



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

MEDICIÓN *IN SITU* DE
CONCENTRACIONES DE TRAZAS DE
SULFURO EN AGUAS COSTERAS
MARINAS MEDIANTE GRADIENTE
DIFUSIVO EN MUESTREADORES DE
PELÍCULA DELGADA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

KEVIN JEFERSON DIAZ RUIZ

LIMA – PERÚ

2025

ASESOR

DRA. MICHELLE IVETTE GRACO

CO ASESOR

DR. DAVID POINT

JURADO DE TESIS

DR. DIMITRI ALEXEY GUTIERREZ AGUILAR

PRESIDENTE

DR. ARTURO AGUIRRE VELARDE

VOCAL

DR. JORGE AQUILES CARDICH SALAZAR

SECRETARIO (A)

DEDICATORIA.

A mi familia por ser fuente de inspiración y superación.

A mis amigos, por su constante apoyo.

A cada una de las personas que cuya labor que realizan nos permite avanzar hacia
un mejor conocimiento de nuestro océano.

AGRADECIMIENTOS.

Quiero empezar a dar mis agradecimientos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYTEC) y al programa PROCIENCIA que gracias al financiamiento se ha podido desarrollar la presente investigación.

Agradezco además a otras fuentes de apoyo y financiamiento, de instituciones como: el proyecto sobre “Estudio integrado del afloramiento costero frente a Perú” de la Dirección General de Investigaciones en Oceanografía y Cambio Climático del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), al proyecto “H2Sense” del Institut de Recherche pour le Développement-IRD, al laboratorio de hidroquímica marina – Perú y al laboratorio Géosciences Environnement Toulouse (GET) del Observatorio de Midi-Pyrénées (OMP) – Francia, a todos ellos, muchas gracias por el respaldo para la realización de las actividades que hicieron posible la realización de la investigación.

Un especial agradecimiento a mi asesora, la Dra. Michelle Graco, por todo el apoyo y compromiso dedicado a este trabajo, por sus consejos, su paciencia y por guiarme en este camino de la investigación. Mi más profundo agradecimiento a mi co-asesor el Dr. David Point, por sus palabras de aliento, por compartir sus conocimientos en la temática sobre tecnologías de gradiente difusivo, y su constante apoyo para la realización de este trabajo.

A mi colega y amigo de trabajo Wilson Carhuapoma, que estuvo siempre apoyándome en cada ensayo en el laboratorio y por su compañía en las salidas a campo, mi más profundo agradecimiento.

Al equipo de investigadores del laboratorio de hidroquímica del IMARPE, a mi colega y amigo el Ing. Jesús Ledesma por las tantas coordinaciones para hacer posible las salidas a campo otorgándome las facilidades para poder obtener los mejores resultados para la presente investigación. A mi colega y amiga la Dra. Maricarmen Igarza, por el apoyo constante durante la redacción del artículo hasta lograr su publicación. Agradezco también a mi amigo Miguel Sarmiento, por su colaboración en cada una de las salidas a campo, a todos ustedes por sus consejos y por invertir tiempo en este trabajo.

A mis amigos que conocí en la Maestría en Ciencias del Mar: Gian Paul Galarza, Paul Tacuri y Carlos Escobar, conocidos como los “Avengers”. A mis grandes amigas Katherine Natividad y Jimena Mendoza, agradezco sus opiniones, consejos, apoyo y su gran amistad.

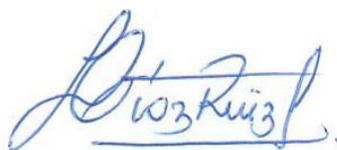
A todos y cada uno de ustedes, muchas gracias.

“Reimos y lloramos; caemos, nos levantamos; disfrutamos lo bueno y aprendemos de lo malo...”

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

Este trabajo fue subvencionado por el CONCYTEC a través del programa PROCIENCIA en el marco del concurso “*Proyectos de Investigación Aplicada y Desarrollo Tecnológico 2021-02*”, según contrato N° 045-2021-FONDECYT.

DECLARACIÓN DE AUTOR			
FECHA	10	NOVIEMBRE	2025
APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO	DIAZ RUIZ KEVIN JEFERSON		
PROGRAMA DE POSGRADO	MAESTRÍA EN CIENCIAS DEL MAR		
AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS	2020		
TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO	MEDICIÓN <i>IN SITU</i> DE CONCENTRACIONES DE TRAZAS DE SULFURO EN AGUAS COSTERAS MARINAS MEDIANTE GRADIENTE DIFUSIVO EN MUESTREADORES DE PELÍCULA DELGADA		
MODALIDAD DE TRABAJO DE GRADO	Desarrollo temático de artículo		
Declaración del Autor			
El presente Trabajo de Grado es original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.			
Teléfono de contacto (fijo / móvil)	977960025		
E-mail	kevin.diaz.r@upch.pe		



Firma del Egresado
DNI 73745367

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN
ABSTRACT

I.	ARTÍCULO PUBLICADO	1
II.	DISCUSIÓN	10
2.1.	Limitaciones de los métodos convencionales para la detección de sulfuro disuelto frente a la técnica de gradiente difusivo.	10
2.2.	Muestreadores DGT <i>in house</i> para la detección de sulfuros disueltos en ambientes marino-costeros en Perú presente y futuro.....	15
2.3.	Aplicación de muestreadores DGT para la estimación de sulfuro disuelto en ambientes marino-costeros.....	16
2.4.	Limitaciones de los muestreadores DGT para la medición de sulfuros disueltos	20
2.5.	Estrategias de transferencia tecnológica del uso de muestreadores DGT en el Perú	22
III.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	23
IV.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

RESUMEN

El presente informe se basa en el artículo científico titulado “*In situ measurement of trace sulfide concentrations in marine coastal waters using diffusive gradient thin film passive samplers*”, publicado como parte de una investigación que tiene como objetivo desarrollar, calibrar y evaluar el desempeño de muestreadores pasivos desarrollados localmente (“*in house*”) empleando un procedimiento de síntesis de yoduro de plata (AgI) en una matriz no tóxica (agarosa), para la cuantificación de sulfuros disueltos en ambientes marino-costeros del sistema de surgencia peruano, permitiendo una medición precisa, continua y de bajo costo, incluso en condiciones anóxicas y con alta carga orgánica. Esto demuestra la utilidad de los muestreadores pasivos como una alternativa innovadora para estudios oceanográficos sostenibles en el tiempo frente a los métodos tradicionales existentes, superando las limitaciones como la interferencia química, la necesidad de manipulación anaeróbica y el alto costo de los dispositivos comerciales empleados para la medición de sulfuro disuelto. Además, de representar una alternativa operativa y sostenible para el monitoreo del ciclo del azufre, esta innovación abre un camino hacia la transferencia tecnológica nacional contribuyendo así a una red de monitoreo sostenible y autónoma frente a los desafíos del cambio climático y la gestión de ecosistemas vulnerables.

PALABRAS CLAVES

SULFUROS, GRADIENTE DIFUSIVO EN PELICULA DELGADA (DGT), ZONAS MARINO COSTERAS, MONITOREO DE BAJO COSTO, TRANSFERENCIA TECNOLOGICA.

ABSTRACT

The present report is based on the scientific article entitled “*In situ* measurement of trace sulfide concentrations in marine coastal waters using diffusive gradient thin film passive samplers”, published as part of a research project aimed at developing, calibrating, and evaluating the performance of locally developed (“*In house*”) passive samplers using a silver iodide (AgI) synthesis procedure in a non-toxic matrix (agarose) for the quantification of dissolved sulfides in marine-coastal environments of the Peruvian upwelling system, enabling accurate, continuous, and low-cost measurement even under anoxic conditions and with a high organic load. This demonstrates the usefulness of passive samplers as an innovative alternative for sustainable oceanographic studies over time compared to existing traditional methods, overcoming limitations such as chemical interference, the need for anaerobic manipulation, and the high cost of commercial devices used to measure dissolved sulfide. In addition to representing an operational and sustainable alternative for monitoring the sulfur cycle, this innovation paves the way for national technology transfer, thus contributing to a sustainable and autonomous monitoring network to address the challenges of climate change and the management of vulnerable ecosystems.

KEYWORDS

SULFIDES, DIFFUSIVE GRADIENT IN THIN FILM (DGT), COASTAL ZONES, LOW-COST, TECHNOLOGY TRANSFER.

I. ARTÍCULO PUBLICADO

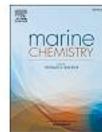
Marine Chemistry 271 (2025) 104521



Contents lists available at ScienceDirect

Marine Chemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marchem



In situ measurement of trace sulfide concentrations in marine coastal waters using diffusive gradient in thin film passive samplers

Kevin Diaz^{a,d,*}, David Point^b, Wilson Carhuapoma^a, Astrid Avellan^b, Maricarmen Igarza^a, Jesús Ledesma^a, Fanny Rioual^c, Michelle Graco^a

^a Dirección General de Investigaciones en Oceanografía y Cambio Climático, Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle S/N, Callao 07021, Peru

^b Observatoire Midi Pyrénées, UMR CNRS 5563 IRD 234 Géosciences Environnement Toulouse (GET), 14 avenue Edouard Belin, France

^c Laboratory of Environmental Marine Sciences (LEMAR), UMR6539 (UBO/CNRS/IRD/Ifremer), Technopole Brest-Iroise, Plouzané, France

^d Programa de maestría en Ciencias del Mar, Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), Peru

ARTICLE INFO

Keywords:

Diffusive gradient in thin film (DGT)
Sulfides
Trace concentration levels
Low-cost marine observatory

ABSTRACT

The diffusive gradient in thin film technique (DGT) represents an *in situ* passive sampling method designed to preconcentrate various compounds, including sulfides, for detection at low concentrations. While DGT applications for sulfides have been studied in freshwater, this research extends its use to marine environments. A detailed methodology is presented for synthesizing, assembling, calibrating, and field-deploying DGT samplers to measure sulfides in the low micromolar range in marine waters. The in-house DGT samplers developed in this study demonstrated improved performance, with more homogeneous binding gels and smaller silver iodide particles ($0.51 \pm 0.34 \mu\text{m}$) compared to commercial alternatives. Grayscale imaging enabled accurate quantification of sulfide accumulation in the gels, confirming the method's reliability for detecting trace-level sulfides in marine environments. Comparative analysis showed in-house and commercial samplers performed similarly in estimating sulfide concentrations. Field deployments along the Peruvian coast revealed significant vertical and spatial sulfide gradients. In the Callao coastal area (12°S) (July–August 2022), concentrations ranged from 0.03 to 0.45 μM across a 35 m depth profile. In Paracas bay (13.8°S) (March–April 2023), a shallower coastal station, concentrations ranged from 1.17 to 6.46 μM , reflecting increased benthic production. These results highlight the utility of DGT samplers as cost-effective tools for biogeochemical monitoring, enabling studies of the ocean sulfur cycle. The findings emphasize the growing application of DGTs in marine and coastal water column research.

1. Introduction

The sulfur cycle in the ocean is a key biogeochemical process, with sulfate serving as a significant reservoir (Sievert et al., 2007). In low oxygen zones, primary production and export of organic matter drive the sulfur cycle. The oxidation of organic matter, together with sulfate reduction and sulfidogenesis, mainly generates sulfides (HS^-) and other reduced sulfur intermediates such as hydrogen sulfide (H_2S), thiosulfate ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) and sulfite (SO_3^{2-}) (Callbeck et al., 2021). The transformation of inorganic sulfur, through the reductive and oxidative pathways of the marine sulfur cycle, produces nitrite and ammonium, which are critical substrates for anammox and nitrification processes (Canfield et al., 2010; Callbeck et al., 2021). This process influences the fixation of carbon (Fike et al., 2015) and nitrogen (Callbeck et al., 2021) in anoxic

zones, reinforcing the formation of sulfur plumes and potentially enhancing phosphate release from sediments (Heijs et al., 2000; Lomnitz et al., 2016; Wu et al., 2019). Furthermore, in anoxic sediments, dissolved sulfide significantly affects the distribution and mobility of trace metals like iron by forming stable metal sulfide complexes (Di Toro et al., 1990; Gao et al., 2015; Wu et al., 2019).

Recent studies indicate that sulfur cycle activity intensifies in highly productive, low-oxygen areas (Dugdale et al., 1977; Callbeck et al., 2021). The Humboldt Current ecosystem is one of the most productive ocean regions in the world due to nutrient-rich upwelling. It features a shallow oxygen minimum zone, resulting from high primary production, carbon export, and organic matter remineralization (Wooster and Gilmartin, 1961; Codispoti and Packard, 1980). Organic matter degradation through sulfate reduction leads to hydrogen sulfide (H_2S)

* Corresponding author at: Dirección General de Investigaciones en Oceanografía y Cambio Climático, Instituto del Mar del Perú, Esquina Gamarra y General Valle S/N, Callao 07021, Peru

E-mail address: kdiaz@imarpe.gob.pe (K. Diaz).

<https://doi.org/10.1016/j.marchem.2025.104521>

Received 25 November 2024; Received in revised form 11 April 2025; Accepted 28 April 2025

Available online 1 May 2025

0304-4203/© 2025 Elsevier B.V. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

formation, which accumulates in anoxic sediments and can occasionally diffuse into the oxic layer (Jørgensen, 1982; Chauca, 2018; Callbeck et al., 2021). Large sulfide plumes along the Peruvian coast cause fish and invertebrate migrations and mortality, due to H_2S toxicity even at low concentrations (Copenhagen, 1953; Levin et al., 2009; Bagarinao, 1992; APHA, 1985; Wang and Chapman, 1999). Therefore, monitoring sulfide concentrations ($H_2S + HS^- + S^{2-}$) is crucial for environmental protection, as well as for oceanographic, and biotoxicological research (Radford-Knoery and Cutter, 1993; Li et al., 2022a, 2022b).

Various analytical methods have been developed to quantify sulfide concentrations, including spectrophotometry (Cline, 1969; Shanthi and Balasubramanian, 1996; Grasshoff et al., 2009; Bowles et al., 2003; Čmelík et al., 2010), fluorescence (Toda et al., 2011, 2012; Wu and Tong, 2019; Leal et al., 2021), chemiluminescence (Huang et al., 2007; Du et al., 2001; Liu and Han, 2016), chromatography (Tang and Santschi, 2000; Mylon and Benoit, 2001; Small and Hintelmann, 2007), and atomic fluorescence spectroscopy (Jin et al., 2007). However, these methods often require complicated handling, which can lead to oxidation, volatilization, and loss of sulfides (Toda et al., 2011; Li et al., 2022a, 2022b). To overcome these challenges, various *in situ* methods have been developed, each presenting advantages and limitations (Tang and Santschi, 2000). For example, *in situ* detection techniques such as cathodic stripping voltammetry (Ciglenečki and Cosović, 1996; Ciglenečki et al., 2005) are susceptible to electrode fouling, causing anomalous readings (Mylon and Benoit, 2001). Sensitive sulfide microsensors with *in situ* pumps and profilers have also been developed (Kühl et al., 1998; Meyer et al., 2018; Schunck et al., 2013), but they require constant calibration to compensate for oxide formation on the sensor surface (Kühl et al., 1998). These challenges emphasize the difficulty of accurately measuring trace levels of sulfides in oceanic waters.

The diffusive gradients in thin film technique (DGT) (Davison and Zhang, 1994) is a robust technique used to determine dissolved free metal ions and labile metal complexes, which represent potentially bioavailable metal forms (Davison and Zhang, 1994; Harper et al., 2000; Zhang and Davison, 2001; Twiss and Moffett, 2002; Degryse et al., 2003; Dunn et al., 2003; Gimpel et al., 2003; Li et al., 2019). Furthermore, it represents an alternative and promising technique for *in situ* measurement of dissolved sulfide which has been successfully applied across various environments, mostly in fresh waters (Naylor et al., 2006; Ding et al., 2012; Ma et al., 2017) and sediments (Teasdale et al., 1999; DeVries and Wang, 2003; Widerlund and Davison, 2007). Validation

and application of DGT technique for marine waters to detect trace sulfide concentrations is mostly undocumented, despite existing applications in contact with marine sediments (Robertson et al., 2008; Robertson et al., 2009; Pages et al., 2011; Kankanamge et al., 2020) where sulfide concentrations are elevated (Table 1). Passive DGT samplers used for sulfide preconcentration include a binding gel containing silver iodide (AgI) particles that react with sulfides in the medium (Teasdale et al., 1999; DeVries and Wang, 2003; Robertson et al., 2008; Robertson et al., 2009), and a diffusive gel made of agarose or polyacrylamide. Sulfides accumulate in the binding gel depending on exposure time, DGT surface area, sulfide concentration, and their diffusion properties according to Fick law through the diffusive gel. In the presence of sulfides, AgI reacts with them to become Ag_2S , leading to a color change from white to dark brown in the binding gel as a function of sulfide amounts, which can be analyzed by computer densitometry to estimate sulfide concentration (Teasdale et al., 1999; DeVries and Wang, 2003; Motelica-Heino et al., 2003). DGT samplers are easy to use and provide advantages such as capturing dissolved sulfide (Teasdale et al., 1999) and stabilizing the silver sulfide (Ag_2S) complex to prevent further reoxidation and volatilization losses (Teasdale et al., 1999; Rearick, 2004). The detection limit can be increased with longer deployment times and/or thinner diffusion layers (Zhang and Davison, 1995; Teasdale et al., 1999). DGT samplers are also efficient across a wide range of pH values (Zhang and Davison, 1995, 1999; Gimpel et al., 2001; Rearick, 2004). Despite of these advantages, most DGT calibration and accuracy studies have mostly focused on freshwaters, with limited research on measurement validation and application for marine environments (Vrana et al., 2005).

In this study, we present the synthesis procedure and characterization of AgI particles in non-toxic agarose binding gels, avoiding the use of acrylamide and other compounds in their traditional preparation, as well as the preparation of non-toxic agarose diffusive gels. In-house DGT samplers were prepared, calibrated in the laboratory using both fresh and marine waters and deployed in the field to measure diluted sulfide concentrations (within the low micromolar range) in coastal marine waters depth profiles. Finally, we conducted a comparative study between in-house DGT samplers and commercial DGT® Research samplers (Zhang and Davison, 1995), evaluating their performance both in the laboratory and in the field in two different areas of the Peruvian coast.

Table 1
Development of binding agents in diffusive gradient thin film techniques (DGT) for sulfides and sampler application medium.

Sampler application medium	Target analytes	Type of adsorbents	Type of procedure	Analytical techniques	Applied condition	References
In laboratory	S(VI, Sulfate)	Chelex	A formula patented by DGT Research Ltd.	HR-ICPMS	pH: 4.7–6.0	Garmo et al. (2003)
	$H_2S + HS^-$	AgI	A formula patented by DGT Research Ltd	CID		DeVries and Wang (2003)
	S(-II)	ZrO-AgI	Particle sequestration	CID	pH: 8.8–9.2 24 °C	Ding et al. (2012)
Sediment porewaters	Sulfide	AgI	Precipitated	CID		Pages et al. (2011)
	Sulfide	AgI	Precipitated	CID	33.5 ± 6.4 % LOI 550 (loss-on-ignition)	Kankanamge et al. (2020)
	Sulfide	AgI	Precipitated	CID		Robertson et al. (2008) Robertson et al. (2009)
Sediment	$H_2S + HS^- + S^{2-}$	AgI	Precipitated	CID	−4–8 °C	Widerlund and Davison (2007)
	Sulfide	AgI	Precipitated	CID	pH: 7.0	Teasdale et al. (1999)
	Sulfide	AgI	Precipitated	CID	<0.25 m depth at low tide	
Freshwater/sediment	Sulfide	AgI	Precipitated	CID		DeVries and Wang (2003)
	S(-II)	ZrO-AgI	Particle sequestration	CID		Ding et al. (2012)
	Sulfide	AgI	Particle sequestration	CID		Ma et al. (2017)
	S(-II)	AgI	Particle sequestration	CID		Naylor et al. (2006)

HR-ICPMS: High-resolution inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry.
CID: Computer-imaging densitometry.

2. Material and methods

2.1. Reagents

Agarose (BioReagent, for molecular biology, under EEO A9539), Silver nitrate (AgNO_3 , EMSURE ACS, ISO, Reag. Ph Eur.), Potassium iodide (KI, >99 % EMSURE, ISO, Reag. Ph Eur.), Sodium sulfide ($\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ≥ 98 % ACS Reagent – Sigma, Aldrich), Sodium chloride (NaCl, 99.99 % Suprapur EMSURE, ISO, Reag. Ph Eur.), Potassium nitrate (KNO_3 , > 99.0 % EMSURE, ISO, Reag. Ph Eur.), Phosphate buffer (0.1 M – pH: 7.00) (from sodium phosphate dibasic heptahydrate ACS reagent, 98.0–102.0 % and sodium phosphate monobasic monohydrate ACS reagent, ≥ 98 %).

2.2. DGT gels fabrication and assemblage

The agarose diffusive gel was made according to the procedure of Wang et al., 2016. The solution was immediately poured between two glass plates 200×60 mm and 2 mm thick, also preheated at 70°C and separated by a 0.75 mm Teflon spacer and clamped (see Supporting Information, Fig. S01). The plates were then allowed to cool for 60 min at room temperature. They were then immersed in a flat container with 500 mL of MilliQ water and carefully pulled apart to remove the gel sheet, which was cut with a 24 mm circular punch. The diffusive binding gels were placed in a Falcon tube filled with MilliQ water at 4°C for 24 h before use.

The optimized procedure for the synthesis of AgI binding gels was adapted from Ren et al., 2021. Briefly, the formation of AgI particles was carried out through the mixing of a 23 mM solution of silver nitrate (AgNO_3) and a 28 mM solution of potassium iodide (KI). We dissolved separately in two 40 mL amber glass vials 0.056 g of AgNO_3 and 0.066 g of KI in 18 and 17 mL of MilliQ water respectively. To complete the synthesis of AgI particles, 0.3 mL aliquots of the KI solution were added every 30 s to the AgNO_3 solution under low stirring conditions at room temperature. Once the final volume reached 35 mL, 0.525 g of agarose was added and allowed to stir for 10 min. The vial was then placed in a 75°C water bath on a magnetic stirrer for 35 min at 100 rpm to achieve complete dissolution of the agarose. A glass ball was placed on top of the EPA vial during this step, to minimize water loss. The temperature in the water bath system was reduced to 70°C (See supplementary information Fig. S02). Then the AgI solution with melted agarose was pipetted with a tip preheated to 70°C (covered with aluminum foil), between two glass plates also preheated at 70°C and separated by a 0.5 mm Teflon spacer held with clamps. The same steps as for the diffusive gels were applied for punching out the binding gel disks. Additionally, the binding gels were rinsed 10 times with MilliQ water in a Falcon tube and agitated gently by hand to remove reagent impurities. The binding agent was distributed relatively homogeneously without visible sedimentation of AgI particles. Binding gels were stored in 30 mM NaCl at 4°C before use.

The DGT were assembled using piston-type plastic holders and caps obtained from DGT® Research (Zhang and Davison, 1995) that have a window area diameter of 20 mm. The samplers were assembled by depositing the binding gel at the surface of the piston first. The diffusive gel was added to the binding gel, followed by a 25 mm Supor® PALL hydrophilic polyethersulfone (PES) filter with a pore size of $0.45\ \mu\text{m}$ and a thickness of $140\ \mu\text{m}$. The sampler was then sealed with a plastic cap. In-house DGT samplers were kept in a small zip lock bag filled with a few drops of MQ/30 mM NaCl. All samplers were stored at 4°C before use.

2.3. Characterization of the binding gel by image microscopy

The determination AgI particle size distribution in the agarose binding gel was performed using an enhanced dark field microscope (Olympus BX51 Cytoviva). The binding gels were cut in pieces, placed between glass slides and observed in oil immersion (objective $\times 60$). Obtained images were processed using the ImageJ software (Fiji version

1.0). Images were converted into grayscale, pixel scaled, and threshold to only account for signals from particles in focus. Particles were automatically detected using the Fiji “analyze particle” function (filtering out the particle touching the edge of the image). The number of particles per mm^2 (particle density) in the images was estimated based on these results. The minimum Ferret’s distance was used as a proxy of the tracked particles’ diameter for both in-house ($n = 1628$ particles) and commercial samplers ($n = 690$ particles). Average particles’ diameter, associated confidence interval and histogram of particle size distribution within the gels were calculated using XLStat (version 2023.3.0).

2.4. Calibration of DGT samplers

Commercial and in-house DGT samplers were exposed to known sulfide concentrations ranging from 4 to $200\ \mu\text{M}$ for 4 h in 1 L airtight plastic vessels filled with MilliQ waters containing 0.01 M KNO_3 previously purged with Argon for 40 min to achieve anoxia in the system, and without headspace and buffered to pH 7.00 with 0.1 M phosphate buffer. Both commercial and in-house DGT samplers were implemented in triplicate at each concentration. Sulfide concentrations exposed during calibration were verified before and during the 4 h of exposure by spectrophotometry following procedures established by Grasshoff et al. (1999). The vessels were placed on a magnetic stirrer set at 220 rpm, throughout the purge and exposure time. The concentration of sulfide in the solution was adjusted to the desired value using a primary standard solution, prepared daily using sodium sulfide (Na_2S) in a 250 mL Nalgene container filled with MilliQ water previously purged with argon for 40 min without headspace. The concentration of the primary standard solution was prepared in way so that the volume of standard solution added to the plastic vessels was less than 1 % of the total volume (1 L). For DGT exposure in seawater, a volume of surface water from Callao Bay (-19.3°C , 34.627 psu, and pH = ~ 7.80) was filtered and purged with argon for 50 min. The same calibration procedure described above was used. Finally, for the estimation of sulfides in the samplers, boundary layer diffusion was considered negligible during calibration, as all solutions were continuously stirred.

2.5. Binding gel imaging

After exposure, DGT plastic supports were separated to recover the binding gels with plastic tweezers. The binding gels were placed wet between two 0.2 mm thick sheets of transparent vinyl. A Xerox Versalink C7025 PCL6 flatbed scanner was used to obtain a JPEG image at 300 dpi. The image files were then transformed into 8-bit grayscale images according to Teasdale et al., 1999, using ImageJ software, giving a resolution of 256 shades of gray in RGB color ranges; from white (255) to deep black (0) at a vertical and lateral resolution of $85\ \mu\text{m}$ of the imaging process as described by DeVries and Wang (2003). The RGB value of each binding gel obtained with image J was spatially integrated over the binding gel surface area.

2.6. Sulfide concentration estimates

Sulfide concentration estimates in the binding gels were determined by relating the grayscale intensity to the amount of sulfide accumulated in the gel. The accumulated mass of sulfides per unit area (M/A) can be determined in Eq. (1), based on the known concentration of sulfides exposed in the calibration solution, the exposure time in seconds (t), the thickness of the diffusive layer (diffusive gel and the membrane filter) in cm (Δg) and the diffusion coefficient of the analyte in the diffusive gel in $\text{cm}^2\ \text{s}^{-1}$ (D) (Davison, 2016). Diffusion coefficient values were obtained from tables from DGT Research Ltd. Finally, M/A is plotted against the grayscale intensity of the binding gels for the different calibration solutions (Fig. 4) and fitted using a non-linear function (Eq. (2))

$$C_{DGT} = \frac{M \Delta g}{ADt} \quad (1)$$

$$y = \ln(a) + b \ln(x) \quad (2)$$

Diffusive boundary layer diffusion was considered to be negligible during laboratory calibration since all solutions were continuously stirred, and during fieldwork since DGTs were consistently agitated by wave action inducing vertical oscillations of the mooring in shallow coastal waters.

2.7. Field deployments

For field deployments (See supplementary information Fig. S03), both in-house and commercial DGTs (the latter assembled considering only the DGT Research binding gel) were deployed at different depths in the bay of Callao, North of Lima, and in Southern Pisco - Paracas (Fig. 1a) between July–August 2022 and March–April 2023 respectively. In Callao Bay, DGTs were deployed at station E0 at approximately 35 m depth, located on the north side of San Lorenzo Island (Fig. 1b), with temperatures ranging between 13.8 and 15.2 °C, with dissolved oxygen contents between 0.15 and 3.83 mL.L⁻¹, average salinity of 34.940 psu and a pH between 7.68 and 8.10 during the deployment time. At station EM (10 m deep), located in the central part of the Paracas - Pisco Bay (Fig. 1c), temperatures between 19.0 and 19.4 °C and an average dissolved oxygen of 0.2 mL.L⁻¹ at the bottom were recorded during deployment. This area, located south of Lima, is characterized by the presence of sulfide plumes (Callbeck et al., 2021; Ohde, 2018; Schunck et al. 2013).

3. Results and discussion

3.1. Characterization of synthesized binding gels

The detection of sulfide concentration by DGT is based on the color change of the AgI binding gel from white to dark brown in the presence of dissolved sulfides (HS⁻ + H₂S). It is essential to get a homogeneous distribution of reactive AgI particles in the binding gel to get more precise, reproducible, and accurate sulfide measurements. In this way, the synthesis process is particularly important. In this study, we adapted a procedure for the synthesis of AgI(s) using AgNO₃ and KI from Ren et al., 2021, differing from previous methods, where successive immersions of the binding gel were carried out in solutions of AgNO₃ and KI (Teasdale et al., 1999). Unlike the method proposed by DeVries and Wang (2003), which achieved greater homogeneity of AgI in the binding gel, but required significantly higher amounts of AgNO₃ and excessive concentrations of KI, our approach minimizes the need for extensive rinsing while still achieving a uniform distribution of AgI particles, improving synthesis time and avoiding the use of harmful solutions such as polyacrylamide, TEMED, and ammonium persulfate (APS).

By slowly adding the KI solution at a sufficiently high concentration into a warm and well-stirred AgNO₃(s) solution, we were able to better control the formation of smaller AgI particles within the low micrometer-upper nanometer range. These particles were homogeneously dispersed in the binding gel after the addition of 1.5 % agarose at 75 °C. Microscopy images of the binding gels are shown in Fig. 2. The results confirmed that AgI particles produced by this procedure are distributed relatively homogeneously and that their average diameter is significantly smaller (0.51 ± 0.34 μm) than commercial DGT binding

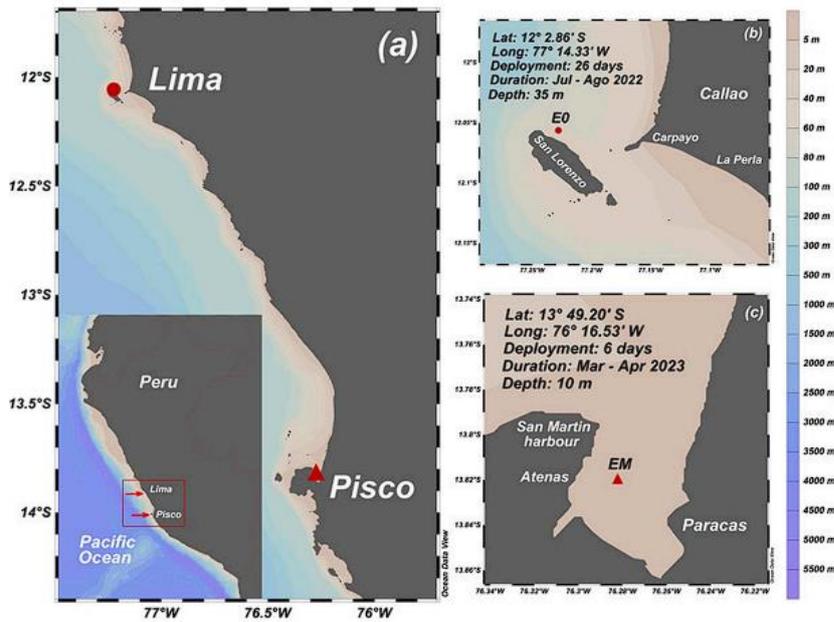


Fig. 1. (a) Location of Lima - Callao and Pisco - Paracas Bays on the Peruvian coast. (b) Position of station E0 within the Bay of Callao located in the northern part of San Lorenzo Island in red circle (c) Position of station EM; within the central part of Paracas Bay - Pisco in red triangle.

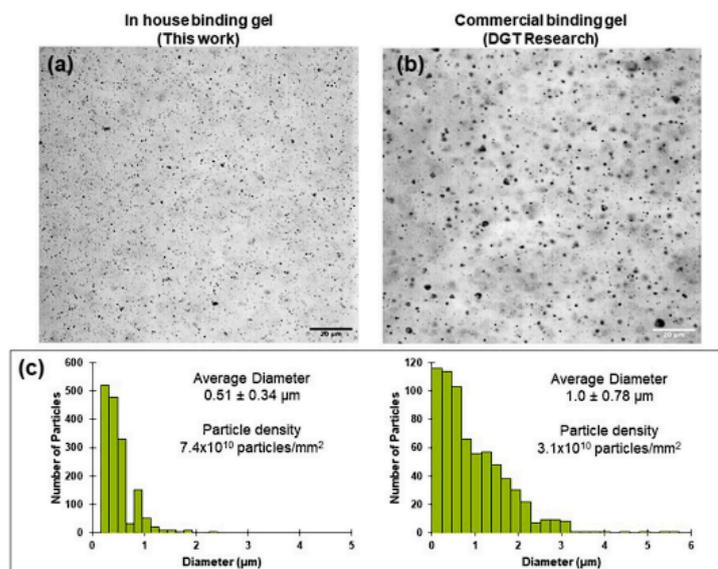


Fig. 2. Enhanced dark-field microscopy images of the in-house binding gel (a) and of commercial binding gels from DGT Research (b). Estimated distribution, density and average diameter of AgI particles (c).

gels ($1.0 \pm 0.8 \mu\text{m}$), roughly by a factor 2 (Fig. 2a). Furthermore, the AgI particle density (Fig. 2c) was twice as high in the in-house gel (7.4×10^{10} particles- mm^2) compared to the commercial binding gels (3.1×10^{10} particles- mm^2). This increase in particle density within the gel results from a different size distribution, closer to the nanometer range in the in-house gel, thus increasing the specific surface area of the particles, and improving their reactivity with sulfides within the gel. The improved synthesis procedure detailed in this study is therefore expected to result in a more sensitive binding gel with greater pre-concentration potential, facilitating the measurement of sulfide concentrations at low concentration levels over long deployment periods.

3.2. Calibration and performance of in-house DGT samplers in MQ water and seawater

In-house DGT samplers were exposed in triplicate for 4 h to 8 different concentrations of sodium sulfide, ranging approximately from 4 to 200 μM , in MilliQ water. Calibration in filtered seawater was also performed for 4 h with 4 different concentrations of sodium sulfide within the same ranges. The grayscale intensity was measured for each gel using the imaging software as detailed in the Methods section. A calibration curve, similar to those reported by (Teasdale et al., 1999) and (DeVries and Wang, 2003) was plotted (Fig. 3). The logarithmic relationship between grayscale intensity and accumulated sulfide indicates that the densitometric measurement is more sensitive at low sulfur concentrations and less sensitive at high concentrations, indicating that after 4 h of exposure the AgI in the gels possibly reaches saturation, a hypothesis that could be resolved in subsequent studies.

In-house DGT samplers exposed to filtered seawater at four different concentrations fitted on the same trend as those obtained in MilliQ water (Fig. 3) suggesting that our in-house DGT samplers performed

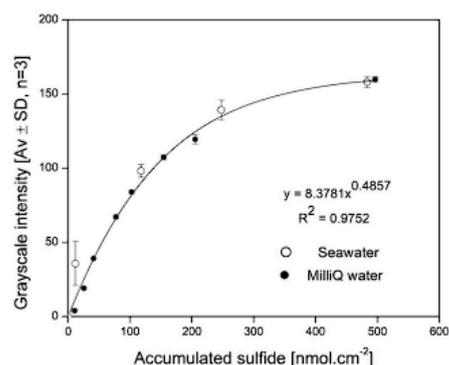


Fig. 3. Calibration curve of grayscale average (0–255) with cumulative sulfide mass per unit area over 4 h of exposure in natural filtered seawater (white circle) and MilliQ water (black circle).

identically in both fresh and seawater. The average precision ($n = 3$) was 1.1 % in MilliQ water and 3.4 % in seawater.

Given that the DGT technique is based on a kinetic build-up process, the actual working range of the calibration curve can be optimized by adjusting the exposure time or the thickness of the diffusion gel. A shorter or longer exposure period can be used relative to the expected concentration. In practice, the minimum deployment time should not be

less than 1 h, and the maximum deployment time varies from weeks to months depending on the binding capacity of the gel and the limiting biofouling (Zhang and Davison, 1995).

3.3. Batch to batch binding gel reproducibility

To validate the reproducibility of the synthesis procedure, we prepared two different batches on different dates (separated by 36 days). For this purpose, two sets of in-house DGT samplers from each batch were assembled and immersed for 4 h in Milli-Q water (0.01 M–0.69 Ωcm) and filtered seawater, both enriched with sulfides (average concentration $182 \pm 2 \mu\text{M}$). The estimated sulfide concentrations determined for the in-house DGT sampler were $182 \pm 2 \mu\text{M}$ and $180 \pm 4 \mu\text{M}$ for MilliQ water and $177 \pm 2 \mu\text{M}$ and $185 \pm 2 \mu\text{M}$ for filtered seawater, for the two batches respectively.

The sulfide concentration estimates by the in-house DGT samplers showed nearly identical results relative to direct measurements performed by spectrophotometry (Fig. 4). The concentrations of sulfides estimated by DGT for each batch were $179 \pm 4 \mu\text{M}$ (batch 1) and $183 \pm 3 \mu\text{M}$ (batch 2) with a difference between them of $3 \mu\text{M}$ (less than 2 %). This result suggests again that the in-house DGT samplers performed identically in both MQ and seawater. Moreover, a similar measurement performance is observed between two independent production batches separated by more than a month. Furthermore, even though two groups were estimated for significance measurements showing a slight difference in batch 2. The % variation among batches prepared on different dates (separated by more than a month) was below 3 %, providing precise determinations even after several weeks of storage before use. Values obtained among the different batches were nearly identical to direct sulfide measurements, thus providing relatively accurate determinations in both MQ and seawater.

3.4. Comparison between in-house and commercial DGT samplers

The performance of the commercial samplers obtained from DGT® Research was compared with that of the in-house DGTs by exposing both sets to MilliQ water spiked with sulfides over a concentration range of 4–200 μM . The overlap in the distribution in particular among the two slope values and their associated uncertainty demonstrate that the measurements obtained by both sets of DGTs were in relative good

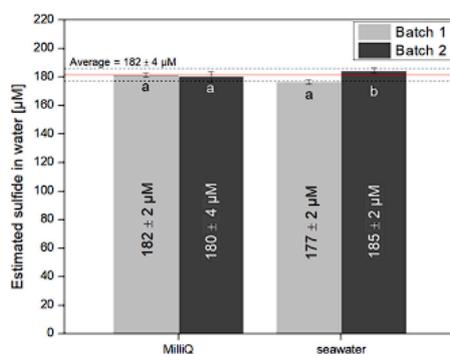


Fig. 4. Estimated sulfur concentration for in-house DGT samplers in different exposure media (MQ water, seawater) for two different production batches of binding gel. The solid line represents the Average \pm SD sulfide concentration in solution measured by spectrophotometry. The letters (a, b) correspond to the groups formed by the Tukey test, where a are groups with no significant difference and b with significant difference.

agreement across a wide concentration range. This suggests that our in-house DGT samplers can be used alternatively relative to commercial DGT (Fig. 5). Furthermore, the detection limits for both samplers demonstrate a clear similarity in their measurement ranges, as well as the robustness of the method to trace concentrations over long deployment times compared to other commonly used methods (Table 2). The distribution of sulfide values obtained in both cases were very good, within the range of the acceptable limit for experiments involving passive samplers, as pointed out by Teasdale et al. (1999) and DeVries and Wang (2003).

3.5. Field applications

During July–August 2022 and March–April 2023, commercial and in-house DGT samplers were deployed in the coastal areas of Callao and Paracas Bay (Fig. 1). These areas are characterized by high organic carbon content and high sulfate reduction rates (Böning et al., 2004) with a permanent oxygen minimum zone (Callbeck et al., 2021; Aguirre-Velarde et al., 2019). This environment occasionally leads to significant sulfur accumulation, which can cause water discoloration (Schunck et al., 2013; Sommer et al., 2016; Callbeck et al., 2018; Callbeck et al., 2021), locally referred to as “white water plume” (Ohde et al., 2007; Aguirre-Velarde et al., 2019). Overall, the deployments show that both in-house DGT and commercial DGT samplers detected similar biogeochemical depth gradients of sulfides, showing relatively similar values at both the lower end (0.1–0.2 μM) and the upper end concentrations (6–8 μM).

In Paracas Bay, during the months of March and April 2023, DGTs deployed above the sediment surface suggest a benthic production of sulfide. The highest value was observed at two meters from the bottom, reaching values greater than 8.00 μM for the commercial samplers and 6.5 μM for the in-house DGT samplers (Fig. 6a). These ranges in sulfide concentrations were similar to those recorded in 2009 during the largest sulfide event off the Peruvian coast (Schunck et al., 2013). Likewise, the increase in sulfides in Paracas Bay may have been subjected to permanent anoxic conditions typical of the season and the regional hydrodynamics of the bay during deployment times (Aguirre-Velarde et al., 2019; Flores et al., 2023), facilitating the diffusion of sulfide from the sediment into the water column.

For Callao Bay, samplers deployed between July to August 2022

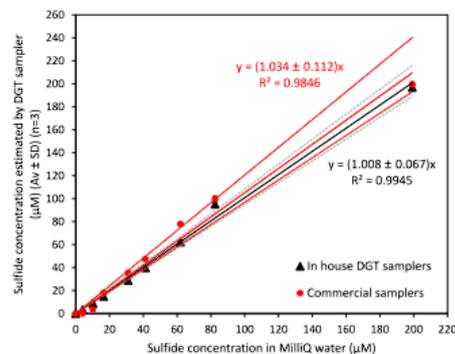


Fig. 5. Comparison between sulfide accumulation (μM) in commercial samplers (DGT® Research) and in-house DGT samplers exposed for 4 h at 25 °C, as a function of dissolved sulfide concentrations in MilliQ water measured by spectrophotometry. The solid lines show the straight line function of each sampler and the dotted lines show the upper and lower bounds of the slopes determined by their 95 % uncertainty.

Table 2
Limits of detection (LoD) and limits of quantification (LoQ) of blanks for DGT methods for sulfides compared with spectrophotometric methods.

Methods for sulfides	Standard deviation (SD) (n = 3)	Limits of detection (LoD)	Limits of quantification (LoQ)
In house DGT sampler	0.074 ^a 0.001 ^b	0.223 ^a 0.003 ^b	0.744 ^a 0.009 ^b
Commercial sampler	0.114 ^a 0.001 ^b	0.341 ^a 0.002 ^b	1.138 ^a 0.007 ^b
Spectrophotometry	0.049	0.148	0.494

^a For a 4-four exposure time.

^b For a 27-days exposure time.

were exposed for a longer time (27 days) (See supplementary information Fig. S04) with a full vertical profile, compared to those in Paracas Bay. Despite these differences, a gradient in sulfur concentrations was still evident. Both passive samplers detected sulfide concentrations up to the first six meters of the water column from the bottom, with values reaching 0.11 μM . The in-house samplers recorded concentrations of 0.44 μM , while the commercial samplers detected around 0.52 μM (Fig. 6b). Off Callao, sulfide concentrations were lower compared to Paracas bay, probably related to a local ventilation effect on the coast (Ohde, 2018) that causes oxygenation of the water column, inhibiting the formation of sulfide-enriched waters.

4. Conclusion

This study presents a comprehensive procedure for the synthesis of AgI binding gels which provide sensitive, reproducible, and quantitative measurements of sulfides in both MilliQ and seawater media.

Comparison between in-house DGT samplers and commercially available DGT research samplers, conducted both in the laboratory and in the field in coastal marine waters, showed strong agreement between the two. However, synthesis in the procedure for the elaboration of binding gels in in-house DGT samplers allows obtaining gels with a smaller diameter in the AgI particles, with the advantage of a non-toxic DGT preparation procedure compared to commercial samplers employing agarose crosslinked polyacrylamide (APA), allowing more labs to make their own sulfide DGTs. This study demonstrates the potential of DGT samplers to quantify, with high precision and accuracy, sulfides at trace levels and the assessment of sulfide DGT in seawater for long-term applications, highlighting the feasibility of using this method to investigate low and high sulfide concentrations in marine environments. It also highlights the advantage and efficiency of this innovative and low-cost *in situ* tool to explore and document the sulfur cycle in the ocean and coastal areas. This tool would be particularly useful to monitor the impact of sulfide compounds, in particular H_2S in eutrophicated coastal environments affected by seaweed production and decomposition.

CRedit authorship contribution statement

Kevin Diaz: Writing – original draft, Visualization, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. David Point: Writing – review & editing, Validation, Supervision, Resources, Methodology, Investigation, Formal analysis, Conceptualization. Wilson Carhuapoma: Writing – review & editing, Validation, Methodology, Investigation. Astrid Avellan: Writing – review & editing, Validation, Methodology, Investigation, Formal analysis. Maricarmen Igarza: Writing – review & editing. Jesús Ledesma: Writing – review & editing, Validation. Fanny Rioual: Writing – review & editing.

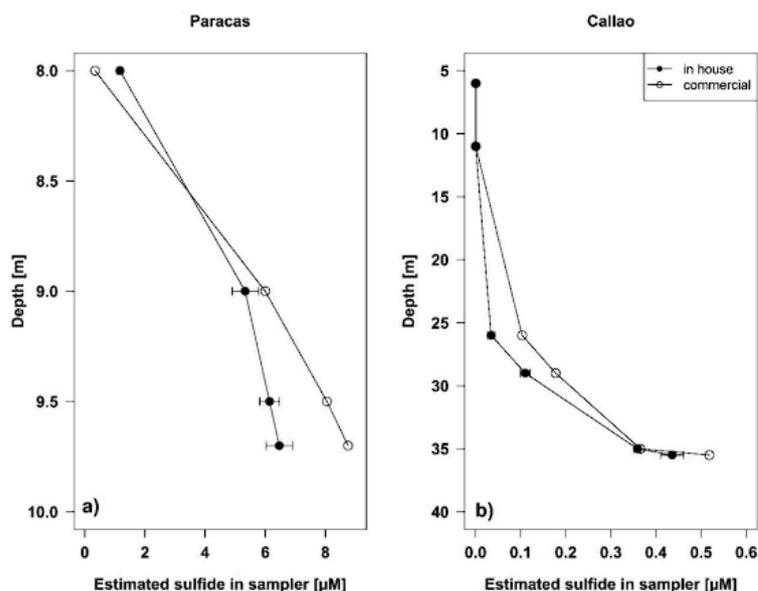


Fig. 6. Comparison between in-house and commercial DGTs for the determination of (a) sulfide profiles (μM) in Paracas Bay during March and April 2023 with an exposure time of 6 days at two meters near the bottom (b) in Callao Bay during July and August 2022 with an exposure time of 27 days in the coastal area of Peru.

Validation. Michelle Graco: Writing – review & editing, Supervision, Resources, Project administration, Investigation, Funding acquisition, Conceptualization.

Funding sources

The authors acknowledge the financial support of the Project “Coastal marine observatory with low-cost, smart samplers for long-term, high-frequency multiple stressor research” from the Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados – (PRO-CIENCIA) contract 045-2021-Fondecyt. The authors also thank the financial support of the Institut de Recherche pour le Développement (IRD, France) within the frame of the project “Hydrogen Sulfide Sensor (H2Sense)”.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the study reported in this paper.

Acknowledgments

The authors thank the support of the Instituto del Mar del Perú (IMARPE) and the Géosciences Environnement Toulouse (GET) laboratory for the use of their facilities where the tests were carried out to obtain these results. They also thank the Master’s program in Marine Sciences at the Faculty of Sciences and Philosophy of the Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), and special thanks to Carlos Sotomayor and Dr. Arturo Aguirre for their assistance in the deployments of the samplers in the field.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2025.104521>.

Data availability

Data will be made available on request.

References

- Aguirre-Velarde, A., Thouzeau, G., Jean, F., Mendo, J., Cueto-Vega, R., Kawazo-Delgado, M., Viquez-Spencer, J., Herrera-Sanchez, D., Vega-Espinoza, A., Flye-Sainte-Marie, J., 2019. Chronic and severe hypoxic conditions in Paracas Bay, Pisco, Peru: consequences on scallop growth, reproduction, and survival. *Aquaculture* 512, 734259. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734259>.
- APHA, 1985. Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 16th edition. American Public Health Association, Washington DC.
- Bagarinao, T., 1992. Sulfide as an environmental factor and toxicant: tolerance and adaptations in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.* 24 (1–2), 21–62.
- Böning, P., Brumsack, H.J., Böttcher, M.E., Schnetger, B., Kriete, C., Kallmeyer, J., Borchers, S.L., 2004. Geochemistry of Peruvian near-surface sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 68 (21), 4429–4451. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2004.04.027>.
- Bowles, K.C., Ernste, M.J., Kramer, J.R., 2003. Trace sulfide determination inoxic freshwaters. *Anal. Chim. Acta* 477 (1), 113–124. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)01370-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)01370-3).
- Callbeck, C.M., Lavik, G., Ferdelman, T.G., Fuchs, B., Gruber-Vodicka, H.R., Hach, P.F., Littmann, S., Schöffelen, J.N., Kalvelage, T., Thomsen, S., Schunck, H., Löscher, R.C., Schmitz, A.R., Kuypers, M.M., 2018. Oxygen minimum zone cryptic sulfur cycling sustained by offshore transport of key sulfur oxidizing bacteria. *Nat. Commun.* 9 (1), 1729. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04041-x>.
- Callbeck, C.M., Canfield, D.E., Kuypers, M.M., Yilmaz, P., Lavik, G., Thamdrup, B., Schubert, J.C., Bristow, L.A., 2021. Sulfur cycling in oceanic oxygen minimum zones. *Limnol. Oceanogr.* 66 (6), 2260–2292. <https://doi.org/10.1002/lno.11759>.
- Canfield, D.E., Stewart, F.J., Thamdrup, B., De Brabandere, L., Dalgaard, T., Delong, E. F., Revsbech, P.N., Ulloa, O., 2010. A cryptic sulfur cycle in oxygen-minimum-zone waters off the Chilean coast. *Science* 330 (6009), 1375–1378.
- Chauca, V.Z., 2018. Caracterización de los eventos de aguas blancas frente a Pisco y Chincha (entre los 13°–15° S).
- Ciglenecki, I., Cosović, B., 1996. Electrochemical study of sulfur species in seawater and marine phytoplankton cultures. *Mar. Chem.* 52 (1), 87–97.
- Ciglenecki, I., Krznarić, D., Helz, G.R., 2005. Voltammetry of copper sulfide particles and nanoparticles: investigation of the cluster hypothesis. *Environ. Sci. Tech.* 39 (19), 7492–7498. <https://doi.org/10.1021/es050586v>.
- Cline, J.D., 1969. Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.* 14 (3), 454–458.
- Čmelík, J., Machát, J., Otruba, V., Kanický, V., 2010. Contribution to vapor generation-inductively coupled plasma spectrometric techniques for determination of sulfide in water samples. *Talanta* 80 (5), 1777–1781. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.10.022>.
- Codispoti, L.A., Packard, T.T., 1980. Denitrification Rates in the Eastern Tropical South Pacific.
- Copenhagen, W.J., 1953. The periodic mortality of fish in the Walvis region a phenomenon within the Benguela Current. In: Investigational Report Division of Fisheries-Union of South Africa, 14, pp. 1–35.
- Davison, W., Zhang, H., 1994. In situ speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature* 367 (6463), 546–548.
- Davison, W., 2016. Diffusive gradients in thin-films for environmental measurements. Cambridge University Press.
- Degryste, F., Smolders, E., Oliver, L., Zhang, H., 2003. Relating soil solution Zn concentration to diffusive gradients in thin films measurements in contaminated soils. *Environ. Sci. Tech.* 37 (17), 3958–3965. <https://doi.org/10.1021/es034075p>.
- DeVries, C.R., Wang, F., 2003. In situ two-dimensional high-resolution profiling of sulfide in sediment interstitial waters. *Environ. Sci. Tech.* 37 (4), 792–797. <https://doi.org/10.1021/es026109j>.
- Di Toro, D.M., Mahony, J.D., Hansen, D.J., Scott, K.J., Hicks, M.B., Mityr, S.M., Redmond, M.S., 1990. Toxicity of cadmium in sediments: the role of acid volatile sulfide. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 9 (12), 1487–1502.
- Ding, S., Sun, Q., Xu, D., Jia, F., He, X., Zhang, C., 2012. High-resolution simultaneous measurements of dissolved reactive phosphorus and dissolved sulfide: the first observation of their simultaneous release in sediments. *Environ. Sci. Tech.* 46 (15), 8297–8304. <https://doi.org/10.1021/es301134h>.
- Du, J., Li, Y., Lu, J., 2001. Investigation on the chemiluminescence reaction of luminol-H2O2-S2--R-SH system. *Anal. Chim. Acta* 448 (1–2), 79–83. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01242-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01242-9).
- Dugdale, R.C., Goering, J.J., Barber, R.T., Smith, R.L., Packard, T.T., 1977. Denitrification and hydrogen sulfide in the Peru upwelling region during 1976. *Deep-Sea Res.* 24 (6), 601–608.
- Dunn, R.J., Teasdale, P.R., Warnken, J., Schleich, R.R., 2003. Evaluation of the diffusive gradient in a thin film technique for monitoring trace metal concentrations in estuarine waters. *Environ. Sci. Tech.* 37 (12), 2794–2800. <https://doi.org/10.1021/es026423y>.
- Fike, D.A., Bradley, A.S., Rose, C.V., 2015. Rethinking the ancient sulfur cycle. *Annu. Rev. Earth Planet. Sci.* 43, 593–622. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-060313-054802>.
- Flores, E., Mendoza, U., Callbeck, C.M., Diaz, R., Aguirre-Velarde, A., Böttcher, M.E., Merma-Mora, L., Moreira, M., Saldarriaga, M.S., Silva-Filho, E.V., Albuquerque, A.L., Pizarro-Koch, M., Graco, M., 2023. Attenuation of wind intensities exacerbates anoxic conditions leading to sulfur plume development off the coast of Peru. *PLoS one* 18 (8), e0287914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287914>.
- Gao, Y., Van De Velde, S., Williams, P.N., Baeyens, W., Zhang, H., 2015. Two dimensional images of dissolved sulphide and metals in anoxic sediments by a novel DGT probe and optical scanning techniques. *Chemistry* 66, 63–71. <https://doi.org/10.1016/j.trae.2014.11.012>.
- Garmo, Ö.A., Royset, O., Steinnes, E., Flaten, T.P., 2003. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. *Anal. Chem.* 75 (14), 3573–3580. <https://doi.org/10.1021/ac026374n>.
- Gimpel, J., Zhang, H., Hutchinson, W., Davison, W., 2001. Effect of solution composition, flow and deployment time on the measurement of trace metals by the diffusive gradient in thin films technique. *Anal. Chim. Acta* 448 (1–2), 93–103. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01323-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01323-X).
- Gimpel, J., Zhang, H., Davison, W., Edwards, A.C., 2003. In situ trace metal speciation in lake surface waters using DGT, dialysis, and filtration. *Environ. Sci. Tech.* 37 (1), 138–146. <https://doi.org/10.1021/es0230995>.
- Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., 2009. *Methods of Seawater Analysis*, Third ed. John Wiley and Sons.
- Harper, M.P., Davison, W., Tych, W., 2000. DIFS—a modelling and simulation tool for DGT induced trace metal remobilisation in sediments and soils. *Environ. Model. Softw.* 15 (1), 55–66. [https://doi.org/10.1016/S1364-8152\(99\)00027-4](https://doi.org/10.1016/S1364-8152(99)00027-4).
- Hejls, S.K., Azzoni, R., Giordani, G., Jonkers, H.M., Nizzoli, D., Viaroli, P., Van Gemerden, H., 2000. Sulfide-induced release of phosphate from sediments of coastal lagoons and the possible relation to the disappearance of *Ruppia* sp. *Aquat. Microb. Ecol.* 23 (1), 85–95. <https://doi.org/10.3354/ame023085>.
- Huang, R., Zheng, X., Qu, Y., 2007. Highly selective electrogenerated chemiluminescence (ECL) for sulfide ion determination at multi-wall carbon nanotubes-modified graphite electrode. *Anal. Chim. Acta* 582 (2), 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.09.035>.
- Jin, Y., Wu, H., Tian, Y., Chen, L., Cheng, J., Bi, S., 2007. Indirect determination of sulfide at ultratrace levels in natural waters by flow injection on-line sorption in a knotted reactor coupled with hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Chem.* 79 (18), 7176–7181. <https://doi.org/10.1021/ac070699a>.
- Jørgensen, B.B., 1982. Ecology of the bacteria of the sulphur cycle with special reference to anoxic–oxic interface environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B, Biological Sciences* 298 (1093), 543–561.
- Kankamang, N.R., Bennett, W.W., Teasdale, P.R., Huang, J., Welsh, D.T., 2020. A new colorimetric DET technique for determining mm-resolution sulfide porewater

- distributions and allowing improved interpretation of iron (II) co-distributions. *Chemosphere* 244, 125388. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125388>.
- Kühl, M., Steuckart, C., Eickert, G., Jeroschewski, P., 1998. A H2S microsensor for profiling biofilms and sediments: application in an acidic lake sediment. *Aquat. Microb. Ecol.* 15 (2), 201–209.
- Leal, V.G., Batista, A.D., da Silveira Petrucy, J.F., 2021. 3D-printed and fully portable fluorescent-based platform for sulfide determination in waters combining vapor generation extraction and digital images treatment. *Talanta* 222, 121558. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.121558>.
- Levin, L.A., Khan, W., Gooday, A.J., Jorissen, F., Middelburg, J.J., Nayvi, S.W.A., Neira, C., Rabalais, N.N., Zhang, J., 2009. Effects of natural and human-induced hypoxia on coastal benthos. *Biogeochemistry* 6 (10), 2063–2098. <https://doi.org/10.5194/bg-6-2063-2009>.
- Li, C., Ding, S., Yang, L., Wang, Y., Ren, M., Chen, M., Fan, X., Lichtfouse, E., 2019. Diffusive gradients in thin films: devices, materials and applications. *Environ. Chem. Lett.* 17, 801–831. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-00839-9>.
- Li, P., Lin, K.D., Yuan, D.X., 2022a. Research progress on the determination of sulfide in natural waters: from laboratory analysis to in-situ monitoring. *Huan Jing Ke Xue—Huanjing Kexue* 43 (11), 4835–4844.
- Li, P., Yuan, D., Huang, Y., Lin, K., 2022b. Improving the measurement of total dissolved sulfide in natural waters: a new on-site flow injection analysis method. *Sci. Total Environ.* 829, 154594. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154594>.
- Liu, B., Han, S., 2016. Determination of trace hydrogen sulfide by using the permanganate induced chemiluminescence of carbon dots. *Microchim. Acta* 183, 3087–3092. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1957-6>.
- Lomnitz, U., Sommer, S., Dale, A.W., Löscher, C.R., Noffke, A., Wallmann, K., Hensen, C., 2016. Benthic phosphorus cycling in the Peruvian oxygen minimum zone. *Biogeochemistry* 13 (5), 1367–1386. <https://doi.org/10.5194/bg-13-1367-2016>.
- Ma, W.W., Zhu, M.X., Yang, G.P., Li, T., 2017. In situ, high-resolution DGT measurements of dissolved sulfide, iron and phosphorus in sediments of the East China Sea: insights into phosphorus mobilization and microbial iron reduction. *Mar. Pollut. Bull.* 124 (1), 400–410. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.07.056>.
- Meyer, D., Prien, R.D., Raumann, L., Pallentin, M., Wanick, J.J., Schulz Bull, D.E., 2018. In situ determination of nitrate and hydrogen sulfide in the Baltic Sea using an ultraviolet spectrophotometer. *Front. Mar. Sci.* 5, 431. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00431>.
- Motelica-Heino, M., Naylor, C., Zhang, H., Davison, W., 2003. Simultaneous release of metals and sulfide in lacustrine sediment. *Environ. Sci. Tech.* 37 (19), 4374–4381. <https://doi.org/10.1021/es030035+>.
- Mylon, S.E., Benoit, G., 2001. Subnanomolar detection of acid-labile sulfides by the classical methylene blue method coupled to HPLC. *Environ. Sci. Tech.* 35 (22), 4544–4548. <https://doi.org/10.1021/es010955a>.
- Naylor, C., Davison, W., Motelica-Heino, M., Van Den Berg, G.A., Van Der Heijden, L.M., 2006. Potential kinetic availability of metals in sulphidic freshwater sediments. *Sci. Total Environ.* 357 (1–3), 208–220. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.04.034>.
- Ohde, T., 2018. Coastal sulfur plumes off Peru during El Niño, La Niña, and neutral phases. *Geophys. Res. Lett.* 45 (14), 7075–7083. <https://doi.org/10.1029/2018GL077618>.
- Ohde, T., Siegel, H., Reifmann, J., Gerth, M., 2007. Identification and investigation of sulphur plumes along the Namibian coast using the MERIS sensor. *Cont. Shelf Res.* 27 (6), 744–756. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2006.11.016>.
- Pages, A., Teasdale, P.R., Robertson, D., Bennett, W.W., Schäfer, J., Welsh, D.T., 2011. Representative measurement of two-dimensional reactive phosphate distributions and co-distributed iron (II) and sulfide in seagrass sediment porewaters. *Chemosphere* 85 (8), 1256–1261. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.020>.
- Radford-Knoery, J., Cutter, G.A., 1993. Determination of carbonyl sulfide and hydrogen sulfide species in natural waters using specialized collection procedures and gas chromatography with flame photometric detection. *Anal. Chem.* 65 (8), 976–982. <https://doi.org/10.1021/ac00056a005>.
- Rearick, M.S., 2004. In Situ Measurement of Sulfide in Natural Waters. University of Maryland, College Park.
- Ren, M., Ding, S., Dai, Z., Wang, J., Li, C., Zhong, Z., Cao, J., Yang, L., Tsang, C.W.D., Xu, S., Yang, C., Wang, Y., 2021. A new DGT technique comprising a hybrid sensor for the simultaneous high resolution 2-D imaging of sulfides, metallic cations, oxyanions and dissolved oxygen. *J. Hazard. Mater.* 403, 123597. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123597>.
- Robertson, D., Teasdale, P.R., Welsh, D.T., 2008. A novel gel-based technique for the high resolution, two-dimensional determination of iron (II) and sulfide in sediment. *Limnol. Oceanogr. Methods* 6. <https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.502>.
- Robertson, D., Welsh, D.T., Teasdale, P.R., 2009. Investigating biogenic heterogeneity in coastal sediments with two-dimensional measurements of iron(II) and sulfide. *Environ. Chem.* 6, 60–69. <https://doi.org/10.1071/EN08059>.
- Schunck, H., Lavik, G., Desai, D.K., Großkopf, T., Kalvelage, T., Löscher, C.R., Paulmier, A., Contreras, S., Siegel, H., Holtappels, M., Rosenstiel, P., Schilabel, M. B., Graco, M., 2013. Giant Hydrogen Sulfide Plume in the Oxygen Minimum Zone off Peru Supports Chemolithoautotrophy. *PLoS ONE* 8 (8), e68661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068661>.
- Shanthi, K., Balasubramanian, N., 1996. Method for sampling and analysis of hydrogen sulfide. *Analyst* 121 (5), 647–650. <https://doi.org/10.1039/AN9602100647>.
- Sievert, S.M., Wieringa, E.B., Wirsen, C.O., Taylor, C.D., 2007. Growth and mechanism of filamentous-sulfur formation by *Candidatus Arcobacter sulfidicus* in opposing oxygen-sulfide gradients. *Environ. Microbiol.* 9 (1), 271–276. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01156.x>.
- Small, J.M., Hintelmann, H., 2007. Methylene blue derivatization then LC-MS analysis for measurement of trace levels of sulfide in aquatic samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 2881–2886. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1140-3>.
- Sommer, S., Gier, J., Treude, T., Lomnitz, U., Dengler, M., Cardich, J., Dale, A.W., 2016. Depletion of oxygen, nitrate and nitrite in the Peruvian oxygen minimum zone cause an imbalance of benthic nitrogen fluxes. *Deep-Sea Res. I Oceanogr. Res. Pap.* 112, 113–122. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2016.03.001>.
- Tang, D., Santschi, P.H., 2000. Sensitive determination of dissolved sulfide in estuarine water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography of methylene blue. *J. Chromatogr. A* 883 (1–2), 305–309. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00381-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00381-2).
- Teasdale, P.R., Hayward, S., Davison, W., 1999. In situ, high-resolution measurement of dissolved sulfide using diffusive gradients in thin films with computer-imaging densitometry. *Anal. Chem.* 71 (11), 2186–2191. <https://doi.org/10.1021/ac981329u>.
- Toda, K., Kuwahara, H., Ohira, S.I., 2011. On-site measurement of trace-level sulfide in natural waters by vapor generation and microchannel collection. *Environ. Sci. Tech.* 45 (13), 5622–5628. <https://doi.org/10.1021/es2009226>.
- Toda, K., Ebisu, Y., Hirota, K., Ohira, S.I., 2012. Membrane-based microchannel device for continuous quantitative extraction of dissolved free sulfide from water and from oil. *Anal. Chim. Acta* 741, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.036>.
- Twiss, M.R., Moffett, J.W., 2002. Comparison of copper speciation in coastal marine waters measured using analytical voltammetry and diffusion gradient in thin-film techniques. *Environ. Sci. Tech.* 36 (5), 1061–1068. <https://doi.org/10.1021/es0016533>.
- Vrana, B., Allan, L.J., Greenwood, R., Mills, G.A., Dominiak, E., Svensson, K., Knutsson, J., Morrison, G., 2005. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *TRAC Trends Anal. Chem.* 24 (10), 845–868. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.08.006>.
- Wang, F., Chapman, P.M., 1999. Biological implications of sulfide in sediment—a review focusing on sediment toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 18 (11), 2526–2532. <https://doi.org/10.1002/etc.5620181120>.
- Wang, Y., Ding, S., Gong, M., Xu, S., Xu, W., Zhang, C., 2016. Diffusion characteristics of agarose hydrogel used in diffusive gradients in thin films for measurements of cations and anions. *Anal. Chim. Acta* 945, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.003>.
- Widerlund, A., Davison, W., 2007. Size and density distribution of sulfide-producing microorganisms in lake sediments. *Environ. Sci. Tech.* 41 (23), 8044–8049. <https://doi.org/10.1021/es071510r>.
- Wooster, W.S., Gilmartin, M., 1961. The Peru-Chile undercurrent. *J. Mar. Res.* 19, 3. https://elischolar.library.yale.edu/journal_of_marine_research/967.
- Wu, H., Tong, C., 2019. Nitrogen- and sulfur-codoped carbon dots for highly selective and sensitive fluorescent detection of Hg²⁺ ions and sulfide in environmental water samples. *J. Agric. Food Chem.* 67 (10), 2794–2800. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07176>.
- Wu, S., Zhao, Y., Chen, Y., Dong, X., Wang, M., Wang, G., 2019. Sulfur cycling in freshwater sediments: a cryptic driving force of iron deposition and phosphorus mobilization. *Sci. Total Environ.* 657, 1294–1303. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.161>.
- Zhang, H., Davison, W., 1995. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. *Anal. Chem.* 67 (19), 3391–3400. <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>.
- Zhang, H., Davison, W., 1999. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. *Anal. Chim. Acta* 398 (2–3), 329–340. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(99\)00458-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00458-4).
- Zhang, H., Davison, W., 2001. In situ speciation measurements. Using diffusive gradients in thin films (DGT) to determine inorganically and organically complexed metals. *Pure Appl. Chem.* 73 (1), 9–15. <https://doi.org/10.1351/pac200173010009>.

II. DISCUSIÓN

2.1. Limitaciones de los métodos convencionales para la detección de sulfuro disuelto frente a la técnica de gradiente difusivo.

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es un compuesto clave en los sistemas marinos anóxicos y en regiones influenciadas por condiciones de bajo oxígeno y una alta productividad orgánica, como es el caso de zonas costeras y áreas que se encuentran bajo la influencia de eventos de afloramiento o surgencias; como la zona frente a la costa peruana (Thamdrup, B. y Canfield, D., 1996; Jørgensen, B. y Nelson, D., 2004; Schunck et al., 2013). El sulfuro de hidrógeno es producto de la remineralización de la materia orgánica por sulfato reducción. Este proceso es el resultado de la respiración microbiana que utilizan el sulfato (SO_4^{2-}) como aceptor de electrones, en vez del oxígeno o nitrato, generando sulfuro disuelto (Jørgensen, 1982; Canfield, 1991). La acumulación de sulfuro en la columna de agua, conocido como “eventos sulfurosos”, puede inducir efectos adversos, incluyendo mortalidad de la fauna y alteraciones en la red trófica debido a la elevada toxicidad de este compuesto (Levin et al., 2009; Schunck et al., 2013). Estos eventos ocurren en la costa de Perú y representan un aspecto de interés dado su impacto en los ecosistemas y en las actividades, generando importante pérdidas económicas (Schunck et al., 2013).

La detección precisa de compuesto de sulfuros disueltos, como el sulfuro de hidrógeno (H_2S) y el ion sulfuro (HS^-) representa un desafío técnico y analítico para la química ambiental y la biogeoquímica, debido a la alta reactividad y volatilidad de estos compuestos (Cline, 1969; Zhang et al., 1998). Este desafío se torna más complejo en ambientes marino-costero donde las condiciones fisicoquímicas

cambian rápidamente y en donde los procesos de óxido-reducción son altamente dinámicos (Diaz, R. y Rosenberg, R., 2008).

Los métodos convencionales que históricamente han sido utilizados para cuantificar sulfuros disueltos, como los de espectrofotometría por azul de metileno (Grasshoff et al., 1999; APHA, 2017), la cromatografía, las técnicas basadas en luminiscencia o fluorescencia y los electrodos selectivos para iones muestran limitaciones significativas relacionadas con la sensibilidad, interferencias químicas, robustez en ambientes dinámicos debido a su manipulación anaeróbica estricta (Bura-Nakić et al., 2007).

Por ejemplo, el método ampliamente utilizado por colorimetría con azul de metileno, está sujeto a interferencias por presencia de compuestos reductores o materia orgánica disuelta que alteran la formación del complejo coloreado. De igual forma, las técnicas cromatográficas aunque ofrecen una mejor resolución analítica, requieren de complejos procedimientos de pretratamiento, incluyendo filtrado, acidificación y conservación con agentes estabilizantes, como el acetato de zinc, que pueden distorsionar las condiciones originales de equilibrio entre especies de sulfuro (Bura-Nakić et al., 2007).

En el caso de estas técnicas que requieren la recolección, transporte y preservación de muestras, un aspecto crítico es mantener el proceso en condiciones libre de oxígeno hasta su análisis, ya que el sulfuro en presencia de oxígeno genera subproductos como tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) o sulfato (SO_4^{2-}), lo que conlleva a una subestimación de los niveles reales de sulfuro disuelto presentes *in situ* especialmente en niveles traza (Jørgensen, B. y Nelson, D., 2004). En ambientes marino-costeros como el sistema de surgencia peruano, donde la presencia de

sulfuros disueltos pueden variar rápidamente a diferentes profundidades de la columna de agua, esta limitación metodológica se convierte en una barrera para estudios de dinámica biogeoquímica y monitoreos que permitan una detección temprana de eventos sulfurosos.

Otras alternativas como los electrodos selectivos permiten superar los problemas descritos en relación al oxígeno dado que las mediciones de sulfuros disueltos se realizan *in situ*, sin embargo, su aplicación en ambientes marino-costeros ha demostrado ser limitada debido a la alta susceptibilidad a interferencias iónicas por cloruros, amonio y compuestos orgánicos volátiles (Bura-Nakić et al., 2007). Además, estos electrodos requieren calibraciones frecuentes y una protección física para evitar el deterioro durante inmersiones prolongadas, especialmente en zonas con alta turbulencia o alta carga de materia particulada (Fleming, H., y Wingender, J., 2010). La alta necesidad de mantenimiento frecuente y los problemas por bioincrustación reducen su operatividad en campañas de largo plazo, generando un costo elevado que disminuye la sostenibilidad de estas mediciones en el tiempo.

Esta realidad metodológica ha llevado a plantear la necesidad de soluciones alternativas que permitan una medición precisa, continua y no invasiva del sulfuro disuelto en aguas naturales, especialmente en aquellos ambientes dominados por condiciones de poco o ausencia de oxígeno o de alta carga de materia orgánica. Frente a esta problemática, la técnica de Gradiente Difusivo en Película Delgada (DGT, por su sigla en inglés), desarrollada originalmente para metales traza, se muestra como una herramienta alternativa de alto valor para la cuantificación de sulfuros disueltos en ambientes naturales. Esta técnica emplea un gel aglutinante

con yoduro de plata (*AgI*) que al reaccionar con el sulfuro disuelto forma un compuesto altamente estable, desarrollando una coloración característica (Zhang, H. y Davison, W., 1995; Teasdale et al., 1999). Esta técnica ha sido validada en estudios con agua dulce y sedimentos marinos (Robertson et al., 2008; Robertson et al., 2009). Su alta sensibilidad y especificidad, permite alcanzar límites de detección a niveles de traza dependiendo del tiempo de exposición y espesor del gel difusivo. La ventaja clave que distingue al DGT de otros métodos convencionales es su capacidad para operar de forma completamente pasiva, sin necesidad de reactivos líquidos, energía externa o manipulación durante la exposición (Davison y Zhang, 1994). Además, al tratarse de una técnica integrativa, permite capturar una señal compuesta a lo largo del tiempo de exposición, lo que resulta importante en ambientes marino-costeros donde las condiciones de sulfuros disueltos pueden variar a diferentes escalas temporales (Davison y Zhang, 2012). A nivel técnico los muestreadores DGT también ofrecen ventajas durante el muestreo en campo, ya que pueden ser desplegados durante días o semanas sin ninguna intervención, su diseño compacto, ligero y portátil lo vuelven en un instrumento robusto, y el procedimiento post muestreo es relativamente simple basado en un análisis de imagen por computadora (Teasdale et al., 1999).

Sin embargo, los muestreadores DGT emplean como matriz la Poliacrilamida Reticulada de Agarosa (APA) y resina del tipo Chelex, los cuales, permiten la difusión controlada de analitos, como metales o especies *redox*, hacia una fase receptora donde ocurre su captura (Zhang, H. y Davison, W., 1995). Estos materiales, requieren un control estricto sobre la concentración de indicadores como el persulfato de amonio y catalizadores como el tetrametiletilendiamina (TEMED)

(Teasdale et al., 1999) cuyas variaciones pueden generar geles con diferente porosidad o capacidad de difusión, que pueden afectar directamente la precisión del DGT.

Ante estos problemas, en esta investigación se optimizó la preparación del gel aglutinante a partir de la síntesis de reacción entre el nitrato de plata (AgNO_3) y el yoduro de potasio (KI) en una matriz alternativa no tóxica (Agarosa), logrando partículas de yoduro de plata (AgI) de tamaño $0.51 \pm 0.34 \mu\text{m}$, para hacerlo compatible con los requerimientos fisicoquímicos de los principios técnicos del DGT, y de esta forma obtener valores representativos de sulfuro disuelto en la columna de agua. Además se validó la técnica DGT para sulfuros *in situ* en ambientes marinos en la costa de Perú.

Al contrastar los resultados obtenidos con métodos convencionales se demuestra que no solo es comparable en términos analíticos, sino que supera ampliamente a los métodos clásicos en robustez, sensibilidad y aplicabilidad para estudios en condiciones de campo llegando a medir condiciones en trazas ($< 0.1 \mu\text{M}$). Los despliegues en la Bahía de Callao y la Bahía de Paracas fueron exitosos permitiendo validar perfiles verticales de sulfuro disuelto ofreciendo una alternativa económica ideal para estudios sostenibles en regiones costeras. Además, las pruebas en laboratorio con diferentes matrices indican su utilidad en ambientes de acuicultura o controlados, lo que permite un monitoreo continuo con un mínimo impacto y una mayor precisión respecto a métodos tradicionales.

2.2.Muestreadores DGT *in house* para la detección de sulfuros disueltos en ambientes marino-costeros en Perú presente y futuro.

El estudio comparativo entre muestreadores comerciales, distribuidos por DGT Research Ltd (<https://www.dgtresearch.com/>), y los fabricados *in house*, representan uno de los aportes mas relevantes de la investigación. Los muestreadores comerciales para sulfuros disueltos, para agua y sedimentos basados en la técnica DGT, se destacan por su fiabilidad y estandarización, sin embargo su alto costo unitario entre 80 a 150 USD, dependencia de materiales para la preparación y requerimientos específicos para su almacenamiento de los geles, dificulta en gran medida su adquisición y uso, además de su limitada aplicación en ambientes marino-costeros. Por otro lado, los muestreadores DGT *in house* descritos en la investigación, fueron diseñados, fabricados, ensamblados y calibrados completamente en Perú. Para la fabricación de los geles difusivos se emplearon insumos no tóxicos como la agarosa, además se logró una síntesis controlada y rápida, en menos de 24 horas, para la generación de partículas de yoduro de plata (AgI) homogéneamente distribuidas en una matriz de agarosa logrando una solución económica, disponible y robusta para los despliegues en campo.

Asimismo, a través de un enfoque experimental y una validación cruzada con pruebas en laboratorio y aplicación en ambientes reales (Bahía de Callao y Paracas), que demostró que los muestreadores DGT *in house* alcanzaron una precisión analítica comparable a los muestreadores comerciales, con diferencias menores al 10%, e incluso en ambientes naturales como Callao y Paracas demostraron un 95% de precisión con desviaciones estándares menores al 5% entre replicas, reflejando

significativa en el rango de concentración de sulfuros disueltos en entornos ambientales altamente anóxicos.

Además, los muestreadores DGT *in house* mostraron una respuesta más estable que los muestreadores comerciales, posiblemente debido a la mejora incorporada de una distribución más homogénea de las partículas de AgI en el gel aglutinante. Esto se logró con un método de síntesis basado en una técnica denominada solución – solución, agregando gota a gota el KI al AgNO_3 bajo agitación controlada, lo cual generó partículas de tamaño promedio más pequeño ($\sim 0.51 \mu\text{m}$ frente a $\sim 1.0 \mu\text{m}$ en muestreadores comerciales) aumentando la superficie reactiva y la capacidad de preconcentración de sulfuros disueltos.

Por lo tanto, los muestreadores DGT *in house* no solo representa una alternativa igual de fiable, científicamente validada y con una alta reproducibilidad y además con características mejoradas y que dado su menor costo amplía el acceso de esta tecnología para el monitoreo de sulfuros disueltos en ambientes marino-costeros, en forma autosuficiente y sostenible en el tiempo.

2.3. Aplicación de muestreadores DGT para la estimación de sulfuro disuelto en ambientes marino-costeros.

La investigación presentada demuestra una contribución pionera en el monitoreo *in situ* para estudiar la variabilidad vertical del sulfuro disuelto en ambientes marino-costeros en Perú mediante el uso de muestreadores pasivos DGT. En particular la investigación se centró en la validación en campo de los muestreadores en dos zonas costeras la Bahía de Callao (12°S) y la Bahía de Paracas (14°S), caracterizadas por un alto contenido de carbono orgánico y elevadas tasas de reducción de sulfato (Flores et al., 2024), en presencia de una Zona de Mínimo

de Oxígeno (ZMO) que favorecen la ocurrencia de eventos sulfurosos; en efecto, este tipo de hábitat frecuentemente da lugar a la acumulación significativa de sulfuro disuelto, lo que puede provocar descoloración del agua, conocida localmente como “pluma sulfurosa” o “aguas blancas” (Chauca, 2018).

En ambos ambientes, tanto los muestreadores DGT *in house* como los comerciales detectaron gradientes verticales similares de sulfuro disuelto, con concentraciones mínimas ($\sim 0.1\text{--}0.2\ \mu\text{M}$) y máximas entre 6.0 y $8.0\ \mu\text{M}$. En la Bahía de Paracas, durante marzo y abril de 2023, los DGT instalados por encima del fondo indicaron producción bentónica de sulfuro mostrando un gradiente marcado en relación a las aguas superficiales (Díaz et al., 2025, p.7). Estos valores son consistentes con los reportados en 2009 durante el evento sulfurosos más extenso registrado frente a la costa peruana (Schunk et al., 2013). Trabajos recientes en Paracas de Flores et al. (2023) y Rioual et al. (2025), muestran cómo en verano las condiciones de estratificación, alta carga orgánica y un bajo oxígeno natural generan condiciones anóxicas persistentes lo que favorece la difusión de sulfuros disueltos desde el sedimento hacia la columna de agua, aspecto que la tecnología desarrollada registra adecuadamente.

En cambio, en la Bahía de Callao, los muestreadores desplegados entre julio y agosto de 2022 y expuestos a un mayor período de tiempo, aunque igualmente evidenciaron el gradiente vertical registraron concentraciones significativamente menores. Es así que, los sensores DGT *in house* registraron $\sim 0.44\ \mu\text{M}$, mientras que los comerciales detectaron $\sim 0.52\ \mu\text{M}$. Estas concentraciones más bajas, en comparación con Paracas, podrían explicarse por un efecto de mayor ventilación por un efecto local en Callao, siendo una bahía más abierta y ventilada, asociado a

su conformación y circulación (Gutiérrez et al., 2008), que genera una mayor oxigenación del agua y podría evitar la formación de plumas sulfurosas con la persistencia y magnitud de Paracas (Schunk et al., 2013).

Los resultados del estudio sugieren que los despliegues de muestreadores DGT en los ambientes marino-costeros estudiados permiten captar los gradientes verticales de sulfuros disueltos alcanzando concentraciones de hasta 0.1 - 0.2 μM y ,en el caso del estudio, máximos de 8.0 μM ; validando su capacidad para medir en campo. Además en el caso de la Bahía de Paracas la concentración elevada cerca del fondo evidencia una liberación activa de sulfuro por procesos microbianos, reforzando el rol del sedimento y su acoplamiento con la columna de agua en la dinámica del ciclo del azufre lo cual está en concordancia con los trabajos de Flores et al. (2023) y Rioual et al. (2025). En efecto la distribución del sulfuro disuelto en ambientes marinos está fuertemente condicionada por la interacción entre factores físicos como la estratificación térmica y la circulación de masas de aguas, factores químicos como la disponibilidad de sulfato y eventos de anoxia muy marcadas, factores biológicos, como la producción primaria y respiración microbiana (Morel y Price, 2003) y factores geomorfológicos como la configuración de la bahía y la profundidad de la columna de agua (Aguirre-Velarde et al., 2014). En este contexto la capacidad de los muestreadores DGT permite monitorear los sulfuros disueltos con una alta sensibilidad que permite trazar diferentes procesos en la columna de agua a los cuales responde este compuesto: producción, remineralización y circulación en ambientes costeros.

Los resultados de las pruebas en campo permiten, gracias a la posibilidad de tener largos tiempos de exposición como en el caso de Callao detectar contrastes

entre diferentes zonas y eventos locales, por ejemplo por una doble acción de menor hipóxia y ventilación costera.

La posibilidad de un muestreo integrado en la columna a lo largo del tiempo permite explorar la dinámica real de los sulfuros, especialmente al complementarse con otros parámetros como temperatura, salinidad, clorofila – a y oxígeno disuelto. Esta estrategia de combinar mediciones *in situ* permite una visión integral de los ecosistemas y su salud (Vaquer-Sunyer et al., 2008; Diaz, R y Rosenber, R., 2008; Levin et al., 2009). La información obtenida puede fortalecer el desarrollo de modelos numéricos más precisos, evaluaciones de impacto ambiental, líneas base y monitoreos de alerta o evaluación vinculados a actividades como la acuicultura.

A largo plazo, la información generada por el empleo de muestreadores DGT para sulfuros disueltos puede funcionar como alerta temprana de eventos sulfurados, identificando la intensificación de la productividad, el incremento o cambios en la desoxigenación costera, procesos que podrían intensificarse bajo escenarios de cambio climático. Además, el establecimiento de perfiles verticales estandarizados de sulfuros disueltos podría permitir el seguimiento de cambios interanuales en la extensión de la zonas anóxicas o la detección de eventos críticos asociados a la mortalidad de habitat bentónicos o pelágicos.

Finalmente, estos resultados en campo nos han permitido pasar de un prototipo tecnológico de laboratorio a una herramienta operativa de campo. En ese sentido no solo se aporta conocimiento técnico y analítico, sino la posibilidad de poder implementar observatorios ambientales lo que resulta clave para consolidar una red de observación ambiental de alta resolución y sostenible en el tiempo. Un modelo de desarrollo aplicable a múltiples áreas de investigación para responder desafíos

emergentes de contaminación costera, cambios climáticos y de expansión de zonas anóxicas, consolidando un enfoque integral en la vigilancia de ambientes marino-costeros. La correspondencia estrecha entre los resultados de muestreadores locales y comerciales en campo respalda su uso como alternativa económica, fiable, y adecuada para monitoreos continuos en ecosistemas marino-costeros.

2.4. Limitaciones de los muestreadores DGT para la medición de sulfuros disueltos

Desde una perspectiva crítica, es importante reconocer que el uso de la técnica DGT para la determinación de sulfuros en ambientes marinos conlleva limitaciones que condicionan la interpretación de los resultados. En primer lugar, aunque el método permite cuantificar el sulfuro disuelto con alta sensibilidad, la técnica no distingue entre diferentes especiaciones de azufre reducido presentes en la columna de agua ($\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^-$ y otros subproductos tiosulfatados). Esto implica que la información obtenida corresponde a una fracción integrada de sulfuro total disponible, sin resolver los cambios en la especiación que dependen fuertemente de parámetros físico-químicos como el pH o complejos metálicos. En sistemas marinos donde se generan gradientes *redox* pronunciados y procesos de oxidación microbianas, esta limitación puede resultar especialmente significativa, ya que pequeñas variaciones en la especiación pueden tener implicancias ecológicas y biogeoquímicas importantes considerando formas de mayor toxicidad como es el H_2S . Para ello, uno de los siguientes avances aún más innovadores para los muestreadores DGT para sulfuros disueltos es el empleo de geles de silicona como lo son el PDMS (polidimetilsiloxano), ya que las características hidrofóbicas de la silicona permiten una difusividad selectiva para gases como lo son el sulfuro de

hidrógeno (H_2S). Esta propiedad es crucial para adaptar los muestreadores DGT *in house* selectivo lo que puede representar un paso estratégico hacia la autonomía tecnológica local en la investigación de la biogeoquímica del ciclo del azufre

Asimismo, la cuantificación basada en densitometría por imágenes (CID) presenta ventajas en términos de costo y accesibilidad, pero su desempeño puede estar afectado por la saturación del gel a concentraciones elevadas y por variaciones en la homogeneidad óptica del material. Esto sugiere la necesidad de estandarizar los tiempos de exposición, ya que las exposiciones cortas pueden subestimar la acumulación de sulfuro disuelto, mientras que las exposiciones prolongadas pueden conducir a linealidades, es decir a una saturación de los geles.

Además, los despliegues de los muestreadores en ambientes costeros, como los estudiados en la investigación, pueden introducir factores adicionales que deben ser controlados como la colonización de biofouling en la superficie del filtro, lo que puede generar una capa adicional que altere el flujo de sulfuro hacia los geles. Este efecto tiende a aumentar con el tiempo y puede generar subestimación de concentraciones en los muestreadores. Estos aspectos abren un campo de investigación muy importante en las mediciones con sensores *in situ* y las estrategias para prevenir o minimizar el efecto de las bioincrustaciones (comúnmente llamado “biofouling”), desde desarrollo de inhibidores (luz UV o placas de cobre), limpiadores mecánicos (cepillos o raspadores) que cada vez se reconocen como necesarios.

Aunque la técnica DGT representa una herramienta útil, económica y no invasiva para el monitoreo de sulfuros disueltos, su aplicación requiere considerar cuidadosamente las condiciones ambientales, la duración de los tiempos de

exposición y los procesos de acumulación de biofouling para asegurar mediciones comparables y confiables.

2.5. Estrategias de transferencia tecnológica del uso de muestreadores DGT en el Perú

Uno de los aspectos más prometedores del estudio es su potencial de transferencia tecnológica: la fabricación local de muestreadores DGT no debe quedarse únicamente en el ámbito académico, sino que puede expandirse hacia instituciones dedicadas al monitoreo marino.

La implementación de esta tecnología generaría beneficios científicos, económicos y sociales. Desde una perspectiva científica, se amplían las capacidades para estudiar procesos de sulfatos reducción en ambientes anóxicos con alta resolución temporal. Desde lo económico, se reducen significativamente los costos de adquisición en materiales para la preparación de los geles. Finalmente, desde lo social, se promueve la formación de técnicos y científicos, fortaleciendo la parte analítica del país.

En este sentido, los resultados expuestos en la investigación, no solo se limitan a presentar una innovación metodológica en la detección de sulfuros disueltos en ambientes marino-costeros, si no que propone también un marco de transferencia tecnológica enfocado en el contexto peruano. Este enfoque es particularmente relevante dado que el Perú, al ser uno de los países con mayor biodiversidad marina y una de las zonas más productiva debido a la influencia del ecosistema de Humboldt, enfrenta desafíos significativos en términos de monitoreo e implementación de vigilancia frente al cambio climático y la expansión de una permanente zona de mínimo de oxígeno (ZMO).

Por ello, la producción local de muestreadores DGT de bajo costo, con una alta sensibilidad y fácil implementación no solo representa una alternativa técnica a la dependencia de equipos importados, si no que también abre la posibilidad de crear un ecosistema de innovación tecnológica, generando capacidades nacionales para el monitoreo descentralizado, especialmente en regiones con acceso limitado a laboratorios analíticos avanzados. Esta visión estratégica se alinea con los objetivos del CONCYTEC y con las iniciativas internacionales como los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) en particular el ODS 14 sobre la conservación de los océanos.

Finalmente, este esfuerzo, debe ir acompañado de capacitaciones prácticas y teóricas, que aseguren la comprensión del principio de funcionamiento del sensor, su mantenimiento, sus límites analíticos y las condiciones necesarias para su interpretación adecuada. Estas actividades pueden articularse mediante convenios interinstitucionales entre universidades e instituciones de investigación como el Instituto del Mar del Perú (IMARPE) con intereses en la sostenibilidad del medio marino.

III. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Como conclusión final podemos indicar que este estudio evalúa y valida la técnica de muestreadores DGT *in house* para la medición *in situ* de sulfuro disuelto en ambientes marino-costeros del Perú. Mediante el uso de geles aglutinantes no tóxicos de agarosa con partículas finas de AgI ($\sim 0.51 \mu\text{m}$), se ha logrado un método económico, sensible y altamente reproducible, con detección efectiva en rangos de $0.03\text{--}6.46 \mu\text{M}$. La técnica, respaldada por calibraciones tanto en agua de mar como

Milli-Q, demostró ser equivalente a métodos clásicos en términos de robustez analítica. Además, su aplicación en estudios de campo (Bahía de Callao y Paracas) validó su capacidad para identificar gradientes verticales de sulfuros disueltos, asociándolos con procesos bentónicos y zonas deficientes en oxígeno caracterizadas por eventos sulfurosos. Asimismo, la investigación ha generado un aporte tecnológico significativo para el monitoreo sostenible y continuo del ciclo del azufre, ofreciendo una herramienta operativa y replicable para la respuesta a desafíos emergentes de contaminación costera y desoxigenación, consolidando su relevancia dentro de la vigilancia ambiental en el contexto del cambio climático.

Es importante considerar además, desde una perspectiva metodológica, complementar el uso de la técnica DGT con mediciones físico-químicas, tales como, temperatura y oxígeno disuelto, y adicionalmente medidas de pH y presencia de metales traza, con el fin de comprender la especiación del sulfuro en la columna de agua lo que permitirá interpretar con mayor precisión la fracción efectiva disponible. Además, se recomienda optimizar los tiempos de despliegue en función del ambiente de estudio; en zonas con alta producción de sulfuro, se sugiere manejar tiempos de exposición mas cortos para evitar la saturación del gel y perdida de la no linealidad para las altas concentraciones. Mientras que en ambientes oligotróficos con concentraciones bajas, los tiempos de exposición prolongados pueden garantizar niveles de acumulación detectables.

En términos operativos, una de las recomendaciones más relevantes es la implementación sistemática de estrategias para mitigar la formación de biofouling durante los despliegues en ambientes marino-costeros. Entres estas estrategias destacan el uso de protectores físicos, que impidan la incrustación superficial de

fouling en el filtro. Para fortalecer la aplicabilidad de la técnica en monitoreos de largo plazo, se recomienda además desarrollar pruebas controladas que permitan estimar el efecto cuantitativo del fouling sobre la difusión en los muestreadores DGT, lo cual permitiría implementar correcciones analíticas más precisas (Blondet et al, in prep).

IV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguirre-Velarde, A., Flye-Sainte Marie, J., Thouzeau, G., y Jean, F. (2014). Impact of low oxygen concentrations on scallop culture in the upwelling-influenced Bay of Paracas, Peru. Poster Presented at the Low Oxygen Environments in Marine, Estuarine and Fresh Waters Colloquium, Liège.

APHA (2017). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (23rd ed.). American Public Health Association.

Bura-Nakić, E., Krznarić, D., Jurašin, D., Helz, G. R., & Ciglencečki, I. (2007). Voltammetric characterization of metal sulfide particles and nanoparticles in model solutions and natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 594(1), 44-51. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.04.065>

Canfield, D. E. (1991). Sulfate reduction in deep-sea sediments. *American Journal of Science*, 291(2), 177–188. <https://doi.org/10.2475/ajs.291.2.177>

Cline, J. D. (1969). Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnology and Oceanography*, 14(3), 454–458. <https://doi.org/10.4319/lo.1969.14.3.0454>

Chauca, V.Z., (2018). Caracterización de los eventos de aguas blancas frente a Pisco y Chincha (entre los 13°-15° S).

Davison, W., & Zhang, H. (1994). *In situ* speciation measurements of trace components in natural waters using thin-film gels. *Nature*, 367(6463), 546–548. <https://doi.org/10.1038/367546a0>

Davison, W., & Zhang, H. (2012). Progress in understanding the use of diffusive gradients in thin films (DGT) – back to basics. *Environmental Chemistry*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1071/EN11084>

Diaz, R. J., & Rosenberg, R. (2008). Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891), 926–929. <https://doi.org/10.1126/science.1156401>

Flores, E., Mendoza, U., Callbeck, C.M., Díaz, R., Aguirre-Velarde, A., Bottcher, M.E., Merma-Mora, L., Moreira, M., Saldarriaga, M.S., Silva-Filho, E.V., Albuquerque, A.L., Pizarro-Koch, M., Graco, M., (2023). Attenuation of wind intensities exacerbates anoxic conditions leading to sulfur plume development off the coast of Peru. *Plos one* 18 (8), e0287914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287914>

Fleming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>

Grasshoff, K., Kremling, K., Ehrhardt, M., (1999). Methods of seawater analysis. Third ed. John Wiley and Sons.

Igarza, M., Aguirre-Velarde, A., Tam, J., Cueto-Vega, R., Flye-Sainte-Marie, J., Gutiérrez, D., Merma-Mora, L., & Colas, F. (2024). Characterization of hypoxic events in Paracas bay (Peru, 13.8°S) through intensity and biological effect indexes. *Journal of Marine Systems*, 244, 103978. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2024.103978>

Jørgensen, B. B. (1982). Mineralization of organic matter in the sea bed—the role of sulphate reduction. *Nature*, 296, 643–645. <https://doi.org/10.1038/296643a0>

Jørgensen, B. B., & Nelson, D. C. (2004). Sulfide oxidation in marine sediments: Geochemistry meets microbiology. *Geological Society of America Special Paper*, 379, 63–81. <https://doi.org/10.1130/0-8137-2379-5.63>

Levin, L. A., Ekau, W., Gooday, A. J., et al. (2009). Effects of natural and human-induced hypoxia on coastal benthos. *Biogeosciences*, 6(10), 2063–2098. <https://doi.org/10.5194/bg-6-2063-2009>

Levin, L. A., Ekau, W., Gooday, A. J., et al. (2009). Effects of natural and human-induced hypoxia on coastal benthos. *Biogeosciences*, 6(10), 2063–2098. <https://doi.org/10.5194/bg-6-2063-2009>

Morel, F. M. M., & Price, N. M. (2003). The biogeochemical cycles of trace metals in the oceans. *Science*, 300(5621), 944–947. <https://doi.org/10.1126/science.1083545>

Rioual, F., Flye-Sainte-Marie, J., Point, D., Colas, F., Cuellar-Martinez, T., Tam, J., ... & Aguirre-Velarde, A. (2025). Sulfides as environmental stressors in Paracas Bay, Peru. *Marine Pollution Bulletin*, 212, 117550. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.117550>

Robertson, D., Teasdale, P. R., Welsh, D. T., (2008). A novel gel-based technique for the high resolution, two-dimensional determination of iron (II) and sulfide in sediment, *Limnol. Oceanogr. Methods*, 6. <https://doi.org/10.4319/lom.2008.6.502>

Robertson, D., Welsh, D. T., Teasdale, P. R., (2009). Investigating biogenic heterogeneity in coastal sediments with two-dimensional measurements of iron(II) and sulfide. *Environmental Chemistry* 6, 60-69. <https://doi.org/10.1071/EN08059>

Schunck, H., Lavik, G., Desai, D. K., et al. (2013). Giant hydrogen sulfide plume in the oxygen minimum zone off Peru supports chemolithoautotrophy. *PLoS ONE*, 8(8), e68661. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068661>

Teasdale, P. R., Hayward, S., Davison, W., (1999). *In situ*, high-resolution measurement of dissolved sulfide using diffusive gradients in thin films with computer-imaging densitometry. *Analytical chemistry*, 71(11), 2186-2191. <https://doi.org/10.1021/ac981329u>

Thamdrup, B., & Canfield, D. E. (1996). Pathways of carbon oxidation in continental margin sediments off central Chile. *Limnology and Oceanography*, 41(8), 1629–1650. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.8.1629>

Vaquer-Sunyer, R., & Duarte, C. M. (2008). Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(40), 15452–15457. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803833105>

Zhang, H., Davison, W., & Gadi, R. (1998). Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the *in situ* measurement of trace metals in aqueous solution. *Analytical Chemistry*, 70(14), 2875–2881. <https://doi.org/10.1021/ac00115a005>

Zhang, H., Davison, W., (1995). Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the *in situ* measurement of trace metals in aqueous

solution. Analytical chemistry, 67(19), 3391-3400.

<https://doi.org/10.1021/ac00115a005>