



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN QUÍMICA

***“EVALUACIÓN HIDROQUÍMICA Y DESARROLLO DE SISTEMAS
EMBEBIDOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES EN
AGUAS NATURALES DE LA ZONA DEL VALLE INFERIOR DEL RÍO
COLORADO”***

Licenciado en Química Federico Danilo Vallese

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2022

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor en Química, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Química durante el período comprendido entre el 5 septiembre de 2017 y el 26 mayo de 2022, bajo la dirección del Dr. Marcelo Fabián Pistonesi, Profesor Adjunto de Química Analítica en la Universidad Nacional del Sur y la Co-dirección del Dr. Adriano de Araujo Gomes, Profesor del Instituto de Química de la Universidade Federal do Río Grande do Sul.

Licenciado en Química
Federico Danilo Vallese

	<p>UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR Secretaría General de Posgrado y Educación Continua</p>
<p>La presente Tesis ha sido aprobada el 8 / 7 / 2022, mereciendo la calificación de 10 sobresaliente</p>	



EL RÍO TIENE MIEDO AL ENTRAR AL OCÉANO

Dicen que antes de entrar en el mar, el río tiembla de miedo; mira para atrás todo el recorrido, las cumbres y las montañas, el largo y sinuoso camino que atravesó entre selvas y pueblos, y ve frente de sí un océano tan grande, que entrar en el sólo puede significar desaparecer para siempre.

*Pero no existe otra manera,
el río no puede volver,
nadie puede volver,
volver atrás es imposible en la existencia,
no hay otra manera, el río no puede volver.*

El río necesita aceptar su naturaleza y entrar al océano. Solamente entrando en el océano se diluirá el miedo. Porque sólo entonces sabrá el río que no se trata de desaparecer en el océano, sino de convertirse en océano

Khalil Gibran



AGRADECIMIENTOS

Al director de la Tesis Dr. Marcelo F. Pistonesi. Más que un director de trabajo, un segundo padre para mí. Por las enseñanzas compartidas, tanto a nivel académico como para mi crecimiento personal en la vida. Por permitirme formar parte de su hermoso grupo de investigación lleno de personas con gran calidad humana. Sin su cariño, estímulo y dedicación esta tesis doctoral no hubiera sido posible.

A mi codirector de la Tesis Dr. Adriano de Araujo Gomes por las enseñanzas compartidas durante el desarrollo de esta tesis, además de su ayuda y facilidades brindadas a lo largo de mi estadía en Porto Alegre.

A las Dras. María Eugenia Centurión y María Susana Di Nezio por estar siempre presentes y disponibles para darme una mano cuando yo la necesitaba, no solamente en el marco de esta Tesis sino también en la vida cotidiana, convirtiéndose en unas madres académicas para mí.

A las personas que trabajan conmigo día a día en el laboratorio. Aquellos que iniciaron siendo compañeros y se transformaron en amigos y una familia, que hacen que ir a trabajar cada día sea lo más hermoso porque ellos van a estar ahí: Mariano Trillini, Juan Arrué, Yael Robein, Federico Belén y Julián Gutiérrez. A mis compañeras de trabajo y grandes amigas Yanina Aguilera, Belén Pistonesi y Yasmín Safe, que siempre me alentaron a seguir adelante en mis momentos de flaqueza y en todo momento estuvieron presentes para ayudarme cuando yo más lo necesité.

A aquellos compañeros de laboratorio con los cuales tuve el placer de compartir algunos momentos de esta tesis: Sofía Stupniki, Gabriel Eggly, Caio V. de Lima, Lorena Cardozo, Cecilia Uremovich, Gabriela Krepper, Soledad García Paoloni, Juan Mochen, Fernanda Bock, Mateus Schneider, Filip Vasic.

A Valeria Springer, Luciana Dunel, Jorge Pierini, Pichi Haag, Braian Maurer, quienes colaboraron de diferente manera ante mis demandas durante todo este tiempo.

A todos los docentes del Área de Química Analítica que, de alguna manera u otra, han colaborado en mi trabajo y formación.

A la Universidad Nacional del Sur y a CONICET por la beca otorgada.

A mis otros amigos de la vida: Maty, Lukitas, Fermín, Ari, Mai, Cachi, Cyn, Dami, Seba, Maxi, Leo, Martín, Sergio, que siempre están presentes.

Y finalmente en especial manera a mi familia, mi mamá Analía, mi papá Rafael y mi hermana Harmonie, que siempre me apoyaron y aconsejaron para que yo pueda cumplir esta meta tan importante.

RESUMEN

La contaminación ambiental es una problemática a nivel mundial, particularmente la contaminación del agua que provoca el deterioro del ecosistema acuático. El estudio de los recursos hídricos es uno de los temas más relevantes dentro de la agenda ambiental de todos los países. La perturbación en el ciclo hidrológico y la contaminación incontrolada de los cuerpos de agua superficiales, provoca la atención de diversos organismos nacionales e internacionales para que destinen gran parte de su presupuesto al estudio de los recursos hídricos. Argentina no es ajena a esta problemática mundial y en su territorio existen cuencas hidrográficas con graves problemas de contaminación y escasez hídrica. La cuenca del río Colorado es la primera y única interprovincial de la Argentina que cuenta con un acuerdo de distribución de caudales, altamente significativo. El río Colorado atraviesa cinco provincias, siendo la zona de la cuenca inferior la correspondiente a la provincia de Buenos Aires. Debido a la naturaleza árida de los territorios que recorre, representa un recurso muy valioso para el desarrollo económico y social de la región, sirviendo en muchas ocasiones como única fuente de agua disponible para consumo humano, aseo, riego e industrias.

Por ello, este trabajo de Tesis Doctoral está orientado al estudio de las características hidroquímicas y al desarrollo de sistemas embebidos para la determinación de contaminantes, en aguas naturales de la zona del Valle Inferior del río Colorado. La presente Tesis es un trabajo que se encuadra dentro de un Convenio Marco de carácter interdisciplinario (UNS, INTA, CIC-Buenos Aires y CORFO), enfocado a promover el desarrollo de la investigación y llevar a cabo estudios tendientes a mejorar la eficiencia del aprovechamiento del agua y preservación del recurso hídrico en el Valle Bonaerense del río Colorado. En tal sentido, los trabajos se desarrollan teniendo en cuenta los lineamientos de dicho Convenio:

- ✓ Caracterización y evaluación hidroquímica en la zona del Valle Bonaerense del río Colorado, con la finalidad de realizar una evaluación estadística hidrológica temporal que permita establecer las características actuales del sistema.

- ✓ Desarrollo de nuevas metodologías analíticas basadas en adquisición de datos de segundo orden provenientes del empleo de imágenes digitales, para la determinación de arsénico en muestras de aguas del Valle Bonaerense del río Colorado.
- ✓ Estudio de bioacumulación de cadmio y plomo en peces *Cyprinus carpio*, especie predominante en la región, que actúan como bioindicadores de contaminación. Las determinaciones de estos metales se realizan empleando un sistema automático Flow-batch y voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada con un electrodo de film de bismuto como técnica de detección.

ABSTRACT

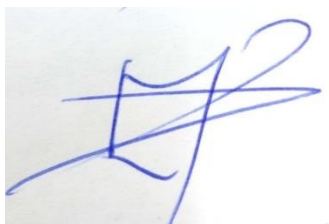
Environmental pollution is a worldwide problem, particularly water pollution causes deterioration of the aquatic ecosystem. The study of water resources is one of the most relevant topics in the environmental management of all countries. Disturbance of the hydrological cycle and the uncontrolled pollution of surface water bodies have attracted the attention of various national and international organizations, allocating a large part of their budget to the study of water resources. Argentina is not detached from this global concern, due to there are hydrographic basins with serious problems of pollution and water scarcity along the whole territory. The Colorado river basin is the first and only interprovincial basin in Argentina with a very significant flow distribution agreement. The Colorado river crosses five provinces, with the lower basin area located in the province of Buenos Aires. Due to the arid nature of the territories, it represents a very valuable resource for the economic and social development of the region, serving in many occasions as the only source of water available for human consumption, cleaning, irrigation and industry.

Therefore, the aim of this PhD Thesis is focused on the study of the hydrochemical characteristics and the development of embedded systems for the determination of pollutants in natural waters of the lower Colorado river valley. This Thesis is a work that belongs to an interdisciplinary framework agreement (UNS, INTA, CIC-Buenos Aires and CORFO), focused on promoting the development of research and studies to improve the efficiency of water use and preservation of water resources in the Bonaerense Valley of the Colorado river. In this sense, the works are developed taking into account the guidelines of agreement:

- ✓ Characterization and hydrochemical evaluation in the area of the Bonaerense Valley of the Colorado River, with the purpose of carrying out a temporary hydrologic statistical evaluation to establish the current characteristics of the system.
- ✓ Development of new analytical methods based on second-order data processing obtained with a computer vision based analytical device for the determination of arsenic in water samples from the Bonaerense Valley of the Colorado River.

- ✓ Study of the bioaccumulation of lead and cadmium in *Cyprinus carpio* fish, a predominant specie in the region, which act as bioindicator of contamination. The determinations of these metals are carried out using an automatic Flow-batch system and Square Wave Anodic Stripping Voltammetry with a bismuth film electrode as detection technique.

Certifico que fueron incorporados los cambios y correcciones sugeridas por el Jurado.



Director
Marcelo Fabián Pistonesi



Prof. Dr. Adriano de Araújo Gomes
Instituto de Química-IQ
UFRGS

Codirector
Adriano de Araujo Gomes

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
Cuenca del río Colorado. Características.....	2
<i>Aspectos hidrológicos</i>	3
<i>Clima y registros de precipitaciones en la cuenca</i>	4
<i>Actividad económica en la zona</i>	5
<i>Empleo del agua en la zona del río Colorado</i>	6
<i>Fuentes de contaminación del agua</i>	7
Microrregiones en el río Colorado.....	8
<i>Dique Casa de Piedra</i>	9
<i>Valle Bonaerense del río Colorado</i>	10
Bibliografía.....	13
CAPÍTULO 1	
Valle Bonaerense del río Colorado. Estudio hidroquímico en estación Paso Alsina.....	15
1.1 Introducción.....	16
1.1.1 <i>Aspectos generales</i>	16
1.1.2 <i>Índice de calidad de agua para riego</i>	16
1.1.3 <i>Materia orgánica disuelta en aguas naturales</i>	17
1.1.4 <i>Cálculo de índices</i>	18
1.2 Objetivos.....	20
1.2.1 <i>Objetivo general</i>	20
1.2.2 <i>Objetivo específico</i>	20
1.3 Materiales y métodos.....	21
1.3.1 <i>Área de estudio</i>	21
1.3.2 <i>Toma de muestras</i>	21
1.3.3 <i>Análisis fisicoquímicos</i>	22
1.3.4 <i>Cálculo y desarrollo del IWQI</i>	23
1.3.5 <i>Tratamiento y conservación de muestras para MOD</i>	26
1.3.6 <i>Determinación de los índices relacionados con la materia orgánica disuelta fluorescente (MODF)</i>	26
1.4 Resultados y discusión.....	27
1.4.1 <i>Relación entre caudal, conductividad eléctrica y precipitaciones</i>	27
1.4.2 <i>Estudio hidrosalino</i>	28
1.4.2.1 <i>Composición de aniones y cationes</i>	28
1.4.2.2 <i>Diagramas de Schoeller-Barkalof y Piper</i>	30
1.4.2.3 <i>Clasificación según sólidos disueltos totales</i>	32

1.4.2.4 Relación entre conductividad eléctrica y RAS.....	32
1.4.3 IWQI índice de calidad de agua para riego	33
1.4.4 Influencia sobre los principales cultivos del VBRC	34
1.4.5 Estudio de los índices de MODF.....	35
1.5 Conclusiones	39
1.6 Bibliografía	40

CAPÍTULO 2

Cuantificación de arsénico en aguas naturales. Generación de datos de segundo orden basados en CVAC	44
2.1 Introducción	45
2.1.1 El arsénico	45
2.1.2 Métodos espectrofotométricos para la determinación de arsénico	47
2.1.3 Dispositivos microfluídicos basados en gotas.....	48
2.1.4 Imágenes digitales.....	48
2.1.5 Órdenes de los datos obtenidos.....	49
2.1.6 Datos provenientes de imágenes digitales.....	50
2.1.7 MCR-ALS.....	51
2.1.8 CVAC y datos de segundo orden.....	52
2.2 Objetivos	53
2.2.1 Objetivos generales.....	53
2.2.2 Objetivos específicos	53
2.3 Materiales y métodos	54
2.3.1 Reactivos y soluciones	54
2.3.2 Muestras utilizadas.....	54
2.3.3 Parte experimental.....	55
2.3.4 Sistema Flow-batch.....	56
2.3.5 Adquisición de imágenes digitales y procedimientos quimiométricos	58
2.3.6 Procedimiento Flow-batch método cinético-color.....	59
2.3.7 Procedimiento Flow-batch método de gradientes.....	59
2.4 Resultados y discusión método cinético-color	61
2.4.1 Optimización de variables	61
2.4.1.1 Tamaño de la gota y ubicación del capilar.....	61
2.4.1.2 Efecto del pH.....	61
2.4.1.3 Concentración y caudal de borohidruro de sodio.....	61
2.4.1.4 Concentración de la solución de AgDDTC.....	62
2.4.1.5 LEDs.....	62
2.4.1.6 Captura de los fotogramas (video)	63

2.4.2	Procesamiento de datos de imágenes.....	63
2.4.3	Datos de segundo orden y modelo MCR-ALS.....	63
2.4.3.1	Análisis del conjunto de datos.....	63
2.4.3.2	Conjunto de calibración.....	64
2.4.3.3	Cuantificación de arsénico en aguas naturales.....	65
2.4.4	Comparación con otros métodos.....	68
2.5	Resultados y discusión método de gradientes.....	70
2.5.1	Optimización del método de gradiente de concentración.....	70
2.5.2	Procesamiento de datos de imágenes.....	71
2.5.3	Análisis de difusión molecular.....	72
2.5.4	Datos de segundo orden y modelo MCR-ALS.....	77
2.5.4.1	Análisis del conjunto de datos. Obtención del gradiente de concentración óptimo.....	77
2.5.4.2	Conjunto de calibración.....	78
2.5.4.3	Cuantificación de arsénico en aguas naturales.....	80
2.6	Comparación de resultados entre ambos métodos.....	82
2.7	Conclusiones parciales.....	84
2.8	Bibliografía.....	86
CAPÍTULO 3		
Bioacumulación de cadmio y plomo en <i>Cyprinus carpio</i> procedentes de la cuenca inferior del río Colorado.....		
3.1	Introducción.....	94
3.2	Objetivos.....	97
3.2.1	Objetivos generales.....	97
3.2	Objetivos específicos.....	97
3.3	Materiales y métodos.....	98
3.3.1	Reactivos y soluciones.....	98
3.3.2	Estudio de bioacumulación de Cadmio y Plomo en <i>Cyprinus carpio</i>	98
3.3.3	Cuantificación de Cadmio y Plomo.....	100
3.3.3.1	Sistema Flow-batch con detección voltamperométrica.....	100
3.3.3.2	Procedimiento para la cuantificación de Cadmio y Plomo.....	101
3.4	Resultados y discusión.....	103
3.4.1	Determinación de cadmio y plomo. Parámetros analíticos.....	103
3.4.2	Estudio de bioacumulación.....	103
3.5	Conclusiones parciales.....	107
3.6	Bibliografía.....	108
Conclusiones Generales.....		113

Abreviaturas

Abreviaturas	Significado
ALS	Cuadrados mínimos alternantes (sigla en inglés)
AgDDTC	Dietilditiocarbamato de plata
As(DDTC)₃	Trisdietilditiocarbamato de arsénico
ANAL SEN	Sensibilidad analítica
CVAC	Método analítico basado en visión por computadora (sigla en inglés)
DMC	Cámara de microscopio digital
EJCR	Región elíptica de confianza conjunta (sigla en inglés)
FA	Análisis Factorial
FAO	Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
IWQI	Índice de calidad de agua para riego (sigla en inglés)
LOD	Límite de detección (sigla en inglés)
LOQ	Límite de cuantificación (sigla en inglés)
MCR	Resolución multivariada de curvas (sigla en inglés)
PARAFAC	Análisis paralelo de factores (sigla en inglés)
PCA	Análisis de componentes principales (sigla en inglés)
REP	Error relativo de la predicción (sigla en inglés)
RMSEP	Error cuadrático medio de la predicción (sigla en inglés)
ROI	Región de interés (sigla en inglés)
SD	Desvío estándar (sigla en inglés)
SEL	Selectividad
SEN	Sensibilidad
SEN_{MCR}	Sensibilidad MCR
SWASV	Voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada (sigla en inglés)
VBRC	Valle Bonaerense del río Colorado

INTRODUCCIÓN GENERAL



LICENCIADO EN QUÍMICA FEDERICO DANILO VALLESE

Universidad Nacional del Sur

Cuenca del río Colorado. Características

El río Colorado se origina en la Cordillera de los Andes a partir de la confluencia de los ríos cordilleranos Grande (Mendoza) y Barrancas (Mendoza y Neuquén) a 835 msnm y desemboca en el Océano Atlántico con dirección NO – SE (Figura 1). Su caudal promedio anual es de $142,5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ para el período 1941 – 2019 [1]. La cuenca cubre un área de 48000 km², y se extiende sobre las provincias de Mendoza, Neuquén, La Pampa, Río Negro y Buenos Aires, convirtiéndola en una cuenca hídrica interprovincial, extendiéndose unos 1200 km, de los cuales 920 km corresponden al río Colorado propiamente dicho. La región del río Colorado comprende aproximadamente 17 millones de hectáreas, abarca los departamentos de Malargüe en la provincia de Mendoza; Chos Malal y Pehuenches en la provincia de Neuquén; Caleu Caleu, Curacó, Lihuel Calel y Puelén en la provincia de La Pampa; Avellaneda, General Roca y Pichi Mahuida en la provincia de Río Negro y Patagones y Villarino en la Provincia de Buenos Aires [2].

La cuenca del río Colorado es la primera cuenca interprovincial de la Argentina que cuenta con un Programa Único de Habilitación de Áreas de Riego y Distribución de Caudales [3].



Figura 1: Cuenca del río Colorado. Área comprendida desde su nacimiento, en la cordillera de Los Andes, hasta su desembocadura, en el Océano Atlántico. Fuente: Alcalde 2019.

Aspectos hidrológicos

El régimen hídrico del río Colorado se caracteriza como fuertemente estacional, producto de que la alimentación preponderante corresponde a la fusión nival originada en la cuenca activa o cuenca alta (subcuencas de los ríos Grande y Barrancas), con crecidas que inician en los meses de octubre o noviembre, y se extienden hasta enero o febrero, dependiendo de la acumulación de nieve y las condiciones climáticas [3]. Finalizada la etapa de fusión nival, el mantenimiento del caudal de los arroyos y ríos de la cabecera de la cuenca corresponde al aporte de numerosas vertientes hidrográficas. Los ciclos hidrológicos en el río Colorado se definen desde el 1° de julio al 30 de junio del año siguiente. Inmediatamente aguas abajo de la confluencia de los ríos Grande y Barrancas, se dispone, desde el año 1940, de una estación de medición hidrométrica llamada Buta Ranquil. De acuerdo con la información hidrológica disponible, para el período 1941–2019, el derrame medio anual es de 4495 hm³, como se mencionó anteriormente, equivalente a un caudal módulo de 142,5 m³ s⁻¹. El derrame hidrológico histórico máximo anual fue de 9151 hm³ para el ciclo 1982–1983, mientras que el mínimo registrado corresponde al ciclo hidrológico 1968–1969 con 1658 hm³ [3]. Si bien, el río Colorado tiene un comportamiento claramente nival, presenta crecidas pluviales, generalmente entre los meses de febrero y agosto. Estas crecidas pueden alcanzar caudales instantáneos importantes (superando los 500 m³ s⁻¹), sin embargo, debido a su corta duración, el derrame asociado no es significativo [4].

En la estación Buta Ranquil, se han registrado crecidas máximas con valores superiores a los 1000 m³ s⁻¹, tanto de origen nival (diciembre 1982), como pluviales (mayo 2008). Como podemos apreciar en la Figura 2, desde junio 2010 la cuenca presenta un período de escasez hídrica. Los caudales máximos se producen generalmente en el mes de enero, en correspondencia a la finalización del proceso de fusión nival.

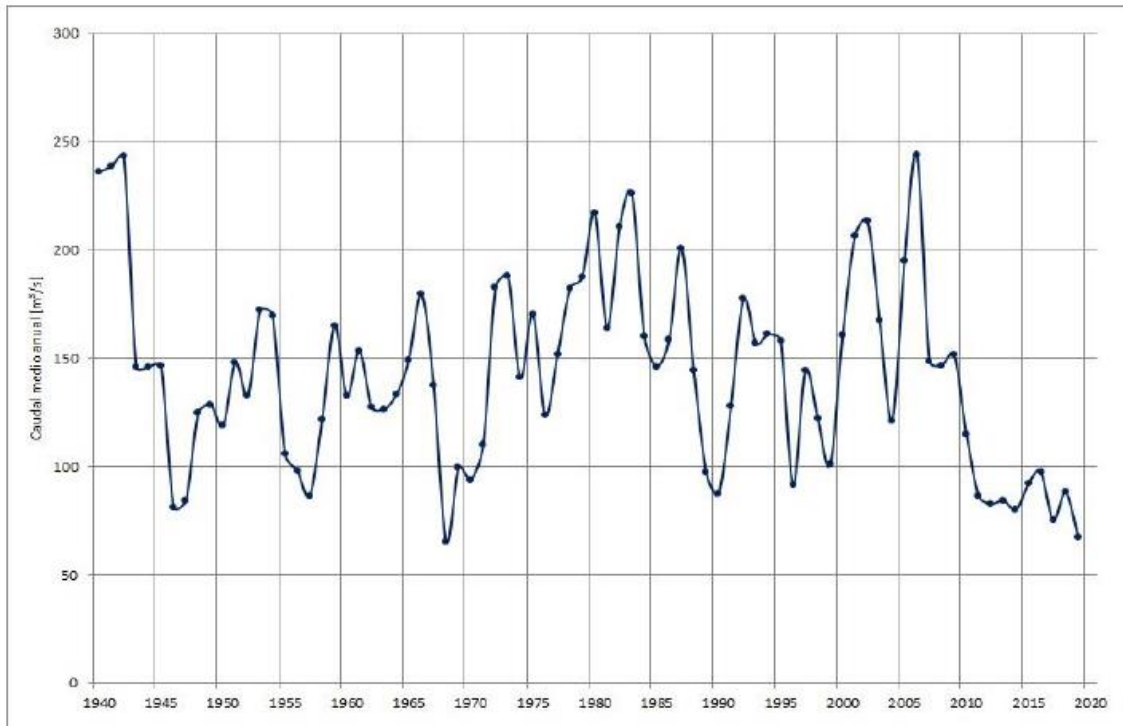


Figura 2: Caudal medio anual para la serie 1940–2019 del río Colorado obtenido en la estación Buta Ranquil a pocos kilómetros de su nacimiento. Fuente: Alcalde 2019.

Clima y registros de precipitaciones en la cuenca

El clima de la región es templado-frío, semidesértico, aunque con un marcado efecto de precipitación orográfica en su extremo occidental. Esto genera un fuerte gradiente de precipitación en la zona de alta montaña que alcanza los 1100 mm en las altas cumbres para descender hasta 200 mm en la zona de Buta Ranquil. A partir de esa zona, la precipitación vuelve a aumentar muy lentamente hasta alcanzar los 400 mm por año en la región de Pedro Luro, provincia de Buenos Aires. La zona del río Colorado presenta cuatro ecorregiones: altos andes, estepa patagónica, monte de llanuras y mesetas y espinal (Figura 3). En la ecorregión de los altos andes, el clima es el de alta montaña, lo que le aporta la nieve y el consecuente caudal a la cuenca. En su tramo medio y bajo, el clima va variando de árido a ústico, generando una gran variabilidad climática a lo largo de todo su trayecto [2].

El río Colorado corresponde a un curso cuyo régimen es nívico-pluvial, recibiendo sus mayores aportes con el deshielo de la nieve en la alta cuenca, aunque las lluvias pueden producir crecidas puntuales de corta duración, y volúmenes que

no son significativos [4]. Los eventos de precipitaciones representan una oportunidad de aporte adicional de humedad a los suelos de las áreas bajo riego, así como una posible influencia temporaria en el incremento de la salinidad del río.

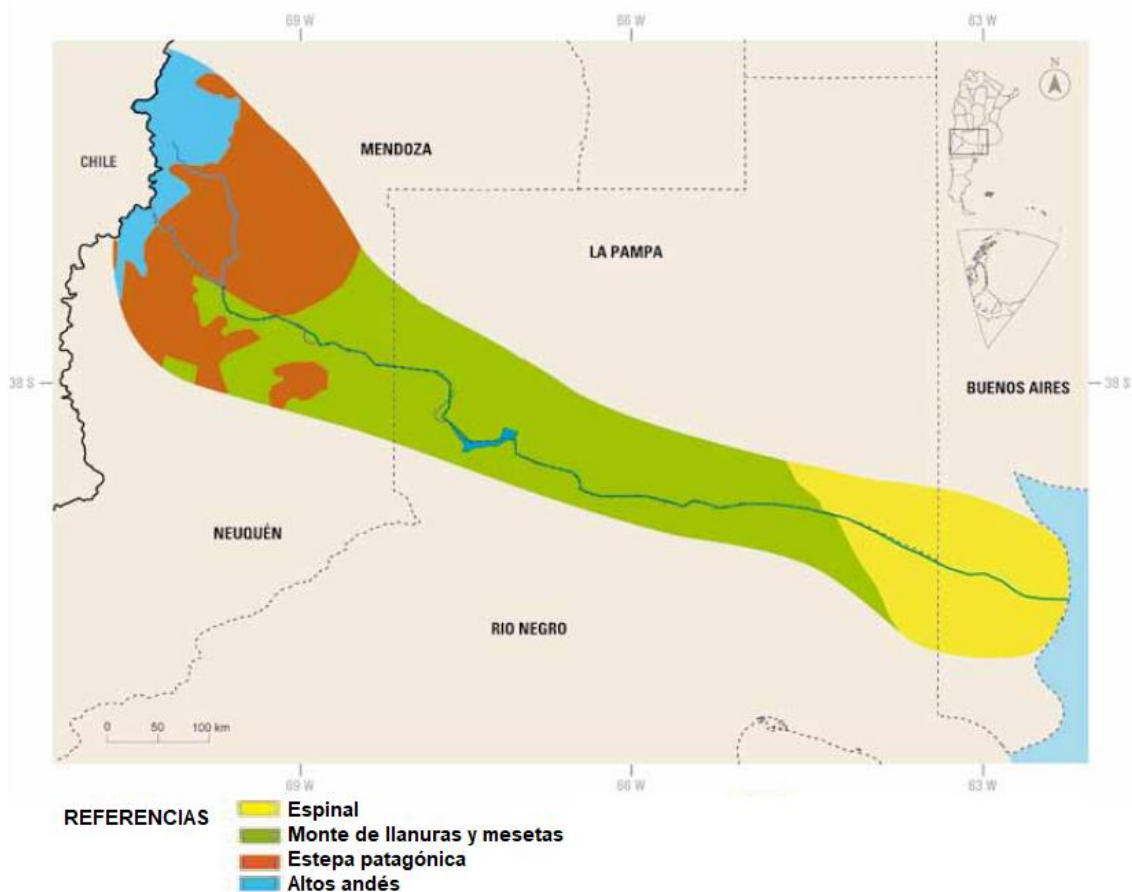


Figura 3: Las 4 ecorregiones presentes a lo largo del río Colorado. Fuente: Sili 2015.

Actividad económica en la zona

La actividad económica en la región del río Colorado se sostiene en la explotación de recursos naturales tanto renovables como no renovables. Las condiciones geológicas y agroecológicas son los ejes vectores que determinan la distribución geográfica de las actividades productivas que condicionan la economía de la región y la cuenca. En este sentido, la región se distribuye productivamente de la siguiente manera: en el oeste, explotación de minas y canteras (centrada en la actividad hidrocarburífera); en el centro, zona de transición ganadera y frutícola y, en el este, agricultura (Figura 4). No obstante, las dinámicas de aprovechamiento del agua están cambiando esta lógica de

valorización de los recursos, avanzando las actividades agrícolas hacia el centro de la cuenca, pero bajo otro modelo productivo [2].

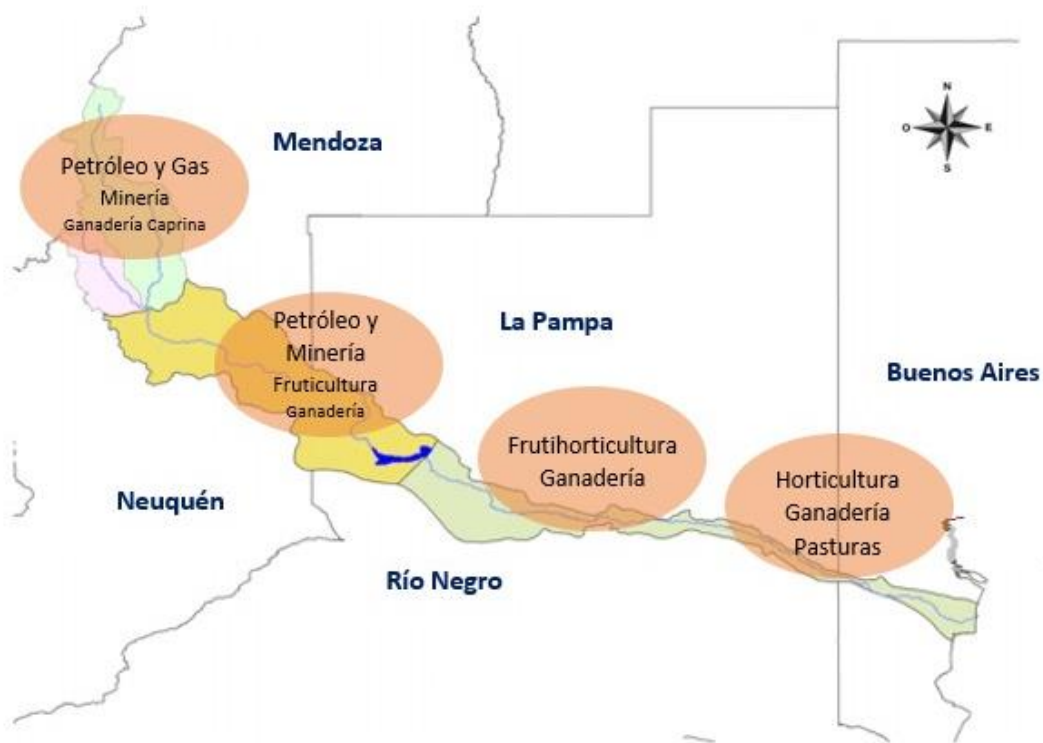


Figura 4: Actividades económicas predominantes en la región del río Colorado. Fuente: Sili 2015.

Empleo del agua en la zona del río Colorado

Las aguas del río Colorado son utilizadas principalmente en irrigación de cultivos, abastecimiento de agua potable de poblaciones aledañas, bebida del ganado y para fines industriales. El Acuerdo Interprovincial del río Colorado [5], fija los cupos de agua a utilizar por cada provincia y las prioridades de uso del recurso hídrico, siendo:

- 1) Abastecimiento humano
- 2) Riego y ganadería
- 3) Industrial – petrolero
- 4) Generación hidroeléctrica
- 5) Actividades recreativas

En la Tabla 1 se indica el consumo de agua de la cuenca del río Colorado para actividades urbanas, agrícola ganaderas y petroleras en cada una de las provincias, según el acuerdo firmado por las provincias ribereñas [6].

Tabla 1 Usos del agua en la cuenca del río Colorado, expresado en hectómetros cúbicos anuales, para el período 2014 – 2015.

Jurisdicción	Urbano hm³	Agrícola Ganadero hm³	Petrolero hm³
Buenos Aires	2,5	1083	0
La Pampa	12,5	240	1,8
Mendoza	1,2	1	5,8
Neuquén	3,2	60	4,3
Río Negro	4,9	355	1,5
TOTAL	24,3	1739	13,4

Fuente: Alcalde 2014.

Atendiendo a las condiciones hidrológicas de la cuenca de reserva del embalse y la escasez hídrica, en el año 2019 el Comité Ejecutivo de COIRCO (Comité Interjurisdiccional del río Colorado), en función de los términos del Acuerdo Interprovincial del río Colorado, tomó la decisión de implementar un período de veda de riego simultáneo común en todas las áreas irrigadas aguas abajo del Dique Casa de Piedra. Durante dicho lapso se estableció un caudal mínimo extraordinario de $15 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ y se suspendió la generación de energía en la Central Hidroeléctrica Casa de Piedra con el objetivo de mejorar la reserva del embalse [4].

Fuentes de contaminación del agua

La variedad litológica de la alta cuenca, ubicada en la cordillera, representa una fuente natural de compuestos, los cuales potencialmente pueden alterar la calidad del agua para los diferentes usos. Las nacientes de los arroyos y de los ríos en sus primeros tramos están ubicadas en un área de intenso volcanismo en el pasado conjuntamente con episodios ocurridos en épocas recientes, proporcionando rocas y materiales de estos orígenes, las cuales contienen

metales pesados en su composición (Figura 5) [7,8,9]. A través de fenómenos de meteorización tiene lugar la movilización de dichos compuestos, posibilitando su ingreso en el ambiente acuático. Las fuentes de contaminantes vinculadas a las actividades productivas están constituidas por la explotación petrolera y la agrícola ganadera, a las cuales se agregan los asentamientos poblacionales ribereños. Dichas fuentes son generadoras potenciales de sustancias tóxicas tales como hidrocarburos, metales y agroquímicos [6].



Figura 5: Volcanismo en la cuenca alta del río Colorado. Fuente: Alcalde 2019.

Microrregiones en el río Colorado

En términos de *organización territorial* cabe identificar dentro de la región diversas subunidades espaciales denominadas microrregiones. Cada una de ellas tiene su propia dinámica y lógica de desarrollo, muchas veces desarticuladas con respecto a las microrregiones vecinas, que ponen claramente de manifiesto una fuerte diferenciación territorial [2]. En la Figura 6 podemos apreciar las siguientes microrregiones:

- A) Cuenca alta o Borde Andino
- B) 25 de mayo, Catriel y Casa de Piedra
- C) Río Colorado
- D) Valle Bonaerense del río Colorado

En esta Tesis se describe brevemente la importancia del Dique Casa de Piedra ubicado en la microrregión B que abastece de agua al VBRC que ofrece un amplio campo de estudios interdisciplinarios. Principalmente el trabajo de Tesis detecta, determina y cuantifica los cambios hidroquímicos que el VBRC ha sufrido en los últimos años.

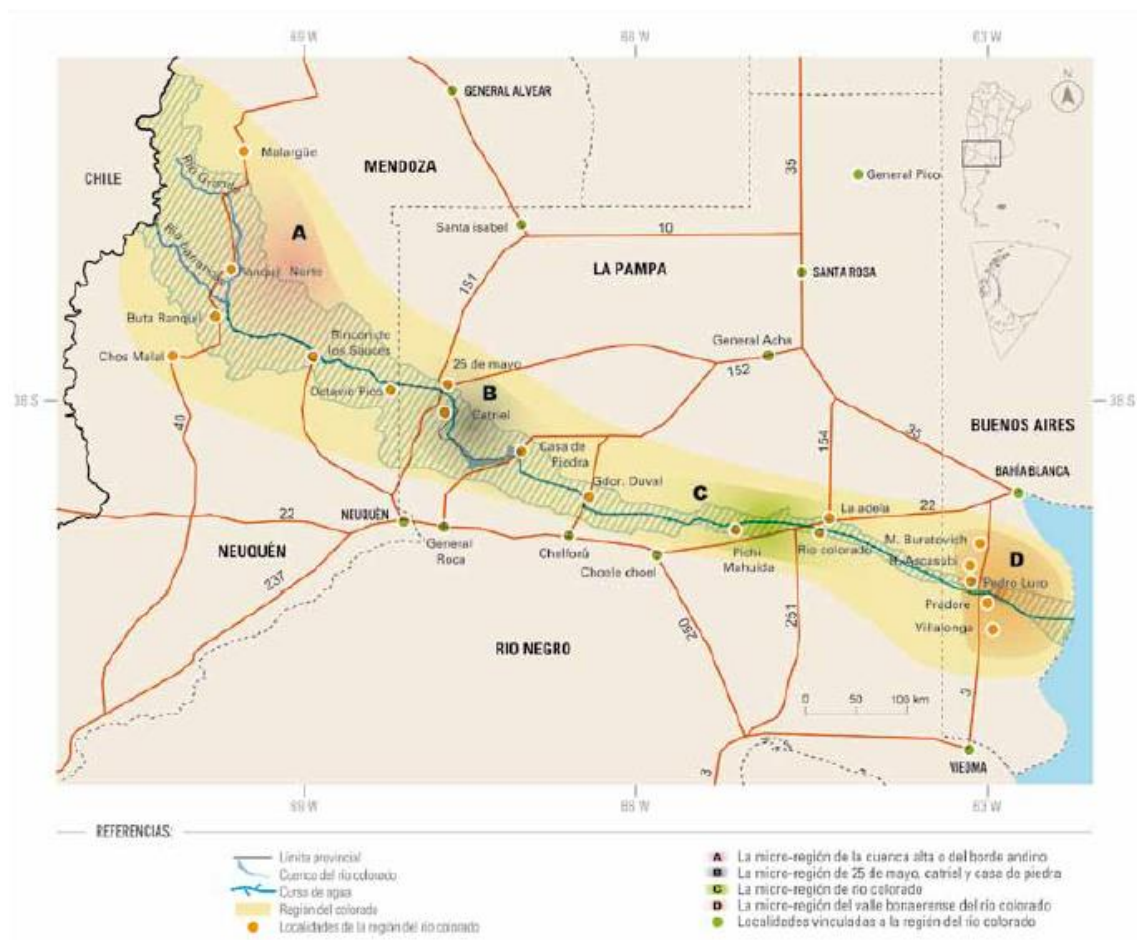


Figura 6: Microrregiones en la región del río Colorado. Fuente: Sili 2015.

Dique Casa de Piedra

El Dique Casa de Piedra fue construido en 1996 con el propósito de la regulación de caudales para satisfacer las necesidades de riego de un área de gran desarrollo agrícola, proporcionar agua a poblaciones, atenuar las crecidas en el curso inferior del río Colorado y generar energía hidroeléctrica a través de dos

grupos generadores de 30 MW (capacidad de generación media anual de 240 GWh). Esta obra estuvo enmarcada en el “Programa Único de Aprovechamiento del Río Colorado”, de las provincias condóminas (Buenos Aires, La Pampa y Río Negro), las cuales constituyeron el Ente Ejecutivo Dique Casa de Piedra. Este Dique está ubicado en la provincia de La Pampa, a 367 km del nacimiento del río posee un embalse que divide la cuenca en un tramo no regulado (cuencas de los ríos Grande, Barrancas y la cuenca alta del río Colorado) y un tramo regulado aguas abajo del embalse (cuenca media/baja del río Colorado) [6]. El espejo de agua tiene unos 55 km de perímetro de costa, y se extiende sobre 36000 ha (a cota máxima normal). El volumen de agua en el embalse a nivel máximo normal es de 3500 hm³, mientras que el volumen a nivel mínimo extraordinario es de 500 hm³, por lo que el volumen útil es de 3000 hm³, con profundidades máximas que varían entre los 35 y 40 metros [2]. La existencia del Dique Casa de Piedra permitió minimizar los impactos generados por las recientes crisis hídricas.

Valle Bonaerense del río Colorado

El VBRC se ubica al sur de la provincia de Buenos Aires y se ha desarrollado como una importante zona de riego para la producción agropecuaria y presenta un mayor desarrollo respecto al centro oeste de la región. Se extiende desde el Meridiano V, límite oeste de la Provincia de Buenos Aires, hasta el litoral marítimo del Océano Atlántico al este. Comprende las ciudades de Pedro Luro, Hilario Ascasubi, Villalonga y Mayor Buratovich, sobre las márgenes izquierda y derecha, respectivamente, del río Colorado, abarcando una superficie de 535000 ha, de las cuales 137145 ha se utilizan con riego (Figura 7) [10,11].

La región presenta un régimen semiárido templado, con precipitaciones que apenas superan los 500 mm anuales. Estas se caracterizan por su irregularidad, tanto en los milimetrajes acumulados anualmente como en su distribución. Sus suelos son predominantemente arenosos, lo cual permite el adecuado crecimiento de una amplia variedad de cultivos entre los que se incluyen pasturas, cereales y hortícolas. La producción agrícola tiene un alto impacto económico sobre la región de VBRC, siendo la cebolla (*Allium cepa*), la alfalfa (*Medicago sativa*) y el maíz (*Zea mays*) los cultivos principales. El cultivo de cebolla es el que mayor aporte económico tiene sobre la región y representa el 80% de las exportaciones del producto en el país. La zona ha experimentado un

fuerte crecimiento poblacional debido a la permanente migración asociada a la producción de este producto [2].

La gran mayoría de los cultivos del VBRC requieren de aportes de agua de riego para completar su ciclo, que se realiza principalmente por gravedad. A mediados de 1982 se construye e instala en el ingreso al VBRC, una estación denominada Paso Alsina, por la corporación de regantes del valle inferior del río Colorado. Los objetivos de su construcción fueron: (1) regular los caudales de la cuenca baja, ajustados a las demandas del sistema de riego, sin pérdidas de agua al mar; (2) mejorar el desempeño del Dique Casa de Piedra en las variaciones de las erogaciones de agua; (3) limitar el agua que se desaprovecha y derrama al mar, ya sea por el río o por el sistema de drenaje. La localización de la estación, relativamente cercana a la desembocadura en el mar, permite obtener un diagnóstico hidrológico final del río en función del camino recorrido a lo largo de toda su cuenca [12].

En el VBRC el sistema de concesión de agua de riego es administrado por la Corporación de Fomento del Valle Bonaerense del río Colorado (CORFO). Sus aguas, a partir de la estación Paso Alsina, son derivadas al área de riego de CORFO por un sistema de tres tomas ubicadas a ambos márgenes del río, que abastece cinco canales de riego principales. A partir de las tomas se suministra el agua para las zonas de siembra de las localidades pertenecientes a los partidos de Villarino (305344 ha) y Patagones (211297 ha). El suministro se realiza por medio de canales primarios y secundarios, recorriendo el total de las hectáreas comprendidas a lo largo de ambos partidos, atravesando la provincia hasta llegar al Océano Atlántico.

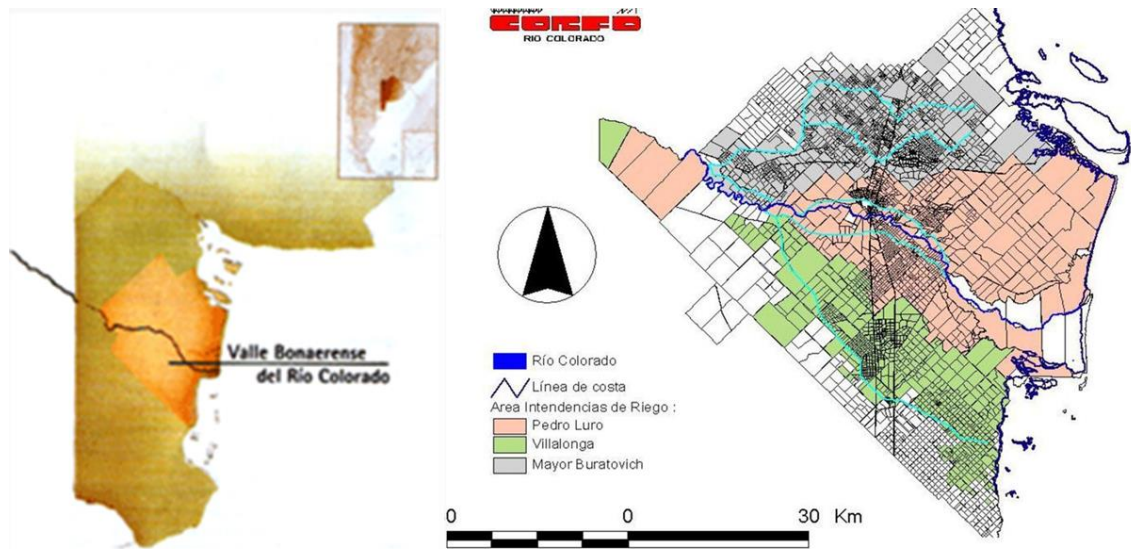


Figura 7: Valle Bonaerense del río Colorado. Ubicación geográfica. Fuente CORFO río Colorado.

Teniendo en cuenta la importancia de promover el desarrollo de la investigación y realización de estudios tendientes a mejorar la eficiencia del aprovechamiento del agua de riego y preservación del recurso hídrico del VBRC, se estableció un convenio de colaboración y asistencia. Es por ello que desde agosto del año 2015 el grupo de investigación de química ambiental de la *Universidad Nacional del Sur* (UNS) conjuntamente con el *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria de la Nación* (INTA Hilario Ascasubi), la *Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires* (CIC) y la *Corporación de Fomento del Valle Bonaerense del Río Colorado* (CORFO) conformaron un convenio Marco.

Bibliografía

- [1] Secretaría de Infraestructura y Política Hídrica de la Nación. <https://www.argentina.gob.ar/obras-publicas/infraestructura-y-politica-hidrica>.
Último acceso: 21/05/2022
- [2] Sili M., Kozel, A., Bustos Cara, R., 2015. La región del Colorado. Historia, cultura y paisaje en la frontera. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 216p.
- [3] Alcalde R., 2018. Programa Integral De Calidad De Aguas Del río Colorado. Subprograma calidad del medio acuático. Comité Interjurisdiccional del río Colorado. Secretaría de Gobierno de Energía de la Nación. Grupo Interempresario. Informe final año 2018.
- [4] Alcalde R., 2019. Programa Integral De Calidad De Aguas Del río Colorado. Subprograma calidad del medio acuático. Comité Interjurisdiccional del río Colorado. Secretaría de Gobierno de Energía de la Nación. Grupo Interempresario. Informe final año 2019.
- [5] Comité Interjurisdiccional del río Colorado <https://www.coirco.gov.ar/>. Último acceso: 21/05/2022
- [6] Alcalde R., 2014. Programa Integral De Calidad De Aguas Del río Colorado. Subprograma calidad del medio acuático. Comité Interjurisdiccional del río Colorado. Secretaría de Gobierno de Energía de la Nación. Grupo Interempresario. Informe final año 2014.
- [7] Sruoga, P., 2002. El volcanismo reciente y riesgo asociado en la provincia de Mendoza. En Trombotto, D. y Villalba, R. (eds) IANIGLA, 30 años de investigación básica y aplicada en Ciencias Ambientales, Mendoza. 255-260.
- [8] Llambías, E. J., 2008, El distrito volcánico de la Payunia: un paisaje lunar en nuestro planeta. Sitios de Interés Geológico de la República Argentina. Buenos Aires, 264- 280.
- [9] Scotti, A. y Torres, D.N., 2012. Caracterización de cenizas del volcán Peteroa, En José Ruzzante y M. Isabel López Pumarega (eds.) Cuadernos ICES 5, 1ed., Comisión Nacional de Energía Atómica, Buenos Aires, 70p.
- [10] Cantamutto, M., 2010. Balance hidrosalino 2006-2009 Valle Bonaerense del río Colorado. Documento CORFO (Corporación de Fomento del Valle Bonaerense del Río Colorado). <http://corfo.gob.ar/wp-content/uploads/2016/06/Balance200609.pdf>. Último acceso 20/08/2019.

[11] Carbó, J.I., 2014. Balance hidrosalino 2011-2012 Valle Bonaerense del río Colorado. Documento CORFO (Corporación de Fomento del Valle Bonaerense del río Colorado). <https://corfo.gob.ar/wp-content/uploads/2016/02/Balance11-12.pdf>. Último acceso 20/08/2019.

[12] Cazenave, H.W., 2017. Efectos de la represa Casa de Piedra en la variación témporo espacial de las características hidrológicas y del diseño de drenaje del Río Colorado. Editorial: EdUNLPam. ISBN: 978-950-863-270-8.

CAPÍTULO 1

Valle Bonaerense del río Colorado. Estudio hidroquímico en estación Paso Alsina



LICENCIADO EN QUÍMICA FEDERICO DANILO VALLESE

Universidad Nacional del Sur

1.1 Introducción

1.1.1 Aspectos generales

La calidad como la cantidad de agua proveniente del río que ingresa al VBRC, tienen un impacto significativo sobre las actividades económicas y sociales de la región. La importancia de este recurso es determinante, en términos del rinde y valor agregado obtenido sobre la producción agropecuaria. Esto finalmente se ve reflejado en los valores comercializados, generando así, un aporte fundamental al Producto Bruto Interno (PBI) regional. Además, la producción agropecuaria de esta región tiene por destino la exportación y de este modo ingresan divisas al país [1].

La calidad del agua de una cuenca hidrográfica podría verse afectada por factores naturales y/o antropogénicos, directos como descargas de contaminantes, o indirectos como precipitaciones, cambio climático, etc [2,3]. Es por ello que en este capítulo el estudio hidroquímico realizado en el VBRC según el convenio Marco, (CIC, CORFO, UNS, INTA) tiene como objetivo la determinación de la naturaleza química de las aguas de la zona de la estación Paso Alsina y la correlación entre la composición química y los ambientes hidrogeológicos. Para ello, se emplearon índices de calidad a partir de las determinaciones fisicoquímicas, hidrosalinas y materia orgánica. Para una correcta interpretación de los datos obtenidos, los resultados de los análisis se manejaron estadísticamente, teniendo en cuenta la correlación de iones y los factores que gobiernan el comportamiento de los componentes del agua en el río. El uso de gráficos ayuda a demostrar las relaciones físicas y químicas en el agua, las fuentes probables de perturbación y establecer adecuadamente la evaluación de los recursos hídricos.

1.1.2 Índice de calidad de agua para riego

El empleo de un índice de calidad del agua proporciona un número único que expresa la calidad general del agua en un lugar y momento determinado en función de los parámetros intervinientes [4,5]. El objetivo del índice es convertir datos complejos en información que sea comprensible y utilizable por el público [6,7]. Para simplificar la interpretación de los datos registrados, los mismos se han adoptado para evaluar la calidad de un curso de agua a través de los años. En términos simples, el Índice de Calidad del Agua de Riego (IWQI) es un

método específico utilizado principalmente para la evaluación de la calidad del agua con fines agrícolas, que expresa la calidad del recurso hídrico mediante la integración de las mediciones de determinados parámetros de calidad del agua. Hasta la fecha, no se han desarrollado trabajos sobre IWQI que relacionen los cultivos con la calidad del agua para irrigación en el VBRC [8,9].

1.1.3 Materia orgánica disuelta en aguas naturales

Un problema serio que enfrentamos en nuestros días es la contaminación de los recursos del suelo, agua superficial y agua subterránea. Su impacto ambiental es evaluado comúnmente con base en las concentraciones de los agentes contaminantes presentes. Un parámetro a evaluar para establecer la calidad de estos recursos es la materia orgánica [10].

La materia orgánica disuelta (MOD) es experimentalmente definida como las sustancias de origen natural o antropogénico que atraviesan un filtro con un tamaño de poro menor a 0,2 - 0,7 μm de diámetro. En ecosistemas acuáticos, consiste en una mezcla de productos de síntesis, degradación y re-síntesis procedente de procesos bióticos y abióticos [11,12]. La misma se caracteriza por ser una mezcla heterogénea compleja de compuestos orgánicos de alto peso molecular que varían en términos de solubilidad, estructura, biodisponibilidad, función ecológica y sus propiedades ópticas [13]. La proporción dominante de MOD de origen natural comprende sustancias húmicas, clasificadas como ácidos húmicos y fúlvicos. En aguas naturales la MOD se clasifica comúnmente en referencia a su origen, que puede ser de fuentes terrestres externas (alóctonas) o de procesos biológicos que ocurren dentro del ambiente acuático (autóctonas). Esta última se deriva principalmente de algas y macrófitas, aunque puede originarse de otras fuentes [14]. Consiste principalmente en compuestos de menor peso molecular y puede incluir proteínas, aminoácidos, carbohidratos y ácidos orgánicos. Por el contrario, la MOD de origen alóctono se deriva de la erosión de suelos orgánicos/turba y la degradación del material vegetal que se incorpora a la escorrentía [15]. Es una combinación de sustancias húmicas, caracterizándose por poseer una variedad de grupos funcionales, como grupos aromáticos, alifáticos y carboxílicos. Por lo tanto, la determinación de las fuentes y el estado diagenético de la MOD es una tarea compleja. Sin embargo, su caracterización y su grado de disponibilidad biológica se puede abordar

mediante métodos ópticos sensibles e informativos como la espectrometría de fluorescencia molecular.

La biodisponibilidad de la MOD se describe comúnmente como "lábil" o "recalcitrante" en términos de su disponibilidad para la degradación biológica. Se cree que la MOD lábil constituye sólo una proporción menor (10-40%) de MOD, y está fácilmente disponible para la descomposición microbiana, proporcionando energía para el metabolismo microbiano [16]. La proporción restante de MOD se considera recalcitrante y es, en su mayoría, resistente a la degradación biológica. La biodisponibilidad de MOD está determinada por una combinación de factores intrínsecos (fuente, peso molecular y aromaticidad) y extrínsecos (disponibilidad de temperatura, nutrientes y oxígeno, estrés hídrico y exposición a la luz) [17, 18]. Con respecto a la fuente, la MOD alóctona se considera generalmente como la fuente principal del grupo MOD recalcitrante, mientras que la MOD autóctona es más lábil.

Una fracción de la MOD es fluorescente (MODF). Las diferencias entre los espectros de absorción y los espectros de excitación-emisión (EEM) en aguas naturales indican que no toda la MOD que absorbe en el UV-Vis es fluorescente. Los componentes orgánicos fluorescentes más estudiados de aguas naturales incluyen sustancias húmicas, derivados de la descomposición del material vegetal mediante procesos biológicos y químicos en los ambientes terrestres y los aminoácidos en las proteínas y péptidos. Su abundancia y distribución es controlada por la producción in situ, el bleaching fotoquímico, el ingreso terrestre, y la circulación de la masa de agua [19-21].

1.1.4 Cálculo de índices

A partir de la propiedad de fluorescencia de ciertos componentes de la MOD, es posible la caracterización de un sistema acuático en función de índices obtenidos a partir de la relación de señales de fluorescencia.

El Índice de Fluorescencia (FI) provee información relativa al origen (microbiológico o material terrestre) o de su grado de degradación porque refleja la contribución relativa de MOD aromática [22]. El FI se obtiene excitando la muestra a 370 nm y a partir del espectro de emisión se calcula la razón entre la intensidad de fluorescencia a 450 nm y 500 nm. El FI interpreta el desplazamiento del máximo del pico de emisión de los ácidos fúlvicos hacia

longitudes de onda mayores si su procedencia es terrestre, lo que se corresponde con el grado de aromaticidad. Este desplazamiento genera FI menores en MOD dominadas por materiales de origen terrestre y aumentos en el índice por predominancia de derivados microbianos. El FI es un índice robusto para identificar la fuente de los ácidos fúlvicos (microbiano vs terrestre) independientemente del instrumento empleado y la aplicación de factores de corrección, resulta siempre mayor a 1,4 para fuentes microbianas y menor a 1,4 para derivados terrestres [23,24].

El Índice de Humificación (HIX) fue propuesto por Zsolnay y col. en 1999 [25]. El HIX es obtenido como la relación de áreas de dos zonas del espectro de emisión al excitar a 254 nm. Las áreas son calculadas entre las longitudes de onda de emisión de 300 nm y 345 nm (L) y entre 435 nm y 480 nm (H). Cuando el grado de aromaticidad aumenta, el espectro de emisión se desplaza y la razón H/L y por ende el HIX aumenta. El índice ha sido aplicado a una variedad de muestras acuáticas. Valores entre 10 y 16 corresponden a muestras con MOD fuertemente humificada de origen terrestre, mientras que valores < 4 son asociados con MOD autóctona [26].

Índice de Actividad Biológica (BIX): El BIX se basa en la contribución del fluoróforo beta o pico M y se calcula dividiendo la intensidad de fluorescencia emitida a 380nm (máxima emisión de M o β) por la intensidad de fluorescencia emitida a 430nm (máximo de emisión de la banda característica de material húmico o α) cuando la muestra es excitada a 310nm. El BIX constituye una estimación de la contribución de MOD producida recientemente (β) respecto de MOD más degradada (α). Valores mayores a 1 se corresponden con el predominio de MOD de origen autóctono y la presencia de materia orgánica recientemente liberada en el agua, mientras que una baja producción de MOD presenta valores de 0,6 – 0,7 [24,27,28].

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general

El objetivo de este capítulo es realizar una caracterización y evaluación hidroquímica del río Colorado en la zona del Valle Bonaerense del río Colorado (VBRC).

El presente trabajo se encuadra en un convenio marco de carácter interdisciplinario, enfocado a promover el desarrollo de la investigación y llevar a cabo estudios tendientes a mejorar la eficiencia del aprovechamiento del agua y preservación del recurso hídrico del VBRC.

1.2.2 Objetivo específico

Los objetivos específicos comprenden las siguientes etapas: plan de muestreo en la estación Paso Alsina, y determinaciones fisicoquímicas, hidrosalinas y de materia orgánica en las muestras de agua del río. En base a los resultados obtenidos se pretende realizar una evaluación estadística hidrológica temporal que permita establecer las características actuales del sistema para las actividades productivas regionales.

1.3 Materiales y métodos

1.3.1 Área de estudio

La estación Paso Alsina se encuentra ubicada en la provincia de Buenos Aires, a unos 75 km hacia el oeste de la localidad de Pedro Luro, siendo la última estación de aforo instalada sobre la cuenca ($39^{\circ}22'02,60''$ S $63^{\circ}14'16,26''$ O) (Figura 1.1). Es un lugar estratégico que representa el ingreso del agua del río al VBRC, para su uso como diversas fuentes (consumo humano, bebida de ganado y principalmente riego).

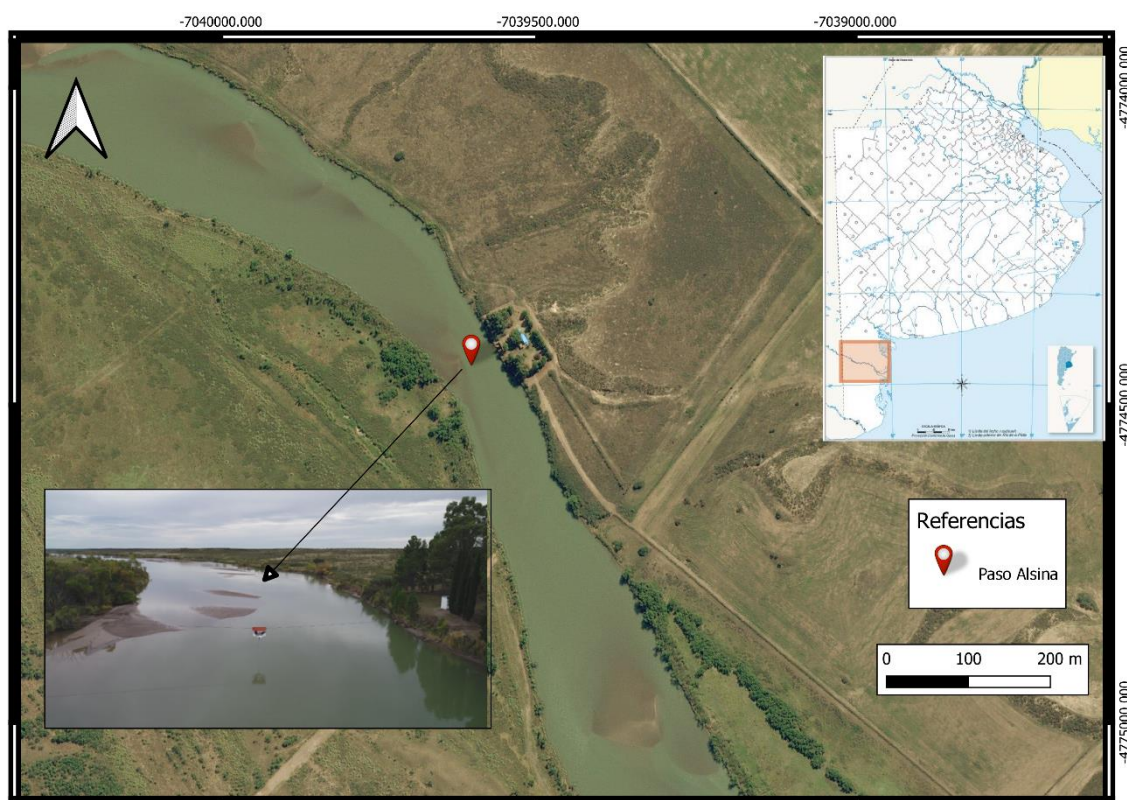


Figura 1.1: Ubicación de la estación Paso Alsina, en el ingreso al VBRC.

1.3.2 Toma de muestras

El plan de muestreo se estableció con el fin de contar con la información y variabilidad necesaria sobre la matriz a analizar. Las muestras de agua fueron extraídas de la estación Paso Alsina, con frecuencias mensuales entre agosto 2015 y febrero de 2021, completando así un total de 67 campañas de muestreo. Durante este tiempo se comprenden seis períodos de riego. Los mismos se efectuaron de acuerdo a los lineamientos generales propuestos por el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [29]. Las muestras de agua fueron envasadas por duplicado en recipientes de polietileno de 500 mL de

capacidad. Inmediatamente después de la extracción, se almacenaron y preservaron bajo refrigeración a temperatura menor a 4°C.

La toma de muestras de agua superficial se realizó en la zona central del río y en dirección opuesta al flujo del recurso hídrico.

Las actividades de las campañas de muestreo y medición de caudal se coordinaron y realizaron en forma conjunta con personal de CORFO río Colorado, Pedro Luro que aportaron el transporte y personal técnico.

1.3.3 Análisis fisicoquímicos

Los análisis fisicoquímicos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Suelo y Agua de la Estación Experimental Agropecuaria del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) de Hilario Ascasubi. Éstos se desarrollaron bajo los protocolos consensuados por la Red de Laboratorios de Suelo, Agua y Material Vegetal del INTA (RILSAV), basados en los propuestos por el Standard Methods [29] (Tabla 1.1). Los parámetros analizados incluyeron: Sólidos Disueltos Totales (SDT), pH, Conductividad Eléctrica (CE), Calcio (Ca^{2+}), Magnesio (Mg^{2+}), Sodio (Na^+), Potasio (K^+), Carbonatos (CO_3^{2-}), Bicarbonatos (HCO_3^-), Cloruros (Cl^-), Sulfatos (SO_4^{2-}), Dureza Total y Relación de Adsorción de Sodio (RAS).

Las mediciones relacionadas a precipitaciones y caudal se llevaron a cabo mediante el uso de un pluviómetro estándar y un molinete SIAP respectivamente. El rango de temperaturas de las muestras recolectadas varió entre 8°C y 25°C.

Tabla 1.1: Técnicas y metodologías empleadas para las evaluaciones de laboratorio.

Parámetro	Técnica analítica	Método [29]	Instrumental y equipos
SDT	Gravimetría	2540 B	Gravimetrics 321 LX 220A Estufa SL60S SAN-JOR
pH	Potenciometría	4500-H ⁺ B	Medidor de pH de mesa. Hanna HI 2221-02
CE	Conductimetría	2520 B	Conductímetro Altronix CTXII
Ca ²⁺	Complexometría	3500-Ca B.	Sartorius Model Biotrate 50 ml

Mg²⁺	Complexometría	3500-Mg B.	Sartorius Model Biotrate 50 ml
Na⁺	Fotometría de llama	3500-Na.B.	Fotómetro METROLAB 315
K⁺	Fotometría de llama	3500-K B.	Fotómetro METROLAB 315
CO₃²⁻	Titulación ácido-base	2320-B	Sartorius Model Biotrate 50 ml
HCO₃⁻	Titulación ácido-base	2320-B	Sartorius Model Biotrate 50 ml
Cl⁻	Método de Mohr	4500-Cl ⁻ B.	Sartorius Model Biotrate 50 ml
SO₄²⁻	Método turbidimétrico	4500-SO ₄ ²⁻ E	Espectrofotómetro Lambda 35 UV-Vis Perkin Elmer

1.3.4 Cálculo y desarrollo del IWQI

Las estimaciones del índice de calidad del agua del río, para evaluar la idoneidad del agua para riego (IWQI), siguen las dos etapas implementadas por Meireles y col. [30]. La ecuación de cálculo es:

$$IWQI = \sum_{i=1}^n q_i * w_i \quad (1)$$

donde n es la cantidad de parámetros, q_i es el parámetro de calidad y w_i es la unidad de ponderación estandarizada para cada parámetro. Primero se analizan los parámetros registrados y se identifican los que más contribuyen a la variedad de la irrigación utilizando herramientas como Componentes Principales (PCA) y Análisis Factorial (FA), seleccionando los parámetros: “Na⁺”, “Cl⁻”, “HCO₃⁻ - CO₃²⁻”, “CE” y “RAS” para la estación de muestreo correspondiente. Luego los valores de q_i y w_i son estimados para cada parámetro, obteniendo el IWQI, en base al criterio de agua para riego obtenido por el Comité de Consultores de la Universidad de California (UCCC) y Ayers and Westcot [31].

$$q_i = q_{max} - \frac{[(x_{ij} - x_{inf}) * q_{iamp}]}{x_{amp}} \quad (2)$$

donde q_{max} es el valor máximo de q_i para cada clase; x_{ij} representa el valor observado de cada parámetro; x_{inf} se refiere al valor límite inferior de la clase que pertenece el parámetro, q_{iamp} presenta la amplitud de la clase, y x_{amp} corresponde

a la amplitud de la clase a la que pertenece el parámetro. Se consideró que el límite superior era el valor más alto determinado en el análisis de las muestras de agua que se requiere para evaluar la x_{amp} de la última clase de cada parámetro.

De acuerdo al Comité de Consultores de la Universidad de California (UCCC) los valores de (q_i) se estiman según la cantidad del factor, el límite de tolerancia y los parámetros de calidad del agua de riego que se muestran en la Tabla 1.2. El parámetro de calidad del agua IWQI es un número adimensional y cuanto mayor sea el valor del parámetro, mejor será la calidad del agua.

Tabla 1.2: Valores límites de los parámetros para el cálculo del q_i .

q_i	CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	RAS (mmolL^{-1}) ^{1/2}	Na ⁺ (mg L^{-1})	Cl ⁻ (mg L^{-1})	HCO ₃ ⁻ + CO ₃ ²⁻ (mg L^{-1})
85 – 100	$200 \leq X < 750$	$2 \leq X < 3$	$46 \leq X < 69$	$35,5 \leq X < 140$	$61 \leq X < 91,5$
60 – 85	$750 \leq X < 1500$	$3 \leq X < 6$	$69 \leq X < 138$	$140 \leq X < 248,5$	$91,5 \leq X < 274,5$
35 – 60	$1500 \leq X < 3000$	$6 \leq X < 12$	$138 \leq X < 207$	$248,5 \leq X < 355$	$274,5 \leq X < 518,5$
0 – 35	$X < 200$ o $X \geq 3000$	$X < 2$ o $X \geq 12$	$X < 46$ o $X \geq 207$	$X < 35,5$ o $X \geq 355$	$X < 61$ o $X \geq 518,5$

*X= parámetro en cada caso

El peso del parámetro (w_i) utilizado en el IWQI fue obtenido por el (PCA/FA), por la suma de todos los factores multiplicados por la varianza explicada de cada parámetro. Finalmente, los valores de w_i (Tabla 1.3) se normalizaron de manera que su suma sea unitaria.

$$w_i = \frac{\sum_{j=1}^k F_j A_{ij}}{\sum_{j=1}^k \sum_{i=1}^n F_i A_{ij}} \quad (3)$$

Según esta ecuación, w_i y F_j corresponden al peso relativo del parámetro para el índice de calidad del agua y al valor constante del componente j , respectivamente. A_{ij} define en qué medida el parámetro i puede explicarse con el factor j ; i representa el número de parámetros fisicoquímicos seleccionados que varía de 1 a n y j es el número de factores elegidos (varía de 1 a k). En la Tabla 1.4 se puede observar el peso relativo de cada parámetro elegido y mediante la aplicación de las ecuaciones se obtienen los valores de IWQI para cada clase. También pueden observarse las principales características de cada una de ellas, teniendo en cuenta los riesgos de salinización, disminución de la

infiltración y toxicidad de las plantas; además de indicar las causas de restricción al uso del agua [30].

Tabla 1.3: Peso relativo (w_i) de cada parámetro químico calculado con base en los valores estándar reportados por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) [32].

Parámetro	FAO (1994)	Pesos Relativos (w_i)
Na ⁺	920 mg L ⁻¹	0,204
HCO ₃ ⁻ + CO ₃ ²⁻	640 mg L ⁻¹	0,202
Cl ⁻	1065 mg L ⁻¹	0,194
RAS	15 (mmolL ⁻¹) ^{1/2}	0,189
CE	3000 μs cm ⁻¹	0,211
-	-	Σw _i = 1

Tabla 1.4: Categorías y clasificaciones del IWQI.

Índice escala	Calidad del agua	Suelo	Plantas
85 – 100	Sin Restricción	El agua se puede utilizar para casi todos los tipos de suelo. El suelo está expuesto a menores riesgos de problemas de salinidad/sodicidad	Para la mayoría de las plantas no hay riesgo de toxicidad
70 – 85	Restricción baja	Los suelos irrigados de textura ligera o permeabilidad moderada pueden adaptarse a este rango. Para evitar la sodicidad del suelo en texturas pesadas, se recomienda la lixiviación del suelo	Sin riesgo de toxicidad para la mayoría de las plantas
55 – 70	Restricción moderada	El agua en este rango sería mejor utilizada para suelos con valores de permeabilidad moderados a altos. Se recomienda encarecidamente una lixiviación moderada de sales para evitar la degradación del suelo	Se pueden cultivar plantas con tolerancia moderada a las sales
40 – 55	Restricción alta	Esta gama de agua puede utilizarse en suelos con alta permeabilidad sin capas compactas. Programa de riego de alta frecuencia	Plantas con tolerancia moderada o alta a las sales
0 – 40	Restricción severa	Debe evitarse el uso de este rango de agua para riego en condiciones normales	Plantas con alta tolerancia a la sal

1.3.5 Tratamiento y conservación de muestras para MOD

En la recolección y preservación de las muestras para el análisis de MOD se debe evitar la contaminación y separar el material particulado de la muestra, es decir separar la MOD de la Materia Orgánica Particulada (MOP). Para mantener la representatividad y agilizar la obtención de la fracción disuelta (MOD) de las muestras originales colectadas, se procedió a realizar la etapa de filtración en instalaciones del Centro de Capacitación de CORFO y/o en la Estación Experimental Agropecuaria del INTA, ambas cercanas a la zona de muestreo. Las muestras originales fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio 0,7 μm de tamaño de poro GF/F (precalcinados por 4 h a 450 °C) y almacenadas en viales de vidrio precalcinados. Posteriormente, las muestras fueron refrigeradas a -20 °C en freezer hasta la etapa de la obtención de los registros espectrofotométricos empleando la técnica de fluorescencia molecular.

1.3.6 Determinación de los índices relacionados con la materia orgánica disuelta fluorescente (MODF)

Para la caracterización de la MODF se procedió a obtener los espectros de fluorescencia molecular de las muestras en Laboratorio Instrumental de Uso Compartido del Departamento de Química, y a partir de los espectros obtenidos se calcularon las relaciones que corresponde para cada uno de los índices (HIX, BIX, FI). Los espectros de fluorescencia se obtuvieron a temperatura ambiente utilizando un espectrofluorímetro SHIMADZU RF-5301 PC, no siendo necesaria la dilución de las muestras. Para la expresión de las señales en Unidades Equivalente de Sulfato de Quinina (USQ) se empleó una disolución estándar de sulfato de quinina dihidratado (SIGMA) preparada en ácido sulfúrico 0,05 M (equivalencia 1 USQ = 1 $\mu\text{g L}^{-1}$), excitando a 350 nm y con una longitud de onda de emisión de 450nm. La dispersión Raman fue corregida por sustracción del espectro de agua ultrapura en las mismas condiciones y para cada espectro [33]. Las matrices de 16 x 341 fueron generadas a partir de los espectros de emisión obtenidos variando el monocromador de excitación entre 220 nm y 370 nm cada 10 nm registrando los espectros de emisión entre 260 nm hasta 600 nm cada 1 nm. Para la obtención de los índices, los espectros MODF fueron procesados y graficados con Matlab® 2010^a.

1.4 Resultados y discusión

1.4.1 Relación entre caudal, conductividad eléctrica y precipitaciones

Los parámetros de calidad del agua suelen variar estacionalmente, en gran parte en respuesta a las fluctuaciones del caudal [34]. Históricamente, el caudal de agua que ingresa a la provincia de Buenos Aires se monitorea en la estación Paso Alsina. Dicho caudal permitió regar cerca de 140000 ha, sin embargo, desde hace aproximadamente una década, el nivel de agua en el Dique Casa de Piedra se redujo debido al descenso de las precipitaciones níveas en la cordillera, posiblemente por efecto del cambio climático [35,36]. En la actualidad durante la campaña 2019/2020 la superficie irrigada descendió a 81400 ha, unas 27278 ha menos que para la campaña 2018/2019 (108678 ha) como consecuencia de la crisis hídrica y la sucesiva migración de los productores hacia otras zonas, en busca de condiciones más favorables para su producción.

A partir de 1992 la cuenca del río Colorado comenzó a ser regulada por el Dique Casa de Piedra, administrado por COIRCO, y desde entonces, el promedio de caudal de la estación Paso Alsina (1992–2014) alcanzó los $105 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, mientras que el obtenido durante los últimos 5 años (2015-2021) apenas superó los $53 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Esta reducción del caudal ha incidido en el aumento de la salinidad del agua, lo cual hace peligrar la sustentabilidad del sistema de riego. Un uso de agua de riego de baja calidad, puede desencadenar procesos de degradación físicoquímica del suelo y/o pérdida de rendimiento de los cultivos [37].

La Figura 1.2 presenta el hidrograma correspondiente al período de estudio en la estación Paso Alsina. En él se observa una relación inversamente proporcional entre la CE y el caudal. Los menores valores de CE se presentan durante el verano, coincidentes con los valores de mayor caudal, y la mayor demanda de riego. En general, la mayor cantidad de precipitaciones se registra en primavera-verano, siendo los niveles acumulados fluctuantes para cada año (740 mm en 2015, 523 mm en 2016, 610 mm en 2017, 534 mm en 2018, 344 mm en 2019, 365 mm para 2020 y 37 mm para los dos primeros meses de 2021), según datos provistos por INTA Hilario Ascasubi.

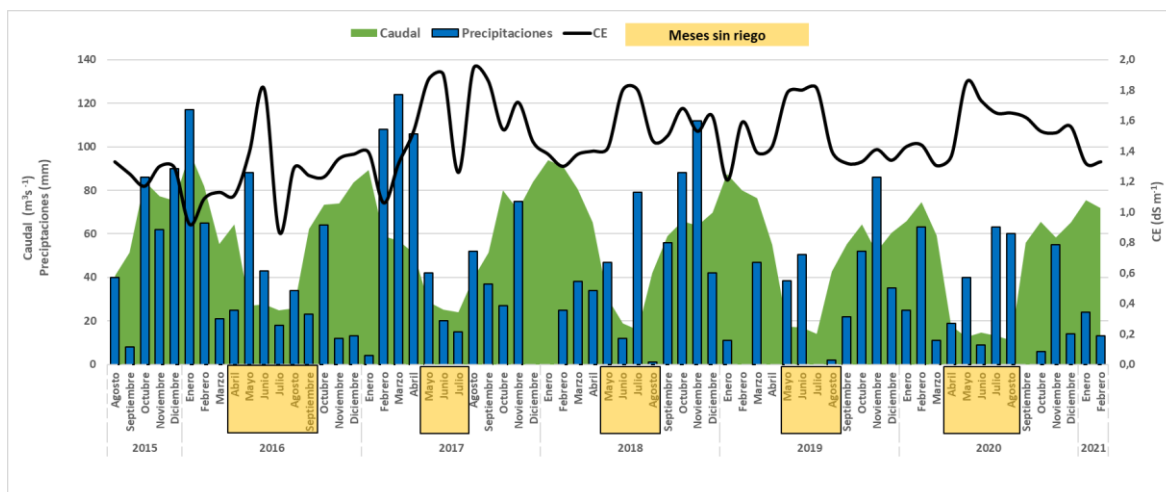


Figura 1.2: Hidrograma correspondiente a la estación Paso Alsina.

El régimen estacional del caudal se debe a la regulación que cumple el Dique Casa de Piedra aguas arriba. Las máximas crecientes se presentan en la época estival, momento de mayor requerimiento hídrico de los cultivos de la región, exponiendo en promedio $56,71 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ durante el período de estudio. Cabe mencionar que la cantidad de agua que circula por unidad de tiempo en el sistema, tuvo una reducción mayor al 45% durante este período (2015-2021) en relación a los valores históricos (1994-2021). Además, se debe considerar que el caudal erogado en el Dique Casa de Piedra, se encuentra sujeto a las precipitaciones que se generan sobre el VBRC, evaluando la posibilidad de disminuir los caudales con el objetivo de maximizar las reservas de agua en el Dique.

Es importante señalar que la cuenca del río Colorado sufre una de las peores sequías que se hayan registrado en los últimos cien años. Todo el sistema de riego del VBRC se encuentra, hace al menos diez años, con restricción en la entrega de agua. Estas medidas de contención, han permitido continuar con la producción bajo riego y a la vez almacenar agua en el Dique Casa de Piedra, y con ello dar previsibilidad en las siguientes campañas [38].

1.4.2 Estudio hidrosalino

1.4.2.1 Composición de aniones y cationes

Los valores obtenidos para cada uno de los parámetros evaluados en la estación Paso Alsina, permiten caracterizar el agua que ingresa a la provincia de Buenos Aires a través del río Colorado, como así también clasificarla de acuerdo a los

diferentes usos. El resumen estadístico de los resultados de los iones mayoritarios, Dureza Total, CE, pH, SDT y RAS en las muestras de agua recolectadas se indica en la Tabla 1.5. En ella podemos apreciar un orden cuantitativo de los cationes: $\text{Na}^+ + \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$. En cuanto a los aniones, a partir de septiembre del 2017 el orden determinado fue $\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$. Anteriormente la concentración de iones Cl^- era mayor con respecto a los SO_4^{2-} . El parámetro que presenta mayor dispersión son los sulfatos (83 a 455 mg L^{-1}).

Con respecto a los valores de pH medidos en el río durante el período de estudio, se encuentran dentro del ámbito descrito en bibliografía para aguas naturales, entre 7,70 y 8,60 [39]. Esto coincide con el rango normal de pH considerado en la zona radicular para la mayoría de las plantas [32].

La CE mostró valores mínimos de 870 $\mu\text{S cm}^{-1}$ y máximos de 1940 $\mu\text{S cm}^{-1}$. La tendencia observada muestra un aumento de CE durante el período de corte del agua (otoño-invierno) y una disminución en la temporada de riego (primavera-estival) obteniendo finalmente un valor medio de 1454 $\mu\text{S cm}^{-1}$.

Tabla 1.5: Valores estadísticos para los parámetros cuantificados en la estación Paso Alsina.

Parámetros	Unidades	Min	Max	Mediana	Media	Desvío estándar
Na⁺	mg L^{-1}	119	227	158	164	28,2
K⁺	mg L^{-1}	3	6	4	4	0,6
Ca²⁺	mg L^{-1}	73	174	134	135	19,4
Mg²⁺	mg L^{-1}	3	42	19	20	7,5
Cl⁻	mg L^{-1}	171	400	238	248	47,7
CO₃²⁻ + HCO₃⁻	mg L^{-1}	91	161	121	121	15,0
SO₄²⁻	mg L^{-1}	83	455	312	293	83,2
Dureza total	mg L^{-1}	330	517	418	419	45,6

CE	$\mu\text{s cm}^{-1}$	870	1940	1400	1454	239,6
pH	-	7,70	8,60	8,20	8,20	0,2
SDT	mg L^{-1}	600	1300	1000	983	166,3
RAS	$(\text{mmolL}^{-1})^{1/2}$	2,5	4,7	3,4	3,5	0,5

1.4.2.2 Diagramas de Schoeller-Barkalof y Piper

Para la caracterización y clasificación hidroquímica de las aguas se emplean sus contenidos de aniones y cationes los cuales son representados fundamentalmente en dos tipos de gráficos, los denominados diagramas de Schoeller-Barkalof y de Piper, los mismos obtenidos por el software Qualigraf 2017.

Para el diagrama de Schoeller-Barkalof se emplea una escala semilogarítmica para representar las concentraciones de iones en (meq L^{-1}) , con la ventaja de que se pueden visualizar todas las muestras (67 campañas). En el gráfico de la Figura 1.3 se observa que los valores obtenidos para los iones presentan una tendencia prácticamente constante en cuanto a su composición. A la vez se comprueba que los cationes $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ y Ca^{2+} por un lado, y los aniones Cl^- y SO_4^{2-} por el otro, son los mayoritarios. Los valores máximos se encuentran asociados a meses en los cuales no se riega.

El diagrama de Piper aporta gráficamente información química del contenido iónico del agua analizada. El mismo indica, como podemos ver en la Figura 1.4, que las aguas que ingresan al VBRC se clasifican mayoritariamente dentro de la familia sulfatada y/o clorurada cálcica o magnésica. Es importante destacar que seis muestras se situaron en la categoría de “sulfatada y/o clorurada sódica”, aunque las mismas resultaron en períodos donde no se efectuó riego.

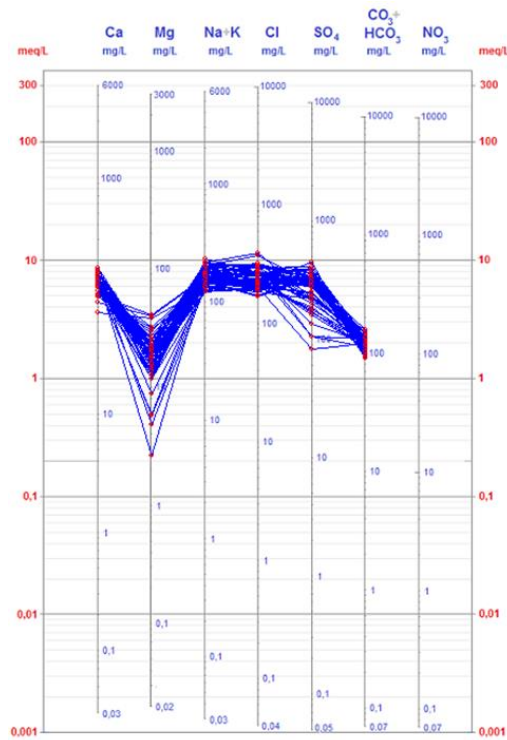


Figura 1.3: Diagrama de Schoeller-Barkalof, estación Paso Alsina.

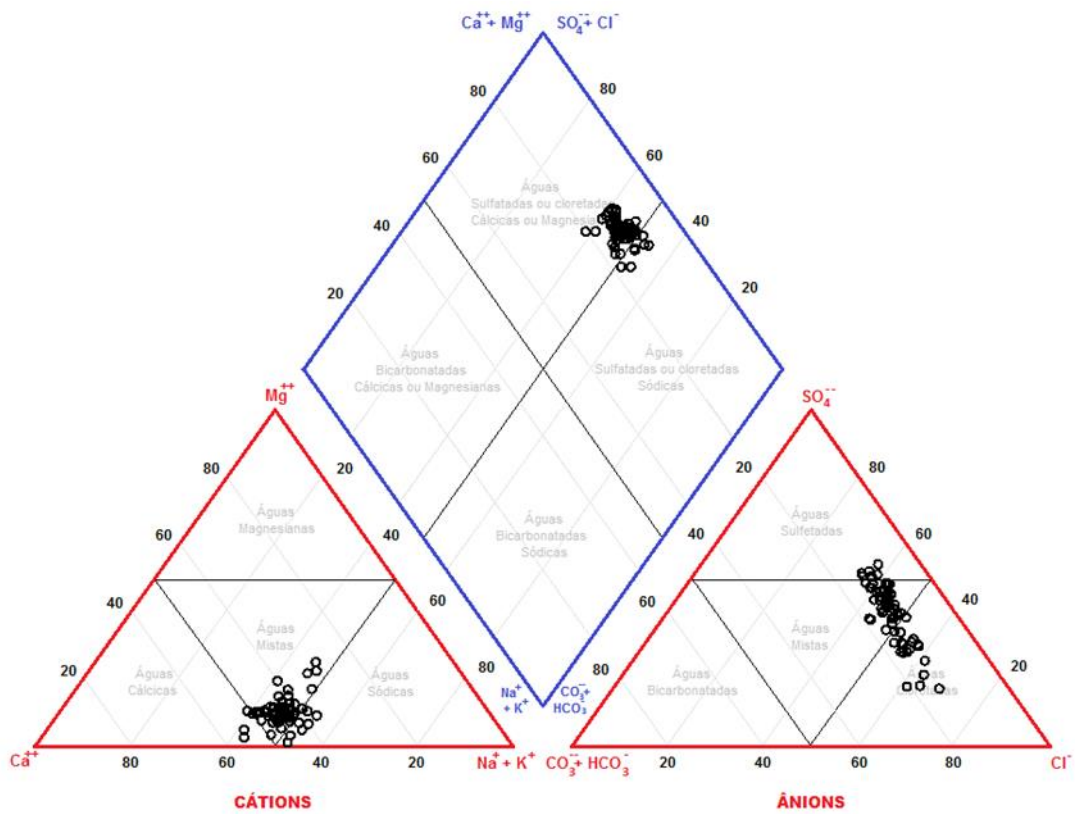


Figura 1.4: Diagrama de Piper para la estación Paso Alsina.

1.4.2.3 Clasificación según sólidos disueltos totales

La salinidad total de las aguas superficiales se debe principalmente a los procesos de meteorización de rocas de la cuenca de drenaje, a la precipitación atmosférica y al equilibrio precipitación-evaporación. La meteorización se produce mayormente como consecuencia de procesos de disolución, hidrólisis, óxido-reducción y formación de complejos con sustancias inorgánicas u orgánicas.

Según la Comisión Nacional de Medio Ambiente (CONAMA) [40] a través de su resolución 357/2005, establece una clasificación para el agua según el contenido de sólidos disueltos totales (SDT) en tres tipos: agua dulce ($<500 \text{ mg L}^{-1}$), agua salobre ($501-1500 \text{ mg L}^{-1}$) y agua salada ($>1500 \text{ mg L}^{-1}$). En el caso de las aguas de la estación Paso Alsina, el 100% de las muestras fueron catalogadas como agua salobre, debido a que la concentración de SDT en estas aguas se encuentra comprendida entre 600 y 1300 mg L^{-1} .

1.4.2.4 Relación entre conductividad eléctrica y RAS

El nomograma de Riverside, sistema propuesto por el Laboratorio de Salinidad del USDA [41], subordina las aguas de acuerdo al riesgo para la salinización o alcalización del suelo. Bajo esta clasificación (Figura 1.5), el agua que ingresa al VBRC en la estación Paso Alsina pertenece a la clase C3 S1, es decir, “agua de salinidad alta que puede utilizarse para el riego en suelos con buen drenaje, empleando volúmenes de agua en exceso para lavar el suelo y utilizando cultivos tolerantes a la salinidad” y “agua con bajo contenido en sodio, apta para el riego en la mayoría de los casos, pero que pueden presentar problemas con cultivos muy sensibles al sodio”.

En el nomograma de la Figura 1.5 se pueden apreciar seis categorías de CE (riesgo de salinización) y cuatro de RAS (riesgo por sodio), lo que da lugar a un total de veinticuatro categorías de calidad de aguas. Solo en una de las 67 campañas (julio 2019) el riesgo por sodio cambia a la categoría S2, “aguas moderadamente sódicas, presentan un peligro de sodio para suelos de textura fina y fuerte capacidad de intercambio catiónico. Pueden utilizarse en suelos de textura gruesa o ricos en materia orgánica, con buena permeabilidad”. El valor obtenido para el RAS en el mencionado mes, es coincidente con el valor máximo

(4,7) pero el mismo, no tendría influencia negativa sobre los suelos o cultivos debido a que se trató de un mes en el cual no se riega.

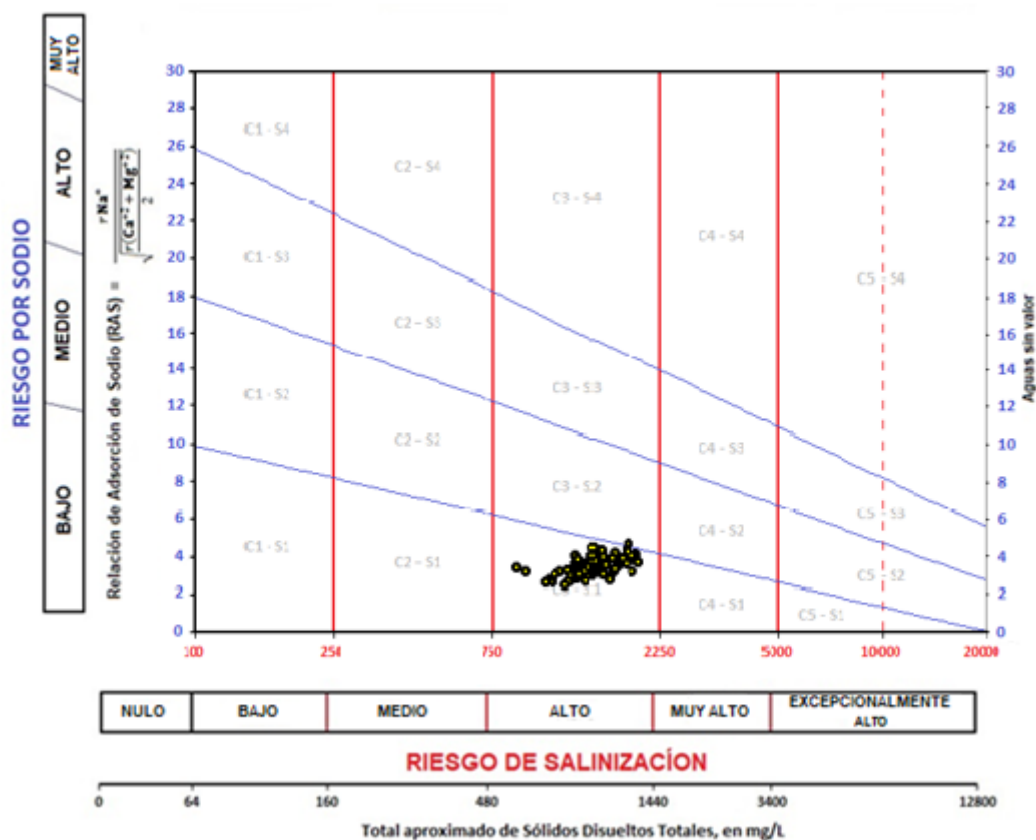


Figura 1.5: Nomograma de Riverside para las muestras de la estación Paso Alsina

1.4.3 IWQI Índice de calidad de agua para riego

En la Figura 1.6 observamos los resultados del IWQI para la estación Paso Alsina. Se encontró que el 88% de las muestras analizadas fueron clasificadas como agua “sin restricciones de uso”, es decir que el agua se puede utilizar para casi todos los tipos de suelo y que no existiría riesgo de toxicidad en la mayoría de las plantas y cultivos. El 12% restante se las clasificó como agua con “baja restricción de uso”, por lo que tampoco existiría riesgo de toxicidad en la mayoría de las plantas y cultivos, pero se recomendaría su uso en suelos de textura ligera o permeabilidad moderada. Dentro de este grupo, el 87% de las muestras (7) no tendrían efectos negativos sobre los cultivos por hallarse en meses en los cuales no se realizan erogaciones de agua y el 13% (1) restante (noviembre 2020), se efectúa en meses de riego de cultivos.

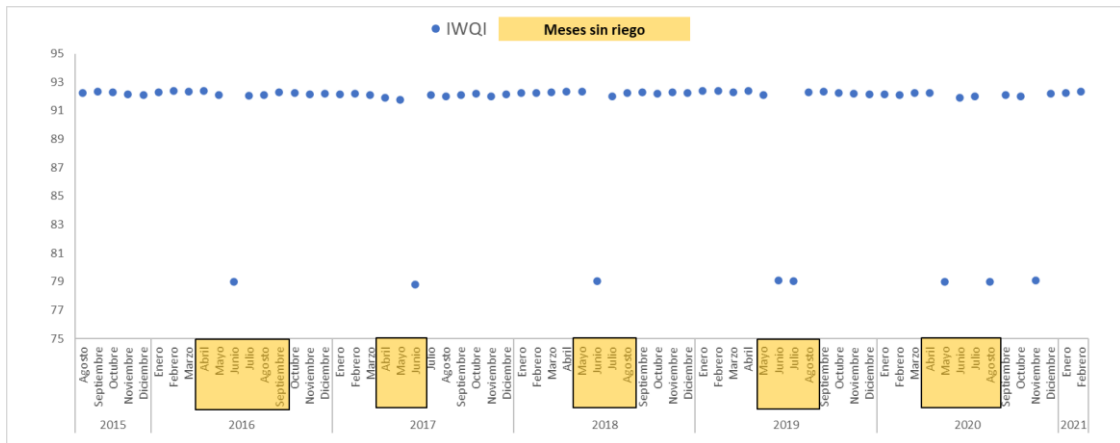


Figura 1.6: Resultados del IWQI para las muestras de la estación Paso Alsina.

1.4.4 Influencia del agua sobre los principales cultivos del VBRC

La calidad del agua para riego disponible para los agricultores en la cuenca, tiene un impacto importante en el rendimiento potencial de los principales cultivos que se desarrollan en el VBRC. Los cultivos bajo riego presentan diferentes niveles de sensibilidad a la salinidad, definiendo Ayers & Westcot [31] el concepto de tolerancia relativa para comparar y seleccionar cultivos, estableciendo un límite de tolerancia de CE para que comience a haber pérdidas en el rendimiento de los diferentes cultivos; además de instaurar directrices que permiten clasificar en categorías de acuerdo a su grado de restricción de uso y en relación a ciertos problemas potenciales. Por ello, es importante resaltar que las plantas no responden a la salinidad de manera similar. Si contemplamos la Figura 1.7, se puede inferir un orden de tolerancia a partir del cual se restringe el rendimiento potencial de los principales cultivos desarrollados en el VBRC (pasturas > cereales > hortalizas).

Para aquellos cultivos que presentan mayores umbrales de tolerancia (cebada, agropiro, sorgo, trigo, zapallo, festuca alta), cuando el suelo no presente problemas de salinización de base, el agua de riego de la estación Paso Alsina no sería una limitante. En cambio, para ciertos cultivos producidos a gran escala en el VBRC (alfalfa, maíz, papa, cebolla y zanahoria), el agua de la estación Paso Alsina, presenta altos valores de CE, lo que conllevaría a importantes pérdidas de rendimiento en ese tipo de cultivos.

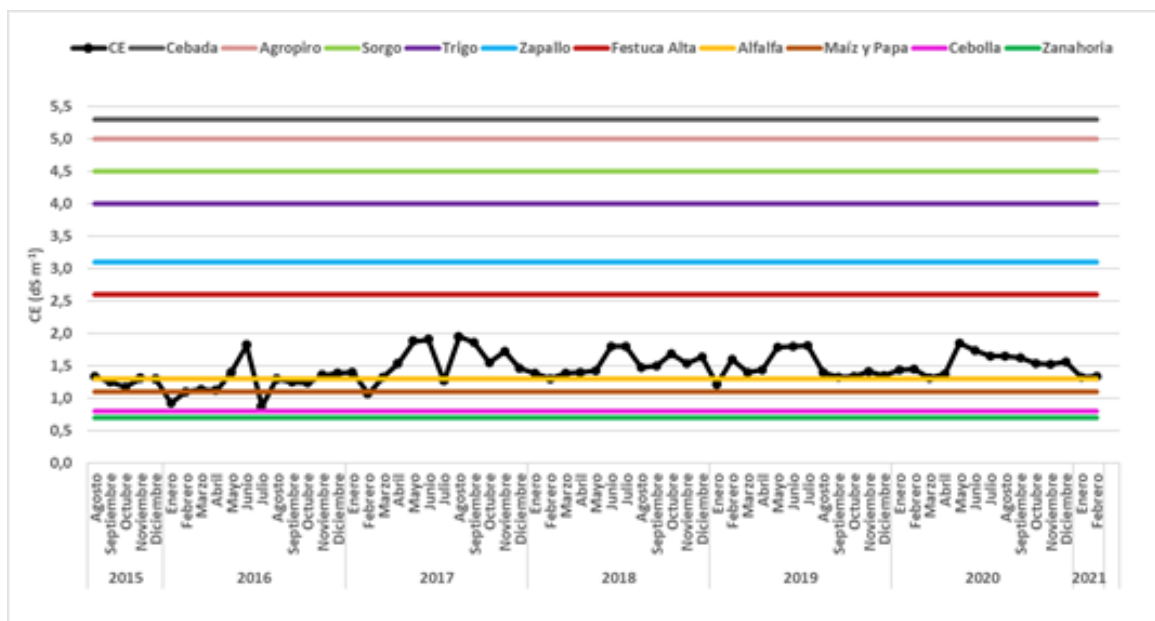


Figura 1.7: Valor umbral de salinidad para cultivos producidos en el VBRC en relación a la CE medida durante el período de estudio, en la estación Paso Alsina.

1.4.5 Estudio de los índices de MODF

Para caracterizar el origen y grado de transformación de la materia orgánica disuelta mediante sus propiedades fluorescentes se calcularon los índices FI, BIX y HIX. Para esta caracterización se utilizaron únicamente un total de 34 campañas de muestreo mensuales que abarcan desde agosto de 2015 hasta mayo de 2018.

En la Tabla 1.6 se muestran los valores mensuales obtenidos de los índices en la estación Paso Alsina, a lo largo del tiempo de estudio.

Tabla 1.6: Índices para caracterización de MODF en la estación Paso Alsina.

Campaña	Año	Paso Alsina		
		FI	BIX	HIX
1	Agosto 2015	1,68	1,00	0,58
2	Septiembre 2015	2,17	1,04	0,46
3	Octubre 2015	1,83	0,86	2,15
4	Noviembre 2015	1,76	0,82	1,04
5	Diciembre 2015	1,73	0,99	0,82
6	Enero 2016	1,71	1,14	1,43
7	Febrero 2016	1,70	1,10	0,78
8	Marzo 2016	1,70	1,08	0,62
9	Abril 2016	1,73	0,91	0,67

10	Mayo 2016	1,68	0,86	2,39
11	Junio 2016	1,65	1,16	1,79
12	Julio 2016	1,72	1,34	0,84
13	Agosto 2016	1,69	0,81	0,95
14	Septiembre 2016	1,69	0,84	1,79
15	Octubre 2016	1,81	0,80	0,93
16	Noviembre 2016	1,72	0,77	0,85
17	Diciembre 2016	1,68	0,75	2,93
18	Enero 2017	1,75	0,83	1,20
19	Febrero 2017	1,61	0,77	0,71
20	Marzo 2017	1,75	0,71	2,58
21	Abril 2017	1,75	0,73	2,39
22	Mayo 2017	1,65	0,77	1,94
23	Junio 2017	1,75	0,78	1,29
24	Julio 2017	1,74	0,80	1,76
25	Agosto 2017	1,76	0,78	2,24
26	Septiembre 2017	1,76	1,02	1,80
27	Octubre 2017	1,76	0,88	0,91
28	Noviembre 2017	1,80	0,86	1,23
29	Diciembre 2017	1,90	1,12	1,82
30	Enero 2018	1,64	1,18	1,65
31	Febrero 2018	1,79	1,05	0,85
32	Marzo 2017	1,42	0,93	1,80
33	Abril 2018	1,79	1,27	0,57
34	Mayo 2018	1,73	1,26	0,83

En la Figura 1.8, se puede apreciar un gráfico de cajas obtenido a través de los índices. En él, observamos que el FI presenta un rango de variación entre 1,42 y 2,17. Los valores obtenidos de FI son superiores a 1,40 por lo que la fuente de ácidos fúlvicos presenta una composición predominante de derivados microbianos. En el gráfico también podemos ver que en teoría existirían 3 valores anómalos para este índice, ya que presentan resultados bastante discrepantes con respecto al promedio. Estos valores se obtuvieron en los meses de marzo de 2018 por debajo y septiembre de 2015 y diciembre de 2017 por encima.

En cuanto a la distribución de los valores de BIX, estos tienen un rango de variación entre 0,71 y 1,34. Por un lado tenemos períodos de alta actividad biológica, con valores mayores a 1,0, correspondientes a predominio de materia orgánica autóctona recientemente producida. Pero por otra parte la mayor

cantidad de muestras presentan valores inferiores a 1,0 dándonos una idea de la presencia de MOD más degradada.

El HIX presenta una variación entre 0,46 y 2,93. Estos valores obtenidos, corresponden mayormente a compuestos de bajo grado de humificación, considerándose característicos de MOD de origen autóctono, producida dentro del mismo sistema acuático.

Por otra parte, en la Figura 1.9, se puede apreciar la distribución de los valores de los diferentes índices en función de cada mes del año.

Para el índice FI (Figura 1.9A), los meses de marzo y septiembre son los que presentan una mayor dispersión de los datos. Esto se podría deber a que justo en esos meses se realiza la apertura y cierre de compuertas en el Dique Casa de Piedra, y los valores de caudal del agua cambian de manera importante.

En la Figura 1.9B vemos que para los meses de mitad del año entre otoño e invierno es donde se produce la mayor cantidad de MOD proveniente de la actividad biológica y también puede estar relacionado con el bajo caudal que presenta la estación Paso Alsina por esos meses. Por otro lado, en la Figura 1.9C, observamos que el grado de humificación de las muestras parece ser impredecible en su variación anual observándose una mayor dispersión en los meses de marzo, abril y diciembre. Siendo este último, el mes en el cual se obtienen los valores más altos del HIX, quizás debido a algún posible aporte terrestre.

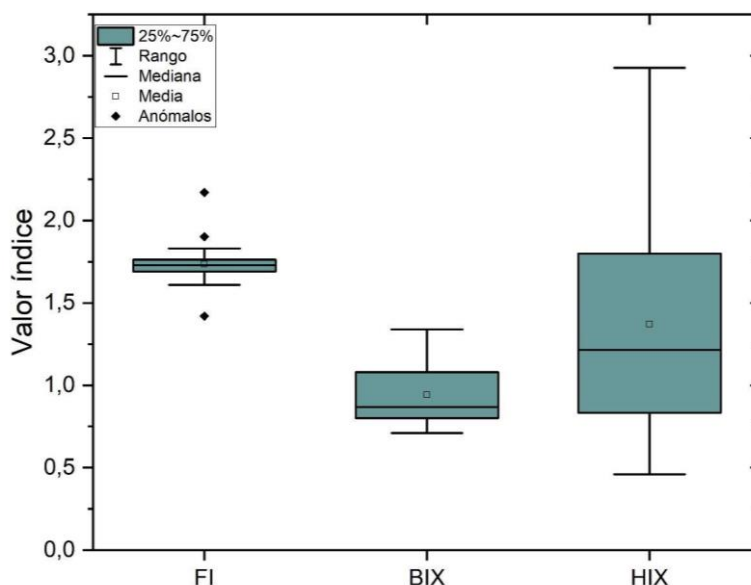


Figura 1.8: Grafico de cajas para los tres índices obtenidos en la estación Paso Alsina.

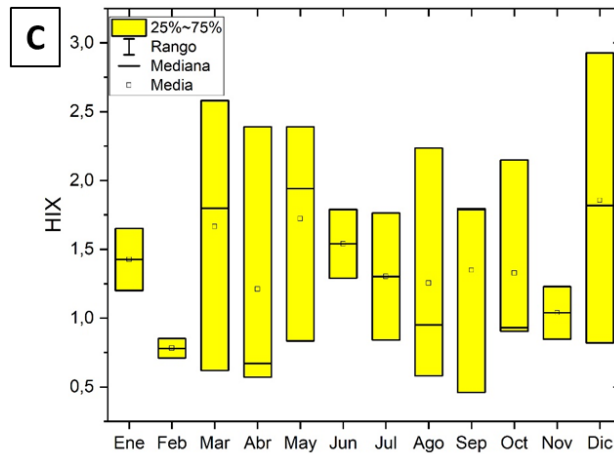
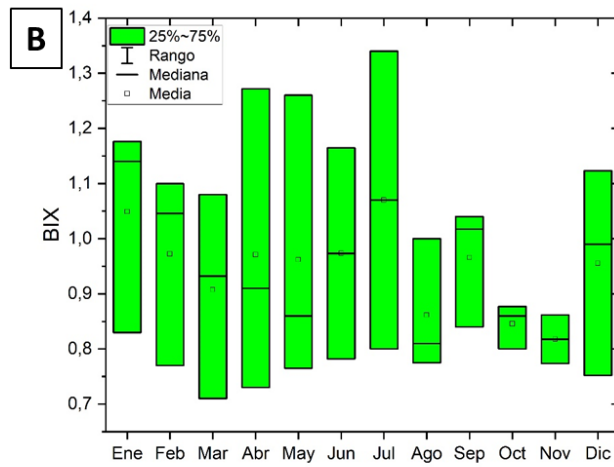
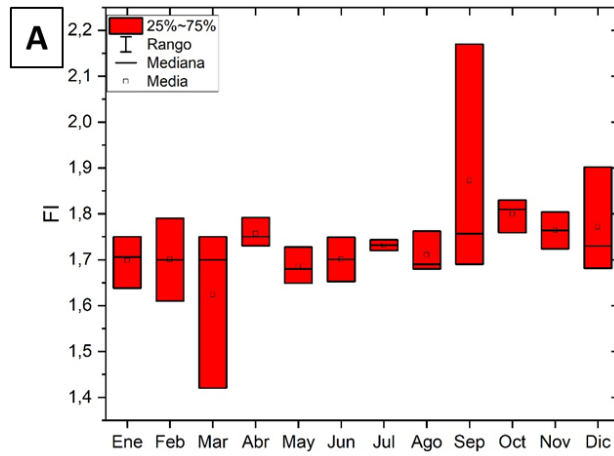


Figura 1.9: Variación mensual de los índices durante el período de estudio. A: FI; B: BIX; C: HIX.

1.5 Conclusiones

En este capítulo se desarrolló un estudio hidroquímico para evaluar la calidad del agua de la cuenca del VBRC.

Según el análisis cualitativo y cuantitativo realizado en la cuenca se obtuvieron los siguientes resultados:

Los valores obtenidos para los iones presentan una tendencia prácticamente constante en cuanto a su composición, siendo los cationes mayoritarios calcio y sodio, y los aniones, sulfatos y cloruros.

De acuerdo al diagrama de Piper las aguas se categorizan mayoritariamente dentro de la familia sulfatada y/o clorurada cálcica o magnésica.

Según la Comisión Nacional del Medio Ambiente las muestras analizadas fueron catalogadas como agua salobre.

Conforme al nomograma de Riverside el agua de esta zona puede utilizarse para el riego en suelos con buen drenaje, como los que presenta la región, y en cultivos con tolerancia a la salinidad.

En cuanto a la clasificación según el IWQI fueron clasificadas como agua sin restricciones de uso.

Por otro lado, según Ayers & Westcot, se estableció que el agua de la estación Paso Alsina afectaría de manera importante a la producción de ciertos cultivos.

Los índices obtenidos a partir de los espectros de fluorescencia de la materia orgánica disuelta, indican que la estación Paso Alsina es un sitio de actividad biológica elevada, con material de bajo grado de humificación procedente de procesamiento microbiano autóctono.

Cabe de destacar que debido a la escasez hídrica es necesario continuar monitoreando su aptitud, a fin de analizar tendencias y predecir limitantes de uso, abogando por la salud de los suelos, la economía del sector y la sustentabilidad agroalimentaria.

1.6 Bibliografía

- [1] Sili M., Kozel, A., Bustos Cara, R., 2015. La región del Colorado. Historia, cultura y paisaje en la frontera. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. 216p.
- [2] Romero, E., Le Gendre, R., Garnier, J., Billen, G., Fisson, C., Silvestre, M., Riou, P., 2016. Long-term water quality in the lower Seine: lessons learned over 4 decades of monitoring. *Environ. Sci. Policy* 58, 141–154.
- [3] Zhang, J., Li, S., Dong, R., Jiang, C., Ni, M., 2019. Influences of land use metrics at multi-spatial scales on seasonal water quality: a case study of river systems in the Three Gorges Reservoir Area, China. *J. Clean Prod.* 206, 76–85.
- [4] Badeenezhad, A., Tabatabaee H., Nikbakht H., Radfard, M., Abbasnia, A., Baghapour, M., Alhamd M., 2020. Estimation of the groundwater quality index and investigation of the affecting factors their changes in Shiraz drinking groundwater, Iran. *Groundwater for Sustainable Development*, 11 100435.
- [5] El Bilali, A., Taleb, A., Brouziyne, Y., 2021. Groundwater quality forecasting using machine learning algorithms for irrigation purposes. *Agricultural Water Management* 245 106625.
- [6] Khalaf, R., Hassan, W., 2013. Evaluation of irrigation water quality index (IWQI) for al-dammam confined aquifer in the west and southwest of Karbala city, Iraq. *International Journal of Civil Engineering* 2, 3, 21-34.
- [7] Dhayachandhran, K., Jothilakshmi, M., 2021. Quality assessment of ground water along the banks of Adyar river using GIS. *Materials Today: Proceedings* 45 (7) 6234-6241.
- [8] Zahedi, S., 2017. Modification of expected conflicts between Drinking Water Quality Index and Irrigation Water Quality Index in water quality ranking of shared extraction wells using Multi Criteria Decision Making techniques. *Ecological Indicators* 83 368–379.
- [9] Abbasnia, A., Yousefi, N., Hossein Mahvi, A., Nabizadeh, R., Radfard, M., Yousefi M., Alimohammadi M., 2018. Evaluation of groundwater quality using water quality index and its suitability for assessing water for drinking and irrigation purposes: Case study of Sistan and Baluchistan province (Iran), *Human and Ecological Risk Assessment*.
- [10] Fuentes Rivas, R.M., 2016. Desarrollo de una metodología con fluorescencia 3D para la caracterización de la materia orgánica disuelta en el subsuelo.

Instituto Potosino de investigación científica y tecnológica. San Luis Potosí, Mexico.

[11] Thurman, E.M., 1985. Developments in Biogeochemistry Organic Geochemistry of Natural Waters, XII+497P pp., Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers.

[12] Zsolnay, A., 2003. Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. *Geoderma* 113 187–209.

[13] Leenheer, J.A., Croué, J.-P., 2003. Characterizing aquatic dissolved organic matter, *Environ. Sci. Technol.*, 37 (1), 18A-26A.

[14] Mostofa, K. M. G., C.-q. Liu, M. A. Mottaleb, G. Wan, H. Ogawa, D. Vione, T. Yoshioka, F. Wu, 2013. Dissolved Organic Matter in Natural Waters, in *Photobiogeochemistry of Organic Matter: Principles and Practices in Water Environments*, edited by K. M. G. Mostofa, T. Yoshioka, M. A. Mottaleb and D. Vione, pp. 429-559, Springer Berlin Heidelberg.

[15] Feng, L., Zhang, J., Fan, J., Wei, L., He, S., Wu, H., 2022. Tracing dissolved organic matter in inflowing rivers of Nansi Lake as a storage reservoir: Implications for water-quality control. *Chemosphere*, 286, Part 1, 131624.

[16] Chen, M., Jung, J., Lee, Y., Kim, T., Hur, J., 2019. Production of tyrosine-like fluorescence and labile chromophoric dissolved organic matter (DOM) and low surface accumulation of low molecular weight-dominated DOM in a productive Antarctic sea. *Marine Chemistry*, 213 40-48.

[17] Catalán N, Obrador B, Felip M, Pretus JL, 2013. Higher reactivity of allochthonous vs. autochthonous DOC sources in a shallow lake. *Aquat Sci* 75:581–593.

[18] Amaral, V., Graeber, D., Calliari, D., Alonso, C., 2016. Strong linkages between DOM optical properties and main clades of aquatic bacteria. *Limnol Oceanogr* 61:906–918.

[19] Nelson, N.B., Siegel D.A., Carlson C.A., Swan C., Smethie Jr W.M., 2007. Hydrography of chromophoric dissolved organic matter in the North Atlantic. *Deep Sea Research I* 54: 710 – 731.

[20] Spencer R.G.M., Ahad J.M.E., Baker A., Cowie G.L., Ganeshram G., Upstill – Goddard R.C., Uher G., 2007a. The estuarine mixing behaviour of peatland derived dissolved organic carbón and its relationship to chromophoric dissolved

organic matter in two North Sea estuaries (UK). *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 74: 131 – 144.

[21] Gallettia, Y., Gonnellia, M., Retelletti Brogia, S., Vestria, S., Santinellia, C., 2019. DOM dynamics in open waters of the Mediterranean Sea: New insights from optical properties. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 144, 95-114.

[22] Cory R.M., McKnight D.M., 2005. Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinines in dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*. 39: 8142 – 8149.

[23] Cory R.M., Miller M.P., McKnight D.M., Guerard J.J., Miller P.L., 2010. Effect of instrument-specific response on the analysis of fulvic acid fluorescence spectra. *Limnol. Oceanogr.: Methods* 8: 67 – 78.

[24] Chaves, R., Figueredo, C., Boëchat, L., Marques de Oliveira, J., Gückerc, B., 2020. Fluorescence indices of dissolved organic matter as early warning signals of fish farming impacts in a large tropical reservoir. *Ecological Indicators* 115, 106389.

[25] Zsolmay A., Baigar E., Jimenez M., Steinweg B., Saccomandi F. 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere*. 38: 45 – 50.

[26] Hansen, A., Kraus, T., Pellerin, B., Fleck, J., Downing, B., Bergamaschi, B., 2016. Optical properties of dissolved organic matter (DOM): Effects of biological and photolytic degradation. *Limnology and Oceanography* 61(3):1015-1032.

[27] Huguet L., Vacher S., Relexans S., Saubuss J.M., Parlanti E., 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geoch.* 40: 706–719.

[28] Wilson H.F., Xenopoulos, M.A., 2009. Effects of agricultural land use on the composition of fluvial dissolved organic matter. *Nature Geoscience*. 2: 37–41.

[29] Standard Methods, For the Examination of Water and Wastewater, 22nd edition, (2012).

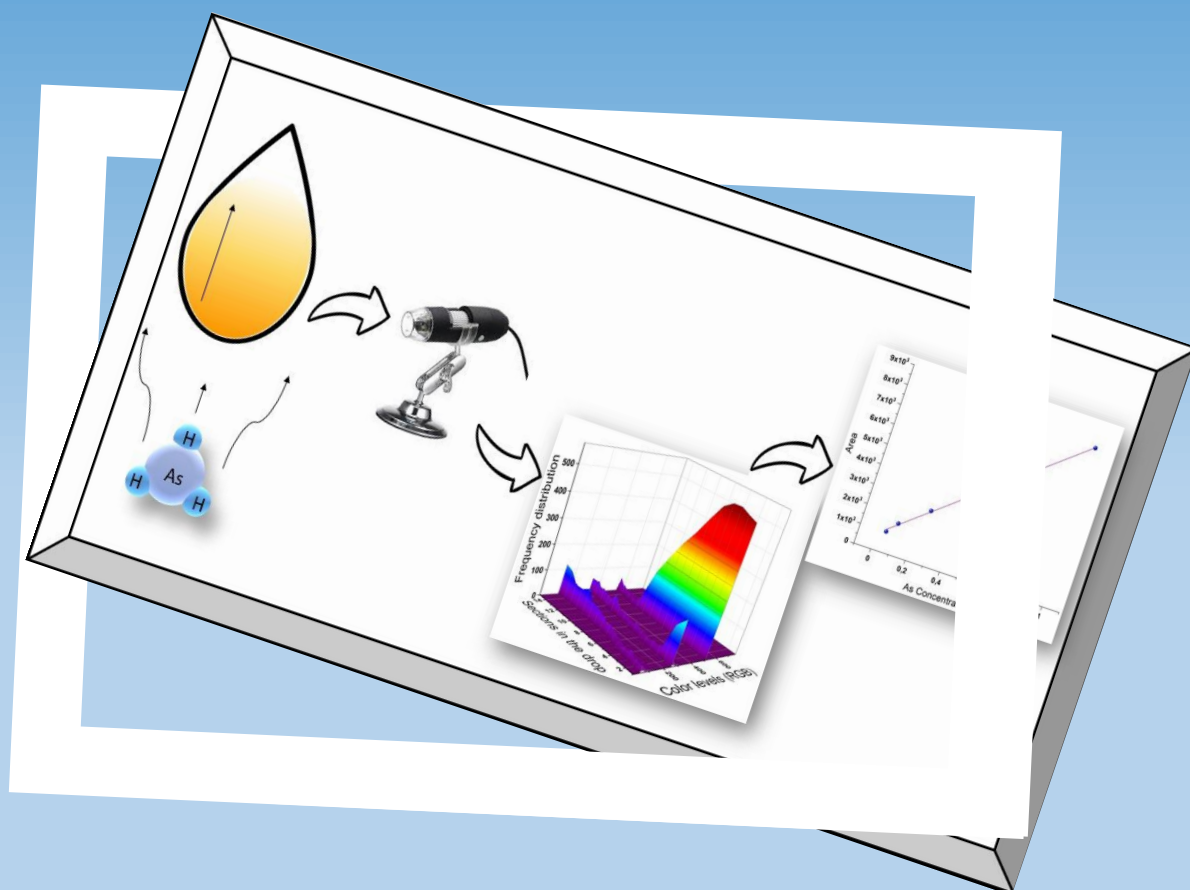
[30] Meireles, A., de Andrade, E., Guerreiro Chaves, L., Frischkorn H., Araujo Crisostomo, L., 2010. A new proposal of the classification of irrigation water. *Revista Ciência Agronômica*, 41 (3), 349-357.

[31] Ayers, R., Westcot, D., 1999. *A Qualidade da Água na Agricultura*. 2. ed. Campina Grande: UFPB, 1999. 218 p.

- [32] FAO Water quality for agriculture, 1994. Water Quality for Agriculture, Irrigation and Drainage (by Ayers R S., Westcot, D W), Rome, Paper No. 29. Rev. 1, M-56. ISBN 92-5-102263-1. <http://www.fao.org/3/t0234e/t0234e00.htm>
- [33] Larsson, T., Wedborg, M., Turner, D., 2007. Correction of inner-filter effect in fluorescence excitation-emission matrix spectrometry using Raman scatter- Volume 583, Issue 2, 5 February 2007, Pages 357-363.
- [34] Giri, S., Singh, A.K., 2014. Assessment of surface water quality using heavy metal pollution index in Subarnarekha River, India. Water Quality, Exposure and Health 5 (4) 173-182.
- [35] Sánchez, R., Dunel Guerra, L., 2017. Salinidad y sodicidad de suelos bajo riego en zonas áridas y semiáridas y su efecto sobre los cultivos. Ambientes salinos y alcalinos de la Argentina: recurso y aprovechamiento productivo. Editores Edith Talesisnik- Raul S. Lavado. Sección 2-10, pág. 227-248.
- [36] Isla, F.I., Espinosa, M.A., 2021. Misfit rivers under ENSO regimes: The deactivation of the Colorado River system of Argentina. Journal of Arid Environments 188 (2021) 104474.
- [37] Torres Duggan, M., Álvarez, C., y Rimski Korsakov, H., 2017. Evaluación de la calidad del agua y del suelo regado en forma complementaria en la región pampeana argentina. Informaciones Agronómicas de Hispanoamérica 25 17-23.
- [38] Alcalde R., 2019. Programa Integral De Calidad De Aguas Del río Colorado. Subprograma calidad del medio acuático. Comité Interjurisdiccional del río Colorado. Secretaría de Gobierno de Energía de la Nación. Grupo Interempresario. Informe final año 2019.
- [39] Wilson Beita Sandí, 2008. "Caracterización fisicoquímica de las aguas superficiales de la cuenca del río Rincón en la Península de Osa, Puntarenas, Costa Rica"- Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, San Pedro de Montes de Oca.
- [40] Bitencourt, E., Almeida, K., Santos, L., Júnior, A., 2019. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la influencia de los residuos en la calidad del agua del río Tocantins, banco izquierdo (MARAB-PA). Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. año 04, Ed. 06, Vol. 11 05-26. ISSN:2448-0959
- [41] Richards L., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Agricultural hand book 60. U.S. Dept. of Agriculture, Washington D.C., 160 pág.

CAPÍTULO 2

Cuantificación de arsénico en aguas naturales. Generación de datos de segundo orden basados en CVAC



LICENCIADO EN QUÍMICA FEDERICO DANILO VALLESE

Universidad Nacional del Sur

2.1 Introducción

2.1.1 El arsénico

El arsénico pertenece al grupo de los metaloides y aparece naturalmente en la atmósfera, en rocas y/o suelos, en la hidrosfera y la biosfera. Es movilizado al medio ambiente a través de una combinación de procesos que incluyen tanto procesos naturales (meteorización, actividad biológica, emisiones volcánicas), así como procesos antropogénicos (actividad minera, empleo de combustibles fósiles, pesticidas). Generalmente está presente en aguas naturales como oxoanión en sus dos estados de oxidación, arsenito (As(III)) y arseniato (As(V)). El estado de oxidación y su movilidad en las esferas ambientales están controlados fundamentalmente por las condiciones redox y el pH. El fenómeno de la existencia de contenidos altos de arsénico de origen natural en las aguas está controlado principalmente por los siguientes factores: la fuente primaria (geosfera y atmósfera), los procesos de movilización/retención entre la fase sólida y la fase líquida, y su transporte en el ambiente [1].

Los dos procesos geoquímicos que controlan la movilización de arsénico al agua son: reacciones de adsorción-desorción y coprecipitación-codisolución. En ambientes naturales el arsenito y el arseniato pueden ser adsorbidos por una amplia variedad de compuestos como son óxidos de hierro, manganeso y aluminio, arcillas y materia orgánica. La desorción del arsénico adsorbido en la fase sólida está condicionada por los cambios en el pH, reacciones redox y/o desplazamientos, y los cambios en la estructura cristalina de la fase sólida [1].

En aspectos generales los contenidos de arsénico en ríos son relativamente bajos, inferiores a $0,80 \mu\text{g L}^{-1}$ aunque pueden variar dependiendo de factores como recarga (superficial y subterránea), litología de la cuenca, drenaje de zonas mineralizadas, clima, actividad minera y vertidos urbanos o industriales. Por ejemplo, en áreas de clima árido, el aumento de la concentración de arsénico en las aguas superficiales se ve favorecido por procesos de evaporación, que además provocan un aumento en la salinidad y el pH de las aguas.

Las aguas superficiales habitualmente tienen bajo contenido de arsénico. La concentración de As en aguas naturales, incluyendo las aguas en mar abierto, oscila entre $1,0$ y $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$ [2,3].

Otra fuente de arsénico en el medio ambiente es la actividad humana, estimándose que cerca del 70% del flujo del arsénico a la atmósfera tiene un origen antropogénico [4]. Los productos generados por el hombre incluyen el arsénico metálico, compuestos arsenicales orgánicos, As_2O_5 , As_2O_3 , $(AsO_4)_2Ca_3$, $(AsO_4)_2Pb_3$, etc. Estos pasan al ambiente durante su empleo como insecticidas o herbicidas, en diversos cultivos. También pueden emplearse como esterilizantes de suelos, como preservantes de maderas o como antiparasitarios en baños para la ganadería, entre otros [5].

En Argentina, además del aporte antropogénico, la presencia de arsénico está ligado a condiciones oxidantes en los climas áridos. El arsénico procede de la desorción de óxidos e hidróxidos de hierro y manganeso en medios muy alcalinos. También el arsénico en las aguas se origina debido a la disolución de vidrio volcánico. El agua en los acuíferos de la Argentina tiene condiciones oxidantes predominantemente, la mayor parte del arsénico en el agua se encuentra como As(V). El pH oscila entre 7,00 y 8,70, la salinidad es alta y la concentración de arsénico se correlaciona con los contenidos en fluoruro, vanadio, bicarbonato, boro, y molibdeno [6,7].

En aspectos generales las mayores concentraciones de arsénico se originan en las aguas bicarbonatadas y de baja dureza. Existe una mayor movilidad del arseniato en aguas con altas concentraciones de bicarbonatos y pH mayores a 7,50 [5]. Por ejemplo, en la Llanura Chaco-pampeana se han detectado rangos de concentración de As que varían desde 1 a 5300 $\mu g L^{-1}$ [8].

El arsénico es extremadamente tóxico por bioacumulación, incluso en concentraciones muy bajas. La absorción del arsénico inorgánico en el organismo depende de la vía de ingreso, del tamaño de partícula y del tipo de compuesto (solubilidad). Las exposiciones de este metaloide prolongadas en el tiempo son extremadamente nocivas para la salud humana: diversos tipos de cáncer, patologías cardiovasculares, diabetes, anemia, y alteraciones en las funciones reproductoras, inmunológicas, neurológicas y del desarrollo [1,9].

Existen más de veinte compuestos de arsénico conocidos en medios biológicos [10]. Las especies inorgánicas de As(III) como el arsenito se consideran como las más tóxicas, seguidas por las especies inorgánicas de As(V) como el arseniato y luego las formas orgánicas como el ácido dimetilarsínico y ácido monometilarsónico [11].

La alta toxicidad del As(III) afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo, debido al consumo de agua potable con concentraciones elevadas de arsénico [12-15]. En 1993, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció un límite máximo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ en el agua potable, que fue adoptado por la Unión Europea y la EPA de EE. UU. [8,16].

2.1.2 Métodos espectrofotométricos para la determinación de arsénico

En base a la búsqueda bibliográfica, la mayoría de los procedimientos analíticos basados en generación de hidruros y diferentes técnicas espectrométricas son adecuados para el análisis de diferentes formas del arsénico en matrices ambientales.

Las técnicas de espectrometría atómica son una excelente herramienta analítica para la determinación de los elementos traza en muestras ambientales. Sin embargo, debido a la alta volatilidad del arsénico existe una serie de problemas tanto instrumentales como experimentales que limitan la sensibilidad de la determinación en el procedimiento convencional de introducción de la muestra. La gran mayoría de los métodos espectrales para determinación de arsénico se basa en la formación de arsina (AsH_3). La generación de arsina de una disolución de arsénico puede llevarse a cabo utilizando diferentes agentes reductores. La reacción de generación de arsina con diferentes agentes reductores es selectiva para un estado de oxidación de arsénico (As(III)), ya que la cinética de generación desde la solución de As(V) es mucho más lenta. La generación de arsina con el borohidruro de sodio depende fuertemente del pH. Se pueden seleccionar las condiciones de pH adecuadas para generar arsina selectivamente de As(III) o no-selectivamente, es decir de arsénico presente en sus dos estados de oxidación.

Los métodos espectrofotométricos UV-Vis para determinar As(III) y As(V), se basan principalmente en la formación de un complejo de tris-dietilditiocarbamato de arsénico (As(DDTC)_3) [17], y tienen la ventaja de ser de bajo costo y ofrecer límites de detección adecuados para la determinación de arsénico en aguas para consumo humano. Sin embargo, utilizan un mayor volumen de reactivos, muestras y tienen una menor reproducibilidad [17,18].

Por otro lado, la mayoría de las técnicas analíticas para la determinación de concentraciones de arsénico por debajo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ se basan en

espectroscopía atómica de generación de hidruros con espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) o espectrometría de fluorescencia atómica (AFS) [17,19-23]. Estas técnicas analíticas requieren equipos costosos y generalmente son realizadas por un analista experimentado. Por otro lado, se han reportado varios métodos en flujo para la determinación de As(III) y As(V). Jian-bo Shi y col. propusieron un procedimiento de extracción de arsénico en suelos donde el As(III) y el As(V) se determinaron mediante generación de hidruros y espectrometría de fluorescencia atómica (AFS) [24]. En 2009, Belén E. Ramirez Cordero y col. determinaron As(V), As(III) y P (V) en relaves mineros mediante un método en flujo con inyección secuencial y detección espectrofotométrica basado en el estudio de la cinética de reacción de la formación del complejo con azul de molibdeno a diferentes temperaturas [25]. J.Y. Neira propuso en 2005 una metodología en flujo para la determinación de As(III) en aguas naturales mediante un sistema de separación y preconcentración en línea acoplado a un atomizador tipo bobina de tungsteno y espectrometría de absorción atómica [26].

2.1.3 Dispositivos microfluídicos basados en gotas

Los dispositivos de microfluidos basados en gotas en general tienen la ventaja de trabajar con volúmenes de muestras del orden de nanolitros a microlitros, lo que aumenta la sensibilidad, la especificidad y la cuantificación de analitos en reacciones químicas heterogéneas. Al mismo tiempo, estos sistemas proporcionan una forma eficiente de generar gradientes de concentración, manteniéndolos discretos y confinados en microgotas muy estables [27-30]. Los métodos analíticos automatizados que utilizan microfluidos basados en gotas e imágenes digitales son un campo científico relativamente nuevo y en rápida evolución centrado en el estudio de la hidrodinámica y las propiedades de los flujos bifásicos a microescala, y en el desarrollo de la conmutación múltiple para aplicaciones prácticas en química, biología y ciencia de los materiales [31-33].

2.1.4 Imágenes digitales

Una imagen digital es una representación de una escena real en dos dimensiones de una imagen basada en una matriz numérica binaria. El proceso de digitalización para crear una imagen implica pasos de muestreo y

discretización de la información y posteriormente, el uso de un modelo de color generalizado para la reconstrucción de imágenes. Existen diferentes modelos de color tales como EG, RGB, HSV, entre otros. Si hablamos del modelo RGB una base vectorial ortogonal define este espacio de color. Cada color está representado por un punto en este espacio, caracterizado por las coordenadas R, G, B. Cada color primario se almacena en 8 bits, los colores mezclados son combinaciones de los colores primarios y son almacenados usando 25 bits. El origen en el sistema de coordinación (0, 0, 0) representa la ausencia de color y está relacionado con el negro. Por otro lado (255, 255, 255) corresponde al blanco y representa la máxima intensidad de color [34].

Considerando una imagen de resolución espacial de 50 × 50 píxeles, cada píxel corresponde a un valor de color dentro de las coordenadas RGB. La inspección de cada píxel permite obtener un histograma de color, o sea, información multivariante por imagen. Si cada imagen está relacionada con la I-ésima muestra, los histogramas se ordenarán en una matriz X (I × 768).

2.1.5 Órdenes de los datos obtenidos

Según la información analítica obtenida, un conjunto de datos se puede categorizar como datos de cero, primero, segundo o de varios órdenes (Figura 2.1) [35]. Los datos de orden cero se relacionan con un valor instrumental por muestra, generando un modelo univariado. Los datos de primer orden corresponden a un vector de información por muestra, por ejemplo, un espectro, un voltamograma o un cromatograma. A su vez, los datos de segundo orden corresponden a la función de una respuesta analítica compuesta de dos modos instrumentales X (s_i, s_j). Sin embargo, cada valor de la señal (x) está definido por las coordenadas en el modo instrumental 1 (s_i) y modo instrumental 2 (s_j). Todas las señales obtenidas están organizadas en una matriz X_{ij}. Un aumento de la información registrada conduce a un aumento de la complejidad matemática de los modelos, pero también ofrece importantes ventajas analíticas.

	Orden cero	Primer orden	Segundo orden
Una muestra	 Escalar	 Vector	 Matriz
Conjunto de muestras	 Una vía	 Dos vías	 Tres vías
Calibración			

Figura 2.1. Esquema del orden de los datos y sus respectivas calibraciones. Fuente: Pagani, A., 2019.

La calibración multivariada consta de dos etapas: primero se analizan los datos experimentales, separando las señales de los diferentes analitos y las de los interferentes (etapa resolución), obteniéndose de esta manera la información de las concentraciones comprimidas en el vector de los scores. Luego, en la etapa de calibración, los scores obtenidos anteriormente se relacionan con las concentraciones nominales de los analitos de las muestras de calibración, lo que permite predecir las concentraciones de los analitos en la muestra incógnita [36-38].

2.1.6 Datos provenientes de imágenes digitales

Una reacción se puede monitorear con un video digital si da lugar a la formación de productos con cambio de color (Reactivos (R) → Productos (P)) (Figura 2.2A). En el video, el cambio en el color de la muestra se representa mediante la descomposición en una secuencia de fotogramas con una frecuencia predefinida (Figura 2.2B). En la muestra, se determina y procesa una región de interés (ROI)

para obtener los histogramas de color (Figura 2.2C y 2.2D). La interpretación de los histogramas relativos al tiempo permite obtener una matriz ($j \times 768$, ver Figura 2.2E).

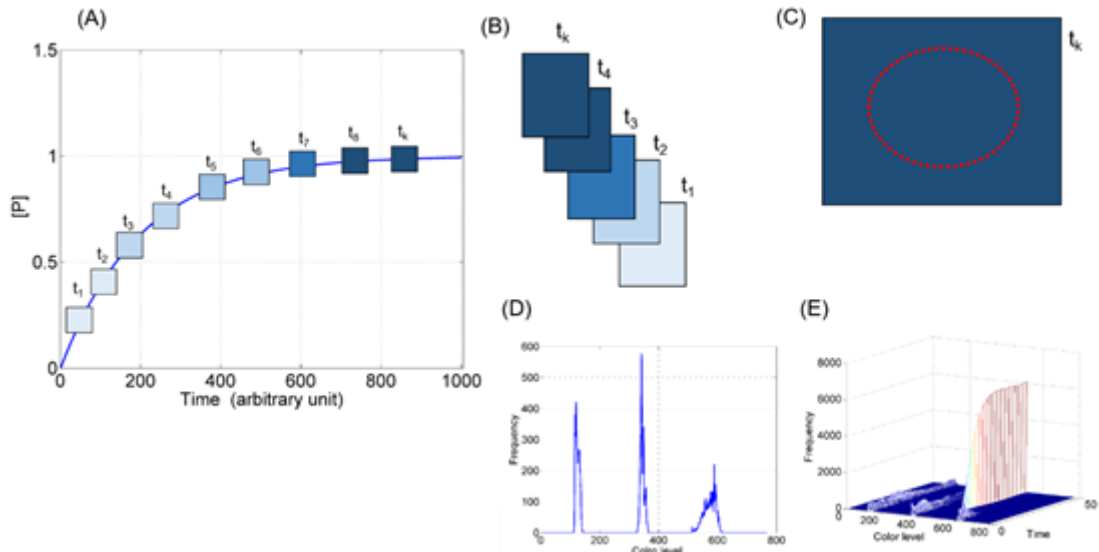


Figura 2.2: Diagrama esquemático de los datos de segundo orden basados en CVAC.

Los resultados preliminares muestran que los datos de la imagen no son trilineales. La ruptura trilineal se produce debido a distorsiones del modo de tiempo (cinético) de muestra a muestra, pero las matrices individuales son bilineales. En este escenario, la estructura matricial aumentada de la resolución de curva multivariante (MCR) de mínimos cuadrados alternos (ALS) es compatible con los datos registrados.

2.1.7 MCR-ALS

Brevemente, MCR es un método de descomposición bilineal de acuerdo con la ley de Beer. Se puede representar matemáticamente, para una sola matriz como:

$$\mathbf{D}_{(j \times 768)} = \mathbf{C}_{(j \times A)} * \mathbf{H}_{(A \times 768)}^T + \mathbf{E}_{(j \times 768)}$$

Dónde \mathbf{D} ($j \times 768$) es la matriz de histogramas en diferentes puntos de tiempo del video. \mathbf{C} ($j \times A$) y \mathbf{H}^T ($A \times 768$) están relacionados con la concentración del producto en la muestra y el perfil de histogramas obtenido por MCR teniendo en cuenta los A factores, que se estiman a través del análisis de componentes principales (PCA). \mathbf{E} ($j \times 768$) está relacionado con información no modelada. Para

un conjunto múltiple, **Daug** se obtiene organizando cada matriz **D** en modo aumentado por columnas. En cuanto a las restricciones, a priori, ambos modos cumplen con la no negatividad, pero solo el modelo cinético es unimodal [39,40]. Como ambas matrices, **C** ($j \times A$) y **H^T** ($A \times 768$) son desconocidas, la inicial estimada de **H** se puede obtener utilizando el enfoque de variables puras. Por lo tanto, los pasos iterativos a través de ALS se realizaron bajo las restricciones mencionadas anteriormente. Después de la convergencia de ALS, los scores de MCR se utilizan en la construcción de un modelo de calibración pseudounivariante.

2.1.8 CVAC y datos de segundo orden

Durante los últimos años, el análisis en flujo junto con el uso de imágenes digitales y herramientas quimiométricas, ha ganado gran prominencia en la literatura [41,42]. Dado que las imágenes se pueden capturar fácilmente con varios dispositivos electrónicos, como cámaras digitales, cámaras web y teléfonos inteligentes, se ha informado que las mediciones de color utilizando imágenes y videos son una herramienta útil en el desarrollo de un enfoque analítico llamado: método analítico basado en visión por computadora (CVAC) [43]. El uso de imágenes y datos de primer orden ya se emplearon en el análisis cuantitativo en diferentes campos [44-47]. Sin embargo, CVAC junto con datos de segundo orden no ha sido utilizado hasta el momento. Una de las ventajas de los datos de segundo orden es hacer predicciones de las concentraciones de los analitos en presencia de interferencias [43,48].

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivos generales

El objetivo de este capítulo fue el desarrollo de nuevas metodologías analíticas basadas en adquisición de datos de segundo orden provenientes del empleo de imágenes digitales, para la determinación de arsénico en muestras de aguas naturales, con la finalidad de alcanzar menores límites de detección, reducir los costos y tiempos de análisis, con respecto a las técnicas convencionales.

2.2.2 Objetivos específicos

En este capítulo se proponen dos métodos automatizados Flow-batch, empleando por primera vez el método analítico basado en visión por computadora (CVAC) junto con datos de segundo orden para registrar cambios de color en el interior de una gota.

- ✓ En el método cinético-color se registran histogramas de color en el interior de una gota en función del tiempo.
- ✓ En el método de gradientes por concentración se registran los histogramas de color generados en el interior de una gota a tiempo fijo.

En ambos casos, los datos son procesados empleando el modelo quimiométrico MCR-ALS, para la cuantificación de arsénico en aguas del VBRC.

2.3 Materiales y métodos

Los items 2.3.1 a 2.3.5 son comunes a los métodos cinético y de gradientes.

2.3.1 Reactivos y soluciones

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica y las soluciones se prepararon usando agua ultra pura ($18,3 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$).

- ✓ La solución estándar de As(III) ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) se preparó utilizando una solución madre de As_2O_3 ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, Cica-Merck, Buenos Aires, Argentina).
- ✓ La solución estándar de As(V) ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) se preparó utilizando hidrogenoarseniato de sodio heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) (Mallinckrodt, St. Louis, EE. UU.).
- ✓ Se prepararon soluciones de borohidruro de sodio (NaBH_4) al 0,3 y 0,5% m v^{-1} (Biopack, Buenos Aires, Argentina) en NaOH al 0,05% m v^{-1} (Anedra, Buenos Aires, Argentina).
- ✓ La solución buffer de ácido acético/acetato de sodio (0,2 M) se preparó utilizando ácido acético glacial (Mallinckrodt, St. Louis, EE. UU.) y acetato de sodio (Cicarelli, Santa Fé, Argentina).
- ✓ Se preparó una solución buffer de ácido cítrico/citrato de sodio (0,2 M) utilizando ácido cítrico (Timper, Buenos Aires, Argentina) y NaOH (Anedra, Buenos Aires, Argentina).
- ✓ Se empleó una solución de dietilditiocarbamato de plata (AgDDTC) al 0,1% m v^{-1} (Sigma-Aldrich, Buenos Aires, Argentina) en piridina (Mallinckrodt, St. Louis, EE. UU.).
- ✓ Se utilizó ácido nítrico (2M, Anedra, Buenos Aires, Argentina) para acidificar las muestras.
- ✓ Se utilizó ácido nítrico (2% v v^{-1} , Anedra, Buenos Aires, Argentina) y agua desionizada para limpiar el sistema.

2.3.2 Muestras utilizadas

Las muestras utilizadas para el desarrollo del método cinético-color fueron obtenidas en la estación Paso Alsina ($39^\circ 22' \text{ S}$ y $63^\circ 14' \text{ O}$), que representa la entrada de agua al VBRC (Figura 2.3).

Para el método de gradientes por concentración se tomaron muestras en 3 estaciones diferentes ubicadas alrededor de ese sitio: estación Paso Alsina (39° 22' S y 63° 14' O), estación Toma 1 (39° 25' S y 63° 6' O) y la estación Pedro Luro (39° 31' S y 62° 40' O) (Figura 2.3). Los sitios fueron seleccionados en base a su interacción directa con las vías de exposición humana, a través del agua potable, la producción de cultivos (riego) y el pastoreo de animales.

Todas las muestras se recolectaron en botellas de polietileno previamente lavadas con detergente libre de metales, enjuagadas con agua desionizada, seguido de ácido nítrico al 5 % v/v durante 24 h y finalmente enjuagadas con agua desionizada. Después de la recolección, las muestras fueron transportadas en un refrigerador al laboratorio (Universidad Nacional del Sur).

Allí, las muestras fueron acidificadas a un pH < 2,0 con ácido nítrico (3,0 mL 6M HNO₃/L de muestra) y almacenadas a 4 °C.

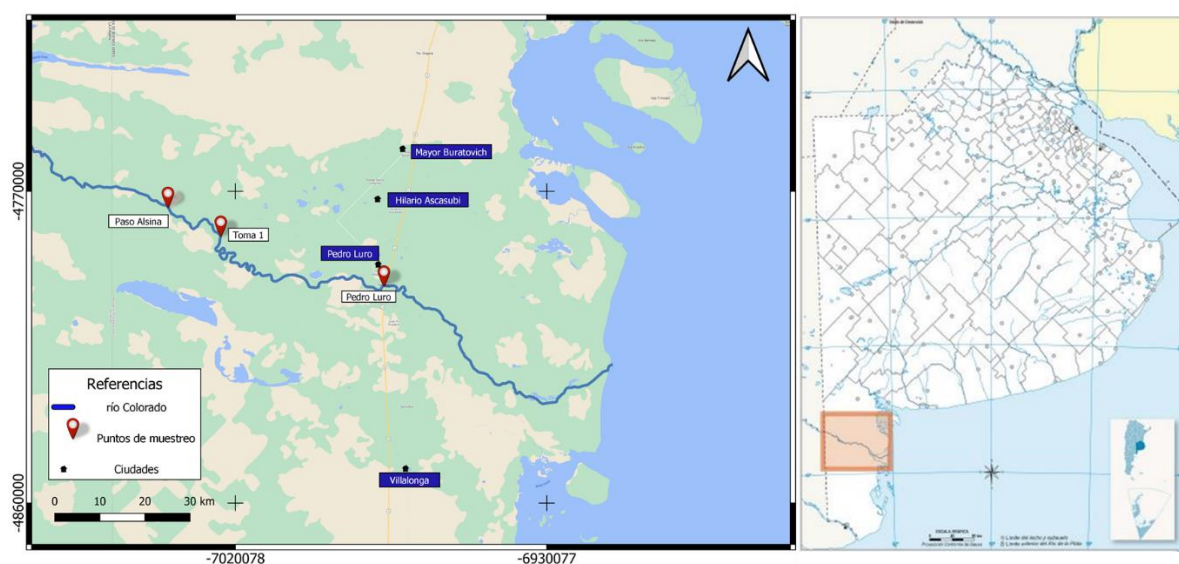
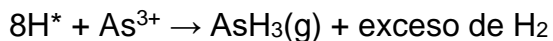
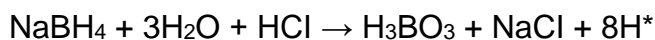


Figura 2.3: Puntos de monitoreo elegidos para la toma de las muestras en el VBRC.

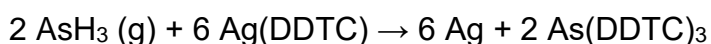
2.3.3 Parte experimental

En este trabajo de Tesis, se diseña un sistema automático Flow-batch para llevar a cabo la determinación de arsénico empleando el fundamento del método espectrométrico UV-Vis de dietilditiocarbamato de plata 3500-As B. ARSENIC según el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (2012) [7]. Este método se basa en transformar el arsénico presente en el agua en arsina (AsH₃ (g)) con la presencia de un agente reductor, en medio ácido. Como

la formación de la arsina es selectiva se logra la separación de arsénico de la matriz. La generación de arsina empleando borohidruro de sodio como reductor, depende fuertemente del pH [49]. La reacción de desplazamiento es la siguiente:



En una segunda instancia, la arsina generada reacciona con el dietil ditiocarbamato de plata Ag(DDTC) en piridina, generando un complejo As(DDTC)₃ de color amarillo rojizo. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de arsénico presente en la muestra que se mide espectrofotométricamente a 540 nm.



El método desarrollado en esta Tesis se basa en la formación de una gota de AgDDTC y la generación de AsH₃ in situ, a través de la reducción del arsenito de la muestra con borohidruro de sodio a pH 5,50. El gas arsina difunde y reacciona en la gota de AgDDTC dando lugar a un complejo de As(DDTC)₃ de color amarillo rojizo. La gota tiene una alta relación volumen/superficie y ofrece condiciones adecuadas para la reacción con la arsina. El gas arsina queda atrapado en el sistema cerrado, lo que aumenta la reproducibilidad y sensibilidad del método de análisis en comparación con el método de referencia [17]. La detección de arsénico se lleva a cabo en línea sobre la gota suspendida (“lab in a drop”). El cambio de color que ocurre dentro de la gota, se mide in situ mediante análisis con imágenes digitales, que se procesan con herramientas quimiométricas.

2.3.4 Sistema Flow-batch

El sistema Flow-batch desarrollado para este trabajo se observa en la Figura 2.4. Este se compone de:

- Una cámara de reacción de teflón ® (CT) diseñada en el laboratorio que contiene un agitador magnético (AM) para favorecer la reacción química.
- Controlador Flow-batch home made, que integra una bomba peristáltica y un accionador de válvulas (CFB) [51] y tubos de bomba Tygon® para introducir en la cámara la muestra, la solución de borohidruro de sodio y las soluciones de limpieza.
- Bomba peristáltica comercial (BPC) para eliminar los desechos.

- Cuatro electroválvulas de tres vías (V1 V2 V3 V4) (161T031, NRResearch) para controlar la entrada de las diferentes soluciones.
- Bomba de jeringa (BJ) (Thermometric 612 Syringe Pump 2) para generar una gota reproducible de solución de dietilditiocarbamato de plata (AgDDTC) al final del tubo capilar.
- Microscopio digital (DMC) (NSDIMI, USB 2 Mpx, zoom 230X) que se colocó frente a la gota para la obtención de los videos digitales.
- Dos diodos emisores de luz (LEDs) color blanco frío, para obtener una iluminación y una imagen reproducible.

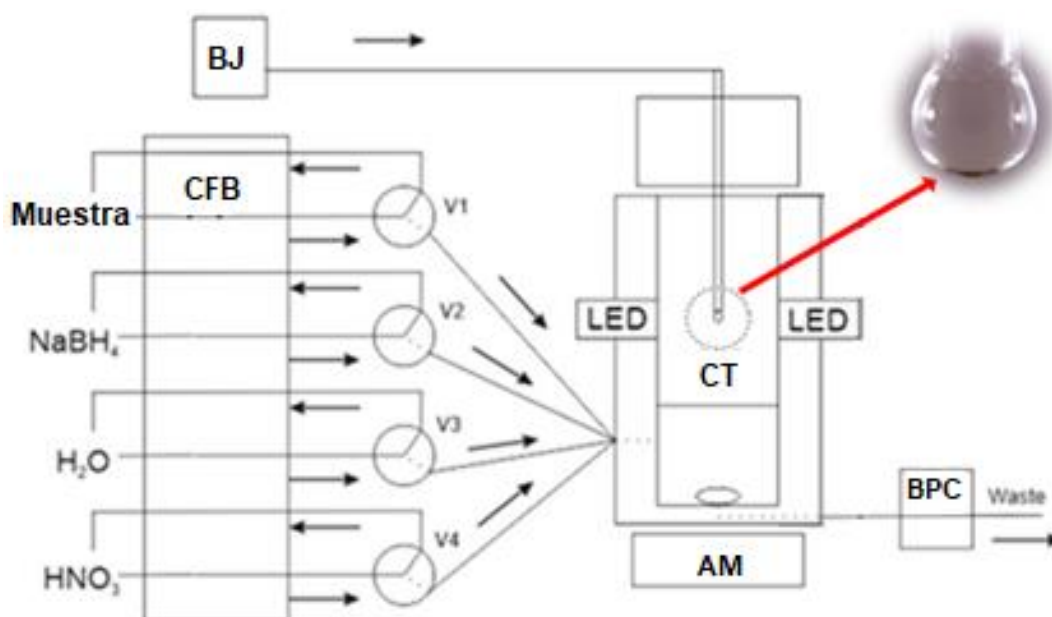


Figura 2.4. Diagrama esquemático del sistema Flow-batch para la determinación de arsénico en aguas naturales.

La cámara de reacción utilizada en este trabajo fue diseñada en el laboratorio y se muestra en la Figura 2.5. La misma posee un diámetro interno de 11,58 mm y una altura de 58,50 mm y posee una tapa a rosca en la parte superior que contiene un tubo capilar de vidrio. Dicho capilar tiene un diámetro interno y externo de 0,90 mm y 1,50 mm respectivamente y en su extremo inferior se forma la gota suspendida. Asimismo, la cámara presenta tres ventanas de vidrio de 8,80 mm de diámetro dispuestas a 90° entre sí que permiten visualizar la gota formada. En la parte inferior posee orificios, que son empleados para el ingreso de la muestra y reactivos, y para la salida de los desechos.

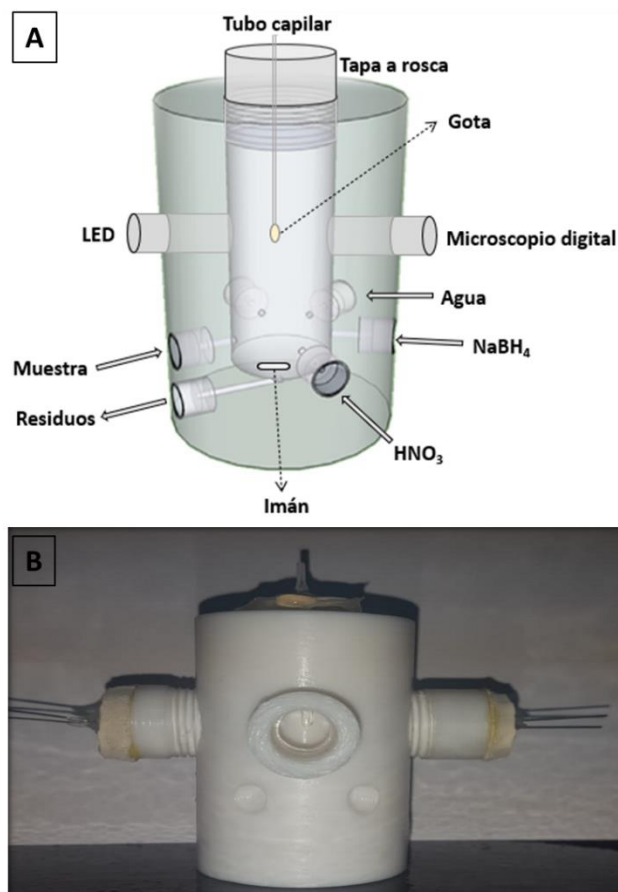


Figura 2.5: Cámara de reacción. a) esquema; b) Imagen frontal

2.3.5 Adquisición de imágenes digitales y procedimientos quimiométricos

La reacción en la gota fue monitoreada durante los tiempos establecidos para ambos métodos, a través de videos. A partir del uso del programa gratuito disponible en Internet Free Video to JPG Converter, estos videos fueron convertidos en imágenes (almacenadas en formato JPG con dimensiones de 640 x 480 píxeles), obteniendo 50 fotogramas por cada video. Se utilizó el programa ChemoStat® para finalmente obtener imágenes de 150 x 150 píxeles.

El análisis de los datos de la imagen se realizó con Matlab® 2010a (Mathworks Inc.) con la interfaz gratuita "Imagens_gui". Para todas las imágenes, se definió una región circular central como ROI. Esta área se utilizó para construir histogramas de color RGB.

El resto de los cálculos quimiométricos se realizaron en Matlab® 2010 utilizando la interfaz MVC2_GUI, una interfaz gráfica con calibración multivariante de segundo orden disponible en línea gratuitamente [52].

2.3.6 Procedimiento Flow-batch método cinético-color

Antes del análisis, se accionan las válvulas para que la muestra y respectivas soluciones ingresen a los canales que se acoplan a la CT. Luego la solución en la CT es descartada al recipiente de desecho accionando la BPC. Posteriormente, se forma una gota en el extremo del tubo capilar de AgDDTC empleando la BJ. Se enciende el CFB y se ingresan todos los pasos detallados en la Tabla 2.1. Luego se activa V1 durante 36 s para inyectar la muestra en la CT y posteriormente V2 durante 40 s para inyectar la solución de borohidruro de sodio en la CT, con agitación magnética. Luego se procede al registro del video de la gota con el DMC durante 310 s. Finalmente, la CT es lavada con ácido nítrico dos veces, seguido de un enjuague con agua ultrapura cinco veces. Por último, es activada la BPC para desalojar los líquidos de la misma. La Tabla 2.1 muestra el procedimiento de operación del sistema utilizado.

Tabla 2.1: Procedimiento de operación del sistema propuesto.

Pasos	Eventos	Tiempo (s)	CFB (rpm)	Volumen (μL)	Tubo de bomba (mm i.d)
1	Formación de la gota	10	-	26	-
2	Muestra (V_1)	36	16	1000	1,09
3	Borohidruro de Sodio (V_2)	40	2	100	0,95
4	Detección	310	0	-	-
5	Residuos	30	2500	1100	1,00
6*	Ácido Nítrico (V_4)	30	16	640	0,95
7**	Agua (V_3)	30	16	1180	1,30

* se repite dos veces

** se repite cinco veces

2.3.7 Procedimiento Flow-batch método de gradientes

En el siguiente método las condiciones de ingreso de soluciones en los canales, la limpieza de la cámara, la formación de la gota y el ingreso de la muestra a la CT se realiza según lo descrito en el ítem 2.3.6. En este método, la solución de borohidruro de sodio se agrega de forma gradual y continua durante 120 s (V_2) para generar un gradiente de concentración del complejo $\text{As}(\text{DDTC})_3$ en el

interior de la gota. De acuerdo a este procedimiento se obtiene una liberación controlada de arsina, que genera un gradiente de concentración del complejo $As(DDTC)_3$ dentro de la gota que actúa como un sistema discreto de reacción. Este gradiente, que disminuye de la zona inferior hacia la superior, genera un proceso de difusión molecular dentro de la gota. El complejo formado se difunde en la gota, generando una coloración uniforme cuando se alcanza el equilibrio. La evolución de la reacción comienza a monitorearse cuando se finaliza el agregado de la solución de borohidruro de sodio, registrándose los cambios de color en la gota durante 190 s mediante videos obtenidos con el DMC. Una vez finalizada la reacción, se vacía la CT y posteriormente se realiza la etapa de limpieza descrita en 2.3.6, dejando el CT en condiciones para el próximo análisis. La Tabla 2.2 muestra el procedimiento de operación del sistema utilizado.

Tabla 2.2: Procedimiento de operación del sistema propuesto.

Pasos	Eventos	Tiempo (s)	CFB (rpm)	Volumen (μL)	Tubo de bomba (mm i.d)
1	Formación de la gota	10	-	26	-
2	Muestra (V_1)	36	16	1000	1,09
3	Borohidruro de Sodio (V_2)	120	4	100	0,38
4	Detección	190	-	-	-
5	Residuos	30	2500	1100	1,00
6*	Ácido Nítrico (V_4)	30	16	640	0,95
7**	Agua (V_3)	30	16	1180	1,30

* se repite dos veces

** se repite cinco veces

2.4 Resultados y discusión método cinético-color

2.4.1 Optimización de variables

2.4.1.1 Tamaño de la gota y ubicación del capilar

Se probaron varios tamaños de gota, utilizando tubos capilares de diferentes diámetros internos y externos (1,10 mm/1,80 mm, 0,90 mm/1,50 mm y 0,60 mm/1,10 mm) con el objetivo de obtener una gota estable y homogénea.

Finalmente, el tubo capilar óptimo fue el de 0,90 mm/1,50 mm y genera una gota con un volumen de 26 μL .

El tubo capilar contiene la solución de AgDDTC para formar la gota y está ubicado en la zona inferior de la ventana (Figura 2.5), para favorecer el contacto de la gota con el gas arsina debido a su mayor densidad en comparación con el hidrógeno gaseoso.

2.4.1.2 Efecto del pH

Los métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales [17] establecieron una solución buffer de ácido acético/acetato de sodio a pH 6,00 para reducir el arsenito a arsina. Sin embargo, López y col., obtuvieron buenos resultados al reducir el arsenito a arsina en un medio de ácido cítrico/citrato de sodio a pH 4,50 [53].

Por lo tanto, se estudiaron diferentes medios para obtener la mayor intensidad de la señal analítica. Las soluciones buffer probadas fueron ácido acético/acetato de sodio a pH 5,50; 6,00; 6,50 y ácido cítrico/citrato de sodio a pH 4,00 y 4,50.

Con el buffer de ácido cítrico/citrato de sodio se obtuvieron señales de baja intensidad y escasamente reproducibles. Por otro lado, con el buffer de ácido acético/acetato de sodio (pH 5,50) se obtuvo la mayor intensidad de señal y la mejor reproducibilidad.

2.4.1.3 Concentración y caudal de borohidruro de sodio

Se ensayaron diferentes concentraciones de soluciones de borohidruro de sodio al 0,1; 0,5 y 1,0% m v^{-1} . La solución al 1,0 % m v^{-1} induce un aumento brusco del pH, provocando una menor generación de arsina. A una concentración de 0,1% m v^{-1} , la cantidad de hidrógeno generado fue muy baja, lo que resultó en una

disminución en la producción de arsina. Por lo anterior, la concentración óptima de borohidruro de sodio fue de 0,5% m v⁻¹.

Para regular la entrada de borohidruro de sodio a la cámara de reacción se estudiaron diferentes caudales (1,5; 2,0; 2,5; 3,0 μL s⁻¹). Un caudal elevado producía una gran cantidad de hidrógeno, esto provocaba una gran presión dentro de la cámara de reacción, lo que conducía a una importante reducción del tamaño de la gota. Por otro lado, con un caudal bajo, se generan pequeñas cantidades de arsina y la sensibilidad disminuye. Se determinó que un caudal de 2,5 μL s⁻¹ es óptimo para la generación de arsina en este método.

2.4.1.4 Concentración de la solución de AgDDTC

Se probaron diferentes concentraciones de la solución de AgDDTC en piridina que formaba la gota (0,5; 0,1 y 0,05% m v⁻¹).

El cambio de color con 0,05 % m v⁻¹ no fue percibido por el DMC, mientras que la concentración de 0,5 % m v⁻¹ genera colores muy intensos, lo que afecta de forma negativa a la calidad del video. Una concentración de 0,1% m v⁻¹ conduce a una señal intensa que permite un procesamiento de video adecuado.

2.4.1.5 LEDs

Se estudiaron diferentes configuraciones para una adecuada iluminación del sistema empleando LEDs blanco frío. Un LED colocado en un ángulo de 180° con respecto al DMC, provoca una saturación de brillo en la CT, obteniendo una disminución de la calidad de la imagen por la alta exposición.

En una segunda configuración, se colocó un LED en un ángulo de 90° con respecto al microscopio. En este caso, la gota no estaba homogéneamente iluminada y se observaban áreas más oscuras. En la tercera configuración, solo se empleó la luz LED del propio DMC, lo que llevó a un reflejo del iluminante sobre la gota. Finalmente, la configuración óptima se obtuvo, colocando dos LEDs ubicados a 180° entre sí y a 90° respecto al DMC, (Figura 2.5.b), logrando de esta manera un alto brillo y una iluminación homogénea. Los LEDs se controlaron a través de una placa Arduino conectada a una computadora, donde se regulaba la intensidad con un software especial diseñado en el laboratorio.

2.4.1.6 Captura de los fotogramas (video)

Para registrar los videos se evaluaron dos dispositivos, una cámara web (Genius FaceCam 1000) y un microscopio digital (Nisuta NSDIMI). Se determinó que la mejor calidad de los videos se obtuvo con el microscopio digital debido a su mayor resolución de captura (1280x960), lente de magnificación de 50x a 500x, velocidad de fotogramas 30f/s, frecuencia parpadeo 50Hz / 60Hz y un rango de enfoque de 10 a 500 mm.

2.4.2 Procesamiento de datos de imágenes

Como fue mencionado anteriormente, se procesó cada video y se obtuvieron 50 fotogramas con dimensiones de 640 x 480 píxeles. Para cada uno de los fotogramas se definió como ROI una región circular central, con diferentes coordenadas establecidas en la interfaz (Figura 2.6). Estas áreas fueron usadas para construir histogramas de color RGB. Finalmente obtenemos un gráfico en 3D que relaciona el tiempo con nivel de color (RGB) y la frecuencia.

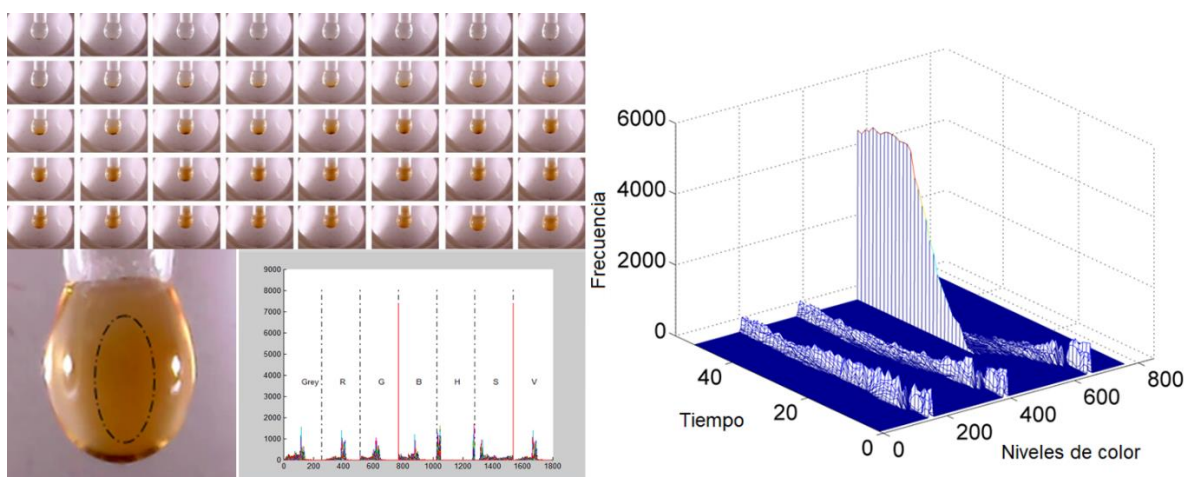


Figura 2.6: Se observa el ROI aplicado a cada fotograma para la obtención de los histogramas de color, que van variando en el tiempo.

2.4.3 Datos de segundo orden y modelo MCR-ALS

2.4.3.1 Análisis del conjunto de datos

Las matrices individuales obtenidas por la descomposición de las imágenes cumplen con el requisito de bilinealidad, ya que la información del espacio de color RGB está relacionada con la absorbancia de acuerdo con la ley de Lambert y Beer. Por lo tanto, el empleo de la MCR aumentada es un método apropiado de detección. Sin embargo, estudiando dentro de diferentes conjuntos de

experimentos, los perfiles de formación de los complejos no fueron perfectamente reproducibles. En algunos casos presenta gran deformación. Esta variabilidad imposibilitó el uso de modelos trilineales con análisis de factores paralelos (PARAFAC) o el uso de métodos basados en variables latentes como N-way y/o despliegue de mínimos cuadrados parciales (PLS).

2.4.3.2 Conjunto de calibración

En la Figura 2.7 se observan las señales registradas del conjunto de calibración (0,00 - 1,00 ppb As) y la señal del blanco, que se detectan a un nivel de color (RGB) de acuerdo con el color del complejo amarillo rojizo.

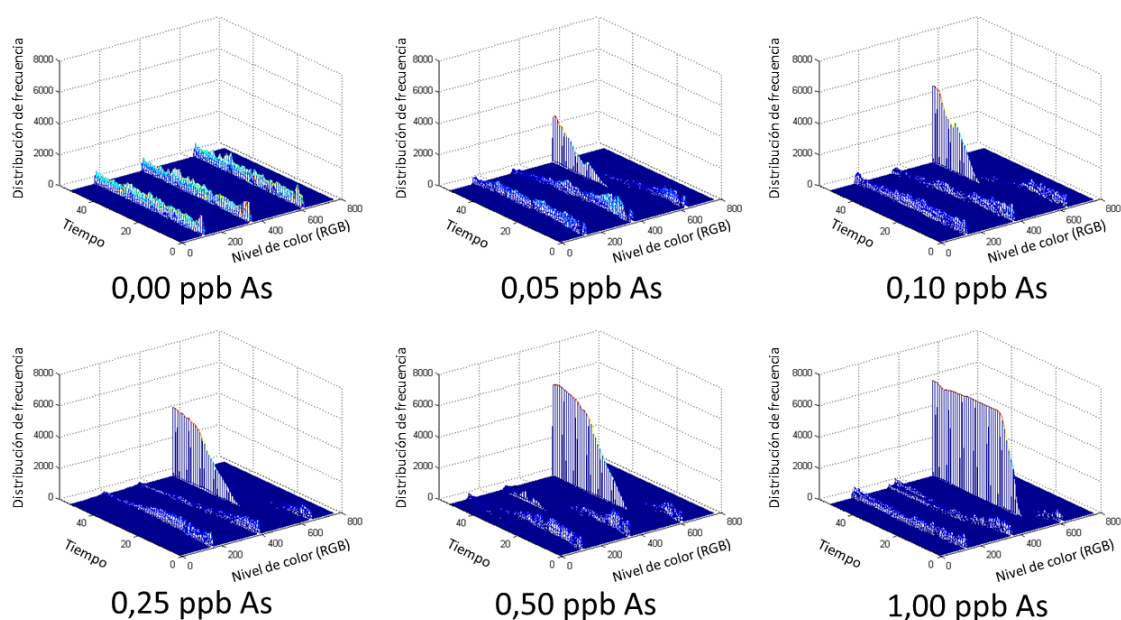


Figura 2.7: Señal analítica de As para el conjunto de calibración.

Inicialmente se investigó la descomposición por MCR del conjunto de calibración. Se generó una matriz **Dcal** utilizando un aumento de columna para tener en cuenta la cinética del perfil. Se accedió al número apropiado de factores a través del análisis de componentes principales (PCA). Las estimaciones iniciales se obtuvieron para el modo de perfil de color utilizando perfiles de calibración optimizados de enfoque de detección de variables puras después de 7 iteraciones por ALS y se muestran en la Figura 2.8. Las Figuras 2.8A y 2.8B muestran los dos factores utilizados para calibrar el modelado del conjunto, uno está relacionado con el complejo formado por el analito y el otro representa el

fondo espectral. Hay que tener en cuenta que los perfiles cinéticos no son reproducibles, lo que justifica el hecho de que los datos no mostraron una estructura trilineal.

Por otro lado, las matrices individuales y las matrices aumentadas cumplen con el requisito de bilinealidad. Además, el área debajo de los perfiles cinéticos es directamente proporcional a la concentración de As en la solución estándar (ver Figura 2.8C). En otras palabras, la señal contenida en los datos registrados y extraídos por MCR-ALS está directamente relacionada con la concentración de As. Además, el modelo de calibración no mostró un sesgo significativo estadístico al 95 % de confianza. En la Figura 2.8D, observamos la región elíptica de confianza conjunta (EJCR), que corresponde al intervalo de confianza conjunto de la intersección de la pendiente de la línea ajustada entre los valores nominales y predichos, que contiene el punto ideal (0,1).

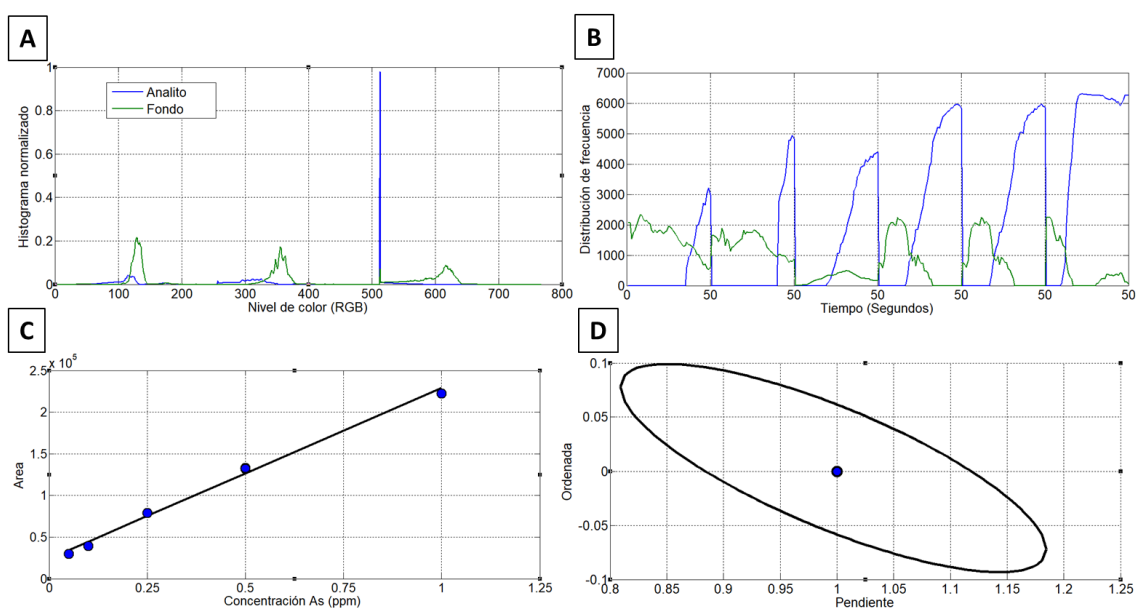


Figura 2.8: Resultado de la descomposición de MCR para el conjunto de calibración: (A) perfil de color, (B) perfiles cinéticos, (C) línea de calibración ($R^2 = 0.9933$) y (D) EJCR para el conjunto de calibración.

2.4.3.3 Cuantificación de arsénico en aguas naturales

De manera similar a lo descrito para las mediciones del conjunto de calibrado, las muestras de agua natural fueron procesadas y se estableció una matriz de respuesta instrumental X (50×768). Cada muestra se colocó encima de la matriz aumentada de los estándares D_{cal} , para obtener las matrices $D_i = [X_i | D_{cal}]$. El

subíndice i está relacionado con la muestra. Posteriormente, se realizó la MCR-ALS tal como se describe para el conjunto de calibración. La Figura 2.9 muestra los resultados típicos obtenidos para muestras de agua.

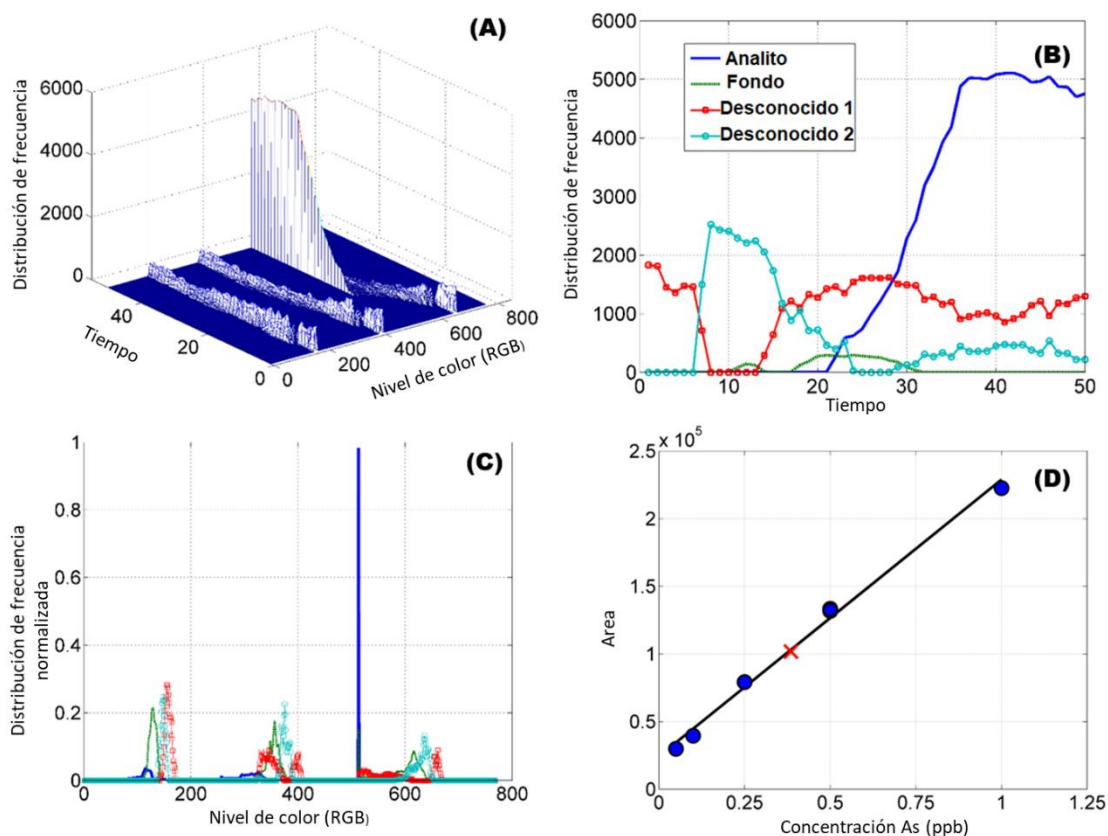


Figura 2.9: Resultados típicos obtenidos para muestras de agua: (A) datos registrados para muestras de agua, (B) y (C) son los perfiles recuperados por medio de MCR-ALS en modos cinético y de color respectivamente y (D) línea de calibración con una muestra de agua interpolada (cruz roja).

Basados en el enfoque PCA, las muestras de agua se modelaron correctamente con 3 o 4 factores (en el caso que se muestra en la Figura 2.9, se emplearon 4 factores). Se obtuvieron dos perfiles adicionales, en comparación con el conjunto de calibración. Este escenario imposibilitaría la cuantificación de As sin pasos previos de remoción física de interferencias por metodologías convencionales. Pero en el método propuesto, MCR puede superar estos inconvenientes. La Tabla 2.3 resume los parámetros estadísticos de la predicción de As en muestras de agua.

Tabla 2.3: Resumen estadístico de la predicción de la concentración de As en muestras de agua natural.

Muestra	Nominal* ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Predicción ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Iteraciones	SD
1	0,20	<LOQ	–	–
2	0,55	0,51 (4)	5	0,0014
3	0,41	0,38 (3)	5	0,0014
4	0,45	0,39 (4)	5	0,0014
5	0,88	0,83 (4)	11	0,0024
^a RMSEP ($\mu\text{g L}^{-1}$)			0,05	
^b REP%			13,6	
R ²			0,9955	
SEN _{MCR}			28561,33	
SEL			0,98	
ANAL SEN			461,2	
LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)			0,07	
LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)			0,220	

* Valores obtenidos mediante el método estándar modificado

Al ver la tabla, cabe destacar que excepto para la muestra 1, para todas las demás la MCR-ALS convergió con un número máximo de iteraciones menor o igual a 11, lo que permitió predecir la concentración de As en las muestras como valores similares al método de referencia (HG-ICP). El error relativo (REP) para el conjunto de muestras fue de alrededor del 13 %. Además, el coeficiente de determinación (R²) fue muy cercano a 1.

Los valores de sensibilidad (SEN_{MCR}), selectividad (SEL), límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ) que se muestran en la Tabla 2.3 son un promedio para todas las muestras de agua y fueron calculados de acuerdo a las siguientes ecuaciones (1-4) [40]:

$$\text{SEN}_{\text{MCR}} = m_n [J(\mathbf{H}^T \mathbf{H})_{nn}^{-1}]^{-1/2} \quad (1)$$

$$\text{SEL} = [(\mathbf{H}^T \mathbf{H})_{nn}^{-1}]^{-1/2} \quad (2)$$

$$\text{LOD} = 3.3 \times \frac{SD}{SEN_{\text{MCR}}} \quad (3)$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \frac{SD}{SEN_{\text{MCR}}} \quad (4)$$

$H^T(A \times 768)$ representa los perfiles de histogramas recuperados por MCR y tiene en cuenta los A factores. Por otro lado, n_n es el índice del analito en la mezcla, m_n la pendiente de la línea de calibración MCR y J el número de puntos en la matriz de muestra en dirección aumentada.

Se analizó la presencia de hierro, cobre y sulfuros en las muestras de agua, observándose que los niveles de concentración encontrados no producen interferencia en la metodología propuesta. Con respecto al cromo, cobalto, mercurio, molibdeno, níquel, platino y plata son interferentes en la generación de arsina, sin embargo, la concentración de estos metales que normalmente se encuentran en aguas naturales no interfiere significativamente.

2.4.4 Comparación con otros métodos

En la Tabla 2.4 se realiza una comparación de diferentes métodos para la determinación de arsénico y el método cinético. En la Tabla 2.5 se observa una comparación entre el método de referencia y el nuevo método propuesto. Se puede concluir que este nuevo método presenta un límite de detección mucho menor, emplea un menor consumo de reactivos, genera menos desechos, lo que conduce a un menor costo por análisis cumpliendo con los lineamientos de ciertos principios de la química verde.

Asimismo, el método desarrollado presenta una frecuencia de muestreo 6 veces mayor al método de referencia.

Tabla 2.4: Características comparativas de diferentes métodos para la determinación de As en muestras de agua.

	Método Analítico	Volumen muestra (mL)	Tiempo de análisis (min)	Rango lineal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ref
As*	AAN colorimetric kit	100	30	20-700	20	[54]
As	E. Merck colorimetric kit	100	30	100-3000	50	[54]

As	NIPSOM colorimetric kit	100	5	20-700	20	[54]
As	Colorimetric kit	15	30	5-30	1,0	[55]
As	Colorimetric kit	100	10	---	10	[56]
As	Arsenator (digital readout)	50	20	10-100	4,4	[57]
As	Hach EZ colorimetric kit	50	20-40	10-500	10	[58]
As	ARSOLux biosensor kit	1	120	5-200	5,0	[59]
As(III)	μ -PAD-naked eye detection	3	5	10-10000	1,0	[60]
As(III)	PAD-fluorimetric detection	1	--	5-240	≤ 5	[61]
As(III)	HS-PAD-scanometric	5	5	5-400	1,1	[44]
As	Método propuesto	1	<11	0,05-1	0,07	[50]

* As=Arsénico total

Tabla 2.5 Características comparativas del método propuesto con el método estándar espectrofotométrico.

	Ag(DDTC) Método estándar [17]	Método propuesto [50]
Límite de detección (ppb)	14	0,07
Frecuencia de muestreo (h⁻¹)	1	6
Borohidruro de sodio (mL)	15 (1 % m v ⁻¹)	0,1 (0,5 % m v ⁻¹)
Ag(DDTC) en piridina (mL)	4 (0,3 % m v ⁻¹)	0,026 (0,1 % m v ⁻¹)
Extracción / Detección	Offline	Online
Muestra (mL)	70	1
Instrumentación	Espectrofotómetro	Microscopio digital

2.5 Resultados y discusión método de gradientes

2.5.1 Optimización del método de gradiente de concentración

Para lograr un gradiente de concentración adecuado dentro de la gota y un perfil de difusión representativo, se determinó previamente la concentración óptima de borohidruro de sodio. Para ello, inicialmente se estableció un caudal de ingreso a la cámara del reductor de $0,83 \mu\text{L s}^{-1}$, para asegurar que se produzca un cambio lento y gradual en el pH en la reacción, y así favorecer aún más la generación de arsina. Con este caudal, se probaron cuatro concentraciones diferentes de borohidruro de sodio 0,10; 0,20; 0,30 y 0,50% m v⁻¹. La Figura 2.10, relaciona las diferentes concentraciones de borohidruro de sodio en diferentes tiempos de reacción. Como se puede observar, con una concentración menor de 0,10% m v⁻¹ no es posible generar un gradiente de concentración dentro de la gota, probablemente debido a la baja generación de hidrógeno, lo que conduce a una baja generación de arsina. Para una concentración de 0,20% m v⁻¹, se observa la presencia de color, pero no la formación de un gradiente, porque se requiere un tiempo de reacción superior. En caso contrario, para la concentración más alta 0,50% m v⁻¹, se observa una saturación muy rápida de la imagen, no pudiendo generar un gradiente adecuado. En conclusión, el uso de una concentración de 0,30% m v⁻¹, dio como resultado un gradiente de concentración bien definido visualizado por el aumento gradual del color del complejo.

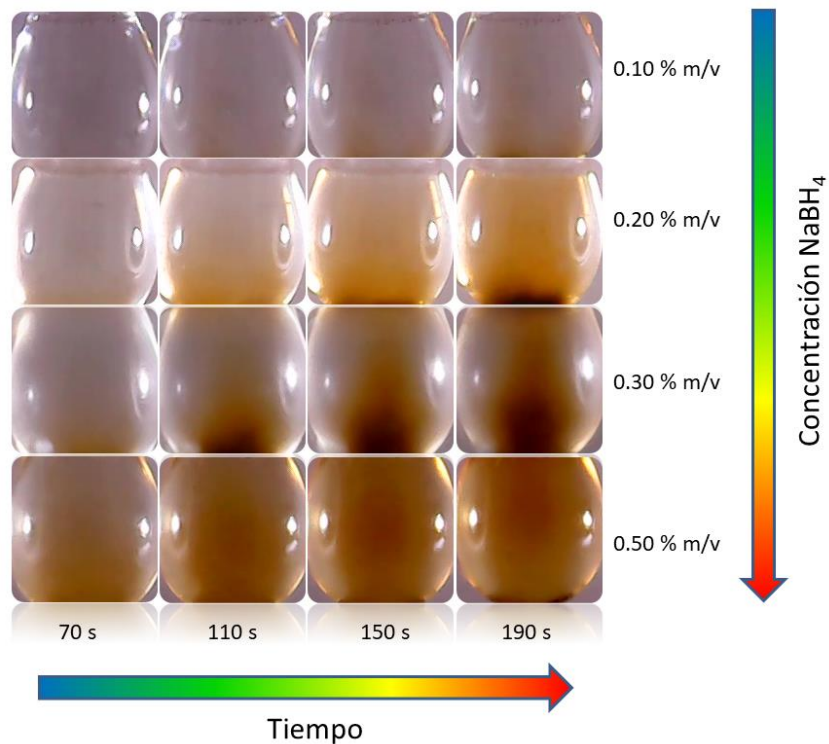


Figura 2.10: Fotogramas de las gotas obtenidas con concentraciones de NaBH_4 iguales a 0,10; 0,20; 0,30 y 0,50% m v^{-1} respectivamente.

2.5.2 Procesamiento de datos de imágenes

Se procesó cada video y se obtuvieron 50 fotogramas para cada uno con dimensiones de 640 x 480 píxeles. Luego, cada uno de estos fotogramas se corta reduciendo su tamaño a 150 x 150 píxeles para obtener una información adecuada en la gota.

Cada uno de los fotogramas se dividió en 15 secciones equidistantes, con diferentes coordenadas establecidas en la interfaz. Cada una de estas secciones se definió como la ROI (Figura 2.11). Estas áreas se utilizaron para construir histogramas de color RGB.

Finalmente obtenemos un gráfico en 3D que relaciona las secciones en la gota con el nivel de color (RGB) y la frecuencia.

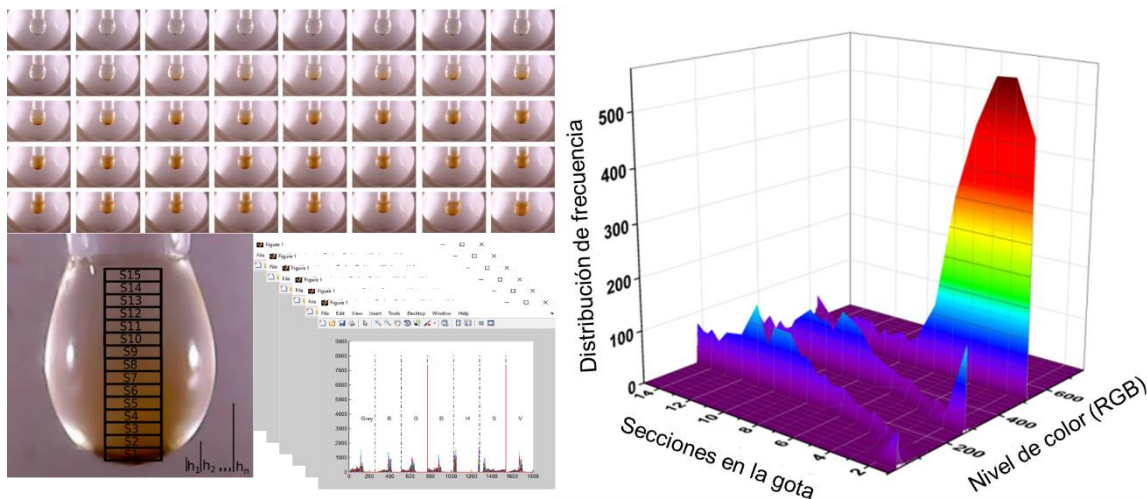


Figura 2.11: Análisis de las imágenes. División de la gota en 15 secciones, cada una de ellas considerada la ROI, para la obtención de los histogramas de frecuencia que van variando con la altura de la gota.

2.5.3 Análisis de difusión molecular

Para evaluar la difusión molecular dentro de la gota, con el objetivo de comprender completamente los mecanismos de transferencia de masa que ocurren en los medios de reacción complejos, como se dijo, cada uno de los fotogramas se dividió en 15 secciones equidistantes (Figura 2.12a). De allí se obtuvieron histogramas de color RGB. Empleando una rutina de MATLAB, se calcularon los valores promedio de estos histogramas para cada color rojo, verde y azul. De los valores obtenidos se emplearon los correspondientes al color azul por ser este el color complementario del complejo $\text{As}(\text{DDTC})_3$, y se observó que su intensidad disminuía exponencialmente con la concentración, resultando en una curva de absorbancia lineal de acuerdo con los principios de la ley de Lambert-Beer [62].

Se analizaron los perfiles de difusión y se calcularon los coeficientes de difusión, D . La difusión molecular se refiere a la distribución de partículas a través de un movimiento aleatorio. En un entorno donde domina la fuerza viscosa, el comportamiento de difusión de una molécula "M" se puede describir mediante la siguiente ecuación general [63]:

$$\frac{\partial c(r,t)}{\partial t} = D \nabla^2 C(r,t) \quad (5)$$

donde $C(\underline{r}, t)$ es una función que describe la distribución de probabilidad de encontrar "M" en la región cercana del punto \underline{r} en el tiempo t. Si la función de difusión se aplica a un conjunto de moléculas, C puede interpretarse como su concentración.

La ecuación de difusión (Ec. 5) se puede derivar usando la primera ley de Fick (Ec. 6) en combinación con la consideración de la conservación de partículas, es decir, el flujo de partículas, \underline{J} en una región debe ser la suma del flujo que fluye hacia las regiones circundantes en el proceso de difusión normal. Bajo esta condición, el transporte de moléculas puede ser capturado matemáticamente por la ecuación de continuidad (Ec. 7), y si el coeficiente de difusión D es constante en el espacio, Eq. 7 se convierte en la Eq. 5.

$$\underline{J} = -D\nabla C \quad (6)$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \nabla \underline{J} = 0 \quad (7)$$

Por lo tanto, el perfil de la distancia de concentración varía con el tiempo (t) y su evolución se puede interpretar sobre la base de la segunda ley de Fick, ecuación (8):

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \quad (8)$$

donde, $\frac{\partial C}{\partial t}$ es la tasa de cambio de la concentración molecular, C, con el tiempo, t; siempre se supone que D es constante con C y el tiempo. Eq. 8 es una ecuación diferencial que puede resolverse después de establecer las condiciones de contorno adecuadas [64]. Si se diseñó la concentración a la distancia x en cualquier momento t como C_x ; C_0 es la concentración en $t = 0$ y $0 \leq X \leq \infty$ ($C = C_0$ en $x = \infty$) y C_s es la concentración en $x = 0$, Eq. 8 se puede resolver dando la siguiente solución:

$$\frac{C_x - C_0}{C_s - C_0} = \text{erfc} \left(\frac{x}{\sqrt{2Dt}} \right) \quad (9)$$

donde $\text{erfc}(z)$ es la función de complemento de error de Gauss.

Las Figuras 2.12b y 2.12c muestran un proceso clásico de estado no estacionario, donde en la misma sección transversal, el flujo no es equivalente para cada tiempo. La resolución de Eq diferencial 8 demostró que C_s y D son funciones de t con un punto de inflexión en los valores de C_s observados a lo

largo del rango $t = 175 \pm 5$ s, (rectángulo rosa en la Figura 2.12d). Por tanto, estamos en presencia de una difusión no Fickiana [65] y una mejor representación matemática del sistema debería hacerse con la ecuación (10)

$$C = C_s(t) \operatorname{erfc} \left(\frac{x}{\sqrt{D(t)t}} \right) \quad (10)$$

donde, empíricamente se determinó que:

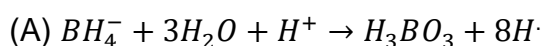
$$C_s(t) = 1318.0 - 30.3 t + 0.2 t^2 - 9.9 \times 10^{-4} t^3 + 1.4 \times 10^{-6} t^4 \quad (11)$$

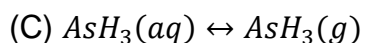
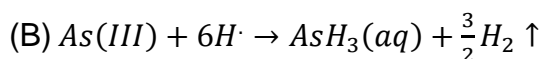
y

$$D(t) = 0.1 t - 11.7 \quad (12)$$

El coeficiente de difusión es una de las propiedades más importantes que se deben calibrar en el desarrollo del campo de fuerza de la mecánica molecular y la transferencia de masa juega un papel muy importante en las reacciones químicas heterogéneas. En las condiciones experimentales probadas, se observó un coeficiente de difusión dependiente del tiempo, D (píxeles² s⁻¹), de tipo ley de potencia, $D(t) = D_0 t^\beta$, $\beta = 1$ [66]. En una solución, las moléculas se mueven al azar debido a las frecuentes colisiones y la difusión molecular es impulsada por energía térmica. Su energía térmica proviene no sólo de las colisiones entre soluto y soluto, sino también de colisiones entre soluto y solvente. La fuerza y la anisotropía de la interacción intermolecular también juegan un papel clave en la determinación de la interacción soluto-solvente, así como en la reorganización dinámica de la estructura de solvatación. Sin embargo, tales efectos por sí solos no pueden explicar el incremento de D calculado con el tiempo. Los resultados también demostraron que los valores de C_s (Intensidad / a.u.) son altamente dependientes del tiempo y estos fueron el resultado de la generación química del analito, AsH_3 (g). Por lo tanto, para obtener una imagen completa del comportamiento del sistema, analizamos la cinética de generación de AsH_3 (g).

De acuerdo con el mecanismo propuesto por Abdul-Majeed y Zimmerman (2012) [67], la reacción de generación de hidruro de arsénico está representada por las siguientes reacciones elementales que coinciden con la hipótesis del hidrógeno atómico:





Donde la reacción elemental (A) tiene una velocidad de descomposición constante de segundo orden, mientras que las correspondientes a las etapas (B) y (C) son de primer orden.

Los parámetros cinéticos se calcularon a partir de la dependencia de la velocidad de reacción de la concentración y se obtuvo que los resultados se ajustan a un modelo cinético de pseudo primer orden, Figura 2.12e, revelando, de acuerdo con el mecanismo antes mencionado, que el control cinético de la velocidad debe ser debido a la reacción elemental (B). Además, se notó un aumento de la pendiente que demuestra un cambio en la constante de velocidad en aproximadamente $t = 175 \pm 5$ s, Figura 2.12e, coincidente con los valores de inflexión en la función $C_s(t)$. Sobre la base de los datos cinéticos asumimos que la generación de $\text{AsH}_3(\text{aq})$ condicionó el valor de C_s y su dependencia con t . Por lo tanto, cuando se generan más moléculas de analito, se producen más colisiones soluto-disolvente y luego se produce más energía térmica para impulsar el movimiento de las moléculas de soluto, lo que da como resultado un coeficiente de difusión mayor.

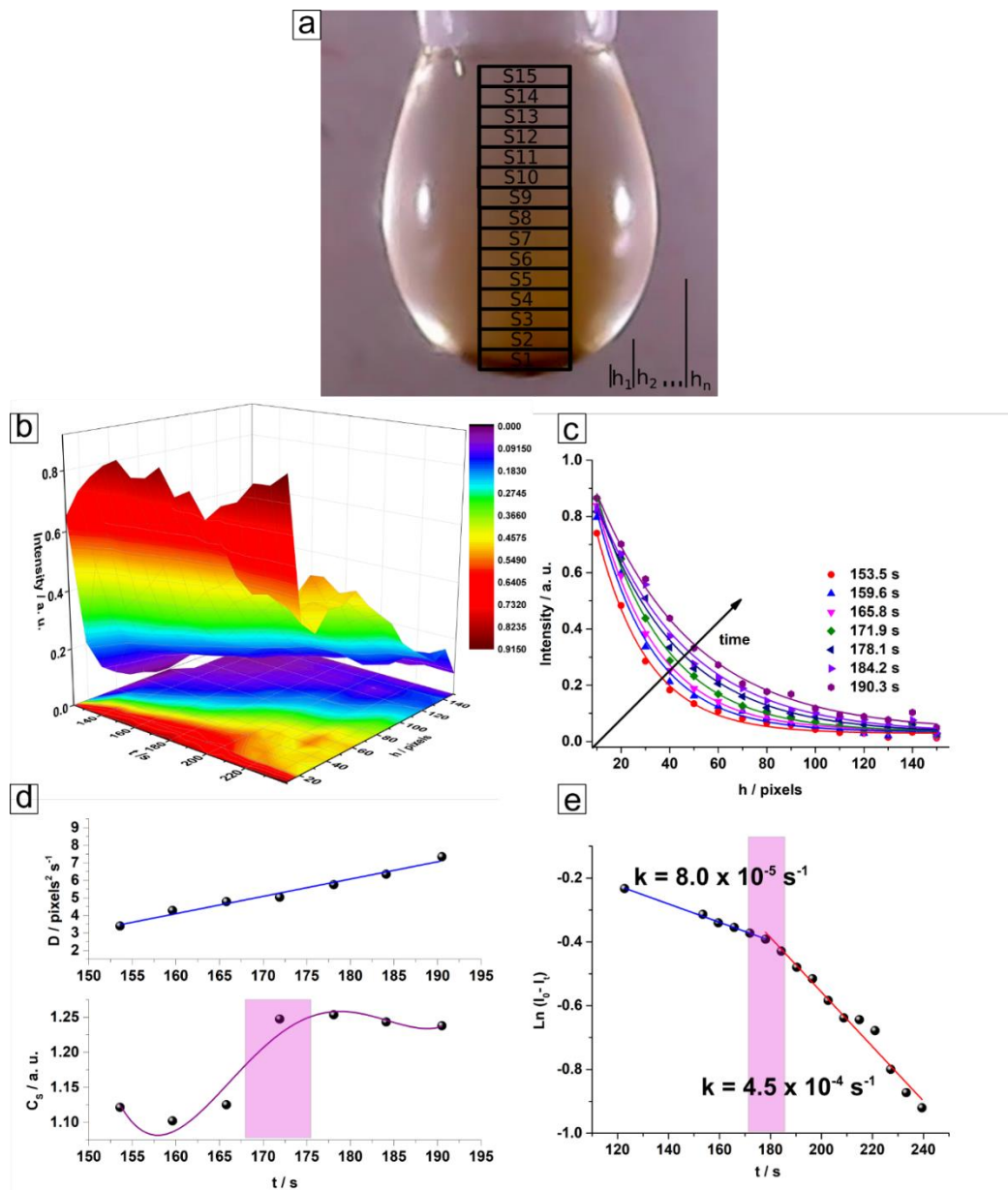


Figura 2.12: Parámetros cinéticos y de difusión de la muestra $[As] = 0,05$ ppb, tomados del análisis de las imágenes de las gotas de reacción, h es la distancia expresada en píxeles desde la base de la gota en cada momento. (a) Secciones de la gota empleadas para el análisis, (b) gráfico de difusión 3D, (c) perfiles de concentración en diferentes momentos para una difusión no estable, (d) variación de los parámetros D y C_s con el tiempo y (e) evolución cinética de pseudo primer orden de la formación del complejo $As(DDTC)_3$.

Los datos cinéticos se adquirieron en $x = 80$ píxeles, I_t e I_0 son la intensidad en el tiempo t y $t = 0$ respectivamente. El rectángulo rosa representa el intervalo de tiempo de inflexión en C_s . El valor y las unidades de D , C_s y las constantes de

velocidad mencionadas son aplicables para las reacciones descritas en las condiciones experimentales actuales.

2.5.4 Datos de segundo orden y modelo MCR-ALS.

2.5.4.1 Análisis del conjunto de datos. Obtención del gradiente de concentración óptimo

Los datos de segundo orden basados en imágenes digitales no cumplen con los requisitos trilineales, pero pueden modelarse adecuadamente en una estructura bilineal mediante MCR-ALS [40].

Con el tiempo y a medida que avanza la reacción, se genera un gradiente de concentración de transferencia de masa dentro de la gota. Por lo tanto, es necesario evaluar el tiempo en que se establece el gradiente de concentración óptimo dentro de la gota. Para ello, debemos realizar un estudio de MCR-ALS individual para cada uno de los fotogramas y para una serie de 5 soluciones estándar que van desde 0,05 – 1,00 ppb As, utilizando los datos de las matrices obtenidas previamente al dividir la gota en 15 secciones. En la Tabla 2.6, se muestra los resultados de las líneas de calibración, incluidas las cifras de mérito para cada fotograma, en particular del fotograma 25 al 39. Como se puede ver en la tabla, el fotograma 31 (igual a un tiempo de reacción de 190 s) parece ser el tiempo de reacción óptimo para que se genere el mejor gradiente de concentración en la gota. Observando su excelente coeficiente de determinación R^2 y su menor valor de S (estimador de ruido instrumental relacionado con la varianza residual).

Tabla 2.6: Cifras de mérito o parámetros de calidad analítica resultantes del análisis individual de cada uno de los fotogramas del estudio de difusión dentro de la gota.

Fotograma	R²	Pendiente	Ordenada	S
25	0,9742	8657	-632,2	631,5
26	0,9833	8717	-481,1	509,9
27	0,9826	8675	-325,5	516,9
28	0,9913	8617	-140,8	362,8
29	0,9968	7730	252,9	197,3

30	0,9975	7595	485,9	169,2
31	0,9993	7247	773,8	84,89
32	0,9953	7027	1071	216,6
33	0,9788	6892	1362	454,5
34	0,9718	6635	1588	507,2
35	0,9657	6410	1746	541,6
36	0,9488	6234	1840	649,3
37	0,9441	5731	2320	625,3
38	0,9274	5524	2469	693,2
39	0,9198	5414	2520	716,9

2.5.4.2 Conjunto de calibración

El mejor tiempo de reacción se utilizó para ajustar el modelo de calibración. La Figura 2.13 muestra las señales registradas del conjunto de calibración (0,00 - 1,00 ppb As). Como puede verse, la señal registrada muestra un comportamiento coherente, teniendo en cuenta que para el blanco la señal analítica parece ausente. Pero, por otro lado, cuando la concentración aumenta, la señal crece proporcionalmente, esto significa que la señal registrada cumple con la ley de Lambert-Beer. La mayor parte de la señal atribuida al perfil de difusión de la reacción dentro de la gota, se produce en el canal RGB azul, debido a que es el complementario del color del complejo formado.

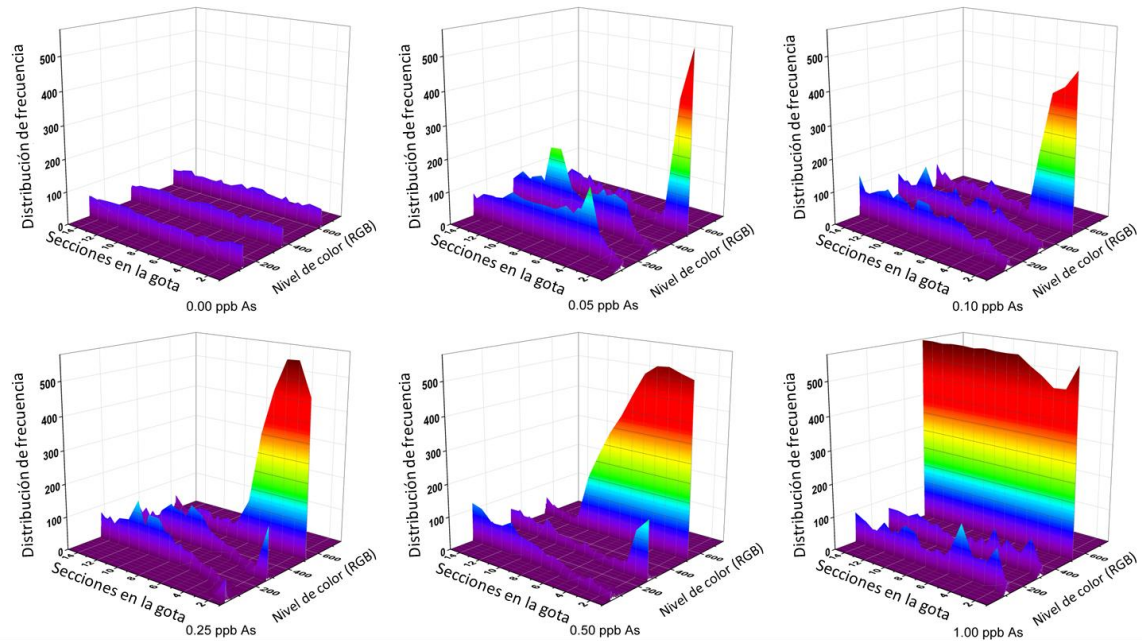


Figura 2.13: Señal analítica para el conjunto de calibración.

Los datos de calibración se organizaron en una estructura aumentada en forma de columnas para poder manipularlos adecuadamente con un eventual cambio de forma en los perfiles de difusión. Mediante un análisis de componentes principales (PCA) se accedió al número adecuado de factores, siendo 2 en este caso (el primero relacionado con el complejo formado por el analito y el segundo con el fondo espectral). Además, la descomposición de MCR-ALS se llevó a cabo bajo restricción de no negatividad en ambos modos. Se aplicó la unimodalidad solo para el perfil difusivo del analito. La optimización de ALS convergió después de solo 3 iteraciones con perfiles puros físicamente reconocibles, obteniendo finalmente los resultados que se ven en la Figura 2.14A y 2.14B. La línea pseudo univariada se obtuvo por mínimos cuadrados utilizando el área bajo los perfiles de difusión y la concentración de las soluciones de calibración estándar. Se obtuvo un modelo bien ajustado sin sesgo significativo estadístico al 95% de confianza y con un coeficiente de determinación (R^2) muy cercano a 1 (Figura 2.14 C).

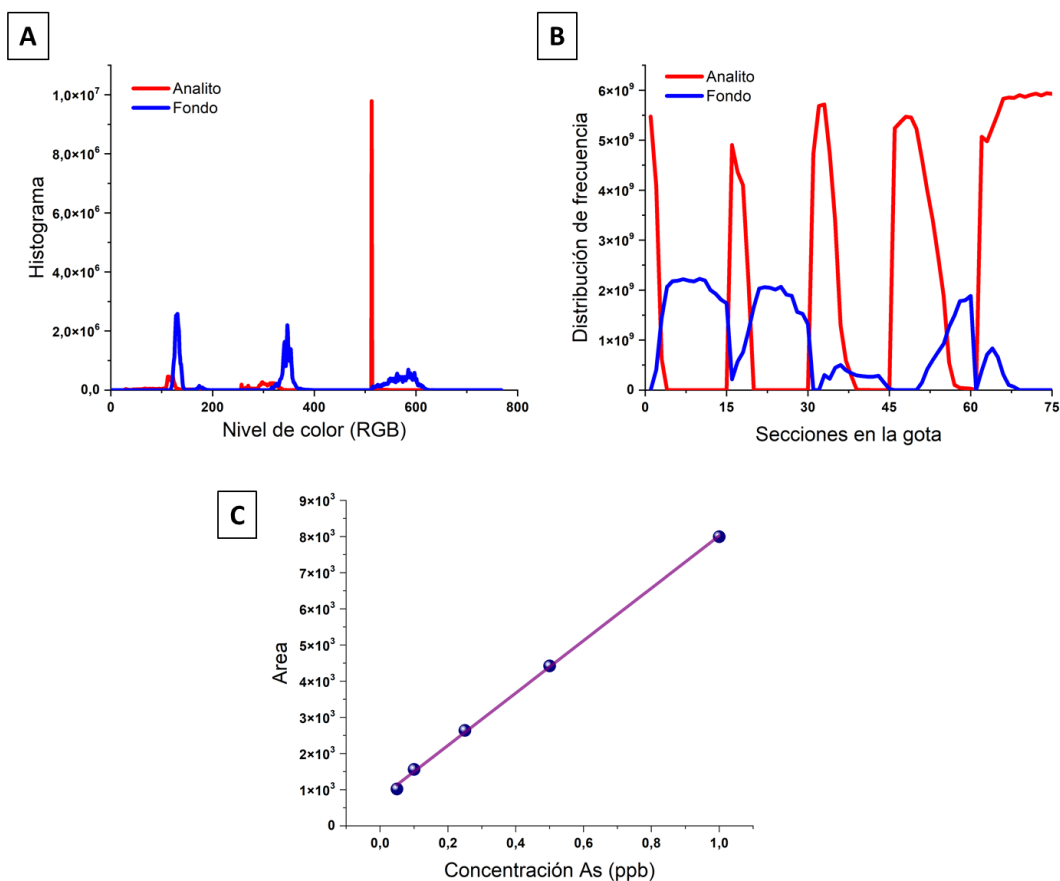


Figura 2.14: Resultado de la descomposición MCR para el conjunto de calibración (A) perfil de color (B) perfil de difusión (C) línea de calibración, ecuación $Y=773,8 + 7247 \cdot X$ y $R^2= 0,9993$.

2.5.4.3 Cuantificación de arsénico en aguas naturales

Para predecir la concentración de As en muestras de agua natural, la matriz de datos relacionada con una muestra específica se colocó encima de la matriz aumentada de los datos de calibración, de a uno a la vez. De la misma manera que la solución estándar, las muestras de agua natural fueron procesadas por MCR-ALS. Se lograron modelos adecuados de MCR-ALS utilizando 3 o 4 factores dependiendo de la composición química de las muestras de agua natural (el primero relacionado con el complejo formado por el analito, el segundo con el fondo y los restantes son factores desconocidos). Las Figuras 2.15A y 2.15B muestran los resultados obtenidos para muestras de agua, particularmente para la muestra 1.

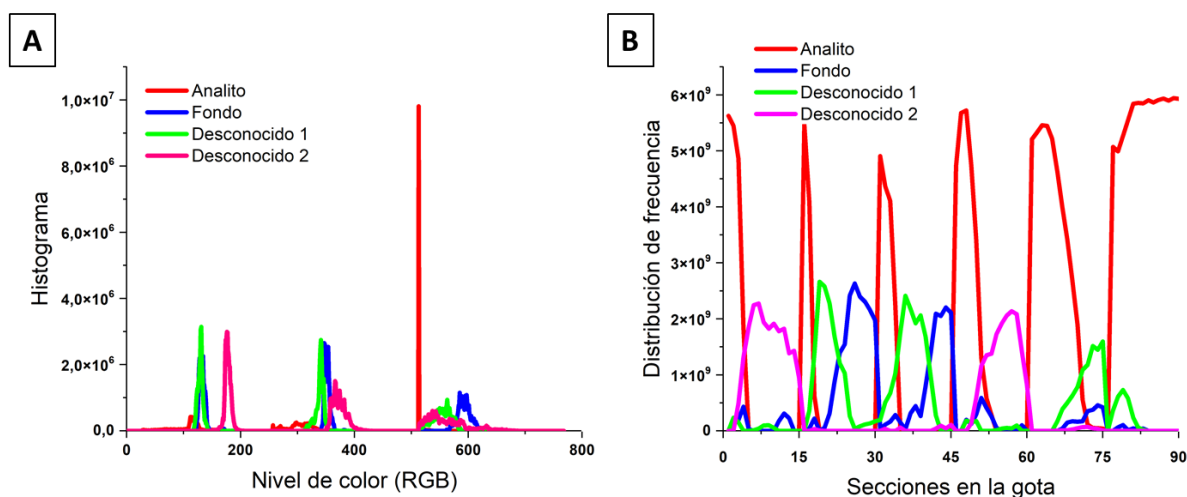


Fig.2.15: (A) y (B) Resultados típicos obtenidos para muestras de agua, los perfiles recuperados por MCR-ALS en modo color y difusivo respectivamente.

Para todas las muestras, ALS convergió con un número máximo de iteraciones menor o igual a 7, lo que permitió predecir la concentración de As en las muestras como valores similares al método de referencia (HG-ICP).

La Tabla 2.7 muestra algunos parámetros estadísticos de la predicción de As en 8 muestras de agua utilizadas.

Tabla 2.7: Parámetros estadísticos de la predicción de As en muestras de agua natural.

Muestra	Nominal ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Predicción ($\mu\text{g L}^{-1}$)	SD	Número de factores / Iteraciones
1	0,182	0,139	0,0075	4 / 5
2	0,715	0,730	0,0081	3 / 5
3	0,353	0,315	0,0060	4 / 5
4	0,698	0,721	0,0088	3 / 5
5	0,252	0,272	0,0065	4 / 4
6	0,418	0,443	0,0064	4 / 7
7	0,694	0,652	0,0080	3 / 5
8	0,513	0,463	0,0064	4 / 5

El error porcentual relativo (REP) para el conjunto de muestras fue de 8,98%, y también un error cuadrático medio de predicción (RMSEP) de 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$. Además, se obtuvieron muy buenos valores de sensibilidad analítica ($\text{ANAL}_{\text{SEN}} = 300,82$), sensibilidad de la técnica ($\text{SEN}_{\text{MCR}} = 1854$) y selectividad ($\text{SEL} = 0,995$). El límite de detección (LOQ) resultó con un valor igual a 0,0288 $\mu\text{g L}^{-1}$ y el límite de cuantificación (LOQ) fue igual a 0,0872 $\mu\text{g L}^{-1}$.

El modelo quimiométrico utilizado basado en MCR-ALS pudo cuantificar As incluso en presencia de especies que interfieren, después de una descomposición de datos exitosa. Se analizó la presencia de algunos de los interferentes más importantes, como hierro, cobre o sulfatos, observándose que los niveles estudiados no causaron interferencia en la metodología propuesta.

2.6 Comparación de resultados entre ambos métodos

La Tabla 2.8 muestra una comparación entre los resultados obtenidos por el Método cinético-color [50] versus el método de gradientes [68]. Este último presentó valores más bajos en la mayoría de las cifras de mérito, un mejor ajuste del coeficiente de determinación, valores LOD y LOQ más bajos y una frecuencia de muestreo más alta. Por otro lado, presenta la ventaja de emplear menor cantidad de un reactivo costoso y muy fácil de descomponer como el borohidruro de sodio. Por otro lado, cabe señalar que en el método de gradientes no es necesario realizar un seguimiento cinético de la reacción, sino que con el uso de un solo fotograma es posible cuantificar el arsénico en muestras de agua natural.

Tabla 2.8: Parámetros analíticos comparativos entre el método cinético-color y el de gradientes.

	Método cinético-color	Método de gradientes
LOD (ppb)	0,07	0,03
LOQ (ppb)	0,22	0,09
Frecuencia de muestreo (h^{-1})	6	9
Borohidruro de sodio (mL)	0,1 (0,5% m v^{-1})	0,1 (0,3% m v^{-1})
RMSEP (ppb)	0,05	0,03
REP%	13,60	8,98

R²	0,9955	0,9996
SEN_{MCR}	28561	1854
SEL	0,980	0,995
ANAL SEN	461,2	300,8
Fotogramas usados	50	1

2.7 Conclusiones parciales

El método cinético-color automático propuesto basado en CVAC asistido por MCR-ALS para determinar el arsénico en muestras de agua tiene varias ventajas sobre los métodos convencionales y presenta resultados similares a los obtenidos con el método de referencia. Este método permite la determinación automática de arsénico en muestras de agua sin pretratamiento químico/externo, debido a la ventaja de segundo orden de los datos cinéticos de color, a los que MCR accede correctamente. El sistema Flow-batch desarrollado conduce a la simplicidad y al análisis rápido, ambas características importantes para el trabajo de rutina.

En comparación con los sistemas automatizados disponibles comercialmente, el nuevo método cinético-color permite llevar a cabo la detección de arsénico en muestras de agua con un sistema automatizado fácil de desarrollar y operar, diseñado con dispositivos económicos.

A lo largo del presente capítulo también se ha propuesto otro método basado en CVAC pero a través de la generación y control estricto de gradientes de concentración dentro de una gota que actúa como un sistema discreto (método de gradientes). Este nuevo método, aporta ventajas al método cinético-color propuesto en primera instancia [50] y a las técnicas espectroscópicas tradicionales basadas en la generación de hidruros [69] para la cuantificación de arsénico en muestras de aguas naturales. Entre las ventajas se puede mencionar: (i) un menor consumo de uno de los reactivos más importantes, NaBH_4 , lo que resulta en una menor presión de gas sobre la gota dentro de la cámara de reacción; (ii) tiempos de medición más cortos, ya que no es necesario monitorear la reacción durante un período prolongado y (iii) mejores gradientes de concentración utilizando una sola imagen de la gota en $t = 190$ s.

Además, también fue posible monitorear adecuadamente el proceso de difusión de la reacción para obtener As(DDTC)_3 en una gota de reactivo de AgDDTC . Bajo la condición operativa específica propuesta en este capítulo y para los valores de concentración traza de arsénico, se observó una dependencia lineal del coeficiente de difusión con el tiempo, característica de un transporte de masa no Fickiano.

En ambos casos el modelado de datos logró la obtención de los distintos perfiles y la cuantificación de arsénico con buena precisión. Por lo tanto, los métodos basados en imágenes digitales permiten la adquisición de datos de múltiples vías y el posterior modelado para lograr una ventaja de segundo orden, cumpliendo con los criterios de bilinealidad, requeridos por métodos como MCR-ALS.

Las características de estos sistemas son el bajo consumo de reactivos y el pequeño volumen de muestra que genera una pequeña cantidad de residuos, lo que conduce a un menor costo por medición y está de acuerdo con los principios de la química verde [70]. Asimismo, el analista no está expuesto a vapores tóxicos de arsina, ya que la medición se realiza en un sistema cerrado. Además, no hay necesidad de utilizar instrumentos o reactivos costosos como en otras técnicas espectroscópicas convencionales, como plasma acoplado inductivamente o absorción atómica.

También se debe tener en cuenta que debido a la ventaja de segundo orden explotada por MCR-ALS, que permite la descomposición exitosa de una matriz de datos aumentada que contiene datos de imágenes digitales de segundo orden en la contribución del arsénico y las interferencias no calibradas a toda la señal, que conduce a la determinación de arsénico en muestras de agua natural sin ningún tratamiento químico externo; especialmente indicado para trabajar a niveles de concentraciones traza.

2.8 Bibliografía

- [1] Lillo, J., 2008. "Peligros geoquímicos: Arsénico de origen natural en las aguas". Documentos del Grupo de Estudios de Minería y Medioambiente. Disponible en https://www.aulados.net/GEMM/Documentos/index_documentos.html (Accedido 20 de septiembre 2018).
- [2] Hindmarsh J.T. and McCurdy, R.F., 1986. Clinical and environmental aspects of arsenic toxicity. *CRC. Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 23: 315–347.
- [3] US NRC, 1999. Arsenic in drinking water. US National Research Council. National Academy Press. Washington, DC.
- [4] Nriagu J.O. and J.M. Pacyna, 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water, and soils by trace metals. *Nature*, 333: 134-139.
- [5] Ivana C. Rodriguez, 2012. Investigación de arsénico en cabello de habitantes de la localidad de general pico, La Pampa. Facultad de ciencias exactas y naturales Universidad Nacional de La Pampa.
- [6] Sancha, A.M., Castro, M.L., 2001. Arsenic in Latin America: occurrence, exposure, health effects and remediation. In: Chapell, W. R., Abernathy, C.O., Calderon, R.L. (eds.). *Arsenic Exposure and Health Effects IV*. Elsevier, Amsterdam, pp.87-96.
- [7] Smedley P.L., Kinniburgh D.G., 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17, 517-568.
- [8] M.I. Litter, A.M. Ingallinella, V. Olmos, M. Savio, G. Difeo, L. Botto, E.M. Farfán Torres, S. Taylor, S. Frangie, J. Herkovits, I. Schalamuk, M.J. González, E. Berardozi, F.S. García Einschlag, P. Bhattacharya, A. Ahmad, 2019. Arsenic in Argentina: Occurrence, human health, legislation and determination, *Sci. Total Environ.* 676 (2019) 756–766.
- [9] S. Obiri, D.K. Dodoo, D.K. Essumang, F.A. Armah, 2010. Cancer and non-cancer risk assessment from exposure to arsenic, copper, and cadmium in borehole, tap, and surface water in the Obuasi Municipality, Ghana, *Hum. Ecol. Risk Assess.* 16 651–665.
- [10] National Academy Press (NAP), 2011. Arsenic in drinking water WEB address, http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10194.

- [11] N.E. Korte, Q. Fernando, 1991. A review of arsenic (III) in groundwater, *Crit. Rev. Environ. Control* 21 1–39.
- [12] M.F. Hughes, 2006. Biomarkers of exposure: a case study with inorganic arsenic, *Environ. Health Perspect.* 114 1790–1796.
- [13] D.K. Essumang, D.K. Doodoo, S. Obiri, J.Y. Yaney, 2007. Arsenic, cadmium, and mercury in cocoyam (*Xanthosoma sagittolium*) and watercocoyam (*Colocasia esculenta*) in Tarkwa a mining community, *B. Environ Contam. Tox.* 79 377–379.
- [14] D.K. Essumang, 2009. Analysis and human health risk assessment of arsenic, cadmium, and mercury in *Manta birostris* (manta ray) caught along the Ghanaian coastline, *Hum. Ecol. Risk Assess.* 15 985–998.
- [15] A. Navas-Acien, K.E. Nachman, 2013. Public health responses to arsenic in rice and other foods, *JAMA Intern. Med.* 173 1395–1396.
- [16] World Health Organization (WHO), 2011. WHO guidelines for drinking-water quality: arsenic in drinking water, http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/arsenic.pdf.
- [17] Standard Methods 2012 For the Examination of Water and Wastewater. 22nd edition
- [18] S. Damirchi, T. Heidari, 2018. Evaluation of digital camera as a portable colorimetric sensor for low-cost determination of inorganic arsenic (III) in industrial wastewaters by chemical hydride generation assisted-Fe(III) – 1, 10-phenanthroline as a green color agent, *J. Iran. Chem. Soc.* 15 (11) 2549–2557.
- [19] J.R. Behari, R. Prakash, 2006. Determination of total arsenic content in water by atomic absorption spectroscopy (AAS) using vapour generation assembly (VGA), *Chemosphere* 63 17–21.
- [20] B. Klaue, J.D. Blum, 1999. Trace Analyses of Arsenic in Drinking Water by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: High Resolution versus Hydride Generation, *Anal. Chem.* 71 1408–1414.
- [21] C. Wang, H. Luo, Z. Zhang, Y. Wu, J. Zhang, S. Chen, 2014. Removal of As (III) and As (V) from aqueous solutions using nanoscale zero valent iron-reduced graphite oxide modified composites, *J. Hazard. Mater.* 268 124–131.
- [22] United States Environmental Protection Agency Office of Water, Analytical Methods Support Document For Arsenic In Drinking Water, 1999. vol. 22027.

- [23] X. Jia, D. Gong, J. Wang, F. Huang, T. Duan, X. Zhang, 2016. Arsenic speciation in environmental waters by a new specific phosphine modified polymer microsphere preconcentration and HPLC–ICP-MS determination, *Talanta* 160 437–443.
- [24] J. Shi, Z. Tang, Z. Jin, Q. Chi, B. He, G. Jiang, 2003. Determination of As (III) and As (V) in soils using sequential extraction combined with flow injection hydride generation atomic fluorescence detection, *Anal. Chim. Acta.* 477 139-147.
- [25] B.E. Ramírez Cordero, M.P. Cañizares-Macías, 2009. Determination of bioavailable soluble arsenic and phosphates in mine tailings by spectrophotometric Sequential Injection Analysis, *Talanta* 78 1069-1076.
- [26] J.Y. Neira, J. Mendoza, C.G. Bruhn, 2005. Flow análisis by using solenoid valves for As(III) determination in natural waters by an on-line separation and pre-concentration system coupled to a tungsten coil atomizer, *Quim. Nova* 28 (2) 217-223.
- [27] L. Cai, Y. Zhu, G. Du, Q. Fang, 2012. Droplet-Based Microfluidic Flow Injection System with Large-Scale Concentration Gradient by a Single Nanoliter Scale Injection for Enzyme Inhibition Assay. *Anal. Chem.* 84 446–452.
- [28] X. Wang, Z. Liu, Y. Pang, 2017. Concentration gradient generation methods based on microfluidic systems. *RSC Adv.* 7 29966.
- [29] Y. Zhang, H. Li, Y. Ma, J. Lin, 2014. Paper spray mass spectrometry-based method for analysis of droplets in a gravity-driven microfluidic chip. *Analyst.* 139 1023.
- [30] J. Jeon, N. Choi, H. Chen, J. Moon, L. Chen, J. Choo, 2019. SERS-based droplet microfluidics for highthroughput gradient analysis. *The Royal Society of Chemistry.*
- [31] W. Liu, Y. Zhu, 2020. Development and application of analytical detection techniques for droplet-based microfluidics -A review. *Anal. Chim. Acta.* 111329 66-84.
- [32] S. Tian, H. Yang, Z. Zhang, M. Du, G. Mao, X. Ji, Z. He, 2019. A digital quantification method for the detection of biomarkers on a microfluidic array chip. *Sens. Actuators B Chem.* 298 126851.
- [33] Q. Zhang, X. Zhang, X. Zhang, L. Jiang, J. Yin, P. Zhang, S. Han, Y. Wang, G. Zheng, 2019. A feedback-controlling digital microfluidic fluorimetric sensor

device for simple and rapid detection of mercury (II) in costal seawater. *Mar. Pollut. Bull.* 144 20-27.

[34] Gonçalves Dias Diniz PH., 2020. Chemometrics-assisted color histogram-based analytical systems. *J Chemom* 2020:e3242.

[35] A.C. Olivieri, G.M. Escandar, A. Muñoz de la Peña, 2011. Second-order and higher-order multivariate calibration methods applied to non-multilinear data using different algorithms, *Trac-Trend Anal. Chem.* 30 (4) 607-617.

[36] Escandar G.M., Faber N.M., Goicoechea H.C., Muñoz de la Peña A., Olivieri A.C., Poppi R.J., 2007. Second and third order multivariate calibration: data, algorithms and applications. *Trends Anal. Chem.* 26 752–765.

[37] Bro R., 2006. Review on multiway analysis in chemistry–2000–2005. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 36 279–293.

[38] Pagani, A.P., 2019. Datos multivariados basados en señales fluorescentes moduladas por pH para el análisis de multicomponentes en muestras complejas. Facultad de ciencias bioquímicas y farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario.

[39] C. Monzón, C. Teglia, M. Delfino, H. Goicochea, 2018. Multiway calibration strategy with chromatographic data exploiting the second-order advantage for quantitation of three antidiabetic and three antihypertensive drugs in serum samples, *Microchem. J.* 136 185-192.

[40] M.C. Bauza, G.A. Ibañez, R. Tauler, A.C. Olivieri, 2012. Sensitivity Equation for Quantitative Analysis with Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares: Theoretical and Experimental Approach, *Anal. Chem.* 84 (20) 8697-8706.

[41] P. H. Gonçalves Dias Diniz, L. Farias de Almeida, D.P. Harding, M.C. Ugulino de Araújo, 2012. Flow-batch analysis, *Trac-Trend Anal. Chem.* (35) 39-49.

[42] M.A. Domínguez, P.H. Gonçalves Dias Diniz, M.S. Di Nezio, M.C. Ugulino de Araújo, M.E. Centurión, 2014. Geographical origin classification of Argentinean honeys using a digital image-based flow-batch system, *Microchem. J.* 112 104-108.

[43] L. Capitán-Vallvey, N. López-Ruiz, A. Martínez-Olmos, M. Erenas, A. Palma, 2015. Recent developments in computer vision-based analytical chemistry: A tutorial review, *Anal. Chim. Acta.* 899 23-56.

- [44] F. Pena-Pereira, L. Villar-Blanco, I. Lavilla, C. Bendicho, 2018. Test for arsenic speciation in waters based on a paper-based analytical device with scanometric detection, *Anal. Chim. Acta.* 1011 1-10.
- [45] M. Saraji, N. Bagheri, 2018. Paper-based headspace extraction combined with digital image analysis for trace determination of cyanide in water samples, *Sensor. Actuat B-Chem.* 270 28-34.
- [46] J.K. Kearns, C.B. Edson, 2018. Expanding Quantification of Arsenic in Water to 0 $\mu\text{g L}^{-1}$ with a Field Test Kit: Substituting 0.4% M/V Silver Nitrate as the Colorimetric Reagent; Employing Digital Image Analysis, *Water Air Soil Poll.* 229:75.
- [47] A. Araújo, W. Marinho, A. de Araújo Gomes, 2018. A Fast and Inexpensive Chemometric-Assisted Method to Identify Adulteration in Acai (*Euterpe oleracea*) Using Digital Images, *Food Anal. Methods* 11 (7) 1920–1926.
- [48] J. Arancibia, C. Boschetti, A. Olivieri, G. Escandar, 2008. Screening of Oil Samples on the Basis of Excitation-Emission Room-Temperature Phosphorescence Data and Multiway Chemometric Techniques. Introducing the Second-Order Advantage in a Classification Study, *Anal. Chem.* 80 2789-2798.
- [49] E.M. Colunga Urbina, 1999. Empleo de estándar interno en la determinación de arsénico a nivel de trazas por espectrofotometría UV-VIS. Universidad autónoma de Nuevo León.
- [50] F. Belén, F.D. Vallese, L.G.T. Leist, M.F. Ferrão, A. Araújo Gomes, M. Pistonesi, 2020. Computer-vision based second-order (kinetic-color) data generation: arsenic quantitation in natural waters. *Microchem. J.* 157 104916.
- [51] G. Eggly, M. Blackhall, A. de Araújo Gomes, R. Santos, M. Ugulino de Araújo, M. Pistonesi, 2018. Emitter/receiver piezoelectric films coupled to flow-batch analyzer for acoustic determination of free glycerol in biodiesel without chemicals/external pretreatment, *Microchem. J.* 138 296-302.
- [52] A.C. Olivieri, H.-L. Wu, R.-Q. Yu, 2009. MVC2: MVC2: A MATLAB graphical interface toolbox for second-order multivariate calibration. *Chemom. Intell.Lab. Syste.* 96 246-251.
- [53] A. Lopez, R. Torralba, M.A. Palacios, C. Camara, 1992. Generation of AsH_3 from As(V) in the absence of KI as pre-reducing agent: speciation of inorganic arsenic, *Talanta* 39 No. 10, 1343-1348.

- [54] N. Yogarajah, S.S.H. Tsai, 2015. Detection of trace arsenic in drinking water: challenges and opportunities for microfluidics, *Environ. Sci-Wat Res.* 1 426-447.
- [55] M.M. Rahman, K. Fujinaga, Y. Seike, M. Okumura, 2004. A simple in situ visual and tristimulus colorimetric method for the determination of trace arsenic in environmental water after its collection on a mercury(II)-impregnated paper, *Anal. Sci.* 20 165-170.
- [56] A. Baghel, B. Singh, P. Pandey, K. Sekhar, 2007. A Rapid field detection method for arsenic in drinking water, *Anal. Sci.* 23 135-137.
- [57] A. Safarzadeh-Amiri, P. Fowlie, A.I. Kazi, S. Siraj, S. Ahmed, A. Akbor, 2011. Validation of analysis of arsenic in water samples using Wagtech Digital Arsenator, *Sci. Total Environ.* 409 2662-2667.
- [58] C.M. George, Y. Zheng, J.H. Graziano, S. Bin Rasul, Z. Hossain, J.L. Mey, 2012. Evaluation of an arsenic test kit for rapid well screening in Bangladesh, *Environ. Sci. Technol.* 46 11213-11219.
- [59] M. Pfeiffer, G. Batbayar, J. Hofmann, K. Siegfried, D. Karthe, S. Hahn-Tomer, 2014. Investigating arsenic (As) occurrence and sources in ground, surface, waste and drinking water in northern Mongolia, *Environ. Earth Sci.* 73 649-662.
- [60] P. Nath, R.K. Arun, N. Chanda, 2014. A paper based microfluidic device for the detection of arsenic using a gold nanosensor, *RSC Adv.* 4 59558-59561.
- [61] Y. Zhou, X. Huang, C. Liu, R. Zhang, X. Gu, G. Guan, 2016. Color-multiplexingbased fluorescent test paper: dosage-sensitive visualization of arsenic(III) with discernible scale as low as 5 ppb, *Anal. Chem.* 88 6105-6109.
- [62] S.K. Kohl, J.D. Landmark, D.F. Stickle, 2006. Demonstration of Absorbance Using Digital Color Image Analysis and Colored Solutions. *J. Chem. Educ.* 83 4.
- [63] J. Wang, T. Hou, 2011. Application of molecular dynamics simulations in molecular property prediction II: diffusion coefficient. *J. Comput. Chem.* 32 (16) 3505-3519.
- [64] Crank J., 1979. *The mathematics of diffusion*, Oxford university press.
- [65] A.K. Das, 1998. Some non-Fickian diffusion equations: theory and applications. *Defect Diffus. Forum* 162 97-118.
- [66] J. Hristov, 2017. Subdiffusion model with time-dependent diffusion coefficient: integral-balance solution and analysis. *Therm. Sci.* 21 (1A) 69-80.

- [67] W.S. Abdul-Majeed, W.B. Zimmerman, 2012. Computational modelling of the hydride generation reaction in a tubular reactor and atomization in a quartz cell atomizer. *J. Anal. Sci. Meth. Instrum.* 2 126-139.
- [68] F.D. Vallese, F. Belén, P.V. Messina, A. Araújo Gomes, M. Pistonesi, 2021. Exploiting a gradient kinetics and color histogram in a single picture to second order digital imaging data acquisition with MCR-ALS for the arsenic quantification in water. *Sensors & Actuators: B. Chemical* 342 130079.
- [69] D.Q. Hung, O. Nekrassova, R.G. Compton, 2004. Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review. *Talanta* 64 269–277.
- [70] A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namiesnik, 2013. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *Trends Anal. Chem.* 50 78-84.

CAPÍTULO 3

Bioacumulación de cadmio y plomo en *Cyprinus carpio* procedentes de la cuenca inferior del río Colorado



LICENCIADO EN QUÍMICA FEDERICO DANILO VALLESE

Universidad Nacional del Sur

3.1 Introducción

La contaminación ambiental es un problema mundial. En particular, la contaminación del agua que provoca el deterioro del ecosistema acuático, en detrimento de la calidad del agua y su biota [1-3]. Las aguas dulces son vulnerables a la contaminación debido a las consecuencias de la actividad humana, desechos industriales, actividades agrícolas y mineras. Las aguas residuales e industriales, cuyos tratamientos de depuración son en ocasiones ineficientes, se introducen en los sistemas de drenaje cuyo destino final son los ríos y los mares, lo que provoca el deterioro de los ecosistemas [4]. Debido a los diferentes aportes de estos efluentes a los medios acuáticos, al contenido natural de distintos metales presentes en suelos o rocas y a los lixiviados producidos por las lluvias, la cuantificación de contaminantes persistentes es un problema complejo y de gran relevancia [5]. La contaminación ambiental puede causar intoxicaciones, enfermedades e incluso la muerte de los peces y es un grave problema por su alta persistencia ambiental y su elevada toxicidad, incluso en bajas concentraciones. La presencia de metales pesados en el agua puede tener efectos devastadores en el equilibrio ecológico del medio ambiente. Su presencia no solo afecta al ecosistema y su fauna, sino también a los individuos que los consumen, causando graves daños a la salud humana, ya sea por exposición o por bioacumulación [6]. La absorción y acumulación de diferentes contaminantes varía entre los diferentes sistemas biológicos. Los metales pesados son componentes traza naturales del ambiente acuático y los peces en su mayoría tienen una tendencia a bioacumularlos. Por ello, los humanos pueden correr un gran riesgo debido a la contaminación de la cadena alimentaria [7,8]. Para determinar la contaminación ambiental se utiliza el biomonitoreo, que permite acceder a información directa sobre el estado del medio acuático mediante el uso de organismos biológicos para su caracterización, lo que resulta en un valioso recurso para alertar sobre riesgos de toxicidad antes de que se vuelvan críticos. El uso de bioindicadores ha cobrado gran importancia en los últimos años en los programas de biovigilancia. Son una valiosa herramienta específica para evaluar el estado fisiológico y el estrés en los sistemas naturales y promover la comprensión de los mecanismos por los cuales los organismos responden a los cambios ambientales [9-12]. Estos proporcionan información

sobre la exposición y los efectos de las sustancias y también sobre los procesos interactivos en condiciones naturales. Al ser la cúspide de la cadena alimentaria, los peces reflejan los efectos directos e indirectos de la contaminación y pueden utilizarse como un buen biomarcador. El primer sistema multimétrico para conocer la calidad del agua se desarrolló para ser aplicado en peces y se utilizó como modelo en otros organismos como los macroinvertebrados [13]. Los peces se han utilizado ampliamente para evaluar la integridad biótica en arroyos y ríos. En general, se consideran buenos indicadores de la calidad del medio ambiente, por lo que la gran diversidad y abundancia de peces en ríos, lagos y mares indican que es un ambiente saludable para todas las demás formas de vida. Por el contrario, una alta tasa de mortalidad o un alto porcentaje de peces enfermos podrían ser causados directa o indirectamente por niveles considerables de contaminantes [14-16]. La carpa común (*Cyprinus carpio*) se utiliza con frecuencia como bioindicador debido a que es un organismo relativamente fácil de capturar e identificar, se dispone de amplia información sobre las historias de vida de las especies, está presente en pequeños cuerpos de agua e incluso en aquellos ecosistemas con ciertos niveles de contaminación y generalmente se utiliza como biomarcador centinela [17-20]. Estos peces habitan la zona del río Colorado y entre los metales bioacumulativos de interés ambiental y toxicológico, se encuentran cadmio (Cd) y plomo (Pb). Los metales pueden ser absorbidos por difusión pasiva, transporte activo o endocitosis y su biodisponibilidad dependerá del origen y su especiación química [21,22]. La concentración subletal de estos metales en el pez es de 5,0 ppm [23].

La determinación de cadmio y plomo en diversas matrices se suele realizar mediante técnicas tales como espectrometría de absorción atómica (AAS), espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) o espectrometría de fluorescencia atómica (AFS). Estas técnicas generalmente son costosas, consumen gran cantidad de reactivos y requieren un analista experimentado. En algunos casos, los procedimientos de extracción son prolongados y complejos [24-27]. Por otro lado, las técnicas electroquímicas, fundamentalmente las técnicas voltamperométricas de pulsos y las de redisolución son ampliamente utilizadas para la cuantificación de metales en muestras de interés ambiental, particularmente por su alta sensibilidad, selectividad, rapidez de medición e instrumentación relativamente económica.

En cuanto a los electrodos indicadores empleados en estas técnicas, los electrodos de película de bismuto (BiFE) son muy utilizados ya que presentan numerosas ventajas tales como señales no distorsionadas (picos bien definidos) y altamente reproducibles, resolución de picos próximos y amplio rango lineal [28,29]. El bismuto tiene la posibilidad de formar aleaciones multicomponentes, con los metales en estudio lo que permite una adecuada detección de los mismos. Estas aleaciones pueden ser depositadas en distintos soportes, como electrodos de carbono vítreo, pasta de carbono, grafito, minas de lápiz, electrodos serigrafiados (screen printed). Dentro de las formas de generar el film de bismuto sobre los diferentes soportes, la modalidad "in-situ" permite generar el film de bismuto, conjuntamente con la presencia de los metales a estudiar [30,31]. Pierini y col. emplearon estos sistemas para la determinación de cadmio y plomo en muestras de productos apícolas de la zona del VBRC. Los sistemas electroquímicos pueden ser automatizados para lograr mejoras en el desempeño de los procesos analíticos, teniendo un aumento significativo en la frecuencia, y exactitud de los análisis. Estos sistemas permiten la manipulación de sustancias inestables y tóxicas, y posibilitan un monitoreo continuo en cualquier proceso, reduciendo los costos para grandes volúmenes de análisis y control de los equipamientos con una mínima intervención de los operadores. En tal sentido, Eggly y col propusieron un prototipo que consta de un potencióstato con un sistema automático Flow-batch que incluye una celda voltamperométrica con un electrodo de film de bismuto aplicado a muestras de propóleos de la zona del VBRC [32]. Estos sistemas Flow-batch asociados a una detección electroquímica permiten ser empleados como una opción atractiva en laboratorios de análisis de rutina medioambientales.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivos generales

Estudio de bioacumulación de metales en peces que actúan como bioindicadores de contaminación.

El presente trabajo se encuadra en un convenio marco de carácter interdisciplinario, enfocado a la detección de estos contaminantes antropogénicos en el VBRC que pueden afectar a las actividades urbanas y agropecuarias.

3.2 Objetivos específicos

El estudio de bioacumulación de plomo y cadmio se lleva a cabo en peces *Cyprinus carpio* procedentes de la cuenca inferior del río Colorado. La determinación de los metales se realiza diseñando un sistema automático Flow-batch y voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada con un electrodo de film de bismuto como técnica de detección.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Reactivos y soluciones

Todos los reactivos empleados fueron de calidad analítica y las soluciones preparadas con agua ultra pura (18MΩ).

- ✓ Se preparó una solución estándar de bismuto (III) disolviendo una cantidad adecuada de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (99,999 %, Sigma-Aldrich) en 5 mL de ácido nítrico al 20 % (v v⁻¹) y se llevó hasta 25,0 mL con agua.
- ✓ Las soluciones de trabajo de Pb(II) y Cd(II) se obtuvieron diluyendo la correspondiente solución estándar (1000 mg μL^{-1} , Merck).
- ✓ El electrolito de soporte fue buffer ácido acético/acetato de sodio 0,1 M (pH 4,50). Esta solución se preparó empleando acetato de sodio trihidratado y ácido acético (Cicarelli).
- ✓ Buffer Tris-HCl 50mM pH 8,10 (Fluka).

3.3.2 Estudio de bioacumulación de Cadmio y Plomo en *Cyprinus carpio*

En este trabajo de Tesis, se realizó un estudio de bioacumulación de cadmio y plomo en *Cyprinus Carpio* (carpa Común) (Figura 3.1) capturados en el río Colorado y expuestos a diferentes concentraciones de metales. Los peces fueron colocados en bateas con agua de río para una aclimatación progresiva y posteriormente trasladados a peceras preparadas para su posterior estudio. En las peceras se colocó un difusor de burbujas para generar un flujo de aire constante y se proporcionó alimento seco artificial una vez al día. Durante el experimento, el pH del agua fue de 7,30 y la temperatura del agua de 20 ± 1 °C. Para realizar el estudio de bioacumulación se establecieron en función de la bibliografía las concentraciones de estos metales a las que usualmente están en contacto las muestras capturadas [23]. Por lo tanto, los peces fueron expuestos aleatoriamente a una solución que contiene cadmio y plomo con una concentración final de ambos de 5,0 ppm durante 24, 48 y 96 h (Tabla 3.1). Por otro lado, se designó un grupo de control para cada grupo de exposición, con peces que se encontraban en agua del río Colorado, pero sin estar expuestos a estos metales. El agua siempre fue aireada y renovada cada 24 h. Antes de sacrificar a los peces, se determinó su peso y longitud (Tabla 3.2), con el fin de caracterizar la muestra. Posteriormente, se procedió a realizar la disección del

pescado de manera tal de separar el hígado, el cual se pesó previo al procesamiento para su posterior análisis (Figura 3.2).

Se homogeneizó una cantidad adecuada de tejido en Tris-HCl 50 mM (pH 8,10) empleando un dispositivo piezoeléctrico ultrasónico durante 4 min y finalmente se centrifugó durante 10 min. El sobrenadante se calentó a 90 °C durante 5 min y se filtró antes del análisis electroquímico [33].



Figura 3.1: Ejemplares de *Cyprinus Carpio* capturados del río Colorado.



Figura 3.2: Procedimiento de extracción de los metales del hígado de las carpas.

Tabla 3.1: Protocolo experimental para la bioacumulación de cadmio y plomo.

	Pecera 1	Pecera 2	Pecera 3
Cd	2,5 ppm	1,0 ppm	4,0 ppm
Pb	2,5 ppm	4,0 ppm	1,0 ppm
Total	5,0 ppm	5,0 ppm	5,0 ppm

Tabla 3.2: Peso y longitud de los peces utilizados en el análisis.

Pecera	n	Peso (g)	Longitud (cm)
1	6	540 ± 12	30,1 ± 2,5
2	9	810 ± 35	38,7 ± 1,8
3	12	1008 ± 99	41,6 ± 1,6

n=número de peces por pecera.

3.3.3 Cuantificación de Cadmio y Plomo

3.3.3.1 Sistema Flow-batch con detección voltamperométrica

Considerando que este capítulo está enfocado al estudio de la bioacumulación de cadmio y plomo en *Cyprinus Carpio* como bioindicador de contaminación de las aguas del río Colorado, se utilizó para llevar a cabo la cuantificación electroquímica de estos metales el sistema propuesto por Eggly y col. [32]. La voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada (SWASV) se realizó utilizando un prototipo (Figura 3.3) que consiste en un sistema Flow-batch integrado con un potenciostato lab-made para la detección electroquímica de los metales. Este dispositivo utiliza una plataforma basada en un microcontrolador de bajo costo en un kit de hardware abierto Arduino. La reacción electroquímica tiene lugar en una cámara de mezcla (CM) de 25,0 mL, que contiene una tapa de PTFE con tres orificios para conectar los electrodos: electrodo de carbono vítreo (GCE) como electrodo de trabajo, el electrodo Ag/AgCl (3M KCl) como electrodo de referencia y un espiral de platino como contraelectrodo.

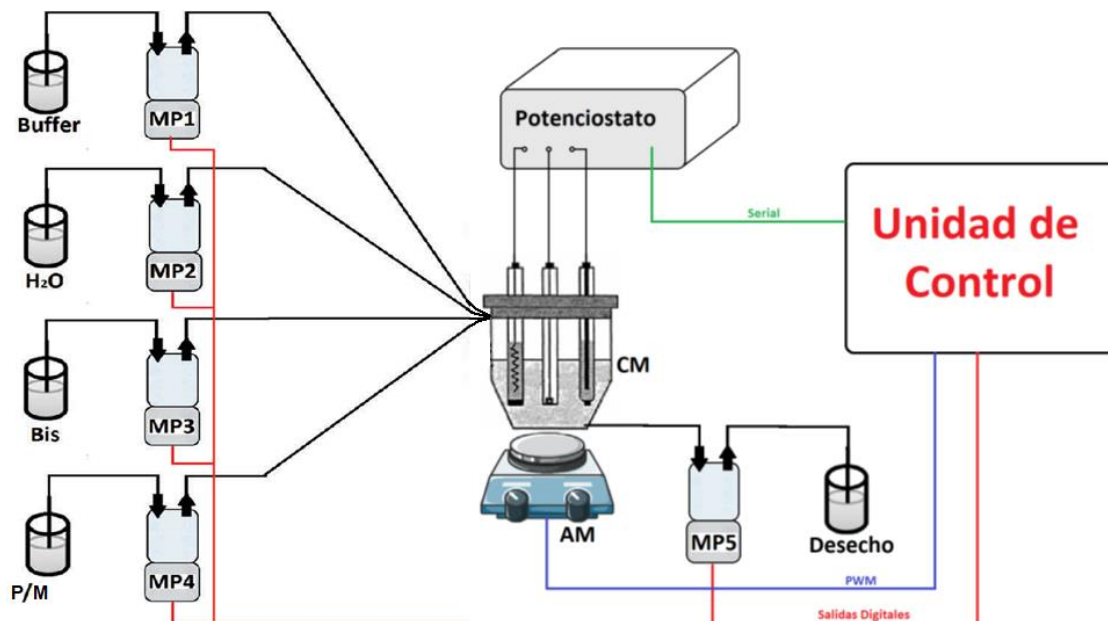


Figura 3.3: Sistema embebido Flow-batch con detección electroquímica. MP: bomba de diafragma; CM: cámara de mezcla; AM: agitador magnético; Buffer: solución buffer 0,1 M de acético/acetato de sodio; H₂O: agua desionizada ultrapura (>18MΩ); Bis: solución de bismuto acidificada; P/M: solución estándar de Cd, Pb o muestra. Fuente: Eggly y col. 2017.

3.3.3.2 Procedimiento para la cuantificación de Cadmio y Plomo

Los experimentos se llevaron a cabo en la CM. El GCE se pulió con una suspensión de alúmina de 0,05 μm y se enjuagó con agua desionizada. Con la finalidad de estabilizar la superficie del electrodo de trabajo, se realizaron voltamperogramas cíclicos entre -1,4 y -0,2 V empleando la solución de electrolito soporte (buffer ácido acético-acetato de sodio pH 4,50), a una velocidad de barrido de 100 mV s^{-1} . Las medidas de SWASV se llevaron a cabo sumergiendo los tres electrodos en la celda CM que contiene el electrolito soporte, 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ de la solución de Bi^{3+} y la solución a analizar. De esta manera se genera el film de bismuto “in-situ” sobre la superficie del electrodo de carbono vítreo. El potencial de deposición aplicado fue de -1,4 V durante 120 s a una velocidad de rotación del electrodo de trabajo de 6000 rpm. Luego, se detuvo la agitación y después de 10 s se registraron los voltogramas utilizando un barrido de potencial de -1,2 V a 0,2 V. Los parámetros de SWASV fueron: salto de potencial (ΔE_s) de 2 mV, amplitud de onda (ΔE_{sw}) de 40 mV, frecuencia

(f) de 25 Hz [32]. Estos parámetros permitieron una buena resolución de picos de plomo y cadmio.

Finalmente, con el objetivo de limpiar la superficie del electrodo de trabajo, se aplicó un potencial de 0,2 V durante 30 s bajo condiciones de agitación de 6000 rpm. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y sin eliminación de oxígeno.

La Tabla 3.3 muestra los parámetros Flow-batch utilizados para la determinación de cadmio y plomo en las muestras.

Antes del análisis, se accionan las válvulas para que la muestra y respectivas soluciones ingresen a los canales que se acoplan a la CM. Luego la solución en la CM es descartada al recipiente de desecho accionando la bomba de diafragma MP5. Se enciende el controlador Flow-batch y se ingresan todos los parámetros detallados en la Tabla 3.3. Luego se activa MP1 durante 75 s para inyectar el buffer, MP3 durante 25 s para que ingrese la solución de bismuto y MP4 durante 5 s para incorporar la muestra a la CM. Estos pasos se realizan con agitación magnética. Posteriormente, se realiza la etapa de electrodeposición durante 120 s, un tiempo de espera de 10 s y se procede a la etapa de redisolución empleando SWASV en 32 s. Finalmente, la CM es lavada y limpiada con agua MP2 durante 480 s dejando la CM en condiciones para el próximo análisis.

Tabla 3.3: Procedimiento Flow-batch empleado.

Paso	Evento	Tiempo (s)	Configuración de la bomba (µL) a 1Hz	Volumen (mL)
1	Buffer (MP1)	75	200	15
2	Bismuto (MP3)	25	200	5
3	Muestra (MP4)	5	20	0,1
4	Electrodeposición	120	-	-
5	Espera	10	-	-
6	Detección (SWASV)	32	-	-
7	Limpieza	480	-	-

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Determinación de cadmio y plomo. Parámetros analíticos

Teniendo en cuenta la concentración que los peces podrían presentar cuando están expuestos a dichos metales, se estableció el intervalo de valores de concentración de cadmio y plomo para la curva de calibrado en ($1-30 \mu\text{g L}^{-1}$), para ambos analitos, bajo las condiciones experimentales óptimas.

A continuación, se presentan las curvas de calibración para cadmio y plomo donde I_{pn} representa la intensidad de corriente neta y C^* la concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$).

$$I_{pn} = (0,244 \pm 0,009) C^*_{Cd} + (0,192 \pm 0,072) \quad (R^2 = 0,996)$$

$$I_{pn} = (0,211 \pm 0,012) C^*_{Pb} + (0,151 \pm 0,065) \quad (R^2 = 0,998)$$

El límite de detección estimado como 3 veces $S_{y/x}$ /pendiente fue de $0,88 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,92 \mu\text{g L}^{-1}$ para el cadmio y el plomo respectivamente. La reproducibilidad se evaluó como el porcentaje de variación de la desviación estándar relativa (RSD%) de seis mediciones independientes de $15,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de soluciones de cadmio y plomo. Los valores obtenidos fueron del 6,2% para el cadmio y del 5,3% para el plomo.

3.4.2 Estudio de bioacumulación

Empleando SWASV y electrodo de film de bismuto se cuantificó la concentración de cadmio y plomo en las muestras de tejido de *Cyprinus carpio* empleadas para el estudio de bioacumulación.

Inicialmente se analizaron las muestras del grupo control, observándose que no contenían niveles detectables de metales como se muestra en la Figura 3.4A (la señal a $-0,2 \text{ V}$ corresponde a iones Bi^{3+}). Luego de esto, se procedió a cuantificar ambos analitos en las muestras sometidas a bioacumulación. En la Figura 3.4B se muestra a modo de ejemplo, las señales de plomo ($-0,52 \text{ V}$) y cadmio ($-0,74 \text{ V}$) en una muestra luego de 48 h de exposición a los metales.

Los resultados obtenidos del estudio de bioacumulación de estos analitos se detallan en la Tabla 3.4. En la misma se muestra el contenido de cada metal expresado como $\mu\text{g/g}$ de tejido, en función del tiempo de exposición en las respectivas peceras. En la Figura 3.5 se puede observar unas gráficas para cadmio y plomo que plasman visualmente los resultados obtenidos.

Se puede observar que la acumulación de metales pesados en el hígado de la carpa aumenta paulatinamente durante el período de exposición, presentando el mayor aumento durante las primeras 24 h de exposición. En las siguientes horas el aumento no es significativo.

En la Pecera 1, el orden de acumulación de metales pesados fue $Pb > Cd$, siendo que ambos se encontraban en el agua con la misma concentración, hecho que concuerda con los resultados hallados en la literatura [23]. En la Pecera 2, en donde la concentración de Pb era 4 veces superior respecto a la de Cd y el orden de acumulación de metales pesados fue $Pb > Cd$. Finalmente, en la Pecera 3 el Cd estaba en una concentración 4 veces superior al Pb y el orden de acumulación de metales pesados fue $Cd > Pb$.

En todos los casos, ambos analitos se absorben muy rápidamente durante las primeras 24 horas. Por otro lado, se puede observar en la Tabla 3.4, que en la Pecera 2 aumenta la concentración de estos metales después de las 48 horas, mientras que en las peceras 1 y 3 no hay variaciones detectables luego de este tiempo.

Los contenidos de plomo y cadmio en las muestras con 48 h de bioacumulación en las tres peceras fueron validados por la técnica de espectrometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-AES) y los resultados obtenidos fueron satisfactorios (Tabla 3.5).

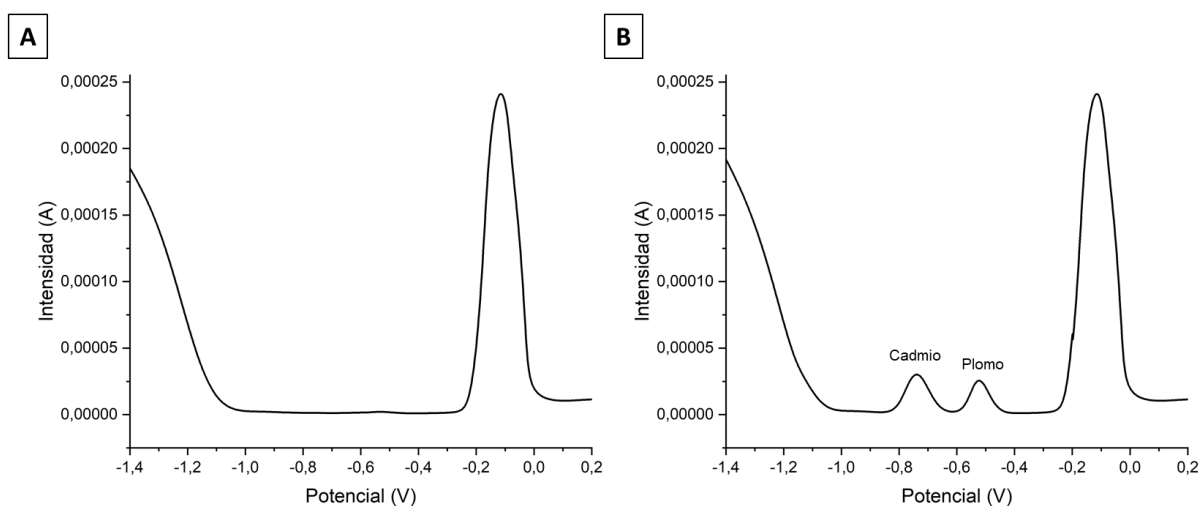


Figura 3.4: A) Voltograma para una muestra de *Cyprinus carpio* extraída del río Colorado perteneciente al grupo control. B) Voltograma para una muestra de *Cyprinus carpio* luego de 48 h de exposición a los metales.

Tabla 3.4: Bioacumulación de metales en cada pecera para los diferentes tiempos medidos.

	Pecera 1		Pecera 2		Pecera 3	
	Cd 2,5 ppm	Pb 2,5 ppm	Cd 1,0 ppm	Pb 4,0 ppm	Cd 4,0 ppm	Pb 1,0 ppm
	µg/g de tejido					
24 h	8,5 ± 0,3	9,9 ± 0,1	2,0 ± 0,3	14,0 ± 0,6	12,9 ± 0,3	2,5 ± 0,2
48 h	10,4 ± 0,8	11,6 ± 0,6	2,0 ± 0,1	14,7 ± 0,5	13,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1
96 h	10,5 ± 0,6	11,9 ± 0,7	2,4 ± 0,2	15,1 ± 0,7	13,4 ± 0,2	2,6 ± 0,1

Tabla 3.5: Comparación del método propuesto con el de referencia ICP-AES.

	Pecera 1		Pecera 2		Pecera 3	
	µg/g de tejido		µg/g de tejido		µg/g de tejido	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
Método propuesto	10,4 ± 0,8	11,6 ± 0,6	2,0 ± 0,1	14,7 ± 0,5	13,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1
ICP-AES	11,1 ± 0,5	10,8 ± 0,3	2,2 ± 0,4	15,2 ± 0,5	12,9 ± 0,2	2,7 ± 0,1
RSD %	6,3	7,4	9,1	3,3	2,3	7,4

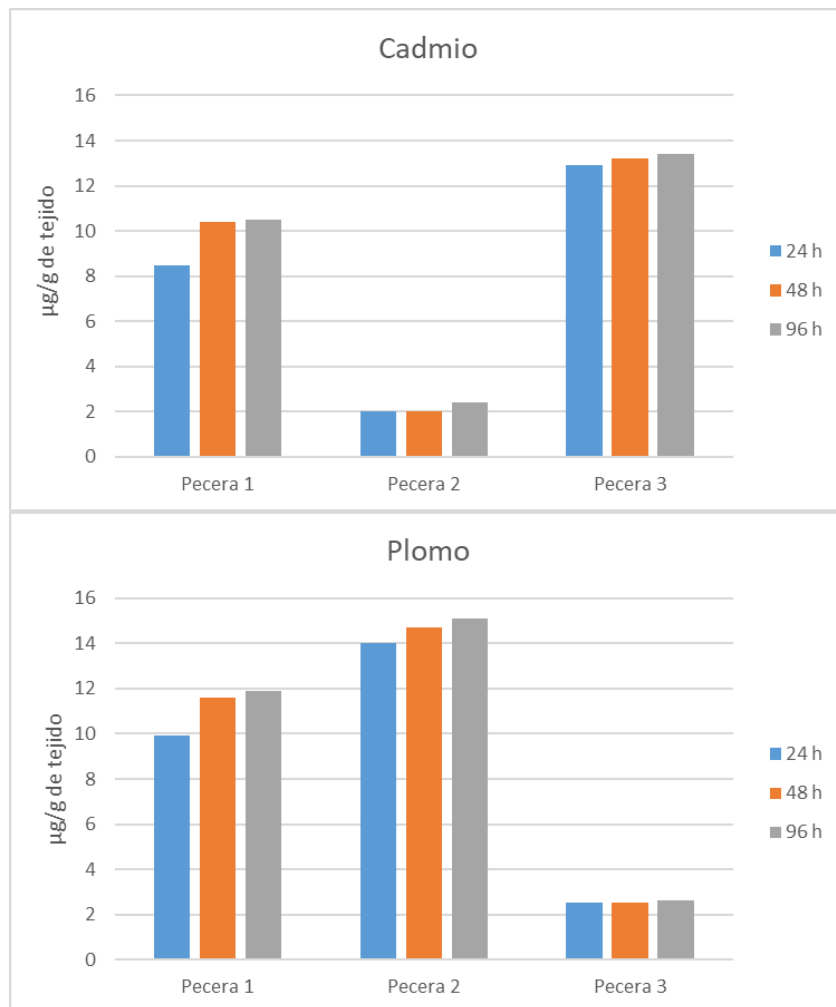


Figura 3.5: Bioacumulación de metales en función del tiempo para las diferentes peceras.

3.5 Conclusiones parciales

Teniendo en cuenta el origen natural y antrópico del plomo y cadmio y sus características químicas en cuerpos de aguas naturales, hay grandes riesgos que exista un problema potencial de contaminación para el río Colorado en su cuenca inferior, debido a la amplia actividad agropecuaria de la región, y otros procesos de contaminación generados a partir de los impactos antropogénicos. En el presente trabajo se realizó la cuantificación de plomo y cadmio en peces *Cyprinus Carpio* procedentes del VBRC para implementarla:

- ✓ Bajo las condiciones reales del río.
- ✓ En estudios de bioacumulación temporal de metales contaminantes en la biota.
- ✓ Para la detección temprana del estresor en el medio ambiente acuático.

Se comprobó que existen relaciones significativamente positivas entre las concentraciones de cadmio y plomo en el tejido de los bioindicadores y los del agua, lo que indica que la principal biosorción/acumulación de metales por parte de los peces fue a través de la misma. Los resultados obtenidos señalaron que en la especie *Cyprinus carpio* no existe relación entre la presencia de metales pesados y su longitud.

Para la cuantificación de los metales, se empleó un sistema Flow-batch con detección electroquímica empleando la técnica de SWASV y un electrodo de film de bismuto. Los resultados obtenidos demostraron que mediante dicha técnica se pueden determinar concentraciones muy bajas de metales a niveles incluso inferiores a los de bioacumulación de los peces.

La metodología resultó sencilla, de bajo costo y el sistema automático desarrollado podría incorporarse fácilmente a monitoreos de cuerpos de agua para detectar posibles contaminaciones que resulten tóxicas para los organismos que alberga.

Las muestras obtenidas del río Colorado, no contenían niveles de metales detectables, concluyendo que el agua en la región se encuentra en condiciones adecuadas para la vida acuática con respecto a estos metales. En un futuro y dando continuidad al convenio Marco, se deberían realizar estudios de bioacumulación en sedimentos y seleccionando un bioindicador adecuado.

3.6 Bibliografía

- [1] Donat-P. Häder, Anastazia T. Banaszak, Virginia E. Villafañe, Maite A. Narvarte, Raúl A. González, E. Walter Helbling, 2020. Anthropogenic pollution of aquatic ecosystems: Emerging problems with global implications. *Science of The Total Environment*, 713 136586.
- [2] Butnariu, M., 2022. Chapter 1 - Aquatic pollution and marine ecosystems. *Bacterial Fish Diseases*, Academic Press, 1-29.
- [3] Adewale, A., Ifeoluwa, A.P., Olusoji, O.A., Bukunmi, A.A., 2022. Fish as a bioindicator of polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in aquatic ecosystem of Ogun and Eleyele Rivers, Nigeria, and risk assessment for consumer's health. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100096.
- [4] Barakat, A., El Baghdadi, M., Rais, J., Aghezzaf, B., Slassi, M., 2016. Assessment of spatial and seasonal water quality variation of Oum Er Rbia River (Morocco) using multivariate statistical techniques. *International Soil and Water Conservation Research* 4 284–292.
- [5] Yang Wu, Chung-Yu Guan, Nicholas Griswold, Li-yuan Hou, Xin Fang, Anyi Hu, Zhi-qiang Hu, Chang-Ping Yu, 2020. Zero-valent iron-based technologies for removal of heavy metal(loid)s and organic pollutants from the aquatic environment: Recent advances and perspectives. *Journal of Cleaner Production*, 277 123478.
- [6] Tanna, K., Bhavsar, D., Mankad, A., 2020. Aquatic toxicity impacts on behaviour and survival of fresh water fish: A review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 8 (3): 235-243.
- [7] Vutukuru, S.S., 2003. Chromium induced alterations in some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70, 118-123.
- [8] Vutukuru, S.S., 2005. Acute Effects of Hexavalent Chromium on Survival, Oxygen Consumption, Hematological Parameters and Some Biochemical Profiles of the Indian Major Carp, *Labeo rohita*. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2 (3), 456-462.
- [9] Bascinar N.S., 2009. Benthics creatures and bioindicator species. Central Fisheries Research Institute.
- [10] Tugrul S, Kucuksezgin F, Yemenicioglu S, Uysal Z., 2009. Med Pol Phase IV. Long-term Biomonitoring Trend and Compliance Monitoring Program in

Aegean, Northern Mediterranean and Uetrofication Monitoring in Mersin Bay. Final report. Institute of Marine Sciences. Middle East Technical University.

[11] Van Aggelen, G., Ankley, G.T., Baldwin, W.S., Bearden, D.W., Benson, W.H., Chipman, J.K., Collette, T.W., 2010. Integrating omic technologies into aquatic ecological risk assessment and environmental monitoring: hurdles, achievements, and future outlook. *Environmental Health Perspectives* 118, 1–5.

[12] Altenburger, R., Scholz, S., Schmitt-Jansen, M., Busch, W., Escher, B.I., 2012. Mixture toxicity revisited from a toxicogenomic perspective. *Environmental Science & Technology* 46, 2508–2522.

[13] Fore, L. S., Karr, J. R., Wisseman, R.W., 1996. Assessing invertebrate responses to human activities: evaluating alternative approaches. *Journal of the North American Benthological Society*. 15:212-231.

[14] Souza, G.B.G., Vianna, M., 2020. Fish-based indices for assessing ecological quality and biotic integrity in transitional waters: A systematic review. *Ecological Indicators*, 109 105665.

[15] S.H. Romanić, G. Jovanović, B. Mustać, J. Stojanović-Đinović, A. Stojić, T. Čadež, A. Popović, 2021. Fatty acids, persistent organic pollutants, and trace elements in small pelagic fish from the eastern Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 170 112654.

[16] R. Riaz, C.A. de Wit, R.N. Malik, 2021. Persistent organic pollutants (POPs) in fish species from different lakes of the lesser Himalayan region (LHR), Pakistan: The influence of proximal sources in distribution of POPs. *Science of The Total Environment*, 760.

[17] Canli M., Ay Ö., Kalay M., 1998. Levels of heavy metals (Cd, Pd, Cu and Ni) in tissue of *Cyprinus carpio*, *Barbus carpio* and *Chondrostoma regium* from the Seyhan River. *Turkish Journal of Zoology*, 22 (3):149 – 157.

[18] Horvath L., Tamas G., Seagrave C., 2002. *Carp and Pond Fish Culture*. 2nd Edition Willey.

[19] Scarcia P., Calamante G., De laTorre F., 2014. Biomarker responses in caged carp (*Cyprinus carpio*) and native collected fish (*Leporinus obtusidens*) in the Río de la Plata Estuary, Argentina. *Environ. Toxicol.* 29 (8):950-60.

[20] Murussi C.R., Costa M., Menezes C., Leitemperger J., Guerra L., López T., Severo E., Zanella R., Loro V.L., 2015. Integrated assessment of biomarker

response in carp (*Cyprinus carpio*) and silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to clomazone. Arch Environ Contam Toxicol. 68 (4):646-54.

[21] Veltman, K., Huijbregts, M. A., Kolck, M. V., Wang, W. X., & Hendriks, A. J., 2008. Metal bioaccumulation in aquatic species: quantification of uptake and elimination rate constants using physicochemical properties of metals and physiological characteristics of species. Environmental science & technology, 42 (3), 852-858.

[22] Rivera, F.B., Moccetti, N.N., 2018. Concentración de plomo, mercurio y cadmio en músculo de peces y muestras de agua procedentes del Río Santa, Ancash – Perú. Salud tecnol. vet. 1: 35-41.

[23] Vinodhini R, Narayanan M., 2008. Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (common carp). International Journal of Environmental Science and Technology. 5 (2):179-182.

[24] Yi Chen, Mengtian Li, Lulu Fu, Xiandeng Hou, Xiaoming Jiang, 2014. Simultaneous determination of trace cadmium and lead in single human hair by tungsten electrothermal vaporization-flame atomic fluorescence spectrometry. Microchemical Journal, 114 182-186

[25] Yupin Cao, Biyang Deng, Lizhen Yan, Hongli Huang, 2017. An environmentally-friendly, highly efficient, gas pressure-assisted sample introduction system for ICP-MS and its application to detection of cadmium and lead in human plasma. Talanta, 167 520-525.

[26] Ni Zhang, Kun Shen, Xiaoming Yang, Zhongxi Li, Tuankun Zhou, Ying Zhang, Qinglin Sheng, Jianbin Zheng, 2018. Simultaneous determination of arsenic, cadmium and lead in plant foods by ICP-MS combined with automated focused infrared ashing and cold trap. Food Chemistry, 264 462-470.

[27] Gisseli S. Valasques, Ana Maria P dos Santos, Valdinei S. de Souza, Leonardo S.G. Teixeira, Juscelia P.S. Alves, Mirela de Jesus Santos, Wagner P.C dos Santos, Marcos A. Bezerra, 2020. Multivariate optimization for the determination of cadmium and lead in crude palm oil by graphite furnace atomic absorption spectrometry after extraction induced by emulsion breaking. Microchemical Journal, 153 104401.

[28] M. Yang, Z. Zhang, Z. Hu, J. Li, 2006. Differential pulse anodic stripping voltammetry detection of metallothionein at bismuth film electrodes. Talanta 69 1162–1165.

- [29] Krepper, G., Resende de Cerqueira, P.B., Pistonesi, M.F., Di Nezio, M.S., Centurión, M.E., 2016. Determination of cadmium residues in bee products using a 'lab-made' bismuth bulk electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 96 14 1331–1340.
- [30] Gastón D. Pierini, Adrián M. Granero, María S. Di Nezio, María E. Centurión, María A. Zon, Héctor Fernández, 2013. Development of an electroanalytical method for the determination of lead in propolis based on bismuth electrodes. *Microchemical Journal* 106 102-106.
- [31] Gastón D. Pierini, Marcelo F. Pistonesi, María S. Di Nezio, María E. Centurión, 2016. A pencil-lead bismuth film electrode and chemometric tools for simultaneous determination of heavy metals in propolis samples. *Microchemical Journal* 125 266–272.
- [32] G.M. Eggly, M. Nabaes, M.S. Di Nezio, M.E. Centurión, R. Santos and M.F. Pistonesi, 2017. Embedded flow-batch system with electrochemical detection for the determination of lead in propolis samples. *Journal of Environmental Analytical Chemistry* 97 10 1-13.
- [33] W. Fan, X. Wang, X. Li, F. Xue, 2015. Determination of metallothionein in *Daphnia magna* by modified square wave cathodic stripping voltammetry. *Electrochemistry Communications* 52 17–20.

CAPÍTULO 4

CONCLUSIONES GENERALES



LICENCIADO EN QUÍMICA FEDERICO DANILO VALLESE

Universidad Nacional del Sur

Conclusiones Generales

Los logros y probables aplicaciones obtenidos en esta Tesis son genuinamente posibles a partir de esta original colaboración interdisciplinar. En función de los objetivos planteados y teniendo en cuenta la importancia del Convenio Marco para la región del Valle Bonaerense del río Colorado, en esta Tesis se desarrollaron los siguientes trabajos:

- ✓ Se realizó una evaluación estadística hidrológica temporal para monitorear cambios y/o anomalías ambientales en tiempo real.
- ✓ Se desarrollaron dos trabajos interdisciplinarios que permiten automatizar, miniaturizar y simplificar las etapas de las operaciones de análisis para la determinación de arsénico en aguas naturales involucrando una gota suspendida (“lab in a drop”) mediante el empleo de imágenes digitales y el modelo quimiométrico MCR-ALS.
- ✓ Se llevó a cabo un estudio de bioacumulación de plomo y cadmio en peces *Cyprinus carpio* procedentes de la cuenca, empleando un sistema automático Flow-batch y voltamperometría de redisolución anódica de onda cuadrada con un electrodo de film de bismuto como técnica de detección.

Los resultados obtenidos en esta Tesis Doctoral pueden ser transferidos a las autoridades del INTA-CORFO y por ende a las autoridades de la Provincia de Buenos Aires. Por lo expuesto anteriormente, el empleo de sistemas analíticos para el monitoreo de los analitos estudiados en aguas naturales es de suma importancia debido a su vulnerabilidad a cambios asociados a presiones naturales y antropogénicas derivadas de las actividades productivas de la región.

APÉNDICE

PRODUCTIVIDAD



LICENCIADO EN QUÍMICA FEDERICO DANILO VALLESE

Universidad Nacional del Sur

Durante el período comprendido en esta Tesis, se obtuvo la siguiente productividad:

PUBLICACIONES EN REVISTAS CIENTÍFICAS

- ✓ **Computer-vision based second-order (kinetic-color) data generation: arsenic quantitation in natural waters.** Federico Belén, Federico D. Vallese, Lisa G.T. Leist, Marco F. Ferrão, Adriano de Araújo Gomes, Marcelo F. Pistonesi. *Microchemical Journal* 157 (2020), 104916. DOI: [10.1016/j.microc.2020.104916](https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104916)
- ✓ **Exploiting a gradient kinetics and color histogram in a single picture to second order digital imaging data acquisition with MCR-ALS for the arsenic quantification in water.** Federico D. Vallese, Federico Belén, Paula V. Messina, Adriano de Araújo Gomes, Marcelo F. Pistonesi. *Sensors and Actuators: B. Chemical* 342 (2021) 130079. DOI: [10.1016/j.snb.2021.130079](https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.130079)

ARTÍCULOS ACTUALMENTE EN EVALUACIÓN

- ✓ **An improved successive projections algorithm version to variable selection in multiple linear regression.** Luciana S. Canova, Federico D. Vallese, Marcelo F. Pistonesi, Adriano de Araújo Gomes. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*.
[CHEMOLAB-S-22-00128](#)
- ✓ **Colorado river (Argentina) water crisis scenarios and influence over irrigation water quality conditions.** Mariano Trillini, Jorge O. Pierini, Luciana Dunel, Marcelo F. Pistonesi, Federico D. Vallese. *Agricultural Water Management*
[AGWAT-S-22-01091](#)

ARTÍCULOS EN REDACCIÓN

- ✓ **Determination of cadmium and lead in bioindicators of the Colorado river. Use of a bismuth film electrode.** Sofía Stupniki, Federico D. Vallese, Marcelo F. Pistonesi.
- ✓ **Water quality index for human and livestock consumption purposes in the Buenos Aires valley of the Colorado River (Argentina).** Federico

D. Vallese, Mariano Trillini, Luciana D. Guerra, Marcelo F. Pistonesi, Jorge Pierini.

PRESENTACIÓN EN REUNIONES CIENTÍFICAS

9^{no} Congreso Argentino de Química Analítica. Río Cuarto, 7 al 10 de noviembre de 2017. “Evaluación de la variación espacial y estacional de la calidad del agua del río Colorado utilizando técnicas multivariadas”. Luciana Dunel Guerra, Mayara Ferreira Barbosa, Federico D. Vallese, Yael Robein, Mário César Ugulino de Araújo, Ana M. Martínez, Juan I. Vanzolini, Marcelo Pistonesi.

19^o Encuentro Nacional de Química Analítica (ENQA) y 7^o Congreso Iberoamericano de Química Analítica (CIAQA). Caldas Novas, Brasil, 16 al 19 de septiembre de 2018. “Sistema automático “lab in a drop” para la determinación de arsénico en aguas naturales empleando videos digitales”.

Federico Belén, Federico D. Vallese, Marcelo Pistonesi, Adriano de Araújo Gomes.

10^{mo} Congreso Argentino de Química Analítica. Santa Rosa, 17 al 20 de septiembre de 2019. “Cuantificación de arsénico en aguas naturales empleando porfirina de manganeso como sensor espectrofotométrico”. Caio V. de Lima, Federico D. Vallese, Julio S. Rebouças, Marcelo F. Pistonesi.

10^{mo} Congreso Argentino de Química Analítica. Santa Rosa, 17 al 20 de septiembre de 2019. “Determinación de cadmio y plomo en bioindicadores del río Colorado. Empleo de un electrodo de film de bismuto”. Sofía Stupniki, Federico D. Vallese, Marcelo F. Pistonesi.

10^{mo} Congreso Argentino de Química Analítica. Santa Rosa, 17 al 20 de septiembre de 2019. “Generación de datos de segundo orden basados en la visión computarizada”. Federico D. Vallese, Federico Belen, Marco Flores Ferrão, Marcelo F. Pistonesi, Adriano de Araújo Gomes.

8^{vo} Congreso Internacional sobre gestión y tratamiento integral del agua. Congreso Virtual, Cordoba, 5-6-12-13 de noviembre de 2020. “Análisis de la influencia de la calidad del agua sobre los cultivos en la cuenca inferior del río Colorado”. Luciana Dunel Guerra, Federico D. Vallese, Yasmin Safe, Mariano Trillini, Marcelo F. Pistonesi, Juan I. Vanzolini, Jorge Pierini.

AmeriGEO Week 2021. Congreso Virtual, El Salvador, 23 al 27 de agosto de 2021. “Evaluación del índice de calidad del agua de la cuenca del río Colorado (Argentina) para la gestión futura de la cuenca hidrográfica”. Federico D. Vallese, Jorge O. Pierini, Mariano Trillini.

AmeriGEO Week 2021. Congreso Virtual, El Salvador, 23 al 27 de agosto de 2021. “Evaluación de la calidad del agua mediante monitoreos y prácticas agrícolas sostenibles para aumentar la productividad en la cuenca del río Colorado, Argentina”. Mariano Trillini, Jorge O. Pierini, Federico D. Vallese.

III Congreso Internacional de Ríos y Humedales (CRYH 2021). Congreso Virtual. Colombia, 25 al 31 de octubre de 2021. “Valle Bonaerense del río Colorado, efectos de la actividad humana o variabilidad climática”. Federico D. Vallese, Jorge O. Pierini, Mariano Trillini, Marcelo F. Pistonesi.

III Congreso Internacional de Ríos y Humedales (CRYH 2021). Congreso Virtual. Colombia, 25 al 31 de octubre de 2021. “Alteración de la calidad del agua por factores climáticos en la cuenca regulada del río Colorado (Argentina)”. Mariano Trillini, Jorge O. Pierini, Federico D. Vallese, Marcelo F. Pistonesi.

11^{vo} Congreso Argentino de Química Analítica. Congreso Virtual, Corrientes 30 de noviembre al 3 de diciembre de 2021. “Cuantificación de aluminio y vanadio en muestras de implantes ortopédicos empleando espectroscopia UV-VIS y MCR-ALS con restricción de correlación”. Federico Belén, Federico D. Vallese, Adriano de Araújo Gomes, Paula V. Messina, Marcelo F. Pistonesi.

11^{vo} Congreso Argentino de Química Analítica. Congreso Virtual, Corrientes 30 de noviembre al 3 de diciembre de 2021. “Sistema microfluídico con gradiente de concentración e histogramas de color en una imagen. Aplicación de datos de segundo orden con MCR-ALS para cuantificación de Arsénico”. Federico D. Vallese, Federico Belén, Paula V. Messina, Adriano de Araújo Gomes, Marcelo F. Pistonesi.

11^{vo} Congreso Argentino de Química Analítica. Congreso Virtual, Corrientes 30 de noviembre al 3 de diciembre de 2021. “Empleo de derivados porfirinicos como sensores espectrofotométricos para la cuantificación de

arsénico en aguas". Caio V. de Lima, Federico Belén, Federico D. Vallese, Julio S. Rebouças, Marcelo F. Pistonesi.