romper las interacciones que tiene el analito con la matriz.

Tabla 26. Parámetro de Hindebrand y Hanson teóricos para los PBDEs y de los disolventes utilizados

	δ_D^2 (cal/mol)	δ_P^2 (cal/mol)	δ_A^2 (cal/mol)	δ_C^2 (cal/mol)
4-Br (BDE – 47)	7,43	11,68	76,65	101,73
5-Br (BDE – 85, BDE – 99, BDE – 100)	8,21	12,95	73,63	100,16
6-Br (BDE – 153, BDE – 154)	8,84	13,98	71,19	98,89
Acetona	0,00	0,00	53,04	53,04
Metanol	3,12	24,96	62,09	104,52
n-hexano	10,28	12,21	41,13	82,26
Diclorometano (DCM)	106,90	18,39	66,55	189,54
Acetona/n-hexano	5,14	6,11	47,09	67,65
Metanol/n-hexano	6,70	18,59	51,61	93,39
Acetona/ DCM	53,45	9,20	59,80	121,29
Metanol/ DCM	55,01	21,68	64,32	147,03

Los valores calculados para δ_i muestran que las mezclas de disolvente no fueron eficientes (se obtuvieron valores de porcentaje de recuperación menores), para estas muestras, ya que se pierde parte de la capacidad de solvatación de cada disolvente al mezclarse.

5.10. Optimización de las variables químicas para la extracción de los PBDEs desde las muestras-modelo de biosólido con extracción con disolvente presurizado (PLE), a través un diseño factorial de “screening”

Uno de los objetivos de las técnicas de extracción es conseguir una extracción cuantitativa del analito desde la matriz, donde el disolvente sea capaz de romper las interacciones que mantienen al analito unido a la matriz y a su vez lograr disolverlo para sacarlo desde la matriz de trabajo.

Además, se quiere lograr disminuir el gran consumo de tiempo de trabajo y un volumen de disolvente importante, lo que en la actualidad también es preponderante debido a los problemas ambientales que causan los desechos de disolvente, y para procesar una mayor cantidad de muestra.

Es así, que se utilizan técnicas de extracción con fuentes de energía adicionales que mejoran la lixiviación del analito. Entre las técnicas de extracción modernas se encuentran la extracción con fluidos supercríticos (SFE), la extracción asistida por microondas (MAE) (Bayen y col., 2004; Tan y col., 2007), la extracción asistida por ultrasonidos (USE) (Marvin y col., 2007; Salgado-Petinal y col., 2006) y la extracción con disolvente presurizado (PLE) (de la Cal y col., 2003).

Se optimizaron las condiciones experimentales que influyen en el proceso de extracción de los PBDEs desde las muestras-modelo, para lo cual se utilizó un diseño factorial completo de dos niveles (FFD), de carácter exploratorio, que permite

determinar si ciertos factores o interacciones entre los factores, tienen un efecto sobre la extracción de PBDEs y estimar la magnitud de tales factores.

Para esta etapa se seleccionaron un intervalo de disolvente (acetona a DCM), con un punto central correspondiente a una mezcla 1:1 v/v acetona/DCM, además de un intervalo de cantidad de muestra (200 a 600 mg) a temperatura, tiempo y flujo constante. Se seleccionaron estas variables de acuerdo a lo descrito en un trabajo de Eljarrat y colaboradores (Eljarrat y col., 2008). Los resultados para esta etapa para la muestra de biosólido se muestran en la Figura 28a, b y c.

El gráfico de Pareto muestra la significancia estadística de cada factor que está en estudio; en este gráfico se muestra cada uno de los efectos en orden decreciente, siendo el largo de la barra proporcional al efecto estandarizado, correspondiente al coeficiente del modelo dividido por su error estándar. En este caso, se utiliza en test de Student para calcular la significancia estadística con un límite de confianza igual a un 95%.

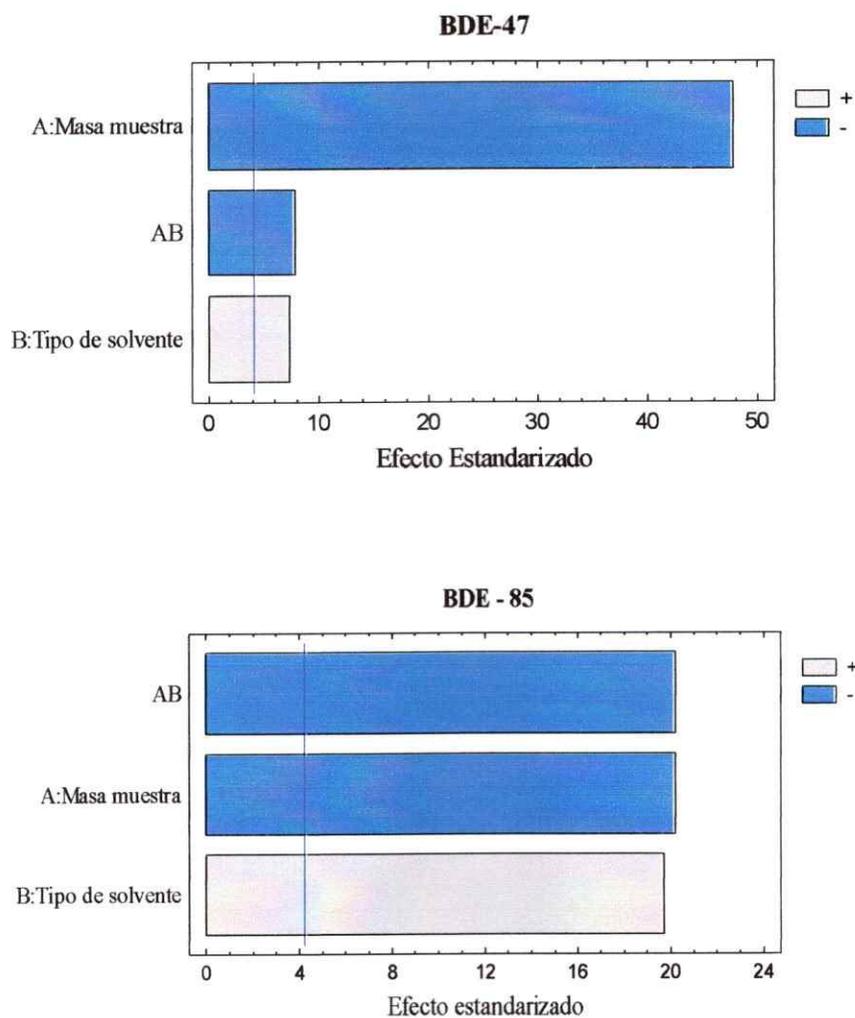


Figura 28a. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de biosólido

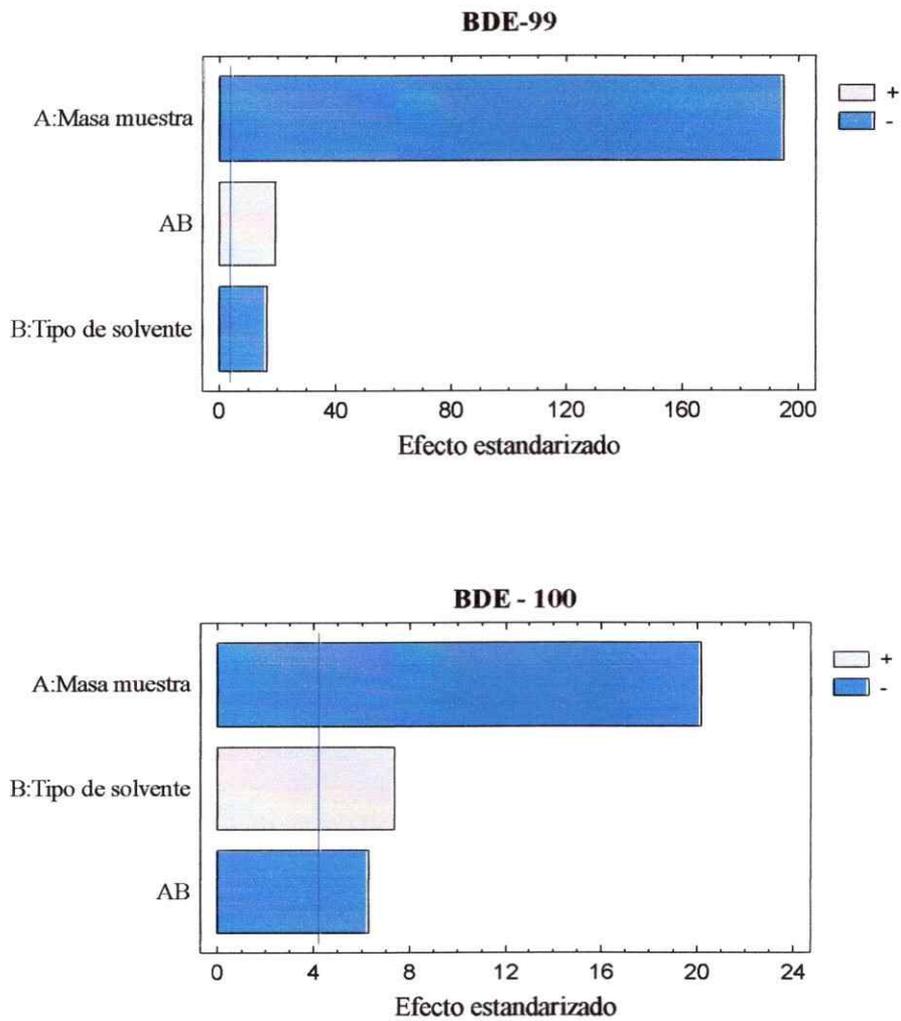


Figura 28b. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de biosólido

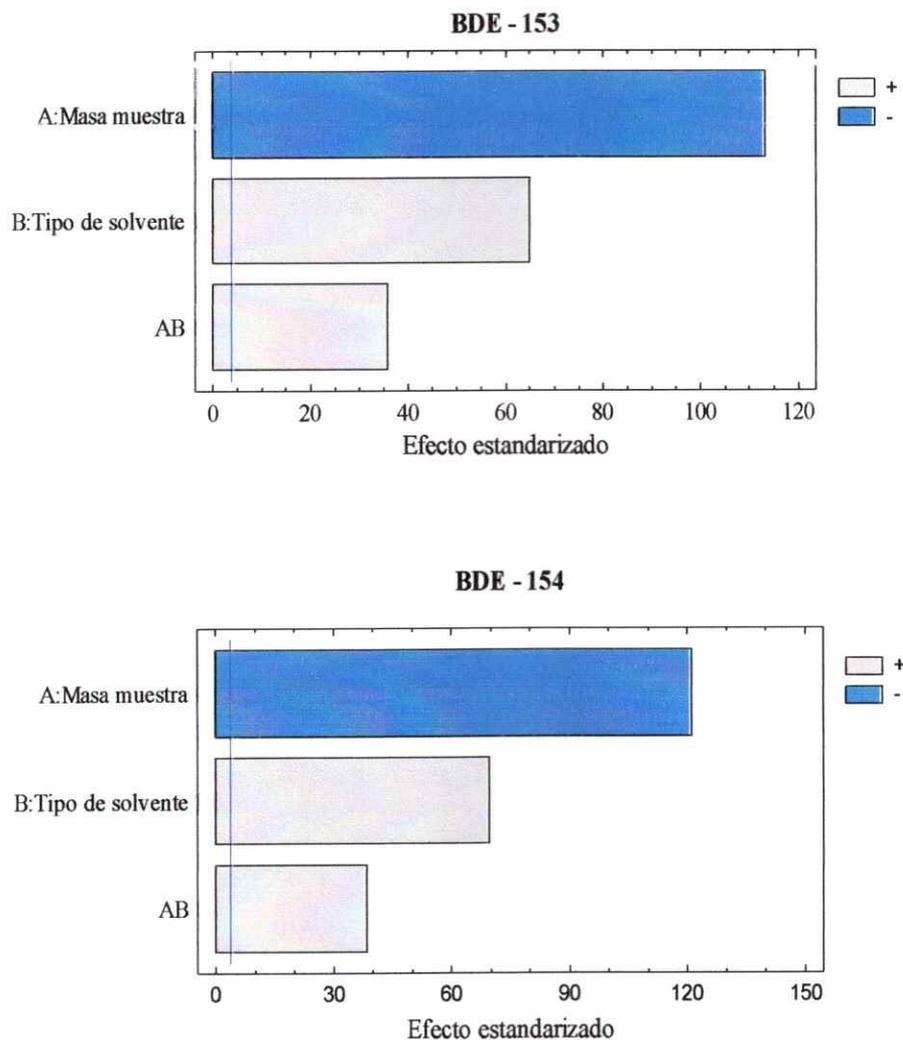


Figura 28c. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de biosólido

Se observa en la Figura 28, que la cantidad de muestra es el factor más significativo, pero en forma negativa, es decir, que se obtendría una mayor extracción con una menor cantidad de muestra. Al utilizar una mayor cantidad de muestra, no hay espacio suficiente dentro de la celda de extracción para que el disolvente entre en contacto con la muestra.

El disolvente influye en forma positiva en la extracción, es decir, a mayor cantidad de disolvente, la extracción es más eficiente. En este caso, el disolvente fluye por el sistema, por lo que a tiempos mayores de extracción se obtendrían mejores resultados, lo que hace necesario el estudio de otros factores. La Tabla 27 resume la significancia estadística para los analitos en estudio.

Tabla 27. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para biosólido

	A	B	AB	r^2 (%)	σ	p-value
BDE-47	-	+	-	99,33	0,011	0,1329
BDE-85	-	+	-	74,01	0,011	0,0024
BDE-99	-	+	-	91,78	0,003	0,0006
BDE-100	-	-	+	88,36	0,007	0,0330
BDE-153	-	+	+	87,41	0,003	0,0004
BDE-154	-	+	+	87,36	0,003	0,0003

A: Cantidad de muestra, B: Tipo de disolvente

En un diseño experimental es necesario tener 3 valores para cada factor en estudio, dos valores extremos y punto central. En el caso del tipo de disolvente, en el que se estudia acetona y DCM, según lo encontrado en experiencias ya descritas, el punto central corresponde a un mezcla 1:1 v/v de los disolventes. En el estudio de disolvente, el uso de esta mezcla para la extracción de los PBDEs no fue eficiente en las condiciones experimentales descritas, por lo que no se debería estudiar nuevamente en la optimización de las variables de extracción PLE. En este tipo de extracción, las condiciones experimentales son más “drásticas”, dadas por la presión y

temperatura, por lo que el comportamiento de la mezcla sería distinto, y es necesario su uso por el fundamento que tiene el diseño experimental.

Las interacciones entre las variables, como también los valores cuadráticos de cada uno, describen curvaturas en las superficies de respuesta, lo que permite encontrar máximos y mínimos para la respuesta. En la Tabla 26 se muestran además valores del coeficiente de determinación (r^2) y la carencia de ajuste (p-value), obtenidos del análisis de varianza. Estos valores representan la confiabilidad del modelo propuesto, y si éste es capaz de realizar una buena descripción. Como se observa en la Tabla 26 los valores de r^2 son bastante altos, con lo que explican desde un 74%, la variabilidad del comportamiento de los analitos estudiados. Si el p-value es $< 0,05$ existe una carencia de ajuste estadísticamente significativa, con un límite de confianza de un 95%. En el caso del BDE-47, deben existir otros factores que influyan en el proceso de extracción (Tabla 28).

Se calculó la función de deseabilidad de Derringer (D) (Jimidar y col., 1996; Jancic-Stojanovic y col., 2009), en la cual, cada valor de respuesta se transforma en un valor $d_j(x)$ adimensional, entonces se calcula la deseabilidad total D, dada por la ecuación 14

$$D(x, w) = \left(\prod_{j=1}^r d_j^{w_j} \right)^{\frac{1}{\sum w_j}} \quad (14)$$

Esta función permite encontrar el valor de la variable de entrada que maximice el valor de D, cuya escala va de 0 a 1 y los coeficientes w_j , que corresponden al peso

específico para cada respuesta, indicando cual de todas las variables tienen mayor peso sobre la respuesta combinada. Si $w_j = 1$ para todos los pesos, D se calcula como la media geométrica (Derringer y Suich, 1980). El modelo propuesto para la extracción de PBDEs con un $R^2 = 99,38\%$ y un p-value de 0,0117 con un 95% de confianza, entregó como resultado de los factores estudiados 200 mg de muestra y acetona como extractante.

Tabla 28. Valores óptimos de cada factor, para cada grupo de compuestos en la optimización para la extracción desde la muestra de biosólido

	Cantidad de muestra		Tipo de disolvente	
	Valor codificado	Valor natural (mg)	Valor codificado	Valor natural (%)
BDE-47	-1	200	1	DCM (100%)
BDE-85	-1	200	-1	Acetona (100%)
BDE-99	-1	200	1	DCM (100%)
BDE-100	-1	200	-1	Acetona (100%)
BDE-153	-1	200	-1	Acetona (100%)
BDE-154	-1	200	-1	Acetona (100%)

5.11. Optimización de las variables químicas para la extracción de los PBDEs desde las muestras-modelo de sedimento con extracción con disolvente presurizado (PLE), a través un diseño factorial de screening

En el caso de la muestra de sedimento se siguió el mismo procedimiento que para la muestra de biosólido. Los resultados se muestran en la Figura 29a, b y c.

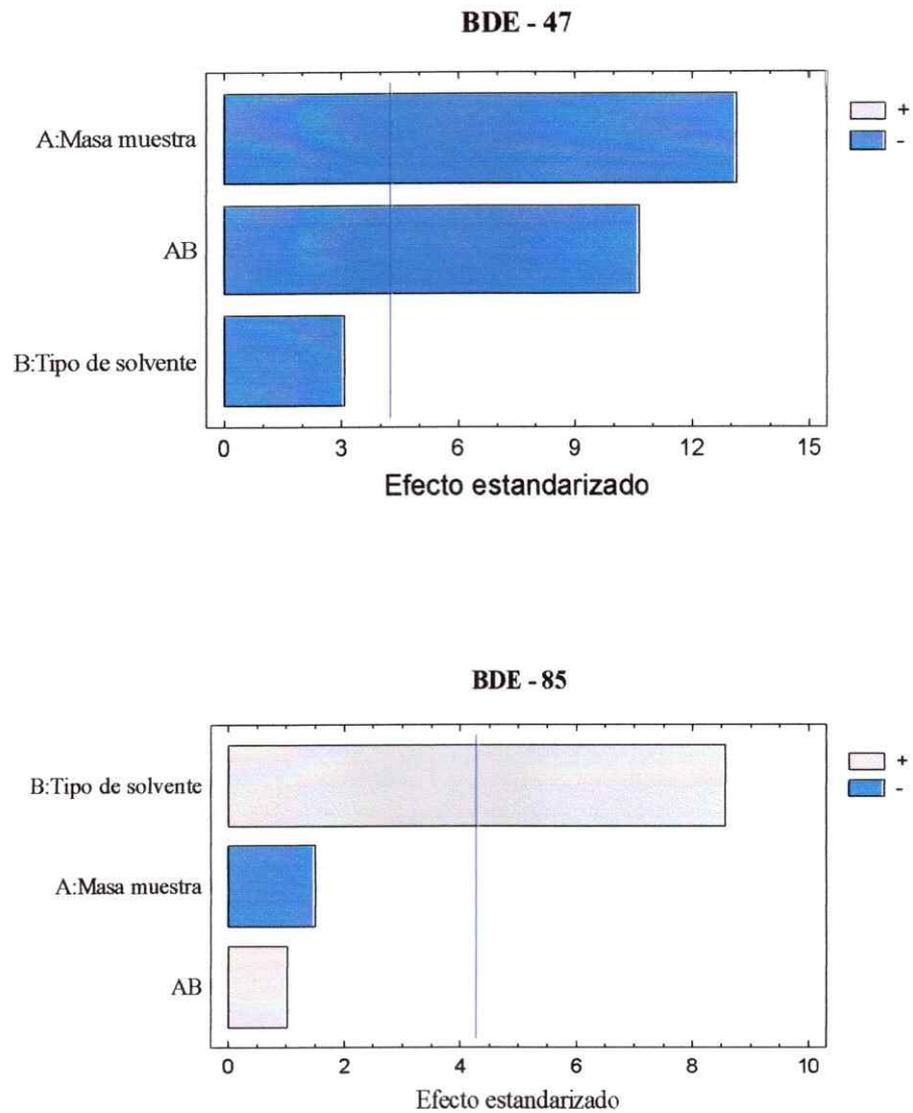


Figura 29a. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de sedimento

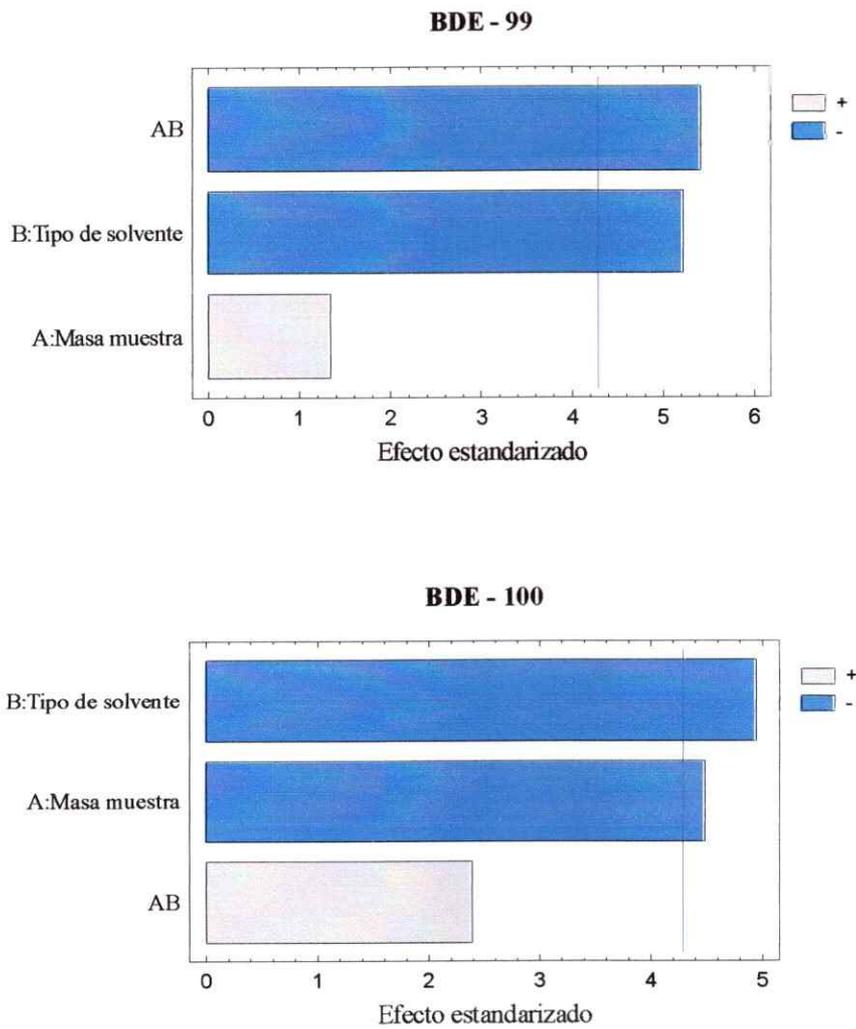


Figura 29b. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de sedimento

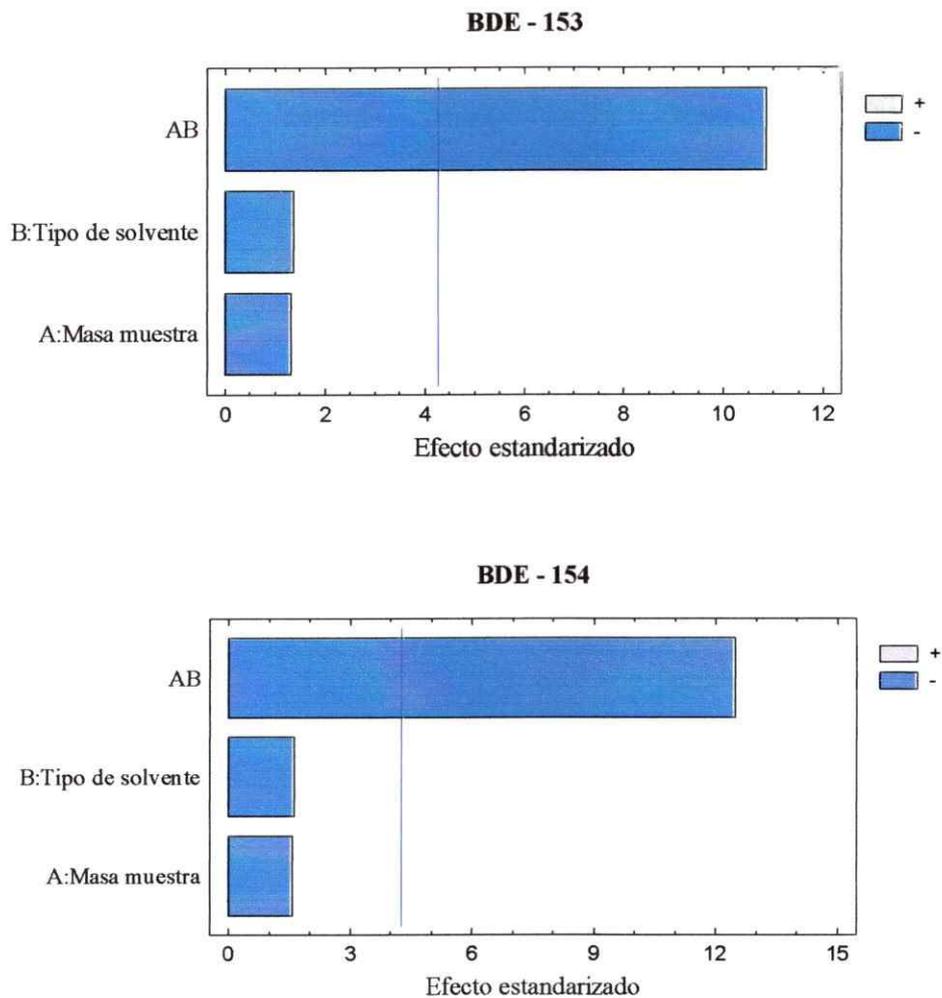


Figura 29c. Gráfico de Pareto estandarizado para la extracción PLE de la muestra de sedimento

Los gráficos de Pareto (Figura 29) para los analitos en estudio, muestran que para los congéneres 85, 99 y 100 el disolvente resulta significativo, al igual que la interacciones entre los factores para los congénres 47, 153 y 154, con lo que sería necesario una mayor tiempo de extracción para conseguir una extracción cuantitativa desde la muestra-modelo de sedimento. En la Tabla 28, se resumen estos efectos y se

muestran los valores de r^2 y “p-value”, que corroboran la significancia estadística de los factores.

Al analizar la Tabla 29, para el congénere 47 se explica un $58,84 \pm 0,03$ % de la variabilidad de la respuesta, para el congénere 85 un $22,36 \pm 0,14$ %, para el congénere 99 un $38,55 \pm 0,14$ % y para el congénere 153 un $82,13 \pm 0,07$ % con valores de p-value de 0,0132, 0,0038, 0,0395 y 0,0387, respectivamente con un límite de confianza de un 95%. En el caso de los otros congéneres la respuestas presentan valores de “p-value” $>0,05$, lo que no hace confiable la respuesta.

Tabla 29. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para sedimento

	A	B	AB	R^2 (%)	σ	p-value
BDE-47	-	-	-	58,84	0,03	0,0132
BDE-85	-	+	+	22,36	0,04	0,0038
BDE-99	+	-	-	38,55	0,14	0,0395
BDE-100	-	-	+	91,91	0,08	0,7672
BDE-153	-	-	-	82,13	0,07	0,0387
BDE-154	-	-	-	56,04	0,04	0,1871

A: Cantidad de muestra, B: Tipo de disolvente

Estos resultados muestran que sería necesario optimizar las otras variables que influyen en el proceso de extracción. En la Tabla 30, se muestra un resumen de los valores óptimos calculados para el modelo establecido para cada analito.

Tabla 30. Valores óptimos de cada factor, para cada grupo de compuestos en la optimización para la extracción desde la muestra de sedimento

	Cantidad de muestra		Tipo de disolvente	
	Valor codificado	Valor natural (mg)	Valor codificado	Valor natural (%)
BDE-47	-1	200	1	DCM (100%)
BDE-85	-1	200	1	DCM (100%)
BDE-99	-1	200	-1	Acetona (100%)
BDE-100	-1	200	-1	Acetona (100%)
BDE-153	1	600	-1	Acetona (100%)
BDE-154	1	600	-1	Acetona (100%)

Acorde a los resultados observados en la Tabla 30 se hace necesario calcular la función de Derringer, para establecer el peso específico de los factores sobre la extracción de todos los analitos, y saber cuales son estadísticamente significativos.

Ninguno de los factores estudiados resultó significativo para la respuesta combinada, con lo que el modelo propuesto no sería el adecuado, siendo necesario estudiar la variación de otros factores que influyan sobre la extracción de los analitos. Para este diseño, el valor de R^2 es de $12,34 \pm 0,08\%$ de la variabilidad de la respuesta con un p-value de 0,172 a un 95% de confianza. Además el modelo arrojó como un valor óptimo una mezcla de ambos disolventes (acetona y DCM) en estudio, por lo que se decidió optimizar la mezcla de ambos, con una cantidad mínima de muestra.

5.12. Optimización de las variables de extracción con disolvente presurizado (PLE) para las muestras-modelo de biosólido, a través de un diseño de compuestos centrales

Para esta etapa de optimización de la extracción de PBDEs, se utilizó un diseño de segundo orden, que permite describir de manera más detallada la respuesta esperada. Un diseño de segundo orden viene dado por (Park y col., 2008):

$$y_u = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_{iu} + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_{iu}^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_{iu} x_{ju} + \varepsilon_u \quad (u = 1, 2, \dots, N) \quad (15)$$

Donde x_{iu} es el valor de la variable x_i a un punto experimental u y ε_u errores aleatorios no correlacionados con varianza promedio cero.

El diseño de compuestos centrales (CCD) fue propuesto por Box y Wilson como una alternativa al factorial 3^k ; básicamente consiste de un núcleo factorial 2^k , cuyos niveles de los factores se codifican con +1 y -1, así como niveles á que pueden variar de acuerdo al número de factores a evaluar. Box y Wilson (Box y Wilson, 1951) señalan que el diseño consiste de puntos en los vértices de un cubo correspondiente a un arreglo factorial 2^k o alguna fracción conveniente, con $(\pm 1, \pm 1, \dots, \pm 1)$, al mismo tiempo se le hace corresponder n_a puntos «estrella» con coordenadas $(\pm a, 0, 0, \dots, 0)$, $(0, \pm a, 0, 0, \dots, 0), \dots, (0, 0, 0, \dots, \pm a)$ y n_0 puntos en el centro con coordenadas $(0, 0, 0, \dots, 0)$. El número de tratamientos en un CCD, cuando se usa el núcleo 2^k , se determina por la expresión siguiente: $N = 2^k + 2k + n_0$ donde k es el número de factores, y n_0 el número de repeticiones del tratamiento central. El objetivo de repetir el

tratamiento central es lograr la *estimación del error experimental*, y *reducir la varianza de las estimaciones en el centro de la región experimental*. Existen tres posibles CCD de acuerdo a tres definiciones, *diseños rotables*, *diseños ortogonales*, y *diseños rotables y ortogonales*.

La *rotabilidad* (diseño rotable) expresa la confianza de las predicciones del modelo en base sólo a la distancia al centro del diseño, distancia que es igual para todos los puntos definidos y que viene dada por el valor de α . El valor α no depende de los puntos centrales del diseño (Park y col., 2008).

En el diseño ortogonal todas las covarianzas entre los coeficientes de regresión estimados, excepto $C_{ov}(b_{ii}, b_{ij})$ son cero. Pero si la matriz $(X'X)^{-1}$ es una matriz diagonal, entonces el término $C_{ov}(b_{ii}, b_{ij})$ también es cero. A esta propiedad se le conoce como ortogonalidad (Park y col., 2008). Un diseño ortogonal proveerá de un cálculo más simple de obtener y estimaciones no correlacionadas de los coeficientes de respuesta del modelo. De acuerdo a los resultados mostrados anteriormente, los diseños de optimización para la muestra-modelo de biosólido se muestran en la Figura 29a, b y c.

Como se observa en los gráficos de Pareto (Figura 30), para algunos analitos, los factores en estudio no fueron significativos, pero en el caso de los congéneres 47 y 99, el tiempo dinámico y el tiempo estático son significativos para la extracción, además de interacciones cuadráticas de los mismos factores, como con otros. Por lo que se necesita un tiempo mayor para el disolvente esté en contacto con la matriz y se

logre la desorción de los analitos desde ésta. La Tabla 30 muestra un resumen de la influencia de los factores.

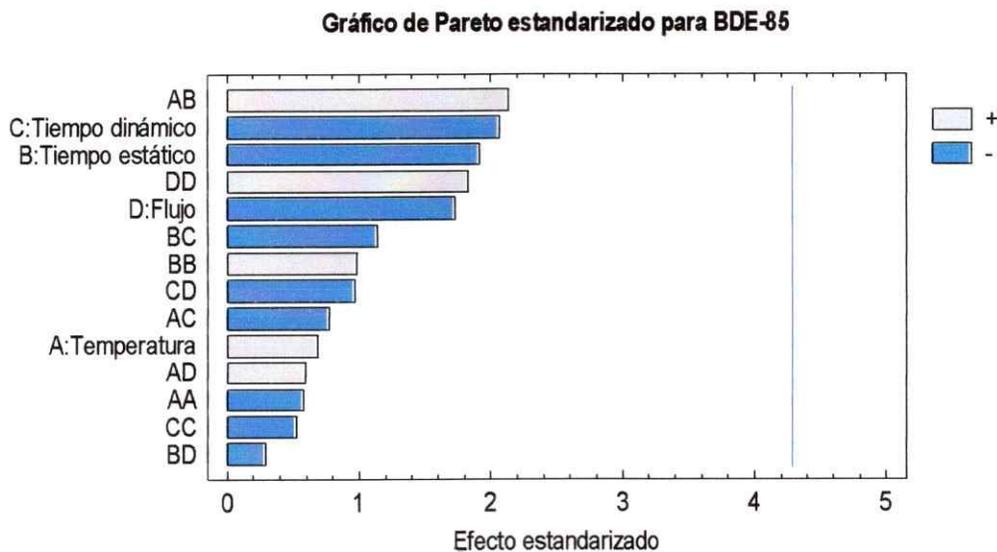
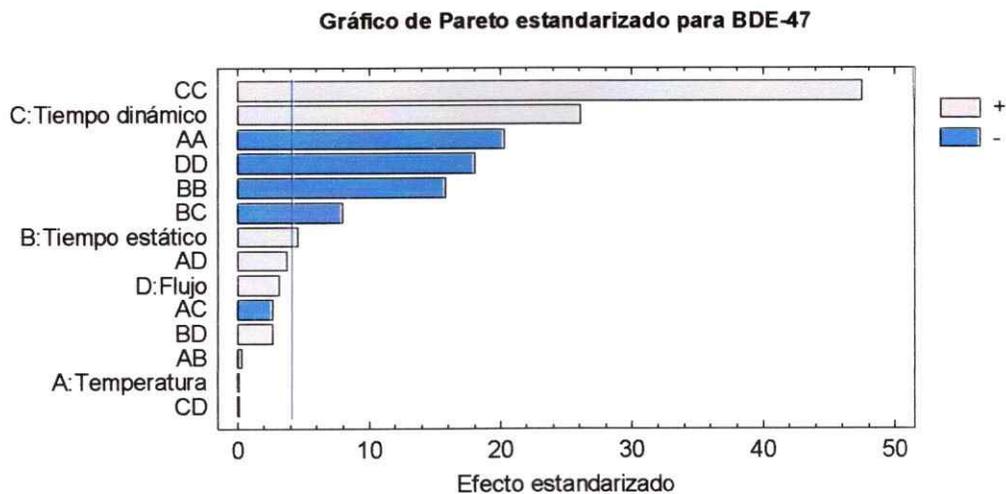


Figura 30a. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de biosólido

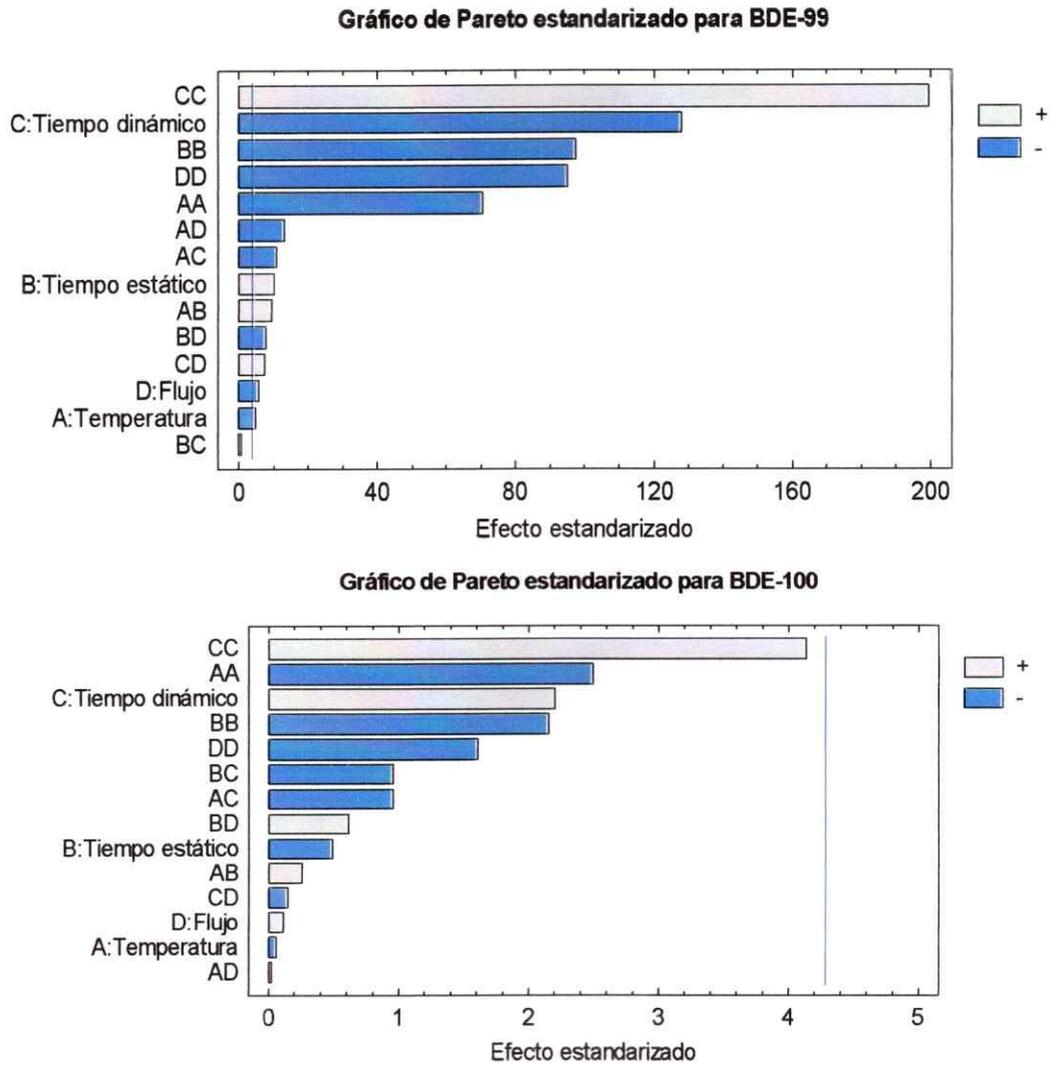


Figura 30b. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de biosólido

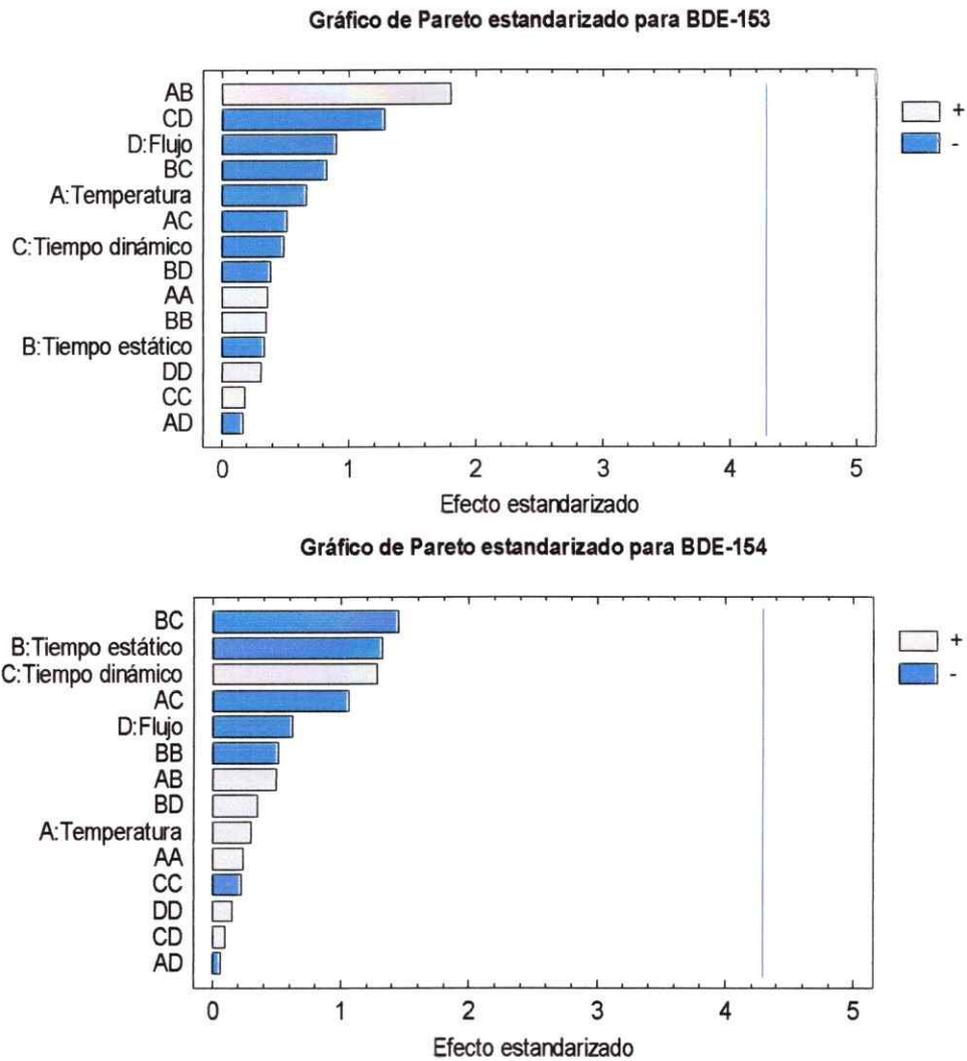


Figura 30c. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de biosólido

Tabla 31. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para biosólido

	r^2	SD	p-value
BDE-47	92,31	0,03	0,0024
BDE-85	75,34	0,012	0,42
BDE-99	92,34	0,004	0,0001
BDE-100	86,44	0,014	0,29
BDE-153	82,22	0,011	0,29
BDE-154	83,21	0,012	0,33

Para la optimización de la extracción de la muestra-modelo de biosólido, se obtuvieron valores de coeficientes de determinación r^2 (Tabla 31) sobre un 75% para explicar la variabilidad de la respuesta y con un pequeño error asociado. El “p-value” calculado para los congéneres 47 y 99 fueron $< 0,05$ (con un límite de confianza de un 95%). Ya que el objetivo es lograr la mayor extracción de los todos analitos en las condiciones seleccionadas se calculó la función de Derringer para conocer cuál es el peso específico de todos los factores sobre la extracción de todos los analitos (Figura 31).

El gráfico de Pareto (Figura 31) muestra que la interacción cuadrática del tiempo dinámico es el factor más significativo para la extracción de todos los PBDEs estudiados, de acuerdo a todos los criterios ya mencionados. El gráfico de superficie de respuesta entrega una información del comportamiento de extracción de los analitos, de tal manera que a un flujo y tiempo dinámico constante, se logra obtener un valor máximo a una temperatura y tiempo estático determinado. Esta tendencia se repitió al graficar las otras variables (Tabla 32).

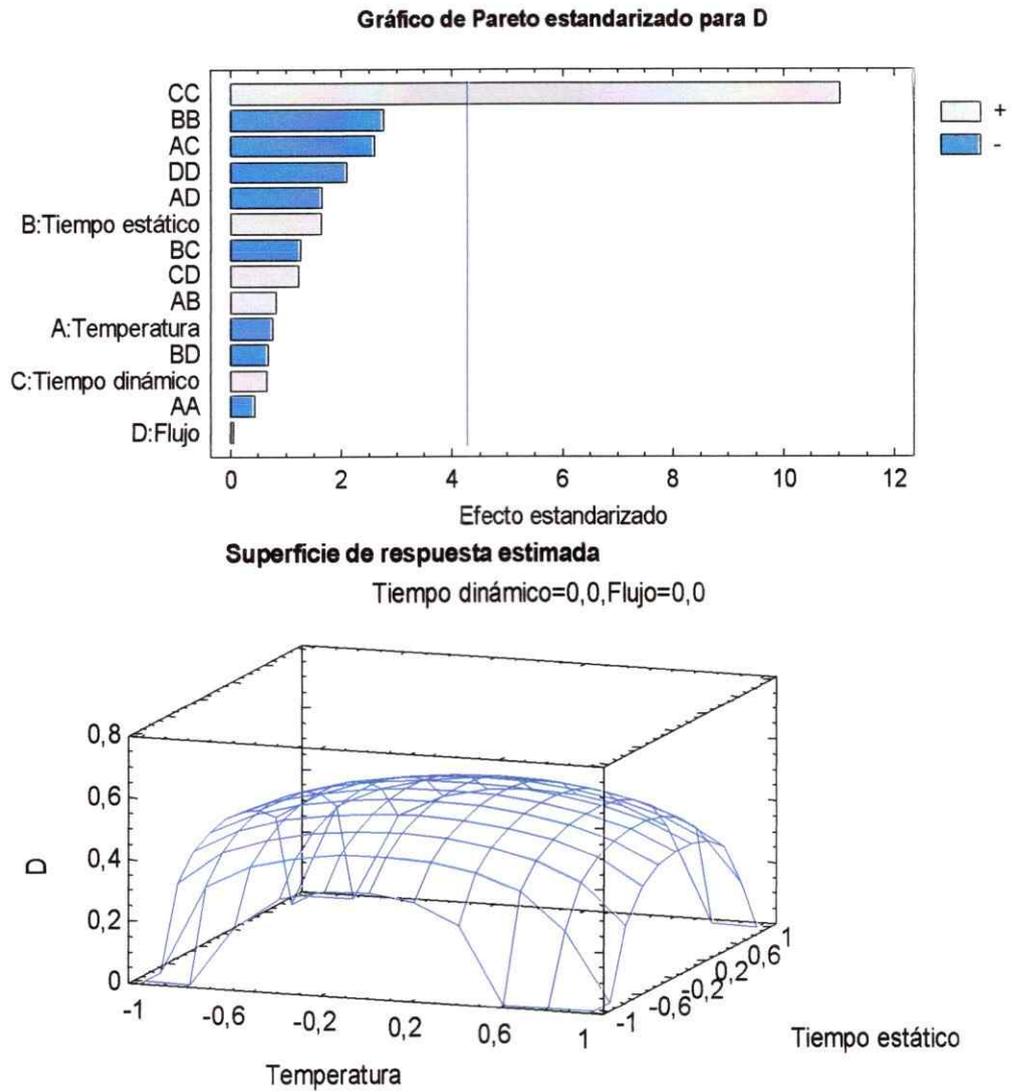


Figura 31. Gráfico de Pareto estandarizado y superficie de respuesta estimada para la función de Derringer de los PBDEs en la muestra de biosólido.

Tabla 32. Valores óptimos de los factores estudiados para cada analito y la Función D en la muestra-modelo de biosólido

	T (°C)		t _{ESTÁTICO} (min)		t _{DINÁMICO} (min)		Flujo (mL/min)	
	Valor codificado	Valor natural	Valor codificado	Valor natural	Valor codificado	Valor natural	Valor codificado	Valor natural
BDE-47	-0,081	115,7	-0,216	31,52	1,54	59,84	0,056	3,07
BDE-85	-0,58	90,0	-1,54	10,16	1,54	59,84	-1,54	1,01
BDE-99	0,083	124,1	0,041	35,66	-1,54	10,16	-0,08	2,90
BDE-100	-0,28	105,4	-0,40	28,55	1,54	59,84	-0,097	2,87
BDE-153	-0,98	69,3	-1,54	10,16	-1,54	10,16	-1,54	1,01
BDE-154	-1,54	40,0	-1,54	10,16	-1,53	10,32	-0,74	2,05
D	-1,49	43,0	-0,11	33,23	-1,54	10,16	0,41	2,47

Los resultados reflejan que se obtuvo una metodología de trabajo para la extracción de los analitos desde la matriz con un tiempo relativamente corto, de menos de 45 min., con un gasto de disolvente de aproximadamente 50 a 60 mL y una temperatura de 43°C. Dentro de las propiedades químicas del disolvente que se modifican con las condiciones sub-críticas, la constante dieléctrica es una de ellas, además de la densidad y la viscosidad, entre otras. De esta manera no se necesita elevar la temperatura, por lo que las modificaciones producidas por la presión de trabajo sobre las condiciones del disolvente serían las necesarias para lograr la extracción. En este contexto se realizará una modificación al equipo de extracción y se reemplazará el horno por un baño de ultrasonido, que permite calentar la celda de extracción y nos entrega una energía adicional que también puede asistir el proceso de

extracción, con el objetivo de reducir los tiempos de extracción, de manera de obtener una metodología de trabajo aún más eficiente.

5.13. Optimización de las variables de extracción con disolvente presurizado (PLE) para las muestras-modelo de sedimento.

Para la muestra de sedimento no se encontró un único disolvente para trabajar, como lo fue con la muestra de biosólido y fue necesario optimizar este factor, además de los otros factores que se estudiaron. Los resultados para todos los analitos en estudio se muestran en la Figura 32a, b y c.

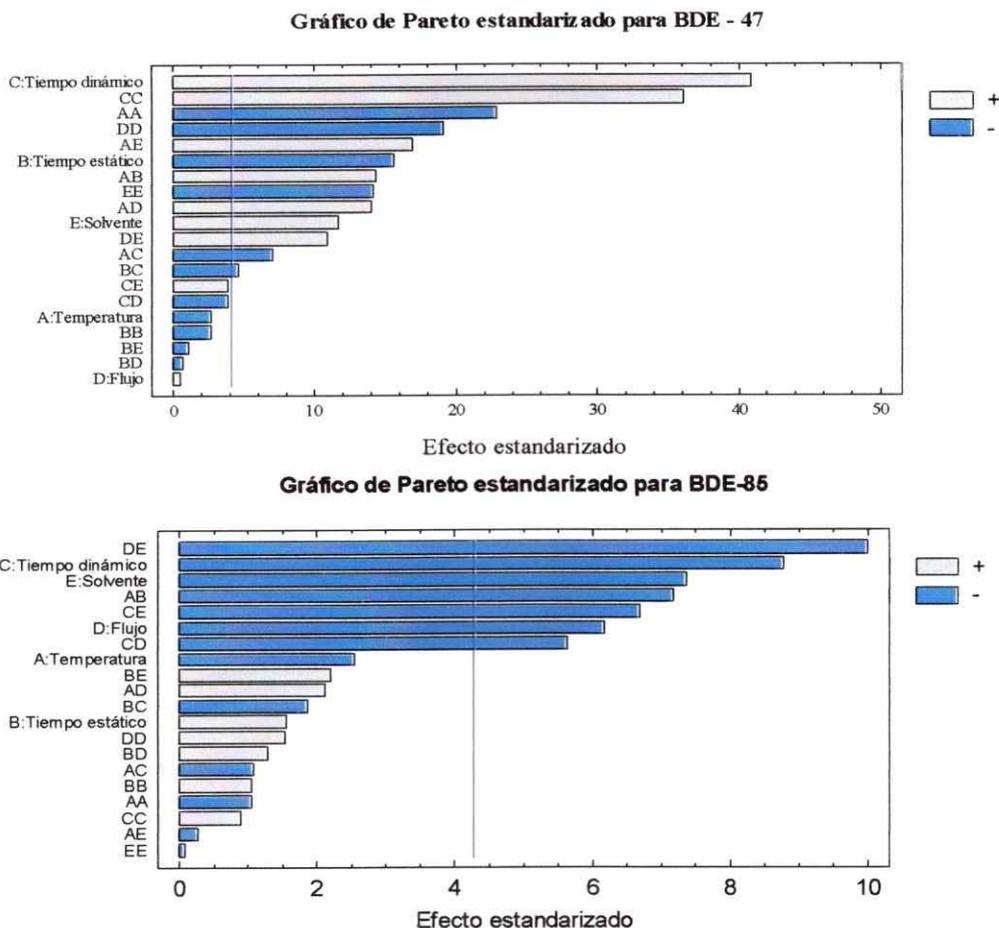


Figura 32a. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de sedimento

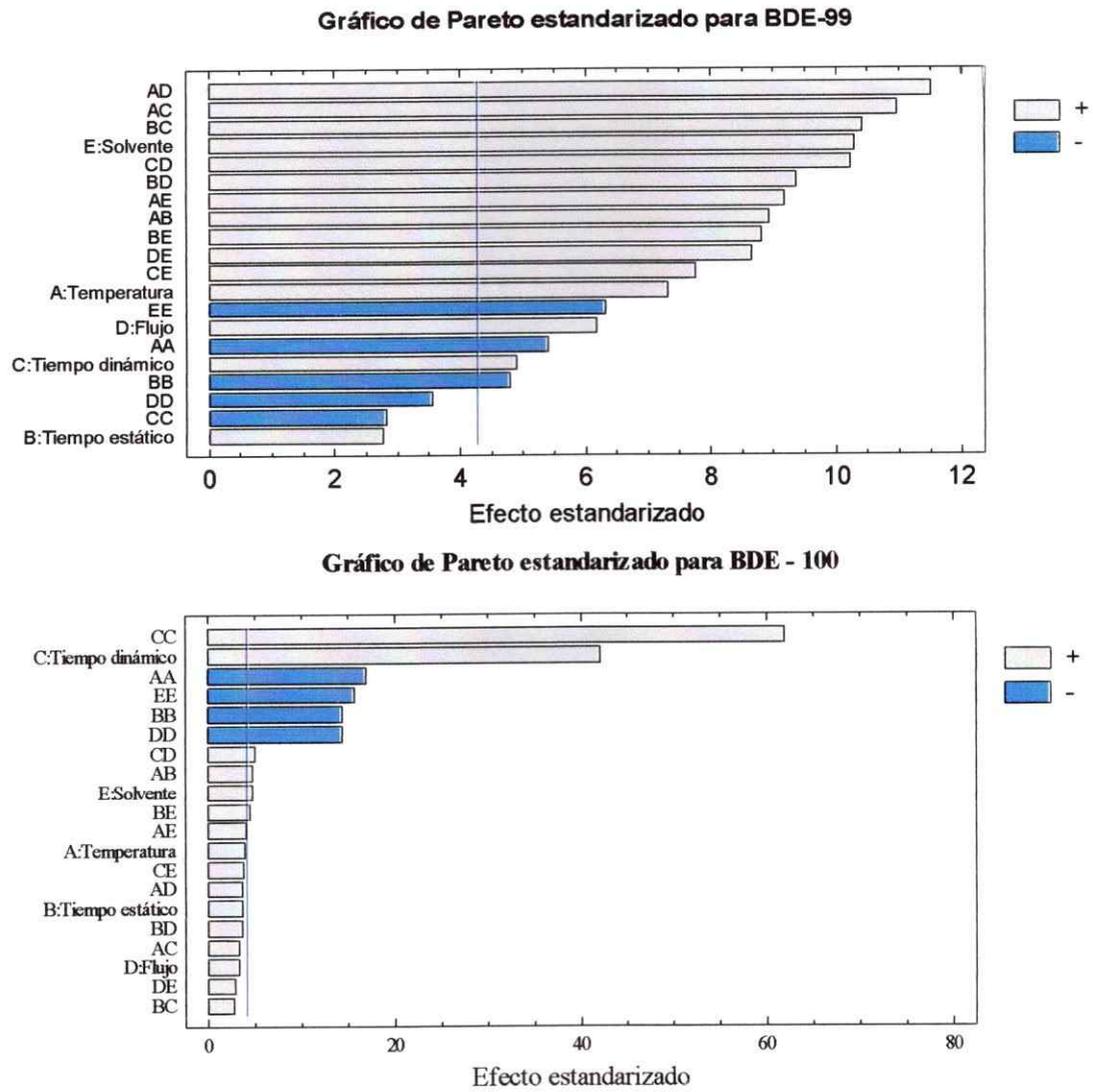


Figura 32b. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de sedimento

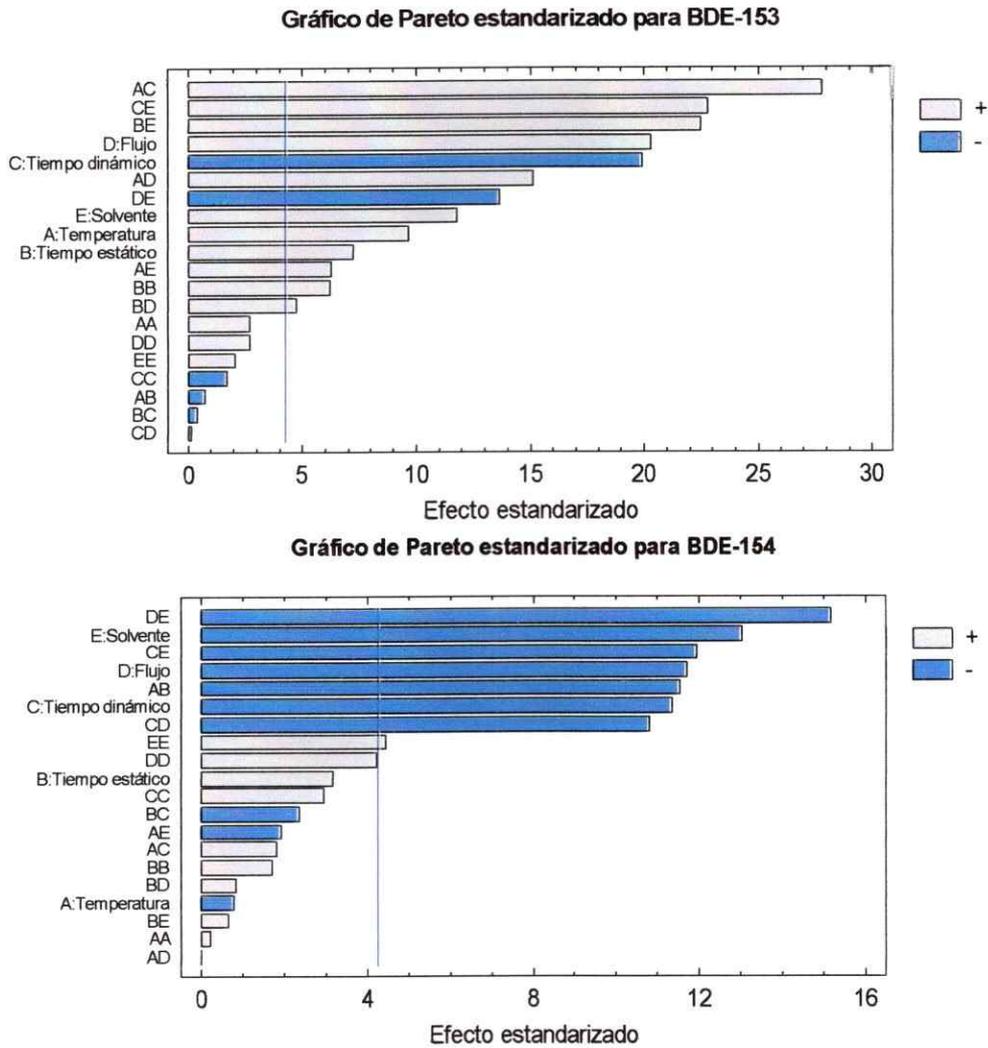


Figura 32c. Gráfico de Pareto estandarizado para los PBDEs en la muestra de sedimento

Como se observa en la Figura 32, muchos de los factores, al igual las interacciones cuadráticas son significativas para la extracción de los PBDEs desde la muestra-modelo de sedimento, y en donde el tiempo dinámico de extracción es preponderante.

Dentro de los casos estudiados, destaca el congénere 99, en el cual hay un gran número de interacciones que influyen positivamente sobre la extracción, lo que permite concluir que las variables de la extracción interactúan entre ellas y que un cambio en una de ellas influyen sobre las otras, y por ende en el proceso de extracción.

Otro caso que sobresale, son los congéneres 153 y 154, en los cuales existen algunos factores y sus interacciones que influyen sobre la extracción, pero en uno la influencia es positiva y en otra es negativa por lo que el congénere 153 quedó más retenido que el otro sobre el sólido, ya que al ser más apolar que el congénere 154 necesitaría un tiempo mayor para romper las interacciones hidrofóbicas formadas entre los analitos y la fase sólida (Braekevelt y col., 2003). Así, al aumentar los valores de los factores, aumenta la extracción de uno (el menos retenido); en cambio, a valores mayores, ya se extrajo cuantitativamente el analito menos retenido, además de extraer el analito más retenido. Un resumen de la significancia estadística de todos los factores y de los parámetros del modelo seleccionado se muestra en la Tabla 33.

Realizando un análisis de los parámetros del diseño propuesto, se obtuvieron regresiones que explican en un alto grado la variabilidad de la respuesta, con un 75% y un error asociado muy bajo, además de valores de "p-value" muy bajos en todos los casos, con lo que se obtuvo un diseño óptimo para la extracción de los analitos. Se calculó, al igual que para la muestra-modelo de biosólido, la función de Derringer (Figura 33). En este caso existen varias interacciones entre los factores que influyen en la extracción de los analitos, y en general son interacciones con el tiempo, lo que resultó ser el factor más importante en la extracción de los analitos.

Tabla 33. Resumen de la significancia estadística y características del modelo para sedimento

	R ²	SD	p-value
BDE-47	73,76	0,013	0,0031
BDE-85	77,19	0,010	0,0468
BDE-99	73,91	0,0070	0,0133
BDE-100	56,19	0,014	0,0011
BDE-153	76,53	0,0037	0,0057
BDE-154	74,12	0,0039	0,0151

Como se observa en el gráfico de Pareto de la Figura 33, al igual que con la muestra-modelo de biosólido, el tiempo resultó ser el factor que tiene mayor peso sobre la extracción de los analitos desde la muestra-modelo de sedimento. Independiente del número de factores que influyen, el modelo es capaz de entregar los valores óptimos para cada factor estudiado. Al observar el resultado de la función D (Figura 33), se obtuvo un diseño que será capaz de extraer en forma cuantitativa todos los analitos estudiados. Con los resultados obtenidos, en la Tabla 33 se muestran los valores óptimos para cada factor y la función D.

Los resultados obtenidos, muestran que se obtuvo un tiempo de trabajo corto (30 min aproximadamente) y una cantidad de disolvente de entre 40 y 50 mL. En cuanto al disolvente de extracción se obtuvo acetona, resultado esperable, ya que los analitos son relativamente solubles en este disolvente (depende de la concentración), por lo que la desorción de los analitos hacia la acetona es mucho más efectiva de lo que resultó con DCM o mezcla de acetona con DCM.

Tabla 34. Valores óptimos de los factores estudiados para cada analito y la Función D en la muestra-modelo de sedimento

	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo [mL/min]	Disolvente * [%acetona]
	Valor codificado	Valor codificado	Valor codificado	Valor codificado	Valor codificado
BDE-47	-1,02	-1,66	-1,66	-0,52	-0,14
BDE-85	0,26	-1,66	-1,66	-1,58	-1,65
BDE-99	-1,66	-1,65	-1,66	-1,55	1,64
BDE-100	0,44	0,48	-1,66	-0,55	0,50
BDE-153	-1,66	1,15	1,66	0,99	1,66
BDE-154	-1,66	-1,12	1,66	0,57	1,66
D	-1,66	-1,65	-0,98	-1,06	1,66

	T [°C]	t _{ESTÁTICO} [min]	t _{DINÁMICO} [min]	Flujo [mL/min]	Disolvente * [%acetona]
BDE-47	70,7	10,00	10,00	2,37	45,78
BDE-85	132,2	10,00	10,00	1,10	0,30
BDE-99	40,0	10,15	10,00	1,13	99,40
BDE-100	140,9	42,20	10,00	2,34	65,06
BDE-153	40,0	52,32	60,00	4,19	100,0
BDE-154	40,0	18,13	60,00	3,36	0,0
D	40,0	10,30	20,24	1,72	100,0

*En el caso del disolvente, el porcentaje restante corresponde a diclorometano

Un aspecto que se debe considerar es que no se pueden comparar las muestras utilizadas ni los modelos estadísticos, ya que están formulados con el mismo procedimiento, pero con diferente cantidad de variables. El hecho que se obtengan más interacciones con uno u otro diseño se debería a que existe una mayor relación

entre las variables, y no existe sólo una de ellas que influyan de manera importante sobre la respuesta.

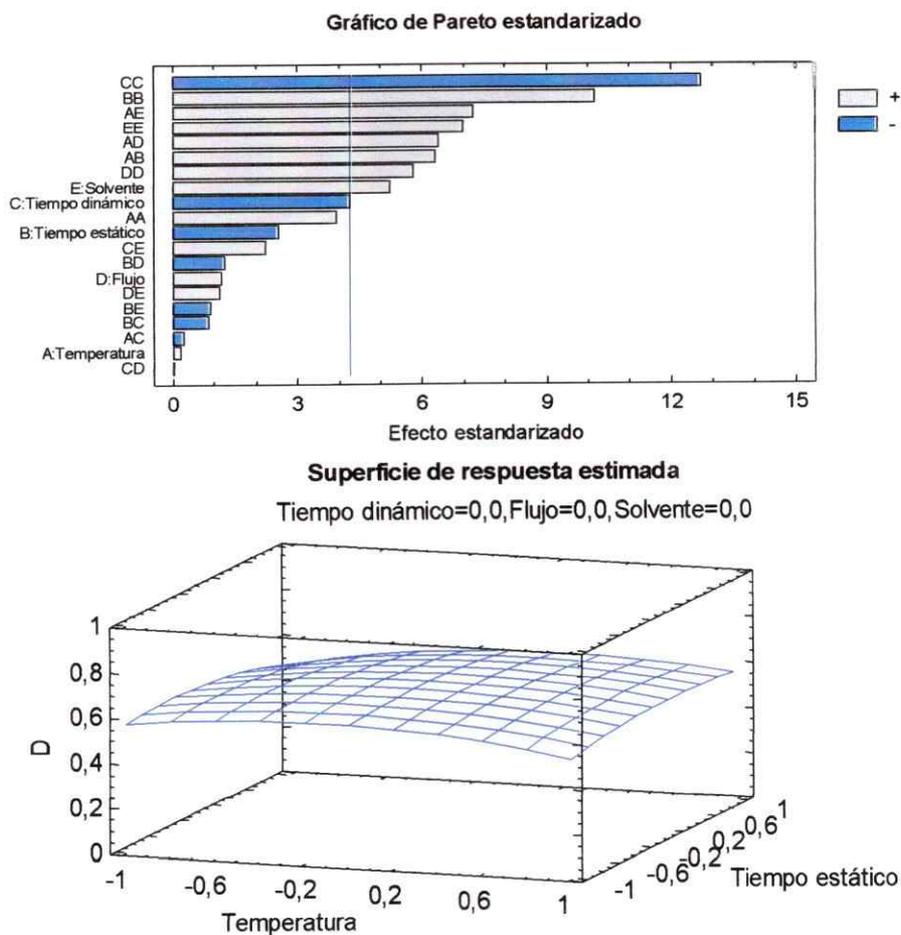


Figura 33. Gráfico de Pareto estandarizado y superficie de respuesta estimada para la función de Derringer de los PBDEs en la muestra de sedimento

5.14. Parámetros analíticos del método propuesto para la extracción de PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento.

Se elaboraron las curvas de calibración de los analitos en estudio, dentro de un intervalo que fuese útil para todas las mediciones que se realizaron, para lo cual se trabajaron con 6 valores de concentración por duplicado, los cuales se midieron en el GC-ECD, de acuerdo a las condiciones cromatográficas previamente optimizadas (ecuación 16).

$$R = a + b * C \quad (16)$$

En donde R, representa la relación de áreas entre cada analito y el área del estándar interno utilizado, a es el intercepto de la ecuación calculada, b la pendiente de la curva y C la concentración de analito. Además, se calcularon los límites de detección (LD) y determinación (LC) del método (ecuaciones 18 y 19), de acuerdo a lo descrito por Báez y Zinger (Báez y Zinger, 1999) y otros parámetros que se muestran en la Tabla 35.

$$LD = 3 \left(\frac{S_{R/C}}{b} \right) \sqrt{\frac{(n-2)}{(n-1)}} \quad (17)$$

$$LC = 10 \left(\frac{S_{R/C}}{b} \right) \sqrt{\frac{(n-2)}{(n-1)}} \quad (18)$$

Las curvas de calibración se construyeron con 6 puntos por duplicado de cada uno, y se realizaron en n-hexano, que fue disolvente en el cual se tiene el extracto final de todos los experimentos realizados.

Tabla 35. Parámetros analíticos del método cromatográfico para los PBDEs estudiados (n = 12).

	Intervalo de concentraciones	$b \pm \sigma_b$	$a \pm \sigma_a$	$S_{R/C}$	p-value
BDE-47	0,07452 - 3,645	33,79 \pm 0,34	-0,8543 \pm 0,576	1,49	0,4143
BDE-85	0,005566 - 0,27225	37,90 \pm 0,39	-0,1957 \pm 0,049	0,127	0,1604
BDE-99	0,1010 - 4,93875	24,02 \pm 0,22	0,7425 \pm 0,499	1,292	0,9196
BDE-100	0,02054 - 1,004625	33,43 \pm 0,39	-0,3131 \pm 0,182	0,47	0,1218
BDE-153	0,008832 - 0,432	40,56 \pm 0,38	-0,2023 \pm 0,0755	0,195	0,2529
BDE-154	0,00759 - 0,37125	40,48 \pm 0,41	-0,1055 \pm 0,0703	0,182	0,0780
	R	r^2 [%]	Linealidad*	LD [$\mu\text{g/mL}$]	LC [$\mu\text{g/mL}$]
BDE-47	0,9994	99,90	0,990	0,0190	0,0632
BDE-85	0,9995	99,89	0,990	0,0010	0,0032
BDE-99	0,9996	99,92	0,991	0,0177	0,0591
BDE-100	0,9993	99,86	0,988	0,0064	0,0213
BDE-153	0,9996	99,92	0,991	0,0018	0,0060
BDE-154	0,9995	99,90	0,990	0,0019	0,0065

* Linealidad = $1 - (SD_b/b)$

5.15. Aplicación a muestras sintéticas. Comparación con el sistema de extracción Soxhlet

Dentro del desarrollo de nuevas metodologías de extracción sólido-líquido es fundamental comparar con técnicas de extracción, en las cuales el proceso de lixiviación, es gobernado por la capacidad del disolvente, generalmente calentado, de romper las interacciones que mantienen unido al analito con la matriz, y además de ser capaz de disolver al analito de interés.

La extracción Soxhlet, se ha utilizado en un sinnúmero de métodos analíticos (Kiviranta y col., 2004; Gevao y col., 2006), y tiene una gran ventaja con respecto a algunas metodologías de extracción modernas como el sistema comercial ASE[®] o la técnica MAE, ya que en la extracción Soxhlet entra en la celda de extracción una cantidad de disolvente fresco que está en contacto con la muestra. Dentro de las desventajas de este sistema de extracción es la pérdida de calor en la celda de extracción, ya que el calentamiento del disolvente se produce en un lugar distinto en donde ocurre la lixiviación del analito, y existe la posibilidad de una descomposición de analitos termolábiles. Esta técnica consume un gran volumen de disolventes, y con un largo tiempo de extracción. La metodología de extracción optimizada utiliza un disolvente sobrecalentado, ya que se alcanzan presiones similares a la presión crítica, pero temperaturas muy por debajo la temperatura crítica. Las metodologías de extracción optimizadas se aplicaron sobre una muestra sintética de cada muestra-modelo, y además se realizó una extracción Soxhlet para comparar los resultados obtenidos (Tabla 36), de manera de validar la técnica de extracción propuesta.

Tabla 36. Porcentajes de Recuperación de los PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento por extracción PLE y Soxhlet

	BIOSÓLIDO		SEDIMENTO	
	PLE [% ± s]	Soxhlet [% ± s]	PLE [% ± s]	Soxhlet [% ± s]
BDE-47	89,7 ± 4,1	82,5 ± 1,9	97,6 ± 2,7	88,0 ± 9,3
BDE-85	109,2 ± 3,7	98,6 ± 2,8	104,9 ± 6,1	93,7 ± 13,0
BDE-99	99,8 ± 2,4	99,1 ± 1,4	102,2 ± 1,0	99,5 ± 2,0
BDE-100	93,9 ± 4,2	97,3 ± 2,0	101,1 ± 6,0	97,3 ± 2,0
BDE-153	101,9 ± 5,1	96,7 ± 4,2	101,9 ± 5,1	79,6 ± 5,5
BDE-154	104,8 ± 5,3	102,6 ± 5,3	107,6 ± 4,8	99,5 ± 1,0

Como se observa en la Tabla 36, se obtuvo una recuperación cuantitativa de todos los analitos por las dos técnicas de extracción, pero con diferencias en los tiempos y cantidad de disolvente y muestra utilizada (Tabla 37). La diferencia por la cual la metodología propuesta es, en término de tiempo y volumen de disolvente, más eficiente que la metodología Soxhlet.

Tabla 37. Comparación de condiciones de trabajo para la extracción de PBDEs desde muestras de biosólido y sedimento.

	PLE				Soxhlet			
	T (°C)	t (min)	V (mL)	m (g)	T (°C)	t (min)	V (mL)	m (g)
Biosólido	43,2	45	50 – 60	0,2	56,0	1440	200	2,0
Sedimento	40,0	30	40 – 50	0,2	56,0	1440	200	2,0

El modelo optimizado para la extracción demostró que la acetona es el disolvente con el que se obtendrían los mejores resultados. Éste, tiene una capacidad de disolver a los analitos sin problemas en la zona de trabajo, pero se debe pensar que

la acetona debe ser capaz de romper interacciones de PBDEs con la matriz. Los PBDEs, compuestos hidrofóbicos (K_{ow} altos), de acuerdo a su estructura, pueden unirse por interacciones hidrofóbicas, como también formar puentes de hidrógeno. Así, la acetona al ser presurizada y calentada es capaz de romper estas interacciones más rápidamente que lo obtenido con el Soxhlet, ya que además aumenta la capacidad de difundir de mejor manera dentro de la matriz.

5.16. Comparación de Técnicas de extracción

Para verificar la eficiencia de la metodología de extracción propuesta (extracción PLE), se realizó la extracción de los analitos desde la muestra-modelo de sedimento y biosólido B con una modificación a la técnica PLE, la cual presuriza el disolvente con una bomba HPLC que dispone la configuración del sistema de extracción y un horno que calienta la celda de extracción y por ende la muestras con el disolvente. La modificación consistió en reemplazar el horno por un baño de ultrasonido, con lo cual se cambia la fuente de energía externa que asiste el proceso de extracción (PLE-USE).

Al analizar los resultados de la Tabla 37 y 38, se observa que tanto la extracción PLE y la extracción PLE-USE, la recuperación promedio de los analitos estudiados es cuantitativa, en las muestras de biosólido y de sedimento. Para comprobar que los analitos se pueden extraer cuantitativamente, pero con tiempos más cortos y menos cantidad de disolvente, se comparó los valores de recuperación por las técnicas Soxhlet y por agitación a temperatura ambiente.

Como se observa en la Tabla 38 y 39, para la extracción Soxhlet, se obtuvo una extracción cuantitativa, pero a tiempos mucho mayores que lo obtenido con la extracción PLE. La extracción Soxhlet es un tipo de extracción, en la cual se realizan el proceso de lixiviación de manera sucesiva, ya que ingresa un volumen de solvente fresco a la muestra, por lo que se alcanzan resultados satisfactorios desde el punto de vista de la recuperación de los analitos desde la muestra. Las técnicas de extracción propuestas (PLE y PLE-USE) permiten disminuir los tiempos de extracción, utilizando cantidades de disolventes bajos, con un resultado cuantitativo, ya que la fuente de energía externa modifica las propiedades del disolvente, pudiendo éste penetrar más fácilmente dentro de la muestra, lo que permite interactuar más eficientemente con el analito.

Al tomar en cuenta el proceso de extracción por agitación simple, el disolvente y la muestra con los analitos entran en contacto, sólo por la agitación continua del sistema, por lo que el disolvente no penetraría con la misma fuerza dentro de la matriz, por ende las posibilidades de interacción analito-disolvente son menores, obteniendo porcentaje de recuperación pobres.

De esta manera la fuente de energía externa (presión, temperatura y ultrasonido), acompañada de una extracción en continuo, permite una extracción cuantitativa de los analitos en estudio dentro de las muestras-modelo seleccionadas, en tiempos cortos de trabajo, ya que se puede extraer el analitos en este tiempo, no sólo de la fracción lábil, sino de la fracción más inerte, en donde el analitos se encuentra retenido con mayor fuerza.

Tabla 38. Comparación de condiciones de trabajo para la extracción de PBDEs desde muestras de biosólido y porcentaje de recuperación de los analitos.

	P [psi]	T [°C]	t [min]	Flujo		
PLE	1500	43,2	45	2,47 [mL/min]		
Soxhlet	14	-	1440	6 [ciclos/h]		
PLE-USE	1500	50	50	2,47 [mL/min]		
Agitación	14	25	120	0		
RECUPERACIÓN [% ± s]						
	BDE-47	BDE-85	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154
PLE	89,7 ± 4,1	109,2 ± 3,7	99,8 ± 2,4	93,9 ± 4,2	101,9 ± 5,1	104,8 ± 5,3
Soxhlet	82,5 ± 1,9	98,6 ± 2,8	99,1 ± 1,4	97,3 ± 2,0	96,7 ± 4,2	102,3 ± 5,3
PLE-USE	80,1 ± 1,3	85,2 ± 2,5	90,5 ± 1,8	98,5 ± 2,1	97,4 ± 3,1	98,2 ± 2,3
Agitación	22,1 ± 0,7	15,2 ± 1,2	17,8 ± 0,3	18,5 ± 1,1	21,0 ±	18,5 ± 1,8
Disolvente: acetona						

Tabla 39. Comparación de condiciones de trabajo para la extracción de PBDEs desde muestras de sedimento y porcentaje de recuperación de los analitos.

	P [psi]	T [°C]	t [min]	Flujo
PLE	1500	43,2	30	1,72 [mL/min]
Soxhlet	14	-	1440	6 [ciclos/h]
PLE-USE	1500	50	50	1,72 [mL/min]
Agitación	14	25	120	0

RECUPERACIÓN [% ± s]						
	BDE-47	BDE-85	BDE-99	BDE-100	BDE-153	BDE-154
PLE	97,6 ± 2,7	104,9 ± 6,1	102,2 ± 1,0	101,1 ± 6,0	101,9 ± 5,1	107,6 ± 4,8
Soxhlet	88,0 ± 9,3	93,7 ± 13,0	99,5 ± 2,0	97,3 ± 2,0	79,6 ± 5,5	99,5 ± 1,0
PLE-USE	98,4 ± 3,1	90,1 ± 3,0	98,2 ± 2,4	96,2 ± 5,1	89,6 ± 3,4	92,6 ± 3,5
Agitación	49,4 ± 8,7	39,9 ± 0,0	35,7 ± 5,7	36,4 ± 2,8	29,4 ± 7,8	28,2 ± 9,2

Disolvente: acetona

5.17. Aplicación a muestras reales

El método propuesto se aplicó en muestras reales de sedimentos y de biosólido disponibles en el laboratorio. Estas muestras se caracterizaron en términos del contenido de MO y pH, y corresponden a muestras de sedimento de la cuenca del Río Cachapoal y Aconcagua, y muestras de biosólidos de una planta de tratamiento de aguas de 2007 y 2008. Los resultados se muestran en la Tabla 40.

Tabla 40. Aplicación del método propuesto en muestras reales fortificadas de sedimentos y biosólidos.

Cuenca Río Aconcagua		
	Carbono orgánico [% ± s]	pH
Río Colorado	2,48 ± 0,02	8,00 ± 0,02
Río Juncal	0,95 ± 0,02	8,00 ± 0,02
Cuenca Río Cachapoal		
Río Coya	0,37 ± 0,02	8,10 ± 0,02
Río Coinco	0,48 ± 0,03	7,27 ± 0,02
Planta de tratamiento de aguas		
BET – 2007	24,3 ± 0,5	7,01
BET – 2008	23,4 ± 0,5	-

En este caso, al aplicar el método propuesto a las muestras reales, no se detectó la presencia de los analitos, que desde un punto de vista medioambiental es un resultado positivo, porque estos sistemas no se encuentran contaminados con PBDEs. Esto no significa que los analitos no se encuentren presentes en las muestras analizadas, ya que se debe considerar los límites de detección y de preconcentración

de la técnica cromatográfica y de extracción, respectivamente. A pesar de la cromatografía GC-ECD es una técnica sensible para compuestos halogenados como los PBDEs, los límites de detección y cuantificación están a nivel de $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 34), que al comparar con los resultados encontrados en literatura, los niveles de concentración encontrados para los PBDEs en muestras de sedimentos y biosólidos están a niveles de ng/g y en algunos casos pg/g de muestra (Chen y col., 2009; Leisa-Marie y col., 2008; Li y col., 2010; Sullivan y col., 2007). Además, el nivel de preconcentración alcanzado en el trabajo realizado fue alto, ya que las cantidades de muestra usadas son bajas, pero debido al alcance de la técnica de determinación se podría haber utilizado una mayor cantidad de muestra, pero los resultados de la optimización mostraron que una mayor cantidad de muestra no es apropiado para la obtención de los parámetros más altos posible con respecto a la eficiencia para la extracción de los analitos.

En general, la literatura muestra que el uso de GC-MS se privilegia, ya que esta técnica entrega el espectro de masa del analitos estudiado, permitiendo no sólo una comparación de los resultados de los tiempos de retención de los estándares. Para lograr niveles de detección a los niveles de ng/g o pg/g de muestra, se utiliza la modalidad de ionización química negativa (NCI), que es mucho más sensible para este tipo de analito que otras modalidades de ionización de los analitos para el detector MS (Chen y col., 2009; Li y col., 2010)

Para comprobar la validez del método, a una cantidad determinada de cada una de las muestras, se agregó una cantidad de estándar de PBDEs, de manera que la concentración de analito fue de $2 \mu\text{g/g}$ de PBDEs totales (Tabla 40).

Tabla 41. Porcentajes de Recuperación de los PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento por extracción PLE y Soxhlet

	Río Colorado	Río Juncal	Río Coya	Río Coinco	BET-2007	BET-2008
RECUPERACIÓN [% ± s]						
BDE-47	86,0 ± 2,3	95,1 ± 2,6	93,5 ± 3,4	95,2 ± 1,7	88,1 ± 2,5	93,0 ± 1,6
BDE-85	76,7 ± 1,9	87,0 ± 3,4	80,3 ± 3,7	89,1 ± 3,6	75,1 ± 3,5	90,3 ± 2,0
BDE-99	89,9 ± 2,8	102,0 ± 5,4	97,7 ± 2,8	91,3 ± 3,7	88,8 ± 4,5	87,8 ± 2,1
BDE-100	85,2 ± 2,7	91,2 ± 1,9	98,3 ± 2,9	92,7 ± 2,5	92,0 ± 5,5	85,3 ± 1,8
BDE-153	87,9 ± 3,1	88,3 ± 2,3	89,0 ± 2,7	88,9 ± 2,9	91,0 ± 4,5	93,1 ± 2,8
BDE-154	84,0 ± 3,1	94,5 ± 4,5	90,1 ± 4,0	83,3 ± 2,6	85,7 ± 3,9	95,2 ± 3,7

Como se observa en la Tabla 41, los resultados obtenidos para la extracción de los PBDEs por la técnica PLE es válida, obteniendo un resultado cuantitativo, con valores de recuperación similares, en todas las muestras, siendo levemente superiores en los sistemas con un contenido orgánico menor, en el caso de los sedimentos. En el caso de las muestras de biosólidos, se quiso aplicar en muestras de distintos años para ver la posibilidad de cambio en la muestra con respecto al contenido que pudiesen tener de PBDEs por motivos de contaminación, pero no se detectó la presencia de éstos en las muestras.

CAPÍTULO VI:

**Conclusiones y
Proyecciones de
Tesis**

6.- CONCLUSIONES

La separación y determinación de los difenil éter polibromados (PBDEs) por cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones (GC-ECD) fue exitosa, ya que se alcanzó un alto grado de linealidad y una alta sensibilidad para los analitos estudiados, según los valores de los parámetros analíticos instrumentales calculados.

A través de los valores de los parámetros cromatográficos calculados, se encontró una relación entre los tiempos de retención de los analitos y su polaridad dada por los valores de $\log K_{OW}$, en donde a mayor tiempo de retención más apolar o mayor es el valor de $\log K_{OW}$ del compuesto. Los resultados obtenidos por GC-ECD, se comprobaron a través de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), la cual entrega el espectro de masa de cada compuesto.

Se elaboraron muestras-modelo de biosólido y sedimento simples y con contenidos similares a muestra reales en cantidades conocidas, las cuales entregaron una orientación de las interacciones de los analitos con los componentes de la fase sólida y cuál sería el comportamiento que se obtendría en una muestra real de biosólido y sedimento.

El estudio del efecto del contenido orgánico de las muestras sobre la retención de los PBDEs mostró una mayor retención en aquellas muestras con un alto contenido orgánico, por ende una técnica de extracción con fuente de energía adicional lixiviará la fracción de los analitos que se encuentre más retenida en matriz de estudio.

En el estudio de sorción de los PBDEs, se utilizó un medio mixto entre una fase acuosa y orgánica miscible, debido al carácter apolar de los PBDEs, Esto permitió descartar algunos factores que alteren el comportamiento de sorción. Las isothermas de sorción elaboradas identificaron como uno de los mecanismos más probables la fisisorción, según los valores calculados para los parámetros del modelo de Freundlich. Se determinó cuáles serían las tendencias encontradas entre distintos analitos de una misma familia.

El uso de las isothermas de sorción entregó un valor de concentración adecuada que permita la elaboración más real de un material de referencia para los estudios de extracción de los PBDEs en matrices de biosólido y sedimento. El material de referencia se validó midiendo a diferentes tiempos la extractabilidad de los PBDEs en condiciones referenciales de extracción con la técnica propuesta y mediciones continuas de los estándares para controlar una posible degradación de los compuestos.

La extracción con disolvente presurizado (PLE) propuesta es una técnica de extracción rápida, eficiente y cuantitativa. Se logró identificar un disolvente adecuado y correlacionarlas con algunos valores medidos y calculados para los disolventes estudiados. Ya que existen varios factores que alternan el proceso de extracción se eligió como metodología de optimización un diseño experimental multivariado, diseño de compuestos centrales (CCD), el cual entregó estadísticamente los valores óptimos para cada factor estudiado.

El método propuesto para la extracción de PBDEs desde muestras-modelo de biosólido y sedimento se aplicó con éxito, obteniendo un método exacto, preciso, selectivo, y con una alta sensibilidad, de acuerdo a las condiciones experimentales optimizadas. El método optimizado se aplicó en muestra reales de sedimento y biosólido, donde no se encontró la presencia de los PBDEs, resultado que ambientalmente es positivo, porque no habría contaminación provocada por estos compuestos. La técnica PLE, se comparó con la extracción Soxhlet, y extracción PLE-USE. Los resultados obtenidos la extracción por PLE, resultó ser eficiente ya que en a tiempo de extracción y cantidad de disolvente bajas logró porcentajes de extracción similares a la técnica Soxhlet siendo, por lo tanto, una alternativa viable para la extracción de estos analitos.

7. APORTES Y PROYECCIONES DE TESIS

Dentro de los aportes al conocimiento que se realizaron con este trabajo de tesis se pueden mencionar en dos hechos en los cuales se dividió el trabajo.

El primero de ellos corresponde a la elaboración de muestras-modelo de biosólido y sedimento, en donde se modeló el contenido orgánico, ya que según el problema planteado, ésta influye sobre la retención de los compuestos como los PBDEs. Estos modelos permitieron, no sólo el estudio de sorción sino además, los posteriores estudios de extracción por la técnica PLE en modo discontinuo-continuo propuesta.

El estudio de sorción de un compuesto de características poco polares como los PBDEs es un trabajo complejo, ya que las condiciones de laboratorio no se pueden asemejar en todos los aspectos al comportamiento en la naturaleza, pero permitió establecer tendencias del comportamiento de los analitos frente a muestras reales. A través de las isotermas de sorción se pudo establecer, en una primera línea el comportamiento de los PBDEs en los sistemas modelo, que luego se podrían replicar en sistemas reales. Estos modelos permitieron la interpretación más simple de los resultados, ya que las muestras al tener múltiples componentes, la interpretación es más compleja. Así se muestra la utilidad de dicha muestras modelos. Dentro de las proyecciones y para completar el trabajo, se pueden estudiar el comportamiento de los analitos en diferentes temperaturas, estudiar otras fases líquidas, ya sea la solución

acuosa o el solvente orgánico, o el estudio con muestras-modelo con otros componentes.

Los estudios de extracción realizados con PBDEs por la técnica propuesta a través de un diseño de experimentos permitieron obtener una alternativa muchos más limpia para el medio ambiente, ya que se disminuyó el uso de solvente que la técnica convencional utiliza, con tiempos de trabajo menores, y con un número menor de experimentos con respecto al método de trabajo univariado. Una de las principales preocupaciones de estos estudios es también pensar en los desechos que se producen del trabajo experimental. A pesar de que los resultados reflejan que la técnica es cuantitativa, se pudo observar una tendencia que no se estudió, pero se pudiera comparar la extracción de ambas técnicas similares condiciones de tiempos, se observaría que la extracción Soxhlet solo extraería la fase lábil de los compuestos en la muestra, y no la que estaría retenida en la fracción más inerte.

Así, Los métodos desarrollados en este proyecto de tesis son simples, y cuyos resultados fueron exactos y representativos desde las muestras con un proceso analítico preciso, sensible y selectivo, entregando un aporte científico útil para el control de estos analitos en el medio ambiente.

CAPÍTULO VII:
Bibliografía

8. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, Y., Paolini, J., Benítez, E. 2004
Humification index and phytotoxicity test in organic wastes potentially agricultural. *Rev. Fac. Agron.* 21: 185-194.
- Alaae M. 2003
Recommendations for Monitoring of Polybrominated Diphenyl Ethers in the Canadian Environment. *Environ. Monit. Assess.* 88: 327
- Alcock R. E., Sweetman A., Prevedouros K., Jones K. 2003
Understanding levels and trends of BDE-47 in the UK and North America: an assessment of principal reservoirs and source inputs. *Environ. Int.* 29: 691
- Báez, M.E., Zincker, J. 1999
Parámetros de calidad analítica de un método de determinación multiresiduos de plaguicidas por HPLC-DAD. *Bol. Soc. Chil. Quím.* 44: 357
- Bayen S., Lee H. K., Obbard, J. P. 2004
Determination of polybrominated diphenyl ethers in marine biological tissues using microwave-assisted extraction. *J. Chromatogr. A*, 1035: 291.
- Box, G.E.P., Wilson, K.B. 1951
On the experimental attainment of optimum conditions. *J. Roy. Statist. Soc.*, B 13: 1
- Belmares M., Blanco M., Goddard III, W. A., Ross R. B., Caldwell G. Chou S.H., Pham J., Olofson P. M., Thomas C. 2004
Hildebrand and Hansen Solubility Parameters from Molecular Dynamics with Applications to Electronic Nose Polymer Sensors. *J. Comput. Chem.* 25: 1814
- Braekevelt E., Tittlemier S., Tommy G. 2003
Direct measurement of octanol–water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. *Chemosphere* 51: 563
- Burreau S., Zebühr Y., Broman D., Ishaq R. 2004
Biomagnification of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) studied in pike (*Esox lucius*), perch (*Perca fluviatilis*) and roach (*Rutilus rutilus*) from the Baltic Sea. *Chemosphere* 55: 1043
- Cai Z., Jiang G. 2006
Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil from e-waste recycling site. *Talanta* 70: 88
- Carey F., Sundberg R.J., 2000
Advanced organic chemistry, fourth edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers

Chen L., Huang Y., Peng X., Xu Z., Zhang S., Ren M., Ye Z., Wang X. 2009
PBDEs in sediments of the Beijiang River, China: Levels, distribution, and influence of total organic carbon. *Chemosphere* 76:226

Chen W., Tan S. K., Tay J.H. 1977a
Distribution, fractional composition and release of sediment-bound heavy metals in tropical reservoirs. *Water Air and Soil Pollut.* 92: 273

Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M. 1977b
Information provided on humic substances by E₄:E₆ ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41: 353

Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), www.pops.int/documents/convtext_sp.pdf, mayo 2004.

De la Cal A., E. Eljarrat, D. Barceló. 2003
Determination of 39 polybrominated diphenyl ether congeners in sediment samples using fast selective pressurized liquid extraction and purification. *J. Chromatogr. A*, 1021: 165

Duque, M.L., Valcárcel, M., Tena, M.T, 2003
Extracción con fluidos supercríticos para el proceso analítico, Editorial Reverté, España

Ebert J., Bahadir M. 2003
Formation of PBDD/F from flame-retarded plastic materials under thermal stress. *Environ. Int.* 29: 711

Ehlers G., Loibner A. 2006
Linking organic pollutant (bio)availability with geosorbent properties and biomimetic methodology: A review of geosorbent characterisation and (bio)availability prediction. *Environ. Poll.* 141: 494

Eljarrat E., Marsh G., Labandeira A., Barceló D. 2008
Mechanisms of molecular product and persistent radical formation from the pyrolysis of hydroquinone. *Chemosphere* 71: 107

Fifield F.W., 2000
Principles and Practice of Analytical Chemistry, Fifth Edition

Fowles J. R., Fairbrother A., Baecher-Steppan L., Kerkvliet N.I. 1994
Immunologic and endocrine effects of the flame-retardant pentabromodiphenyl ether (DE-71) in C57BL/6J mice. *Toxicol.* 86: 49

Gevao B., M. Beg, A. Al-Ghadban, A. Al-Omar, M. Helaleh 2006
Spatial distribution of polybrominated diphenyl ethers in coastal marine sediments receiving industrial and municipal effluents in Kuwait. *Chemosphere* 62 : 1078

Gerecke A.C., Hartmann P.C., Heeb N.V., Kohler H-P.E., Giger W., Schmid P., Zennegg M., Kohler M. 2005
Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether. *Environ. Sci. Technol.* 39:1078

- Gouin T., Harner T. 2003
Modelling the environmental fate of the polybrominated diphenyl ethers. *Environ. Int.* 29: 717
- Graneli L., Eriksson J., Athanasiadou M., Bergman A. 2010
Reductive debromination of nonabrominated diphenyl ethers by sodium borohydride and identification of octabrominated diphenyl ether products *Chemosphere*, artículo en prensa, 10.1016/j.chemosphere.2010.11.022
- Gujarati, D. 2006
Principios de Econometría. Mc Graw Hill
- Haftka J., Parsons J. 2006 Partitioning of Organic Contaminants to Dissolved Organic Matter – Effect of Solution Composition, Universiteit van Amsterdam
- Halcrow Group Limited - Chile, 2005.
Plan de manejo Integral de los lodos de la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas La Farfana. Informe de factibilidad. Santiago, 149p.
- Harms H., Bosma T.N.P. 1996
Mass transfer limitation of microbial growth and pollutant degradation. *J. Ind. Microbiol.* 16: 1
- He Y., Xu J., Wang H., Ma Z., Chen J. 2006
Detailed sorption isotherms of pentachlorophenol on soils and its correlation with soil properties. *Environ. Research* 101: 362
- Hill T.L. 1996
Adsorption from a one-dimensional lattice gas and the Brunauer–Emmett–Teller equation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93: 14328
- Ho Y-S, Wang Ch-Ch. 2008.
Sorption equilibrium of mercury onto ground-up tree fern *J. Hazard. Mater.* 156: 398
- Huang W., Peng P., Yu Z., Fu J., 2003
Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments. *Applied Geochem.* 18: 955
- Hui-Ying X., Jian-Wei Z., Qing-Sen Y., Yan-Hua W., Ying Z. J 2007
QSPR/QSAR models for prediction of the physicochemical properties and biological activity of polybrominated diphenyl ethers. *Chemosphere* 66: 1998
- Huwe J., Hakk H., Lorentzsen M. 2007
Bioavailability and mass balance studies of a commercial pentabromodiphenyl ether mixture in male Sprague–Dawley rats. *Chemosphere* 66: 259
- Ikarashi Y., Kaniwa M., Tsuchiya T. 2005
Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons and water-extractable phenols in creosotes and creosote-treated woods made and procurable in Japan. *Chemosphere* 60: 1279

Jancic-Stojanovic, B., Malenovic, A., Ivanovic, D., Rakic, T., Medenica, M. 2009 Chemometrical evaluation of ropinirole and its impurity's chromatographic behavior. *J. Chromatogr. A* 1216: 1263

Jimidar, M., Bourguignon, B., Massart, D. L. 1996 Application of Derringer's desirability function for the selection of optimum separation conditions in capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A* 740: 109

Kazda R., Hajslová J., Poustka J., Cajka T. 2004 Determination of polybrominated diphenyl ethers in human milk samples in the Czech Republic: Comparative study of negative chemical ionisation mass spectrometry and time-of-flight high-resolution mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 520: 237

Kiviranta H., M. Ovaskainen, T. Vartiainen. 2004 Market basket study on dietary intake of PCDD/Fs, PCBs, and PBDEs in Finland. *Environ. Int.* 30: 923

Kou D., Mitra S. 2003 Simultaneous Extraction and Concentration by On-Line Hollow Fiber Membrane Extraction. *Anal. Chem.* 75: 6355

Kuramochi H., Maeda K., Kawamoto K. 2007 Physicochemical properties of selected polybrominated diphenyl ethers and extension of the UNIFAC model to brominated aromatic compounds. *Chemosphere* 67: 1858

Langford K., Scrimshaw M., Birkett J., Lester J. 2005 Physicochemical properties of selected polybrominated diphenyl ethers and extension of the UNIFAC model to brominated aromatic compounds. *Chemosphere* 61: 1221

Leisa-Maree L. T., Mortimer M., Symons R. K., Paepke O., Mueller J. F. 2008 Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediment by salinity and land-use type from Australia. *Environ. Int.* 34:58

Li Q., Yan C., Luo Z., Zhang X., 2010 Occurrence and levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in recent sediments and marine organisms from Xiamen offshore areas, China. *Mar. Poll. Bull.* 60: 464

Litten S., Dennis J., Chesney M.C., Hamilton M.C., Fowler B. 2003 Destruction of the World Trade Center and PCBs, PBDEs, PCDD/Fs, PBDD/Fs, and Chlorinated Biphenylenes in Water, Sediment, and Sewage Sludge. *Environ. Sci. Technol.* 37:5502

Liu H., Zhang Q., Cai Z., Lic A., Wang Y., Jiang G. 2006 Separation of polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzo-furans in environmental samples using silica gel and florisil fractionation chromatography. *Anal. Chim Acta* 557: 314

Marvin C., D. Williams, K. Kuntz, P. Klawunn, S. Backus, T. Kolic, C. Lucaciu, K. MacPherson, E. Reiner 2007

Temporal trends in polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans, dioxin-like PCBs, and polybrominated diphenyl ethers in Niagara river suspended sediments. *Chemosphere* 67: 1808.

Mayer L. M. 1994

Relationships between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chem. Geol.* 114: 347

Meerts I., van Zanden J., Luijckx E., van Leewen-Bol I., Marsh G. 2000

Potent Competitive Interactions of Some Brominated Flame Retardants and Related Compounds with Human Transthyretin in Vitro. *Toxicol. Sci.* 56: 95

Metcalf, Eddy, Inc 1985

Ingeniería Sanitaria: tratamiento, evacuación y reutilización de aguas residuales. 2da Edición. Barcelona. Editorial Labor, S.A. 969p.

Mitra S. 2003

Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry, Wiley Interscience Inc., USA

Miyazawa, M., Pavan, M.A., de Oliveira, E.L., Ionashiro, M., Silva, A.K. 2000.

Brazilian Archives of Biology and Technology. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 43: 475

Muller K., Muller-Spitz S., Henry H., Vonderrheide A., Soman R., Kinkle B., Shann J. 2006

Fate of Pentabrominated Diphenyl Ethers in Soil: Abiotic Sorption, Plant Uptake, and the Impact of Interspecific Plant Interactions. *Environ. Sci. Technol.* 40: 6662

Nemeth-Konda L., Füleky G., Morovjan Gy., Csokan P. 2002

Sorption behaviour of acetochlor, atrazine, carbendazim, diazinon, imidacloprid and isoproturon on Hungarian agricultural soil. *Chemosphere* 48: 545

Niu J., Shen Z., Yang Z., Long X., Yu G. 2006

Quantitative structure–property relationships on photodegradation of polybrominated diphenyl ethers. *Chemosphere* 64: 658

Öberg K., Warman K., Öberg T. 2002

Distribution and levels of brominated flame retardants in sewage sludge. *Chemosphere* 48: 805

Palladino G., Ferri D., Manfredi C., Vasca E. 2007

Potentiometric determination of the total acidity of humic acids by constant-current coulometry. *Anal. Chim. Acta* 582: 164

Park, S. H., Kim, H. K., Cho, J. 2008, Optimal Central Composite Designs for Fitting Second Order Response Surface Linear Regression Models, Recent Advances in Linear Models and Related Areas, Physica-Verlag Heidelberg

Parsons J.R., The effect of dissolved organic matter on the fate and bioavailability of organic contaminants, Institute for Biodiversity and Ecosystem Dynamics, University of Amsterdam, Nieuwe Achtergracht 166, 1018 WV Amsterdam.

Pawliszyn J. 2003

Sample Preparation: Quo Vadis?. *Anal. Chem.* 75: 2543

Pu X., Cutright T.J. 2006

Sorption-desorption behavior of PCP on soil organic matter and clay minerals. *Chemosphere* 64: 972

Rayne, S., Wan, P., Ikonou, M. 2006 Photochemistry of a major commercial polybrominated diphenyl ether flame retardant congener: 2,2',4,4',5,5'-Hexabromodiphenyl ether (BDE153). *Environ. Int.* 32: 575

Riis V., Babel W. 1999

Removal of sulfur interfering in the analysis of organochlorines by GC-ECD. *Analyst* 124: 1771

Rivero C., Paolini J. 1994

Caracterización de la materia orgánica de tres suelos venezolanos. *Rev. Fac. Agron. (Maracay)* 20:167

Sadzawka A., Carrasco A., Grez R., Mora M. 2006

"Métodos de análisis recomendados para los suelos chilenos", Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Serie Actas INIA N° 34

Sánchez-Prado L., González-Barreiro C., Lores M., Llompert M., García-Jares C., Cela R. 2005

Photochemical studies of a polybrominated diphenyl ethers (PBDES) technical mixture by solid phase microextraction (SPME). *Chemosphere* 60: 922

Salgado-Petinal C., M. Llompert, C García-Jares, M. García-Chao, R. Cela. 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. *J. Chromatogr. A*, 1124: 139

Shen L., Wania F., Lei Y. D., Teixeira C., Muir D. C., Xiao H. 2006

Polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in the North American atmosphere. *Environ. Pol.* 144: 434

Sing K. S. W., Everett D. H. Haul R. A. W., Moscou L., Pierotti R. A., Rouquerol J. Siemieniewska J. 1985

Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure & Appl. Chem.*, 57: 603

Skhonde M.P., Herod A.A., van der Walt, T.J., Tsatsi W.L, Mokoena, K. 2006

The effect of thermal treatment on the compositional structure of humic acids extracted from South African bituminous coal. *Int. J. Miner. Process.* 81: 51

- Skoog D., Holler J., Nieman T. 2001.
Principios de Análisis Instrumental, 5ta edición, McGraw Hill/Interamericana de España
- Song D., Shin W. S. 2005
Three-Parameter Empirical Isotherm Model: It's Application to Sorption onto Organoclays. *Environ. Sci. Tech.* 39: 1138
- Sparks D., 2003
Environmental Soil Chemistry, Second Edition, Academic Press, USA
- Sposito G., 1989
The Chemistry of Soils, Oxford University Press, USA
- Sullivan C., Mitchelmore C. L., Hale R. C., Van Veld P. A. 2007
Induction of CYP1A and DNA damage in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) following exposure to biosolids. *Sci.Total Environ.* 384: 221
- Tan J., S. Cheng, A. Loganath, Y.S. Chong, J.P. Obrad. 2005
Polybrominated diphenyl ethers in house dust in Singapore. *Chemosphere* 66: 985
- Traina S.J., Novaj J., Smeck, N.E.
An Ultraviolet absorbent method of estimating the percent aromatic carbon content humic acids. *J. Environ. Qual.* 19,151-153.
- U.S. Department Of Health And Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2004, Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers
- U.S. EPA, Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) Project Plan, US EPA March 2006
- Vaca Paulín, R., Lugo de la Fuente, J., Esteller Alberich, M. V. 2006
Caracterización de la materia orgánica soluble y de los ácidos húmicos en suelo acondicionado con lodo residual fresco o compostado. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 22: 27
- Valcárcel M., 1999
Principios de Química Analítica, Springer-Verlag S.A.
- Vivas-Reyes R, Arguello E, Ayazo H. (2007)
Estudio teórico de la afinidad de los ácidos húmicos por los cationes Hg^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} y CH_3Hg^+ . *Rev. Real Academia de Ciencias.* Zaragoza. 62: 99
- Wang Y., Zhang Q., Lv J., Li A., Liu H., Li G., Jiang G. 2007
Polybrominated diphenyl ethers and organochlorine pesticides in sewage sludge of wastewater treatment plants in China. *Chemosphere* 68: 1683
- Wang D., Jiang G., Cai Z. 2007
Method development for the analysis of polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and diphenyl ethers in sediment samples. *Talanta* 72: 668

www.pops.int/documents/convtext_sp.pdf Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs), mayo 2004.

Won Choi J., Onodera J., Kitamura K., Hashimoto S., Ito H., Suzukia N., Sakai S., Morita M. 2003

Modified clean-up for PBDD, PBDF and PBDE with an active carbon column—its application to sediments. *Chemosphere* 53: 637

Yusa V., Pardo O., Pastor A., de la Guardia M. 2006

Optimization of a microwave-assisted extraction large-volume injection and gas chromatography–ion trap mass spectrometry procedure for the determination of polybrominated diphenyl ethers, polybrominated biphenyls and polychlorinated naphthalenes in sediments. *Anal. Chim. Acta* 557: 304

Zimmerman A. R., Goyneb K. W., Choroverb J., Komarnenic, S., Brantley S. L. 2004
Mineral mesopore effects on nitrogenous organic matter adsorption. *Organic Geochemistry* 35: 355

ANEXO I. PRESENTACIONES A CONGRESOS

J. Rivas, A. Maricán, M.I. Toral, P. Richter, Extracción de difenil éter polibromados (PBDEs) en muestras modelo de sedimento y biosólido a través de un sistema presurizado en continuo, IV congreso iberoamericano de química analítica, Noviembre 2010, Con-con, Chile

A. Maricán, C. Leiva, J. Rivas, I Ahumada, P. Richter, Estudio de movilidad de nonilfenol y etoxilato de nonilfenol en sistemas suelo-biosólido, IV congreso iberoamericano de química analítica, Noviembre 2010, Con-con, Chile

J. Rivas, A. Maricán, M. I. Toral, P. Richter. Evaluación de la extracción de PBDEs en muestras modelo de sedimento y biosólido a través de un sistema presurizado en continuo. XXVIII Jornadas Chilenas de Química, Noviembre 2009, Chillán, Chile.

A. Maricán, C. Smelt, I. Ahumada, J. Rivas, P. Richter. Extracción cuantitativa y de la fracción disponible de alquilfenoles desde sistemas suelo-biosólido. XXVIII JORNADAS CHILENAS DE QUÍMICA, Noviembre 2009, Chillán, Chile.

M. I. Toral, G. Sánchez, P. Fernández, P. Pizarro, V. Moncada, J. Rivas, P. Richter. SOLID PHASE: In Ferrospectral sorbed on DEAE sephadex A-25 for the iron and cobalt determination by BATCH and FIA, FACSS (Federation of Analytical Chemistry and Spectroscopy Societies), Louisville, Kentucky, USA, Octubre 2009.

M. Retamal, A. Maricán, J. Rivas, P. Richter. Optimización de técnicas de extracción modernas para la determinación de contaminantes orgánicos en matrices ambientales sólidas. 15º Encuentro Nacional de Química Analítica e 3º Congreso Iberoamericano de Química Analítica. Octubre 2009, Brasil.

A. Maricán, J. Rivas, B. Sepúlveda., I. Ahumada, P Richter, Screening Method for Determination of Alkylphenol Ethoxylates and their Metabolites in Biosolids. Optimization of the Extraction Variables, 5th International symposium of interactions of soil mineral organic components and microorganisms, Noviembre 2009, Pucón, Chile.

J. Rivas, A. Maricán, B. Sepúlveda, M. I. Toral, P. Richter, Estudio de adsorción de difenil éter polibromados en muestras modelo de sedimentos y biosólidos. Efecto de la

materia orgánica, IX Encuentro de química analítica y ambiental, Octubre 2008, Concepción, Chile.

J. Rivas, M. I. Toral, P. Richter, Estudio comparativo de la extracción de PAHs y DROs por microondas y Sistema Convencional. Determinación por GC-MS en muestras de suelo, IX Encuentro de química analítica y ambiental, Octubre 2008, Concepción, Chile.

M. Inés Toral, Grisel Sánchez, Priscilla Fernández, Carolina Rivera, Jorge Rivas, Pablo Richter, Fase sólida: ferrospectral sorbido en DEAE-Sephadex A-25 para determinación en batch y FIA de hierro y cobalto, IX Encuentro de química analítica y ambiental, Octubre 2008, Concepción, Chile.

M. Saldías, M. I. Toral, J. Rivas, C. Soto, S. Orellana, Determinación simultánea de acetaminofen y tramadol mediante espectrofotometría derivada digital de segundo orden, XXVII Jornadas chilenas de química, Enero 2007, Concepción, Chile.

R. Segura, M. I. Toral, S. Orellana, J. Rivas y V. Arancibia, Determinación de plomo y cadmio por voltamperometría de adsorción sobre electrodo de película de bismuto, VIII Encuentro de química analítica y ambiental, Octubre 2006, Iquique, Chile.

M. I. Toral, J. Rivas, M. Saldías, S. Orellana, Cesar Soto y Rodrigo Segura, Determinación simultánea de losartan potásico e hidroclorotiazida por espectrofotometría derivada digital de primer orden, VIII Encuentro de química analítica y ambiental, Octubre 2006, Iquique, Chile.

ANEXO II. PUBLICACIONES

Jorge Rivas, M. Inés Toral, Pablo Richter, Continuous pressurized solvent extraction for determination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) from model samples of biosolid and sediment (artículo en preparación)

M. Inés Toral, Grisel Sanchez, Priscilla Fernandez, Patricia Pizarro, Viviana Moncada, Jorge Rivas, Pablo Richter, Solid phase: in ferrospectral sorbed on DEAE sephadex A-25 for the iron and cobalt determination by batch and FIA (Artículo enviado)

Jorge Rivas, M. Inés Toral, Pablo Richter, Sorption of polybrominated diphenyl ethers in model samples of biosolids (Artículo enviado)

Juan S. Gómez-Jeria, Francisco Soto-Morales, Jorge Rivas and Alejandra Sotomayor, *A theoretical structure-affinity relationship study of some cannabinoid derivatives*, Journal of the Chilean Chemical Society 2008 (53) 1393 – 1399

M. Inés Toral, Marta Saldías, César Soto, Sandra Orellana, Jorge Rivas, *Simultaneous determination of acetaminophen and tramadol by second derivative spectrophotometry*, Journal of the Chilean Chemical Society 2008 (53) 1543 – 1547.