

Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco

Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud

Departamento de Química



**"Caracterización de materiales híbridos
arcillas/biomasas de algas obtenidos a partir de
técnicas sustentables y su implicancia
ecotoxicológica"**

Tesis Doctoral

2024

Tesista: Farm. Hebe Bibiana Blasetti

Directora: Dra. Ofelia Katusich

Co-Directora: Dra. Andrea Fabiana Vallone

A mi compañero de vida Adrian
A mis hijas Belén y Pilar

Agradecimientos:

Quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco por la oportunidad de realizar mis estudios de grado y posgrado en una institución que se distingue por ofrecer una educación pública, gratuita y de alta calidad. Esta formación ha sido crucial para mi desarrollo académico y profesional.

En particular, deseo reconocer a la Dra. Ofelia Katusich por su apoyo y dedicación constante durante el desarrollo de este trabajo. Su valiosa guía en los aspectos académicos y personales ha sido fundamental, y el vínculo de amistad y confianza que hemos construido trasciende lo profesional. Asimismo, agradezco a mi codirectora, la Dra. Andrea Fabiana Vallone de la Universidad Nacional de San Luis, por su asesoramiento.

Extiendo mi gratitud a la Dra. Stella Maris Ríos por compartir sus conocimientos, los cuales fueron de gran valor a lo largo de esta investigación. También quiero agradecer a la Dra. Laura Fernández de la Universidad Nacional del Comahue, a la Dra. Adriana Nillni del Departamento de Geología de la UNPSJB, al Dr. Osvaldo León Córdoba del Departamento de Bioquímica de la UNPSJB y a la Lic. Victoria Álvarez del Departamento de Biología y Ambiente de la UNPSJB, por sus valiosas colaboraciones y aportes.

Un especial reconocimiento a mi amiga, Farm. Marcela De Alba, por su apoyo incondicional, a mi compañero Raúl Bordón por su invaluable ayuda en los ensayos de ecotoxicidad y a todos aquellos que no he podido mencionar, sepan que estarán siempre en mi corazón.

Finalmente, expreso mi más profundo agradecimiento a mi esposo, Adrian, y a mis hijas, María Belén y María Pilar, por acompañarme en cada uno de los desafíos que emprendo.

¡Gracias a todos!

ÍNDICE

Abreviaturas.....	7
Resumen	10
Capítulo 1	15
1.1. Introducción.....	15
1.2. Desarrollo Sustentable y Química Verde.....	18
1.3. Objetivos.....	20
1.3.1. Objetivos generales	20
1.3.2. Objetivos particulares.....	21
1.4. Hipótesis de trabajo	21
1.5. Plan de trabajo	22
1.6. Bibliografía	23
Capítulo 2	28
2. Metodología experimental.....	28
2.1. Materiales	28
2.1.1. Arcillas.....	28
2.1.2. Algas.....	28
2.1.3. Materiales Híbridos.....	29
2.1.4. Arena.....	30
2.1.5. Petróleo.....	31
2.2. Caracterización de los sorbentes	31
2.2.1. Determinación del pH.....	31
2.2.2. Determinación de la conductividad eléctrica (CE).....	31
2.2.3. Determinación de cenizas (CZ).....	32
2.2.4. Determinación de humedad (H).....	32
2.2.5. Capacidad de intercambio catiónico (CIC).....	33
2.2.6. Capacidad de retención de agua (CRA).....	34
2.2.7. Superficie específica (SE).....	35
2.2.8. Difracción de rayos X (DRX).....	37
2.2.9. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	38
2.3. Caracterización del petróleo	39
2.3.1. Hidrocarburos totales del petróleo (TPH).....	39
2.3.2. Cromatografía en columna. Método SARA.....	39

2.3.3. Espectroscopía UV-visible (UV-vis).....	40
2.4. Procesos de sorción	41
2.4.1. Capacidad de sorción (CS).....	41
2.4.2. Ensayos en batch e isothermas de sorción.....	41
2.5. Proceso de desorción	42
2.5.1. Ensayos de cosolvente.....	42
2.6. Ensayos de ecotoxicidad.....	42
2.6.1. Método de ensayo de toxicidad aguda con semilla de lechuga en papel	43
2.6.2. Método directo.....	44
2.7. Integración de resultados	44
2.7.1. Análisis de componentes principales (PCA).....	44
2.8. Bibliografía	45
Capítulo 3	49
3. Materiales de partida	49
3.1. Arcillas (ARC).....	50
3.1.1. Características y clasificación de arcillas.....	50
3.1.2. Localización de yacimientos en Comodoro Rivadavia.....	54
3.1.3. Caracterización de la arcilla	55
3.2. Algas.....	58
3.2.1. Características y clasificación de algas.....	59
3.2.2. <i>Codium fragile</i> (COD).....	60
3.2.3. <i>Undaria pinnatifida</i> (UND).....	61
3.2.4. Caracterización de las algas.....	63
3.3. Materiales híbridos.....	67
3.3.1. Obtención de materiales híbridos.....	68
3.3.2. Caracterización de los materiales híbridos.....	68
3.4. Bibliografía	75
Capítulo 4.	84
4.1. Importancia del proceso de sorción.....	84
4.2. Determinación de la capacidad de sorción de petróleo	84
4.3. Isothermas de sorción	86
4.4. Desorción del petróleo.....	89
4.5. Bibliografía	92

Capítulo 5	96
5. 1. Ecotoxicología	96
5.2. Reglamentación	97
5.3. Efectos tóxicos del petróleo.....	98
5.4. Ensayos de toxicidad	100
5.4.1. Ensayos de toxicidad sobre los materiales de partida	103
5.4.2. Ensayos de toxicidad sobre muestras contaminadas	105
5.4.2.1 Ensayos de toxicidad con el material híbrido arcilla- <i>Codium fragile</i>	106
5.4.2.1.1 Ensayos directos sobre el suelo.....	107
5.4.2.1.2 Ensayos sobre elutriados.....	110
5.4.2.2 Ensayos con el material híbrido arcilla- <i>Undaria pinnatifida</i>	114
5.4.2.2.1 Ensayos directos sobre el suelo.....	115
5.4.2.2.2 Ensayos sobre elutriados.....	118
5.5. Bibliografía	122
Capítulo 6	127
6. Integración de los resultados	127
6.1. Análisis multivariado	127
6.2. Conclusiones	131
6.3. Bibliografía	136

Abreviaturas

AM: Azul de Metileno

AO: Agregado orientado

ASTM: American Society for Testing and Materials, organización de normas internacionales

ARC: arcilla

°C: unidad de medida de temperatura grados Centígrados o Celsius

CaCl₂: cloruro de calcio

COD: alga *Codium fragile*

CE: Conductividad Eléctrica

CS: Capacidad de sorción

CZ: Cenizas

UND: alga *Undaria pinnatifida*

ARCCOD E: material híbrido arcilla alga *Codium fragile* calentado en estufa

ARCCOD MO: material híbrido arcilla alga *Codium fragile* calentado en horno de

ARCUND E material híbrido arcilla alga *Undaria pinnatifida* calentado en estufa

ARCUND MO material híbrido arcilla alga *Undaria pinnatifida* calentado en horno de microondas

ARC P: arcilla purificada

%m: Tanto por ciento en masa

BET: Brunauer–Emmett–Teller

CH₃OH: Metanol

CIC: Capacidad de Intercambio Iónico

CRA: Capacidad de Retención de Agua

CRR: crecimiento relativo de la radícula

CS: capacidad de sorción

DRX: Difracción de Rayos X

DRXP: Difracción de Rayos X en Polvo

EG: etilén glicol

EPA: (*Environmental Protection Agency*) Agencia de Protección Ambiental de Estados

FDA: Administración de medicamentos y alimentos

FTIR: Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier

G: *Grindelia chilensis*

GRS: Germinación Relativa de las Semillas

H: Humedad

HAP: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos

IG: Índice de Germinación

IRAM: Instituto Argentino de Normalización y Certificación

KBr: bromuro de potasio

K₂CO₃: carbonato de potasio

L: *Lactuca Sativa*

O: octahédrica

OCDE: Organización para la cooperación y desarrollo económicos

PCA: Análisis de componentes principales

pH: escala de acidez/basicidad

R²: Coeficiente de correlación

SARA: Saturados, Aromáticos, Resinas, Asfaltenos

S_{BET}: Área superficial calculada por el método BET

SE: Superficie Específica

S20%: Solubilidad en agua de hidrocarburos del petróleo de concentración 20%

S30%: Solubilidad en agua de hidrocarburos del petróleo de concentración 30%

T: tetraédrica

TPH: Hidrocarburos totales del petróleo

TTC: 2,3,5 - cloruro de trifeniltetrazolio

USEPA: United States Environmental Protection Agency

UV: Ultravioleta

UV-vis: Espectroscopia UV visible

VA: Vapor de Agua

v: Número de onda

Resumen

La región patagónica ha experimentado una intensa actividad petrolera desde el descubrimiento del petróleo en 1907, lo que ha generado daños significativos en el suelo debido a derrames accidentales. Esta contaminación requiere métodos efectivos de remediación, aunque los criterios para su tratamiento continúan siendo objeto de debate, debido a la complejidad del petróleo crudo. Las arcillas y las algas marinas se presentan como alternativas eficaces y de bajo costo para la sorción de contaminantes. Las arcillas han demostrado una alta capacidad de adsorción de compuestos orgánicos, mientras que las algas pueden actuar como bioestimulantes, biofertilizantes o en la fabricación de compost. El desarrollo de materiales híbridos orgánico-inorgánicos, basado en los principios de la Química Verde, permite crear tecnologías que minimizan el uso de sustancias peligrosas y optimizan los procesos, reduciendo la generación de residuos. Estos materiales podrían desempeñar un papel clave en la gestión ambiental mejorando la sorción del petróleo y reduciendo el riesgo ambiental. En este contexto, esta tesis se enfoca en la preparación mediante dos técnicas de calentamiento, de materiales híbridos, a partir de arcilla y algas presentes en la región patagónica. La caracterización de estos materiales se llevó a cabo mediante análisis fisicoquímicos, difracción de rayos X, espectroscopía infrarroja, capacidad de sorción, junto con ensayos de ecotoxicidad, lo que permitió una evaluación integral del impacto ambiental. Los resultados revelaron que la arcilla utilizada es principalmente montmorillonita, mientras que las algas empleadas corresponden a *Codium fragile* y *Undaria pinnatifida*. El calentamiento por microondas favoreció una mayor delaminación de la arcilla en la preparación de los materiales híbridos, lo que mejoró su capacidad de sorción, alcanzando niveles comparables a los de sorbentes industriales. Además, se observó que los materiales híbridos reducen la solubilidad del petróleo en agua y, por ende,

su toxicidad. Estos materiales también aportan nutrientes y mejoran las condiciones del suelo. En los ensayos de ecotoxicidad, realizados mediante los métodos directo y de elutriado, se observó que la especie *Grindelia chiloensis* podría utilizarse como indicador en estudios de toxicidad en la región patagónica ya que los resultados son similares a los obtenidos con la especie de referencia *Lactuca sativa*. Finalmente, el análisis multivariado identificó al pH, conductividad eléctrica, capacidad de sorción, y la solubilidad en agua de los hidrocarburos del petróleo, junto con el índice de germinación, como los parámetros más relevantes en el comportamiento de los materiales, lo que confirma su efectividad y sostenibilidad ambiental.

Abstract

The Patagonian region has experienced intense oil activity since the discovery of oil in 1907, which has generated significant damage to the soil due to accidental spills. This contamination requires effective remediation methods, although the criteria for its treatment continue to be the subject of debate, due to the complexity of crude oil. Clays and seaweeds are presented as effective and low-cost alternatives for the sorption of contaminants. Clays have demonstrated a high adsorption capacity for organic compounds, while algae can act as biostimulants, biofertilizers or in the manufacture of compost. The development of organic-inorganic hybrid materials, based on the principles of Green Chemistry, allows the creation of technologies that minimize the use of hazardous substances and optimize processes, reducing waste generation. These materials could play a key role in environmental management by improving oil sorption and reducing environmental risk. In this context, this thesis focuses on the preparation of hybrid materials from clay and algae present in the Patagonian region using two heating techniques. The characterization of these materials was carried out using physicochemical analysis, X-ray diffraction, infrared spectroscopy, sorption capacity, along with ecotoxicity tests, which allowed a comprehensive assessment of the environmental impact. The results revealed that the clay used is mainly montmorillonite, while the algae used correspond to *Codium fragile* and *Undaria pinnatifida*. Microwave heating favored a greater delamination of the clay in the preparation of the hybrid materials, which improved their sorption capacity, reaching levels comparable to those of industrial sorbents. In addition, it was observed that the hybrid materials reduce the solubility of oil in water and, therefore, its toxicity. These materials also provide nutrients and improve soil conditions. In the ecotoxicity tests, carried out using the direct and elutriate methods, it was observed that the species *Grindelia chilensis* could be used as an

indicator in toxicity studies in the Patagonian region since the results are similar to those obtained with the reference species *Lactuca sativa*. Finally, the multivariate analysis identified pH, electrical conductivity, sorption capacity, and the water solubility of petroleum hydrocarbons, together with the germination index, as the most relevant parameters in the behavior of the materials, which confirms their effectiveness and environmental sustainability.

Capítulo 1

Introducción

Capítulo 1

1.1. Introducción

La región patagónica, desde el descubrimiento del petróleo en 1907, desarrolló una intensa actividad petrolera que dejó grandes áreas de suelo afectadas por derrames accidentales, durante las tareas de extracción, almacenaje y transporte del crudo. Por lo cual es necesario mitigar el daño causado en el suelo y recuperar, de ser posible, el equilibrio del ecosistema patagónico. (Álvarez, 2015; Ciano *et al.*, 2001; Pucci, *et al.*, 2015; Pérez *et al.*, 2014)

En el tratamiento de áreas contaminadas el criterio utilizado para establecer qué metodología aplicar y cómo definir el punto final de una remediación es aún discutido en la comunidad científica, debido a la complejidad inherente, no solo por las diversas situaciones planteadas sino también por las continuas investigaciones que brindan luz en aspectos pocos conocidos. El petróleo crudo es una mezcla compleja y variable en su composición, cuyos constituyentes mayoritarios son hidrocarburos, alifáticos y aromáticos, y sus constituyentes minoritarios incluyen, azufre, nitrógeno en heterocíclicos y metales, particularmente el níquel y el vanadio. Las propiedades físico-químicas y la toxicidad del petróleo crudo, hacen que sea difícil desarrollar criterios adecuados de tratamiento para suelos contaminados sobre la base de la concentración de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) (Cermak *et al.*, 2010).

Las decisiones evolucionaron de acuerdo con los conocimientos adquiridos y al destino del contaminante en el ambiente. Al producirse un derrame de petróleo en suelo, solo algunos de los procesos de degradación y/o transferencia entre compartimentos cobran relevancia, debido a las particulares condiciones geográficas y climáticas de la Patagonia Central. La interacción suelo contaminante se produce principalmente por el fenómeno de sorción-desorción,

y constituye también el principal factor involucrado en el transporte de los contaminantes orgánicos. La sorción, además, es una tecnología emergente que puede evitar la producción de residuos peligrosos y los elevados costos asociados a otros tratamientos de derrames. (Pintor *et al.*, 2016; Snousy *et al.*, 2017).

Las arcillas, dentro de los geosorbentes, se utilizan como sorbentes de una amplia variedad de contaminantes, tales como el petróleo (Katusich, 2011), colorantes catiónicos y aniónicos, cationes de metales pesados, oxianiones, nucleidos radiactivos, metano (Adauto & Sun-Kou, 2021.; Shi *et al.*, 2016). Algunas de las ventajas que presentan son: su abundancia, amplia disponibilidad, bajo costo, y gran superficie específica. Aunque las arcillas naturales son organofóbicas, se pueden transformar en organofílicas sustituyendo sus cationes inorgánicos por cationes orgánicos de cadena larga (Ismadji *et al.*, 2015; Cavalcanti *et al.*, 2012). Esta modificación permite que las arcillas tengan afinidad por las moléculas orgánicas, resultando sorbentes eficientes para fármacos (Thiebault *et al.*, 2019) y compuestos del petróleo (Muir & Bajda, 2016). Existe abundante bibliografía sobre arcillas modificadas con sales de amonio cuaternario, (Carmody, *et al.*, 2007; El-Zahhar & Al-Hazmi, 2015) y agentes tensioactivos (Othmani-Assmann *et al.*, 2007) aplicadas a los derrames de petróleo.

Las algas marinas como biosorbentes ofrecen una alternativa a los métodos convencionales, son efectivas y de bajo costo para la descontaminación de los cuerpos de agua sobre todo en la remoción de metales (Olu-Owolabi *et al.*, 2016; Vilar *et al.*, 2012; Zainith *et al.*, 2021; Navarro *et al.*, 2009). Ellas pueden utilizarse como biomasa de algas frescas o secas, sin tratamientos previos, o tratadas logrando una biomasa reforzada; también pueden inmovilizarse, ser tratadas con ácidos concentrados, o extraerle los polisacáridos, tales como

alginato sódico y la carragenina para la preparación de hidrogeles, fibras de alginato, alginato micro encapsulado y nanocompuestos de alginato (Sathya, 2022; Vhatkar *et al.*, 2022). Las algas marinas y polisacáridos de algas muestran una capacidad de sorción eficiente para el tratamiento de la contaminación del agua. En el caso particular de los contaminantes orgánicos, investigaciones recientes, muestran el aprovechamiento de biomásas de algas, en base a sus propiedades hidrofóbicas, (Romera *et al.*, 2007; González *et al.*, 2011) las cuales también pueden incrementarse para aumentar su eficiencia como sorbentes (El Semary, 2021; Lindbergh *et al.*, 2021; Zainith, 2021). Por ejemplo, se ha estudiado la sorción de diésel y lubricantes con biomasa de *Spirulina sp.* y *Scenedesmus abundans* (Mishra & Mukherji, 2012), la sorción de petróleo crudo con biomasa algal (Boleydei *et al.*, 2018) y la eliminación de un colorante orgánico (Black 5) con un biosorbente preparado a partir de algas verdes marinas *Codium iyengarii* (Azmat, 2014; Wang *et al.*, 2015, Chandra *et al.*, 2015; Lee, 2022).

Los materiales híbridos inorgánicos-orgánicos representan una alternativa para diseñar nuevos materiales y compuestos, los cuales se sintetizan mediante diversos procesos, entre los cuales se puede citar: la copolimerización de organosilanos, macromonómeros, y/o alcóxidos de metales, la encapsulación de moléculas orgánicas dentro de sílice (sol-gel) con óxidos metálicos y la funcionalización orgánica de nanoarcillas u otros materiales con estructuras laminares (Chi *et al.*, 2021; Phuekphong *et al.*, 2020). Otras estrategias disponibles son el auto-ensamblaje, los híbridos MOF (Metal-organic frameworks), los procesos acoplados, y últimamente las estrategias inspiradas en la biología que permiten el desarrollo de una nueva química, capaz de construir una gran variedad de nano-objetos estructuralmente bien definidos con arquitecturas híbridas complejas organizadas jerárquicamente en términos de estructura y funciones (Vijayaraghavan & Balasubramanian, 2015).

Un aspecto importante de todo estudio ambiental es la cuantificación del riesgo asociado al contaminante y a su tratamiento ya que la caracterización química del petróleo no resulta suficiente, debido a que la exposición es capaz de modificar su comportamiento por interacción con el suelo, el agua, el aire y los componentes bióticos del mismo (Fernández & Trillo, 2005). Históricamente se aplicaron ciertos métodos de tratamiento suponiendo que los residuos no eran capaces de emigrar y que con el tiempo serían oxidados, hidrolizados o metabolizados a través de procesos microbianos en productos no dañinos. Sin embargo, algunos compuestos presentes en el petróleo son químicamente más estables y móviles de lo que se esperaba, mientras que otros se transforman por distintos procesos (fotooxidación, biodegradación, etc.) en compuestos aún más tóxicos y aún más móviles. Una estrategia de abordaje es la realización de ensayos de ecotoxicidad (Wang *et al.*, 2015), lo cual asegura una gestión más eficiente del riesgo ambiental, como una herramienta complementaria al análisis químico (Leitgib *et al.*, 2007; Valerio *et al.*, 2007). En particular, los ensayos con plantas terrestres sirven para reflejar en forma directa (contacto directo con la matriz) e indirecta (extractos acuosos) los efectos sobre el suelo (Maila & Cloete, 2005). Las plantas se reconocen como excelentes modelos genéticos para detectar agentes mutagénicos y citogénicos y se utilizan con frecuencia en los estudios de monitoreo ambiental (Iqbal *et al.*, 2019).

1.2. Desarrollo Sustentable y Química Verde

A fines del siglo XX comenzó a desarrollarse lo que se llamó Química Verde, que implica la adopción de fuentes alternativas de energía, el desarrollo de metodologías limpias, el uso de fuentes renovables y la minimización de residuos (economía atómica). Fue definida por Paul Anastas “como el diseño de productos y procesos químicos que reduzcan o eliminen el uso y la producción

de sustancias peligrosas". También se introduce el concepto de "Desarrollo Sustentable", que hace referencia hacia la armonía en el progreso económico, la conservación del medioambiente y la justicia social. (Nudelman, 2004; Sierra *et al.*, 2014). Anastas & Wargner, 1998, proponen doce principios que pueden agruparse en tres fundamentales: las tecnologías no deben dañar la salud humana ni el ambiente, usar recursos renovables preferiblemente a los no-renovables y producir materiales biodegradables o reciclables. Estos conceptos están también implicados en la llamada economía circular que se resume en las tres R: reducir, reciclar y reusar, como contrapuesta a la economía consumista del descarte.

Los doce principios fundamentales son:

1. Prevención de la generación de residuos.
2. Mejora de la eficiencia atómica.
3. Diseño de metodologías químicas que produzcan intermediarios y compuestos finales con menos toxicidad.
4. Obtención de productos eficaces y seguros.
5. Reducción del uso de sustancias auxiliares.
6. Disminución del consumo energético por diseño de procesos con eficiencia energética.
7. Uso de materias primas renovables.
8. Abstención de la derivatización innecesaria.
9. Potenciación de la catálisis.
10. Generación de productos químicos biodegradables.
11. Desarrollo de metodologías analíticas que permitan la monitorización a tiempo real.
12. Minimización del potencial de accidentes químicos.

Estos principios resumen las estrategias para la optimización de los procesos químicos reduciendo su impacto ambiental. En este trabajo de tesis se han desarrollado y ensayado diversas reacciones químicas con materiales híbridos inorgánico-orgánico aplicando varios de los principios citados, entre ellos diseño de metodologías químicas que produzcan intermediarios y compuestos finales con menos toxicidad, obtención de productos eficaces y seguros, reducción del uso de sustancias auxiliares, disminución del consumo energético por diseño de procesos con eficiencia energética, uso de materias primas renovables, abstención de la derivatización innecesaria, desarrollo de metodologías analíticas que permitan la monitorización a tiempo real.

Las características de la preparación van ligadas a una reducción de los residuos generados, una menor contaminación del producto final y, normalmente, a una mayor seguridad en el trabajo, también es de gran importancia el uso de los ensayos de toxicidad, que se encuentran avalados internacionalmente constituyendo una valiosa herramienta para el estudio integral de los efectos ecotóxicológicos (Iqbal *et al.*, 2019; Leitgib *et al.*, 2007; Maila & Cloete, 2005).

1.3. Objetivos

Este trabajo de tesis doctoral se centra en el desarrollo de metodologías acordes a la Química Sustentable o verde, amigables con el medioambiente, empleando materiales híbridos inorgánicos-orgánicos. Este propósito se desglosa en los objetivos mencionados a continuación.

1.3.1. Objetivos generales

El objetivo general de este proyecto es analizar la aplicabilidad de estrategias alternativas, basadas en los principios de la Química Sustentable, para la disminución del riesgo ambiental de los derrames de petróleo en la Patagonia Central. Utilizar materiales naturales provenientes de la geósfera y biósfera para la obtención de sorbentes cuya naturaleza híbrida mejore las características sortivas individuales. Estudiar el comportamiento de los materiales híbridos con el petróleo crudo con relación a los fenómenos de sorción-desorción. Estudiar los cambios producidos en la calidad del suelo (ej., nutrientes, estructura, ecotoxicidad, etc.) debido a la presencia del material híbrido en el sistema sorbente-petróleo.

1.3.2. Objetivos particulares

Obtención de materiales híbridos a partir de arcillas locales, principalmente montmorillonita y algas: *Codium fragile* y *Undaria pinnatifida*, evaluando las condiciones para su preparación. Caracterización de los materiales híbridos. Caracterización del petróleo crudo, antes y luego de los ensayos de sorción en condiciones de laboratorio. Evaluación del comportamiento sortivo. Determinación de la ecotoxicidad antes y después de la sorción.

1.4. Hipótesis de trabajo

Las arcillas modificadas obtenidas mejorarían la capacidad sortiva respecto del material granular original, adicionando características que potencian la degradación y mejoran las características del suelo. La posibilidad de modificar sorbentes de naturaleza inorgánica combinándolos con sorbentes de naturaleza orgánica como las algas, presentaría ventajas respecto al uso de reactivos químicos como las sales de amonio cuaternarias cuando se requiere dar características hidrofóbicas a sorbentes hidrofílicos. El comportamiento de estos

materiales modificados estaría condicionado por la metodología empleada para su obtención, siendo, en este caso, los métodos y procedimientos de la Química Sustentable. Ambos tipos de sorbentes son naturales por lo que se contribuye al desarrollo de materiales que podrían cumplir las mismas funciones que otros que se preparan a partir de reactivos que provee la industria química mediante síntesis.

1.5. Plan de trabajo

Con estos objetivos, el plan de trabajo desarrollado durante esta tesis doctoral se ha estructurado en estos capítulos:

Capítulo 2: Metodología experimental

Capítulo 3: Materiales sorbentes

Capítulo 4: Sorción

Capítulo 5: Ecotoxicidad

Capítulo 6: Integración de los resultados y Conclusiones

1.6. Bibliografía

Adauto, A., & Sun-Kou, M.R. (2021). Comparative study of anion removal using adsorbents prepared from a homoionic clay. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management.*, 15, 100476.

Álvarez, H.M. (2015). Biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos: un proceso complejo que involucra múltiples variables. *Química Viva*, 14(1), 18-25.

Anastas, P. T., & Warner, J. C. (1998). Principles of green chemistry. *Green chemistry: Theory and practice*, 29, 14821-42.

Azmat, R. (2014). Marine green algae *Codium iyengarii* as a good bio-sorbent for elimination of reactive black 5 from aqueous solution. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27(5).

Boleydei, H., Mirghaffari, N., & Farhadian, O. (2018). Comparative study on adsorption of crude oil and spent engine oil from seawater and freshwater using algal biomass. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(21), 21024-21035.

Carmody, O., Frost, R., Xi, Y., & Kokot, S. (2007). Adsorption of hydrocarbons on organo-clays-implications for oil spill remediation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 305(1), 17-24.

Cavalcanti, J.V.F.L., Abreu, C.A., Carvalho, M.N., Sobrinho, M.A.M., Benachour, M., & Baraúna, O. S. (2012). Removal of effluent from petrochemical wastewater by adsorption using organoclay. *Petrochemicals*, 14, 277-295.

Cermak, J.H., Stephenson, G.L., Birkholz, D., Wang, Z., & Dixon, D.G. (2010). Toxicity of petroleum hydrocarbon distillates to soil organisms. *Environmental toxicology and chemistry*, 29(12), 2685-2694.

Chandra, T.S., Mudliar, S.N., Vidyashankar, S., Mukherji, S., Sarada, R., Krishnamurthi, K., & Chauhan, V.S. (2015). Defatted algal biomass as a non-conventional low-cost adsorbent: surface characterization and methylene blue adsorption characteristics. *Bioresource technology*, 184, 395-404.

Chi, H., Wang, S., Li, T., & Li, Z. (2021). Recent progress in using hybrid silicon polymer composites for wastewater treatment. *Chemosphere*, 263, 128380.

Ciano, N., Salomone, J., Nakamatsu, V., & Luque, J. (2001). Nuevos escenarios para la remediación de áreas degradadas en la Patagonia. Taller de actualización sobre métodos de evaluación, monitoreo y recuperación de pastizales naturales patagónicos. *V Reunión del Grupo Regional Patagónico de Ecosistemas de Pastoreo INTA FAO*. Esquel. Argentina.

El Semary, N.A. (2021). Seaweeds for Sustainable Development. *Sustainable Solutions for Environmental Pollution: Waste Management and Value-Added Products*, 449.

El-Zahhar, A.A., & Al-Hazmi, G.A. (2015). Organically modified clay for adsorption of petroleum hydrocarbon. *European Chemical Bulletin*, 4(2), 87-91.

Fernández, R. J., & Trillo, N. (2005). La textura del suelo como fuente de heterogeneidad; sus efectos sobre la oferta de agua para las plantas. *La heterogeneidad de la vegetación de los agroecosistemas. Un homenaje a Rolando JC León (Oesterheld M., Aguiar MR, Ghersa C., Paruelo JM, comp)*. Editorial Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

González, F., Romera, E., Ballester, A., Blázquez, M. L., Muñoz, J. Á., & García-Balboa, C. (2011). Algal biosorption and biosorbents. In *Microbial biosorption of metals* (pp. 159-178). Springer, Dordrecht.

Iqbal, M., Abbas, M., Nisar, J., Nazir, A., & Qamar, A. (2019). Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: a review. *Chemistry International*, 5(1), 1-80.

Ismadji, S., Soetaredjo, F. E., & Ayucitra, A. (2015). Clay materials for environmental remediation (pp. 39-56). Berlin, Germany: Springer International Publishing.

Katusich, O. (2011). Interacciones ambientales del petróleo y geosorbentes característicos de la Patagonia Central Tesis de doctorado en Química. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. *Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco*.

Lee, X. J., Ong, H. C., Ooi, J., Yu, K. L., Tham, T. C., Chen, W. H., & Ok, Y. S. (2022). Engineered macroalgal and microalgal adsorbents: Synthesis routes and adsorptive performance on hazardous water contaminants. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 126921.

Leitgib, L., Kálmán, J., & Gruiz, K. (2007). Comparison of bioassays by testing whole soil and their water extract from contaminated sites. *Chemosphere*, 66(3), 428-434.

Lindbergh, R. H., Namazkar, S., Lage, S., Östman, M., Gojkovic, Z., Funk, C., & Tysklind, M. (2021). Fate of active pharmaceutical ingredients in a northern high-rate algal pond fed with municipal wastewater. *Chemosphere*, 271, 129763.

Maila, M.P., & Cloete, T.E. (2005). The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants-perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55(1), 1-8.

Mishra, P. K., & Mukherji, S. (2012). Biosorption of diesel and lubricating oil on algal biomass. *Biotechnology*, 2(4), 301-310. <http://dx.doi.org/10.1007/s13205-012-0056-6>

Muir, B., & Bajda, T. (2016). Organically modified zeolites in petroleum compounds spill cleanup-Production, efficiency, utilization. *Fuel processing technology*, 149, 153-162.

- Navarro, A.E., Cuizano, N.A., Lazo, J.C., Sun-Kou, M.R., & Llanos, B.P. (2009). Comparative study of the removal of phenolic compounds by biological and non-biological adsorbents. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), 1439-1446.
- Nudelman, N. (Ed.). (2004). Química sustentable. *Universidad Nacional del Litoral*. Santa Fe, Argentina.
- Olu-Owolabi, B.I., Alabi, A.H., Unuabonah, E.I., Diagboya, P.N., Böhm, L., & Düring, R.A. (2016). Calcined biomass-modified bentonite clay for removal of aqueous metal ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 1376-1382.
- Othmani-Assmann, H., Benna-Zayani, M., Geiger, S., Fraisse, B., Kbir-Ariguib, N., Trabelsi-Ayadi, M., & Grossiord, J. L. (2007). Physico-chemical characterizations of Tunisian organophilic bentonites. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111(29), 10869-10877.
- Pérez, B., Dapeña, C., Ríos, S.M., Nillni, A., & Rubilar, J. (2014). Contribución al estudio de una zona salinizada ubicada al oeste de Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina. *Geoquímica de la superficie argentina*, 37.
- Phuekphong, A.F., Imwiset, K.J., & Ogawa, M. (2020). Designing nanoarchitecture for environmental remediation based on the clay minerals as building block. *Journal of Hazardous Materials*, 399, 122888.
- Pintor, A. M., Vilar, V. J., Botelho, C. M., & Boaventura, R. A. (2016). Oil and grease removal from wastewaters: sorption treatment as an alternative to state-of-the-art technologies. A critical review. *Chemical Engineering Journal*, 297, 229-255.
- Pucci, G., Acuña, A., & Pucci, O. (2015). Biodegradación de hidrocarburos en fondos de tanques de la industria petrolera. *Revista peruana de biología*, 22(1), 97-101.
- Romera, E., González, F., Ballester, A., Blázquez, M. L., & Muñoz, J. A. (2007). Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresource technology*, 98(17), 3344-3353.
- Sathya, A. B., Sivashankar, R., Kanimozhi, J., Devika, R., & Balaji, R. (2022). Biosorption and different native sources for preparation of biosorbents. *Biosorption for Wastewater Contaminants*, 23-41.
- Shi, Y., Yang, Z., Wang, B., An, H., Chen, Z., & Cui, H. (2016). Adsorption and photocatalytic degradation of tetracycline hydrochloride using a palygorskite-supported Cu₂O-TiO₂ composite. *Applied Clay Science*, 119, 311-320.
- Sierra, A., Meléndez, L., Ramírez-Monroy, A., & Arroyo, M. (2014). La química verde y el desarrollo sustentable. *RIDE Revista Iberoamericana para la Investigación y el Desarrollo Educativo*, 5(9).

Snousy, M.G., Abdel-Moghny, T., & El-Sayed, E. (2017). *SDRP journal of earth sciences & environmental studies* (ISSN: 2472-6397).

Thiebault, T., Boussafir, M., Fougère, L., Destandau, E., Monnin, L., & Le Milbeau, C. (2019). Clay minerals for the removal of pharmaceuticals: Initial investigations of their adsorption properties in real wastewater effluents. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management.*, 12, 100266.

Valerio, M.E., García, J.F., & Peinado, F.M. (2007) Determination of phytotoxicity of soluble elements in soils, based on a bioassay with lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Science of the Total Environment*, 378, 63-66.

Vhatkar, S. S., Sahu, G. C., & Oraon, R. (2022). Deployment of Used Biosorbents in Environmental Remediation: Prospects and Challenges. *Biosorption for Wastewater Contaminants*, 213-245.

Vijayaraghavan, K., & Balasubramanian, R. (2015). Is biosorption suitable for decontamination of metal-bearing wastewaters? A critical review on the state-of-the-art of biosorption processes and future directions. *Journal of environmental management*, 160, 283-296.

Vilar, V.J., Valle, J.A., Bhatnagar, A., Santos, J.C., de Souza, S.M.G.U., de Souza, A.A.U., & Boaventura, R.A. (2012). Insights into trivalent chromium biosorption onto protonated brown algae *Pelvetia canaliculata*: distribution of chromium ionic species on the binding sites. *Chemical engineering journal*, 200, 140-148.

Wang, N., Tahmasebi, A., Yu, J., Xu, J., Huang, F., & Mamaeva, A. (2015). A comparative study of microwave-induced pyrolysis of lignocellulosic and algal biomass. *Bioresource technology*, 190, 89-96.

Zainith, S., Saxena, G., Kishor, R., & Bharagava, R.N. (2021). Application of microalgae in industrial effluent treatment, contaminants removal, and biodiesel production: Opportunities, challenges, and future prospects. *Bioremediation for environmental sustainability*, 481-517.

Capítulo 2

Metodología experimental

Capítulo 2

2. Metodología experimental

La siguiente metodología fue realizada para cumplimentar los objetivos planteados en esta tesis. A continuación, se detalla muestreo, materiales, técnicas analíticas, instrumental utilizado, y herramientas informáticas para el análisis de los resultados.

2.1. Materiales

Para preparar los materiales híbridos, siguiendo los principios de la llamada Química Sustentable, se utilizaron materiales de origen natural como arcillas y algas recolectadas en la región de Patagonia Argentina.

2.1.1. Arcillas

La arcilla natural (ARC) se extrajo de los alrededores de la ciudad de Comodoro Rivadavia, provincia de Chubut, Argentina (latitud 45° 46' S y longitud 67° 22' O). La muestra se secó a temperatura ambiente, se molió con mortero y se tamizó (tamaño de malla $\leq 65 \mu\text{m}$).

2.1.2. Algas

Las algas *Codium fragile* (COD) y *Undaria pinnatifida* (UND) se recolectaron manualmente en playas aledañas a la ciudad de Comodoro Rivadavia (latitud 45°45' S y longitud 67° O), durante la marea baja. A continuación, se siguió un procedimiento utilizado por nuestro equipo de investigación que es una adaptación del empleado por otros autores, como Boraso *et al.*, 2004. Se procedió a eliminar arena y otras algas microscópicas para lo cual se lavaron con agua corriente y posteriormente con agua

bidestilada. Luego se dejaron escurrir y secar al aire a temperatura ambiente durante 48 horas en bandejas de papel aluminio y protegidas de la humedad y de la luz. Las muestras se molieron en el laboratorio con un mortero y se tamizaron (tamaño de malla $\leq 65 \mu\text{m}$), y se almacenaron en heladera en frascos secos y limpios, hasta su uso.

2.1.3. Materiales Híbridos

Se obtuvieron cuatro tipos materiales híbridos resultado de la combinación de ARC con cada una de las algas, COD y UND, y utilizando dos técnicas de calentamiento, en estufa, ARCCOD E y ARCUND E, y en horno de microondas, ARCOD MO y ARCUND MO.

Para la preparación de dichos materiales se siguió un procedimiento similar al utilizado para la producción de algas inmovilizadas en gel de sílice (Carrilho *et al.*, 2003). Se secaron las algas y arcilla molidas y tamizadas en crisoles de porcelana separados, a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 minutos, posteriormente se mezclaron. A continuación, la mezcla se humectó con unas gotas de agua bidestilada para formar una pasta que luego se secó utilizando las dos técnicas de calentamiento mencionadas. El calentamiento convencional con estufa se realizó a $80 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta peso constante, tras lo cual la pasta se volvió a hidratar. El calentamiento en horno de microondas se realizó en un horno comercial de 800 W y 2,45 GHz, con un procedimiento similar al realizado en el calentamiento con estufa de humectación y secado.

Para determinar la potencia del horno de microondas se realizó un ensayo con 80 mL de una solución de carbonato de potasio (K_2CO_3) en una concentración de 78,5 %, sabiendo que su temperatura de ebullición es $110 \text{ }^\circ\text{C}$ y se calentó a distintas potencias para determinar el tiempo que alcanza la

temperatura de ebullición (Castañeda *et al.*, 2008). El Análisis experimental y gráfico permitió determinar la potencia óptima a 60%, 480 W, donde se encontró un comportamiento constante alrededor de 95 °C desde los 2 hasta los 5 minutos, de esta manera la temperatura no supera los 110 °C y se evita el sobrecalentamiento del material. El recipiente de contención para este ensayo es un crisol de porcelana, material aislante que no conduce la energía, refleja y absorbe las ondas electromagnéticas en una proporción muy poco significativa y principalmente las transmiten (Moreno *et al.*, 2017). Se realizaron ciclos de 1 minuto, con una fase de enfriamiento entre cada uno, los cuales se repitieron hasta secar completamente la pasta. El proceso de humectación y secado con ambas técnicas de calentamiento se realizó 5 veces para lograr una mejor inmovilización y al finalizar, el material obtenido se molió y tamizó (tamiz <65µm) para descartar la presencia de alga libre, posteriormente se almacenó en heladera, hasta su uso, en frascos secos y limpios.

Para la preparación de materiales híbridos a partir de arcillas y algas (biomasa seca), se efectuó un ensayo preliminar en el que se colocaron diferentes proporciones (desde 10% hasta 70% de alga) y el resto arcilla, y en base a los resultados de capacidad de sorción, se seleccionó el porcentaje 30% de alga y 70% arcilla para la preparación de los materiales: ARCCOD E, ARCCOD MO, ARCUND E y ARCUND MO.

2.1.4. Arena

Los bioensayos de ecotoxicidad del conjunto sorbente-sorbato se realizaron sobre muestras de suelos preparadas en el laboratorio con ARC y arena recolectadas en la provincia del Chubut (latitud 45° 35' S y longitud 68° 44' O), la arena fue lavada con agua bidestilada, luego se dejó secar. Se realizó una mezcla de 50% de ARC y 50 % de arena, la cual fue utilizada como suelo

control y como suelo base para contaminar con petróleo y proceder a los ensayos.

2.1.5. Petróleo

El petróleo utilizado en los ensayos de esta tesis corresponde a un petróleo crudo extraído de la Cuenca del Golfo San Jorge, el cual fue conservado en el laboratorio evitando su exposición a la luz y las variaciones de temperatura.

2.2. Caracterización de los sorbentes

Se realizaron distintas metodologías para determinar las propiedades físicoquímicas y para la identificar los componentes de los materiales de partida y de los materiales híbridos obtenidos utilizados como sorbentes.

2.2.1. Determinación del pH

La determinación del pH de los materiales sorbentes se realizó con el equipo ORION 910600. Se pesó 1g de sorbente seco y molido y se colocó en un vaso de precipitados. Luego se le agregó agua bidestilada en proporción 1:25 y se agitó durante 10 minutos con agitador magnético. El equipo fue calibrado previamente con las soluciones buffer de pH 4,00; 7,00 y 10,00. Se introdujo el electrodo en la muestra y se procedió a realizar la lectura de pH, con las técnicas descritas en el manual de Standard Methods (APHA, 1995).

2.2.2. Determinación de la conductividad eléctrica (CE)

La medición de conductividad se realizó en condiciones de saturación de agua. Para preparar el extracto se añadió agua bidestilada a cada muestra

seca y tamizada en proporción 1:25, hasta conseguir que se forme una pasta, el líquido fue extraído mediante vacío. La CE de la pasta saturada es proporcional a la concentración de sales de la solución y es función de la temperatura. Se midió con el conductímetro refiriendo las lecturas a 25 °C en dS/m (deciSiemens por metro). El conductímetro fue calibrado con las soluciones de cloruro de potasio (KCl) y se realizó la corrección por temperatura, según la norma ASTM D1125-95. El conductímetro utilizado fue Parsec VEGAV, con las técnicas descritas en el manual de Standard Methods (APHA, 1995).

2.2.3. Determinación de cenizas (CZ)

Para la determinación de CZ se realizó el método de muestra seca. Se pesaron 1,5 gramos de muestra en un crisol que se ha calentado y pesado previamente junto con su tapa hasta masa constante, y se colocó en la mufla durante 5 horas a 500 °C. Luego se dejó enfriar en un desecador para evitar que absorba la humedad del ambiente. Una vez se frío, se pesó en la balanza y se calculó el valor de CZ de la muestra con la siguiente ecuación (1):

$$\% \text{ de CZ} = \frac{g \text{ ceniza}}{100 g \text{ muestra}} = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \times 100 \quad (1)$$

donde m_1 representa la masa en g del crisol con la tapa, m_2 representa la masa en g de la muestra antes de colocarla en la mufla y m_3 la masa en g del crisol con la tapa y las cenizas, siguiendo las técnicas descritas en el manual de Standard Methods (APHA, 1995).

2.2.4. Determinación de humedad (H)

Para la determinación de H en las muestras se procedió a pesar en un crisol previamente tarado 5 g de muestra, se colocó en la estufa a 105 °C durante 5 horas, luego se transfirió el crisol al desecador hasta que alcanzó la temperatura ambiente, y se procedió a registrar el peso. Se volvió a colocar la muestra en la estufa por 30 minutos, luego, nuevamente se coloca en desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente y se registró el nuevo peso. Esto se repitió hasta peso constante. El cálculo del porcentaje de H se realizó con la siguiente ecuación (2):

$$\% H = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100 \quad (2)$$

donde m_1 representa la masa en g del crisol con la tapa, m_2 representa la masa en g del crisol tapado con la muestra antes del secado y m_3 la masa en g del crisol con la tapa más la muestra desecada siguiendo las técnicas descritas en el manual de Standard Methods (APHA, 1995).

2.2.5. Capacidad de intercambio catiónico (CIC)

La CIC se expresa en meq cada 100 g de muestra, y es una medida de la cantidad de cationes intercambiables que neutralizan la carga negativa del suelo (Rhoades, 1983; Tournassat *et al.*, 2004; Azcarate & Kloster, 2010). Para determinarla se pesaron 5g de muestra en un erlenmeyer de 250 mL, se agregaron 25 mL de solución de acetato de amonio ($\text{NH}_4\text{OOCCH}_3$) 1M, se agitaron 30 minutos en agitador orbital y se dejaron en reposo 15 minutos, luego se filtraron. Se desechó el filtrado y el exceso de sal amónica se lavó con 5 porciones de 10 mL de alcohol etílico del 95% sin dejar secar. Se desechó nuevamente el filtrado, y se agregaron 5 porciones de 10 mL de solución de cloruro de sodio (NaCl) al 10%, recibiendo el filtrado en un recipiente limpio, sin dejar secar entre cada una de las adiciones. Se agregó al filtrado 10mL de

solución de formol (CH₂O) del 40%, 5 gotas de fenolftaleína y se tituló con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) de 0,1M hasta obtener un color rosado pálido permanente. El blanco de reactivos se preparó en un erlenmeyer de 250mL con 50mL de solución de cloruro de sodio (NaCl) al 10% y 10mL de solución de formol (CH₂O) del 40% y 5 gotas del indicador. El cálculo se realizó con la siguiente ecuación (3):

$$CIC = \frac{\text{Vol.NaOH} \times \text{Vol.blanco} \times M \times 100}{Pm} \quad (3)$$

donde Vol. NaOH representa el volumen de NaOH gastado en la titulación, Vol. Blanco representa el volumen de NaOH gastado para el blanco de reacción, M la molaridad del NaOH estandarizado (0,1M) y Pm el peso de la muestra seca.

2.2.6. Capacidad de retención de agua (CRA)

Para determinar CRA de las muestras se pesaron 30 g de cada una de ellas, se colocaron en cajas de Petri a la cuales se les agregó agua bidestilada por goteo lento con bureta. El punto final de saturación se estableció por observación de brillo por reflexión de la luz, que se deslice fácilmente de la espátula y que fluya ligeramente si se inclina el recipiente. Para asegurar que las características perduraran en el tiempo, la mezcla se dejó reposar una hora tapada para evitar evaporación y luego se observó que se mantenga el criterio de saturación. La CRA se calculó según la ecuación (4):

$$CRA = \frac{\text{Peso de agua total}}{\text{Peso de suelo secado en estufa}} \times 100 \quad (4)$$

donde peso de agua total corresponde al peso de agua agregada con la bureta más el peso de agua en el suelo secado al aire, o sea la humedad natural que contenía originalmente. Esta cantidad de humedad fue obtenida por diferencia de pesada entre el suelo antes y después de ser secado en estufa (La Manna, *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2006).

2.2.7. Superficie específica (SE)

2.2.7.1. Sorción de nitrógeno (N₂)

Los análisis de sorción de N₂ se realizaron utilizando un analizador de superficie Micrometrics ASAP 2010. El método consiste en aplicar diferentes presiones de N₂ a una muestra de masa conocida de muestra a temperaturas de N₂ líquido y obtener la cantidad de N₂ adsorbido en la muestra por diferencias de presión. Se obtuvieron a partir de isothermas de N₂ a baja presión a 77 K. (Lombardi *et al.*, 2001).

2.2.7.2. Sorción de vapor de agua (VA)

Se empleó la técnica gravimétrica. Las muestras se colocaron en un desecador bajo atmósfera saturada de vapor de agua a diferentes presiones relativas obtenida de las soluciones saturadas de distintas sales. Las muestras fueron pesadas periódicamente hasta peso constante. Para la experiencia de sorción, las mediciones de temperatura y humedad relativa se realizaron con un equipo HOBO H8 pro-series, con software Boxcard y HOBO ware (Wolf *et al.*, 1985; Iglesias & Chirife, 1982).

2.2.7.3. Sorción de Azul de Metileno (AM)

Para la sorción de AM las muestras fueron secadas en estufa y se colocaron con un volumen de la solución del colorante, en relación 1:100 en un

rango de concentraciones entre 10 - 500 mg/L en frascos color caramelo. Se agitaron las suspensiones y luego se dejaron en reposo a temperatura ambiente y a continuación se centrifugaron. Se preparó una solución madre de AM y las soluciones de trabajo se obtuvieron diluyendo la solución madre hasta obtener las concentraciones deseadas. Se realizaron las mediciones de las concentraciones de colorante remanentes, luego de los ensayos, con un Espectrofotómetro UV-vis Shimadzu UV1800, con software UV-Probe (Chaparro *et al.*, 2014; Duarte *et al.*, 2014; Hegyesi *et al.*, 2017; Hernández Bermúdez, 2017).

2.2.7.4. Modelo de BET (Brunauer Emmett and Teller)

Para representar las isothermas, se utilizó el modelo de BET, el cual se puede aplicar como una herramienta comparativa entre sorbatos diferentes, y además permite estimar características tales como el calor de sorción y/o la cobertura en la monocapa. La ecuación (5) se describe a continuación:

$$Q_e = K_1 K_2 \sum_{i=1}^m i C_e^i / (1 + K_1 \sum_{i=1}^m C_e^i) \quad (5)$$

donde Q_e (mg/g) y C_e (mg/L) son las concentraciones de sorbato en la fase sólida y en la solución respectivamente, en K_1 (mg/L) es una constante relacionada con el calor de la adsorción y K_2 (mg/kg) es una constante que indica la cantidad de sorbato adsorbido en una monocapa, m es el número total de capas, i es el número de capa, y \sum es la suma desde $i = 1$ hasta m . En esta expresión se ha reemplazado el límite superior de la sumatoria por un número finito de capas (Harrison, 1995). Además, el número finito m de capas debería ser dependiente de K_2 . La siguiente ecuación (6) representa esa dependencia:

$$m = Qe / K_2 \quad (6)$$

2.2.8. Difracción de rayos X (DRX)

El equipo utilizado para esta tesis fue Difractómetro Philips modelo PW 1710, generador de 40 kV, haz de 25 mA, goniómetro con amplitud de barrido de 2 a 80° (2 θ). La velocidad de barrido 1° (2 θ) /min. Radiación K α de Cu, con una longitud de onda de 1,5418 Å. La intensidad I en función del ángulo 2 θ , se representa gráficamente, lo que se denomina difractograma de rayos X (Thorez, 1976). Es una técnica analítica para identificar cualitativa y cuantitativamente los compuestos constituyentes de una sustancia. Cada sustancia cristalina produce un difractograma único que puede ser empleado para su identificación cualitativa. Las direcciones de difracción están determinadas únicamente por la forma y tamaño de la celda unidad. Además, existe una relación entre las intensidades de las líneas de difracción de cada sustancia y su cantidad en la muestra, por lo que también puede emplearse para el análisis cuantitativo.

Mediante DRX se puede determinar el espaciado basal de una especie con estructura laminar, y apreciar las variaciones que experimenta con diferentes especies intercaladas, así como la estabilidad térmica de las mismas. La difracción de polvo o el "método del polvo", es el utilizado para análisis de sorbentes, donde el material a examinar es reducido a un polvo fino y ubicado en un portamuestra, sobre el que se hace incidir un haz de rayos X monocromático. Para la identificación de la fase arcillosa de la muestra de arcilla natural se realizó el "método de agregado orientado" (AO), para el cual se prepararon suspensiones de la muestra en agua, en relación 1:20, agitando hasta no observar floculación. Luego, se depositaron unas gotas de la suspensión acuosa de la muestra sobre un porta muestras de vidrio y se dejó

evaporar el agua hasta obtener un agregado homogéneo. Se realizaron tres AO, para obtener un difractograma sin tratar, otro solvatado con etilenglicol y el tercero se trató térmicamente (2 horas a 550 °C). Para la solvatación con etilenglicol, se colocó la muestra en una atmósfera saturada con vapor de este compuesto, en una cápsula de Petri en estufa a 60-65 °C durante 24-48 horas, evitando su exposición al aire, para impedir la salida de dicha sustancia del espacio interlaminar.

2.2.9. Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Se utilizó un espectrómetro FT mid-IR InfraLUM FT-08 equipado con software SpectraLUM. La elaboración de las pastillas de cloruro de potasio (KBr), se realizó pesando en una balanza analítica 0,1000 g de cada muestra a analizar y 0,2000 g de KBr por pastilla. A continuación, se mezclaron y molieron. La mezcla se transfirió a un molde prensor de una prensa hidráulica con sistema de vacío, aplicando una carga de hasta 10 toneladas. Al finalizar el proceso de prensado, se obtuvo la pastilla lista para proceder a la adquisición del espectro, en un intervalo entre 350 a 4000 cm^{-1} (Nikolic, 2011). El software utilizado para el procesamiento de los espectros fue el SpectraLUM.

La FTIR permite la obtención de una secuencia de bandas o picos de absorción en un intervalo de frecuencias dentro del infrarrojo. Cada pico en el espectro representa un tipo de vibración que ocurrió en un enlace atómico, cuando interaccionó el haz de infrarrojo con dicha muestra. Estas vibraciones provienen de enlaces atómicos específicos que tienen las moléculas de la muestra analizada. Los espectros FTIR fueron normalizados según la siguiente ecuación (7):

$$Y_i^N = \frac{(Y_i - \mu)}{\sigma} \quad (7)$$

donde Y_i^N es el valor de transmitancia transformada, Y_i es la transmitancia para el número de onda i , μ es la media de transmitancia de 4000 cm^{-1} a 350 cm^{-1} y σ es la desviación estándar para el mismo rango de números de onda (Ferro *et al.*, 2019).

2.3. Caracterización del petróleo

2.3.1. Hidrocarburos totales del petróleo (TPH)

El método utilizado es el propuesto por la EPA Método 1664, que permite la determinación de compuestos que son extraíbles en n-hexano (compuestos no polares) (Ríos & Nudelman, 2008). Consiste en colocar la muestra en solvente hexano en relación 1:100, agitar durante 48 hs, centrifugar a 5000 rpm durante 20 minutos y extraer la fase líquida, una vez separada se deja evaporar en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente.

2.3.2. Cromatografía en columna. Método SARA

Por cromatografía en columna, también denominado SARA (Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos), se separaron las fracciones alifáticas, aromáticas y polares. La técnica utilizada es una adaptación, realizada en nuestro equipo de investigación, del método 3600 C, Cleanup de la EPA, donde se modificó el tipo de eluyente, utilizando hexano, benceno y mezcla de cloroformo-metanol. Los reactivos utilizados fueron de calidad HPLC libres de impurezas.

Se utilizó una columna de vidrio de 22 cm de longitud y 10 mm de diámetro, y se colocó fibra de vidrio en la parte inferior para evitar la pérdida de material. Se empacó con sílica gel y se sembró la muestra de petróleo, 0,02 g a 0,04 g disueltos en 0,5 mL de n-hexano. Se adicionaron 30 mL de n-hexano en la parte superior de la columna y de esta manera se inició la elución de la fracción alifática. Los primeros 30 mL de elución se recolectaron en una probeta, posteriormente se adicionaron en la columna 30 mL de benceno, los cuales fueron recolectados en otra probeta y representaría la fracción aromática. Y por último se agregaron 30 mL de la mezcla metanol-cloroformo (1:1) en la columna, con los que se obtuvo la fracción polar, también recogida en una probeta. Los componentes remanentes en la columna cromatográfica representan la fracción asfáltica (Nudelman, *et al.* 2000). Cada fracción recolectada se evaporó en atmósfera de nitrógeno y se guardaron para posteriores análisis. La composición del petróleo en base a sus fracciones es de gran utilidad ya que da idea de los distintos tipos funcionales presentes, responsables del comportamiento de este.

2.3.3. Espectroscopía UV-visible (UV-vis)

El equipo utilizado fue un Espectrofotómetro UV-vis Shimadzu UV1800, con software UV-Probe. Como solvente se utilizó n-hexano (calidad HPLC), las mediciones se realizaron en el rango de longitudes de onda de 190 a 800 nm. La calibración se efectuó de la misma manera, leyendo los espectros de la solución madre y sus diluciones. Como blanco se utilizó el solvente puro.

La UV-vis es una técnica selectiva para grupos cromóforos, por lo tanto, es posible la identificación de grupos funcionales en una molécula, lo cual permite la determinación cuantitativa de compuestos que contienen grupos absorbentes (Katusich *et al.*, 2013).

2.4. Procesos de sorción

2.4.1. Capacidad de sorción (CS)

Se siguió el procedimiento indicado en la norma ASTM F726/17 para sorbentes categoría II. Se utilizó una celda donde se colocó una malla previamente tarada, conteniendo 4 gramos de la muestra y se le adicionó una capa de aproximadamente 2,5 cm de petróleo (40 g). Permanecieron en contacto 15 minutos y luego se dejó drenar el petróleo por 30 segundos. Se colocó la malla con la muestra y el petróleo sorbido en una caja de Petri previamente tarada y se registró el peso del sistema. Por diferencia se obtuvo la masa de petróleo sorbida. El ensayo se realizó por triplicado, posteriormente se calculó CS mediante la ecuación (8):

$$CS = \frac{mt - ms}{ms} \quad (8)$$

donde CS es la capacidad de sorción de hidrocarburos (g petróleo/g sorbente), mt es la masa del sorbente e hidrocarburo sorbido (g) y ms es la masa del sorbente seco (g).

2.4.2. Ensayos en batch e isotermas de sorción

Para realizar los ensayos en batch se preparó una solución madre de petróleo (sorbato) en solvente hexano, a partir de la cual se realizaron diluciones para obtener soluciones en un rango de concentraciones de 50 a 300 mg/L. Los ensayos se realizaron colocando 10 g de sorbente seco en frascos con 100 mL de solución correspondiente a cada concentración. Los frascos se sellaron y se cubrieron con papel de aluminio para prevenir la exposición al aire y la fotooxidación, a temperatura ambiente ($23 \pm 2^\circ\text{C}$) con agitación periódica. Se mantuvo durante 7 días en contacto para asegurar que se alcanza la condición de equilibrio. Luego de ese tiempo, la solución sobrenadante fue

separada, y centrifugada (20 minutos a 5000 rpm) para excluir al sorbente. La cuantificación de las concentraciones remanentes en solución se determinó mediante técnicas espectrofotométricas UV-Vis, previa calibración con soluciones de concentración conocida (Nudelman *et al.*, 2008).

2.5. Proceso de desorción

2.5.1. Ensayos de cosolvente

El ensayo de cosolvente se llevó a cabo pesando 0,1 g aproximadamente de petróleo y se colocó en un volumen final de 10 ml de mezclas de agua y metanol (CH₃OH) en las proporciones: 0; 0,2; 0,4; 0,6 y 0,8, adicionando a todos cloruro de calcio (CaCl₂) 0,01 M. Los tubos agitaron durante 7 días, luego se centrifugaron (20 min a 5000 rpm). Se separó la fase líquida y se registraron los espectros UV visibles. La fase líquida se colectó y evaporó, registrando su peso. El área del espectro se corresponde con el peso del tubo leído (Nudelman, *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2008).

2.6. Ensayos de ecotoxicidad

Los bioensayos de toxicidad utilizan como indicadores distintas especies de plantas, entre ellas *Lactuca sativa* (L) (Huerta Muñoz *et al.* 2015; Sirit, *et al.*, 2008) *Raphanus sativus* y *Lycopersicon esculentum* (Cárdenas Expósito, 2009). Para esta tesis se realizaron dos técnicas, el ensayo sobre el elutriado de cada muestra estudiada y el ensayo directo sobre las muestras separando las semillas con un papel de germinación. El material biológico utilizado en los ensayos consistió en semillas de L, variedad Cuatro Estaciones, conservada en sus envases originales hasta su utilización y una especie autóctona de la región Patagónica Argentina, *Grindelia chilensis* (G), obtenida de ejemplares de la

ciudad de Comodoro Rivadavia, conservadas en heladera hasta su utilización. Con los resultados obtenidos se determinó el índice de germinación (IG).

Para ambas semillas se determinó el potencial de germinación a 24 ± 2 °C, el cual consiste en probar en un periodo de 24 a 48 h la capacidad de germinación de un lote de 50 semillas tomadas al azar. Además, se realizó el control de la viabilidad de las semillas con el método de cloruro de trifeniltetrazolio (TTC) (Moore, 1966).

2.6.1. Método de ensayo de toxicidad aguda con semilla de lechuga en papel

Se siguió la norma IRAM 29114/ 2008 que permite determinar efectos tóxicos en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento y es aplicable a sustancias solubles en agua. Es un ensayo estático de toxicidad aguda, con 120 horas de exposición, a una temperatura de 24 ± 2 °C, cubierto de la luz. Se realizó sobre las distintas diluciones del elutriado de las muestras a analizar. Las muestras ensayadas en esta tesis fueron los materiales de partida ARC, COD, UND, suelo (mezcla en partes iguales de ARC-arena), los materiales híbridos obtenidos con las dos técnicas de calentamiento, ARCCOD E, ARCCOD MO, ARCUND E y ARCUND MO, suelo de referencia contaminado en el laboratorio con distintas concentraciones de petróleo, 10%, 15%, 20% y 30%, y suelo contaminado con petróleo y con el agregado de los distintos materiales híbridos.

Para el ensayo sobre el elutriado se preparó una solución madre, partiendo de 1 g de muestra y 100 mL de agua destilada, que permaneció en agitación por 7 días y luego se procedió a preparar 5 diluciones, 1000 mg/L, 100

mg/L, 10 mg/L, 1 mg/L y 0,1 mg/L. (Nudelman *et al.*, 2000). En cajas de Petri se colocó papel de germinación, 4 mL de cada dilución de muestra a ensayar, y 10 semillas. Al finalizar el período de incubación se registraron las semillas germinadas y se midió la longitud de la raíz y del hipocótilo. Las muestras fueron comparadas con un control negativo que consistió en agua bidestilada y como control positivo solución de sulfato de cinc ($ZnSO_4$) ($Zn^{+2} = 20$ mg/L; establecido por bioensayos sucesivos (n=20) frente a Zn (II) a través de una carta control).

2.6.2. Método directo

El método directo se realiza directamente sobre las muestras, separando las semillas con papel de germinación humedecido con agua destilada, analizando la sensibilidad del método. También es un ensayo estático de toxicidad aguda, con 120 horas de exposición, a una temperatura de 24 ± 2 °C, cubierto de la luz. Se colocaron 20 g de cada muestra en placas de Petri, se cubrieron con papel de germinación, humedecido con agua destilada en una relación de 2:1 de agua/masa de muestras secas. Posteriormente se colocaron 10 semillas (Plaza *et al.* 2005; Sirit *et al.* 2008). Se registraron las semillas germinadas y se midió la longitud de la raíz y del hipocótilo. Como control positivo se utilizó una muestra de suelo control (50% arena – 50% ARC).

2.7. Integración de resultados

2.7.1. Análisis de componentes principales (PCA)

PCA es un método matemático para organizar la información en un conjunto de datos que sean realmente significativos, principalmente cuando se está en presencia de un número grande de variables. La estrategia de PCA, es descubrir nuevas variables llamadas Componentes Principales (PC) que apuntan a la mayor variabilidad en los datos. Esto permite describir la

información con una cantidad de variables considerablemente menor que la cantidad original. Esta técnica constituye uno de los soportes principales en el análisis de datos y es considerado uno de los resultados más valiosos del Álgebra Lineal Aplicada. Es un método simple, no paramétrico, muy útil para extraer información relevante de conjuntos de datos difusos. En esta tesis, el software que se utilizó para realizar el análisis PCA fue InfoStat.

2.8. Bibliografía

Azcarate, M., & Kloster, N. (2010). Comparación de métodos de ensayo para determinación de CIC: Acetato de Amonio y Cloruro de Amonio. https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta_comparacion_de_metodos_de_ensayo_para_determinacion_de_cic_-_azcarate_mp_2010.pdf

American Public Health Association (APHA). 1995. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA. 19th Edition. Washington DC.

ASTM D1125-95. (2005). Standard Test Methods for Electrical Conductivity and Resistivity of Water, <https://www.astm.org/>

ASTM F726-17, Standard Test Method for Sorbent Performance of Adsorbents for use on Crude Oil and Related Spills, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2017, <https://www.astm.org/>

Boraso, A.L., Rico, A.E., Perales, S., Pérez, L., & Zalazar, H. (2004). Algas marinas de la Patagonia. *Una Guía Ilustrada*. Buenos Aires. Argentina. Vázquez Mazzini. pp. 54-55. https://www.academia.edu/download/34691245/algas_marinas_de_la_patagonia__una_guia_ilustrada_-_Alicia_Boraso.pdf

Cárdenas Expósito, Y. (2009). Evaluación ecotoxicológica de tres extractos acuosos de plantas en semillas de rábano, lechuga y tomate (Doctoral dissertation). Universidad Central Marta Abreude las Villas.

Carrilho, E.N.V., Nóbrega, J.A., & Gilbert, T.R. (2003). The use of silica-immobilized brown alga (*Pilayella littoralis*) for metal preconcentration and determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, 60 (6), 1131-1140.

Castañeda, F.A.N., Camargo, C.P.G., & Plazas, D.L.H. (2008). Método para la determinación de la humedad en suelos granulares utilizando horno microondas. *Revista Épsilon* No, 10, 23-31.

Chaparro, C. V., Cabanzo, R., & Ospino, E. M. (2014). Estudio de la adsorción de azul de metileno sobre óxido de grafeno. *Revista Colombiana de materiales*, (5), 131-139.

Chen, H., Chen, S., Chen, X., Quan, Zhao, Y., & Zhao, H. (2008). Solubility and sorption of petroleum hydrocarbons in water and cosolvent systems, *Journal of Environmental Sciences*, 20 (10), 1177-1182.

Duarte-Neto, J.F., Cartaxo, J. M., Neves, G. A., & Menezes, R.R. (2014). Processos de adsorção de corantes em argilas esmectíticas: uma revisão. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, 9(1), 51-59.

Ferro, L., Gojkovic, Z., Gorzsás, A., & Funk, C. (2019). Statistical Methods for Rapid Quantification of Proteins, Lipids, and Carbohydrates in Nordic Microalgal Species Using ATR-FTIR Spectroscopy. *Molecules*, 24 (18), 3237.

Harrison, A., *Fractals in Chemistry*. (1995). Fractals in Chemistry. Oxford Science Publications, Oxford, Vol. 22, 1- 90.

Hegyesi, N., Vad, R. T., & Pukánszky, B. (2017). Determination of the specific surface area of layered silicates by methylene blue adsorption: The role of structure, pH and layer charge. *Applied Clay Science*, 146, 50-55.

Hernández Bermúdez, Y. (2017). Materiais híbridos siloxano-poliéter para adsorção de azul de metileno.

<https://repositorio.unesp.br/bitstreams/621b2b53-4670-4317-abdf-526cecbdc35/download>

Huerta Muñoz, E., Cruz Hernández, J., Aguirre Álvarez, L., Caballero Mata, R., & Pérez Hidalgo, L.F. (2015). Toxicidad de fertilizantes orgánicos estimada con bioensayo de germinación de lechuga. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 179-185.

Iglesias, A.H., & Chirife J. (1982). Handbook of food isotherms water sorption parameters for food and food components, Ed. Academic press.

InfoStat, <http://www.infostat.com.ar/>

IRAM 29114. (2008). Calidad ambiental - Métodos biológicos. Método de ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Método en papel. <http://catalogo.iram.org.ar>

Katusich, O., Ríos, S.M., & Sbarbati Nudelman, N. (2013). Geosorbentes contaminados con petróleo. Caracterización en base a distintas técnicas. En Sala Luis. Actas del Segundo Taller Argentino de Ciencias Ambientales. Rosario. Zeus, c2013. *Universidad Nacional de Rosario*. Centro de Estudios Interdisciplinarios. Fundación Argentina para el Desarrollo Social y Medio Ambiente. 1 - 21.

La Manna, L., Tarabini, M., Gomez, F., Noli, P. A., Vogel, B., & Buduba, C. G. (2018). Estimación de la capacidad de retención de agua de suelos volcánicos en función de variables de fácil determinación a campo. *Ciencia del suelo*, 36(1), 23-29.

Lombardi, B., Dapino, M.A., Montardit, P.R., & Torres Sánchez, R.M. (2001). Aproximación al valor de superficie específica por un método manual y simple. *Jornadas SAMCONAMET-AAS*, 251-256.

Moore, R.P. (1966). Tetrazolium tests for diagnosing causes for seed weaknesses and for predicting and understanding performance. In: Proceedings of the Association of Official Seed Analysts of North America, 56, 70-73.

Moreno, A.H., Hernández-Maqueda, R., & Ballesteros, I. (2017). Secado industrial con energía microondas. In: Aplicaciones industriales del calentamiento con energía microondas, Editors: Menéndez, J.A., Moreno, A.H. Imprint: Universidad Técnica de Cotopaxi, 85-118.

Nikolic, G. (Ed.). (2011). In: Fourier transforms: New analytical approaches and FTIR strategies. BoD-Books on Demand.

[https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=KOaODwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=Nikolic,+G.+\(Ed.\).+\(2011\).+&ots=XYaFm79aWV&sig=-zLau7o1z0c0zo8dvwBHdLGeKMQ](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=KOaODwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=Nikolic,+G.+(Ed.).+(2011).+&ots=XYaFm79aWV&sig=-zLau7o1z0c0zo8dvwBHdLGeKMQ)

Nudelman, N.S., Ríos, S.M., & Katusich, O. (2000). Interactions between crude oil and Patagonian soil as a function of the soil clay-water content. *Environmental Technology*, 21(4), 437-445.

Nudelman, N.S., Rios, S.M., & Katusich, O. (2002). Organic co-solvent effect on the estimation of the equilibrium aqueous concentrations of oil residuals in Patagonian soil. *Environmental technology*, 23(9), 961-970.

Nudelman, N.S., Ríos, S.M., & Katusich, O. (2008). Application of some physical organic chemistry models to the study of oil spills residues in Patagonian soils. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 21(4), 329-337.

Plaza, G., Nałęcz-Jawecki, G., Ulfig, K., & Brigmon, R.L. (2005). The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. *Chemosphere*, 59(2), 289-296.

Pennell, K.D., (2004). Specific surface area. *Encyclopedia of Soils in the Environment*, Atlanta, GA, USA, 13-19.

Ríos, S. M., & Nudelman, N. S. (2008). Natural attenuation of oil spills in Patagonian Soils. Characterization by ¹H NMR spectroscopy. *Environmental technology*, 29(1), 23-33.

Rhoades, J. D. (1982). Cation exchange capacity. *Methods of soil analysis: Part 2 Chemical and Microbiological properties*, 9, 149-157.

Santos, J.M.D., Fernández de Villarán San Juan, R., Corral Pazos de Provens, E., Rapp Arrarás, I. (2006). Estimación de la capacidad de retención de agua en el suelo: revisión del parámetro CRA. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales* 15(1), 14-23.

Sirit, L.R., Ehrmann, E.U., & Infante, C. (2008). Comparación de dos métodos de bioensayos para evaluar la toxicidad en suelo contaminado con hidrocarburo durante un proceso de biorremediación. IX Congreso Latinoamericano de Geoquímica Orgánica, Isla Margarita. Venezuela.

https://www.researchgate.net/figure/Revista-Latino-Americana-de-Geoquimica-Organica-Trabajos-presentados-en-el-XI-Congreso_fig3_312494625

Thorez, J. (1976). In: Practical identification of clay minerals: a handbook for teachers and students in clay mineralogy. Belgique: *Ed. Lelotte*. pp. 56-70.

Tournassat, C., Ferrage, E., Poinson, C., & Charlet, L. (2004). The titration of clay minerals: II. Structure-based model and implications for clay reactivity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 273(1), 234-246.

Wolf, W., Spiess, W. E. L., & Jung, G. (1985). Standardization of isotherm measurements (COST-project 90 and 90 bis). In: Properties of water in foods: In relation to quality and stability (pp. 661-679). Dordrecht: Springer Netherlands.

Capítulo 3

Materiales sorbentes

3.1. Arcillas (ARC)

Las arcillas se definen como “Material natural constituido por minerales de grano fino, que se comporta plásticamente con el agua y que endurece al ser secado o tratado térmicamente a alta temperatura”. En la naturaleza, las arcillas contienen fundamentalmente minerales arcillosos y también no arcillosos que en conjunto son los que imparten tanto la plasticidad del material como las propiedades de secado y cocción (Guggenheim & Martin, 1995; Moore & Reynolds, 1989).

Los minerales arcillosos son filosilicatos hidratados, los iones de su estructura se encuentran coordinados tetraédrica y octaédricamente y están arreglados en una serie de planos paralelos que al unirse forman láminas (Nadeau *et al.*, 1984). La unidad básica denominada tetraédrica (T) se compone de silicatos que polimerizan compartiendo los tres oxígenos basales originando un reticulado hexagonal, y la unidad octaédrica (O), está formada por cationes rodeados de seis oxígenos coordinados octaédricamente que polimerizan compartiendo cuatro oxígenos. Los cationes octaédricos son comúnmente aluminio, hierro y magnesio (Brigatti *et al.*, 2006; González *et al.*, 1983). La unión de una capa T con una O forma una lámina T-O también llamada 1:1, donde el plano de aniones no compartidos de la capa O está formado completamente por oxhidrilos. Mientras que, una capa O situada entre dos T constituye una lámina T-O-T denominada también 2:1.

3.1.1. Características y clasificación de arcillas

Las esmectitas constituyen uno de los grupos de minerales arcillosos más importante encontrado en suelos y sedimentos. Están constituidas principalmente por filosilicatos laminares de tipo 2:1, en los cuales la lámina no

es eléctricamente neutra, sino que presenta una carga negativa la cual se debe a sustituciones isomórficas que pueden tener su origen tanto en la capa T como en la capa O. Esta carga laminar negativa se compensa, principalmente, con la entrada en la interlámina de cationes como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y Ca^{2+} entre otros. Los cationes interlaminares tienen la capacidad de hidratarse, y poseen más afinidad por el agua que por las láminas entre las que se encuentran, por lo que las fuerzas de unión entre las láminas son muy débiles. Esto, además, genera que dichos cationes interlaminares sean fácilmente intercambiables por otros, en función de las condiciones del medio (Rivas, 2018). La naturaleza del catión interlaminar influye notablemente en las propiedades de las esmectitas (Christidis & Huff 2009). Dentro de la familia de estas se encuentran las montmorillonitas (**Figura 3.1.**) cuya estructura básica consiste en una capa de alúmina octaédrica intercalada entre dos capas de silicato tetraédrico. La capa cristalina unitaria es aniónica porque parte del Al^{3+} en la capa octaédrica de alúmina se reemplaza por cationes valentes 2^+ , como Mg^{2+} y Fe^{2+} , y por lo tanto se generan cationes intercambiables en la capa intermedia. El carácter de los enlaces involucrados es intermedio entre covalente e iónico (Bergaya & Lagaly, 2013). La carga estructural surge por la presencia de cationes divalentes como el Mg^{2+} en la hoja O, la interacción entre las capas y el catión de intercambio es débil, y se produce la intercalación de agua, el hinchamiento y la separación de las capas. Esto ocurre porque la carga estructural en las montmorillonitas reside principalmente en la hoja interna O.

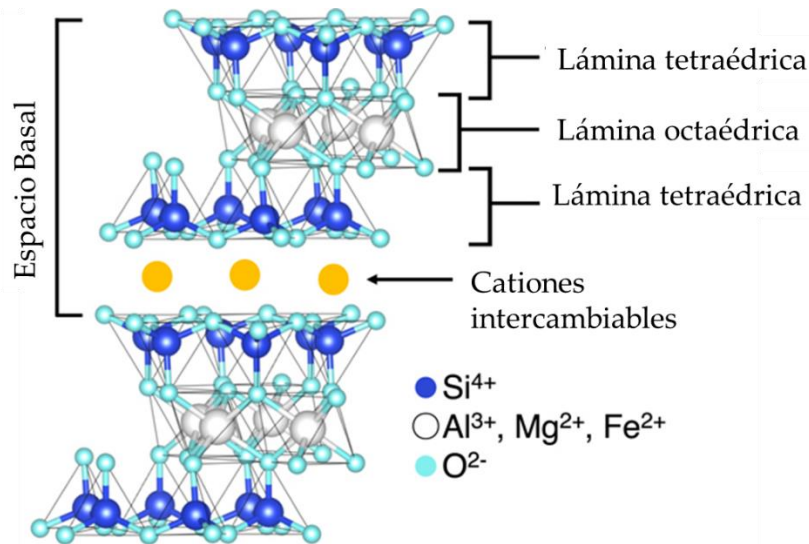


Figura 3.1. Estructura básica de una montmorillonita (Takabatake & Motokura 2022).

En cuanto a las aplicaciones de las arcillas, la montmorillonita también juega un papel importante en la protección del medio ambiente. Su capacidad para absorber sustancias químicas la hace ideal para tratar y eliminar contaminantes. En la gestión de residuos tóxicos, la montmorillonita puede actuar como una barrera efectiva para contener materiales nocivos y evitar su filtración al suelo y aguas subterráneas. Las arcillas son consideradas como una buena alternativa a utilizar como adsorbentes no convencionales debido a que son abundantes en la mayoría de los continentes y presentan propiedades óptimas de adsorción e intercambio iónico. Su gran capacidad de adsorción es atribuida principalmente a su estructura cargada negativamente, elevada área superficial y gran porosidad (Benhammou *et al.*, 2005). Sus propiedades de superficie específica, capacidad de adsorción y homogeneidad en la distribución de centros superficiales responden a las características necesarias de un sorbente (Picasso & Sun Kou, 2008), por lo cual han sido utilizadas para la sorción de contaminantes orgánicos, como el petróleo en forma natural o modificada con el agregado de diversos reactivos (Vianna *et al.*, 2004; Harvey & Lagaly, 2006; Sharafimasoleh *et al.*, 2011). Otras aplicaciones industriales de las montmorillonitas son: decolorantes de aceites, adsorbentes de pesticidas o

metales pesados en aguas residuales (Arvanitopyannis *et al.*, 1989) y como catalizadores heterogéneos para promover reacciones químicas (Adams, 1987; Ballatine, 1992; Chitnis & Sharma, 1997; Salmón *et al.*, 1997; Rhodes & Brown, 1992; Breen *et al.*, 1995, Vargas-Rodríguez *et al.*, 2007).

Se recomienda la importancia de una caracterización apropiada de las arcillas naturales, tanto para su uso industrial como en investigación, como así también la purificación de la arcilla para la remoción de impurezas insolubles y solubles para que los resultados experimentales sean reproducibles y atribuibles a la arcilla, permitiendo su transformación en materiales más reactivos (con ácidos, superácidos, sales metálicas, pilareo, etc.) y utilización, por ejemplo como catalizadores heterogéneos. (Miranda *et al.*, 1994, 2003; Salmón *et al.*, 1997; Ruiz-Guerrero *et al.*, 2006). Generalmente, las arcillas industriales no son purificadas o caracterizadas apropiadamente y se expenden con variaciones en sus componentes químicos, con impurezas que modifican la reactividad y reproducibilidad de cada lote. Siguiendo los principios de la Química Sustentable, este trabajo de tesis se enfoca en el desarrollo de materiales híbridos inorgánico-orgánicos sin priorizar su purificación, centrándose en su caracterización integral. En este contexto, se han implementado diversos principios de la Química Verde, como el diseño de metodologías que minimizan la toxicidad de los intermediarios y productos finales, así como la obtención de compuestos seguros y eficaces. Se ha reducido el uso de sustancias auxiliares y se ha optimizado el consumo energético mediante el calentamiento con horno de microondas. Además, se ha promovido el uso de materias primas renovables y se ha evitado la derivatización innecesaria, contribuyendo a una mayor sostenibilidad. Finalmente, se han desarrollado metodologías analíticas que permiten la monitorización en tiempo real, garantizando un control eficiente de los procesos.

Este enfoque no solo optimiza la eficiencia en el diseño de los materiales, sino que también minimiza el impacto ambiental, alineándose con los principios fundamentales de la Química Sustentable. Las características de la preparación van ligadas a una reducción de los residuos generados, una menor contaminación del producto final y, normalmente, a una mayor seguridad en el trabajo, también es de gran importancia el uso de los ensayos de toxicidad, que se encuentran avalados internacionalmente constituyendo una valiosa herramienta para el estudio integral de los efectos ecotóxicológicos (Iqbal *et al.*, 2019; Leitgib *et al.*, 2007; Maila & Cloete, 2005; Yaghmaeiyan *et al.*, 2022).

3.1.2. Localización de yacimientos en Comodoro Rivadavia

La cuenca sedimentaria del Chubut presenta numerosos depósitos de esmectitas. La ARC utilizada en esta tesis se extrajo de los alrededores de la Ciudad de Comodoro Rivadavia, provincia del Chubut, Argentina (latitud 45°46' S y longitud 67°22' O), en Loma Blanca a 12 km de Comodoro Rivadavia (**Figura 3.2.**).



Figura 3.2. Ubicación del depósito de arcilla Loma Blanca, Comodoro Rivadavia.

3.1.3. Caracterización de la arcilla

La caracterización de la arcilla utilizada en esta tesis se realizó mediante DRX y FTIR, junto con la determinación de distintos parámetros fisicoquímicos como pH, CE, CIC, H, CRA, CZ, y SE con N₂, VA y AM. **Tabla 3.1**, siguiendo las técnicas descritas en el **Capítulo 2**.

ARC	
pH (unidades)	5,5±0,2
CE (dS/ m)	6,3±0,2
CIC (meq/100g)	28,5±0,5
H (%)	1,77±0,2
CRA (%)	61,0±0,2
CZ (%)	96,8±0,5
SE N ₂ (m ² g ⁻¹)	36,000 R ² =0,965
SE VA (m ² g ⁻¹)	504,510 R ² =0,977
SE AM (m ² g ⁻¹)	532,08 R ² =0,98

Tabla 3.1. Parámetros fisicoquímicos de ARC.

El pH de la solución acuosa de ARC es ácido, lo cual indicaría una concentración superficial de grupos protonados que le confiere a la superficie una carga neta positiva (Parolo, 2010), en datos de bibliografía el pH de la arcilla natural en agua destilada fue informado con valor de 5,45 (Yaghmaeiya *et al.*, 2022). Los valores de CE y CIC obtenidos no se corresponden al de montmorillonita pura (4×10^{-3} dS/m y 70-130 meq/100g), lo que puede explicarse porque la muestra utilizada es de ARC sin purificar y molida, lo cual mejora la conductividad eléctrica continua del material y de acuerdo con las fases acompañantes en ARC disminuye la CIC (Bekri-Abbes & Srasra, 2016). El análisis comparativo de valores de SE obtenidos por los métodos ensayados muestra que el método de nitrógeno presenta valores mucho menores que los métodos de soluciones acuosas. Esta diferencia se

debería a que, siendo el H₂O y el AM moléculas polares, estas podrían ingresar en los espacios de la intercapa provocando un hinchamiento de la misma, incrementando los valores de SE comparada con las medidas de la sorción de moléculas no polares como el nitrógeno (Heister, 2014).

La identificación de los diferentes componentes mineralógicos de ARC se realizó analizando los difractogramas obtenidos a partir del polvo desorientado de la muestra total y agregados orientados de la arcilla purificada (ARC P) (Thorez, 1976). Se obtuvieron señales en $\sim 7^\circ$ a 2θ que corresponden a espaciado basal de $\sim 12,6 \text{ \AA}$ y en $19,76^\circ$ a 2θ ($4,47 \text{ \AA}$), las que sugieren la presencia de esmectita. Las señales a $\sim 8,83^\circ$ (10 \AA), $\sim 9,82^\circ$ (9 \AA) y $\sim 12,26^\circ$ ($7,2 \text{ \AA}$) indicarían la presencia de illita, mica y caolinita, respectivamente. Las señales a $\sim 21^\circ$ ($4,25 \text{ \AA}$) y 27° ($3,34 \text{ \AA}$) corresponderían al cuarzo, mientras que las registradas a $\sim 22,4^\circ$ ($3,96 \text{ \AA}$), $\sim 27,8^\circ$ ($3,21 \text{ \AA}$) y $\sim 28^\circ$ ($3,18 \text{ \AA}$) serían de feldespatos y plagioclasas. Además, se observó la banda de reflexión a $\sim 61,8^\circ$ ($1,5 \text{ \AA}$), característica de una esmectita O (**Figura 3.3.**). Esta información fue posteriormente confirmada a partir de una muestra de ARC purificada (ARC P), a la que se le aplicaron tres tratamientos: agregado orientado secado al aire (AO), exposición al etilenglicol (EG) y calcinación a $550 \text{ }^\circ\text{C}$ (Carrado *et al.*, 2006).

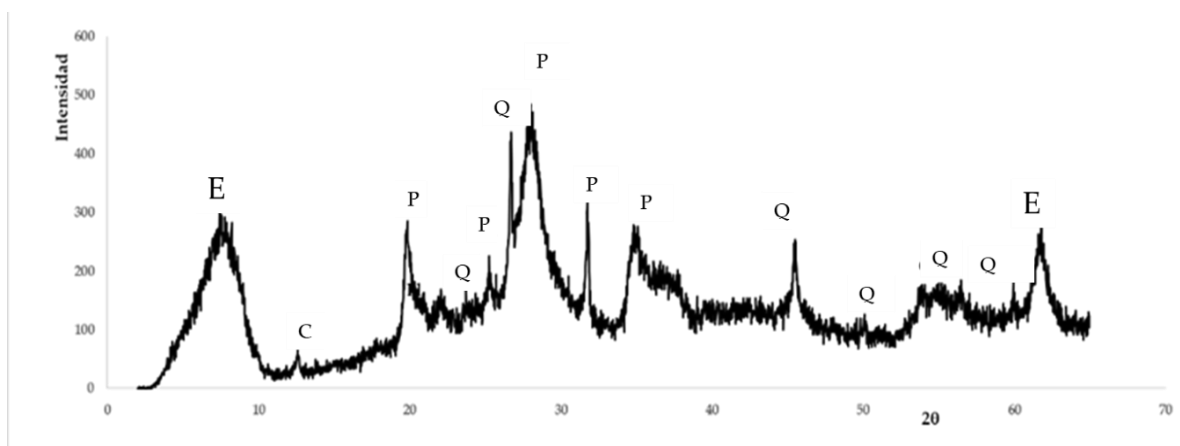


Figura 3.3. Difractograma de preparados orientados para ARC. En el eje y se representa la intensidad relativa frente al ángulo de Bragg, 2θ . Se utilizó la radiación $K\alpha$ de Cu, con una longitud de onda de $1,5418 \text{ \AA}$

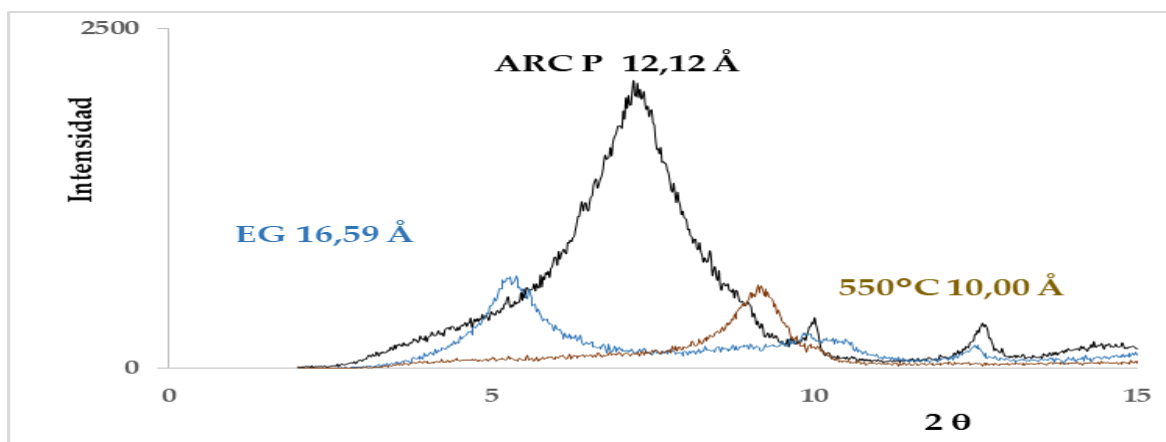


Figura 3.4. Difractograma de ARCP (arcilla purificada), EG (arcilla expuesta a etilén glicol) y 550°C (arcilla calcinada a 550°C). En el eje y se representa la intensidad relativa frente al ángulo de Bragg, 2θ . Se utilizó la radiación $K\alpha$ de Cu, con una longitud de onda de $1,5418 \text{ \AA}$

La muestra purificada presenta una reflexión a $12,12 \text{ \AA}$, que se desplaza hacia $16,59 \text{ \AA}$ en la muestra glicolada y se contrae a 10 \AA en la calcinada, lo cual confirma la presencia de esmectita (**Figura 3.4**). A partir de la interpretación realizada por comparación con los patrones de difracción (Moore & Reynolds, 1989), se establece que la muestra de arcilla corresponde a esmectita, predominando montmorillonita e illita, y como fases acompañantes mica, caolinita, cuarzo, feldspatos y plagioclasas (Blasetti *et al.*, 2021).

En los espectros FTIR (**Figura 3.5**) se observan las bandas de absorción características entre $3600 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ que corresponderían al estiramiento de O-H coordinados al Al en la capa O ($\sim 3615 \text{ cm}^{-1}$) y al estiramiento de O-H coordinados a M^{+} en las intercapas ($\sim 3438 \text{ cm}^{-1}$). Además, la banda en $\sim 1644 \text{ cm}^{-1}$ correspondería a la deformación de los enlaces H---O-H en el agua de hidratación. Entre $1000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ se encontrarían las bandas características del enlace Si-O. Se observan las señales correspondientes a la vibración de la capa T

(~1022 cm^{-1}), al cuarzo (~772 cm^{-1}), vibraciones de la capa O (525 cm^{-1}) y deformación Si–O–Si (~451 cm^{-1}) (Yaghmaeyam *et al.*, 2022; Sarkar *et al.*, 2019; Gournis *et al.*, 2004; Monvisade & Siriphannon, 2009).

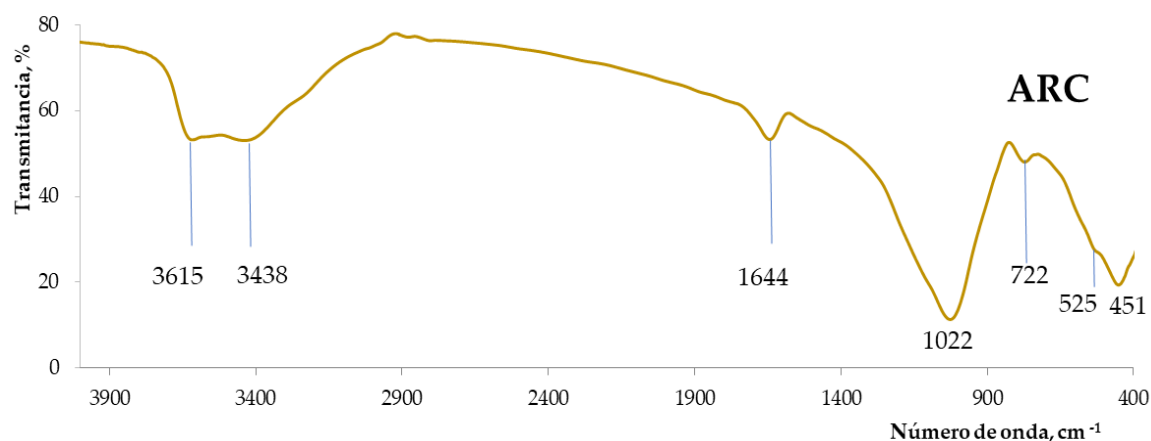


Figura 3.5. Espectro FTIR de ARC, en el intervalo 4000 - 400 cm^{-1} . Las líneas verticales indican señales características que interceptan los espectros que las presentan.

3.2. Algas

Las algas, en general, poseen una alta capacidad de sorción, se encuentran en abundante cantidad en mares y océanos y son de interés en la comunidad científica como biosorbentes, ya sea como biomasa viva o muerta, para la remoción de contaminantes. Los mecanismos de secuestro de los contaminantes desde la solución por los biomateriales se atribuyen a la sorción física, a la complejación y/o al intercambio iónico, principalmente. Durante el proceso de biosorción ocurren interacciones entre los contaminantes y los grupos funcionales presentes en la pared celular de los biomateriales. La biosorción resulta ser una de las tecnologías más prometedoras, no solamente por su bajo costo, sino porque se trata de un proceso rápido, de baja toxicidad e incluso permite la regeneración y reutilización del biomaterial (Plaza Cazón, 2012).

3.2.1. Características y clasificación de algas

Las algas son organismos autótrofos que no desarrollan flores ni cuentan con sistema vascular y viven en agua dulce o salada. La mayoría son capaces de elaborar sustancias orgánicas a partir del dióxido de carbono (CO₂) y sales inorgánicas disueltas en el agua, a través de la clorofila, presente en sus células. El agua en el que se desarrollan las mantiene erguidas y evita que la gravedad las desplome. Ocupan el primer eslabón de la cadena alimenticia en el ambiente acuático, al ser productores primarios que elaboran sustancias orgánicas a partir de sustancias inorgánicas a través del proceso de fotosíntesis (López-Padrón *et al.*, 2020).

Se las divide en cuatro grupos: Cyanophyta (cianobacterias), Rhodophyta (algas rojas), Chlorophyta (algas verdes) y Phaeophyta (algas pardas). Las dos últimas de interés para esta tesis. La mayoría de las algas verdes son macroscópicas. Si son pluricelulares se pueden organizar formando talos de aspectos muy diferentes: filamentosos simples o ramificados, laminares o cenocíticos. Las algas pardas son pluricelulares y prácticamente marinas en su totalidad, presentan desde pequeños talos filamentosos microscópicos hasta los enormes tamaños de las grandes algas que forman bosques bajo el nivel del mar. En este trabajo se emplearon las algas *Codium fragile* (Chlorophyta) y *Undaria pinatifida* (Phaeophyta), las cuales se recolectaron manualmente en playas aledañas de la región (latitud 45°45' S y longitud 67° O), durante la marea baja.

Las algas tienen diversos usos entre los cuales se encuentran: su efectividad para la descontaminación de los cuerpos de agua sobre todo en la remoción de metales (Zainith *et al.*, 2021; Vilar *et al.*, 2012; Basso *et al.*, 2002),

sorbentes de petróleo crudo (El Semary, 2021; Lindbergh *et al.*, 2021; Zainith *et al.*, 2021; Boleydei *et al.*, 2018) y biofertilizantes (Hamed *et al.*, 2018; Pérez-Madruga *et al.*, 2020).

3.2.2. *Codium fragile* (COD)

El alga *Codium fragile* es una especie que se encuentra arraigada en los niveles inferiores del intermareal (Boraso, 2013). Son algas robustas, color verde musgo, de hasta 30 centímetros de alto, ramas cilíndricas, ramificadas dicotómicamente, con ramas hasta el décimo orden. El talo está formado por numerosos filamentos sin tabicar, con una médula incolora y una empalizada externa de vesículas (utrículos) engrosadas apicalmente, provistas de numerosos cloroplastos pequeños, en forma de disco, sin pirenoides. Las gametas tienen dos flagelos, las femeninas son más grandes. Los sexos en el género *Codium* se encuentran normalmente en ejemplares separados y las cigotas (huevos fecundados) se desarrollan directamente en nuevos gametofitos. Sin embargo, en nuestras costas no se han encontrado las algas masculinas de *Codium fragile* y las femeninas se reproducen directamente sin fecundación. Su clasificación taxonómica se muestra en la **Tabla 3.2**.

División	Chlorophyceae
Clase	Bryopsidale
Orden	Siphonales
Familia	Codiaceae
Género	<i>Codium</i>
Especie	<i>C. fragile</i>

Tabla 3.2. Taxonomía de *Codium fragile*

La pared celular está formada por un componente fibrilar de celulosa y una matriz amorfa de polisacáridos. Estudios realizados por Estévez *et al.*, 2009

demonstraron que está compuesta por un 31%(p/p) de (1→4)-β-D-mananos lineales, un 9%(p/p) de sulfatos de arabinogalactano piruvilado (pAGS) y cantidades bajas de epítomos de glicoproteína rica en hidroxiprolina (HRGP). Las proteínas representan del 10 a 60% del peso seco de la pared celular. Presenta grupos funcionales como hidroxilos, carboxilos, sulfhidrilos, aminos, iminas, amidas, imidazoles (Percival, 1979). En la **Figura 3.6** se observa una imagen de *Codium fragile* extraída de las costas de Comodoro Rivadavia registrada en el Herbario Regional de la Patagonia bajo el N°7583.



Figura 3.6. *Codium fragile*

3.2.3. *Undaria pinnatifida* (UND)

El alga *Undaria pinnatifida* es una especie oriunda del Pacífico Norte (Japón), introducida en la década de 1990. Presenta las características biológicas típicas de una laminaria, siendo su esporofito una lámina grande, de color pardo, desde claro hasta oscuro, con bordes muy hendidos en la parte expandida superior y una base más angosta, ondulada, gruesa, donde se desarrollan los esporangios (Boraso, 2004; Boraso *et al.*, 2004). Su clasificación taxonómica se muestra en la **Tabla 3.3**. Por ser un alga invasora que perturba la

dinámica de las poblaciones marítimas, su extracción y uso beneficiarían al control de su crecimiento poblacional. Es comestible y estaría calificada por la Secretaría de Pesca de la provincia como recurso de cosecha artesanal.

División	Heterocontophyta
Clase	Phaeophyceae
Orden	Laminariales
Familia	Alariaceae
Género	<i>Undaria</i>
Especie	<i>U. pinnatifida</i>

Tabla 3.3. Taxonomía de *Undaria pinnatifida*

Su pared celular posee un esqueleto fibrilar embebido de una matriz amorfa mucilaginosa de polisacáridos sulfatados y una matriz amorfa de alginato, que representa entre el 10 - 40% del peso seco. Las proteínas se encuentran presentes en un 35 - 50% (Cazón *et al.*, 2014). En la **Figura 3.7.** se observa una imagen de *Undaria pinnatifida* extraída de las costas de Comodoro Rivadavia registrada en el Herbario Regional de la Patagonia bajo el N°7657.



Figura 3.7. *Undaria pinnatifida*.

3.2.4. Caracterización de las algas

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos de las algas se muestran en la **Tabla 3.4**. Las técnicas utilizadas están descritas en el **Capítulo 2**.

	COD	UND
pH (unidades)	4,4±0,2	6,0±0,2
CE (mmho/cm=1dS/m)	23,4±0,5	78,6±0,5
CIC (meq/100g)	103,8±1,0	205,3±1,0
H (%)	8,76±0,20	8,92±0,20
CRA (%)	276,0±1,0	218,0±1,0
CZ (%)	41,8±0,4	31,5±0,4
SE N₂ (m²g⁻¹)	0,250 R ² =0,802	0,250 R ² =0,802
SE VA (m²g⁻¹)	367,760 R ² =0,990	421,960 R ² =0,860
SE AM (m²g⁻¹)	627,590 R ² =0,982	906,511 R ² =0,965

Tabla 3.4. Parámetros fisicoquímicos pH, CE, CIC, H, CRA, CZ, y SE con N₂, VA y AM de *Codium fragile* y *Undaria pinnatifida*.

El contenido de H obtenido es similar al valor informado en bibliografía (Balquinta *et al.*, 2020; Torres, *et al.*, 2009). El valor de CZ para COD es consistente con los valores informados (Ortiz, 2011) mientras que para UND el valor obtenido es superior al publicado para algas pardas (Rupérez & Saura-Calixto, 2001). El menor valor de SE obtenido en la determinación con N₂, podría deberse a las características del gas no polar y su impedimento para ingresar a través de la pared celular, a pesar de ser una molécula pequeña sólo podría ser adsorbido en la superficie externa de la misma. Si analizamos la sorción de VA comparada con AM, ambos compuestos polares, se observó una mayor SE con AM lo cual indicaría que existen interacciones afines con la carga positiva del catión orgánico y los grupos aniónicos (-COO⁻, NH₂, -OH⁻) y celulosa, presentes en la pared celular de las algas (Fernández, 2012).

El análisis del difractograma de COD (**Figura 3.8.**) muestra señales en 2θ a $21, 49^\circ$; $27,49^\circ$; $45,73^\circ$ atribuidas a calcita (C) y $31,93^\circ$ y $45,73^\circ$ a halita (H) (Hernández *et al.*, 2024; Martins *et al.*, 2024; Díaz Dosque, 2010).

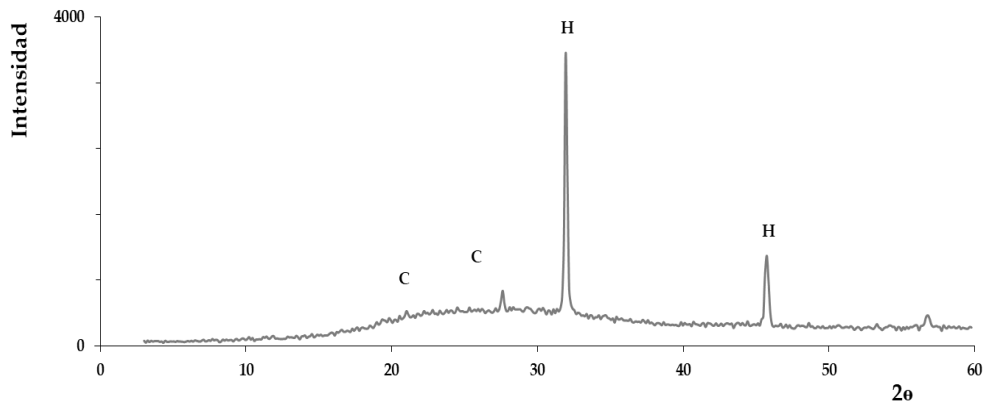


Figura 3.8. Difractograma de preparados orientados para COD. En el eje y se representa la intensidad relativa frente al ángulo de Bragg, 2θ . C: calcita H: halita.

En los espectros FTIR de COD (**Figura 3.9.**) se observan señales alrededor de $\sim 3831\text{ cm}^{-1}$ y $\sim 3738\text{ cm}^{-1}$ que corresponderían, respectivamente, al estiramiento y deformación del enlace de hidrógeno, O-H---O, en agua libre superficial (Estévez *et al.*, 2009). Se observa el estiramiento N-H en proteínas ($\sim 3430\text{ cm}^{-1}$); estiramiento simétrico y asimétrico de H-C-H alifático en lípidos y carbohidratos ($\sim 2930\text{ cm}^{-1}$), estiramiento asimétrico del grupo carboxilato (COO^-), proveniente de sus polisacáridos ácidos, aunque también puede tener contribución de proteínas ($\sim 1630\text{ cm}^{-1}$), enlace N-H en proteínas ($\sim 1539\text{ cm}^{-1}$), la deformación de los enlaces CH_2 y CH_3 asimétricos en proteínas y lípidos ($\sim 1442\text{ cm}^{-1}$), el estiramiento C-O simétrico en COO^- y señal de proteínas ($\sim 1408\text{ cm}^{-1}$) (Estévez *et al.*, 2009; Jebesen *et al.*, 2012; Barraza-Garza *et al.*, 2013; Bucarito *et al.*, 2014; Salem *et al.*, 2015; Özer *et al.*, 2016). La señal en $\sim 1242\text{ cm}^{-1}$ asociada al estiramiento asimétrico de los enlaces O=S=O del éster sulfato se debería a la presencia de polisacáridos sulfatados (Prado-Fernández *et al.*, 2003). Las bandas

características en $\sim 1091\text{ cm}^{-1}$ y $\sim 1030\text{ cm}^{-1}$ corresponderían a C-O y C-O-C orgánicos, respectivamente (Zhang *et al.*, 2010; Fernández *et al.*, 2011; Kocer *et al.*, 2018). La región comprendida entre $1000 - 350\text{ cm}^{-1}$ contiene una mezcla compleja de desplazamientos a partir de múltiples señales, atribuibles a estructuras cuaternarias macromoleculares, es la denominada “huella digital” (Sarkar *et al.*, 2019). Entre los cuales se encontraría la señal a 815 cm^{-1} correspondiente a manano (Huizing *et al.*, 1979).

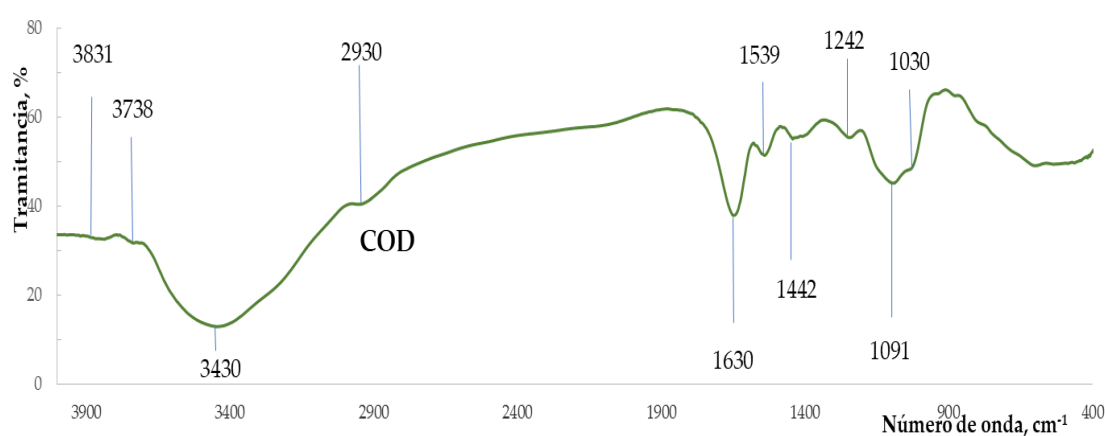


Figura 3.9. Espectros FTIR de COD, en el intervalo $4000 - 400\text{ cm}^{-1}$. Las líneas verticales indican señales características que interceptan los espectros que las presentan.

En el análisis del difractograma (**Figura 3.10.**) de UND los picos observados corresponderían a celulosa en $14,8^\circ$, $16,4^\circ$, $22,6^\circ$ y $34,5^\circ$ a 2θ (Zhou *et al.*, 2020), a calcita en 29° y 31° (Thorez, 1976), a alginato a 13° y $21,4^\circ$ (Akin & Işıklan, 2016; Sarker *et al.*, 2014) y a NaCl a $31,8^\circ$, $45,5^\circ$ y $56,5^\circ$ (Wang *et al.*, 2018) según se informa en la bibliografía.

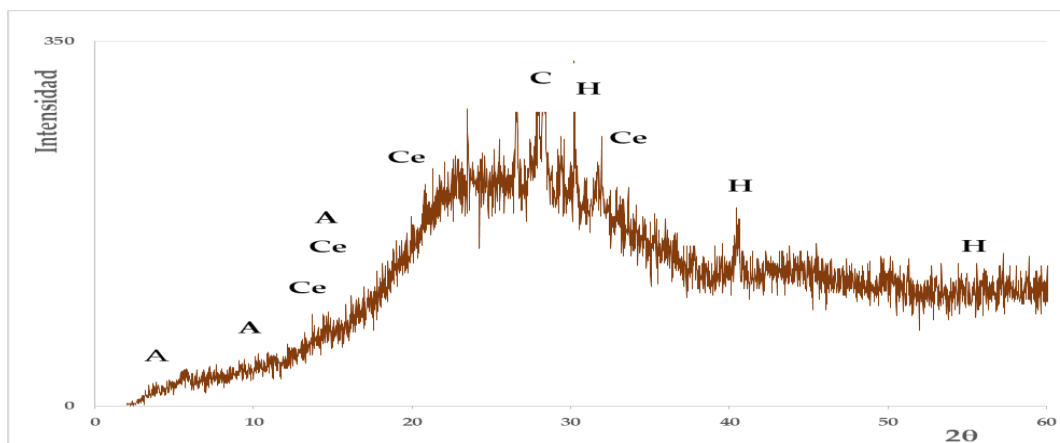


Figura 3.10. Difractograma de preparados orientados para UND. En el eje y se representa la intensidad relativa frente al ángulo de Bragg 2θ .

En el análisis de los espectros FTIR de UND, **Figura 3.11.** se observa la banda característica de grupo carboxilo a $\sim 1630\text{ cm}^{-1}$ que se atribuiría al alargamiento asimétrico y otra algo más débil de $\sim 1420\text{ cm}^{-1}$ que correspondería al alargamiento simétrico. La presencia de grupos amida se reflejaría en los picos encontrados alrededor de $1520 - 1540\text{ cm}^{-1}$ (Plaza Cazón *et al.*, 2014). También se observa la señal en $\sim 1237\text{ cm}^{-1}$ atribuidas de SO_3^- (Sperline *et al.*, 1992) y PO_2^- (Wang *et al.*, 2006); señal a $\sim 1082\text{ cm}^{-1}$ debido a C–O y C–C vibraciones de estiramiento acopladas a la flexión C–O–H de los polisacáridos, con contribuciones de SO_3^- y PO_2^- (Petronne *et al.*, 2011; Kačuráková & Mathlouthi, 1996). Espectros de FTIR de *Undaria pinnatifida* demuestran que los principales grupos funcionales sobre la pared celular son los grupos carboxilos, sulfonato y amina (Plaza *et al.*, 2011).

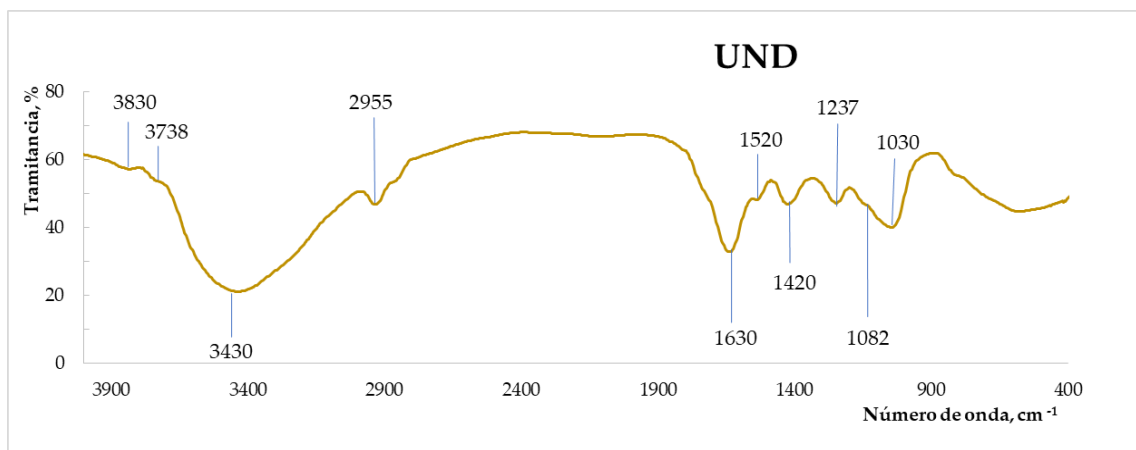


Figura 3.11. Espectros FTIR de UND, en el intervalo 4000 - 400 cm^{-1} . Las líneas verticales indican señales características que interceptan los espectros que las presentan.

3.3. Materiales híbridos.

Los materiales híbridos inorgánicos-orgánicos representan una alternativa creativa para diseñar nuevos materiales y compuestos. Algunos de estos tienen la ventaja que sus síntesis pueden realizarse bajo condiciones suaves (presión atmosférica y temperaturas relativamente bajas) y utilizando o no disolventes en su preparación (Fernandes *et al.*, 2014; Vianna *et al.*, 2004). Estas condiciones permiten combinar componentes naturales, como los biológicos y minerales, para crear nuevos materiales híbridos con diferentes características físicas y químicas, las cuales no se deben simplemente a la suma de las contribuciones individuales de sus componentes sino a la fuerte sinergia creada por la presencia de una interfaz híbrida (Salcedo-Bellido, 2014; Paul & Roberson, 2008; Sharafimasooleh *et al.*, 2011). En la presente tesis se realizó la incorporación de biomasa de alga, la cual se utiliza como biosorbente en procesos de remediación, tanto de contaminantes orgánicos como inorgánicos (Sarkar *et al.*, 2019; Carrilho *et al.*, 2003).

3.3.1. Obtención de materiales híbridos

Las arcillas naturales como fase inorgánica de un material híbrido favorecen la sorción de especies orgánicas entre sus capas, dando lugar a complejos de organoarcilla de estabilidad y naturaleza variable (Sarkar *et al.*, 2019). Los mecanismos por los cuales se pueden producir los procesos de intercalación son, entre otros, las interacciones del tipo dipolo-iónico y de coordinación, transferencias de protones y electrones (Vianna *et al.*, 2004).

Los materiales híbridos ensayados en esta tesis fueron preparados con la combinación de arcilla y alga. El procedimiento realizado es similar al utilizado para la producción de algas inmovilizadas en gel de sílice (Carrilho *et al.*, 2003) y fue explicado en el **Capítulo 2**. Las algas utilizadas fueron *Codium fragile* y *Undaria pinnatifida*, y se procedió a utilizar dos técnicas de calentamiento, estufa y horno de microondas, por lo cual se obtuvieron cuatro materiales híbridos: I) arcilla/*Codium fragile* estufa (ARCCOD E), II) arcilla/*Codium fragile* microondas (ARCCOD MO), III) arcilla/ *Undaria pinnatifida* estufa (ARCUND E) y IV) arcilla/*Undaria pinnatifida* microondas (ARCUND MO).

La preparación de dichos materiales sorbentes a partir de arcilla y algas (biomasa seca), se efectuó en diferentes proporciones (desde 10 hasta 70% de alga), y en base a los resultados de CS, se seleccionó para los ensayos posteriores, la proporción 28% de COD y UND (Blasetti *et al.*, 2021).

3.3.2. Caracterización de los materiales híbridos

A los materiales híbridos obtenidos se le realizaron ensayos físicoquímicos pH, CE, CIC, H, CRA, CZ y SE con N₂, VA y AM, se obtuvieron los resultados presentados en la **Tabla 3.5**.

Comparando los materiales de partida y los materiales híbridos obtenidos, en el valor de pH no se observa una variación significativa del mismo ($p=0,05$) y la CE en los materiales híbridos preparados con COD es mayor. Para los materiales híbridos preparados con UND los valores de CE son intermedios entre los valores de los materiales de partida. La CIC de ARCCODMO es similar a la de COD, mientras que el valor obtenido para ARCCOD E es similar al de ARC, diferencia atribuible al método de preparación. Para los materiales híbridos preparados con UND la CIC es menor que los valores obtenidos para UND y similar al obtenido para ARC, con mayor valor para ARCUND MO. Los valores de H, CRA y CZ son intermedios entre los materiales de partida independientemente del alga o técnica utilizada. En los materiales híbridos la SE con N₂ presenta valores bajos en comparación con ARC y similares a la de las algas. La SE con VA y AM para ARCCOD es menor que la de los materiales de partida. En todos los casos el híbrido generado en estufa presenta una menor SE que aquel generado en MO.

	ARCCOD E	ARCCOD MO	ARCUND E	ARCUND MO
pH (unidades)	5,2±0,2	6,2±0,2	7,0±0,2	5,9±0,2
CE (dS/m)	29,5±0,2	31,2±0,2	40,9±0,2	40,7±0,2
CIC (meq/100g)	76,3±0,5	103,0±0,5	79,3±0,5	103,4±0,5
H (%)	3,05±0,20	3,51±0,20	3,61±0,20	3,62±0,20
CRA (%)	102,0±1,0	97,0±1,0	86,0±1,0	87,0±1,0
CZ (%)	79,9±0,5	79,4±0,5	76,6±0,5	76,2±0,5
SE N₂ (m²g⁻¹)	1,80	2,00	2,00	1,53
	R ² =0,660	R ² =0,723	R ² =0,700	R ² =0,583
SE VA (m²g⁻¹)	155,18	182,82	884,67	977,50
	R ² =0,888	R ² =0,939	R ² =0,943	R ² =0,997
SE AM (m²g⁻¹)	322,05	202,28	509,91	414,84
	R ² =0,964	R ² =0,994	R ² =0,811	R ² =0,947

Tabla 3.5. Parámetros fisicoquímicos de los materiales híbridos obtenidos entre arcilla y alga con dos técnicas de calentamiento.

Podríamos suponer que el calentamiento en MO de alguna manera permitió una mayor exposición de los sitios activos o una mayor remoción de cationes que ocupan los mismos. Los valores elevados de SE con AM indicarían el ingreso de los monómeros y cationes protonados a los espacios internos de las posibles estructuras formadas en los híbridos.

Los difractogramas de los materiales híbridos ARCCOD E y ARCCOD MO, ponen de manifiesto diferencias apreciables con relación a los materiales de partida. En la **Figura 3.12.** se representan los difractogramas de los materiales híbridos comparados con los materiales de partida ARC y COD. En el caso de ARCCOD E, se conserva la estructura cristalina de la arcilla y hay un aumento del espaciado interlaminar d_{001} desde 12-15 Å (ARC) hacia 14-18 Å en el híbrido. Este aumento podría interpretarse como un acomodamiento de agua y/o biomasa del alga entre las láminas de la arcilla, quedando estas relativamente ordenadas como lo estaban en ARC (Dimonie *et al.*, 2008).

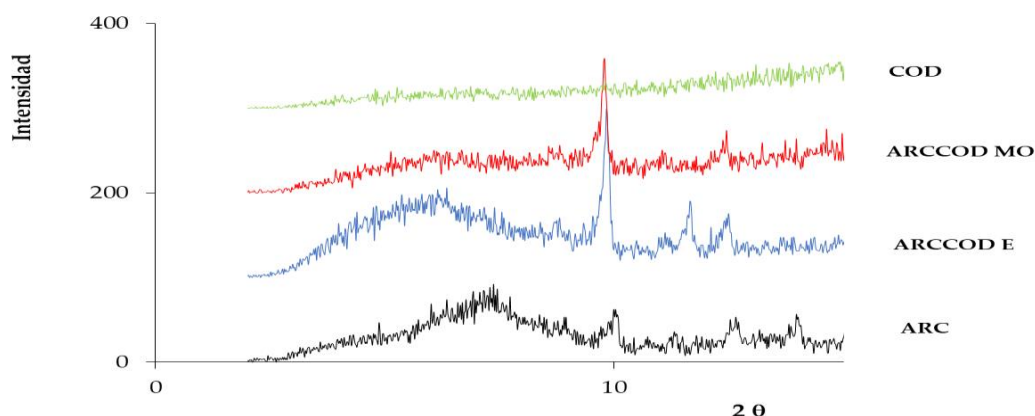


Figura 3.12. Difractogramas de ARC, ARCCOD E, ARCCOD MO y COD. En el eje y se representa la intensidad relativa frente al ángulo de Bragg 2θ .

En ARCCOD MO se evidencia la pérdida parcial de cristalinidad del componente arcilloso acompañado de una mayor similitud al difractograma de

COD, lo cual sugeriría un cierto grado de delaminación de la arcilla y la biomasa del alga dispersa entre ellas (Vianna *et al.*, 2004; Sharafimasooleh *et al.* 2011; Moore & Reynolds, 1989). Si bien la intensidad de la señal correspondiente al espaciado interlaminar d001 es muy baja, se observa un corrimiento hacia menores ángulos, de modo similar al de ARCCOD E (Blasetti *et al.*, 2021; Laza *et al.*, 2007).

En la **Figura 3.13** se muestran los espectros FTIR de ARC, ARCCOD E, ARCCOD MO y COD. Los materiales híbridos mantienen algunas características de los materiales de partida.

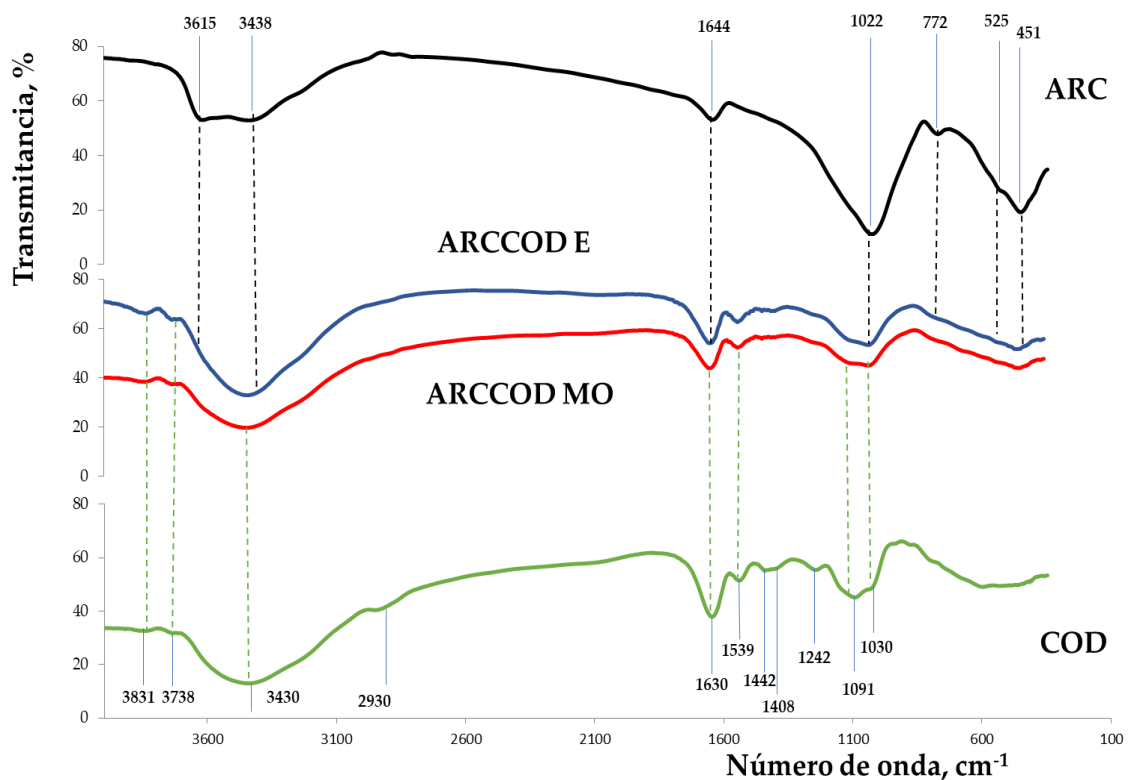


Figura 3.13. Espectros FTIR de ARC, ARCCOD E, ARCCOD MO y COD, en el intervalo 4000 - 400 cm^{-1} . Las líneas verticales indican señales características que interceptan los espectros que las presentan.

Se pueden observar ciertas diferencias como el incremento de la intensidad y el leve desplazamiento hacia menores números de onda de las

señales entre 4000 - 3700 cm^{-1} , especialmente en ARCCOD E, lo cual podría deberse al agua incorporada durante la preparación, la cual que no fue totalmente eliminada durante el calentamiento. Las señales correspondientes a O-H coordinados al Al (capa O), a O-H coordinados a M^+ (en la intercapa) y/o OH de enlaces hidrógeno de ARC se pierden o están desplazadas en los híbridos, como puede observarse en 3615 y 3438 cm^{-1} para ARCCOD E y ARCCOD MO (Wang *et al.*, 2015). También en $\sim 3430 \text{ cm}^{-1}$ ambos híbridos presentan la señal correspondiente a amida de COD, la mayor intensidad en ellos sugeriría un corrimiento de la señal de ARC en $\sim 3438 \text{ cm}^{-1}$ hacia $\sim 3430 \text{ cm}^{-1}$, lo cual podría deberse a la intercalación de los grupos NH de la amida de COD en ARC (Monvisade & Siriphannon, 2009). Además, en los híbridos está ausente la señal en $\sim 2930 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente a las vibraciones del enlace C-H en lípidos y carbohidratos de COD. Se evidencian leve desplazamiento de la señal de estiramiento C-O (1630 cm^{-1}) en los híbridos respecto de COD. Además, la deformación del enlace O-H en $\sim 1644 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente al agua de hidratación es más intensa en ARCCOD E, lo cual podría estar relacionado con la forma de preparación. La pérdida de algunas señales de COD en los híbridos entre 1300 -700 cm^{-1} , especialmente aquellas relacionadas con biomoléculas del tipo polisacáridos, abundantes en las paredes celulares de COD. El estiramiento Si-O, que en la arcilla es la señal más intensa ($\sim 1022 \text{ cm}^{-1}$) se encuentra disminuida y desplazada en los híbridos hacia un mayor número de onda ($\sim 1030 \text{ cm}^{-1}$). Las señales de la deformación Si-O en los híbridos (772 y 525 cm^{-1}) y deformación Si-O-Si ($\sim 451 \text{ cm}^{-1}$) son de menor intensidad que las presentes en ARC.

En los difractogramas DRX de los materiales híbridos ARCUND E y ARCUND MO se presenta el ángulo de difracción de ARC ($7,3^\circ 2\theta$) y se observa que disminuyó a un valor de $5,15^\circ 2\theta$ en los materiales híbridos. De acuerdo con la ley de Bragg, estos ángulos corresponden a un aumento del

espaciado basal de 12,04 Å hasta 17,13 Å, que podría deberse a un acomodamiento de agua y/o biomasa del alga entre las láminas de la arcilla (Lasa *et al.*, 2007). En la **Figura 3.14.** se representan los difractogramas de los materiales híbridos comparados con los materiales de partida, arcilla ARC y *Undaria pinnatifida* UND.

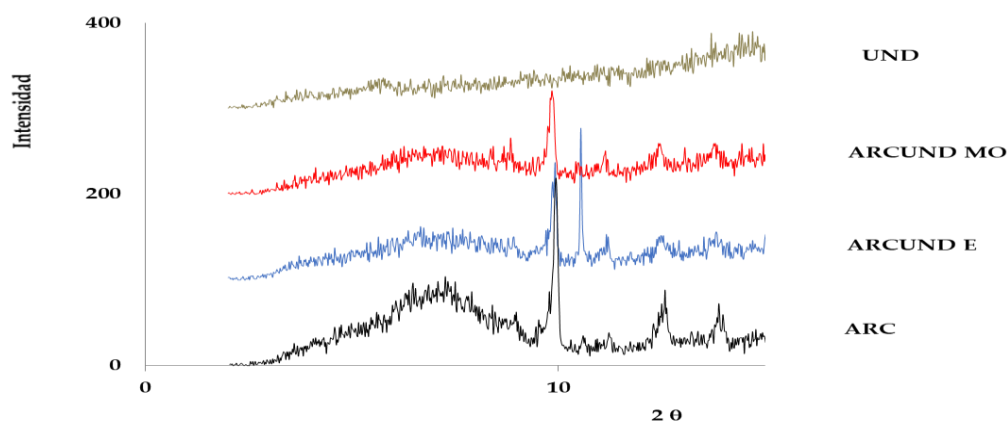


Figura 3.14. Difractogramas de ARC, ARCUND E, ARCUND MO y UND. En el eje y se representa la intensidad relativa frente al ángulo de Bragg 2θ .

En el análisis de FTIR (**Figura 3.15.**) de los materiales híbridos elaborados con UND se observa que ambos espectros presentan bandas características tanto de ARC como de alga. Dentro de las diferencias se observa un incremento de la intensidad en ~ 3839 y ~ 3735 cm^{-1} , desplazamiento de las señales entre 3615 y 3430 cm^{-1} , lo cual podría deberse a la incorporación de agua durante la preparación de los híbridos, a ~ 3420 cm^{-1} se observa el estiramiento de los grupos OH unidos al hidrógeno. También se observa la pérdida de la señal a ~ 2930 cm^{-1} correspondiente a las vibraciones del enlace C-H en lípidos y carbohidratos. Existe leve desplazamiento en las señales a ~ 1630 cm^{-1} correspondiente al enlace C-O en proteínas (amida I) y lípidos y a ~ 1539 cm^{-1} correspondiente al enlace N-H en proteínas (amida II).

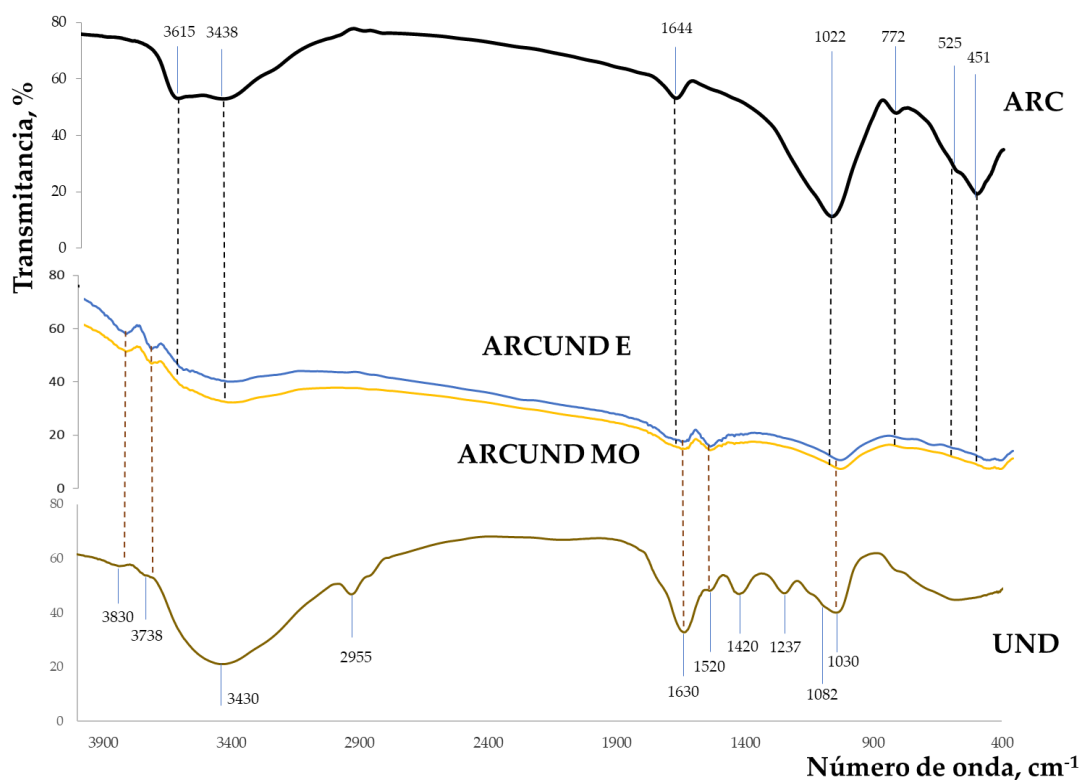


Figura 3.15. Espectro FTIR de ARC, UND, ARCUNDMO y ARCUNDE, en el intervalo 4000 - 400 cm^{-1} . Las líneas verticales indican señales características que interceptan los espectros que las presentan.

Se evidencia la aparición de la señal en $\sim 1531 \text{ cm}^{-1}$ de los híbridos, que puede atribuirse a un corrimiento de la señal $\sim 1539 \text{ cm}^{-1}$ correspondientes al grupo CO de amida presente en UND. Además, las señales $\sim 1427 \text{ cm}^{-1}$, $\sim 1237 \text{ cm}^{-1}$ y $\sim 1092 \text{ cm}^{-1}$ de UND se pierden, la señal ~ 1037 se encuentra desplazada y se registra la disminución del estiramiento Si-O de la capa T de ARC ($\sim 451 \text{ cm}^{-1}$) y leve corrimiento en los híbridos ($\sim 440 \text{ cm}^{-1}$ para ARCUND MO y $\sim 436 \text{ cm}^{-1}$ para ARCUNDE) lo cual puede atribuirse a la intercalación de sustancias en el espaciado interlamilar de ARC (Madejová, 2003).

3.4. Bibliografía

- Adams, J. M. (1987). Synthetic organic chemistry using pillared, cation-exchanged and acid-treated montmorillonite catalysts-A review. *Applied Clay Science*, 2(4), 309-342.
- Arvanitoyannis, I., Eleftheriadis, I., & Tsatsaroni, E. (1989). Influence of pH on adsorption of dye-containing effluents with different bentonites. *Chemosphere*, 18(9-10), 1707-1711.
- Akın, A., & Işıklan, N. (2016). Microwave assisted synthesis and characterization of sodium alginate-graft-poly (N, N'-dimethylacrylamide). *International journal of biological macromolecules*, 82, 530-540.
- Ballatine, J. A. (1992). Solid supports and catalysts in organic synthesis: Chichester. Ellis Harwood Ltd, 100.
- Balquinta, M. L., Andrés, S. C., Dellatorre, F. G., Califano, A. N., & Lorenzo, G. (2020). (20 al 22 de noviembre de 2019). Efecto del pH y concentración de harina de lámina de *Undaria pinnatifida* sobre las características reológicas y antioxidantes de sistemas alimenticios modelo. In: XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos y XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos-CyTAL®-ALACCTA 2019. Buenos Aires. Argentina.
- Barraza-Garza, G., de la Rosa, L.A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M. & Álvarez-Parrilla, E. (2013). La microespectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIRM) en el estudio de sistemas biológicos. *Revista Latinoamericana de Química*, 41 (3), 125-148.
- Basso, M., Cerrella, E.G., & Cukierman, A.L. (2002). Empleo de algas marinas para la biosorción de metales pesados de aguas contaminadas. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*, 6.
- Benhammou, A., Yaacoubi, A., Nibou, L., & Tanouti, B. (2005). Study of the removal of mercury (II) and chromium (VI) from aqueous solutions by Moroccan stevensite. *Journal of hazardous materials*, 117(2-3), 243-249.
- Bergaya, F.B.K.G., & Lagaly, G. (2013). General introduction: clays, clay minerals, and clay science. In: *Developments in Clay Science*, (Vol. 5, pp. 1-19). Elsevier.
- Bekri-Abbes, I., & Srasra, E. (2016). Effect of mechanochemical treatment on structure and electrical properties of montmorillonite. *Journal of Alloys and Compounds*, 671, 34-42.
- Blasetti, H., Alassia, F., Katusich, O., & Ríos, S.M. (2021). Híbridos arcilla-alga (*Codium fragile*). Comparación de dos métodos de obtención mediante DRX y FTIR. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 12(1), 33-43.

- Boleydei, H., Mirghaffari, N., & Farhadian, O. (2018). Comparative study on adsorption of crude oil and spent engine oil from seawater and freshwater using algal biomass. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(21), 21024-21035.
- Boraso, A.L., Rico, A.E., Perales, S., Pérez, L., & Zalazar, H. (2004). Algas marinas de la Patagonia. *Una Guía Ilustrada*. Buenos Aires. Argentina. Vázquez Mazzini. pp. 54-55. https://www.academia.edu/download/34691245/algas_marinas_de_la_patagonia__una_guia_ilustrada_-_Alicia_Boraso.pdf
- Boraso, A. (2004). In: Chlorophyta marinas de Argentina. Historia Natural-Segunda Serie (Bs.As.). 3, 95-119. https://www.researchgate.net/publication/281295156_Chlorophyta_marinas_de_Argentina
- Boraso, A.L. (2013). In: *Elementos para el estudio de las macroalgas de Argentina*. Comodoro Rivadavia: Universidad de la Patagonia. https://www.academia.edu/download/54249673/Boraso__A._L._Algas.pdf
- Brigatti, M.F., Galan, E., & Theng, B.K.G. (2006). Structures and mineralogy of clay minerals. *Developments in Clay Science*, 1, 19-86.
- Breen, C, Madejová, J., Komadel, P., 1995, Characterization of moderately acid-treated, size-fractionated montmorillonites using IR and MAS NMR spectroscopy and thermal analysis: *Journal of Materials Chemistry*, 5, 469-474.
- Bucarito, J., Fuentes, M.V., Prin, J.L., García, A., Rojas, L., Barrios, E. *et al.* (2014). Síntesis y uso de hidrogeles de poliacrilamida para la evaluación de metales biodisponibles en aguas intersticiales de los sedimentos del golfo de Cariaco (Venezuela). *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 15 (1), 7-20.
- Carrado, K.A., Decarreau, A., Petit, S., Bergaya, F. & Lagaly, G. (2006). Synthetic clay minerals and purification of natural clays. *Developments in Clay Science*, 1, 115-139.
- Carrilho, E.N.V., Nóbrega, J.A. & Gilbert, T.R. (2003). The use of silica-immobilized brown alga (*Pilayella littoralis*) for metal preconcentration and determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, 60 (6), 1131-1140.
- Cazón, J.P., Viera, M., Sala, S., & Donati, E. (2014). Biochemical characterization of *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae) in relation to their potentiality as biosorbents. *Phycologia*, 53(1), 100-108.
- Chitnis, S.R., Sharma, M.M., 1997, Industrial applications of acid-treated clays as catalyst: *Reactive & Functional Polymers.*, 32, 93-115.
- Christidis, G.E., & Huff, W. D. (2009). Geological aspects and genesis of bentonites. *Elements*, 5(2), 93-98.

Díaz Dosque, M.R. (2010). Mineralización de sales de calcio sobre polímeros modificados e híbridos órgano-inorgánicos. Tesis doctoral. Universidad de Chile.
<https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/102291>

Dimonie, D., Constantin, R., Vasilievici, G., Popescu, M.C. & Garea, S. (2008). The dependence of the XRD morphology of some bionanocomposites on the silicate treatment. *Journal of Nanomaterials*, 1, 1-7.

El Semary, N.A. (2021). Seaweeds for Sustainable Development. *Sustainable Solutions for Environmental Pollution: Waste Management and Value-Added Products*, 449-470.

EPA METHOD 1664. (2010). N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated n-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry.

Estévez, J.M., Fernández, P.V., Kasulin, L., Dupree, P. & Ciancia, M. (2009). Chemical and in situ characterization of macromolecular components of the cell walls from the green seaweed *Codium fragile*. *Glycobiology*, 19 (3), 212-228.

Fernandes, F.M., Baradari, H. & Sánchez, C. (2014). Integrative strategies to hybrid lamellar compounds: an integration challenge. *Applied Clay Science*, 100, 2-21.

Fernández, P.V. Ciancia, M. & Estevez, J.M. (2011). Cell wall variability in the green seaweed *Codium vermilara* (Bryopsidales Chlorophyta) from the Argentine coast 1. *Journal of Phycology*, 47 (4), 802-810.

Fu, S. Y., Feng, X. Q., Lauke, B., & Mai, Y. W. (2008). Effects of particle size, particle/matrix interface adhesion and particle loading on mechanical properties of particulate-polymer composites. *Composites Part B: Engineering*, 39(6), 933-961.

González, J.L., García, F.H., & Martínez, J.C. (1983). La arcilla como material cerámico. Características y comportamiento. *Cuadernos de Prehistoria y Arqueología de la Universidad de Granada*, 8, 479-490.

Gournis, D., Georgakilas, V., Karakassides, M. A., Bakas, T., Kordatos, K., Prato, M., Fanti, M., & Zerbetto, F. (2004). Incorporation of fullerene derivatives into smectite clays: a new family of organic-inorganic nanocomposites. *Journal of the American Chemical Society*, 126(27), 8561-8568.

Guggenheim, S., & Martin, R.T. (1995). Definition of clay and clay mineral: joint report of the AIPEA nomenclature and CMS nomenclature committees. *Clays and clay minerals*, 43(2), 255-256.

Hamed, S.M., Abd El-Rhman, A.A., Abdel-Raouf, N., & Ibraheem, I.B. (2018). Role of marine macroalgae in plant protection & improvement for sustainable agriculture technology. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 104-110.

- Harvey, C. C., & Lagaly, G. (2006). Conventional applications. *Developments in clay science*, 1, 501-540.
- Heister, K. (2014). The measurement of the specific surface area of soils by gas and polar liquid adsorption methods-Limitations and potentials. *Geoderma*, 216, 75-87.
- Hernández, C. A., de la Rosa, E. O., Hernández, M. V., Castillo, A. P., & Castillo, M. P. (2024). Invasión de sargazo en playas del caribe, una oportunidad para el desarrollo de nuevos materiales. *RD-ICUAP*, 10, 51-67.
<https://rd.buap.mx/ojs-dm/index.php/rdicuap/article/download/1330/1356>
- Huizing, H.J., Rietema, H., & Sietsma, J.H. (1979). Cell wall constituents of several siphonous green algae in relation to morphology and taxonomy. *British Phycological Journal*, 14(1), 25-32.
- Iqbal, M., Abbas, M., Nisar, J., Nazir, A., & Qamar, A. (2019). Bioassays based on higher plants as excellent dosimeters for ecotoxicity monitoring: a review. *Chemistry International*, 5(1), 1-80.
- Jebsen, C., Norici, A., Wagner, H., Palmucci, M., Giordano, M., & Wilhelm, C. (2012). FTIR spectra of algal species can be used as physiological fingerprints to assess their actual growth potential. *Physiologia plantarum*, 146(4), 427-438.
- Kačuráková, M., & Mathlouthi, M. (1996). FTIR and laser-Raman spectra of oligosaccharides in water: characterization of the glycosidic bond. *Carbohydrate research*, 284(2), 145-157.
- Kocer, A. T., Inan, B., & Ozcimen, D. (2018). Adsorption of Remazol Brilliant Blue R by raw and carbonized macroalgal wastes. *Environmental Research and Technology*, 1(4), 40-46.
- Laza, A. L., Jaber, M., Miehe-Brendle, J., Demais, H., Le Deit, H., Delmotte, L., & Vidal, L. (2007). Green nanocomposites: synthesis and characterization. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 7(9), 3207-3213.
- Lindbergh, R.H., Namazkar, S., Lage, S., Östman, M., Gojkovic, Z., Funk, C., & Tysklind, M. (2021). Fate of active pharmaceutical ingredients in a northern high-rate algal pond fed with municipal wastewater. *Chemosphere*, 271, 129763.
- López-Padrón, I., Martínez-González, L., Pérez-Domínguez, G., Reyes-Guerrero, Y., Núñez-Vázquez, M., & Cabrera-Rodríguez, J. A. (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Cultivos Tropicales*, 41(2).
- Madejová, J. J. V. S. (2003). FTIR techniques in clay mineral studies. *Vibrational spectroscopy*, 31(1), 1-10.

Maila, M. P., & Cloete, T. E. (2005). The use of biological activities to monitor the removal of fuel contaminants—perspective for monitoring hydrocarbon contamination: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55(1), 1-8.

Martins, A., Silva, J., Alves, C., Pinteus, S., Félix, C., Augusto, A., Pedrosa, R., Mestre, A., Santos, R., Carvalho, A., Goettert, M., Laufer, S., & Lemos, M. (2024). Towards a zero-waste sustainable biorefinery of *Codium* sp. seaweed: From bioactives application to soil enhancement materials. *Journal of Cleaner Production*, 453, 142191.

Miranda, R., Aceves, J. M., Corona-Cortés, H., Dominguez, J. M., Cabrera, A., & Salmón, M. (1994). One-Pot Synthesis of Phenylmethanes Using Al³⁺ Doped and Natural Clays. *Synthetic communications*, 24(5), 727-732.

Miranda, R., Ríos, H., Delgado, F., Castro, M., Cogordán, A., & Salmón, M. (2003). Characterization of a bentonitic clay and its application as catalyst in the preparation of benzyltoluenes and oligotoluenes. *Applied Catalysis A: General*, 244(2), 217-233.

Monvisade, P. & Siriphannon, P. (2009). Chitosan intercalated montmorillonite: Preparation, characterization and cationic dye adsorption. *Applied Clay Science*, 42 (3-4), 427-431.

Moore, D.M. & Reynolds Jr, R.C. (1989). *X-ray Diffraction and the Identification and Analysis of Clay Minerals*. Oxford University Press (OUP).

Nagai, NF, Ranalli, N. y Andrés, SC (2020). (20 al 22 de noviembre de 2019). Caracterización de *Undaria* sp e incorporación en hamburguesas de cerdo. En XXI Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos y XVII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos-CyTAL®-ALACCTA 2019. Buenos Aires. Argentina.
https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/121725/Documento_completo.pdf?sequence=1

Nadeau, P.H., Wilson, M.J., McHardy, W.J., & Tait, J.M. (1984). Interstratified clays as fundamental particles. *Science*, 225 (4665), 923-925.

Ortiz, J. (2011). Composición nutricional y funcional de las algas clorofíceas chilenas: *Codium fragile* y *Ulva lactuca*. Monografía.
<https://biomar.fciencias.unam.mx/Sobretiros/2019/Informacion%20algas/Algas/clorofitas/Compocisi%C3%B3n%20bioquimica%20de%20Codium%20y%20Ulva>.

Özer, T., Yalçın, D., Erkaya, I. A., & Udoh, A. U. (2016). Identification and characterization of some species of cyanobacteria, chlorophyta and bacillariophyta using fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. *IOSR Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 11, 20-27.

Palasí Mascarós, J.T. (2015). Caracterización físico-química y nutricional de algas en polvo empleadas como ingrediente alimentario. Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València. España. <http://hdl.handle.net/10251/55641>

Paul, D.R. & Roberson, L.M. (2008). Polymer nanotechnology: nanocomposites. *Polymer*, 49 (15), 3187-3204.

Percival, E. (1979). The polysaccharides of green, red and brown seaweeds: their basic structure, biosynthesis and function. *British Phycological Journal*, 14(2), 103-117.

Pérez-Madruga, Y., López-Padrón, I., & Reyes-Guerrero, Y. (2020). Las Algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos. *Cultivos Tropicales*, 41(2).

Petrone, L., Easingwood, R., Barker, M. F., & McQuillan, A. J. (2011). In situ ATR-IR spectroscopic and electron microscopic analyses of settlement secretions of *Undaria pinnatifida* kelp spores. *Journal of the Royal Society Interface*, 8(56), 410-422.

Picasso, G., & Sun Kou, M. D. R. (2008). Aplicaciones tecnológicas de las arcillas modificadas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(1), 57-74.

Plaza Cazón, J.D.C. (2012). Remoción de metales pesados empleando algas marinas. Doctoral dissertation, Universidad Nacional de la Plata. Argentina.
https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2770/Documento_completo_.pdf%3Fsequence%3D17

Plaza, J., Viera, M., Donati, E., & Guibal, E. (2011). Biosorption of mercury by *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida*: Influence of zinc, cadmium and nickel. *Journal of Environmental Sciences*, 23(11), 1778-1786.

Cazón, J. P., Viera, M., Sala, S., & Donati, E. (2014). Biochemical characterization of *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae) in relation to their potentiality as biosorbents. *Phycologia*, 53(1), 100-108.

Prado-Fernández, J., Rodríguez-Vázquez, J. A., Tojo, E., & Andrade, J. M. (2003). Quantitation of κ -, ι - and λ -carrageenans by mid-infrared spectroscopy and PLS regression. *Analytica Chimica Acta*, 480(1), 23-37.

Rivas, J.G. (2018). Cristaloquímica y génesis de arcillas magnésicas. Doctoral dissertation, Universidad de Salamanca. España. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=256161>

Rhodes, C. N., & Brown, D. R. (1992). Structural characterisation and optimisation of acid-treated montmorillonite and high-porosity silica supports for $ZnCl_2$ alkylation catalysts. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*, 88(15), 2269-2274.

Ruíz-Guerrero, R., Cárdenas, J., Bautista, L., Vargas, M., Vázquez-Labastida, E., & Salmón, M. (2006). Catalytic synthesis of 1, 3, 5-triphenylbenzenes, β -methylchalcones and 2, 4, 6-triphenyl pyrylium salts, promoted by a super acid trifluoromethane sulfonic clay from acetophenones. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 50(3), 114-118.

Ruperez, P., & Saura-Calixto, F. (2001). Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweeds. *European food research and technology*, 212, 349-354.

Salcedo-Bellido, I. (2014). Nanocomposites de quitosano y montmorillonita como protectores de la permeabilidad celular de oxitetraciclina. Tesis doctoral. Universidad de Granada. España. <https://hera.ugr.es/tesisugr/22508235.PDF>

Salem, A.M.S., Harraz, F.A., El-Sheikh, S.M., Hafez, H.S., Ibrahim, I.A., & Abdel-Mottaleb, M.S. A. (2015). Enhanced electrical and luminescent performance of a porous silicon/MEH-PPV nanohybrid synthesized by anodization and repeated spin coating. *RSC advances*, 5(121), 99892-99898.

Salmón, M., Pérez-Luna, M., López-Franco, C., Hernández, E., Alvarez-Ramírez, R.A., López-Ortega, A., & Dominguez, J.M. (1997). Catalytic conversion of propylene oxide on a super acid sulfonic clay (SASC) system. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 122(2-3), 169-174.

Sarkar, B., Rusmin, R., Ugochukwu, U.C., Mukhopadhyay, R. & Manjaiah, K.M. (2019). Modified clay minerals for environmental applications. In: *Modified Clay and Zeolite Nanocomposite Materials*, Editors: Mercurio, M., Sarkar, B. & Langella, A. Imprint: Elsevier, pp. 113-127.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128146170000037>

Sarker, B., Papageorgiou, D.G., Silva, R., Zehnder, T., Gul-E-Noor, F., Bertmer, M., Kaschta, J., Chrissafis, K., Detsch, R., Boccaccini, A.R. (2014). Fabrication of Alginate–Gelatin Crosslinked Hydrogel Microcapsules and Evaluation of the Microstructure and Physico-Chemical Properties. *Journal of Materials Chemistry B*, 2 (11), 1470-1482.

Sharafimasooleh, M., Bazgir, S., Tamizifar, M. & Nemati, A. (2011). Adsorption of hydrocarbons on modified nanoclays, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 18 (18), 182012.

Sperline, R. P., Song, Y., & Freiser, H. (1992). Fourier transform infrared attenuated total reflection spectroscopy linear dichroism study of sodium dodecyl sulfate adsorption at the alumina/water interface using alumina-coated optics. *Langmuir*, 8(9), 2183-2191.

Takabatake, M., & Motokura, K. (2022). Montmorillonite-based heterogeneous catalysts for efficient organic reactions. *Nano Express*, 3(1), 014004.

Thorez, J. (1976). In: Practical identification of clay minerals: a handbook for teachers and students in clay mineralogy. Belgique: Ed. Lelotte. pp. 56-70.

Torres, A.I., Casas, G. N., Gil, M.N., Commendatore, M.G., & Marinho, C. (2009). Evaluación de la composición químico-nutricional y del nivel de metales pesados e hidrocarburos en *Undaria pinnatifida* de los golfos San José y Nuevo, Chubut. <https://www.researchgate.net/publication/305279779>

- Vargas-Rodríguez, Y.M., Bertrán H.I., Vázquez-Labastida, E., Linares-López, C., Salmón, M., 2007, Synthesis and characterization of montmorillonite clays with modulable porosity induced with acids and superacids. *Journal of Materials Research*, 22 (3), 788–800.
- Vianna, M.M.G., Franco, J.H.R., Pinto, C.A., Valenzuela Díaz, F.R., & Büchler, P.M. (2004). Sorption of oil pollution by organoclays and a coal/mineral complex. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21, 239-245.
- Vilar, V.J.P., Valle, J.A., Bhatnagar, A., Santos, J.C., de Souza, S.M.A.G.U., de Souza, A.U., Botelho, C.M.S., & Boaventura, R.A.R. (2012). Insights into trivalent chromium biosorption onto protonated brown algae *Pelvetia canaliculata*: distribution of chromium ionic species on the binding sites. *Chemical engineering journal.*, 200-202, 140-148.
- Wang, J., Su, B., Xie, Y., Du, M., Dai, W., Wen, Y., & Li, J. (2018). Comparative research on deoxy-liquefaction of marine and terrestrial biomasses. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 131, 28-34.
- Wang, F., Yang, Z., Zhou, Y., Weng, S., Zhang, L., & Wu, J. (2006). Influence of metal ions on phosphatidylcholine–bovine serum albumin model membrane, an FTIR study. *Journal of molecular structure*, 794(1-3), 1-11.
- Wang, N., Tahmasebi, A., Yu, J., Xu, J., Huang, F. y Mamaeva, A. (2015). Un estudio comparativo de la pirólisis inducida por microondas de biomasa lignocelulósica y de algas. *Bioresource technology*, 190, 89-96.
- Yaghmaeiyan, N., Mirzaei, M., & Delghavi, R. (2022). Montmorillonite clay: Introduction and evaluation of its applications in different organic syntheses as catalyst: A review. *Results in Chemistry*, 4, 100549, 1-15.
- Zainith, S., Saxena, G., Kishor, R., & Bharagava, R. N. (2021). Application of microalgae in industrial effluent treatment, contaminants removal, and biodiesel production: Opportunities, challenges, and future prospects. In: *Bioremediation for Environmental Sustainability* (pp. 481-517). Elsevier.
- Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M., Puruhito, E., & Chen, Y. (2010). Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes. *Bioresource technology*, 101(14), 5297-5304.
- Zhou, D., Liu, J., Liu, S., Liu, X., Tang, X., & Lv, X. (2020). Characterisation of alkaline and enzymatic modified insoluble dietary fibre from *Undaria pinnatifida*. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(12), 3533-3541.

Capítulo 4

Sorción

Capítulo 4.

Este capítulo describe el comportamiento sortivo de los materiales de partida y los materiales híbridos frente al petróleo, se determinan la capacidad de sorción, isothermas de sorción y ensayos de desorción.

4.1. Importancia del proceso de sorción

El término sorción indica el proceso por el cual un compuesto en solución interacciona con un sólido, generalmente es utilizado cuando los procesos de adsorción y absorción ocurren simultáneamente y no se pueden distinguir uno de otro. Incluye la adsorción, el cual es un proceso físico en donde existe una retención del soluto (contaminante) sobre la superficie de un material sólido y el proceso de absorción, que se refiere a la retención del soluto dentro del sólido, con difusión de masas entre fases (Adamson, 1967; Dabrowski, 2001). Es importante conocer el proceso de sorción de un contaminante en suelo ya que éste restringe su movilidad hacia el agua y su disponibilidad para ser asimilado por los organismos. Esta disponibilidad se ve afectada por la sorción, además de las propiedades de los compuestos y del suelo (Carriquiriborde, 2021; Katayama *et al.*, 2010; Hatzinger & Kelsey, 2005).

4.2. Determinación de la capacidad de sorción de petróleo

Los estudios de cuantificación de sorción permiten evaluar la magnitud de este proceso bajo diferentes condiciones experimentales, proporcionando estimaciones de la afinidad y superficie específica del sorbente (Lee & Tiwari, 2012; Zhu *et al.*, 2016). La determinación de la capacidad de sorción (CS) permite predecir el comportamiento de un sorbente en presencia de petróleo derramado. En este estudio, la CS se evaluó siguiendo el ensayo descrito en la norma ASTM F-726-17, utilizando un petróleo crudo previamente caracterizado

por sus fracciones: 42 % alifática, 34 % aromática, 6 % polar y 18 % asfáltica, tal como se detalló en el **Capítulo 2**. Los resultados obtenidos, presentados en la Tabla 4.1, indican que las diferencias en la CS (g de petróleo/g de sorbente) entre los materiales no fueron estadísticamente significativas, según el análisis con un nivel de significancia de 0,05.

Sorbentes	CS
	(g de petróleo/g sorbente)
ARC	6,2 ±0,1
COD	6,5 ±0,1
ARCCOD E	5,8 ±0,1
ARCCOD MO	6,4 ±0,1
UND	6,8 ±0,1
ARCUND E	5,3 ±0,1
ARCUND MO	4,9 ±0,1

Tabla 4.1. La CS de los sorbentes

Los resultados de CS para los sorbentes preparados con COD presentan el siguiente orden creciente ARCCOD E < ARC < ARCCOD MO < COD. En el caso de los preparados con UND el orden creciente es el siguiente ARCUND MO < ARCUND E < ARC < UND. En relación con los valores de CS informados en bibliografía, se encontraron los siguientes: esmectitas tipo montmorillonita presentan una CS de petróleo de 7,2 g/g (Carmody *et al.*, 2007; Cosultchi, *et al.*, 2004); macroalga verde *Enteromorpha intestinalis* presenta valores de 1,938 g/g para petróleo crudo (Boleydei *et al.*, 2018) y 4,8 g/g para biomasa seca de *Salvinia* (Ribeiro *et al.*, 2000), harina de *Undaria pinnatifida* presenta un valor de 0,99g/g para la CS de aceite (Nagai, 2018).

4.3. Isotermas de sorción

Para el estudio del comportamiento sorbivo de los materiales híbridos se mantienen constantes las condiciones de humedad, temperatura, tiempo de contacto, polaridad del solvente en la fase líquida y el rango de concentraciones evaluadas. El modelo que se utilizó para representar las isotermas de sorción es el modelo de BET (Brunauer Emmett and Teller) (Anderson, & Hall, 1948), el cual se utiliza para el estudio del comportamiento sorbivo del petróleo en fase orgánica de los materiales sorbentes y permite la estimación del calor de sorción y la cobertura en la monocapa, además de ser una herramienta comparativa (Ríos & Nudelman, 2005; Katusich, 2011). Cabe destacar que se ha considerado al petróleo como un único soluto ya que el modelo es válido estrictamente para un solo tipo de molécula y no para una mezcla (Nudelman, 2008). Las constantes K_1 y K_2 , representan valores globales y por lo tanto tendrán en cuenta las interacciones entre los componentes en la fase líquida y las interacciones globales de cada uno de ellos con los componentes de los sorbentes. El valor de K_1 está relacionada con el calor de sorción, da idea de las fuerzas de atracción entre el sorbente y el sorbato. El valor de K_2 representa la masa sorbida en la primera monocapa y es una estimación del área específica (Parra Soto, 2013; Poulis, & Robens, 2007).

En la **Figura 4.1.** se pueden apreciar las isotermas experimentales de sorción de los materiales híbridos ARCCOD E y ARCCOD MO, y las isotermas calculadas con el modelo de BET. La cantidad de petróleo sorbida por gramo de sorbente está representada por Q_e (mg kg^{-1}) y C_e (mg L^{-1}) es la concentración de petróleo en el equilibrio. Se observa una relación directa entre la concentración de petróleo y la cantidad de este sorbida por los materiales híbridos

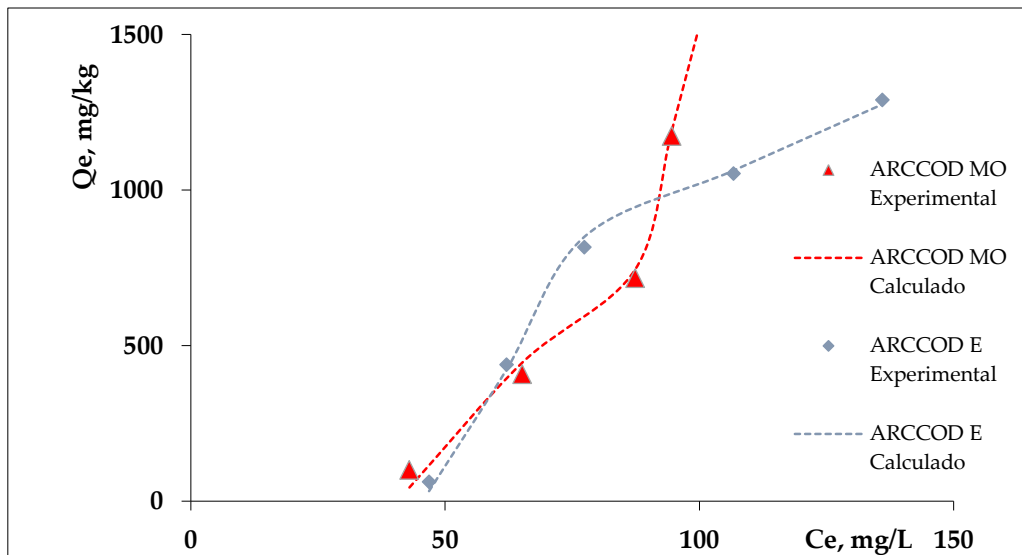


Figura 4.1. Isotermas de sorción de los materiales híbridos ARCCOD E y ARCCOD MO.

En la **Figura 4.2.** se pueden apreciar las isotermas de sorción de los materiales híbridos ARCUND E y ARCUND MO, donde también se observa una relación directa entre Q_e y C_e .

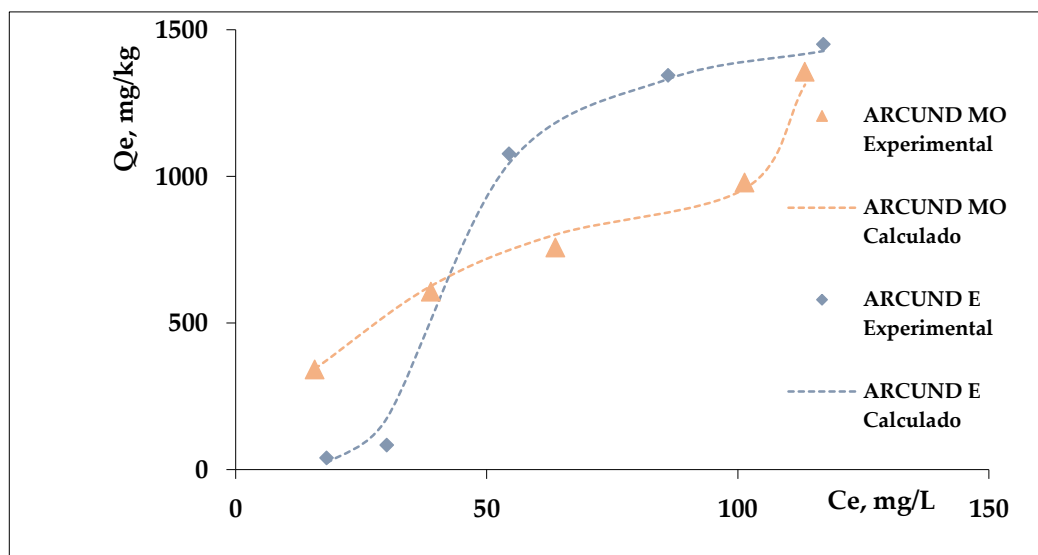


Figura 4.2. Isotermas de sorción de los materiales híbridos ARCUND E y ARCUND MO.

Los datos experimentales se han podido representar con el modelo de BET que permitió un buen ajuste de la información experimental. La **Tabla 4.2.**

muestra, además de los parámetros del modelo de BET (K_1 y K_2) para el sorbato petróleo, el error porcentual (E%) calculado en base a la comparación entre los valores experimentales y los calculados con el modelo para los distintos sorbentes y el coeficiente de regresión R^2 , que da una idea de la bondad del ajuste.

Sorbentes	K_1	K_2	Error	R^2
	L mg ⁻¹	mg kg ⁻¹	%	
ARC	2,50x10 ⁻²	833	1,2	0,992
COD	6,71x10 ⁻³	454	1,5	0,999
UND	1,00x10 ⁻²	1000	1,4	0,992
ARCCOD E	8,05x10 ⁻³	588	1,3	0,997
ARCCOD MO	8,07x10 ⁻³	1250	1,4	0,976
ARCUND E	1,00x10 ⁻²	1000	1,5	0,890
ARCUND MO	4,00x10 ⁻²	1428	1,4	0,098

Tabla 4.2. Parámetros del modelo de BET (K_1 y K_2) para los sorbentes ARC, COD, UND, ARCCOD E, ARCCOD MO, ARCUND E, ARCUND MO, el error porcentual (E%) y el coeficiente de regresión R^2

Analizando los resultados de K_1 , se observa que la misma es mayor para ARC con respecto a COD y sus materiales híbridos, lo cual, según Cosutlchi, 2004 y Chandra *et al.*, 2015, podría deberse a que los alcanos y las moléculas polares interactúan fácilmente con las capas intermedias o intersticiales de la montmorillonita y pueden a su vez penetrar el espacio interlaminar determinando el valor de K_1 para ARC. Para los híbridos de UND y los materiales de partida, K_1 no presenta diferencia significativa.

El valor de K_2 proporciona una estimación de la superficie específica del material. Al comparar los valores de K_2 , se observa que los materiales híbridos ARCCOD MO, ARC y ARCCOD E tienen una mayor capacidad para sorber petróleo en la primera monocapa en comparación con COD. En el caso de los híbridos preparados con UND, el mayor valor de K_2 se obtiene para ARCUND

MO, seguido de UND y ARCUND E, todos ellos superando el valor registrado para ARC. Esto sugiere que, en los materiales híbridos, las moléculas que interactúan con las cargas superficiales encuentran mayores áreas disponibles, lo que incrementa la cantidad de ligandos en la superficie y en los espacios interlaminares. La presencia de UND, con su pared celular compuesta por celulosa, fucanoides, alginatos y proteínas fosfatadas, contribuye significativamente a mejorar la capacidad de sorción de estos materiales híbridos (Paz Armada, 2018; Sigvas & Zapana, 2022).

4.4. Desorción del petróleo

El comportamiento del petróleo en la fase acuosa es de gran importancia, ya que en esta fase se llevan a cabo los principales procesos de transporte y transformación. La solubilidad de cada componente del petróleo está influenciada por la interacción entre ellos, y puede incrementarse mediante el uso de un cosolvente con una polaridad menor que la del agua, pero que sea miscible en diferentes proporciones, como los alcoholes. La predicción de la solubilidad acuosa utilizando cosolventes orgánicos es particularmente útil para compuestos con baja solubilidad en agua. La transición de estos compuestos a la fase acuosa depende no solo de su solubilidad en el cosolvente, sino también de las interacciones entre los componentes del petróleo, las cuales varían en función de factores como el peso molecular, la presencia de grupos funcionales y la polaridad del cosolvente. En la **Figura 4.2** se presentan los espectros UV-Vis de la fracción soluble del petróleo en distintas mezclas de agua y alcohol metílico.

Se observa un incremento en la absorbancia conforme aumenta la fracción de componentes solubles, a medida que disminuye la polaridad de la mezcla agua-metanol. Este aumento es especialmente pronunciado en las

longitudes de onda más elevadas, lo que refleja una disolución progresiva y selectiva de los componentes, predominantemente aromáticos, cuya solubilidad en solventes polares es limitada o nula. Estos resultados subrayan la importancia crítica en la selección del solvente adecuado, dado que la naturaleza del solvente influye directamente en la capacidad de solubilización de los distintos compuestos presentes en el petróleo.

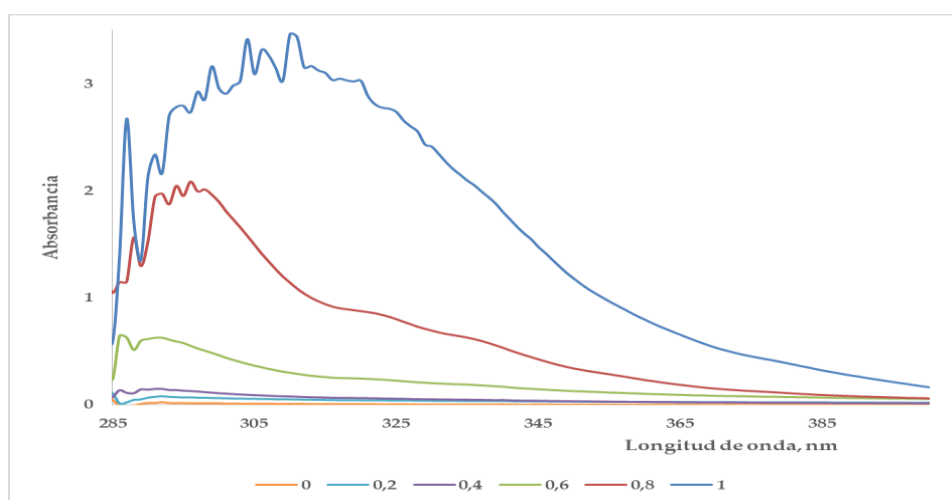


Figura 4.2. Espectros UV-Vis correspondientes a la fracción soluble de petróleo en distintas mezclas de alcohol metílico y agua (% P/P)

Los componentes del petróleo solubles en agua presentan una mayor facilidad para ser absorbidos por organismos vivos, lo que puede inhibir la actividad enzimática del suelo (Alrumman *et al.*, 2015) y la germinación de semillas (Ríos *et al.*, 2014), además de estar sujetos a mayores tasas de degradación química y fotoquímica (Martí, 2007). Para cuantificar la cantidad de petróleo soluble en agua presente en suelos contaminados, se emplea una extracción de hidrocarburos utilizando una mezcla de agua y metanol como cosolvente (Schmidt *et al.*, 2002; Alrumman *et al.*, 2015). Los resultados obtenidos, presentados en la **Tabla 4.3.**, muestran que, a mayor concentración de petróleo en el suelo, mayor es la fracción de petróleo soluble en agua. Además, se observa que el material híbrido utilizado retendría los componentes

del petróleo en su estructura, lo que disminuye significativamente la fracción de hidrocarburos solubles en agua en los ensayos de solubilidad.

Muestras	Fracción de petróleo soluble en agua (g/L)
Suelo contaminado 20%	2,8±0,1
Suelo contaminado 30%	4,2±0,2
Suelo Tratado (20%) ARCCOD E	0,30±0,01
Suelo Tratado (20%) ARCCOD MO	0,12±0,01
Suelo Tratado (30%) ARCCOD E	1,65±0,10
Suelo Tratado (30%) ARCCOD MO	1,5±0,1
Suelo Tratado (20%) ARCUND E	0,0030±0,0005
Suelo Tratado (20%) ARCUND MO	0,0012±0,0005
Suelo Tratado (30%) ARCUND E	0,010±0,001
Suelo Tratado (30%) ARCUND MO	0,0147±0,002

Tabla 4.3. Solubilidad en agua del petróleo crudo usando cosolvente en suelos contaminados y en suelos tratados con materiales híbridos

La disminución de la solubilidad en agua del petróleo en presencia de materiales híbridos puede explicarse por la disponibilidad de los sitios activos del material sorbente para interactuar con los contaminantes orgánicos. En el caso de compuestos orgánicos no iónicos, los grupos metileno de las cadenas alifáticas pueden interactuar con la matriz arcillosa a través de puentes hidrógeno. La magnitud de la sorción dependerá de la actividad de los grupos metileno y de la longitud de las cadenas carbonadas. Además, es posible que se formen puentes hidrógeno entre los oxidrilos de los bordes de las láminas de arcilla y los oxígenos de los compuestos orgánicos. Ciertos componentes de las algas, como grupos metileno, carbonilos, carboxilos y alcoholes, pueden interactuar con la matriz arcillosa, incluso con el agua interlamina, facilitando su intercalación.

4.5. Bibliografía

Adamson, A.W., & Gast, A.P. (1967). *Physical chemistry of surfaces* (Vol. 150, p. 180). New York: Interscience publishers.

<https://archive.org/details/physicalchemistr0000adam/page/n7/mode/2up>

Alrumman, S.A., Standing, D.B. y Paton, G.I. (2015). Efectos de la contaminación por hidrocarburos en la comunidad microbiana del suelo y la actividad enzimática. *J King Saud. Univ. Sci.*, 27 (1), 31-41.

Anderson, R.B. & Hall, W.K. (1948). Modificaciones de la Ecuación III de Brunauer, Emmett y Teller. *Journal of the American Chemical Society.*, 70 (5), 1727-1734.

ASTM International. ASTM F-726-17 Standard Test Method for Sorbent Performance of Adsorbents.

Boleydei, H., Mirghaffari, N. & Farhadian, O. Estudio comparativo sobre la adsorción de petróleo crudo y aceite de motor gastado de agua de mar y agua dulce utilizando biomasa de algas. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 21024–21035 (2018).

<https://doi.org/10.1007/s11356-018-2281-y>

Carriquiriborde, P. (2021). *Principios de Ecotoxicología*. Libros de Cátedra. Ed. EDULP. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/118183>

Carmody, O., Frost, R., Xi, Y., & Kokot, S. (2007). Adsorption of hydrocarbons on organo-clays—implications for oil spill remediation. *Journal of Colloid and Interface Science*, 305 (1), 17-24.

Chandra, T.S., Mudliar, S.N., Vidyashankar, S., Mukherji, S., Sarada, R., Krishnamurthi, K., & Chauhan, V.S. (2015). Defatted algal biomass as a non-conventional low-cost adsorbent: surface characterization and methylene blue adsorption characteristics. *Bioresource Technology*, 184, 395-404.

Cosultchi, A., Bosch, P., & Lara, V. H. (2004). Adsorption of petroleum organic compounds on natural Wyoming montmorillonite. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 243(1-3), 53-61.

Dabrowski, A. (2001). Adsorption-from theory to practice, *Advances in Colloid and Interface Science* 93 (1-3), 135-224.

Hatzinger, P.B., & Kelsey, J.W. (2005). *Pollutants, Biodegradation*. Harrison, A. (1995). *Fractals in chemistry* (No. 22). Oxford University Press.

https://books.google.com.ar/books/about/Fractals_in_Chemistry.html?id=YfjvAAAAMAAJ&redir_esc=y

Katayama, A., Bhula, R., Burns, G. R., Carazo, E., Felsot, A., Hamilton, D., Harris, C., Kim, Y. H., Kleter, G., Koedel, W., Linders, J., Peijnenburg, J. G., Sabljic, A., Stephenson, R. G., Racke, D. K., Rubin, B., Tanaka, K., Unsworth, J., & Wauchope, R. D. (2010). Bioavailability of xenobiotics in the soil environment. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 203, 1–86. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1352-4_1

Katusich, O. (2011). Interacciones ambientales del petróleo y geosorbentes característicos de la Patagonia Central. Tesis doctoral. Universidad Nacional de la Patagonia “San Juan Bosco”. Comodoro Rivadavia. Argentina. <https://sistema-biblio.unp.edu.ar/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=77918>

Katusich, O., Vallone, A., Blasetti, H., Alassia, F., Ríos, S. M., Sapag, K., & Nudelman, N. (2016). Evaluation of Sorptive Capacity of Natural Clay, Pillared Clay, and Alga-modified Clay to Contain Oil Spills in Soil. *American Journal of Modern Chemical Engineering*, 2(1), 15-25.

Lee, S. M., & Tiwari, D. (2012). Organo and inorgano-organo-modified clays in the remediation of aqueous solutions: An overview. *Applied Clay Science*, 59, 84-102.

Nagai, N. F. (2018). Estudio de harinas de algas marinas comestibles y su incorporación en productos cárnicos. Doctoral dissertation, Universidad Nacional de la Plata. Argentina. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/73022>

Nudelman, N. S., Ríos, S. M., & Katusich, O. (2008). Application of some physical organic chemistry models to the study of oil spills residues in Patagonian soils. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 21(4), 329-337.

Parra Soto, J. B. (2013). Aplicabilidad de la ecuación de BET a sólidos de textura diversa. *Materiales en Adsorción & Catálisis*, 6, (2013), 5-17.

Poulis, J.A. Massen, C.H., & Robens, J. (2007). Saving time when measuring BET isotherms. *Journal of Colloid and Interface Science*, 311, 2, 391-393.

Ribeiro, T. H., Smith, R. W., & Rubio, J. (2000). Sorption of oils by the nonliving biomass of a *Salvinia* sp. *Environmental Science & Technology*, 34(24), 5201-5205.

Ríos, S. M., Barquín, M., Katusich, O., & Nudelman, N. (2014). Relationships between nuclear magnetic resonance parameters used to characterize weathering spilled oil and soil toxicity in central Patagonia. *Environmental technology*, 35(18), 2263-2271.

Ríos, S. M., & Nudelman, N. S. (2005). Multilayer sorption model for the interactions between crude oil and clay in Patagonian soils. *Journal of dispersion science and technology*, 26(1), 19-25.

Siguas Rengifo, T., & Zapana Suri, K. A. (2022). Tratamiento de aguas marinas contaminadas por hidrocarburos mediante sistema bioadsorbente a base de algas marinas en Cantolao, Callao 2022. <https://hdl.handle.net/20.500.12692/101778>

Schmidt T, Kleinert P, Stengel C, Goss K, Haderlein S. Polar fuel constituents: compound identification and equilibrium partitioning between non aqueous phase liquids and water. *Environmental Science and Technology* 2002; 36(19):4074-4080

Zhu, R., et al (2016). Adsorbents based on montmorillonite for contaminant removal from water: A review. *Applied Clay Science.*, 123, 239-258.

Capítulo 5

Ecotoxicología

Capítulo 5.

5. 1. Ecotoxicología

La ecotoxicología es una rama de la toxicología que estudia los efectos nocivos de las sustancias tóxicas sobre los seres vivos presentes en un ecosistema; se distingue una meta científica que genera conocimientos básicos sobre los efectos adversos de los contaminantes sobre los diferentes niveles de organización, teniendo en cuenta la tolerancia individual y la bioacumulación; una meta tecnológica que permite desarrollar herramientas de evaluación como bioensayos de toxicidad; y una meta práctica, en la cual se aplican las herramientas desarrolladas para abordar problemas concretos en general (Newman, 2009). El término fue empleado por primera vez por René Truhaut, en el encuentro *International Council of Scientific Unions* del año 1969, del cual era miembro, y definió a la Ecotoxicología como “*la rama de la toxicología que comprende el estudio de los efectos tóxicos causados por los contaminantes, naturales o sintéticos, sobre los componentes de los ecosistemas, animales (incluyendo al hombre), vegetales y microorganismos, en un contexto integrado*” (Truhaut, 1967; Truhaut, 1977). Los contaminantes químicos que tienen efecto sobre los ecosistemas se definen como sustancias que se encuentran en el ambiente en concentraciones superiores a las normales para un determinado ambiente. Desde el punto de vista ambiental la toxicidad, la persistencia en el medio ambiente y el potencial de bioacumulación son propiedades relevantes de las sustancias químicas. Estas propiedades permiten determinar si el efecto tóxico se produce a corto o largo plazo teniendo en cuenta su degradación y la bioacumulación, ya que la toxicidad es una función de la carga tóxica en el organismo (Planes & Fuchs, 2015).

Para evitar una subestimación del riesgo ambiental real, además de los ensayos químicos, es necesario analizar a los contaminantes presentes en el

suelo, incluidos los metabolitos y subproductos, teniendo en cuenta la variación de las concentraciones totales y la reducción de la biodisponibilidad y posterior toxicidad de este a causa del proceso de envejecimiento (Fernández *et al.*, 2005). Los ensayos de toxicidad avalados internacionalmente por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA), la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE) y la United State Environmental Protection Agency (USEPA) (Pernía *et al.*, 2018) utilizan como indicadores distintas especies de plantas, entre ellas *Lactuca sativa* L. (Huerta Muñoz *et al.*, 2015, Sirit *et al.*, 2008). Es importante considerar especies endémicas o nativas para obtener límites aceptables de contaminantes en una región determinada y el conjunto de datos obtenidos deberá ser estadística y ecológicamente representativos permitiendo, de esta manera, la protección de la estructura y funciones de los ecosistemas (Wang, 2015).

5.2. Reglamentación

Las Conferencias de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente realizadas en 1972 y 1992 impulsaron el surgimiento de legislaciones ambientales para regular la conducta humana y favorecer una relación de las personas y la naturaleza donde se proteja al medio ambiente, dejándolo libre de contaminantes o mejorando las zonas afectadas. En general la legislación ambiental tiene como objetivos la lucha contra la contaminación, la preservación de la biodiversidad, y la protección de los recursos naturales, para que exista un entorno humano saludable.

En la Argentina la Constitución Nacional establece el derecho de los habitantes de tener un ambiente sano y apto para el desarrollo humano. Es así como todo daño ambiental debe ser reparado, cualquiera sea su naturaleza. En la legislación nacional están contemplados los bioensayos de toxicidad para el

control ambiental. La Ley Nacional N° 24.051/92 de residuos peligrosos y su Decreto Reglamentario 831/93 dice que “*para identificar a un residuo como peligroso se debe considerar la toxicidad humana, ecotoxicidad, teratogenicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad de este*”. La Resolución 619/98 de esta misma ley, reglamenta la habilitación del uso de productos biológicos en el tratamiento de residuos.

5.3. Efectos tóxicos del petróleo

La contaminación por petróleo tiene efectos significativos en el medio ambiente, los animales y las plantas, manifestándose a través de diversos mecanismos y procesos (Reischl *et al.*, 1989; Wild & Jones, 1991). En primer lugar, en el ambiente, el petróleo puede formar una película en la interfase agua-aire y aire-suelo, lo que perturba los intercambios gaseosos y reduce el proceso de auto-depuración al disminuir la capacidad de re-oxigenación del medio. Esta película también puede tener acciones mecánicas directas, como modificar la flotabilidad de las aves, afectando su capacidad de vuelo y aislamiento térmico, lo que puede llevar a la hipotermia y, en casos extremos, a la muerte. Además, algunas aves pueden ingerir o alimentar a sus crías con petróleo (Galán, 1996; Galán, 2014). En cuanto a los animales, los componentes tóxicos del petróleo pueden inhibir el metabolismo y acumularse a nivel de la membrana celular, alterando los intercambios celulares y modificando propiedades físicas del medio. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) y sus derivados, presentes en el petróleo, pueden penetrar en la cadena alimenticia y resultar altamente tóxicos, mutagénicos y carcinogénicos para microorganismos y sistemas de vida superior, incluidos los humanos (Samanta *et al.*, 2002). Además, la contaminación petrolera en el suelo puede asfixiar las raíces y reducir la vigorosidad de la vegetación, incluso provocar su desaparición (Bravo, 2005). Los derrames de petróleo no se limitan a los

hidrocarburos, sino que también incluyen productos orgánicos derivados de su transformación. Los HAP y sus metabolitos pueden afectar estructuras y funciones a nivel celular y subcelular (Kolb & Harms, 2000). La inhalación de vapores de petróleo puede ser especialmente peligrosa, ya que estos vapores se absorben rápidamente a través de los pulmones y pueden causar daños en el sistema nervioso central (Salguero, 2003).

En el suelo, el petróleo puede eliminar la vegetación debido a sus propiedades fitotóxicas (Wetzel & Werner, 1995; Chaineau *et al.*, 2000), inhibiendo el crecimiento vegetativo y reduciendo la biomasa. La presencia de fracciones solubles en agua de los hidrocarburos derramados o sus productos de degradación puede resultar tóxica para las plantas, afectando su desarrollo y germinación. La exposición a concentraciones altas de petróleo puede inhibir el crecimiento vegetativo y reducir la biomasa de diversas especies de plantas. (Neff *et al.*, 2000). También existe un componente mecánico que afecta la textura del suelo. El aumento efectivo de la viscosidad, por pérdida de los componentes volátiles y solubles a medida que transcurre el tiempo, ejercería un efecto negativo debido al aumento de la compactación sobre el terreno afectado. Sin embargo, se reconoce que para ciertas proporciones de petróleo en suelos con laboreo se han observado mejoramientos en propiedades del terreno tales como disminución de la salinidad y sodicidad (Luque *et al.*, 1998).

Teniendo en cuenta las características del suelo patagónico, se estudió la incidencia de las fracciones solubles en agua de petróleo sobre muestras de suelo preparado en el laboratorio en partes iguales de arcilla/arena. A dicho suelo se lo contaminó con distintas proporciones de petróleo y se lo mezcló con los materiales híbridos obtenidos, observando en cada caso el efecto del petróleo y de las algas incluidas en los materiales híbridos, sobre la germinación y elongación de la raíz (ER) y del hipocótilo en la especie de

referencia, *Lactuca sativa* L. (L), la cual es una planta herbácea provista de raíz axonomorfa (**Figura 5.1.**), y en una especie ampliamente distribuida en la región patagónica, *Grindelia chiloensis* (G), que se corresponde con un subarbusto psamófilo de hasta un metro de altura, endémico de la Patagonia, que es frecuente en suelos arenosos principalmente en la costa atlántica y en suelos modificados (Arce & González, 2000).

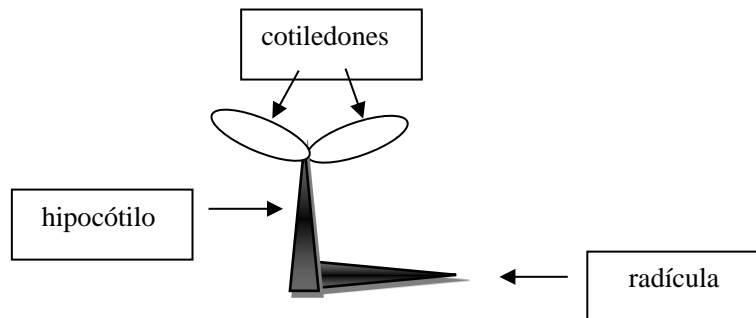


Figura 5.1. Esquema de plántula de *Lactuca sativa* L.

5.4. Ensayos de toxicidad

Los ensayos de toxicidad consisten en exponer a un grupo seleccionado de organismos a distintas concentraciones de una muestra durante un determinado período de tiempo, incluyen la utilización de unos pocos organismos con sensibilidad limitada, como por ejemplo algas, plantas y animales invertebrados. Estos ensayos biológicos son herramientas de diagnóstico adecuadas para determinar el efecto de agentes físicos y químicos sobre organismos de prueba, bajo condiciones experimentales específicas y controladas; incluyendo los hidrocarburos (Plaza *et al.*, 2005). Estos efectos pueden ser tanto de inhibición como de magnificación, evaluados por la reacción de los organismos, tales como muerte, crecimiento, proliferación, multiplicación, cambios morfológicos, fisiológicos o histológicos. A pesar del limitado alcance de la información proveniente de los ensayos de toxicidad para su extrapolación a escala ambiental, los estudios con organismos en

laboratorio, en condiciones controladas y estandarizadas para la evaluación de respuestas, vienen siendo la fuente de información predominante para la evaluación ecológica de los efectos de los contaminantes tóxicos (Fernández *et al.*, 2005). Los ensayos de toxicidad también se han utilizado para realizar el seguimiento de las tareas de biorremediación (Dorn, *et al.*, 2000).

El bioensayo con semillas es un ensayo estático de toxicidad aguda, simple, rápido y económico que permite determinar la toxicidad de sustancias solubles en agua (IRAM 29114). El período de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula son etapas de gran sensibilidad frente a factores externos, porque ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que una sustancia tóxica puede alterar la supervivencia y/o el desarrollo de la plántula. La evaluación del efecto en la ER y del hipocótilo permite estimar el efecto tóxico de compuestos solubles presentes en concentraciones tan bajas que no son suficientes para inhibir la germinación, pero que sí pueden retardar o inhibir completamente los procesos de ER o del hipocótilo.

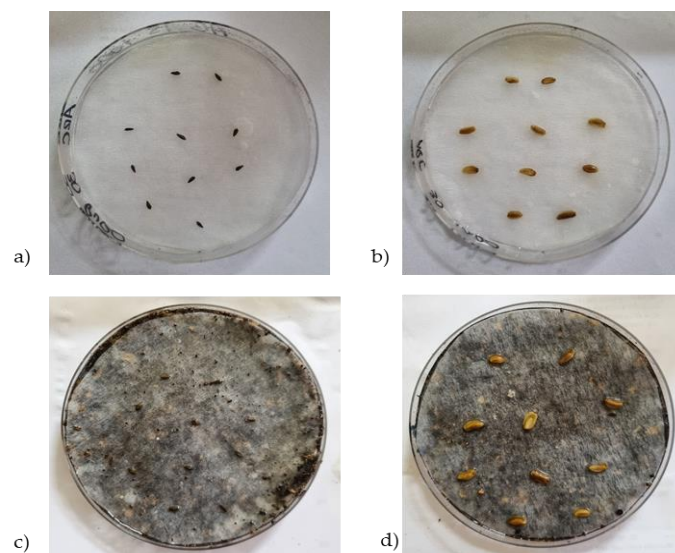


Figura 5.2. Siembra sobre el elutriado con semillas de a) L, b) G y método directo con semillas de c) L d) G

El bioensayo de toxicidad se desarrolló siguiendo la norma IRAM 29114 sobre el elutriado (**Figura 5.2.a.b.**) Además, se realizó el método directo, (**Figura 5.2.c.d**), según las indicaciones Plaza *et al.* 2005 y Sirit *et al.* 2008, detallado en el **Capítulo 2**. En la **Figura 5.3**. se muestran los esquemas del método directo y del método sobre el elutriado.

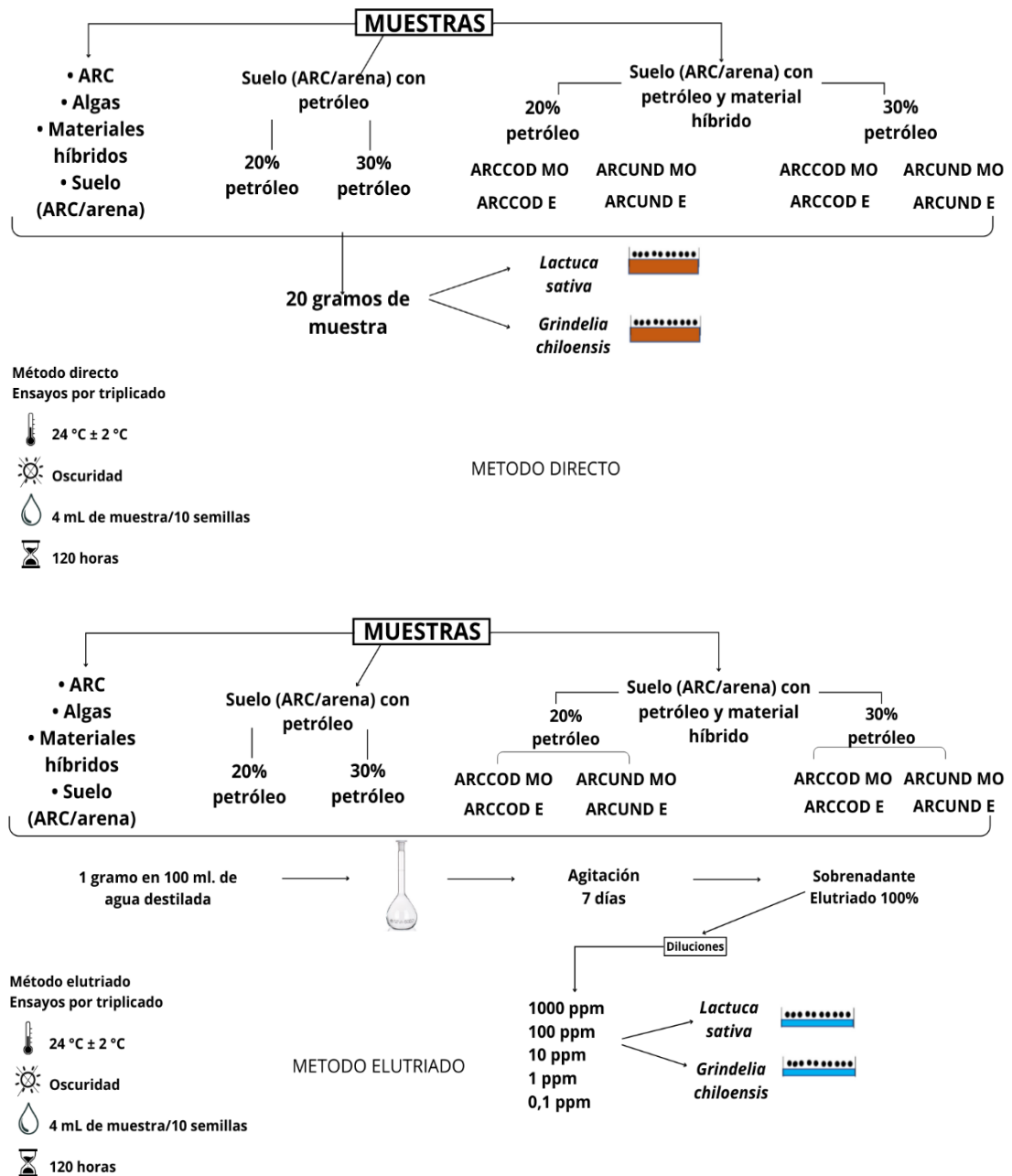


Figura 5.3. Esquema de trabajo método directo y método sobre el elutriado, muestras y semillas empleadas.

Para esta tesis se realizaron ensayos preliminares de toxicidad sobre los materiales de partida, arcilla (ARC), *Codium fragile* (COD), *Undaria pinnatifida* (UND) y suelo (partes iguales ARC/arena). De esta manera se obtuvieron valores de referencia para comparar posteriormente la toxicidad en muestras de suelo contaminado con petróleo antes y después del agregado de los materiales híbridos. Los materiales y métodos se encuentran detallados en el **Capítulo 2**.

Para realizar las comparaciones adecuadas, los resultados obtenidos se expresaron como el porcentaje de la germinación relativa de semillas (GRS), el crecimiento relativo de la radícula (CRR) y el índice de germinación (IG), permitiendo establecer tres niveles de fitotoxicidad: severa, moderada y baja. De acuerdo con Varnero *et al.*, 2007; Walter *et al.*, 2006; Tiquia, 2000 se utilizaron las siguientes ecuaciones 9, 10 y 11:

$$GRS = \frac{\text{Número de semillas germinadas con la muestra}}{\text{Número de semillas germinadas en el testigo}} \times 100 \quad (9)$$

$$CRR = \frac{\text{Longitud promedio de la radícula con la muestra}}{\text{Longitud promedio de la radícula en el testigo}} \times 100 \quad (10)$$

$$IG = \frac{GRS \times CRR}{100} \quad (11)$$

5.4.1. Ensayos de toxicidad sobre los materiales de partida

En la **Tabla 5.1**. se observan los valores del índice de germinación (IG) obtenidos en los ensayos sobre el elutriado (caso más severo, concentración 1000 ppm), realizados sobre muestras de ARC, COD, UND y suelo con semillas de L y G. Estos valores permiten tener una referencia de la posible toxicidad de

los materiales de partida para obtener los materiales híbridos utilizados como sorbentes de petróleo en suelos contaminados.

Índice/Muestra	ARC	COD	UND	Suelo (ARC/Arena)
IG con <i>Lactuca sativa</i> L.	57,48±1,90	76,65±1,80	78,61±2,00	71,23±3,20
IG con <i>Grindelia chilensis</i>	55,51±2,10	77,74±3,00	79,15±2,90	71,59±4,90

Tabla 5.1. IG para ARC, COD, UND y Suelo

Los suelos patagónicos presentan un alto contenido de limo y arcillas y una baja proporción de materia orgánica y humedad, como consecuencia de la erosión eólica y las bajas precipitaciones (Simeoni, 2008). Para este ensayo se utilizó como suelo de referencia y control una mezcla preparada en el laboratorio realizada con arena y arcilla de la región, sus características se muestran en la **Tabla 5.2.**

Parámetro	Valor
pH	7,4±0,2
Conductividad, $\mu\text{S}/\text{cm}$	6,0±0,2
Na^+ , meq/L	3,25±0,30
K^+ , meq/L	0,11±0,01
Ca^{+2} y Mg^{+2} , meq/L	<0,11
Materia orgánica, % p/p(seco)	0,020±0,005
Fe^{+3} , g/kg	2,5±0,2
Fe^{+2} , g/kg	0,4±0,1

Tabla 5.2. Características del Suelo

El IG constituye un indicador de la interacción de los factores que promueven o inhiben la germinación, así como de los respectivos factores que favorecen o impiden el crecimiento de la radícula. De los resultados obtenidos se puede inferir que poseen toxicidad moderada (IG entre 50 y 80). Los índices más favorables en las algas se podrían atribuir a la acción sinérgica de varios

de los componentes de estas, los cuales les confieren propiedades fitoactivas tales como, una mayor tolerancia a estrés térmico, osmótico, e hídrico, mayor resistencia a enfermedades, promoción de la germinación y del crecimiento (Jolivet *et al.*, 1991). Se sabe que debido a la composición de las algas son utilizadas como biofertilizantes y bioestimulantes (Pérez-Madruga *et al.*, 2020), o para fabricar compost, acondicionadores de suelos (Vallini *et al.*, 1993,) y como enmienda orgánica para cultivos (Eyras, & Sar, 2003).

Las concentraciones de petróleo que se utilizaron para contaminar las muestras en el laboratorio fueron de 20% y 30% m/m, en las cuales se evidencia el efecto tóxico del mismo. Estas concentraciones surgieron de ensayos previos, donde a menores concentraciones no se observó disminución mayor al 50% en la germinación de las semillas, ni inhibición en más del 50% de la ER con respecto al control. En la **Tabla 5.3.** se muestran los IG obtenidos para los ensayos realizados sobre muestras de suelo (ARC/arena) contaminadas en el laboratorio con petróleo en concentraciones de 5% y 10% m/m. Se observó que la germinación no presenta diferencias significativas a bajas concentraciones de petróleo respecto al suelo control ($p>0,05$), tal como refieren otros autores (Baek *et al.*, 2004; Pernía *et al.*, 2018; Infante, & García, 2012; Maliszewska-Kordybach & Smreczak, 2000; Sirit *et al.*, 2008)

Indice/Muestra	Suelo + 5% Petróleo	Suelo + 10% Petróleo
IG con <i>Lactuca sativa</i> L.	68,08±1,90	66,64±3,10
IG con <i>Grindelia chilensis</i>	69,09±2,00	67,90±2,90

Tabla 5.3. IG para muestra de suelo contaminada con petróleo en concentraciones de 5% y 10%.

5.4.2. Ensayos de toxicidad sobre muestras contaminadas

Se pretende inferir la fitotoxicidad de las fracciones solubles en agua del petróleo en muestras de suelo contaminado con el mismo y tratado con un material híbrido sorbente. El ensayo de toxicidad se realizó con muestras de suelo artificial, preparado en el laboratorio con arcilla (50%) y arena (50%), del cual una porción fue contaminada con dos concentraciones de petróleo crudo, 20% m/m y 30% m/m. Otra porción fue contaminada con las mismas concentraciones de petróleo y mezclada con los materiales híbridos utilizados como sorbentes. La cantidad de material híbrido agregada se calculó en base a la capacidad de sorción de cada uno. Simultáneamente se realizó un control negativo con el suelo artificial no contaminado.

5.4.2.1 Ensayos de toxicidad con el material híbrido arcilla-*Codium fragile*

En la **Tabla 5.4.** se presentan los resultados de GRS, CRR, ER (mm) e IG obtenidos con el ensayo directo sobre suelo y sobre los elutriados (caso más severo, concentración 1000 ppm) con material híbrido ARCCOD E y ARCCOD MO, utilizando semillas de L y G. Se observa que en las muestras contaminadas con petróleo existe bajo o nulo crecimiento de la radícula y estas especies presentan mayor sensibilidad a sustancias fitotóxicas sobre el crecimiento radicular. Los valores de GRS y CRR obtenidos en las muestras contaminadas con 30% de petróleo, son también un indicador de la presencia de sustancias fitotóxicas. Se sabe que la disminución en el crecimiento de radícula de los bioensayos está relacionada con la presencia de metabolitos moderadamente fitotóxicos, incapaces en algunos casos, de impedir la germinación de las semillas, pero sí limitar el desarrollo de sus radículas. Con lo cual se aprecia que la inhibición en el crecimiento de la radícula es un indicador más sensible, en concordancia con otros autores (Varnero *et al.*, 2007; Tiquia, 2000).

	Contaminado 20%	Tratado ARCCOD E	Tratado ARCCOD MO	Contamina do 30%	Tratado ARCCOD E	Tratado ARCCOD MO
a1) Ensayo directo sobre suelo con semillas de <i>Lactuca sativa</i> L.						
GRS	82,76±1,00	100,00±2,20	96,55±1,90	48,27±1,00	96,60±3,00	93,10±2,70
CRR	50,99±1,00	75,20±2,20	85,92±1,90	0	78,07±3,00	89,84±2,70
ER	8,30±1,00	12,24±2,20	13,98±1,90	0	12,07±3,00	14,06±2,70
IG	42,79±1,00	75,99±2,20	82,95±1,90	0	75,38±3,00	83,65±2,70
a2) Ensayo directo sobre suelo con semillas de <i>Grindelia chilensis</i>						
GRS	88,46±3,00	100,00±2,00	103,84±4,00	50,00±1,00	96,50±2,00	103,81±2,00
CRR	49,05±3,00	70,81±2,00	75,49±4,00	0	73,00±2,00	79,08±2,00
ER	8,60±3,00	12,40±2,00	13,20±4,00	0	12,87±2,00	13,30±2,00
IG	43,39±3,00	76,12±2,00	83,77±4,00	0	77,20±2,00	89,60±2,00
b1) Ensayo sobre elutriados (1000 ppm) con semillas de <i>Lactuca sativa</i> L.						
GRS	87,72±2,00	94,74±2,60	94,73±2,50	49,10±1,70	84,20±2,30	87,70±2,60
CRR	61,30±2,00	76,29±2,60	80,70±2,50	24,50±1,70	85,01±2,30	82,40±2,60
ER	9,86±2,00	12,26±2,60	12,88±2,50	3,90±1,70	13,70±2,30	13,25±2,60
IG	53,81±2,00	73,58±2,60	76,45±2,50	12,06±1,70	71,06±2,30	72,39±2,60
b2) Ensayo sobre elutriados (1000 ppm) con semillas de <i>Grindelia chilensis</i>						
GRS	85,71±2,00	103,6±2,00	100,01±2,00	50,01±2,00	85,04±3,00	85,71±2,70
CRR	54,01±2,00	76,30±2,00	79,38±2,00	25,15±2,00	78,45±3,00	82,50±2,70
ER	10,75±2,00	14,01±2,00	14,06±2,00	3,80±2,00	14,50±3,00	15,20±2,70
IG	50,01±2,00	79,07±2,00	79,39±2,00	12,81±2,00	72,30±3,00	73,26±2,70

Tabla 5.4. Resultados de los ensayos de toxicidad en muestras de suelo contaminado con petróleo (20% y 30%) y tratado con sorbentes ARCCOD E y ARCCOD MO, realizados con semillas de L. y G. a) Ensayo directo sobre suelo y b) Ensayo sobre elutriados (1000 ppm).

5.4.2.1.1 Ensayos directos sobre el suelo

Los datos obtenidos muestran, en los ensayos directos sobre el suelo contaminado con 20%, una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) de la germinación de 17% en las semillas de L y 11,5% en las semillas de G, en comparación con el suelo utilizado como control negativo que presenta un valor de GRS de 100 %. En las muestras contaminadas con 20% de petróleo, luego de agregarles el material híbrido ARCCOD E se observó, un aumento

estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en el porcentaje de germinación del 17% con respecto a las muestras contaminadas sin ningún agregado con semillas de L y 11,55 % con semillas de G. (Figura 5.4, a). Con el agregado de material híbrido ARCCOD MO se observó un aumento en el porcentaje de germinación del 13,79 % con semillas de L y 15,38 % con semillas de G, respecto a la muestra contaminada sin ningún agregado.

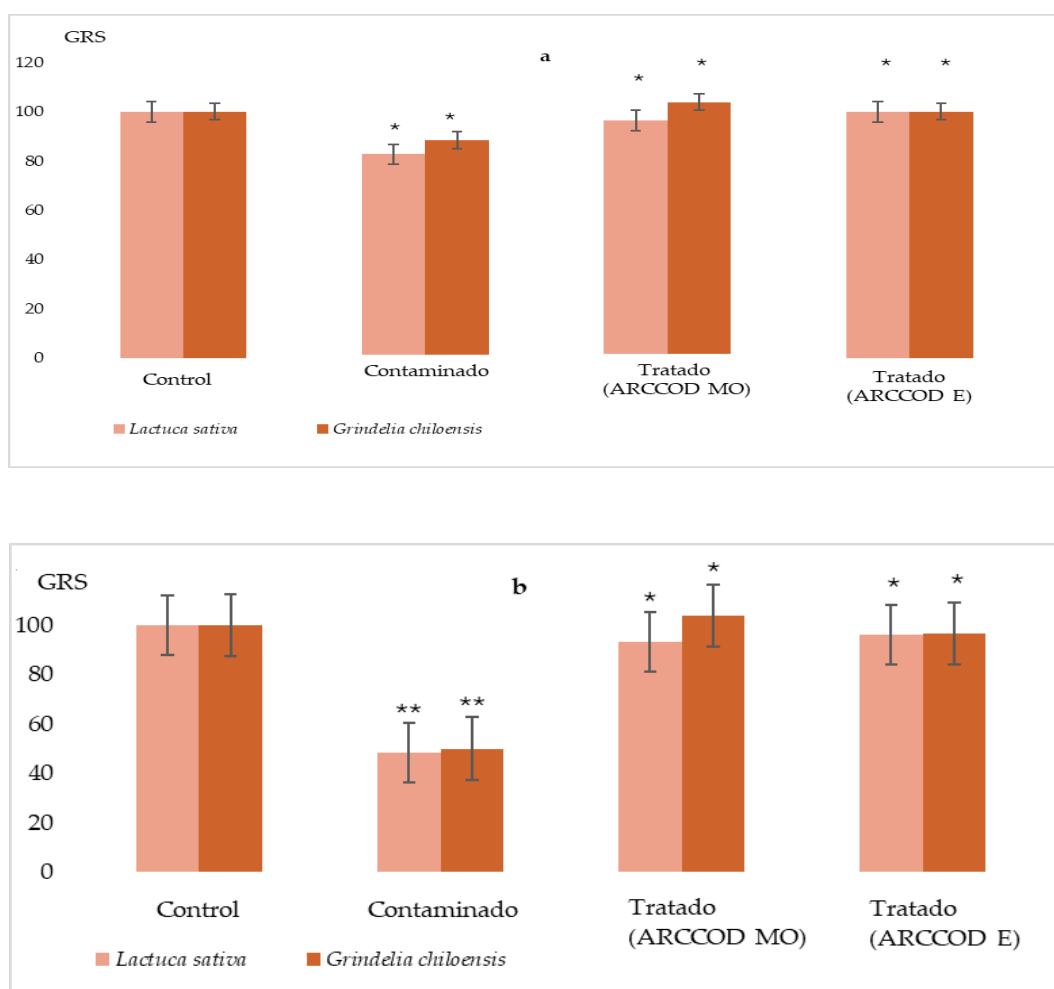


Figura 5.4. GRS para muestras de suelo control, contaminado con petróleo y tratado con sorbentes ARCCOD E y ARCCOD MO. Ensayo directo sobre suelo, a) 20% b) 30%. Diferencias significativas respecto al control: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$.

En las muestras contaminadas con 30% de petróleo, se observó una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,01$) de la germinación del

51,73% para L y 50% para G, en comparación con el suelo utilizado como control negativo (GRS=100%). En los ensayos realizados sobre las muestras contaminadas luego de agregarles ARCCOD E se produjo un aumento estadísticamente significativo ($p<0,01$) de la germinación del 48,33% con semillas de L y 46,5% con semillas de G. Con el material híbrido ARCCOD MO el aumento fue de 44,83% con semillas de L y 53,81% con semillas de G. (**Figura 5.4, b**). La comparación se establece con relación al suelo contaminado sin el agregado de los materiales híbridos.

Para las dos concentraciones de petróleo ensayadas, no se presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la semilla utilizada o a los tratamientos con materiales híbridos ARCCOD E y ARCCOD MO entre sí ($p>0,05$). Sin embargo, si existe diferencia estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para el suelo tratado con ambos materiales híbridos, respecto al suelo contaminado con 20% de petróleo ($p<0,05$) y 30% de petróleo ($p<0,01$).

Al integrar los valores de GRS y CRR para obtener los IG, para el ensayo directo sobre suelo con ambas semillas, se observa una alta toxicidad (valores menores a 50%) en el suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo. Los valores de IG se muestran en la **Tabla 5.5**. Los índices de germinación indicarían que existe una relación inversa entre la concentración de la fracción soluble en agua de petróleo con el porcentaje de germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas, ya que a medida que aumenta la concentración de las fracciones solubles en agua de petróleo se observa una disminución en la germinación de las semillas y es menor el crecimiento de las plántulas de L y G (Blasetti & Katusich, 2021).

Para las muestras contaminadas con petróleo y que contienen los materiales híbridos se observó toxicidad moderada (entre 50 y 80%) para ambas semillas, cuando el material híbrido se preparó en estufa y sin efecto tóxico (valores mayores a 80%) cuando fue preparado en microondas, diferencia atribuible a la técnica de preparación de los materiales híbridos.

Muestras	Fracción de petróleo soluble (g/L)	IG
Contaminado 20%, L	2,8±0,1	42,79±1,00
Contaminado 20%, G	2,8±0,1	43,39±3,00
Contaminado 30%, L	4,2±0,2	0
Contaminado 30%, G	4,2±0,2	0
Tratado (20%) ARCCOD E, L	0,30±0,01	75,99±2,20
Tratado (20%) ARCCOD E, G	0,30±0,01	76,12±2,00
Tratado (20%) ARCCOD MO, L	0,12±0,01	82,95±1,90
Tratado (20%) ARCCOD MO, G	0,12±0,01	83,77±4,00
Tratado (30%) ARCCOD E, L	1,65±0,10	75,38±3,00
Tratado (30%) ARCCOD E, G	1,65±0,10	77,2±2,0
Tratado (30%) ARCCOD MO, L	1,5±0,1	83,65±2,70
Tratado (30%) ARCCOD MO, G	1,5±0,1	89,6±2,0

Tabla 5.5. IG y fracción soluble en agua de petróleo para el ensayo directo sobre suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo, suelo contaminado y tratado con los materiales híbridos, ARCCOD E y ARCCOD MO, realizados con semillas de L y G.

5.4.2.1.2 Ensayos sobre elutriados

En los ensayos sobre los elutriados de las muestras con 20% de petróleo (**Figura 5.5. a**), se observó, con las semillas de L, una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) de la germinación, con respecto al suelo control (GRS=94,7%), del 7% a mayor concentración de este. En las muestras de suelo contaminadas a las que se les incorporó el material híbrido (ARCCOD MO y ARCCOD E) se observó un aumento estadísticamente significativo

($p < 0,05$) de 7%, para las muestras más concentradas, comparadas con el suelo contaminado.

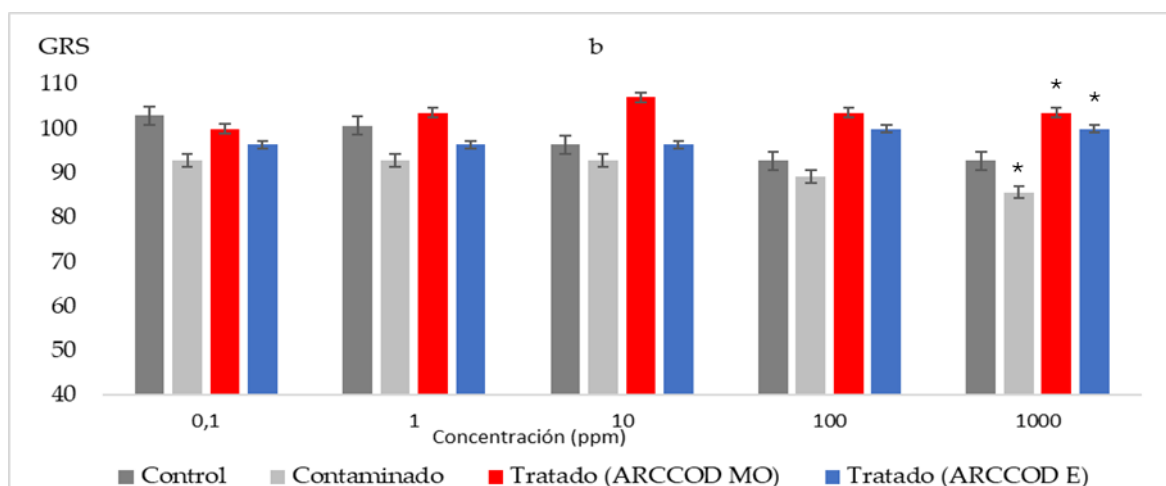
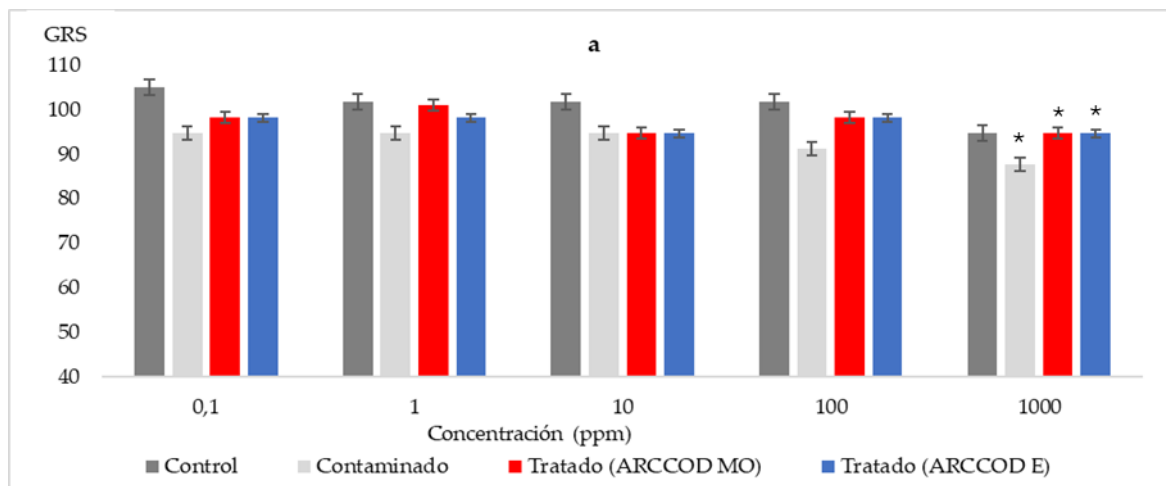


Figura 5.5. GRS para el elutriado de las muestras de suelo control, contaminado con petróleo (20%) y tratado con sorbentes (ARCCOD E y ARCCOD MO) sobre la germinación de semillas de L (a) y G (b). * Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control, ($p < 0,05$)

En los mismos ensayos con semillas de G (**Figura 5.5. b**), se observó una disminución de la germinación (estadísticamente significativa, $p < 0,05$), con respecto al suelo control (GRS=92,8%), del 7,09%. Comparando las muestras contaminadas con aquellas a las que se les agregaron los materiales híbridos, la germinación aumentó un 14,30% para las muestras que contenían ARCCOD

MO y un 17,89% para las muestras que contenían ARCCOD E, (diferencia estadísticamente significativa $p < 0,05$).

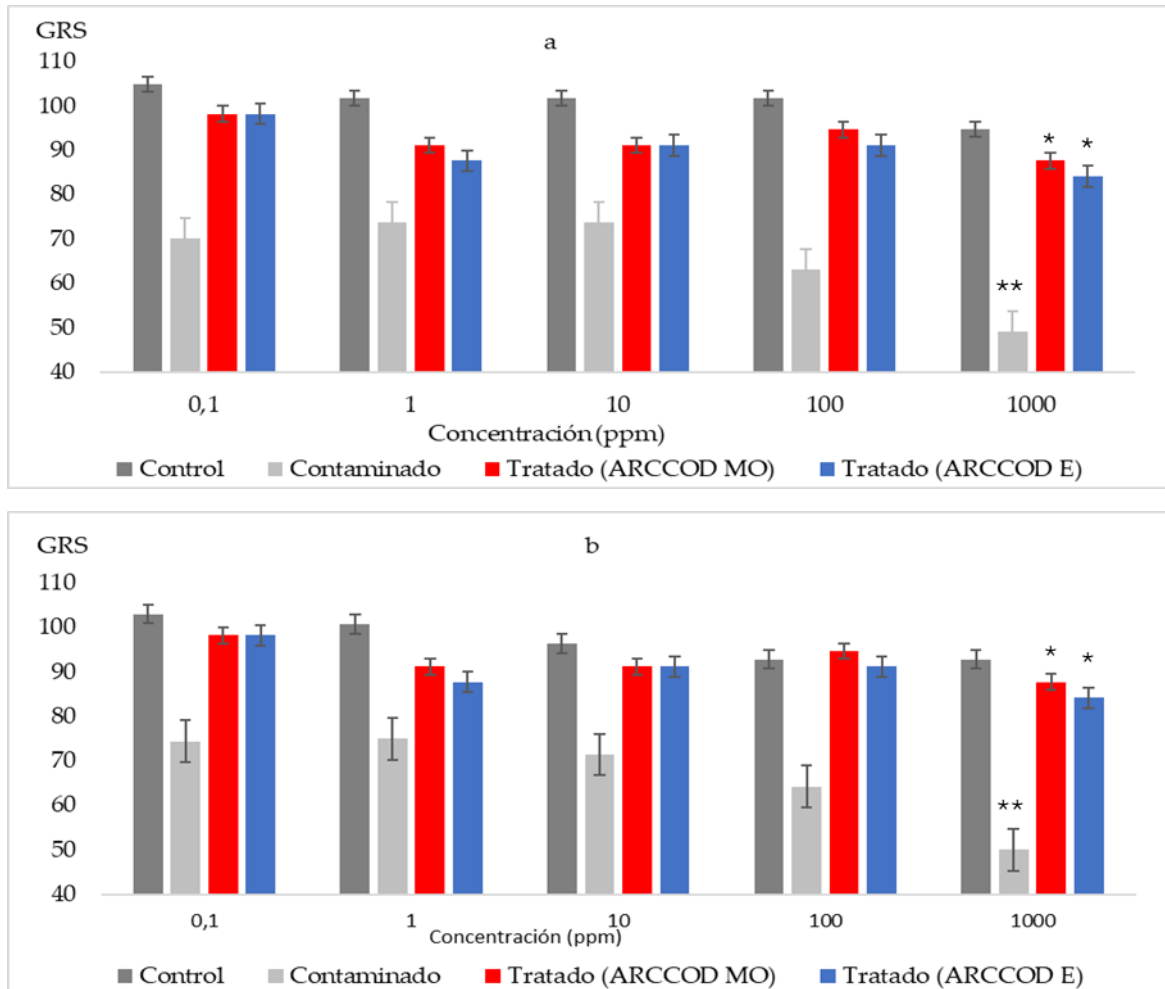


Figura 5.6. GRS para el elutriado de las muestras de suelo control, contaminado con petróleo (30%) y tratado con sorbentes (ARCCOD E y ARCCOD MO) sobre la germinación de semillas de L (a) y G (b). Diferencias significativas respecto al control (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

En todos los casos, en las distintas concentraciones de los elutriados de las muestras que contienen material híbrido, se observó un aumento de la germinación en comparación con las muestras contaminadas con petróleo. En los elutriados más concentrados, ensayados con semillas de G se observó un aumento de la germinación, incluso mayor que en el suelo control (GRS=92,8%).

En los elutriados de las muestras contaminadas con 30% de petróleo, **Figura 5.6.** para los extractos más concentrados, la disminución de la germinación observada fue similar para ambas semillas, 45,6 % con semillas de L y 42,79 % con semillas de G, comparados con los elutriados del suelo control (GRS 94,7 % L y 92,8 % con semillas de G), presentando diferencia estadísticamente muy significativa ($p < 0,01$).

En la **Tabla 5.6.** se muestran los valores de IG y de fracción soluble en agua de petróleo, para los elutriados más concentrados (1000 ppm) de las muestras analizadas con semillas de L y G, donde nuevamente se observa una relación inversa entre ellos.

Muestra	Fracción soluble de petróleo (mg/L)	IG
Contaminado 20%, L	0,28±0,10	53,81±2,00
Contaminado 20%, G	0,28±0,10	50,01±2,00
Contaminado 30%, L	0,42±0,20	12,06±1,50
Contaminado 30%, G	0,42±0,20	12,81±2,00
Tratado (20%) ARCCOD E, L	0,0030±0,0005	73,58±2,60
Tratado (20%) ARCCOD E, G	0,0030±0,0005	79,07±2,00
Tratado (20%) ARCCOD MO, L	0,0012±0,0005	76,45±2,50
Tratado (20%) ARCCOD MO, G	0,0012±0,0005	79,39±2,00
Tratado (30%) ARCCOD E, L	0,010±0,001	71,06±2,30
Tratado (30%) ARCCOD E, G	0,010±0,001	72,3±3,00
Tratado (30%) ARCCOD MO, L	0,0147±0,002	72,39±2,60
Tratado (30%) ARCCOD MO, G	0,0147±0,002	73,26±2,70

Tabla 5.6. IG y fracción soluble en agua de petróleo para los elutriados (1000 ppm) de suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo, suelo contaminado y tratado con los materiales híbridos, ARCCOD E y ARCCOD MO, realizados con semillas de L y G.

Los valores de GRS de los elutriados de las muestras contaminadas con 30% de petróleo, y con el agregado del material híbrido fueron comparados con el GRS de las muestras de suelo contaminado (diferencia estadísticamente

significativa, $p < 0,01$). Con el agregado de ARCCOD E el aumento del porcentaje de germinación observado fue del 35,1% y 35,03% para semillas de L y G respectivamente. Con el agregado de ARCCOD MO, se observó un aumento de la germinación de 38,6% con L y 35,7% con G.

De acuerdo con los valores de IG obtenidos en los ensayos realizados sobre el elutriado, se observó que solo las muestras contaminadas con 30% de petróleo presentan toxicidad elevada (valores menores a 50), y aquellas que fueron contaminadas con 20% de petróleo y las que contienen material híbrido presentan toxicidad moderada (valores entre 50 y 80), con ambas semillas.

5.4.2.2 Ensayos con el material híbrido arcilla- *Undaria pinnatifida*

En la **Tabla 5.7.** se presentan los resultados de GRS, CRR, ER (mm) e IG.

	Contaminado 20%	Tratado ARCUND E	Tratado ARCUND MO	Contaminado 30%	Tratado ARCUND E	Tratado ARCUND MO
a1) Ensayo directo sobre suelo con semillas de <i>Lactuca sativa</i> L.						
GRS	82,76±1,00	100,00±2,00	96,55±2,00	48,27±1,00	96,56±1,00	93,10±2,00
CRR	51,70±1,00	87,36±2,00	101,24±2,00	0	87,01±1,00	99,55±2,00
ER	8,30±1,00	14,22±2,00	16,48±2,00	0	14,17±1,00	16,21±2,00
IG	42,79±1,00	87,36±2,00	97,75±2,00	0	84,01±1,00	92,69±2,00
a2) Ensayo directo sobre suelo con semillas de <i>Grindelia chilensis</i>						
GRS	88,46±2,00	100,30±2,00	96,20±3,00	50,00±1,00	96,60±2,00	96,55±2,00
CRR	49,01±2,00	80,14±2,00	104,18±3,00	0	87,30±2,00	101,06±2,00
ER	8,60±2,00	14,50±2,00	16,90±3,00	0	14,22±2,00	16,45±2,00
IG	43,39±2,00	80,39±2,00	100,23±3,00	0	84,34±2,00	97,57±2,00
b1) Ensayo sobre elutriados (1000 ppm) con semillas de <i>Lactuca sativa</i> L.						
GRS	87,72±2,00	98,25±2,00	94,74±2,00	49,10±1,50	84,21±2,30	87,72±2,20
CRR	61,34±2,00	81,82±2,00	86,06±2,00	24,56±1,50	89,41±2,30	90,79±2,20
ER	9,86±2,00	13,15±2,00	13,83±2,00	3,40±1,50	14,37±2,30	14,59±2,20
IG	53,81±2,00	80,39±2,00	81,53±2,00	12,06±1,50	75,30±2,30	79,64±2,20
b2) Ensayo sobre elutriados (1000 ppm) con semillas de <i>Grindelia chilensis</i>						
GRS	85,71±2,00	97,89±2,00	94,70±1,00	50,01±2,00	87,72±2,00	87,68±2,10
CRR	58,34±2,00	86,93±2,00	87,11±1,00	25,61±2,00	96,89±2,00	96,15±2,10
ER	10,75±2,00	13,97±2,00	14,00±1,00	3,80±2,00	15,57±2,00	15,45±2,10

IG	50,01±2,00	85,10±2,00	82,50±1,00	12,81±2,00	84,99±20	84,30±2,10
----	------------	------------	------------	------------	----------	------------

Tabla 5.7. Resultados de los ensayos de toxicidad en muestras de suelo contaminado con petróleo (20% y 30%) y tratado con sorbentes ARCUND E y ARCUND MO, realizados con semillas de L y G. a) Ensayo directo sobre suelo y b) Ensayo sobre elutriados (1000 ppm).

Los valores obtenidos con el ensayo directo sobre suelo y ensayo sobre elutriados (caso más severo, concentración 1000 ppm) utilizando semillas de L y G, y con material híbrido ARCUND E y ARCUND MO. Similar a lo que ocurre con el material híbrido preparado con COD, las muestras contaminadas con petróleo poseen bajo o nulo crecimiento de las plántulas y en aquellas muestras que poseen el material híbrido agregado presentan una mejora en los resultados de GRS, CRR e IG, atribuyendo esta condición a las propiedades del alga y del material híbrido en general.

5.4.2.2.1 Ensayos directos sobre el suelo

En los ensayos directos, realizados con las muestras de suelo contaminadas con petróleo (20%) con el agregado del material híbrido ARCUND E se observó un aumento de la germinación de semillas de L del 20% y 13% con semillas de G. Con el agregado de ARCUND MO el aumento de la germinación fue 16% y 9 % con semillas de L y G respectivamente (**Figura 5.7. a**). En ambos casos se comparó con las muestras de suelo contaminado sin agregado de material híbrido.

En las muestras contaminadas con 30% de petróleo luego de agregarles ARCUND E se observó un aumento de la germinación del 100 % con semillas de L y 93% con semillas de G. Con el material híbrido ARCUND MO el aumento fue de 93% con ambas semillas (**Figura 5.7. b**). En comparación con el suelo contaminado sin agregado de material híbrido.

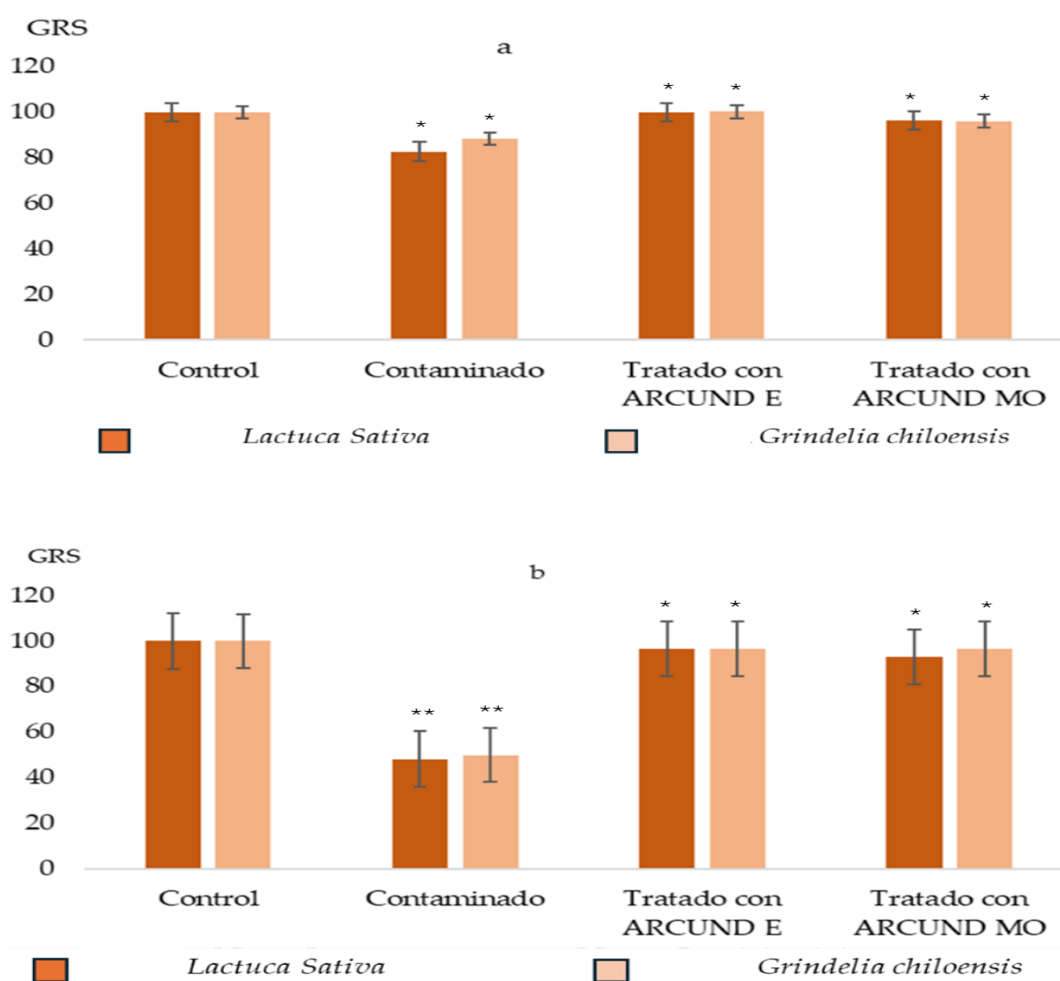


Figura 5.7. GRS para muestras de suelo control, contaminado con petróleo y tratado con sorbentes ARCUND E y ARCUND MO. Ensayo directo sobre suelo, a) 20% b) 30%. Diferencias significativas respecto al control (* p < 0,05, ** p < 0,01).

Existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para el suelo tratado con ambos materiales híbridos, respecto al suelo contaminado con 20% petróleo ($p < 0,05$) y con 30% de petróleo ($p < 0,01$). Para las dos concentraciones de petróleo ensayadas, no se presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la semilla utilizada o a los tratamientos con materiales híbridos ARCUND E y ARCUND MO entre sí ($p > 0,05$).

Al integrar los valores de GRS y CRR para obtener los IG, para el ensayo directo sobre suelo con ambas semillas, se observa una alta toxicidad (valores menores a 50%) en el suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo. Los valores del IG para el ensayo directo sobre suelo con ambas semillas indican una alta toxicidad (valores menores a 50%) en el suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo y toxicidad nula (valores mayores a 80), para todas las muestras que contienen materiales híbridos.

Muestras	Fracción de petróleo soluble (mg/L)	IG
Contaminado 20%, L	2,8±0,1	42,79±1,00
Contaminado 20%, G	2,8±0,1	43,39±2,00
Contaminado 30%, L	4,2±0,2	0
Contaminado 30%, G	4,2±0,2	0
Tratado (20%) ARCUND E, L	0,30±0,01	87,36±2,00
Tratado (20%) ARCUND E, G	0,30±0,01	80,39±2,00
Tratado (20%) ARCUND MO, L	0,12±0,01	97,75±2,00
Tratado (20%) ARCUND MO, G	0,12±0,01	100,23±3,00
Tratado (30%) ARCUND E, L	1,65±0,10	84,01±1,00
Tratado (30%) ARCUND E, G	1,65±0,10	84,34±2,00
Tratado (30%) ARCUND MO, L	1,5±0,1	92,69±2,00
Tratado (30%) ARCUND MO, G	1,5±0,1	97,57±2,00

Tabla 5.8. IG y fracción soluble en agua de petróleo para el ensayo directo sobre suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo, suelo contaminado y tratado con los materiales híbridos, ARCUND E y ARCUND MO, realizados con semillas de L y G.

En la **Tabla 5.8.** se comparan los valores de IG obtenidos con las fracciones solubles en agua de petróleo para cada muestra ensayada. Los valores de IG indicarían la influencia en la toxicidad de las fracciones solubles de petróleo con respecto a la germinación de las semillas y al crecimiento de las plántulas.

5.4.2.2.2 Ensayos sobre elutriados.

En la **Figura 5.8.** se observan los valores de GRS obtenidos en los elutriados de las muestras con 20% de petróleo a las que se le incorporó el material híbrido. Existe un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) de la germinación de las semillas de L del 8% con ARCUND MO y 12% con ARCUND E, para las muestras más concentradas, comparadas con el suelo contaminado. En los mismos ensayos con semillas de G se observó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) de la germinación del 11% cuando se utilizó ARCUND MO y 14% con ARCUND E.

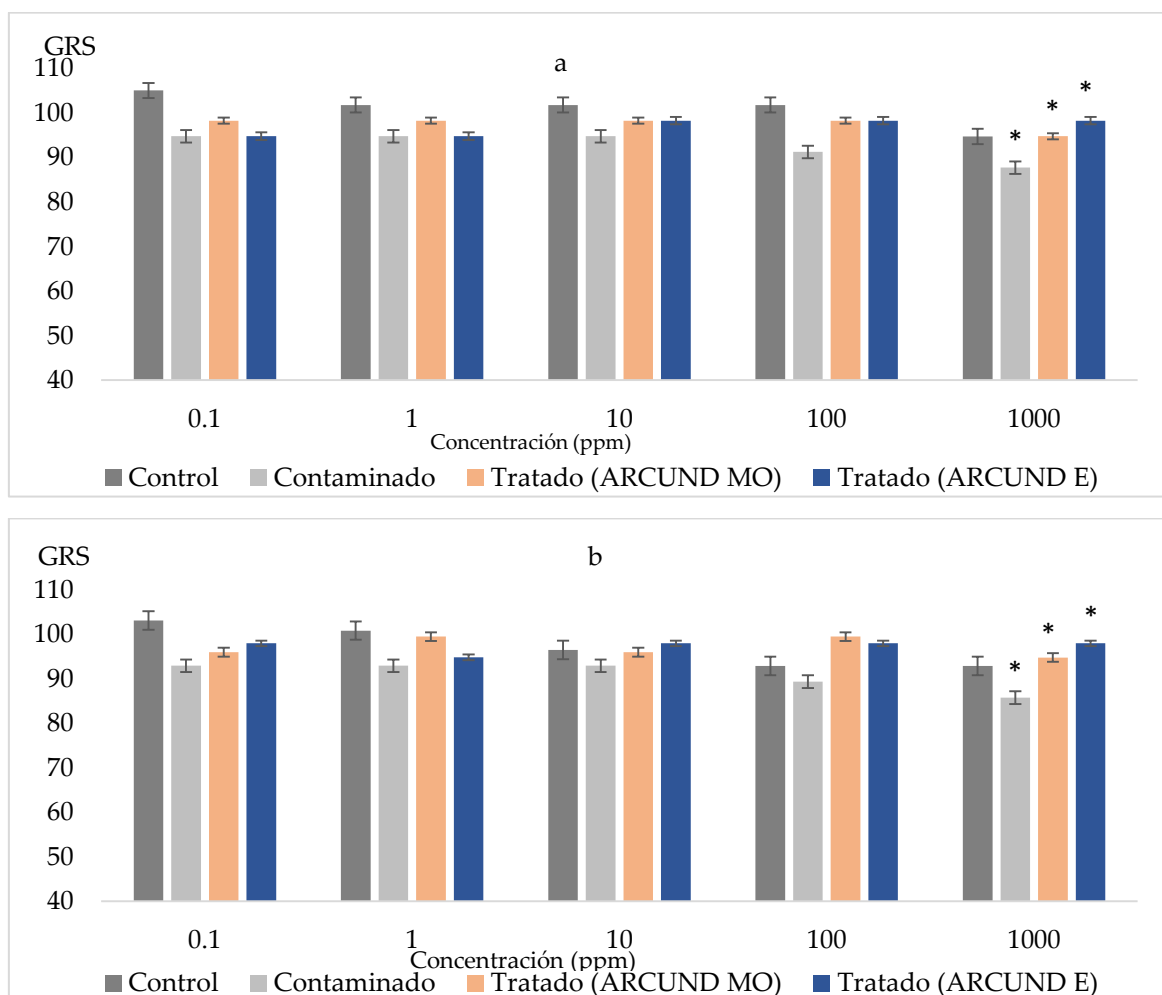


Figura 5.8. Porcentaje de la germinación relativa (GRS) para el elutriado de las muestras de suelo control, contaminado con petróleo (20%) y tratado con sorbentes (ARCCOD E y ARCCOD MO) sobre la germinación de semillas de L **(a)** y G **(b)**. * Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control, ($p < 0,05$)

En los elutriados de las muestras contaminadas con 30% de petróleo (Figura 5.9), con el agregado del material híbrido comparadas con las muestras contaminadas, para los extractos más concentrados, se observó un aumento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) de la germinación de semillas de L (Figura 5.9. a), del 72% y 79% con ARCUND E y ARCUND MO respectivamente. En el caso de las semillas de G (Figura 5.9. b), el aumento fue del 75% con ambos materiales híbridos.

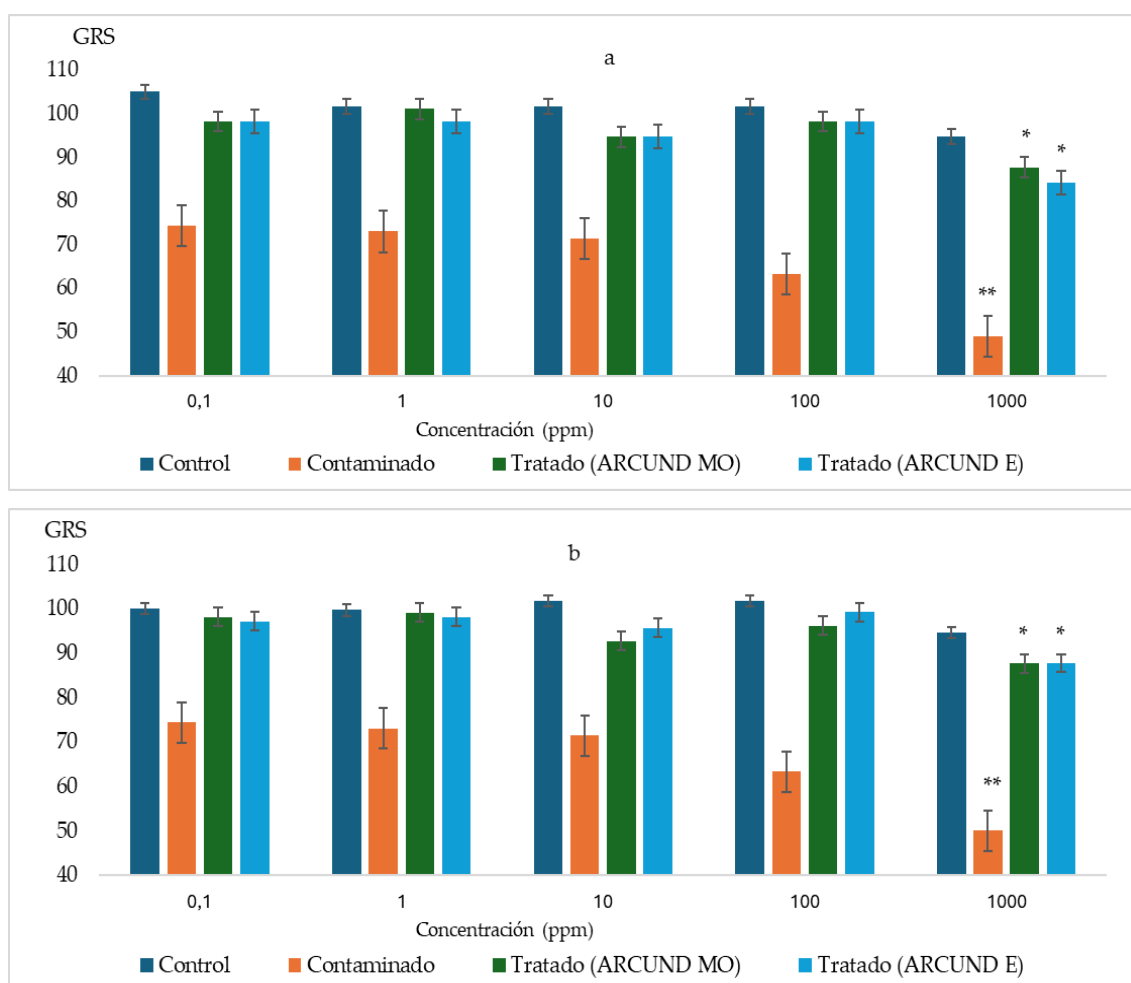


Figura 5.9. Porcentaje de la germinación relativa (GRS) para el elutriado de las muestras de suelo control, contaminado con petróleo (30%) y tratado con sorbentes (ARCCOD E y ARCCOD MO) sobre la germinación de semillas de L (a) y G (b). * Diferencias estadísticamente significativas con respecto al control, ($p < 0,05$)

En la **Tabla 5.9.** se muestran los valores de IG para los elutriados más concentrados (1000 ppm) de las muestras analizadas con semillas de L y G. En este ensayo se observaron diferencias en los IG según la semilla utilizada., siendo más sensible la semilla de L.

Muestras	Fracción de petróleo soluble (mg/L)	IG
Contaminado 20%, L	0,28±0,10	53,81±2,00
Contaminado 20%, G	0,28±0,10	50,01±2,00
Contaminado 30%, L	0,42±0,20	12,06±1,50
Contaminado 30%, G	0,42±0,20	12,81±2,00
Tratado (20%) ARCUND E, L	0,0030±0,0005	80,39±2,00
Tratado (20%) ARCUND E, G	0,0030±0,0005	85,1±2,00
Tratado (20%) ARCUND MO, L	0,0012±0,0005	81,53±2,00
Tratado (20%) ARCUND MO, G	0,0012±0,0005	82,5±1,0
Tratado (30%) ARCUND E, L	0,010±0,001	75,3±2,3
Tratado (30%) ARCUND E, G	0,010±0,001	84,99±2,00
Tratado (30%) ARCUND MO, L	0,0147±0,0020	79,64±2,20
Tratado (30%) ARCUND MO, G	0,0147±0,0020	84,3±2,1

Tabla 5.9. IG y fracción soluble en agua de petróleo para los elutriados (1000 ppm) de suelo contaminado con 20% y 30% de petróleo, suelo contaminado y tratado con los materiales híbridos, ARCUND E y ARCUND MO, realizados con semillas de L y G.

En todos los ensayos, con los datos obtenidos, IG menor a 50% con el método directo, en muestra contaminadas con 20% y 30% de petróleo, IG entre 50 y 80 con el ensayo sobre el elutriado para las mismas muestras, se puede inferir que el método directo es más sensible para medir toxicidad en suelos contaminados con hidrocarburos, como reportan otros autores (Sirit *et al.*, 2008; Freitas *et al.*, 2012). Con respecto a las semillas utilizadas los ensayos con G no presetaron diferencias significativas ($p > 0,05$) de GRS, ER e IG, con respecto a la especie de referencia, L, lo que permitiría utilizarla como una especie para control de fitotoxicidad por su tolerancia en suelos contaminados con petróleo (Ciano *et al.*, 2001).

En los ensayos realizados en el suelo contaminado con el agregado de los materiales híbridos, no se observaron grandes diferencias en las técnicas de calentamiento del material híbrido sobre los índices analizados, o sobre el crecimiento de la radícula. Lo que indicaría que el calentamiento con estufa o con microondas en relación con la toxicidad, no sería un factor determinante en la toxicidad o en la mejora del suelo contaminado.

El aumento en el porcentaje de germinación, en el crecimiento de la radícula y por la integración de estos, en el IG de las muestras contaminadas que estuvieron en contacto con los materiales híbridos se debería, no solo a la sorción del contaminante por parte del material, sino también al aporte de nutrientes por parte del alga utilizada, como nitrógeno, fósforo, potasio y oligoelementos, que le confiere características propias para ser utilizada directamente en el suelo como fertilizante natural o como materia prima para elaborar productos (Gibilisco *et al.*, 2020).

Al comparar los datos obtenidos y luego de realizar la prueba de Tukey se observan diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) en las muestras contaminadas al 30% con petróleo presentan respecto al control y en las muestras tratadas con los materiales híbridos respecto al suelo contaminado. Diferencias significativas ($p < 0,05$), según el método utilizado, ya sea directo o elutriado. Con respecto a la semilla y al tipo de alga utilizada en la preparación del material híbrido no se observan diferencias significativas ($p > 0,05$).

5.5. Bibliografía

Arce, M.E.; González, S.A. (2000). Patagonia: Un jardín natural. Argentina. https://books.google.com.ar/books/about/Patagonia_un_jard%C3%ADn_natural.html?id=X1JgAAAAMAAJ&redir_esc=y

Baek, K. H., Kim, H. S., Oh, H. M., Yoon, B. D., Kim, J., & Lee, I. S. (2004). Effects of crude oil, oil components, and bioremediation on plant growth. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 39(9), 2465-2472.

Blasetti, H. & Katusich, O. (2021). Evaluación de la fitotoxicidad de la fracción soluble de petróleo en suelos áridos en presencia de un sorbente híbrido arcilla-alga (*Codium fragile*) sobre semillas de lechuga. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 12 (4), 1-10.

Bravo, E. (2005). Impactos de la explotación petrolera en América Latina. <https://www.grain.org/es/article/entries/1031-impactos-de-la-explotacion-petrolera-en-america-latina>.

Chaineau, C. H., Morel, J. L., & Oudot, J. (2000). Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America*, 29, 2, 569-578.

Ciano, N., Salomone, J., Nakamatsu, V., & Luque, J. (2001). Nuevos escenarios para la remediación de áreas degradadas en la Patagonia. Taller de actualización sobre métodos de evaluación, monitoreo y recuperación de pastizales naturales patagónicos. V Reunión del Grupo Regional Patagónico de Ecosistemas de Pastoreo INTA FAO. Esquel. Argentina. https://www.researchgate.net/publication/228582479_Nuevos_escenarios_para_la_remediacion_de_areas_degradadas_en_la_Patagonia

Dorn, P.B., & Salanitro J.P. (2000). Temporal Ecological Assessment of Oil Contaminated Soils before and after Biorremediation. *Chemosphere*, 40, 419.

Fernández, M.D., Cagigal, E., Vega, M.M., Urzelai, A., Babín, M., Pro, J., et al. (2005). Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62(2), 174-184.

Eyras, M.C., & Sar, E.A. (2003). Arribazones estivales en Puerto Madryn, Argentina, como materiales para la obtención de compost. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 38(1-2).

Freites, M., Pernía, B., Rojas, D., Naranjo, L., Díaz, M., Fussella, E., & Sena, L. (2012). Evaluación de las Variaciones en la Fitotoxicidad de un suelo impactado con hidrocarburos posterior a su tratamiento con una nueva Tecnología de Saneamiento. https://www.academia.edu/download/52879817/Evaluacin_de_las_variaciones_en_la_fitot20170429-19004-1701zot.pdf

Galán, P. (1996). Contaminación petrolera. *Multimedios Ambiente Ecológico*. MAE. 1996-2008. ISSN 1668-3358. <http://www.ambiente-ecologico.com/revist30/contpe30.htm>

Galán, P. (2014). Contaminación petrolera. *Signos Universitarios*, 18(35). <http://p3.usal.edu.ar/index.php/signos/article/download/2306/2853>

Gibilisco, P.E., Lancelotti, J.L., Negrin, V.L., & Idaszkin, Y.L. (2020). Composting of seaweed waste: Evaluation on the growth of *Sarcocornia perennis*. *Journal of Environmental Management*, 274, 111193.

Huerta Muñoz, E., Cruz Hernández, J., Aguirre Álvarez, L., Caballero Mata, R., & Pérez Hidalgo, L.F. (2015). Toxicidad de fertilizantes orgánicos estimada con bioensayo de germinación de lechuga. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 179-185.

Infante, C., & García, F.A.M. (2012). Evaluación de la toxicidad en desechos y suelos petrolizados empleando semillas de *Lactuca sativa* L. *Interciencia*, 37(10), 782-788.

IRAM 29114. (2008). Calidad ambiental - Métodos biológicos. Método de ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Método en papel. <http://catalogo.iram.org.ar>

Kolb, M., & Harms, H. (2000). Metabolism of fluoranthene in different plant cell cultures and intact plants. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(5), 1304-1310.

Luque, J., Nakamatsu, V., Ciano, N., Amari, M., & Lisoni, C. (1998). c. Recuperación de un área empetrolada por medio de la utilización de técnicas de forestación y riego por goteo. *Terceras Jornadas de Preservación de Agua, Aire y Suelo en la Industria del Petróleo y del Gas*. Comodoro Rivadavia. Argentina.

Maliszewska-Kordybach, B., & Smreczak, B. (2000). Ecotoxicological activity of soils polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-effect on plants. *Environmental Technology*, 21(10), 1099-1110.

Neff, J. M., Ostazeski, S., Gardiner, W., & Stejskal, I. (2000). Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(7), 1809-1821.

Newman, M.C. (2009). *Fundamentals of ecotoxicology*. CRC press. <https://doi.org/10.1201/9781439883129>

Planes, E. I., & Fuchs, J. S. (2015). Cuáles son los aportes de la Ecotoxicología a las regulaciones ambientales.

https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/48860/CONICET_Digital_Nro.04aeb870-02fa-4cbb-8d6f-4f06b642f7_A.pdf?sequence=2

Pernía, B., Rojas-Tortolero, D., Sena, L., Sisto, A.D., Inojosa, Y., & Naranjo, L. (2018). Fitotoxicidad de HAP, crudos extra pesados y sus fracciones en *Lactuca sativa*: una interpretación integral utilizando un índice de toxicidad modificado. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(1), 79-91.

Plaza, G., Nałęcz-Jawecki, G., Ulfig, K., & Brigmon, R. L. (2005). The application of bioassays as indicators of petroleum-contaminated soil remediation. *Chemosphere*, 59(2), 289-296.

Pérez-Madruga, Y., López-Padrón, I., & Reyes-Guerrero, Y. (2020). Las Algas como alternativa natural para la producción de diferentes cultivos. *Cultivos Tropicales*, 41(2).

Reischl, A., Reissinger, M., Thoma, H., & Hutzinger, O. (1989). Accumulation of organic air constituents by plant surfaces: Part IV: Plant surfaces: a sampling system for atmospheric polychlorodibenzo-p-dioxin (PCDD) and polychlorodibenzo-p-furan (PCDF). *Chemosphere*, 18(1-6), 561-568.

Salguero, C.S. (2003). Intoxicación por hidrocarburos. Manual de intoxicaciones en Pediatría, 151.

<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:170735361>

Samanta, S. K., Singh, O.V., & Jain, R.K. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*, 20(6), 243-248.

Simeoni, A. (2008). Mesetas y Bajos de la Patagonia Central Extraandina. La inversión del relieve. Sitios de Interés Geológico de la República Argentina. CSIGA (Ed.) Instituto de Geología y Recursos Minerales. Servicio Geológico Minero Argentino, *Anales* 46, II, 461 págs., Buenos Aires. <http://repositorio.segemar.gov.ar/308849217/1368>

Sirit, L.R., Ehrmann, E.U., & Infante, C. (2008). Comparación de dos métodos de bioensayos para evaluar la toxicidad en suelo contaminado con hidrocarburo durante un proceso de biorremediación. IX Congreso Latinoamericano de Geoquímica Orgánica, Isla Margarita. Venezuela. https://www.researchgate.net/figure/Revista-Latino-Americana-de-Geoquimica-Organica-Trabajos-presentados-en-el-XI-Congreso_fig3_312494625

Tiquia, S.M. (2000). Evaluating phytotoxicity of pig manure from the pig on litter system. In Proceedings of the International Composting Symposium (pp. 625-647). CBA Press Inc. Truro. <https://deepblue.lib.umich.edu/bitstream/handle/2027.42/191304/BC1-2000-PDF.pdf?sequence=2>

Truhaut, R. (1967). Considerations Générales sur les Risques de Cancérisation Pouvant Resulter de l'Emploi de Certains Agents Chimiques en Thérapeutique (pp. 7-27). Springer Berlin Heidelberg. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-87898-5_4

Truhaut, R. (1977). Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives. *Ecotoxicology and environmental safety*, 1(2), 151-173. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(77\)90033-1](https://doi.org/10.1016/0147-6513(77)90033-1)

Vallini, G., Pera, A., Avio, L., Valdrighi, M. y Giovannetti, M. (1993). Influencia de los ácidos húmicos en el crecimiento del laurel, microorganismos rizosféricos asociados y hongos micorrízicos. *Biología y fertilidad de los suelos*, 16, 1-4.

Varnero, M.T., Rojas, C., & Orellana, R. (2007). Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, 7(1), 28-37.

Walter, I., Martínez, F., & Cala, V. (2006). Heavy metal speciation and phytotoxic effects of three representative sewage sludges for agricultural uses. *Environmental pollution*, 139(3), 507-514.

Wang, Y., Zhang, L., Meng, F., Zhou, Y., Jin, X., Giesy, J.P., & Liu, F. (2015). Improvement on species sensitivity distribution methods for deriving site-specific water quality criteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(7), 5271-5282.

Wetzel, A., & Werner, D. (1995). Ecotoxicological evaluation of contaminated soil using the legume root nodule symbiosis as effect parameter. *Environmental toxicology and water quality*, 10(2), 127-133.

Wild, S.R., & Jones, K.C. (1991). Studies on the polynuclear aromatic hydrocarbon content of carrots (*Daucus carota*). *Chemosphere*, 23(2), 243-251.

Capítulo 6

Integración de resultados y conclusiones

Capítulo 6

6. Integración de los resultados

6.1. Análisis multivariado

La evaluación de resultados se realizó en base al análisis por componentes principales (PCA), este análisis pertenece a una técnica de análisis multivariado que permite estudiar relaciones entre variables cuantitativas, y se fundamenta en la transformación de un conjunto de variables en otro conjunto nuevo de las mismas no correlacionadas entre sí (Bro, & Smilde, 2014). Este nuevo conjunto se llama “componentes principales” (PC), que son función lineal de las variables originales y de las que se puede hacer una representación gráfica (Mackiewicz & Ratajczak, 1993). Es un método simple, no paramétrico, muy útil para extraer información relevante de conjuntos de datos (Jolliffe & Cadima 2016; Johnstone, & Titterington, 2009). En esta tesis, el software que se utilizó para realizar el análisis PCA fue Infostat 2017.

Para el análisis se parte de una matriz de datos que contiene los valores de las variables investigadas en las muestras. Se comprueba la distribución normal, se realiza la estandarización de los datos y se obtiene la matriz de correlación de la cual se calculan los vectores y valores propios. Gráficamente se proyectan los datos originales sobre las nuevas dimensiones. El resultado permite estudiar las relaciones que existen entre las variables cuantitativas, sin considerar a priori, ninguna estructura, ni de variables, ni de muestras (Westerhuis *et al.*, 1998; Blasetti *et al.*, 2017). Para la determinación del número de componentes se utiliza el criterio de porcentaje explicado, el cual consiste en fijar un porcentaje de variabilidad explicado, y considerar las sucesivas componentes principales hasta superar el porcentaje prefijado. El análisis de correlación de Pearson permite cuantificar la relación lineal entre dos variables,

es la magnitud de la interrelación en el mismo sentido (valores positivos) o en sentido contrario (valores negativos). Una relación positiva o negativa fuerte se identifica cuando el coeficiente se aproxima al valor absoluto de uno. Los coeficientes más cercanos a cero indican una relación débil o inexistente entre las dos variables (Alberto *et al.*, 2001).

Para la aplicación de PCA, se utilizó un conjunto inicial de parámetros fisicoquímicos, de sorción y ecotoxicológicos de las muestras estudiadas, cada conjunto de parámetros obtenidos en base a distintas metodologías aporta una mirada parcial que contribuye a la caracterización de los sorbentes motivo de estudio. Se pretende determinar el conjunto de parámetros de mayor incidencia en el comportamiento de los sorbentes en el ambiente (Abdi & Williams, 2010).

Para la aplicación del estudio se armó una matriz de datos con las variables originales, seguido de la transformación en una normalizada, posteriormente se calculó la covarianza R , luego se identificaron los componentes principales que explican gran parte de la variación del conjunto de datos y se calculó la puntuación individual de los componentes principales y la puntuación global de cada grupo en el conjunto de datos. Al considerar el análisis de datos en términos generales, el PCA presentó ventajas entre las cuales se consideran: la reducción de la dimensionalidad de los datos, visualización de datos de alta dimensión en dos dimensiones, reducción del impacto del ruido o de los errores de medición en los datos (Mouhtady *et al.*, 2022).

Con todos los resultados obtenidos en las mediciones de los parámetros fisicoquímicos, de comportamiento sortivo, se seleccionaron los siguientes: pH, CE, CS, S20%, S30%, y los parámetros ecotoxicológicos fueron IG con *Grindelia*

Chiloensis, IG con *Lactuca sativa* obtenidos por métodos directo y elutriado, y con diferentes concentraciones de petróleo (Costa, & Ferreira, 2009), por su aporte a las componentes principales. Como la variable IG involucra métodos directo y de elutriado con semillas de *Lactuca sativa* y *Grindelia Chiloensis* y se realizaron sobre muestras contaminadas con un 20 y 30 % de petróleo, se decidió incluir todos los valores en el análisis PCA. En la **Figura 6.1** se puede ver la representación de las muestras en el espacio PC1 y PC2 que logran explicar el 92 % de la variabilidad de los datos. La distancia Euclidiana entre los puntos que representan las muestras da idea de las diferencias observables entre ellas, la muestra de suelo se encuentra alejada del grupo de muestras de sorbentes que a su vez se agrupan de acuerdo con la técnica de calentamiento utilizado microondas o estufa.

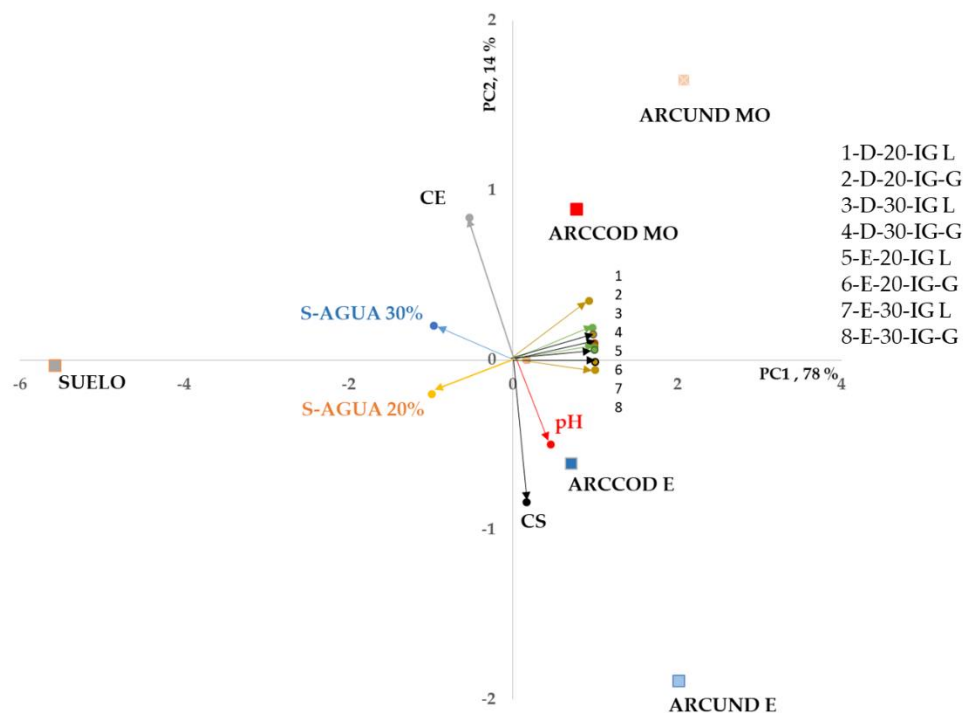


Figura 6.1. PC1 y PC2 para SUELO, ARCCOD MO, ARCCOD E, ARCUND E y ARCUND MO y los parámetros que más discriminan

Las correlaciones negativas y positivas de las variables se pueden observar en la **Figura 6.2.**, los autovalores asociados a cada PC dan una medida porcentual de la fracción que puede ser explicada por ese modo de variabilidad, respecto al total de la varianza de la señal original. Los parámetros pH, CS y todos los IG aportan positivamente a la PC1, incluyen los métodos directo y elutriado, las especies L y G y las concentraciones de petróleo de 20 y 30 %. Los parámetros que aportan negativamente a PC1 son CE, S-agua-20% y S-agua-30%. En cuanto a la PC2, S-agua 30%, CE y los siguientes IG: D-20-IG L, D-20-IG-G, D-30-IG L, D-30-IG-G, E-20-IG L y E-30-IG L aportan positivamente y pH, CS, S20%, E-20-IG G y E-30-IG G aportan negativamente.

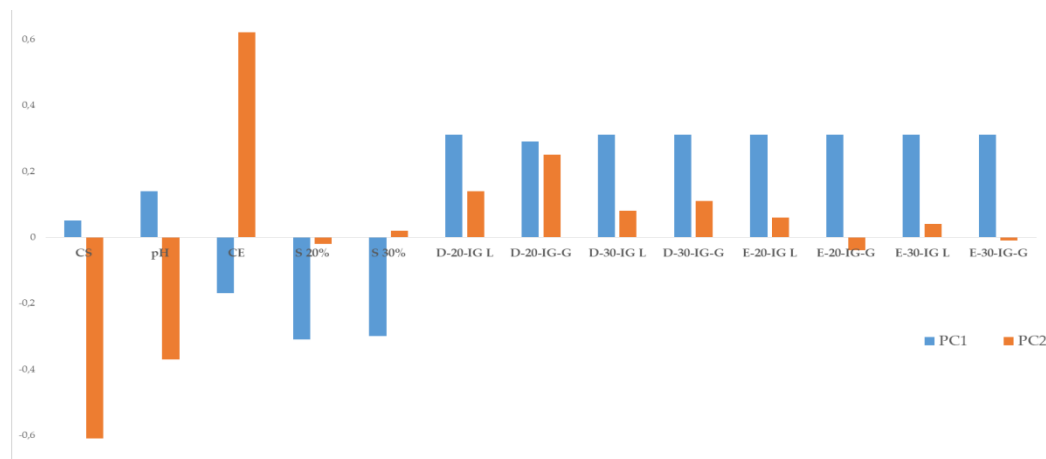


Figura 6.2. Contribución de las variables a las PC1 y PC2

La aplicación de métodos de análisis multivariado en la problemática ambiental es gran utilidad, su aplicación hace posible el evaluar el grado de importancia de datos obtenidos sobre todo cuando la información procesada contiene múltiples datos, en la cual la variedad de los mismos incide positiva y negativamente en su valoración. Es importante aclarar que las técnicas de análisis multivariado se caracterizan por su tendencia exploratoria, en donde el investigador intenta derivar de los datos una explicación relevante y

consistente, dando respuesta a si existe alguna información valiosa en la estructura de los datos.

6.2. Conclusiones

Se obtuvieron materiales híbridos para la sorción de petróleo siguiendo los principios de la Química Verde, se eligieron materias primas renovables, abundantes en la región patagónica como lo son algas y arcillas, se realizó el calentamiento con horno de microondas, se evitaron técnicas de derivatización, uso de reactivos y solventes tóxicos, no se generaron residuos ni contaminación con reactivos y solventes para la obtención del producto final.

En la caracterización por DRX de las materias primas renovables se pudo identificar la arcilla natural como esmectita tipo montmorillonita, acompañada de illita y kaolinita, cuarzo feldespatos y plagioclasas. Respecto al análisis de *Codium fragile* se observó la presencia de halita, conservada también en los difractogramas de los híbridos. Sobre la estructura de *Undaria pinnatifida*, el análisis de DRX indicaría la presencia de celulosa, alginatos, calcita y cloruro de sodio. En los materiales híbridos se observó aumento del espaciado interlaminar, por lo que se puede inferir que ciertos componentes del alga han penetrado en el espacio interlaminar de la arcilla y posiblemente también interaccionen a nivel de la superficie externa y/o en los bordes de lámina.

En la caracterización por FTIR de arcilla se confirmaron las bandas de absorción características de esmectita tipo montmorillonita. En *Codium fragile*, se observaron las señales de grupos funcionales correspondientes a componentes estructurales del alga como proteínas, lípidos, polisacáridos, ácidos nucleicos y moléculas de agua asociada a las mismas, las señales son compatibles con lo reportado en la bibliografía. En *Undaria pinnatifida* se observaron grupos

funcionales pertenecientes a la pared celular como carboxilos, sulfonatos y aminas. En los espectros de FTIR de los materiales híbridos, se constató la disminución de la señal Si-O T en la arcilla y corrimiento hacia mayor número de onda, junto con la desaparición del estiramiento C-H stretching de COD. El conjunto de cambios observados daría cuenta de la incorporación de agua en la estructura de los híbridos además de la interacción de la biomasa de algas con la matriz arcillosa. Las regiones donde se observa mayor diferencia es en ≈ 3400 (O-H stretching del agua), en ≈ 1600 (O-H bending del agua) y en ≈ 1030 (S-O stretching tetraédrico). La mayor intensidad en los híbridos de la señal correspondiente a amida A presente en las algas sugeriría un corrimiento de la señal de ARC en 3438 cm^{-1} hacia 3445 cm^{-1} , lo cual podría deberse a la intercalación de los grupos NH de la amida presente en las algas en ARC.

En el calentamiento con microondas se ha evidenciado, en los difractogramas DRX, que el material híbrido obtenido muestra un mayor grado de delaminación que en el obtenido por E. Esto puede ser producto de un efecto térmico por el método de calentamiento utilizado. En los espectros FTIR se observa una mayor incorporación de agua en E que en MO. Es posible que el calentamiento por MO haya alcanzado una mayor temperatura que en estufa, provocando mayor eliminación de agua (compatible con señales más débiles de agua en MO que en E) y afectando parcialmente la estructura laminar de la arcilla por tratamiento térmico. Estas observaciones, sumadas a la reducción del tiempo del proceso de preparación del material híbrido y el ahorro energético derivado de esta disminución en el tiempo de trabajo constituyen el conjunto de ventajas para el uso de este tipo de calentamiento.

La capacidad de sorción de petróleo obtenida con los materiales híbridos objeto de estudio en esta tesis presenta valores similares a la de los sorbentes industriales conocidos. En las isotermas de sorción experimentales ajustadas

con el modelo de BET derivadas de este trabajo se calcularon constantes relacionadas con el calor de sorción (K_1) y la superficie específica (K_2). Se observa que K_1 , es mayor para ARC con respecto a COD y sus materiales híbridos, lo cual, podría deberse a que los alcanos y las moléculas polares interactúan fácilmente con las capas intermedias o intersticiales de la montmorillonita y pueden a su vez penetrar el espacio interlaminar. Para los híbridos de UND y los materiales de partida, K_1 no presenta diferencia significativa. Los valores K_2 muestran que ARCCOD MO, ARC, ARCCOD E son capaces de sorber mayor masa en la primer monocapa de petróleo que COD. Para los híbridos de UND el mayor valor lo presenta ARCUND MO, seguido de UND y ARCUND E. Todos superan el valor de ARC, esto podría indicar que en estos materiales híbridos las moléculas que interaccionan con las cargas superficiales tendrían mayores áreas permitiendo, de esta manera, un aumento de la cantidad de ligandos en la superficie y en los espacios interlaminares, además la presencia de UND, con su pared celular de celulosa, fucanoides, alginatos, proteínas fosfatadas incrementan la capacidad de sorción. Dada la importancia de la solubilidad en agua de los hidrocarburos de petróleo, que son los responsables de la toxicidad en el suelo, y según los resultados obtenidos luego de realizar los ensayos de solubilidad en agua con cosolvente, se demostró que el suelo contaminado y tratado con los materiales híbridos evidencia baja solubilidad de petróleo en agua comparado con el suelo contaminado sin la presencia de los materiales híbridos.

Los resultados de la evaluación de la toxicidad de los hidrocarburos de petróleo solubles en agua presentes en el suelo revelaron una reducción en la geminación y en la elongación de la radícula en las muestras contaminadas con petróleo a concentraciones de 20 y 30 %. En las muestras contaminadas con petróleo y tratadas con los materiales híbridos, no se observaron valores considerables de toxicidades, lo que indicaría que reducen la toxicidad del

petróleo que podría atribuirse a la sorción de petróleo entre las capas del material híbrido, al aporte de nutrientes del alga como proteínas, carbohidratos y minerales, y además a la mayor disponibilidad de agua contenida en el material sorbente, lo cual mejoraría las condiciones del suelo y tendría un potencial uso como bioestimulante y/o biofertilizante. Respecto al indicador biológico utilizado en la región Patagónica se demostró que la especie *Grindelia chilensis* presenta valores de GRS, CRR, ER e IG, similares a los obtenidos con la especie de referencia *Lactuca sativa* en los ensayos de fitotoxicidad, por lo cual podría utilizarse como una especie de referencia para los ensayos de toxicidad en esta región.

La aplicación del método de análisis multivariado permitió procesar los múltiples datos obtenidos de los aspectos fisicoquímicos, sortivos y ecotoxicológicos de los sorbentes. En la integración se seleccionaron los parámetros que producen mayor discriminación en el comportamiento de los materiales híbridos, la representación de las muestras en el espacio PC1 y PC2 logran explicar el 92 % de la variabilidad de los datos. Según la distancia Euclidiana la muestra de suelo está separada del grupo de sorbentes, que a su vez se agrupan según la técnica de calentamiento utilizada (microondas o estufa). Los parámetros pH, CS y todos los IG aportan positivamente y los parámetros CE, S-agua-20% y S-agua-30% aportan negativamente a PC1, mientras que S-agua 30%, CE y los siguientes IG: D-20-IG L, D-20-IG-G, D-30-IG L, D-30-IG-G, E-20-IG L y E-30-IG L aportan positivamente y pH, CS, S20%, E-20-IG G y E-30-IG G aportan negativamente a la PC2.

Los ensayos fisicoquímicos, de sorción y ecotoxicológicos realizados a los materiales híbridos en esta tesis son de fundamental importancia para poder avanzar en el conocimiento de las implicancias reales que tiene en el ambiente la introducción de estas sustancias. Los materiales híbridos preparados y

agregados al suelo contaminado actúan como biofertilizantes y/o bioestimulantes ya que favorecen el crecimiento de las especies ensayadas y potencialmente de otras especies, gracias al aporte de nutrientes de las algas. De esta manera las algas, que actualmente se consideran un residuo que perturban las costas, serían un recurso para mejorar la calidad del suelo. Con todo lo expuesto los materiales híbridos carecen de toxicidad y aseguran una tesis basada en la conservación del ambiente, no solo por la sorción de contaminantes, sino también por el procedimiento sustentable utilizado.

6.3. Bibliografía

Abdi, H., & Williams, L. J. (2010). Principal component analysis. *Wiley interdisciplinary reviews: computational statistics*, 2(4), 433-459.

<https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/wics.101>

Alberto, W. D., del Pilar, D. M., Valeria, A. M., Fabiana, P. S., Cecilia, H. A., & de Los Ángeles, B. M. (2001). Pattern recognition techniques for the evaluation of spatial and temporal variations in water quality. A case study: Suquía River Basin (Córdoba–Argentina). *Water research*, 35(12), 2881-2894.

Blasetti, H.B., Alassia, F.R., Katusich, O.I., Ríos, S.M. (2017). Sorción de petróleo por materiales híbridos arcilla-alga: caracterización en base a espectroscopía UV-visible y análisis multivariado. *III Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología Ambiental*. Santa Fé. Argentina

Bro, R., & Smilde, A. K. (2014). Principal component analysis. *Analytical methods*, 6(9), 2812-2831.

Costa, J. C., Alves, M. M., & Ferreira, E. C. (2009). Principal component analysis and quantitative image analysis to predict effects of toxics in anaerobic granular sludge. *Bioresource technology*, 100(3), 1180-1185.

Johnstone, I. M., & Titterton, D. M. (2009). Statistical challenges of high-dimensional data. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1906), 4237-4253.

Jolliffe, I. T., & Cadima, J. (2016). Principal component analysis: A review and recent developments. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. Royal Society of London. <https://doi.org/10.1098/rsta.2015.0202>

Maćkiewicz, A., & Ratajczak, W. (1993). Principal components analysis (PCA). *Computers & Geosciences*, 19(3), 303-342. [https://doi.org/10.1016/0098-3004\(93\)90090-R](https://doi.org/10.1016/0098-3004(93)90090-R)

Mouhtady, O., Obeid, E., Abu-Samha, M., Younes, K., & Murshid, N. (2022). Evaluation of the Adsorption Efficiency of Graphene Oxide Hydrogels in Wastewater Dye Removal: Application of Componente Principal Analysis. *Gels*, 8, 447.

Westerhuis, J. A., Kourti, T., & MacGregor, J. F. (1998). Analysis of multiblock and hierarchical PCA and PLS models. *Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society*, 12(5), 301-321.