



# Evolución del proceso de degradación química de microplásticos en muestras de sedimentos marinos y costeros



## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS

---

**Autor Principal:** Dolores Rojo Campillo (Universidad Politécnica de Cartagena-UPCT)

**Otros autores:** Javier Bayo (UPCT); Pedro Martínez Baños (C&C Medio Ambiente); Sonia Olmos (UPCT); Joaquín López-Castellanos (UPCT).

## ÍNDICE MÍNIMO

1. Título
2. Palabras Clave
3. Resumen
4. Introducción
5. Metodología
6. Resultados y Discusión
7. Conclusiones
8. Bibliografía

### TÍTULO

Evolución del proceso de degradación química de microplásticos en muestras de sedimentos marinos y costeros

### PALABRAS CLAVE

Microplásticos; sedimento; índice carbonilo; índice vinilo; cristalinidad.

### RESUMEN

El objetivo de este estudio ha sido el de caracterizar los microplásticos (MP) presentes en sedimentos marinos del Puerto de Cartagena y en sedimentos costeros de la playa de Cala Cortina, localizada junto al Puerto, y determinar la correlación entre los procesos de meteorización que tienen lugar en la superficie de los MP y su distribución espacial en cuanto a la profundidad de la muestra y la distancia a la línea de costa, así como relacionar los cambios de cristalinidad con los índices de meteorización para facilitar la comprensión del proceso de degradación. Los índices de carbonilo y vinilo son dos índices que permiten medir los cambios químicos asociados al envejecimiento y degradación de los MP; en concreto estos índices, miden la oxidación química de poliolefinas como el polietileno (PE) y el polipropileno (PP), que refleja la degradación de sus propiedades mecánicas (Mellor *et al.*, 1973). Por otro lado, la cristalinidad de las poliolefinas varía de manera importante debido a los cambios químicos que tienen lugar durante la meteorización, incrementando con el índice carbonilo. Los microplásticos en sedimentos marinos y sedimentos costeros aparecieron con una concentración media de 19,37 y 30,01 ítems/kg de sedimento seco, respectivamente, siendo las fibras las formas más identificadas en ambos casos. En cuanto a los índices de meteorización, en los sedimentos marinos, el índice de carbonilo fue significativamente más alto en las muestras tomadas a una profundidad intermedia (12,5 m), mientras que el índice de vinilo resultó aumentar de los sedimentos poco profundos (8 m) a los más profundos (24 m), lo que podría indicar un efecto protector de la profundidad en la prevención de la meteorización del plástico, justificada por bajas temperaturas y una exposición a la radiación solar UV insuficiente (Wang *et al.*, 2016). En los sedimentos costeros, el índice de carbonilo resultó ser significativamente mayor en los sedimentos intermareales que en supramareales, resultados que podrían deberse a la exposición a las olas de los microplásticos recogidos en la zona intermareal o a la baja degradación de las muestras de los puntos más alejados coincidente con su mayor concentración o con la formación antropogénica reciente. Se observó que ambos índices de meteorización (carbonilo y vinilo) pueden ser utilizados de manera fiable para predecir cambios en la cristalinidad del polímero

### INTRODUCCIÓN

La producción mundial de plástico ha pasado de 348 millones de toneladas en 2017 a 359 en 2018, llegando casi a 370 millones de toneladas en 2019 (PlasticsEurope, 2020). Aunque no es posible dar cantidades exactas del material plástico manufacturado desechado o arrastrado al mar o a las zonas costeras, las estimaciones incluyen que solo el 15% está flotando en la superficie del mar, el 15% está flotando en la columna de agua, y el 70% se hundirá y acumulará

en el fondo marino (Kurtela and Antolović, 2019), especialmente aquellos con una densidad que supera la del agua de mar ( $1020 \text{ kg m}^{-3}$ ) (Woodall, *et al.*, 2015).

El litoral se ha señalado como un importante reservorio de acumulación y liberación de MP al mar (Bronzo *et al.*, 2021). Eriksen *et al.* (2014) estimaron un mínimo de 5,25 billones de partículas de plástico con un peso de 268.940 toneladas flotando en los océanos del mundo, con una enorme pérdida de microplásticos de la superficie del mar en comparación con las tasas de fragmentación esperadas, seguramente debido a los diferentes mecanismos que eliminan estas diminutas partículas de la superficie.

Los microplásticos están sometidos a una degradación física, química y biológica en el medio marino. La radiación UV a longitudes de onda inferiores a 400 nm acelera la degradación de los polímeros mediante reacciones fotolíticas, foto-oxidativas y termo-oxidativas, y los plásticos marinos como el LDPE, el HDPE y el PP también se degradan mediante la abrasión física por la acción de las olas y la arena (Wang *et al.*, 2016). Además, todos estos procesos pueden combinarse con la degradación biótica, ya que las bacterias y los hongos producen muchas enzimas capaces de degradar los polímeros naturales y sintéticos (Sánchez, 2020).

Se han propuesto varios índices de meteorización para medir los cambios químicos asociados al envejecimiento y la degradación de los microplásticos. Los índices de carbonilo y vinilo fueron probablemente los primeros indicadores utilizados para medir la oxidación química de las poliolefinas, como el polietileno y el polipropileno, que se cree que reflejan el deterioro de las propiedades mecánicas de estos polímeros (Mellor *et al.*, 1973). Se afirma que los grupos carbonilos son las principales especies fotoabsorbentes responsables de las reacciones de iniciación fotoquímica de las poliolefinas bajo luz UV, siguiendo las reacciones de tipo I y II de Norrish (Gardette *et al.*, 2013). Durante la descomposición de las cetonas en la reacción de tipo I de Norrish, los radicales libres resultantes pueden conducir a la formación de ácidos carboxílicos, ésteres o lactonas a través de la reticulación o provocar la escisión de la cadena. Por el contrario, la reacción Norrish tipo II da lugar a la formación de grupos vinílicos terminales, acetona y escisión de la cadena (Stark y Matuana, 2004). La cristalinidad de las poliolefinas cambia significativamente debido a las transformaciones químicas durante los procesos de meteorización y aumenta con el incremento del número de carbonilos. En las primeras etapas de la degradación, se produce una escisión controlada de la cadena, mediante la cual las moléculas que participan en la fase amorfa se escinden aún más, lo que conduce a la reestructuración de los segmentos liberados (Rajakumar *et al.*, 2009).

Este estudio investigó la presencia y distribución espacial de microplásticos en los sedimentos del puerto de Cartagena (España) y su playa urbana adyacente. Los microplásticos recogidos en sedimentos marinos y costeros se caracterizaron y posteriormente se identificaron mediante espectroscopia infrarroja de reflexión total por transformada de Fourier (ATR-FTIR). El objetivo principal de este estudio fue comprender la relación entre los procesos de meteorización superficial de los microplásticos y su distribución espacial, y correlacionar los cambios en la cristalinidad con los índices de carbonilo y vinilo. Los resultados de este estudio proporcionan información sobre los factores espaciales que afectan a la abundancia, la degradación y las propiedades de los microplásticos, correlacionando los cambios de cristalinidad con los índices de meteorización para comprender mejor estos procesos.

### METODOLOGÍA

#### Muestreo de sedimentos marinos y costeros.

Los sedimentos marinos cercanos al puerto de Cartagena fueron recogidos durante los meses de marzo, junio y septiembre de 2019 en tres puntos de muestreo diferentes, denominados P1 (37°34'47,04" N, 0°58'34,62" W), P2 (37°35'36,72" N, 0°58'49,20" W) y P3 (37°34'29,58" N, 0°58'31,50" W), con 8,0, 12,5 y 24,0 m de profundidad, respectivamente. Los tres sitios de muestreo difieren en sus actividades principales, representando diferentes ambientes marinos también relacionados con la profundidad y los niveles de energía hidrodinámica. Los fondos arenosos son la cubierta sedimentaria predominante en P1, situado frente a Cala Cortina, una playa urbana también monitorizada en este estudio; P2 está situado en la dársena de Cartagena, cerca de la ciudad, e incluye un puerto recreativo y pesquero, y una terminal de cruceros con sedimentos de fondo fangoso; y P3, denominada dársena de Escombreras, incluye terminales de GNL (Gas Natural Licuado) y GLP (Gas Licuado de Petróleo), atraque de superpetroleros para la descarga de crudo, y terminales de carga de aceites vegetales y bioetanol, con más de 5000 m de línea de atraque y 21,40 de calado.

Se recogió una muestra de 0,04 m<sup>2</sup> utilizando una draga manual Van Veen, el dispositivo más utilizado para la recogida de sedimentos del fondo (Claessens *et al.*, 2011; Razeghi *et al.*, 2021). El desplazamiento hasta los puntos de muestreo se realizó a bordo de una embarcación tipo lancha, con la ayuda de GPS Garmin. Las muestras se tomaron por triplicado y se colocaron en recipientes de vidrio estériles hasta su llegada al laboratorio. Los muestreos se efectuaron en los meses de abril, junio y septiembre de 2019. Los sedimentos marinos se secaron durante una noche a 60 °C en una estufa de ventilador FD 23 (Binder GmbH, Tuttlingen, Alemania) y, a continuación, se tamizaron en un tamiz de 5 mm y se almacenaron a 4 °C en recipientes de vidrio herméticos hasta la separación de los microplásticos.

También se recogieron sedimentos costeros en tres puntos de muestreo dentro de la playa urbana de Cala Cortina; denominados Z1, situado cerca de la línea de marea alta (37°34'52,94" N, 0°58'29.88" W); Z2, a 9 m de la línea de marea alta (37°34'53.17" N, 0°58'29.67" W); y Z3, a 18 m de la línea de marea alta (37°34'53.46" N, 0°58'29.50" W). Se recogieron muestras por triplicado de cuadrículas de 0,25 m<sup>2</sup> colocando un marco de 0,50 m. Las muestras se recogieron durante marzo, junio y septiembre de 2019, con la ayuda de una espátula metálica se tomó la capa superficial incluida dentro del marco de muestreo (profundidad máxima de 3-4 cm) y se colocaron en placas Petri de vidrio de 120 mm, con una cantidad media ( $\pm$ SE) de 226,8 ( $\pm$ 5,7) g de sedimento seco, y valores mínimos y máximos de 193,3 y 265,3 g de sedimento seco.

#### Medición de microplásticos en sedimentos marinos y costeros.

Toda la manipulación de las muestras se realizó, en la medida de lo posible, evitando el uso de material de laboratorio de plástico. Después de cada uso, todo el material de vidrio se lavó a fondo con agua del grifo y dos veces con agua desionizada, cubriéndolo con papel de aluminio para reducir la contaminación. Para la manipulación de las muestras en el laboratorio sólo se utilizaron prendas de fibra natural y batas de algodón.

En cada análisis se analizaron 50 gramos de sedimento marino seco en busca de microplásticos. La eliminación de la materia orgánica de sus superficies se realizó añadiendo 100 ml de una solución de KOH al 10% a vasos de cristal de 250 ml a 40°C durante 48 horas. Dehaut *et al* (2016)

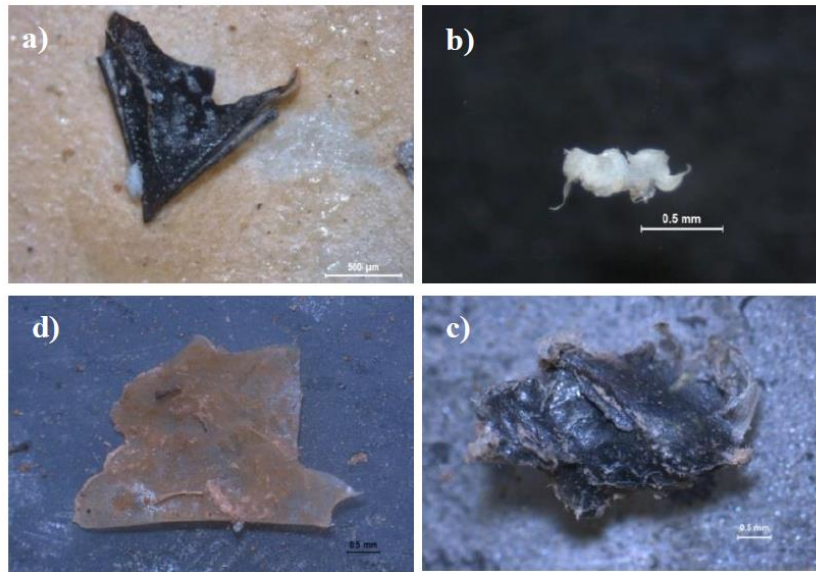
y Kühn *et al* (2017) informaron de que la mayoría de los polímeros encontrados en las playas y en la basura marina son resistentes al KOH, lo que recomienda su uso para los microplásticos. Una vez digerida la materia orgánica, las muestras se añadieron a 100 ml de disolución de NaCl

2,05 M (densidad: 1080 kg m<sup>-3</sup>) (Panreac, Barcelona, España) y se agitaron mecánicamente (300 rpm, 20 min) para proceder a extracción de microplásticos por flotación basada en la diferencia de densidad. Tras 20 minutos de sedimentación, el sobrenadante se filtró con una bomba de vacío a través de un embudo Büchner utilizando un papel de filtro (Prat Dumas, Couze-St-Front, Francia, diámetro 110 mm, tamaño de poro 0,45 mm). La pared del embudo se lavó dos veces con agua desionizada y también se filtró. Las partículas microplásticas aisladas se recuperaron mediante agitación orbital (150 rpm, 30 min), colocando los filtros en placas Petri de vidrio de 120 mm después de lavarlas con 15 ml de agua desionizada. Las muestras se secaron toda la noche a 60° C en una estufa de aire forzado FD 23 (Binder GmbH, Tuttlingen, Alemania), y se mantuvieron en un desecador para evitar la humedad. Los sedimentos costeros fueron procesados de formas similar, aunque sin el proceso de digestión, de acuerdo a Bayo *et al.* (2019).

Tras la identificación visual bajo un microscopio trinocular con zoom Olympus SZ-61TR (Olympus CO., Tokio, Japón) acoplado a una cámara digital HD Leica MC190 y a un software de captura de imágenes Leica Application Suite (LAS) 4.8.0 (Leica Microsystems Ltd., Heerbrugg, Suiza), todas las micropartículas aisladas se analizaron para identificar los tipos de polímeros y sus procesos de meteorización mediante un espectrofotómetro de infrarrojos de transformada de Fourier (FTIR) Thermo Nicolet 5700 (Thermo Nicolet Analytical Instruments, Madison, WI, USA), provisto de un detector de sulfato de triglicina deuterado, DTGS, y óptica de KBr. Los espectros de reflexión total atenuada (ATR) se promediaron a partir de 20 escaneos con una resolución de 16 cm<sup>-1</sup> en el rango de 400-4000 cm<sup>-1</sup>. Los espectros se controlaron y evaluaron mediante el software OMNIC sin más manipulación, y los polímeros se identificaron (Figura 1). utilizando varias bibliotecas de referencia de polímeros, que contienen espectros de todos los polímeros comunes, a saber, Hummel Polymer and Additives (2011 espectros), Polymer Additives and Plasticizers (1799 espectros), Sprouse Scientific Systems Polymers by ATR Library (500 espectros) y Rubber Compounding Materials (350 espectros) Se utilizó una tasa de concordancia de >60% como valor umbral para la identificación del polímero. Por último, se midió el carbono orgánico total (COT) con un analizador de COT (Shimadzu TOC-V CSH).

## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS

---

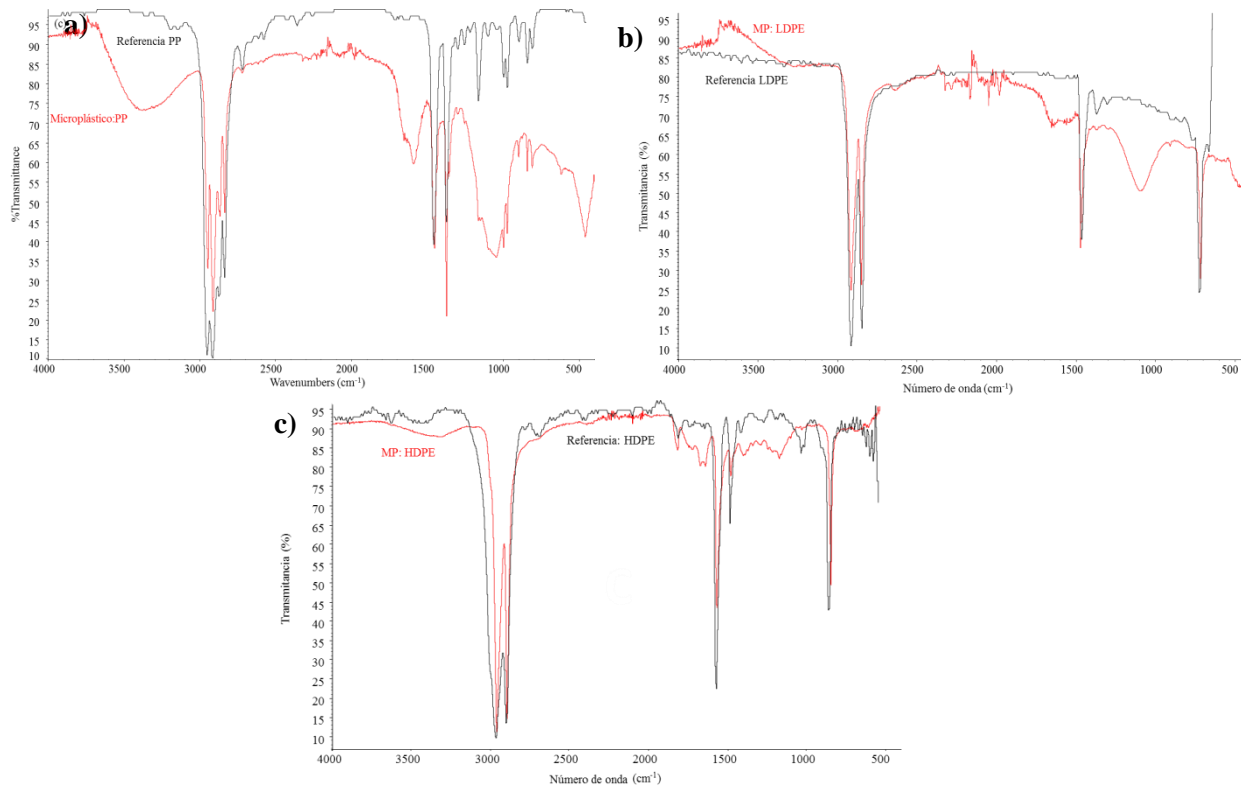


**Figura. 1.** Microplásticos aislados en sedimentos marinos (a-b) y costeros (c-d) identificados en FTIR: (a) PP (P3/Junio) (Sprouse Polymers by ATR); (b) LDPE (P1/Septiembre) (Hummel Polymer and Additives); (c) HDPE (Z1/Marzo) (Sprouse Polymers by ATR); (d) PE (Z2/Septiembre) (Polymer Additives and Plasticizers).



### Índices de meteorización.

Los espectros ATR-FTIR obtenidos para polímeros con cadenas alquílicas saturadas, como el polietileno (PE), tanto el polietileno de baja densidad (LDPE) como el polietileno de alta densidad (HDPE), el polipropileno (PP) y el copolímero de polietileno-polipropileno (PPP), se utilizaron para evaluar los índices de carbonilo y vinilo (Figura 2), que representan una mayor degradación del polímero a valores más altos de los dos índices. El índice de carbonilo se define como la absorbencia del pico de carbonilo a 1722-1712  $\text{cm}^{-1}$  en relación con la absorbencia de la vibración de estiramiento asimétrica del grupo 2H-metileno (2910-2900  $\text{cm}^{-1}$ ). Se utiliza como indicador del grado de oxidación del polímero (Matsuguma *et al.*, 2017; Miranda *et al.*, 2021), lo que se debe a la introducción del grupo carbonilo en la estructura química, mientras que el pico entre 2910 y 2900  $\text{cm}^{-1}$  puede utilizarse como referencia ya que permanece inalterado durante la degradación (Andrady *et al.*, 1993). Por lo tanto, se utilizó el número de carbonilo para cuantificar los procesos de meteorización de los polímeros presentados, aunque no se pudo utilizar para el tereftalato de polietileno (PET) debido a la presencia sistemática de un pico común en la banda de 1714  $\text{cm}^{-1}$ , causado por la elongación del doble enlace C=O (Miranda *et al.*, 2021). El número de vinilo se calculó como la intensidad del pico del grupo vinilo (910-900  $\text{cm}^{-1}$ ) en relación con la intensidad del grupo metileno (2910-2900  $\text{cm}^{-1}$ ) (Stark y Matuana, 2004; Miranda *et al.*, 2021). En todos los casos, los análisis FTIR se llevaron a cabo mediante un método de integración que tiene en cuenta el área por debajo del pico de absorción en el máximo de una banda determinada mediante un enfoque tangencial y también utiliza una corrección de base (Hofko *et al.*, 2018).



**Figura 2.** Espectros ATR-FTIR identificados en MP de sedimentos marinos (a-b) y costeros (c): a) polipropileno (PP); b) polietileno de baja densidad (LDPE); c) el polietileno de alta densidad (HDPE).

La cristalinidad de los microplásticos de polietileno se estudió mediante el método descrito por Zerbi *et al.* (1989), en el que los picos dobles observados a 1474-1464 cm<sup>-1</sup> y 730-720 cm<sup>-1</sup> corresponden a la parte cristalina (1474 y 730 cm<sup>-1</sup>) y a la parte amorfa (1464 y 720 cm<sup>-1</sup>). Como sugieren otros autores (Kolomw *et al.*, 2000; Kaci *et al.*, 2001), las bandas de 730 y 720 cm<sup>-1</sup> fueron las más adecuadas para el estudio, ya que se observó el comportamiento asimétrico de las bandas de 1474 y 1464 cm<sup>-1</sup> (Kaci *et al.*, 2001) además de una interferencia de las bandas de 1474 y 1464 cm<sup>-1</sup> con el pico de celulosa de 1430 cm<sup>-1</sup> (Kolomw *et al.*, 2000). Se utilizó la siguiente fórmula:

$$X = 100 - \frac{1 - I_a/I_b}{1 + I_a/I_b} * 100$$

donde I<sub>a</sub> e I<sub>b</sub> representan los picos del doblete 730 y 720 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.

### Análisis estadístico de los datos experimentales.

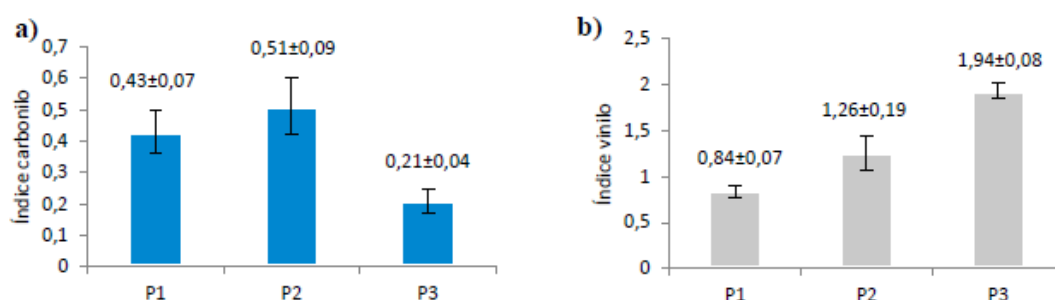
El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el programa SPSS (Statistical Package for Social Science) 26.0 (IBM Co. Ltd, EE.UU.). Todos los datos se expresaron como media ± error estándar (SE). El rendimiento de ajuste del análisis de varianza unidireccional (ANOVA) se calculó con una prueba F, y se aplicó la prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher cuando la prueba F indicaba el rechazo de la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) para comparar los datos emparejados e identificar las diferencias estadísticamente significativas. Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis cuando los datos no cumplían los requisitos para un análisis de varianza de una vía. Además, la bondad del ajuste de cada modelo propuesto se evaluó mediante la prueba F, el coeficiente de correlación (R), el coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>), el error estándar de estimación (Se), la suma de cuadrados de la regresión (SSREG) y la suma de cuadrados de los residuos (SSRES). El coeficiente de determinación ajustado (R<sup>2</sup><sub>adj</sub>) es una medida útil para comparar el poder explicativo de diferentes modelos (Bayo *et al.*, 2009). La independencia de los residuos de los modelos se comprobó mediante la prueba de Durbin-Watson (Rutledge y Barros, 2002) y la relación entre los valores predichos y los medidos se utilizó para comprobar la precisión de cada modelo. El valor crítico para la significación estadística se fijó en p < 0,05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Índices carbonilo y vinilo

Se utilizaron los índices de carbonilo y vinilo para caracterizar el grado de meteorización y oxidación superficial de los polímeros. Las figuras 3 y 4, muestran el valor medio de cada índice (±SE). Como se indica en Metodología, el tereftalato de polietileno (PET) no pudo ser utilizado para el cálculo del índice de carbonilo debido a un pico común sistemático en la banda de 1714 cm<sup>-1</sup> debido al estiramiento del doble enlace C=O (Miranda *et al.*, 2021), que reportó valores de índice de carbonilo anormalmente altos, con un mínimo de 2,01 y un máximo de 4,71 en ambos

tipos de sedimento. El índice de carbonilo demostró aumentar en los sedimentos marinos de P1 ( $0,43 \pm 0,07$ ) a P2 ( $0,51 \pm 0,09$ ), y luego disminuyó de forma estadísticamente significativa a P3 ( $0,21 \pm 0,04$ ) (prueba  $F = 5,612$ ;  $p = 0,008$ ). Estas diferencias podrían indicar un efecto protector de la profundidad en la prevención de la meteorización del plástico, con una baja temperatura y una deficiencia de la exposición a la radiación UV solar y la irradiación de calor, ambas estimulando la degradación iniciada por la luz solar de los microplásticos en un proceso de meteorización natural (Wang *et al.*, 2016). En el caso del PE, no se registraron diferencias significativas por sitio de muestreo (prueba  $F = 3,063$ ;  $p = 0,097$ ), y en el caso del PP, el sitio P2 ( $0,71 \pm 0,07$ ) volvió a mostrar el valor medio más alto estadísticamente significativo para el índice de carbonilo (prueba  $F = 16,974$ ;  $p = 0,001$ ) con diferencias estadísticamente significativas en las comparaciones por pares mediante la prueba LSD entre P2 y P1 ( $0,37 \pm 0,10$ ) ( $p = 0,006$ ), y P2 y P3 ( $0,23 \pm 0,04$ ) ( $p = 0,000$ ). Parece que la fotodegradación inicial en el punto de muestreo más superficial (P1) evoluciona hacia P2 a través de una reacción tipo I de Norrish debido a la formación del grupo carbonilo, seguida de un desarrollo más lento en el sitio más profundo (P3). Además, el análisis del COT mostró un porcentaje medio más alto para P2 ( $0,93 \pm 0,07\%$ ) que para P1 ( $0,44 \pm 0,04\%$ ) o P3 ( $0,67 \pm 0,26\%$ ), lo que refleja la descomposición de las cadenas de polímeros en el sedimento marino (Maes *et al.*, 2017).

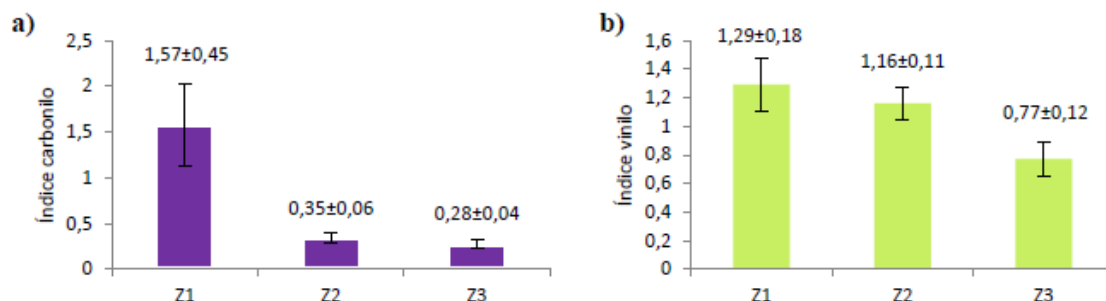


**Figura 3.** Índice carbonilo (a) y vinilo (b) para muestras microplásticas encontradas en sedimentos marinos

También parece haber una diferencia estadísticamente significativa entre los meses de muestreo de sedimentos marinos según los índices de carbonilo. Las muestras tomadas en septiembre ( $0,19 \pm 0,02$ ) tenían índices de carbonilo más bajos que las tomadas en junio ( $0,51 \pm 0,06$ ) ( $p = 0,000$ ) y marzo ( $0,44 \pm 0,09$ ) ( $p = 0,008$ ) (prueba  $F = 9,683$ ,  $p = 0,001$ ). Es poco probable que los factores fisicoquímicos externos contribuyan a la degradación de los microplásticos a temperaturas más bajas que a temperaturas más suaves (Niu *et al.*, 2021).

La degradación de las partículas de plástico es más probable en tierra que en el mar, donde hay menos exposición a los rayos UV y erosión mecánica (Gregory y Andrady, 2003). El índice de carbonilo en los sedimentos costeros resultó ser significativamente mayor en Z1 ( $1,57 \pm 0,45$ ), cerca de la línea de marea alta, que en Z2 ( $0,35 \pm 0,06$ ) y Z3 ( $0,28 \pm 0,04$ ) (prueba  $F = 4,025$ ;  $p = 0,026$ ). Aunque los tres lugares de muestreo se vieron afectados de forma similar por la radiación solar y los microorganismos, los microplásticos recogidos en Z1 también están expuestos a las olas y la presencia de oxígeno en el aire y el agua, los hace más susceptibles a las reacciones de modificación que producen radicales carbonilo, en particular la reacción Norrish I. La formación de grupos carboxilo, ésteres y cetonas en los microplásticos Z1 puede deberse a la radiación solar, la fotólisis, la oxidación térmica y la biodegradación (Singh y Sharma, 2008). El rango de valores del índice de carbonilo fue más amplio en Z1 que en Z2 y Z3, lo que sugiere una mezcla

de microplásticos recientes y degradados en este punto de muestreo. El valor máximo más bajo del índice de carbonilo se encontró en Z3 (0,68), lo que indica la proximidad de una mayor actividad antropogénica ya señalada anteriormente.

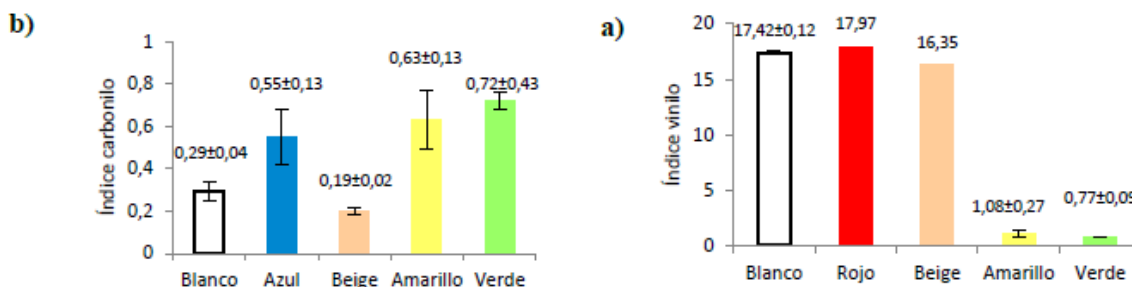


**Figura 4.** Índice carbonilo (a) y vinilo (b) para muestras microplásticas encontradas en sedimentos costeros

En contraste con los sedimentos marinos, las muestras costeras recogidas en septiembre ( $0,42 \pm 0,09$ ) tenían un índice de carbonilo más alto y estadísticamente significativo (prueba  $F = 3,613$ ;  $p = 0,025$ ) que las muestras recogidas en los otros meses ( $0,26 \pm 0,04$ ). Septiembre es un mes típicamente lluvioso en nuestra zona (Ruiz-Álvarez *et al.*, 2017), especialmente en 2019, año en el que se produjeron fuertes lluvias e inundaciones (Hermoso *et al.*, 2021), lo que podría haber traído más microplásticos degradados a la playa y aumentado la abrasión mecánica. Además, las precipitaciones de septiembre pudieron crear un entorno dinámico y provocar la fragmentación de los microplásticos obteniendo un tamaño medio menor ( $0,53 \pm 0,08$  mm) y estadísticamente significativo, que en cualquier otro mes (prueba  $F = 7,678$ ;  $p = 0,002$ ). En este sentido, el alto índice de carbonilo contribuyó a la acumulación del tamaño medio más pequeño. Resultados similares a los obtenidos en aguas residuales de la zona durante la temporada de lluvias (Bayo *et al.*, 2020).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el índice de carbonilo entre formas para los sedimentos marinos (prueba  $F = 4,736$ ;  $p = 0,016$ ), es decir, entre film ( $0,30 \pm 0,04$ ) y fragmentos ( $0,53 \pm 0,09$ ) ( $p = 0,014$ ) y entre film y filamentos ( $0,57 \pm 0,16$ ) ( $p = 0,049$ ). En los sedimentos costeros, se encontraron diferencias en el índice carbonilo entre los colores y las formas de PP (prueba  $F = 7,064$ ;  $p = 0,017$ ), con valores medios más bajos para los films de color ( $0,25 \pm 0,02$ ) que para los fragmentos blancos ( $0,84 \pm 0,18$ ) ( $p = 0,006$ ) o las fibras blancas ( $0,68 \pm 0,05$ ) ( $p = 0,040$ ). En la prueba de Kruskal-Wallis, se encontraron diferencias en el índice de carbonilo medio entre los colores ( $p = 0,016$ ) (Figura 5), probablemente entre el blanco y el azul ( $0,2931$  frente a  $0,5$ ).  $0,5525$ ,  $p = 0,037$ ) y blanco y verde ( $0,7191$ ,  $p = 0,011$ ), pero éstos desaparecieron tras el ajuste de significación mediante la corrección de Bonferroni para pruebas múltiples ( $0,555$  y  $0,165$ , respectivamente). Prata *et al* (2020) informaron de que no había diferencias en el número medio de carbonilos en función del color en los microplásticos recogidos en una playa de Portugal, pero que el número de carbonilos era menor en los gránulos de polipropileno negro que en las partículas amarillas. Se ha demostrado que los pigmentos

evitan o, al menos, protegen la degradación química de los plásticos al absorber la radiación UV dañina y atrapar los radicales que alteran las propiedades físicas y ópticas del polímero, además de actuar como antioxidantes en los sedimentos superficiales (Campanale *et al.*, 2020).

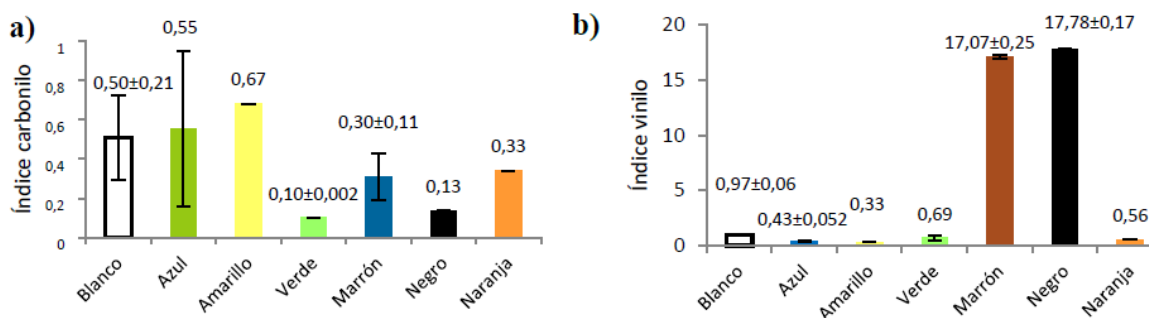


**Figura 5.** Valores medios por colores para el índice de carbonilo (a) y vinilo (b) en sedimentos marinos.

El índice de vinilo en los sedimentos marinos aumentó significativamente de P1 ( $0,84 \pm 0,07$ ) a P2 ( $1,26 \pm 0,19$ ) y luego a P3 ( $1,94 \pm 0,08$ ) (prueba  $F = 19,823$ ,  $p = 0,000$ ) (Figura 3). Después de la disminución significativa del índice de carbonilo de P2 a P3 de la que se había informado anteriormente, la formación de grupos de vinilo a través de la reacción Norrish II parece verse estadísticamente favorecida por la profundidad. El aumento de la formación de grupos carbonilo en P2 pudo conducir a una meseta o estabilización en el punto de muestreo más profundo (P3), y en cambio el retraso en la formación de grupos carbonilo secundarios en P3 condujo a un aumento significativo de la formación de grupos vinilo, como muestra el aumento estadísticamente significativo del índice de vinilo. Además, la disminución del índice de vinilo en P1, el sedimento marino menos profundo, podría deberse a la facilidad con la que los microorganismos metabolizan los dobles enlaces (Sen y Raut, 2015).

En el caso de los sedimentos costeros, el índice de vinilo disminuyó de Z1 ( $1,29 \pm 0,18$ ) a Z2 ( $1,16 \pm 0,11$ ), y luego a Z3 ( $0,77 \pm 0,12$ ) (prueba  $F = 3,724$ ;  $p = 0,033$ ) (Figura 4). Estos resultados, combinados con la disminución también significativa del índice de carbonilo de Z1 a Z3 previamente comunicada, pueden indicar que la formación masiva de grupos carbonilo y vinilo en Z1 se derivó de las reacciones Norrish tipo I y II, responsables de todo el proceso de degradación fotocatalítica. La evolución de los grupos carbonilo y vinilo son los principales indicadores para monitorizar el grado de degradación de un polímero (Tofa *et al.*, 2019) y, curiosamente, ambos índices aumentaron en la misma zona de muestreo, Z1, donde el microplástico sufre reacciones sucesivas y rápidas para generar polímeros que contienen carbonilo y vinilo. Este hecho también debería estar relacionado con la menor concentración de microplástico ( $18,78 \pm 3,30$  elementos  $\text{kg}^{-1}$  sedimento seco) previamente reportada para Z1. Además, las fibras mostraron un índice de vinilo estadísticamente significativo más bajo ( $0,78 \pm 0,14$ ) que para films ( $0,92 \pm 0,09$ ) y fragmentos ( $1,30 \pm 0,16$ ) (prueba  $F = 3,394$ ;  $p = 0,035$ ), estos últimos con la mayor superficie de exposición por estar sometidos a la intemperie química, y tanto las fibras como los fragmentos mostraron una mayor concentración media en Z3, el punto de muestreo con los índices medios de carbonilo y vinilo más bajos. Se encontraron diferencias entre los colores para el índice medio de vinilo ( $p = 0,003$ ) (Figura 6), es decir entre amarillo y marrón ( $0,3390$  frente a  $1,7018$ ,  $p = 0,011$ ), amarillo y negro ( $1,7783$ ,  $p = 0,038$ ), azul y marrón ( $0,4330$ ,  $p = 0,001$ ), azul y negro ( $p = 0,027$ ), verde y marrón ( $0,6968$ ,  $p = 0,010$ ), y blanco y

marrón (0,9789,  $p = 0,005$ ), aunque sólo se mantuvieron diferencias significativas para el azul y el marrón, como indica la corrección de Bonferroni ( $p = 0,014$ ). Por lo tanto, la presencia de grupos carbonilo y vinilo confirma la degradación foto-oxidativa de los polímeros, que podría conducir a la formación de nanoplasticos (Acosta-Coley y Olivero-Verbel, 2015). En general, un aumento de los índices de carbonilo y vinilo informo de una baja abundancia de microplásticos y de tamaños medios más bajos, especialmente para los sedimentos costeros, fuertemente relacionados con importantes factores que se dan simultáneamente, como la radiación solar, la fotodegradación, la oxidación térmica y la biodegradación. Sin embargo, los resultados para los sedimentos marinos no fueron tan claros, posiblemente debido a unas condiciones ambientales más suaves y estables, a la ausencia de radiación solar, así como a los remolinos anticiclónicos de mesoescala registrados en nuestra región.

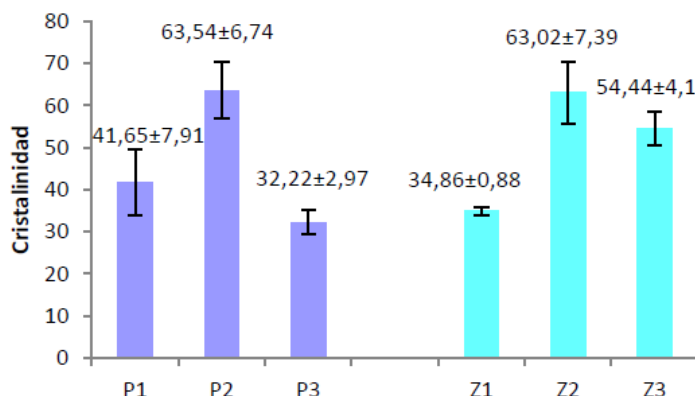


**Figura 6.** Valores medios por colores para el índice de carbonilo (a) y vinilo (b) en sedimentos costeros.

### Cambios en la cristalinidad.

Un polímero intacto tiene menor cristalinidad que un polímero erosionado, lo que indica que se ha producido una división de la cadena: cuanto más cortas son las cadenas, más móviles son, lo que conduce a una mayor y más fácil cristalización y fragilidad asociada (Stark y Matuana, 2004; Ter Halle *et al*, 2017; Liu *et al*, 2021). En general, la cristalinidad de los polímeros aumenta debido a la destrucción de la estructura y los grupos funcionales tras la degradación (Liu *et al*, 2019). Esto es coherente con la observación de que P2, el lugar de muestreo con el índice medio de carbonilo más alto para los sedimentos marinos (Figura 7) también presentó la mayor cristalinidad media, siendo las diferencias estadísticamente significativas (prueba F = 5,197,  $p = 0,028$ ).

## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS



**Figura 7.** Cristalinidad para muestras microplásticas encontradas en sedimentos marinos y costeros.

En general, los residuos plásticos marinos tienen una mayor cristalinidad en comparación con el material plástico bruto (Ter Halle *et al.*, 2017), ya que el aumento de la cristalinidad indica la escisión de la cadena debido a la oxidación y la posterior reorganización de las moléculas más pequeñas que recrystalizan en una estructura más ordenada (Stark y Matuana, 2004; Fayolle *et al.*, 2008). Aunque la cristalinidad en los sedimentos costeros no cambió significativamente entre los sitios de muestreo (prueba  $F = 1,743$ ,  $p = 0,196$ ), sí lo hizo en sedimentos marinos disminuyendo de P2 ( $63,54 \pm 6,74$  %) a P1 ( $41,65 \pm 7,91$  %) ( $p = 0,040$ ) y de P2 a P3 ( $33,22 \pm 2,97$  %) ( $p = 0,011$ ), la zona más profunda, según indicó el test LSD. En nuestro estudio, las fibras tenían el mayor índice de cristalinidad media ( $67,93 \pm 2,70$  %), seguidas de films ( $55,72 \pm 3,98$  %), fragmentos ( $40,50 \pm 3,01$  %) y microesférulas ( $35,73 \pm 3,55$  %) (prueba  $F = 3,006$ ,  $p = 0,043$ ) tanto para los sedimentos marinos como para los costeros.

### Desarrollo de modelos de regresión.

Para relacionar los cambios de cristalinidad con los índices de carbonilo y vinilo, se desarrollaron, a partir de los datos experimentales Coeficiente de correlación (R); Coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>); Coeficiente de determinación ajustado (R<sup>2</sup>adj); Error estándar de la estimación (Se); Regresión suma de cuadrados (SSREG); Residual suma de cuadrados (SSRES); Grado de libertad (df), dos modelos generales de regresión lineal de acuerdo a las siguientes ecuaciones para sedimentos marinos (1) y costeros (2),

$$\text{Crystallinity} = 26.281 + 293.482 * \text{Carbonyl Index} - 161.351 * \text{Vinyl Index} \quad (1)$$

$$\text{Crystallinity} = 93.398 + 22.845 * \text{Carbonyl Index} - 35.297 * \text{Vinyl Index} \quad (2)$$

Las ecuaciones (1) y (2) dieron como resultado valores R<sup>2</sup> de 0,770 y 0,649 respectivamente, lo que indica una clara relación lineal entre los índices de carbonilo y vinilo con los cambios en la cristalinidad como variable independiente, aunque una parte significativa de la varianza sigue sin explicarse. Esto puede deberse al hecho de que, mientras que todos los índices de degradación considerados en este estudio representan cambios en la superficie del polímero, las variaciones en la cristalinidad pueden causar cambios estructurales más profundos, con un

## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS

gradiente de variación desde la superficie al interior del material polimérico. Ambas ecuaciones mostraron una influencia negativa del índice de vinilo, aunque su inclusión en las ecuaciones fue necesaria ya que los modelos sin este índice dieron un  $R^2_{adj}$  más bajo, es decir, 0,341 y 0,038 para los sedimentos marinos y costeros, respectivamente, en comparación con obtenidos cuando se incluyó el índice de vinilo. La prueba estadística de Durbin-Watson se utilizó para detectar la ausencia de autocorrelación en los residuos de los modelos de regresión. Cuando el valor de Durbin-Watson converge a cero, existe una fuerte correlación entre los residuos de la regresión. En cambio, un valor de Durbin-Watson de casi 2,0 indica una correlación débil o una distribución aleatoria de los residuos (Rutledge y Barros, 2002). Los estadísticos de Durbin-Watson para los modelos de sedimentos marinos y costeros fueron de 2,563 y 1,627, respectivamente, lo que indica la independencia de los residuos.

Los modelos fueron validados mediante un análisis de los residuos estandarizados de los valores de cristalinidad observados frente a los predichos tanto para sedimentos marinos, en ambos casos, el par de valores se aproxima a una línea recta, lo que indica que los residuos normalizados de la regresión se distribuyen normalmente y que ambas ecuaciones no se comportan de forma anormal y son suficientemente robustas bajo el supuesto de una distribución normal de los errores del modelo.

## CONCLUSIONES

En los microplásticos presentes en sedimentos marinos del Puerto de Cartagena el índice de carbonilo fue estadísticamente significativo para los obtenidos a profundidad intermedia, aunque el índice de vinilo resultó aumentar desde los sedimentos marinos menos profundos hasta los más profundos. En el caso de las muestras de sedimento costero de la playa localizada junto al puerto, las recogidas cerca de la línea de marea alta mostraron los índices de carbonilo y vinilo más alto, y menor concentración media de microplásticos, lo que revela un importante proceso de degradación comandado por diferentes factores bióticos y abióticos. En los sedimentos marinos, la evolución de los índices no fue tan clara, ya que otros factores mesoscópicos influyeron en todo el proceso. En conclusión, ambos índices de envejecimiento pueden utilizarse de forma fiable para predecir los cambios en la cristalinidad, pero una parte importante de la variabilidad no se explica y debe aclararse en futuros estudios que consideren otros factores en el diseño experimental.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Acosta-Coley, I., Olivero-Verbel, J., (2015). Microplastic resin pellets on an urban tropical beach in Colombia. *Environ. Monit Assess.* 187 (7), 1–14.
- [2] [Andrady, A.L., Pegram, J.E., Tropsha, Y., (1993). Changes in carbonyl index and average molecular weight on embrittlement of enhanced-photodegradable polyethylenes. *J. Environ. Polym. Degrad.* 1 (3), 171–179.
- [3] Bayo, J., Angosto, J.M., Gomez-Lopez, MD., (2009). Ecotoxicological screening of reclaimed disinfected wastewater by *Vibrio fischeri* bioassay after a chlorination–dechlorination process. *J. Hazard. Mater.* 172, 166–171.
- [4] Bayo, J., Olmos, S., López-Castellanos, J., (2020). Microplastics in an urban wastewater treatment plant: The influence of physicochemical parameters and environmental factors. *Chemosphere* 238, 124593.



## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS

- [5] Bayo, J., Rojo, D., Olmos, S., (2019). Abundance, morphology, and chemical composition of microplastics in sand and sediments from a protected coastal area: The Mar Menor lagoon (SE Spain). *Environ. Pollut.* 252, 1357–1366.
- [6] Bronzo, L., Lusher, A.L., Schøyen, M., Morigi, C., (2021). Accumulation and distribution of microplastics in coastal sediments from the inner Oslofjord, Norway. *Mar. Pollut. Bull.* 173, 113076.
- [7] Campanale, C., Dierkes, G., Massarelli, C., Bagnuolo, G., Uricchio, V.F., (2020). A relevant screening of organic contaminants present on freshwater and pre-production microplastics. *Toxics* 8 (4), 100.
- [8] Claessens, M., De Meester, S., Van Landuyt, L., De Clerck, K., Janssen, C.R., (2011). Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Mar. Pollut. Bull.* 62 (10), 2199–2204.
- [9] Dehaut, A., Cassone, A.L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Riviere, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., Paul-Pont, I., (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environ. Pollut.* 215, 223– 233.
- [10] Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borrorro, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G., Reisser, J., (2014). Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PLoS One* 9 (12), 111913.
- [11] Fayolle, B., Richaud, E., Colin, X., Verdu, J., (2008). Degradation-induced embrittlement in semi-crystalline polymers having their amorphous phase in rubbery state. *J. Mater. Sci.* 43 (22), 6999–7012.
- [12] Gardette, M., Perthue, A., Gardette, J.L., Janecska, T., Földes, E., Pukánszky, B., Therias, S., (2013). Photo- and thermal-oxidation of polyethylene: comparison of mechanisms and influence of unsaturation content. *Polym. Degrad. Stab.* 98 (11), 2383–2390.
- [13] Gregory, M.R., Andrady, A.L., (2003). Plastics in the marine environment. In: Andrady, A.L. (ed.), *Plastics and the Environment*. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, pp. 379–401.
- [14] Hermoso, A., Homar, V., Amengual, A., (2021). The sequence of heavy precipitation and flash flooding of 12 and 13 September 2019 in eastern Spain. Part I: Mesoscale diagnostic and sensitivity analysis of precipitation. *J. Hydrometeorol.* 22 (5), 1117–1138.
- [15] Hofko, B., Porot, L., Cannone, A.F., Poulikakos, L., Huber, L., Lu, X., Mollenhauer, K., Grothe, H., (2018). FTIR spectral analysis of bituminous binders: reproducibility and impact of ageing temperature. *Mater. Struct.* 51 (2), 1–16.
- [16] Kaci, M., Sadoun, T., Cimmino, S., (2001). Crystallinity measurements of unstabilized and HALS- stabilized LDPE films exposed to natural weathering by FT-IR, DSC and WAXS analyses. *Int. J. Polym. Anal. Charact.* 6 (5), 455–464.
- [17] Kühn, S., Van Werven, B., Van Oyen, A., Meijboom, A., Rebolledo, E.L.B., Van Franeker, J.A., (2017). The use of potassium hydroxide (KOH) solution as a suitable approach to isolate plastics ingested by marine organisms. *Mar. Pollut. Bull.* 115 (1–2), 86–90.

## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS

- [18] Kurtela, A., Antolović, N., (2019). The problem of plastic waste and microplastics in the seas and oceans: impact on marine organisms. *Ribar. Croat. J. Fish.* 77 (1), 51–56.
- [19] Liu, G., Zhu, Z., Yang, Y., Sun, Y., Yu, F., Ma, J., (2019). Sorption behavior and mechanism of hydrophilic organic chemicals to virgin and aged microplastics in freshwater and seawater. *Environ. Pollut.* 246, 26–33.
- [20] Liu, X., Sun, P., Qu, G., Jing, J., Zhang, T., Shi, H., Zhao, Y., (2021). Insight into the characteristics and sorption behaviors of aged polystyrene microplastics through three type of accelerated oxidation processes. *J. Hazard. Mater.* 407, 124836.
- [21] Maes, T., Van der Meulen, M.D., Devriese, L.I., Leslie, H.A., Huvet, A., Frère, L., Robbens, J., Vethaak, A.D., (2017). Microplastics baseline surveys at the water surface and in sediments of the North-East Atlantic. *Front. Mar. Sci.* 4, 135.
- [22] Matsuguma, Y., Takada, H., Kumata, H., Kanke, H., Sakurai, S., Suzuki, T., Itoh, M., Okazaki, Y., Boonyatumanond, R., Zakaria, M.P., Weerts, S., Newman, B., (2017). Microplastics in sediment cores from Asia and Africa as indicators of temporal trends in plastic pollution. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 73 (2), 230–239.
- [23] Mellor, D.C., Moir, A.B., Scott, G., (1973). The effect of processing conditions on the UV stability of polyolefins. *Eur. Polym. J.* 9 (3), 219–225.
- [24] Miranda, M.N., Sampaio, M.J., Tavares, P.B., Silva, A.M., Pereira, M.F.R., (2021). Aging assessment of microplastics (LDPE, PET and uPVC) under urban environment stressors. *Sci. Total Environ.* 796, 148914.
- [25] [24] Moore, C.J., (2008). Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long- term threat. *Environ. Res.* 108 (2), 131–139.
- [26] Niu, L., Li, Y., Li, Y., Hu, Q., Hu, J., Wang, C., Zhang, W., Hu, J., Zhang, W., Wang, L., Zhang, C., Zhang, H., (2021). New insights into the vertical distribution and microbial degradation of microplastics in urban river sediments. *Water Res.* 188, 116449.
- [27] Prata, J.C., Reis, V., Paço, A., Martins, P., Cruz, A., da Costa, J.P., Duarte, A.C., Rocha-Santos, T., (2020). Effects of spatial and seasonal factors on the characteristics and carbonyl index of (micro) plastics in a sandy beach in Aveiro, Portugal. *Sci. Total Environ.* 709, 135892.
- [28] PlasticsEurope, *Plastics - the Facts* (2020). An analysis of European plastics production, demand and waste data. PlasticsEurope, Brussels.  
[https://www.plasticseurope.org/Plastics\\_the\\_facts-WEB-2020\\_versionJun21\\_final.pdf](https://www.plasticseurope.org/Plastics_the_facts-WEB-2020_versionJun21_final.pdf)
- [29] Razeghi, N., Hamidian, A.H., Wu, C., Zhang, Y., Yang, M., (2021) Microplastic sampling techniques in freshwaters and sediments: a review. *Environ. Chem. Lett.* 1–28.
- [30] Rutledge, D.N., Barros, A.S., (2002). Durbin–Watson statistic as a morphological estimator of information content. *Anal. Chim. Acta* 454, 277–295.
- [31] Ruiz-Álvarez, V., Belmonte-Serrato, F., García-Marín, R., (2017). Analysis of precipitations trends in the Region of Murcia (Southeast Spain) over the period 1956–2015. In: 6th International Conference on Meteorology and Climatology of the Mediterranean, February (pp. 20–22).
- [32] Sánchez, C., (2020). Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro-and microplastics biodegradation. *Biotechnol. Adv.* 40, 107501.

## EVOLUCIÓN DEL PROCESO DE DEGRADACIÓN QUÍMICA DE MICROPLÁSTICOS EN MUESTRAS DE SEDIMENTOS MARINOS Y COSTEROS

- [33] Sen, S.K., Raut, S., 2015. Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE): A review. *J. Environ. Chem. Eng.* 3 (1), 462–473.
- [34] [33] Singh, B., Sharma, N., (2008). Mechanistic implications of plastic degradation. *Polym. Degrad. Stab.* 93, 561–584.
- [35] Stark, N.M., Matuana, L.M., (2004). Surface chemistry and mechanical property changes of wood-flour/high-density-polyethylene composites after accelerated weathering. *J. Appl. Polym. Sci.* 94 (6), 2263–2273.
- [36] Sundar, S., Chokkalingam, L., Roy, P.D., Usha, T., (2021). Estimation of microplastics in sediments at the southernmost coast of India (Kanyakumari). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28 (15), 18495–18500.
- [37] Ter Halle, A., Ladirat, L., Martignac, M., Mingotaud, A.F., Boyron, O., Perez, E., (2017). To what extent are microplastics from the open ocean weathered?. *Environ. Pollut.* 227, 167–174.
- [38] Tofa, T.S., Kunjali, K.L., Paul, S., Dutta, J., (2019). Visible light photocatalytic degradation of microplastic residues with zinc oxide nanorods. *Environ. Chem. Lett.* 17 (3), 1341–1346.
- [39] Wang, J., Tan, Z., Peng, J., Qiu, Q., Li, M., (2016). The behaviors of microplastics in the marine environment. *Mar. Environ. Res.* 113, 7–17.
- [40] Woodall, L.C., Gwinnett, C., Packer, M., Thompson, R.C., Robinson, L.F., Paterson, G.L., (2015). Using a forensic science approach to minimize environmental contamination and to identify microfibrils in marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 95 (1), 40–46.
- [41] Zerbi, G., Gallino, G., Del Fanti, N., Bainsi, L., (1989). Structural depth profiling in polyethylene films by multiple internal reflection infra-red spectroscopy. *Polym.* 30 (12), 2324–2327.