



Escola de Camins
Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de Camins, Canals i Ports
UPC BARCELONATECH

Degradación de filtros solares UV mediante infiltración suelo-acuífero con simulación en columna

Treball realitzat per:
Ignacio Marín García

Dirigit per:
Sílvia Díaz Cruz/ Enric Vázquez Suñé

Màster en:
Enginyeria de Camins, Canals i Ports

Barcelona, 23 de Setembre de 2016

Departament d'Hidrogeologia Subterrànea

TREBALL FINAL DE MÀSTER

Agradecimientos

La motivación principal al escoger este trabajo de máster de investigación relacionada con la Ingeniería Ambiental e Hidráulica se debe al afán de búsqueda que tras cursar la carrera de Ingeniería Civil tengo relacionado con aspectos ambientales y químicos que puedan relacionarse con la Ingeniería Civil y la Ingeniería de Caminos Canales y Puertos.

El máster de Ingeniería de Caminos Canales y Puertos ha sido sin lugar a dudas un camino difícil de tomar y de seguir, puesto que su nivel de aprendizaje respecto a los otros cuatro años de carrera se puede decir que es bastante inferior, destacando que la parte más importante reside en las prácticas profesionales y el trabajo de fin de máster. Pese a todo, me ha permitido conocer diferentes aspectos relacionados con la Ingeniería Civil que desconocía tras acabar el grado. La especialidad en Ingeniería Ambiental y las prácticas han añadido un valor incalculable a mi aprendizaje hasta la fecha.

Quiero agradecer en primer lugar a Sílvia Díaz Cruz y Enric Vázquez, ambos científicos titulares del CSIC y profesores de la UPC, en ingeniería ambiental e Ingeniería hidráulica/hidrología respectivamente, por haberme ayudado a empezar con el proyecto y permitido poder realizarlo en las instalaciones del CSIC, un centro de investigación de gran prestigio y con instrumental profesional para llevar a cabo mi investigación de manera más fácil y representativa. Sílvia ha sido de gran apoyo en la parte química y de análisis mientras que Enric lo ha sido en la parte de dimensionamiento de las columnas de trabajo.

A Dani y M^oPau del CSIC, estudiantes de doctorado y máster del CSIC, por los días en el laboratorio y por introducirme a mis compañeros del centro. Su asesoramiento ha sido vital y muy gratificante, el cual me ha permitido ampliar mis conocimientos en materias un tanto diferentes a las estudiadas durante mi formación. También deseo dar las gracias a Jordi Bellés del laboratorio de hidrogeoquímica, por ayudarme desde el primer momento a preparar el montaje de las columnas de ensayo y a estar disponible para cualquier cosa, sin quejas ni malas caras, siempre dispuesto a dar lo mejor de sí mismo para apoyarme durante el proyecto.

Por último, quiero agradecer como siempre hago en todo y para todo, a mi familia por estar día tras día al pie del cañón, trabajando duro para permitir que lleve una buena vida y haya cumplido el deseo de poder acabar mis estudios satisfactoriamente. Y con familia, me refiero a padres, hermano, amigos y pareja, todos ellos han colaborado y me han apoyado siempre, hasta el final.

Resumen

Este proyecto de investigación pretende analizar el comportamiento de los filtros solares, contaminantes orgánicos presentes en nuestras vidas en cosméticos, productos de aseo personal, industrias etc, bajo diferentes condiciones de contorno.

Los contaminantes orgánicos llevan tiempo siendo investigados bajo la atenta mirada de científicos dedicados al tratamiento de aguas debido a que su presencia está en auge y su composición representa un peligro potencial para la salud humana y los ecosistemas que nos rodean. Su solubilidad y difícil degradación hacen que los contaminantes permanezcan en el medio mucho tiempo contaminándolo de forma severa. Actualmente, no existe metodología específica para tratarlos o eliminarlos completamente en plantas depuradoras y así evitar su inclusión al medio natural.

En este trabajo de Máster se analiza el comportamiento del filtro solar UV orgánico *Benzofenona 3* (BP3), uno de los filtros solares más utilizados en todo el mundo y el que más se observa como contaminante en el medio ambiente. Este compuesto se sabe que se transforma en diferentes productos en los procesos metabólicos de los organismos vivos y también mediante procesos abióticos, como la fotodegradación. Estos productos de transformación constituyen, así mismo, contaminantes medioambientales.

Para llevar a cabo dicho análisis, el primer paso consiste en recrear o simular el medio natural mediante el dimensionamiento hidráulico de dos columnas de estudio rellenas con material no reactivo. Con ello, se pretende estudiar el compuesto bajo condiciones parecidas a la realidad, controlando los parámetros experimentales de las columnas. El proceso a simular es la infiltración del contaminante desde la superficie del suelo hasta un acuífero.

Una vez dimensionadas las columnas y simulado el terreno natural configurando un tiempo de retención coherente y contrastado con estudios recientes, se procede a someter la BP3 a diferentes ensayos bajo diferentes condiciones ambientales y redox, tanto en disolución con agua Milli-Q como en un medio natural, agua de río. Tras la recogida de muestras de cada uno de los ensayos, se estudia la presencia de BP3 y sus posibles derivados mediante metodologías analíticas de última generación basadas en la cromatografía de líquidos de alta eficacia y la espectrometría de masas (HPLC-MS).

Finalmente se estudian los registros gracias al tratamiento de datos y al uso de software específico para cada uno de los equipos utilizados.

Los resultados obtenidos indican que la BP3 no interacciona con el material del relleno de la columna ni al paso por ésta en condiciones de medio natural ni tampoco en condiciones oxidantes, ya que sólo se llega a detectar la BP3 y ningún producto de transformación.



Capítulo 1. Introducción	pág 12
Capítulo 2. Objetivos	pág 15
Capítulo 3. Estado del arte	pág 17
3.1 Acuíferos	pág 18
3.2 Potencial de oxidación-reducción, aplicación a acuíferos	pág 19
3.3 Trazadores	pág 20
3.4 Transporte de masas y contaminantes	pág 22
3.5 Agitación con ultrasonidos	pág 24
Capítulo 4. Materiales y métodos	pág 26
4.1 Filtros Solares	pág 27
4.2 Columnas y material de relleno	pág 29
4.2.1 Dimensiones	pág 30
4.3 Dimensionamiento hidráulico de las columnas	pág 32
4.3.1 Bomba peristáltica	pág 32
4.3.1.1 Ajuste de la presión	pág 33
4.3.1.2 Ajuste de la velocidad de giro	pág 33
4.3.2 Preparación del ensayo	pág 34
4.4 Campaña de muestreo	pág 36
4.4.1 Campaña de muestreo -1ª fase-	pág 36
4.4.1.1 Preparación de la disolución	pág 37
4.4.1.2 Ensayos 1ª fase	pág 38
4.4.1.3 Funcionamiento del lector – <i>diver</i> -	pág 39
4.4.2 Campaña de muestreo -2ª fase, con agua HPLC	pág 41

4.4.2.1 Preparación de la disolución	pág 42
4.4.2.2 Ensayo columna etiqueta azul, con incorporación de aire	pág 43
4.4.2.3 Ensayo columna etiqueta amarilla, cond. ambientales	pág 45
4.4.3 Campaña de muestreo -3ª fase, con agua natural de río-	pág 47
4.4.3.1 Preparación de la disolución	pág 47
4.4.3.2 Ensayo columna amarilla, con incorporación de N ₂	pág 49
4.4.3.3 Ensayo columna azul, con incorporación de aire	pág 49
4.5 Análisis Químicos	pág 49
4.5.1 Orbitrap. Analizador de masas de alta resolución para 51	pág 51
4.5.2 QTRAP. LC-MS/MS. Para análisis cuantitativo	pág 51
4.5.3 Preparación de muestras	pág 54
Capítulo 5. Resultados y discusión	pág 55
5.1 Resultados 1ª fase, dimensionamiento	pág 55
5.1.1 Columna azul	pág 56
5.1.2 Columna amarilla	pág 59
5.1.3 Comparación	pág 60
5.2 Resultados 2ª fase, Orbitrap	pág 61
5.2.1 Columna Azul	pág 61
5.2.2 Columna amarilla	pág 63
5.3 Resultados 3ª fase, Q-TRAP	pág 65
5.3.1 Columna Azul	pág 65
5.3.2 Columna amarilla	pág 66
Capítulo 6. Conclusiones	pág 68

Capítulo 7. Referencias pág 71

Capítulo 8. Anexo fotográfico pág 75

Tabla 1

Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Capítulo 3

Tabla 1: Aparición de filtros solares en afluente y efluente de plantas de tratamiento de aguas residuales y agua de grifo (Río Llobregat) [3]...19

Figura 1: Curva ideal Conductividad-Tiempo...22

Figura 2: Representación de principios de Darcy...23

Figura 3: Aparato de baño con ultrasonido, SELECTA...25

Capítulo 4

Tabla 2: Aparición de filtros solares en afluente y efluente de plantas de tratamiento de aguas residuales y agua de grifo (Río Llobregat) [3]...28

Figura 4: Propiedades fisicoquímicas de los compuestos iniciales de búsqueda, 1ª fase. [3]...29

Figura 5: Características visuales de la arena y gravilla utilizadas como relleno de las columnas de ensayo...30

Tabla 3: Principales dimensiones de las columnas de estudio y del relleno...31

Figura 6: Representación de las dimensiones de las columnas de ensayo...31

Figura 7: Bomba peristáltica Minipuls 3, Gilson...32

Figura 8: Esquema de ajuste de presión de las pestañas de la bomba mediante cálculo de caudal a la salida del sistema...33

Figura 9: Montaje para llevar a cabo los experimentos hidráulicos...35

Tabla 4: Clasificación cuerpos de agua en función de la salinidad. Ref. Recinto Universitario de Mayagüez...37

Figura 10: Bajada de conductividad repentina registrada por el diver...41

Figura 11: Bajada de conductividad durante un cierto tiempo debido a burbujas y aire alrededor del sensor de lectura del diver...41

Figura 12: En **1** el grifo se encuentra abierto, durante el procedimiento de ensayo. En **2** el grifo se encuentra cerrado permitiendo la toma de muestras de la parte interior de la columna. El flujo normal es de izquierda a derecha...44

Tabla 5: Horario de toma de muestras para el ensayo 1 de la segunda fase. Columna amarilla. r: réplica...45

Figura 13: Situación geográfica de la toma de muestra de agua de Río Besós para los ensayos de las fase 3...46

Figura 14: Esquema del contenedor de la disolución del ensayo de la columna amarilla, tercer fase...48

Figura 15: Cromatografía de Líquidos acoplada a Espectrometría de masas. Ref: Fundamento y funciones de la espectrometría de masas, Universidad de Valencia, Departamento de Química Analítica...50

Figura 16: Funcionamiento del Qtrap®. Fuente: Sciex, Corea...51

Capítulo 5

Figura 17: Lectura de los diver. Azul: Presión Verde: Temperatura Rojo: Conductividad...56

Figura 18: Concentración de trazador en el tiempo. Columna azul. Detección del tiempo de tránsito...59

Figura 19: Lectura de los diver. Azul: Presión Verde: Temperatura Rojo: Conductividad...59

Figura 20: Concentración de trazador en el tiempo. Columna amarilla. Detección del tiempo de tránsito...60

Figura 21: Detección de BP3 en la muestra del segundo por la mañana. Columna azul. Orbitrap...62

Figura 22: Detección de BP3 en la muestra del sexto día por la tarde. Columna azul. Orbitrap...62

Figura 23: Detección de BP3 en la muestra del afluente. Columna amarilla. Orbitrap...63

Figura 24: Detección de BP3 en la muestra del tercer día por la tarde. Columna amarilla. Orbitrap...64

Figura 25: Detección de BP3 en la muestra del sexto día por la tarde. Columna amarilla. Orbitrap...64

Figura 26: Resultados de la columna azul. Concentración de BP3 en el tiempo. Q-trap...66

Figura 27: Resultados de la columna amarilla. Concentración de BP3 en el tiempo. Q-trap...66

Capítulo 8

Figura 28: Detalle de la bomba peristáltica...76

Figura 29: Grifo regulador del efluente...76

Figura 30: Soporte para sujeción de los divers...76

Figura 31: Detalle de los divers y recipientes...76

Figura 32: Preparación del ensayo para ambas columnas durante la segunda fase de ensayos...77

Figura 33: Columna utilizada para el análisis químico con Orbitrap. Merck...77

Figura 34: Parte de las muestras de la segunda fase de ensayos. Numeración provisional...78

Figura 35: Ejemplo de muestras de la tercera fase de ensayos. Tercer día, primera toma...78

Figura 36: Preparación de muestras para análisis con Qtrap. Los recipientes pequeños (viales decromatografía) contienen la muestra a pinchar en el instrumento mientras que los recipientes grandes (viales de centelleo) contienen el sobrante...79

Figura 37: Datos obtenidos para la fase 1 de ensayos...81



INTRODUCCIÓN

Introducción

Este trabajo de máster se lleva a cabo con el apoyo del Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua *IDAEA*, del Consejo Superior de Investigaciones Científica *CSIC* y la Universidad Politécnica de Catalunya *UPC*.

Los filtros solares UV ó pantallas solares son un grupo de sustancias orgánicas de uso diario que podemos encontrar cada vez de forma más frecuente en productos para el cuidado y la higiene personal. Algunos de estos productos son lociones, champús o cremas solares así como en cosméticos, productos farmacéuticos y otros productos de uso industrial como pinturas y barnices [1][2]. El objetivo principal de estas sustancias para el uso personal reside en la absorción de la radiación UV procedente del sol y como consecuencia la protección frente a enfermedades y problemas derivados de ésta, como el fotoenvejecimiento o el cáncer de piel.

La incorporación de los filtros solares a los acuíferos que se encuentran bajo el terreno proviene principalmente de fugas en el sistema de alcantarillado y red de abastecimiento de la ciudad y por la deposición en ríos de agua residual tratada que proviene de plantas depuradoras [3] y que posteriormente se infiltra por el terreno.

Generalmente los productos utilizados como filtros solares poseen características propias como su solubilidad, tendencia de absorción limitada y baja degradabilidad que hace que sean candidatos potenciales a superar los tratamientos que se llevan a cabo en plantas depuradoras, y no ser eliminados [4], ó sólo en un bajo porcentaje. Es por este motivo que suelen encontrarse en agua tratada (efluentes) y en lodos generados por la depuradora [5-8][9-10].

Sin embargo, los filtros solares se consideran contaminantes medioambientales por su afección al sistema endocrino de los seres vivos provocando incluso endometriosis en las mujeres [11-14] además de su bioacumulación, hecho que desencadena la creciente preocupación que se tiene por ellos hoy en día [15,16]. Su detección en aguas superficiales, agua marina, agua residual e incluso agua doméstica (de boca) muestran signos evidentes de su amplia presencia en nuestras vidas. Debido a su toxicidad, alguno de ellos se encuentra bajo estudio por la Comisión Europea [17], como el caso de BP3 (benzofenona-3), objeto de estudio en este trabajo de máster.

Algunos estudios realizados hasta la fecha determinan que los filtros solares pueden degradarse por radiación solar (fotodegradación) y por la acción de organismos vivos (biodegradación) [18-23] con mayor

eficacia en el segundo caso. Por otro lado, estudios recientes demuestran que las concentraciones de algunos de los microcontaminantes en los acuíferos son inferiores a los niveles de concentración de muestras tomadas en los efluentes de las depuradoras [3]. Ello sugiere a que en las condiciones redox de los acuíferos, en aguas subterráneas, estos contaminantes sufren algún tipo de proceso de oxido-reducción que las transforma, o puede llegar a eliminarlas completamente. Aún así, siguen habiendo muchas ventanas abiertas sobre el tema y su infinidad de posibilidades.



OBJETIVOS

Objetivos

El objetivo principal de esta trabajo de máster se basa en tratar de simular diversas condiciones de terreno natural saturado mediante columnas de ensayo para posteriormente analizar el comportamiento de microcontaminantes orgánicos presentes en productos de uso personal e industrial que se encuentran en el medio acuático.

Los objetivos específicos del trabajo de máster son:

1. Dimensionar hidráulicamente dos columnas de ensayo que traten de simular el terreno natural saturado para posteriormente llevar a cabo ensayos de flujo bajo condiciones conocidas.
2. Estudiar el comportamiento de la benzofenona 3, utilizado como filtro solar en un gran número de productos de uso diario y considerado como microcontaminante orgánico. Se realizan ensayos bajo diferentes condiciones experimentales en medio saturado formado por relleno de arena silícica.
3. Confirmar los hallazgos experimentales recientes sobre el comportamiento de la benzofenona 3 bajo condiciones oxidantes y reductoras en agua del río Besós [3]. Se realizan ensayos con presencia y ausencia de oxígeno (agente oxidante) en medio saturado formado por relleno de arena silícica.

Para llevar a cabo estos tres objetivos, se divide el trabajo de máster en dos grandes partes. La primera, dedicada a dimensionar la columna y llevar a cabo los ensayos de flujo con las disoluciones específicas para cada fase. La segunda, para analizar químicamente tanto el afluente como el efluente de las columnas mediante técnicas analíticas de última tecnología y alto rendimiento.



ESTADO DEL ARTE

ESTADO DEL ARTE

3.1. Acuíferos

El agua subterránea que se acumula bajo la superficie de la Tierra se aloja en lo que llamamos acuíferos. El agua subterránea que forma los acuíferos es realmente importante para mantener un ciclo de agua equilibrado, alimentar pozos, ríos o lagos, proporcionar alimento para plantas, animales y personas. Los acuíferos contienen grandes cantidades de agua dulce.

Además de eso, el agua presente bajo Tierra está en constante movimiento por lo que los mecanismos de transporte que se dan, pese a ser de carácter lento, mueven inmensas cantidades de agua. Es por ese motivo, y por el hecho de ser principal fuente de aportación de agua dulce accesible de las personas, que su caracterización y estudio es primordial para mantenerlos en un buen estado.

El acuífero está formado por terreno rocoso permeable dispuesto bajo la superficie que acumula agua subterránea en movimiento lento, y que posee una zona de saturación, situada sobre la capa impermeable y una zona de aireación, donde no hay saturación completa del terreno. Si el agua se contiene entre capas impermeables, se conoce como acuífero confinado, mientras que si solo tiene una capa impermeable se conoce como acuífero libre. El comportamiento de dichos acuíferos es distinto, ya que se encuentran sometidos a distinta presión.

Por otro lado, la recarga de los acuíferos determina también la composición del acuífero. No es lo mismo encontrar un acuífero recargado con agua procedente del medio, del ciclo natural, que un acuífero que se recarga con agua tratada en una planta de tratamiento de aguas residuales. Este hecho condicionará la composición del acuífero y la viabilidad de éste como fuente de agua limpia y potable. Se debe destacar que el tiempo de permanencia del agua en un acuífero es muy alto, ya que el movimiento en él es muy lento, de hasta 10000 años.

El nivel de contaminantes y el uso excesivo de agua que los conforma son las principales causas de deterioro de los acuíferos. En el estudio que se lleva a cabo en este trabajo de máster se enfoca el primero de los casos expuestos.

3.2. Potencial de oxidación-reducción, aplicación a acuíferos

El destino y la aparición de los contaminantes orgánicos en acuíferos dependen de varios factores entre los cuales podemos encontrar la litología, las propiedades fisicoquímicas y el estado de reducción del acuífero. Entre estos factores, la presencia o ausencia de oxígeno, el estado de oxidación y reducción, cobra importancia cuando se habla de la degradación natural de estos contaminantes [3].

En la siguiente se muestra la presencia de filtros solares (BP3 y derivados como BP1, BP4 y 4MBC) en los afluentes y efluentes de plantas de tratamiento de agua residual así como de agua de boca. Como se puede observar, la concentración de contaminantes se mide en nanogramos por litro (ng/l), una cantidad considerable al tratarse de contaminantes potencialmente peligrosos para la salud humana y del medio ambiente. El hecho de pasar por la planta depuradora hace que la concentración de contaminantes en el agua disminuya significativamente en algunos casos, aunque lo habitual es que no se eliminen completamente y sigan situándose en niveles de contaminación significativos.

Concentrations (ng/L)			
UV filter	WWTPs		Tap water
	Influent	Effluent	
Benzophenones			
BP1	306 ¹	32 ¹	n.d-295 ⁵
	43-448 ²	12 ²	
BP3	971 ¹	143 ¹	
	195-518 ²	96 ²	
BP4	234 ³	3-45 ³	
	5790 ¹	4309 ¹	
	2120-5130 ²	105-572 ²	
Camphor derivatives			
4MBC	278 ³	30-62 ³	n.d-35 ⁵
	7-153 ⁴	66-94 ⁴	

Tabla 1: Aparición de filtros solares en afluente y efluente de plantas de tratamiento de aguas residuales y agua de grifo (Río Llobregat) [3].

Recientemente cerca de Barcelona, en el acuífero del Delta del río Besós, se ha demostrado que el nivel de amonio (4.3mg/l de media) y los bajos niveles de oxígeno y nitrato disuelto (1.2mg/l y 4.4mg/l de media, respectivamente) dan carácter reductor al acuífero en cuestión [3]. El hecho de encontrar concentraciones de contaminantes orgánicos inferiores de las esperadas comparadas con mezclas de la propia recarga del acuífero (del río) sugiere que las condiciones redox del acuífero contribuyen a la degradación de los compuestos [3].

El acuífero del Delta del río Besós recibe principalmente agua de las plantas de tratamiento, entre otros tipos de recarga. Es por ese motivo, que el río se encuentra bastante contaminado con filtros solares.

Las condiciones de oxidación-reducción del suelo son de gran importancia para procesos de meteorización, formación de diversos suelos y procesos biológicos, también están relacionadas con la disponibilidad de ciertos elementos nutritivos.

La formulación química de las reacciones de oxidación-reducción es la siguiente:



En el suelo existe un equilibrio entre los agentes oxidantes y los reductores. La materia orgánica se encuentra reducida y tiende a oxidarse, por tanto, es reductora, ya que al oxidarse tiene que reducir a otro de los materiales del suelo. Por el contrario el oxígeno es oxidante.

En suelos con flujo de agua subterránea el ambiente es aeróbico, y por lo tanto la tendencia general es oxidante. En los suelos hidromorfos la saturación en agua tiende a provocar un ambiente reductor.

Debido a que el tipo de ambiente condiciona los procesos que se dan y el comportamiento de los compuestos presentes, en el trabajo de máster se valoran diferentes condiciones con intención de simular las situaciones que se dan en suelo saturado.

3.3. Trazadores

Los trazadores son herramientas que se utilizan como métodos de campo para caracterizar propiedades del flujo subsuperficial y transporte en medio fracturado.

El objetivo fundamental de dichos trazadores es llegar a conocer la velocidad y movimiento del agua así como permitir establecer conexiones hidráulicas, como por ejemplo el lugar donde se verá un determinado flujo o la afectación de un posible flujo y la procedencia de dicha afectación.

Existen dos tipos de trazador, según si están formados por materia (compuestos) o por energía, como por ejemplo la temperatura.

Las diferencias más destacables entre un trazador ideal y un trazador real se basan en las siguientes propiedades:

- Velocidad que posee el trazador en el agua
- Interacción con el terreno
- Degradación del trazador en el terreno
- Estabilidad química

- Afectación química en el agua
- Toxicidad

Obviamente, el mejor de los casos para las características descritas anteriormente es el que se acerca más a lo que se llama trazador 'ideal', mientras que el trazador 'real' es el que se da realmente en el medio.

Los trazadores más comúnmente utilizados son temperatura, partículas en suspensión, bacterias, micro partículas, isótopos y gases inertes o radiactivos. Según las características del medio, el grado de conocimiento de cada trazador y presupuesto disponible, en cada caso será conveniente utilizar uno u otro.

Ya que nuestros experimentos van enfocados al estudio del comportamiento de determinados compuestos por debajo de la superficie, los ensayos que se dan con mayor frecuencia con uso de estos trazadores depende del número de pozos, el tipo de inyección o extracción y si se trata de inyección continua o instantánea de trazador. En este trabajo de máster, se procede a utilizar un trazador formado por materia sólida (físico), en concreto cloruro sódico (NaCl) o lo que vulgarmente se conoce por sal. Es un compuesto barato y fácil de utilizar, que nos permite dimensionar las columnas de ensayo de forma eficaz, sencilla y rápida. Además, el trazador se inyecta de forma continua junto a los otros componentes que formarán el afluente de las columnas de ensayo.

El objetivo de dicho trazador, como se ha mencionado anteriormente, es el de caracterizar el flujo y con ello el medio que forma el sistema de las columnas de ensayo, como se comenta posteriormente en el apartado 3.3.

Tras definir el tipo de trazador, se define el parámetro asociado a dicho trazador con el que posteriormente se procede a dimensionar cada columna de trabajo. En este caso, se mide la conductividad mediante sensores que permite un procesamiento posterior de datos gracias al software *Driver-Office*.

La figura siguiente muestra una curva ideal del comportamiento del trazador en inyección continua en el medio de trabajo. El objetivo de la primera fase de ensayos va enfocado a realizar el montaje de dichas columnas y dimensionarlas de tal manera que podamos obtener una curva parecida, ajustándola mediante una solución particular de la ecuación de transporte.

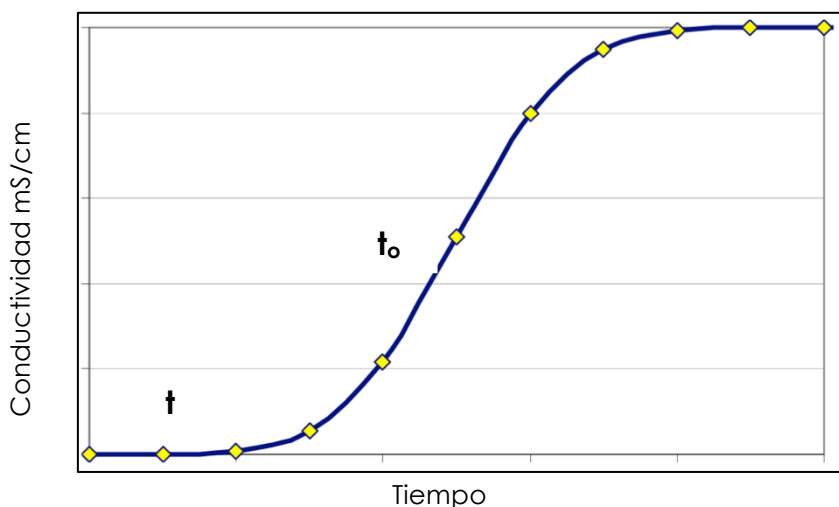


Figura 1: Curva ideal Conductividad-Tiempo

Es importante diferenciar entre el tiempo de llegada t y el tiempo de tránsito t_0 . Mientras que el tiempo de llegada se define como el tiempo que tarda en llegar la primera gota de agua con trazador al efluente del sistema, tras atravesar la columna pasando por todo el relleno, el tiempo de tránsito t_0 es el tiempo que se utiliza para dimensionar la columna y resolver la ecuación.

3.4. Transporte de masas y contaminantes

Los procesos naturales de transferencia que se dan en aguas subterráneas son principalmente tres:

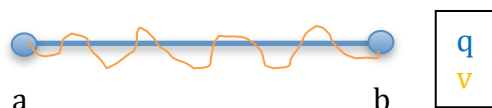
1. Advección
2. Difusión
3. Dispersividad

El proceso de advección es el que genera movimiento condicionado por el arrastre del agua. Siguiendo la Ley de Darcy, se puede decir que la velocidad real del agua es:

$$v = \frac{q}{\phi}$$

dónde:

- v : velocidad real
- q : velocidad de Darcy
- ϕ : porosidad del medio



Es decir, la velocidad real del agua se mide en relación al recorrido real que realiza el agua para llegar de a a b , dependiendo de la porosidad del medio que atraviesa. El terreno 'impide' que el agua circule con velocidad o caudal unitario de Darcy q .

Darcy estudió las propiedades de un flujo de agua a través de un lecho de arena variando la longitud de la muestra y la presión del agua en cada lecho, midiendo el caudal que circulaba a través del mismo. Con eso publica la ecuación de Darcy que se muestra más adelante.

Se establece pues, que la velocidad media del flujo es proporcional al gradiente hidráulico.

Si nos fijamos en la siguiente figura:

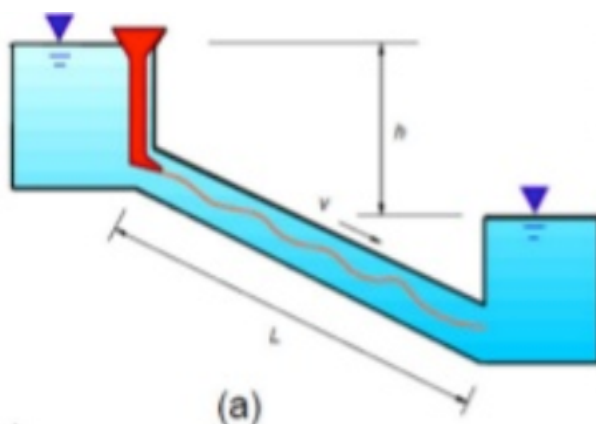


Figura 2: Representación de principios de Darcy

el caudal de Darcy se define como $Q = K \cdot i \cdot A$ $i = \frac{Ah}{L}$

dónde:

- Q: Caudal de Darcy
- K: Permeabilidad
- i: gradiente hidráulico
- A: Área de la sección
- L: Longitud atravesada
- Ah: Diferencia de altura entre superficies superiores

que nos permite definir el tiempo de tránsito como $t = \frac{L \cdot \phi}{K \cdot i}$ o $t = \int_a^b dt = \frac{\pi \cdot b \cdot \phi}{Q} R^2$, que depende de si se considera flujo unidimensional o radial.

En segundo lugar, el proceso de difusión molecular o flujo másico difusivo se define como $M = -Dm \cdot \text{gradiente}(c)$ donde Dm se define como una constante que depende del soluto y el solvente, multiplicado por el gradiente de concentraciones.

Por último, el fenómeno de dispersividad, relativo a la interacción del líquido con las partículas sólidas, se define como

$Md = -\alpha \cdot \frac{q}{\phi} \cdot \text{gradiente}(c)$ donde la constante α depende del medio y la distribución de poros.

Otros procesos asociados como la adsorción instantánea reversible o la difusión en la matriz también se pueden dar, aunque adquieren menor relevancia.

Con todo ello se puede derivar la ecuación general del transporte, que no posee solución analítica. Es por ello que generalmente se tiende a dar solución aproximada mediante modelos numéricos o simplificaciones bajo hipótesis que son sólo válidas bajo ciertas condiciones.

Más adelante se utiliza la solución particular de *Ogata y Banks, 1961* que posee dos hipótesis principales basadas en la suposición de flujo unidimensional y movimiento de masa también unidimensional [24].

$$C(x,t) = \frac{C_0}{2} \left\{ \text{erfc} \left(\frac{x - vt}{\sqrt{4D_L t}} \right) + \exp \left(\frac{xv}{D_L} \right) \text{erfc} \left(\frac{x + vt}{\sqrt{4D_L t}} \right) \right\}$$
$$D_L = D_m + \alpha_L |v|$$

dónde:

- C_0 : concentración inicial del contaminante
- $C(x,t)$: Concentración a una distancia x transcurrido un tiempo t
- α : coeficiente de dispersividad
- D_L : Coeficiente de dispersión longitudinal
- D_m : Coeficiente Difusión efectiva
- v : velocidad lineal flujo

La parte de función error (*erfc*) puede calcularse mediante una fórmula aproximada y el uso de tablas.

Con tal de simplificar el cálculo, se procede a trabajar con un modelo simple en *Excel* que permite resolver la fórmula una vez se incluyen en el modelo las variables a definir.

3.5. Agitación con ultrasonidos

La preparación de las disoluciones es un paso importante para las muestras de laboratorio. La homogeneización ultrasónica y la disolución

es un medio rápido y fiable para preparar muestras de todos los volúmenes.

La agitación con ultrasonidos o sonicación es el proceso de aplicación de energía de sonido para agitar las partículas de una muestra y conseguir que ésta sea homogénea. De esta forma, se obtiene una disolución eficaz y rápida de los compuestos que forman la disolución de la muestra de BP3.

En este caso, para todas las disoluciones se utiliza agitación manual inicial y posteriormente por ultrasonidos, mediante un baño de agua. En la siguiente figura se muestra el aparato de ultrasonidos utilizado:



Figura 3: Aparato de baño con ultrasonido, SELECTA



MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales y Métodos

4.1. Filtros Solares

Los filtros solares son compuestos químicos que absorben la radiación solar ultravioleta y evitan los efectos de ésta en personas y materiales. Forman parte de una categoría de microcontaminantes orgánicos que han recibido una atención especial durante la última década debido al mayor conocimiento de los efectos perjudiciales que causa la radiación solar UV, de manera que ha provocado un incremento exponencial de su uso en productos de cuidado personal.

Los compuestos que incorporan estos filtros solares se producen a nivel mundial en grandes cantidades, y se aplican en la industria cosmética y de productos de cuidado personal, así como en la fabricación de productos que serán expuestos a la radiación solar (pinturas, barnices, plásticos, tejidos, etc).

Según los estudios de monitoreo ambiental, estos compuestos pueden hallarse en el mar, en los ríos, balsas, pantanos, plantas de tratamiento de aguas, agua de grifo (doméstica) y agua subsuperficial [25-31]. Además, en algunos casos los productos de transformación de estos contaminantes pueden seguir siendo biológicamente activos y ser incluso más tóxicos. Esto hace más compleja la tarea de búsqueda de soluciones para los problemas que se desencadenan.

Los filtros solares que provienen del uso doméstico y del uso industrial se incorporan a la red de saneamiento y pero no son totalmente eliminados en el proceso de depuración que se lleva a cabo en las plantas depuradoras. Tras ese proceso, las aguas tratadas llegan a los ríos o se utilizan en regadío y se infiltran en el subsuelo incorporándose en los acuíferos. Su potencial toxicidad en las especies acuáticas y terrestres se ha descrito en varios estudios, indicando que la mayoría provocan alteraciones en el sistema endocrino, lo que se conoce con el nombre de disruptores endocrinos.

El término microcontaminante hace referencia a la concentración tan baja en la que se suele encontrar a estos contaminantes, a nivel de trazas. Sin embargo, su impacto en el medio ambiente y en la salud humana puede ser importante, a pesar de su concentración si su toxicidad es elevada.

Concentrations (ng/L)			
UV filter	WWTPs		Tap water
	Influent	Effluent	
Benzophenones			
BP1	306 ¹	32 ¹	n.d-295 ⁵
	43-448 ²	12 ²	
BP3	971 ¹	143 ¹	
	195-518 ²	96 ²	
	234 ³	3-45 ³	
BP4	5790 ¹	4309 ¹	
	2120-5130 ²	105-572 ²	
Camphor derivatives			
4MBC	278 ³	30-62 ³	n.d-35 ⁵
	7-153 ⁴	66-94 ⁴	

Tabla 2 Aparición de filtros solares en afluente y efluente de plantas de tratamiento de aguas residuales y agua de grifo (Río Llobregat) [3]

En la siguiente figura podemos distinguir el compuesto de estudio (Benzophenone, BP3) y algunos de sus derivados que forman la base de estudio inicial.

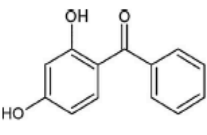
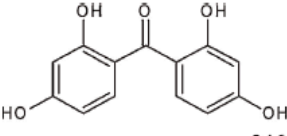
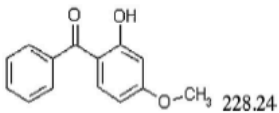
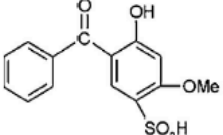
Compound (INCI nomenclature) ^a	CAS №	Structure and molecular weight (g/mol)	LogK _{ow} ^b	pK _a ^b	LogD _{ow} ^b (pH 7.5)	Charge (pH 7.5)
Benzophenones Benzophenone-1 (BP1)	131-56-6	 214.22	3.24	7.6±0.5	3.08	Neu/Neg (0.70/0.30)
Benzophenone-2 (BP2)	131-55-5	 246.22	2.37	7.5±0.8 8.3±0.8 11.6±0.9 13.2±1.0	2.04	Neu/Neg (0.47/0.53)
Benzophenone-3 (BP3)	131-57-7	 228.24	3.86	9.7±0.8	3.86	Neu
Benzophenone-4 (BP4)	4065-45-6	 308.31	0.79	0.9±0.4 8.7±0.9	-3.27	Neg

Figura 4: Propiedades fisicoquímicas de los compuestos iniciales de búsqueda, 1ª fase. [3]

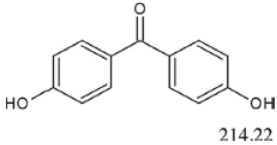
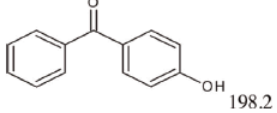
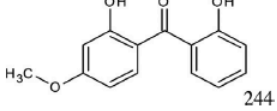
4,4'-Dihydroxy benzophenone (4DHB)	611-99-4		2.75	7.8±0.4 8.6±0.4	2.56	Neu/Neg (0.65/0.35)
4-Hydroxybenzophenone (4 HB)	1137-42-4		2.98	8.1±0.4	2.89	Neu/Neg (0.80/0.20)
2,2'-dihydroxy-4- methoxybenzophenone (DHMB)	131-53-3		3.41	9.5±0.8 11.1±0.9	3.41	Neu

Figura 4: Propiedades fisicoquímicas de los compuestos iniciales de búsqueda, 1ª fase. [3]

Dónde:

- K_{ow} : coeficiente de partición octanol / agua.
- D_{ow} : coeficiente de partición octanol / agua dependiendo del pH
- ^aINCI (International Nomenclature for Cosmetic Ingredient, elaborated by CTFA and COLIPA)
- ^bACD/I-Lab valores calculados usando software de Desarrollo de Química Avanzada (ACD/Labs, 1996-2013)

4.2 Columnas y material de relleno

Las columnas se rellenan de la misma manera, ya que se pretende tener dos réplicas y de este modo poder realizar más ensayos al mismo tiempo bajo distintas condiciones. El relleno consiste en arena silícica no reactiva (es decir, que en principio no debería reaccionar con ningún compuesto) de entre 0,5 y 1,5 mm de diámetro. Además, se utiliza grava de 5 mm de diámetro aproximado para relleno del fondo de cada columna y así evitar posibles taponamientos cerca del orificio de salida.

A continuación se muestra el material utilizado para el relleno de ambas columnas, comparando el tamaño de grano.



Figura 5: Características visuales de la arena y gravilla utilizadas como relleno de las columnas de ensayo

La arena silícica y la gravilla se obtiene de la empresa NAYECO, S.L en Sant Andreu de la Barca, Barcelona. Se trata de un compuesto que resulta de la combinación de sílice con oxígeno. Su composición química se basa en moléculas estables insolubles en agua. Como principales propiedades se pueden destacar su dureza, resistencia química, alto punto de fusión, piezoelectricidad y piroelectricidad.

Considerando el relleno y las dimensiones de las columnas, se determina que el volumen total de relleno con arena silícica es 4241,15 cm³ mientras que el volumen total de relleno con grava es 518,36 cm³ (ver dimensiones en el apartado 4.2.1)

4.2.1 Dimensiones

Para el estudio se han utilizado dos columnas con las mismas dimensiones (tabla 3). Las columnas constan de una base cuadrada que soporta un cilindro hueco de acero inoxidable. Las dimensiones de las columnas utilizadas para llevar a cabo los ensayos se muestran en la siguiente tabla:

Dimensiones de la Columna de ensayo	
Altura	65,9 cm
Altura relleno silícico	54 cm
Altura relleno grava	6,6 cm
Diámetro interior	10 cm
Diámetro exterior	10,4 cm
Área circular	78,54 cm ²
Volumen	5175,77 cm ³
Volumen arena silícica	4241,15 cm ³
Volumen grava	518,36 cm ³

Altura de salida desde la base	3,8 cm
Altura de salida desde la tapa	5,3 cm
Dimensión de la base (por lado)	12 cm
Área de la base	144 cm ²

Tabla 3 Principales dimensiones de las columnas de estudio y del relleno

La siguiente figura muestra el esquema de las dimensiones anteriormente mencionadas (unidades en cm).

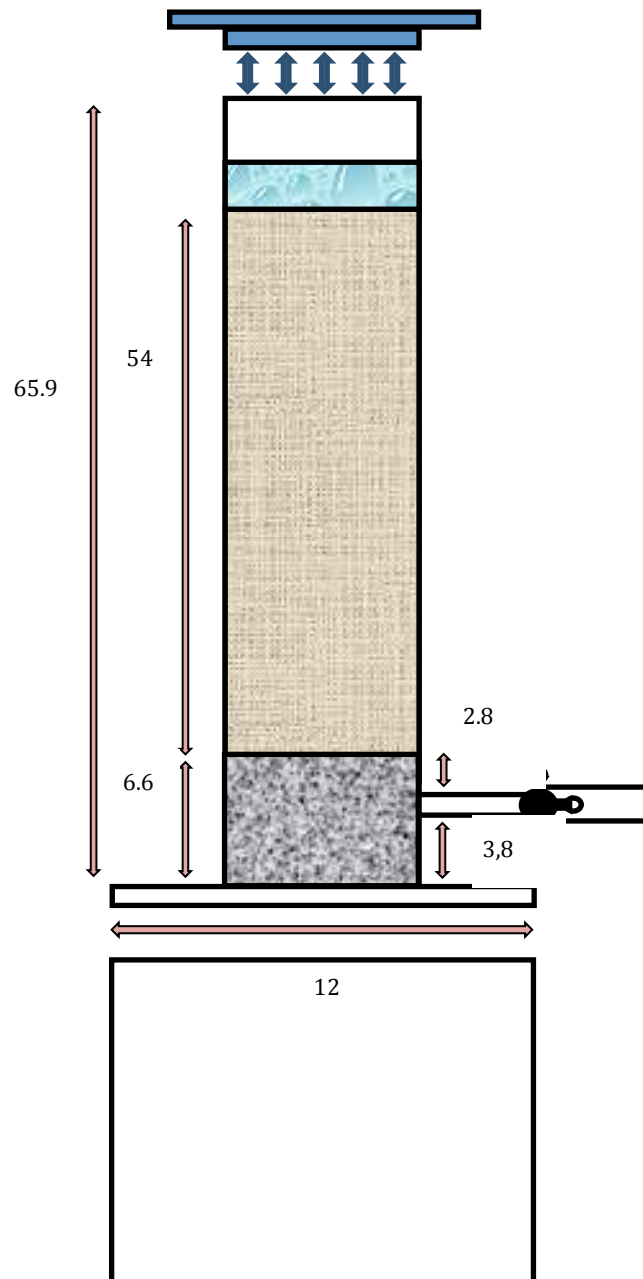


Figura 6: Representación de las dimensiones de las columnas de ensayo

Para distinguir cada columna, se le asigna un color. En este caso, el color amarillo y el color azul se utilizarán para diferenciarlas.

4.3. Dimensionamiento hidráulico de las columnas

Una vez se dispone de los materiales de relleno de las columnas, se procede al montaje de éstas. Cada columna dispone de dos oberturas. En primer lugar, cada columna está abierta por la parte superior, por lo que de este modo se facilita el relleno y la incorporación de las sustancias que consideremos adecuadas para llevar a cabo los ensayos. Esta obertura se puede tapar mediante tapas de metacrilato tintado para evitar que la luz influya en las condiciones de los ensayos. En segundo lugar, a 62.1 cm de la cota superior de la columna y 3.8 cm de la cota inferior de la columna (ver apartado 4.2.1), encontramos el orificio de salida que nos servirá para tomar las muestras de agua tras pasar por la columna.

Tiempo de tránsito t_i : tiempo que tarda una gota de agua en pasar por toda la columna y salir de ésta.

4.3.1 Bomba Peristáltica

El funcionamiento del sistema es sencillo de manera que se pretende simular el medio natural al mismo tiempo que se define el sistema de forma clara y controlada (ver apartado 3.2)

El agua que se introduce en las columnas se hace mediante una bomba peristáltica (como se puede ver en la figura 7) Minipuls 3, GILSON. Este tipo de bomba permite bombear simultáneamente en las dos columnas al mismo tiempo y con el mismo flujo. Aun así, pese a fijar el número de revoluciones, el ajuste de las pestañas y la presión que éstas ejercen sobre el tubo de entrada de cada columna es distinto e independiente para cada uno de ellas. Ello supondrá un ajuste individual y específico para cada columna con el objetivo de encontrar los mismos parámetros de ajuste para ambas columnas, y así funcionen como "réplicas exactas".



Figura 7: Bomba peristáltica Minipuls 3, Gilson

Para asegurar que el caudal que se introduce posteriormente está controlado, el primer paso consiste en ajustar la presión que ejercen las pestañas de la bomba peristáltica sobre los tubos de plástico blando que se encargan de llevar la muestra desde el recipiente donde se contiene hasta la parte superior de la columna donde es introducida en el sistema. Posteriormente, una vez se ajuste la presión de las pestañas, se regula la velocidad de giro de la bomba.

4.3.1.1 Ajuste de la presión

Para realizar el ajuste de la presión de las pestañas sobre cada tubo (uno para cada columna) se procede a fijar un caudal determinado aleatorio, intentando que sea parecido al deseado, y midiendo el caudal saliente al otro lado de la bomba peristáltica.



Figura 8: Esquema de ajuste de presión de las pestañas de la bomba mediante cálculo de caudal a la salida del sistema

Se inicia un caudal de 1.5 ml cada 5 min que equivale a 0,3 ml/min y se procede a bombear en un recipiente de 1.5ml (vial de ensayo). Tras diferentes intentos y ajustes de la pestaña y la presión que ejerce, se consigue calibrar.

4.3.1.2 Ajuste de velocidad de giro

Sin embargo, para que la bomba esté totalmente calibrada, se debe ajustar tanto la presión de las pestañas como la velocidad de giro, en r.p.m. Durante el ajuste de la presión de las pestañas también se procede a modificar la velocidad de giro de la bomba, por lo que con la variación de ambos parámetros se llega a obtener el caudal de salida deseado. En el primer tanteo, para 1.5 ml cada 5 min se establece una velocidad de giro de 95 rpm.

Aun así, como se trabaja con dos variables distintas, se dedica la primera tanda de ensayos a comprobar que, una vez el líquido a tratar pasa por cada columna, lo hace de manera que el caudal es el mismo que el obtenido durante la calibración.

Diferentes situaciones pueden provocar que esto no ocurra. Esto es, posibles formaciones de conductos en el interior de la columna por donde el agua tiene preferencia a circular, obstrucciones debidos a colmataciones o acumulación de sedimentos, problemas derivados del desgaste de los tubos que conducen el agua hacia la columna o lo desplazan hacia fuera de ésta.

Como ya se ha comentado previamente, en estos experimentos se pretende simular las condiciones naturales de infiltración acuosa. Es por ello que se fija como objetivo que el tiempo de retención para obtener posteriormente la permeabilidad del medio sea de entorno a una semana.

4.3.2 Preparación del ensayo

Los primeros ensayos que se realizan con la columna tienen como objetivo dimensionar hidráulicamente el medio donde posteriormente se ensayarán las diferentes disoluciones de BP3 bajo diferentes condiciones. De esta manera, se determina el tipo de flujo y los parámetros hidráulicos de las columnas.

Para llevar a cabo dichos ensayos se utiliza un trazador (ver apartado 3.3) que en este caso se trata de cloruro sódico NaCl, EMSURE® ACS ISO Reag. Ph Eur, y que posteriormente nos permitirá hacer un seguimiento del estado hidráulico en conjunto del sistema.

En la siguiente figura se puede observar un esquema de las diferentes partes del material utilizado para llevar a cabo los ensayos.

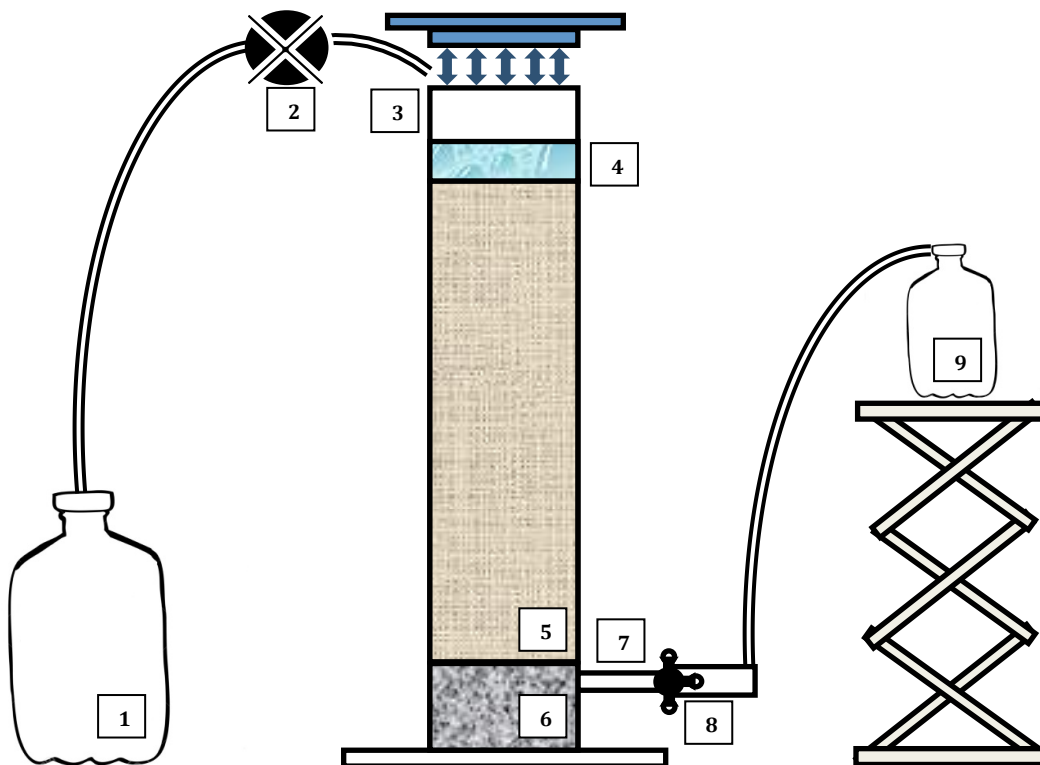


Figura 9: Montaje para llevar a cabo los experimentos hidráulicos

dónde:

- 1: Disolución de entrada al sistema
- 2: Bomba peristáltica
- 3: Espacio de columna sin relleno
- 4: Relleno con la disolución a estudiar en cada caso
- 5: Relleno con arena silícica
- 6: Relleno con gravilla
- 7: Conducto de salida del sistema
- 8: Llave de paso con orificio de toma de muestras
- 9: Recipiente de recogida del efluente

Antes de empezar con los ensayos para la parte hidráulica, se introduce agua Milli-Q, agua desionizada y purificada en un alto grado por un sistema de purificación Q-POD® Element de agua por Millipore Corporation. Con ello, conseguimos limpiar la arena y la gravilla que hemos introducido en la columna. Posteriormente, tras iniciar el primer ensayo con trazador para el dimensionamiento hidráulico de la columna, se nota que el agua del efluente de las columnas tiene un aspecto turbio debido a que la limpieza no ha sido del todo buena. Por

este motivo se decide parar el primer ensayo y limpiar varias veces la columna con agua Milli-Q hasta que el efluente se vuelve claro,.

4.4 Campaña de muestreo

A continuación se describen las campañas de muestreo realizadas para cada una de las dos fases que se han llevado a cabo en el trabajo de máster.

Para la primera fase, se pretende dimensionar hidráulicamente las columnas de tal manera que el posterior análisis de agua se haga bajo unas condiciones determinadas, conociendo las propiedades físicas del medio como la permeabilidad. Se realizan tres ensayos por columna con las mismas condiciones, diferenciando el caudal de entrada, que se ajusta mediante las revoluciones de la bomba peristáltica:

- Ensayo 1: 95 revoluciones por minuto (r.p.m)
- Ensayo 2: 47.5 revoluciones por minuto (r.p.m)
- Ensayo 3: 71 revoluciones por minuto (r.p.m)

Para la segunda y la tercera fase, se realizan ensayos con disoluciones determinadas y bajo condiciones distintas con el objetivo de buscar soluciones a la problemática planteada previamente sobre el comportamiento de los microcontaminantes en el subsuelo. Es por eso que se plantean cuatro situaciones distintas:

- Con disolución de BP3 y NaCl: Condiciones ambientales, atmosféricas
- Con disolución de BP3 y NaCl: Condiciones oxidantes, con inyección de aire
- Con agua del Besós, BP3 y NaCl: Condiciones oxidantes, con inyección de aire.
- Con agua del Besós, BP3 y NaCl: Condiciones reductoras, con inyección de N₂

4.4.1 Campaña de muestreo (1ª fase)

La 1ª fase de los ensayos que se realizan en este trabajo de máster se dedica a dimensionar hidráulicamente las columnas con las que posteriormente se ensayaran las disoluciones con BP3.

El ensayo con cada columna es idéntico, de forma que en el mismo tiempo obtenemos resultados para dos sistemas que a priori son iguales, por lo que conseguimos datos por duplicado.

4.4.1.1 Preparación de la disolución

Antes de empezar con el primer ensayo de dimensionamiento hidráulico se procede a preparar la disolución que contiene el trazador, ya mencionado en el apartado 3.3.

La disolución está formada por dos componentes; en este caso el trazador adquiere el papel de soluto mientras que el agua Milli-Q actúa como disolvente, ya que aún no queremos que la columna interaccione con más sustancias, sino que pretendemos dimensionarla hidráulicamente sin añadir o cambiar las propiedades que tiene durante esta fase.

Debido a que posteriormente realizamos ensayos con agua del Río Besós cerca de su desembocadura, se decide realizar una disolución con un contenido en NaCl relativamente bajo, emulando agua salobre oligohalina, y una salinidad de entre 0,5 y 3 ‰. Teniendo en cuenta que el agua que utilizamos para realizar los ensayos de la primera fase es prácticamente pura, con un porcentaje insignificante de otras sustancias que puedan estar disueltas. Se toma en consideración que 1L de agua Milli-Q pesa 1kg, y que se añade 1g de NaCl por litro de disolución, por lo que se toma un contenido en NaCl de 1g/l o de forma equivalente 1‰ (valor que se encuentra en el intervalo de agua salobre oligohalina mencionado anteriormente).

En la tabla 4 podemos diferenciar las diferentes denominaciones para el agua según su salinidad:

SALINIDAD (‰)	Tipo de agua
0 - 0.5	agua dulce
0.5 - 3.0	agua salobre oligohalina
3.0 - 10	agua salobre mesohalina
10 - 17	agua salobre polihalina
17 - 30	agua de mar oligohalina
30 - 34	agua de mar mesohalina
34 - 38	agua de mar polihalina
38 - 150	salmuera
> 150	hipersalina

Tabla 4: Clasificación cuerpos de agua en función de la salinidad. Ref. Recinto Universitario de Mayagüez

Una vez se define la composición de la disolución para la primera fase, se pesa el contenido de NaCl a utilizar según el volumen de disolución necesario para cada columna. En este caso, se prepara la disolución conforme se va gastando durante el ensayo, ya que la inyección es continua y no es necesario establecer un volumen inicial. Aun así,

siempre se debe asegurar que la disolución que se utiliza es de 1 g/l de NaCl como soluto y agua Milli-Q como disolvente.

4.4.1.2 Ensayos fase 1ª

Ensayo 1 fase 1ª

El ensayo consiste en bombear agua que contiene el trazador, NaCl, con el que posteriormente podremos determinar los parámetros hidráulicos de cada columna tras realizar el seguimiento de este trazador mediante un medidor de conductividad. La disolución de NaCl de 1g/l se bombea a través de cada columna con un caudal de 1.5 ml/min y 95 r.p.m.

Antes de eso, se asegura que el sobrenadante (volumen de disolución que forma el afluyente que permanece por encima del relleno dentro de la columna) también está formado con agua de la disolución mencionada anteriormente.

A la salida de la columna se instala un lector de conductividad sumergido en un recipiente que contiene la disolución que sale de forma constante por la columna. Gracias al lector, se obtiene una medida de la conductividad de forma continua y a intervalos de 10 min (definido previamente mediante el software de configuración del lector de conductividad). El ensayo se inicia el 01/03/2016 a las 15:50h y termina el día 14/03/2016 a las 15:25h con lo que el total de horas dedicadas al ensayo para cada columna es de 311 horas y 35 min.

Se realiza el mismo procedimiento para ambas columnas, ya que se pretende dimensionar cada una de ellas siguiendo los mismos pasos.

Tras el análisis de resultados (ver apartado 5.1) y viendo que el tiempo de tránsito es más bajo de lo esperado, se dedica otra tanda de ensayos para tratar de ajustar el tiempo de tránsito a una semana, como se propone inicialmente para simular las condiciones naturales.

Ensayo 2 fase 1ª

Se vuelve a repetir el mismo tipo de ensayo variando las condiciones de caudal mediante un ajuste a las revoluciones o velocidad de giro de la bomba peristáltica, de modo que se baja a la mitad de revoluciones respecto al ensayo 1, teniendo en cuenta la relación entre caudal y velocidad de giro de la bomba obtenidos durante el primer ensayo de la fase 1. En este caso, 47.5 r.p.m.

Este ensayo sigue las mismas condiciones que en el caso del ensayo 1 de la 1ª fase, por lo que la preparación de las columnas sigue la misma metodología.

El ensayo se inicia el día 14/03/2016 a las 16:05 y finaliza el día 23/03/2016 a las 15:25 h, con un total de 215 horas y 20 min. Parece contradictorio que se pare el ensayo antes, pero el seguimiento de los datos obtenidos en los *divers* (ver apartado 4.4.1.3) indica que el ensayo se alargará demasiado, obteniendo un tiempo de tránsito muy alto. Por este motivo se decide parar el ensayo y realizar un tercer intento.

Posteriormente, en el análisis de resultados se describe la metodología seguida para detectar anticipadamente el correcto o incorrecto funcionamiento del ensayo con ello decidir esta parada prematura de dicho ensayo.

Ensayo 3 fase 1ª

Finalmente, después de renovar el agua contenida en la columna por agua Milli-Q asegurando que no queda contenido en sal (mediante la lectura de los *divers*), se procede a realizar un tercer ensayo con las mismas condiciones que en los dos anteriores, pero teniendo en cuenta que el caudal del afluente debe ser inferior al primer ensayo y superior al segundo. Teniendo en cuenta esta consideración, se define como 71 r.p.m las revoluciones de la bomba peristáltica.

Una vez modificada la velocidad de giro, se lleva a cabo el ensayo de la misma forma, utilizando los mismos componentes en la disolución y las mismas condiciones de contorno.

El ensayo se inicia el día 30/3/2016 a las 17:52h y termina el día 18/04/2016 a las 16:40 h con lo que resulta un total de 454 horas y 48 minutos.

Posteriormente, durante el análisis de resultados, se observa que el tercer ensayo se ajusta mucho mejor a nuestro objetivo de tiempo de tránsito.

4.4.1.3 Funcionamiento del lector (*diver*)

Para realizar las lecturas de salinidad del efluente de las columnas, se utiliza un sistema de lectura de salinidad en el agua de salida mediante *divers* en constante inmersión.

Para cada columna se utiliza un *diver Schlumberger*® con capacidad para monitorización en tiempo real gracias a los sistemas telemétricos que lleva incorporados. La base de datos que incorpora cada *diver* se

puede descargar mediante fibra óptica gracias al lector de *divers* que se conecta al ordenador mediante USB, permitiendo analizar los datos mediante el software *Diver-Office 2014*.

Diver-Office 2014 nos permite trabajar con los datos y gestionarlos de muchas formas. De modo predeterminado, cuando se definen las características de toma de muestras por parte del *diver*, el software dibuja gráficas con los datos obtenidos y que posteriormente pueden ser modificadas.

Los ajustes iniciales que se pueden configurar en el *diver* son:

1. Opción de calibración del *diver*
2. Punto de monitoreo (Regular o Barómetro)
3. Intervalo de toma de muestras
4. Método de muestreo
5. Altitud
6. Intervalo y tipo de conductividad
7. Intervalo de muestreo

Muchos más parámetros pueden ser configurados, puesto que este instrumento tiene gran variedad de usos. Entre ellos, el más utilizado es el muestreo en pozos y el seguimiento de las propiedades de las aguas subterráneas.

En nuestro caso, para medir la conductividad durante los ensayos, configuramos el *diver* para que tomara una muestra de forma continua cada 10 min, y así de esta forma obtenemos una gran densidad de datos que nos permite posteriormente obtener resultados tanto visuales como numéricos mucho más precisos e indicativos. En este caso, el tipo de *diver* utilizado permite medir la temperatura y la presión además de la salinidad de la muestra.

Cualitativamente, pueden distinguirse dos aspectos destacables de forma visual; En primer lugar, cuando la conductividad baja hasta 0 de forma repentina. Esto se debe a que el *diver* no ha detectado conductividad en el medio. Cada día en momentos indicados, se procede a la lectura de datos del *diver*. El tiempo en el cual el *diver* descarga datos en el ordenador, también sigue siendo tiempo de lectura para el *diver*. Debido a que no está sumergido en el agua, los datos que toma son 0. Para evitar errores derivados de esto, se trabaja con la mayor rapidez posible cuando se verifican y toman los datos de los *divers*. En segundo lugar, tenemos zonas donde la conductividad del medio baja repentinamente y se mantiene más baja de lo habitual durante cierto tiempo, tras el cual recupera los niveles anteriores. Esto se debe a la presencia de burbujas de aire cerca del sensor del *diver* que toma los datos. Para evitar este problema, que puede llegar a ser grave,

se debe agitar bien el *diver* cuando se sumerge y de este modo eliminar el aire alrededor de éste.

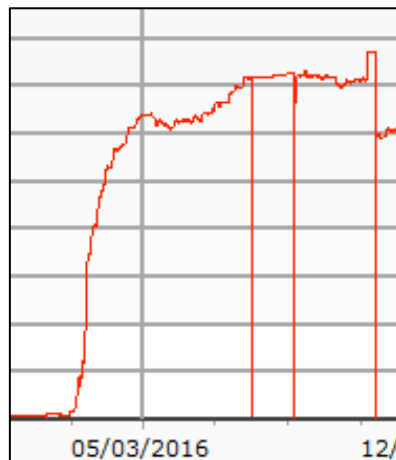


Figura 10: Bajada de conductividad repentina registrada por el diver

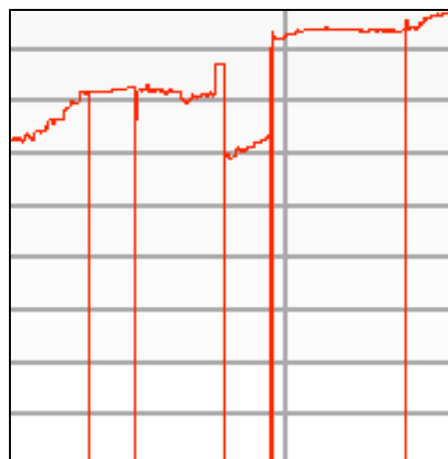


Figura 11: Bajada de conductividad durante un cierto tiempo debido a burbujas y aire alrededor del sensor de lectura del diver

4.4.2 Campaña de muestreo (2ª fase), con agua HPLC

La segunda fase de los ensayos va destinada a observar el comportamiento de la BP3 cuando se incorpora al sistema en disolución y bajo unas condiciones de contorno determinadas. A primera vista, las preguntas que surgen antes de realizar el ensayo y tras revisar documentación sobre el tema son:

- Influirá la presencia de NaCl en el comportamiento de la BP3?
- Se degradará la BP3 por el simple hecho de atravesar el sistema?
- Se acumulará la BP3 en el sistema por procesos físicos, como adherencia a los granos de arena?
- Qué diferencias notables encontramos entre la composición de la disolución que forma el afluente y la disolución que forma el efluente?

En los dos ensayos realizados se prepara el mismo tipo de disolución (ver apartado 4.4.1.1) con agua calidad HPLC (suprapura) en vez de agua Milli-Q, mientras que las condiciones de contorno se modifican.

Para la columna azul se incorpora una entrada de aire continua en la disolución durante el ensayo, de forma que la muestra se encuentra aireada todo el tiempo. Por otro lado, la columna amarilla no incorpora ninguna inyección de aire.

El cloruro sódico nos aportará nuevamente información sobre la conductividad del efluente. Posibles cambios en la conductividad pueden indicar cambios en el sistema y por consiguiente en la BP3; su concentración y sus posibles compuestos derivados.

4.4.2.1 Preparación de la disolución

La disolución que se utiliza para la segunda fase está formada por agua HPLC, BP3 como contaminante y NaCl como trazador.

La disolución contiene el mismo contenido en NaCl que en la primera fase, para que no represente una condición variable añadida.

Con el caudal obtenido durante la fase 1 y el tiempo de tránsito, se puede definir el volumen aproximado de disolución que se requiere para que el sistema esté en funcionamiento durante 7 días, suficiente tiempo como para superar el tiempo de tránsito obtenido en la primera fase y tener resultados concluyentes.

Se prepara la disolución en una botella de color ámbar para evitar el contacto de la luz ya que según varios estudios, la BP3 puede degradarse con la radiación [32]. Siguiendo este consejo, se decide envolver todo el sistema con papel de aluminio. De esta forma, la botella con la disolución que actúa como afluente, la columna de acero inoxidable, los tubos de teflón que sirven como vía de entrada y salida de la disolución y por último la bomba, se tapan y recubren bien para que el sistema se encuentre totalmente aislado de la luz solar.

Así mismo, se define que el volumen de trabajo sea de 3 L de la disolución para cada columna. Se trata de un volumen superior al estimado, pero que permite tener suficiente disolución por si ocurriera algún problema. Por tal de que la disolución sea lo más homogénea posible, se procede a realizar una disolución de 6 L que posteriormente es dividida en dos recipientes, uno por columna, y que permite establecer condiciones diferentes en cada uno de ellas.

Para la disolución de 1 g/l de NaCl se pesa la sal en una balanza analítica (granatario en concreto). Al tratarse de 6 L, se necesitan 6 g de

NaCl. Por otro lado, la concentración propuesta de BP3 es de 20 mg/l, por lo que se necesitarán 120 mg de este compuesto. Una vez pesados, se disuelven en agua HPLC se agita vigorosamente y se enrasa hasta 6 l.

Tras preparar todo el volumen de disolución, se asegura que está bien homogénea mediante agitación manual y por ultrasonidos (ver apartado 3.5).

4.4.2.2 Ensayo columna azul, con incorporación de aire

El procedimiento de ensayo es el mismo que el que se sigue durante la primera fase, cambiando el tipo de disolución y las condiciones de contorno.

El ensayo consiste en bombear la disolución con el mismo caudal que el obtenido en la primera fase de ensayos, y por lo tanto, el mismo número de revoluciones en la bomba peristáltica.

Sin embargo, los datos obtenidos en esta fase son diferentes a los obtenidos en la fase anterior, ya que se pretende averiguar el comportamiento de la BP3 tras el paso por cada una de las columnas.

En primer lugar, se vuelve a instalar el sistema de lectura de conductividad con los *divers*, tal y como se realiza en los tres ensayos de la primera fase, sumergido en un recipiente de tal forma que se registran niveles de conductividad en el efluente.

En segundo lugar, se procede a tomar muestras continuas de agua tanto del efluente como del afluente del sistema. El procedimiento que se sigue es el siguiente:

1. Planteamiento del programa de recogida de muestras. Se recogen dos muestras por día (a excepción del fin de semana). La primera muestra se coge a primera hora de la mañana mientras que la segunda tanda de muestras se recoge a media tarde. Con eso, pretendemos tener un muestreo amplio y suficientemente espaciado.
2. Metodología de muestreo: En cada tanda de muestreo se recogen tres muestras. Dos de las muestras pertenecen al efluente, por lo que una actúa como 'réplica' mientras que se toma una muestra del afluente, que proviene de la disolución. Cada muestra se recoge con una jeringa Luer-Lok™ Tip de 10 ml de volumen, asegurando que es distinta para la muestra de entrada y salida. Siempre que se recoja una muestra del afluente será del sobrenadante de la columna, mientras que cuando se recoja una muestra del efluente se obtendrá del grifo situado en la salida del sistema, asegurando que la muestra proviene de la dirección

interior de la columna y no del tubo de teflón de salida, para evitar que la muestra interactúe con el exterior (ver figura 12).

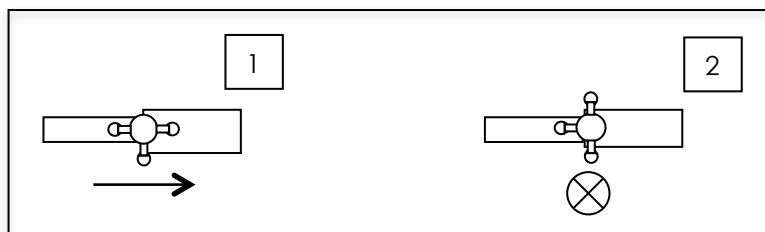


Figura 12: En **1** el grifo se encuentra abierto, durante el procedimiento de ensayo. En **2** el grifo se encuentra cerrado permitiendo la toma de muestras de la parte interior de la columna. El flujo normal es de izquierda a derecha

3. Numeración de las muestras: Las muestras se depositan en tubos de ensayo debidamente numerados, *a.b.c.d* donde:

- *a*: indica el número de tanda de muestra. Por lo tanto el primer día, por la mañana se le asignará el número 1.
- *b*: indica el número de la muestra en la tanda. Con esto, el 1 y 2 pertenecen a la salida mientras que el 3 pertenece a la muestra de entrada, como se especifica más tarde en *b*
- *c*: se indica con una letra si la muestra pertenece al afluente o entrada *E* o si la muestra pertenece al efluente o salida (*S*).
- *d*: Se indica el color de la columna. (*Y*) para la columna amarilla y (*B*) para la columna de color azul.

4. Conservación de las muestras: Las muestras se conservan en el congelador del laboratorio a una temperatura de -20°C para evitar que sufran alteraciones hasta el momento del ensayo. Las muestras son descongeladas para su análisis químico.

El ensayo se inicia el día 22/07/2016 a las 15:40 h y finaliza el día 29/07/2016 a las 18:45 h con una duración total de 171 horas y 5 min. Durante el ensayo, se toman 36 muestras (6 por día durante 6 días). En la Tabla 5 podemos distinguir detalladamente el horario de toma de muestras:

Muestreo columna azul							
Muestra	Tipo	Fecha	Hora	Muestra	Tipo	Fecha	Hora
1.1.S.Y	Salida	23-jul	9:30	7.1.S.Y	Salida	27-jul	8:30
1.2.S.Y	Salida _r	23-jul	9:30	7.2.S.Y	Salida _r	27-jul	8:30
1.3.E.Y	Entrada	23-jul	9:30	7.3.E.Y	Entrada	27-jul	8:30
2.1.S.Y	Salida	24-jul	10:05	8.1.S.Y	Salida	27-jul	18:50
2.2.S.Y	Salida _r	24-jul	10:05	8.2.S.Y	Salida _r	27-jul	18:50
2.3.E.Y	Entrada	24-jul	10:05	8.3.E.Y	Entrada	27-jul	18:50
3.1.S.Y	Salida	25-jul	9:30	9.1.S.Y	Salida	28-jul	8:50

3.2.S.Y	Salida _r	25-jul	9:30	9.2.S.Y	Salida _r	28-jul	8:50
3.3.E.Y	Entrada	25-jul	9:30	9.3.E.Y	Entrada	28-jul	8:50
4.1.S.Y	Salida	25-jul	18:55	10.1.S.Y	Salida	28-jul	18:50
4.2.S.Y	Salida _r	25-jul	18:55	10.2.S.Y	Salida _r	28-jul	18:50
4.3.E.Y	Entrada	25-jul	18:55	10.3.E.Y	Entrada	28-jul	18:50
5.1.S.Y	Salida	26-jul	8:30	11.1.S.Y	Salida	29-jul	9:00
5.2.S.Y	Salida _r	26-jul	8:30	11.2.S.Y	Salida _r	29-jul	9:00
5.3.E.Y	Entrada	26-jul	8:30	11.3.E.Y	Entrada	29-jul	9:00
6.1.S.Y	Salida	26-jul	15:30	12.1.S.Y	Salida	29-jul	18:45
6.2.S.Y	Salida _r	26-jul	15:30	12.2.S.Y	Salida _r	29-jul	18:45
6.3.E.Y	Entrada	26-jul	15:30	12.3.E.Y	Entrada	29-jul	18:45

Tabla 5: Horario de toma de muestras para el ensayo 1 de la segunda fase. Columna amarilla.
r: réplica

Todo el material de laboratorio que se utiliza durante la toma de muestras debe estar debidamente limpio, libre de contaminación. Además, tras su uso, debe asegurarse del mismo modo que el material de vidrio y plástico se limpian siguiendo el procedimiento establecido, con agua destilada, etanol y acetona (en caso de tratarse de material de vidrio). Por otro lado, el material sobrante o de un solo uso debe ser debidamente gestionado para su deshecho como material contaminado.

4.4.2.3 Ensayo columna amarilla, en condiciones ambientales

El ensayo 2 de la segunda fase, correspondiente a la columna amarilla, sigue el mismo procedimiento que el ensayo de columna azul, descrito en el apartado 4.4.2.3. Sin embargo, la disolución de entrada no incluye incorporación de aire.

El ensayo se inicia el mismo día y a la misma hora que el ensayo en la columna azul, por lo que el tiempo de ensayo es igual en ambas columnas, compartiendo también el horario indicado de la tabla 5. Sin embargo, la nomenclatura debe cambiar, y se utiliza Y en vez de B para esta columna.

Las diferencias que se puedan introducir en los ensayos, si las hay, debido a las diferentes condiciones de la disolución que forma el afluente, se podrán observar más tarde en los análisis químicos de las muestras.

4.4.3 Campaña de muestreo (3ª fase, con agua de Río)

La tercera fase del trabajo de máster relacionada con la parte experimental se basa en el estudio del comportamiento de la BP3 y sus compuestos derivados o metabolitos (tabla 4) en medio natural.

Para llevar a cabo la tercera fase de ensayos se utiliza agua del Río Besós, situado en la parte norte de la ciudad de Barcelona y que actualmente es uno de los tres ríos utilizados para abastecer de agua a la ciudad de Barcelona. Es por este motivo, que el acuífero que alimenta este río es primordial para los habitantes de la ciudad y de sus alrededores. En [3] un estudio sobre filtros solares en varios puntos de la ciudad, entre los cuales se encuentra el Río Besós y su acuífero.

Debido a la importancia de este río y a las referencias anteriores, se procede a ensayar agua del Río Besós, entre Santa Coloma de Gramenet, Badalona y la ciudad de Barcelona, como se puede observar en la siguiente figura.

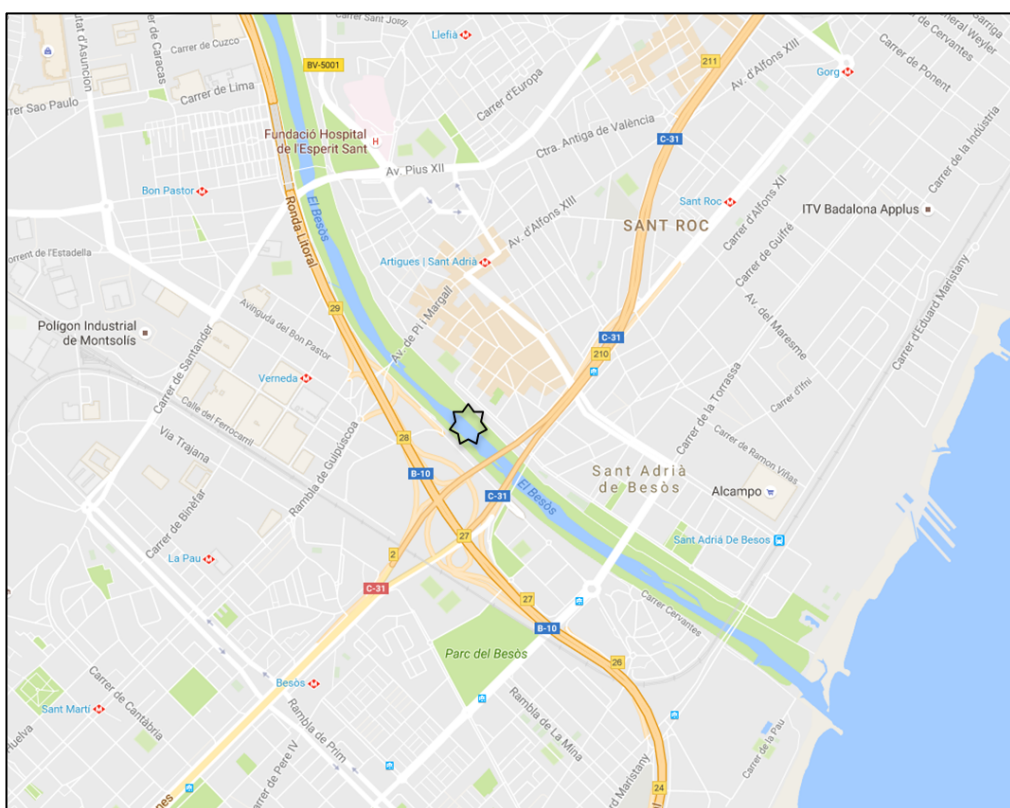


Figura 13: Situación geográfica de la toma de muestra de agua de Río Besós para los ensayos de las fase 3.

La toma de muestra de agua del Río Besós se lleva a cabo el día 28/08/2016 a las 17:00 h de la tarde. Se toman 10 L de agua cercana a la desembocadura del río junto a 5 cm de espesor en sedimentos del cauce del río. En el momento de toma de muestra en el río el día permanece descubierto y soleado, con una temperatura de 27°C.

Una vez tomada la muestra, transporta en nevera portátil y se mantiene en frío en el laboratorio para su posterior uso. Como se ha mencionado anteriormente, debido a que la BP3 se degrada por radiación solar (aunque poco) se mantiene la muestra de agua recubierta con papel de aluminio.

4.4.3.1 Preparación de la disolución

La disolución que se utiliza para la tercera fase está formada por agua del Río Besós, BP3 y NaCl como trazador. Sin embargo, se toma una muestra antes de realizar la disolución ya que en este caso, la mayor parte de componentes que forman la disolución son desconocidos.

Se realiza una disolución siguiendo la misma metodología que la de la segunda fase experimental, pero substituyendo el agua HPLC por el agua del río. Se vuelve a utilizar el mismo caudal anterior y por consiguiente las mismas revoluciones en la bomba. El volumen de trabajo para cada columna será de 3 L.

Para la disolución, se prepara a las mismas concentraciones que en el caso anterior, 1g/l de NaCl y 20 mg/l de BP3. Al tratarse de 6 L se necesitan 6 g de NaCl y 120 mg de BP3. Una vez pesados, se disuelven en el agua de río y se enrasa hasta los 6 L, que tras mezclarse homogéneamente se reparten en dos recipientes.

Según los recientes estudios, en ambientes con ausencia de oxígeno (medio reductor) el filtro solar BP3 así como parte de sus metabolitos se degradan mejor que en otras condiciones [3]. Este argumento se utiliza como base para plantear los ensayos de la tercera fase.

Tras preparar la disolución, se procede a preparar las columnas para llevar a cabo los ensayos de la fase 3. Para ello, se limpia el relleno del material bombeando agua destilada durante varios días.

4.4.3.2 Ensayo columna amarilla, con incorporación de nitrógeno

Una vez más, el ensayo sigue la misma tipología que la mencionada en los ensayos previos en cuanto a funcionamiento global del sistema de la columna. Sin embargo, se cambia el tipo de disolución y las condiciones de contorno.

La disolución se prepara en una botella especial que dispone de un tapón con tres orificios. Además, se pretende que la base de ésta sea circular y con el área de menor tamaño posible, para asegurar que el nitrógeno se reparte homogéneamente en la disolución y se elimina la mayor parte de oxígeno.

El orificio de mayor tamaño, de unos 7 mm de diámetro, sirve para introducir el tubo que inyecta el nitrógeno comprimido procedente de la bombona. La bombona procede de ALPHAGAZ™ y contiene nitrógeno comprimido a 200 bar, con un contenido en H₂O inferior a 3 ppm (partes por millón o mg/l) y un contenido en O₂ inferior a 2 ppm. La

pureza del nitrógeno es superior al 99,999% (especificaciones de la bombona). Todo ello permite eliminar el oxígeno del interior de la columna y asegurar que la disolución se encuentra en un medio de características reductoras.

Se utiliza otro orificio de menor tamaño para introducir el tubo que sirve posteriormente como vía de entrada al sistema, con el caudal predeterminado, formando así lo que llamamos afluente.

Por último, se utiliza un orificio que sujeta un tubo pequeño desde la parte sin disolución del interior de la botella que contiene la disolución hasta el exterior. Con eso se garantiza que no haya sobrepresión en el interior de la botella. Se debe mantener la habitación donde se lleva a cabo el ensayo con buena ventilación.

A continuación se muestra un esquema de la botella utilizada para llevar a cabo el experimento de la columna amarilla:

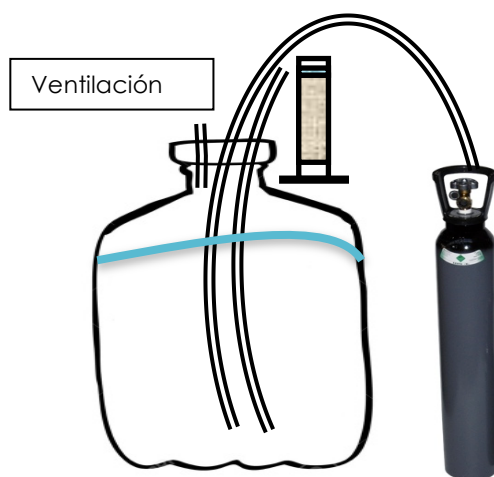


Figura 14: Esquema del contenedor de la disolución del ensayo de la columna amarilla, tercer fase

De nuevo, se instala el sistema de lectura de conductividad con los *divers*.

La toma de muestras tanto del efluente como del afluente se realiza siguiendo los mismos pasos que en los ensayos de la fase dos, con su debida numeración.

El ensayo se inicia el 23/08/2016 a las 15:00 h y finaliza el día 30/08/2016 a las 18:00 h con una duración total de 171 horas. De nuevo, se vuelven a tomar 36 muestras. Debido a la disponibilidad horaria, todas las

muestras se toman a las 10.00 h de la mañana y a las 18:00 h de la tarde. Durante el fin de semana, la muestra se toma a las 11:00 h.

4.4.3.3 Ensayo de la columna azul, con incorporación de aire

El ensayo 2 de la tercera fase, correspondiente a la columna azul, sigue el mismo procedimiento que el ensayo anterior, pese a que la disolución no se prepara en condiciones reductoras, sino que se facilita la entrada de oxígeno mediante la inyección de aire en la disolución.

El ensayo se inicia al mismo tiempo que el ensayo de la columna amarilla de la tercera fase. Es por ese motivo, que la duración del ensayo y la toma de muestras es exactamente el mismo, recordando el cambio de nomenclatura.

Las diferencias que se puedan introducir en los ensayos, si las hay, debido a las diferentes condiciones de la disolución que forma el afluente, se podrán observar más tarde en los análisis químicos de las muestras.

4.5 Análisis Químicos

En este apartado se exponen los pasos seguidos para la preparación de muestras para su posterior análisis. Para la fase dos de experimentos y para la fase tres se realizan dos tipos distintos de análisis, como se explica a continuación..

4.5.1 Orbitrap: Analizador de masas

Para la fase 2 de ensayos se decide utilizar un espectrómetro de masa Orbitrap como analizador para identificar los posibles derivados formados. Este equipo permite identificar y confirmar compuestos con rapidez y fiabilidad gracias al espectrómetro de masas híbrido cuadrupolo-Orbitrap Thermo Scientific™. El sistema combina la cromatografía de líquidos de alta eficacia con la espectrometría de masas de alta resolución, es decir es capaz de dar la masa exacta de los compuestos identificados.

La cromatografía de líquidos de alta eficacia acoplada a la espectrometría de masas combina el poder de separación de compuestos de gran peso molecular de la HPLC y la capacidad de detección sensible y selectiva de la identidad molecular del espectrómetro de masas.

En este caso se utilizó una columna cromatografía s LichroCART® Purospher® STAR ® RP-18 ec (125 mm x 2.0mm, 5 µm) de Merck.

El primer paso del procedimiento de análisis consiste en acondicionar el equipo con metanol, agua HPLC y ACN. Tras condicionar el equipo y asegurar que está listo, las muestras se inyectan una a una y la fase móvil, compuesta por agua y ACN, las transporta por el interior de la columna cromatográfica. De esta manera, los componentes de la muestra se separan de acuerdo con la afinidad por el material de relleno interno de la columna, saliendo del cromatógrafo en un intervalo de tiempo determinado que más tarde definirá cada uno de los componentes, tiempo de retención cromatográfico. Acto seguido, la muestra líquida es ionizada formándose microgotas que se evaporan rápidamente y liberan las moléculas de analito ionizadas, radicales y moléculas neutras. Los iones que entran en el analizador Orbitrap-MS son atrapadas electrostáticamente y empiezan a rotar alrededor de un cuadrupolo realizando oscilaciones axiales gracias a una corriente de electrones y son detectadas y amplificadas gracias a un campo electromagnético, obteniéndose una señal (cromatogramas y espectros de masas).

Cada compuesto es único, y cada uno de los compuestos se ionizará y fragmentará de una determinada manera, identificando así cada analito por su relación carga/masa.

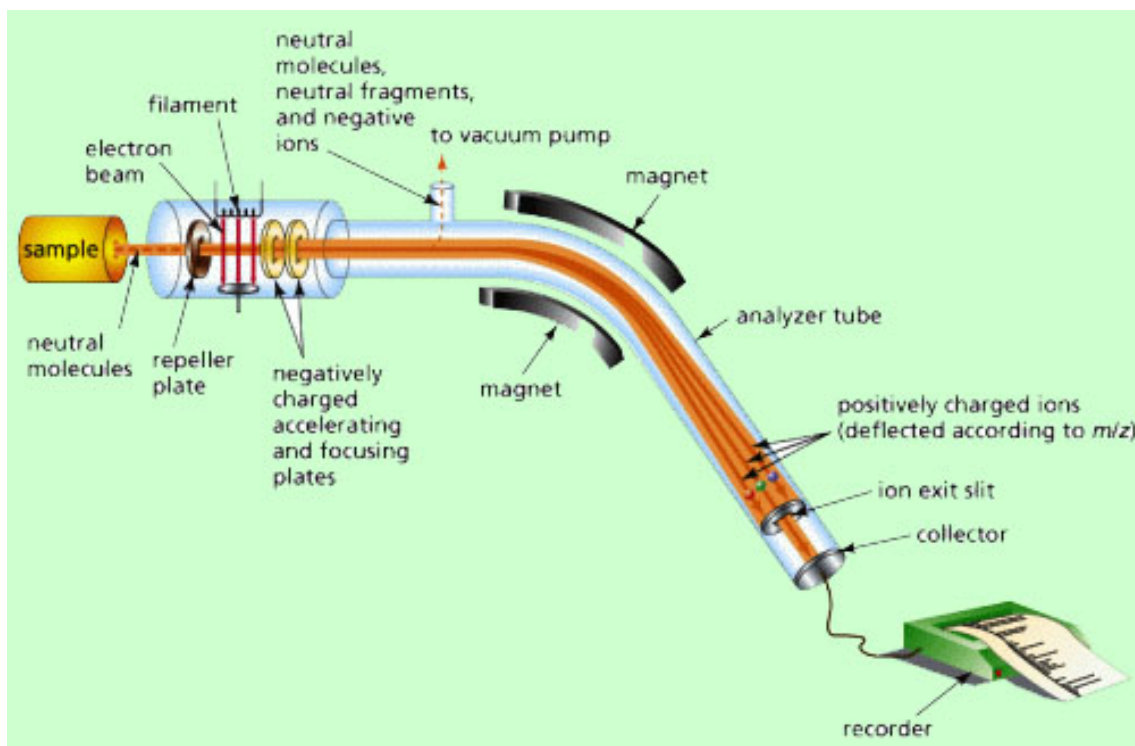


Figura 15: Cromatografía de Líquidos acoplada a Espectrometría de masas. Ref: Fundamento y funciones de la espectrometría de masas, Universidad de Valencia, Departamento de Química Analítica

4.5.2 Q-TRAP LC-MS/MS

Para la tercera fase de ensayos se utiliza el analizador de masas QTRAP® (Applied Biosystems, Sciex) que permite cuantificar los compuestos presentes en las muestras a niveles de concentración muy bajos, trazas y ultratrazas, si se define previamente su tipología y composición. Su forma de trabajo es parecida al Orbitrap, pero con cambios relevantes. La plataforma QTAP permite tanto trabajar como tándem de espectrometría de masas como triple cuadrupolo para cuantificación y también para una mayor sensibilidad como cuadrupolo- trampa de iones lineal.

La aplicación de espectrometría de masas de triple cuadrupolo es uno de los instrumentos de análisis químico más utilizados. El triple cuadrupolo permite filtrar la masa en el primer y último cuadrupolos, aislando los iones principales, mientras que el segundo sirve como celda de colisión fragmentando los iones. Finalmente se obtiene un registro con las señales de cada uno de los analitos detectados.

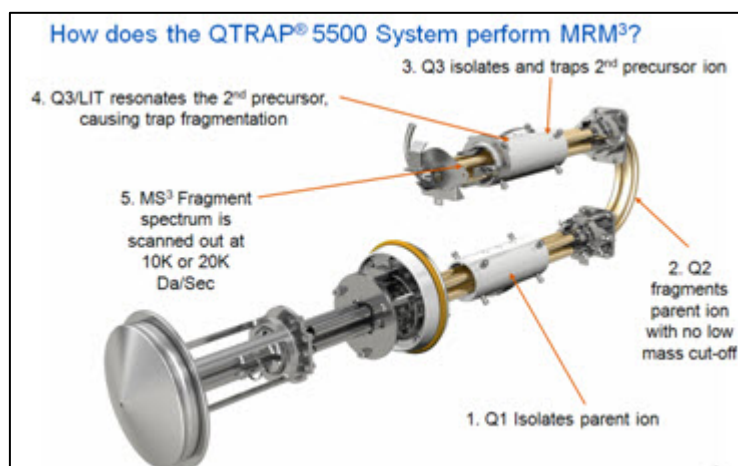


Figura 16: Funcionamiento del Qtrap®. Fuente: Sciex, Corea.

4.5.3 Preparación de muestras

Para cada uno de los equipos, la preparación de muestras se realiza de manera totalmente diferente.

Ya que en la segunda fase de ensayos el objetivo es identificar los compuestos que se pudieran formar bajo las condiciones de contorno, se necesita que las muestras se sitúen en una concentración relativamente alta, puesto que el porcentaje de transformación en derivados suele ser bajo y entonces no se podrían llegar a detectar en el Orbitrap-MS.

La preparación de estas muestras consiste en la dilución de las muestras tomadas del afluente y del efluente de cada una de las columnas.

Para entrar en un rango de trabajo adecuado para el equipo, se necesita que la concentración de la BP3 sea al menos de 400 ppb o $\mu\text{g/l}$. La concentración inicial de BP3 del afluente era de 20 mg/l. El proceso consiste en diluir la muestra en agua HPLC tantas veces como sea necesario para llegar a dicha concentración, con dilución de 1/50 como máximo. Finalmente, la muestra se prepara en viales de HPLC de 5 ml. También se intercalan muestras de MeOH para limpiar el equipo cada diez muestras de la secuencia de análisis.

Para la segunda fase, en la que se usa el QTRAP-MS la preparación de muestras es más compleja. Por una parte, se necesita preparar las muestras a una concentración bastante menor en comparación a las del otro equipo. Además, puesto que este equipo permite calcular la concentración de los analitos (cuantificación, es necesario trabajar con disoluciones a diferentes concentraciones del analito a determinar, en este caso la BP3, y construir con ellos una recta de calibrado.

Para preparar la recta de calibrado se usa una disolución multipatrón de calibración conteniendo todos los elementos necesarios. Esta disolución madre se prepara en agua HPLC. Los compuestos que forman la mezcla de patrones a 1 ppm (1mg/l) son:

- BP1
- BP2
- BP3
- BP4
- BP8
- 4HB
- 4DHB
- THB
- 4MBC
- EtPABA
- ODPABA
- TBHPBT
- OC
- EHMC
- 1.HBT
- 4MeBT
- DmeBT
- TCS
- TCC
- MPB
- EPB
- PPB
- BPB
- BePB
- UVP
- UV234
- UV320
- UV326
- UV327
- UV328
- UV329
- UV360
- Tonalide
- Celestalide
- Galaxdide
- Avobenzona

Además, se prepara una disolución a 50 ppb ($\mu\text{g/l}$) de los patrones internos de estas sustancias para cuantificar las señales obtenidas. Los patrones utilizados fueron en su mayoría compuestos deuterados y fueron::

- BP3d
- BePBd
- TCSd
- Allyl BZT
- 4MBCd
- Tonalide

A continuación se prepara la recta de calibración. El primer paso reside en preparar la recta en el rango de las ppb ($\mu\text{g/l}$) a diferentes concentraciones. Para ello se inyectan diferentes volúmenes del mix de patrones en matraces de 25 ml, enrasados con MeOH. Con esto se consiguen las concentraciones; 1, 3, 5, 10, 30, 50, 100, 300, 500 ppb. Acto seguido, se realiza el mismo procedimiento para disponer de cada una de las concentraciones anteriores en ppt (ng/l) añadiendo 25 microlitros del mix de *internal standards*. Con esto conformamos la recta en ppt (ng/l).

La preparación de muestras en este caso consiste en realizar diluciones de 1/50 como máximo tantas veces como sea necesario hasta conseguir tratar una muestra de 20 ppm (mg/l) hasta 200 ppt (ng/l). Por consiguiente, las muestras se deben diluir 10^6 veces añadiendo el volumen necesario de la disolución mezcla de los *internal standards*.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados y discusión

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos para cada fase de ensayos tras analizar y gestionar los datos generados.

Los resultados que se muestran en la primera fase hacen referencia al dimensionamiento hidráulico de las columnas, mientras que los resultados que se muestran en la segunda y tercera fase incorporan el análisis químico de las muestras mediante HPLC-MS.

5.1 Resultados de la primera fase, dimensionamiento hidráulico

El objetivo principal de la primera fase se basa en el dimensionamiento hidráulico de las columnas. Para ello, se realiza un ensayo por cada columna con un trazador, con el objetivo principal de encontrar el tiempo de tránsito de cada columna y por consiguiente dimensionarla y obtener los parámetros de éstas.

Tal y como se describe en el *apartado 3.3*, el tiempo de tránsito lo encontramos en el punto de inflexión de la curva generada por la lectura de conductividad de cada uno de los *divers*.

Teniendo en cuenta las simplificaciones de la ecuación del transporte que se mencionan en el *apartado 3.4*, se procede a utilizar la solución particular de *Ogata y Banks, 1961* como simplificación de la ecuación para encontrar una solución aproximada y fiable.

Siguiendo la fórmula del *apartado 3.4*, el objetivo se basa en crear un modelo que permita ajustar la curva obtenida por formulación con la curva obtenida de los datos medidos. Ajustando con el factor de porosidad y de dispersividad, se procede a ajustar las curvas y con ello obtener los parámetros de porosidad y dispersividad.

Para llevar a cabo lo descrito anteriormente, necesitamos los datos referentes al gradiente hidráulico, el caudal, área de la sección perpendicular al flujo, permeabilidad intrínseca y concentración inicial del trazador (en este caso NaCl a 1g/L). La relación entre la velocidad de Darcy y la velocidad real, así como la fórmula de *Ogata y Banks* completarán nuestro modelo.

5.1.1 Columna Azul

Búsqueda de caudal óptimo

En este apartado se muestran los resultados obtenidos para la columna de ensayo azul, que en esta fase de estudio se somete a las mismas condiciones que la columna de color amarillo.

El primer paso reside en tratar de obtener un tiempo de retención cercano a una semana con tal de simular condiciones parecidas a un acuífero.

En siguiente figura se muestran tres gráficos, El gráfico de color rojo muestra la conductividad medida por los *divers* (eje y) respecto del tiempo (eje x). La conductividad máxima medida en la solución preparada que conforma el afluente del sistema es de 1.8 ms/cm.

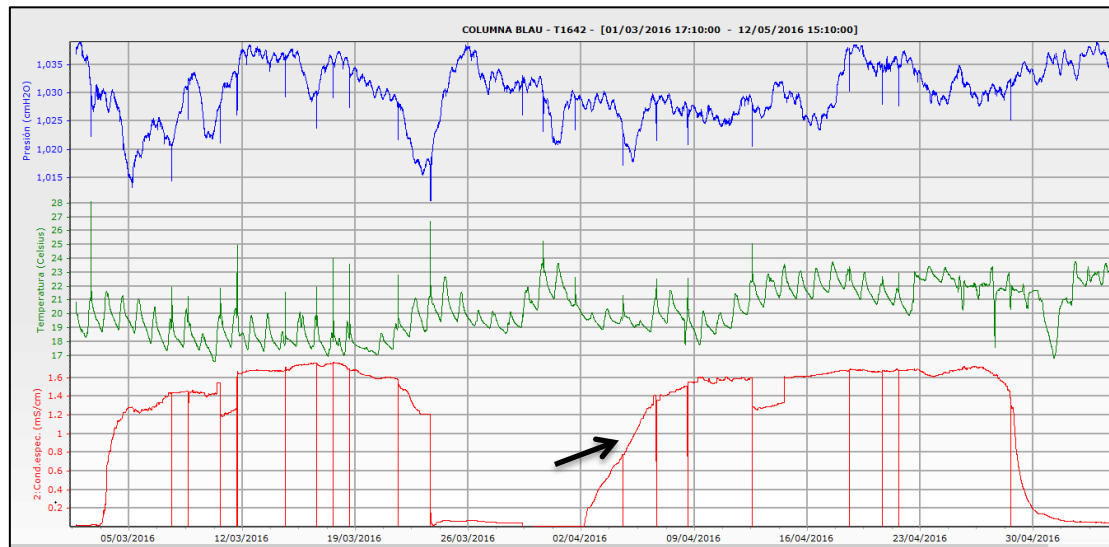


Figura 17: Lectura de los diver. Azul: Presión Verde: Temperatura Rojo: Conductividad

En el gráfico se muestra el tiempo completo de medición de conductividad para toda la fase 1, es decir, para los tres ensayos.

El primer tramo de la curva, de forma creciente, conforma la primera parte de la fase, dedicada al ensayo 1. Para el ensayo dos, se decide revertir el proceso, cambiando la disolución por agua Milli-Q sin trazador, con lo que se consigue obtener una curva a la inversa, ya que la columna está llena de NaCl y se va inyectando agua Milli-Q, de este modo el contenido en la sal va bajando. En tercer lugar, el segundo tramo creciente muestra la medición para el tercer ensayo de la primera fase. En este caso, ya que la columna vuelve a estar libre de NaCl, se decide volver a incorporar la disolución con trazador al afluente, con lo que se consigue un ensayo idéntico al primero.

Aun así, cada uno de los tramos descritos en el anterior párrafo contiene una diferencia sustancial, el caudal de entrada, según la configuración de la bomba peristáltica, como se aprecia en el apartado 4.3.1.

Ya que la lectura de *divers* se hace de forma continua, se analizan los datos día a día con el objetivo de conocer de forma anticipada si el ensayo va por buen camino.

Visualmente, una vez termina el primer ensayo, se puede observar como el punto de inflexión de la parte creciente de la curva se sitúa a unos tres días del inicio del ensayo (ver apartado 4.4.1.2). Es por eso, que se regula de nuevo el caudal con el fin de preparar el segundo ensayo.

El segundo ensayo se realiza con la mitad del caudal. Sin embargo, analizando los datos durante el tiempo de ensayo y, viendo que tras una semana la curva no alcanza un punto parecido al que sería el punto de inflexión, se decide detener el experimento.

Para el tercer ensayo, se decide regular el caudal de entrada a un valor intermedio (71rpm). Como se observa en la figura 17, teniendo en cuenta la fecha de inicio del ensayo, se observa que el punto de inflexión se encuentra en los 5-6 días. Este valor es adecuado para proseguir con el estudio del dimensionamiento ya que se parece a las condiciones reales del medio. Cabe señalar que el valor exacto del tiempo de retención obtenido se puede visualizar tras el tratamiento de datos y la elaboración de gráficas.

El caudal que se obtiene es de 0,000221 m³/día como media de los caudales obtenidos para cada día, teniendo en cuenta los días de ensayo.

Tratamiento de datos

Antes de aplicar el modelo con la intención de resolver la formulación propuesta por Ogata y Banks, se deben tratar los datos obtenidos en el lector para que los resultados obtenidos del modelo sean fiables y más precisos. En la figura 17 se aprecian dos tipos de irregularidades.

En primer lugar, líneas rectas verticales que implican una lectura de conductividad 0. Esto es debido a que en el período comprendido en los 10 min de lectura, el *diver* no estaba midiendo nada ya que se encontraba conectado al ordenador descargando datos. Pese a que son errores puntuales, son necesarios para comprender el progreso del ensayo y al mismo tiempo decidir de forma preventiva si el ensayo va por buen camino, ya que los ensayos requieren de mucho tiempo, que debe emplearse de manera eficiente.

Por otro lado, observamos tramos con descensos pronunciados de la conductividad durante un cierto tiempo. Este error surge cuando se forman burbujas cerca del sensor de medida de conductividad del *diver* y no se mide bien la concentración de NaCl presente en el efluente. La manera de evitar este error de forma sencilla es agitar bien el *diver* de forma regular asegurando de esta manera la desaparición de las burbujas de aire.

Aproximación por Ogata y Banks

Tras definir el caudal de trabajo para tratar de simular al máximo las condiciones que se dan en la naturaleza con respecto al tiempo de retención respecto al tamaño de la columna de ensayo (caudal real del efluente), se debe definir tanto la porosidad como la dispersividad para caracterizar el flujo que se da en el interior del sistema.

Para ello, se decide utilizar la solución particular de Ogata y Banks siguiendo las hipótesis destacadas en el apartado 3.4.

Los datos que se conocen y que se incorporan en el modelo son:

- Caudal Q: 0,000221 (m³/día)
- Área: 0,00785 (m²)
- Gradiente: 0,011296
- Concentración máxima: 1,9 (mS/cm)
- Permeabilidad: 2,49228 (m/d)

Mientras que las variables en el modelo son:

- Porosidad: 0,400
- Coeficiente de dispersividad: 0,048

El valor final de la porosidad y de la dispersividad se obtiene comparando el gráfico generado por el modelo con el gráfico generado tras el tratamiento de los datos obtenidos en los ensayos de las columnas, como se muestra en la siguiente figura para la columna azul.

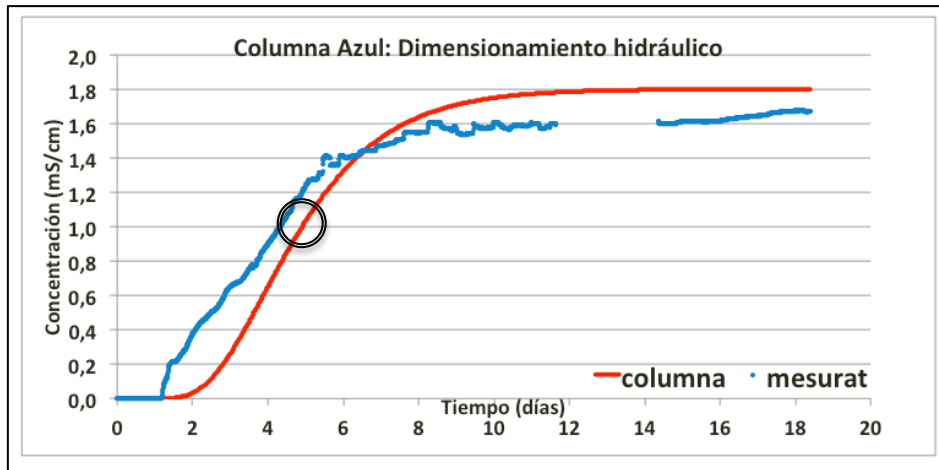


Figura 18: Concentración de trazador en el tiempo. Columna azul. Detección del tiempo de tránsito.

Como se observa en el gráfico, el tiempo de tránsito en referencia al punto de inflexión de la curva del modelo es de aproximadamente 5 días.

5.1.2 Columna Amarilla

La metodología utilizada para la evaluación de los resultados de la columna amarilla es exactamente la misma que la seguida en la valoración de resultados de la columna azul.

Sin embargo, pese a establecer las mismas condiciones de ensayo en ambas columnas, debido a que se trata de dos sistemas independientes, los resultados obtenidos pueden diferir.

El caudal que se obtiene es de 0,0002109 m³/día como media de los caudales obtenidos para cada día, teniendo en cuenta los días de ensayo.

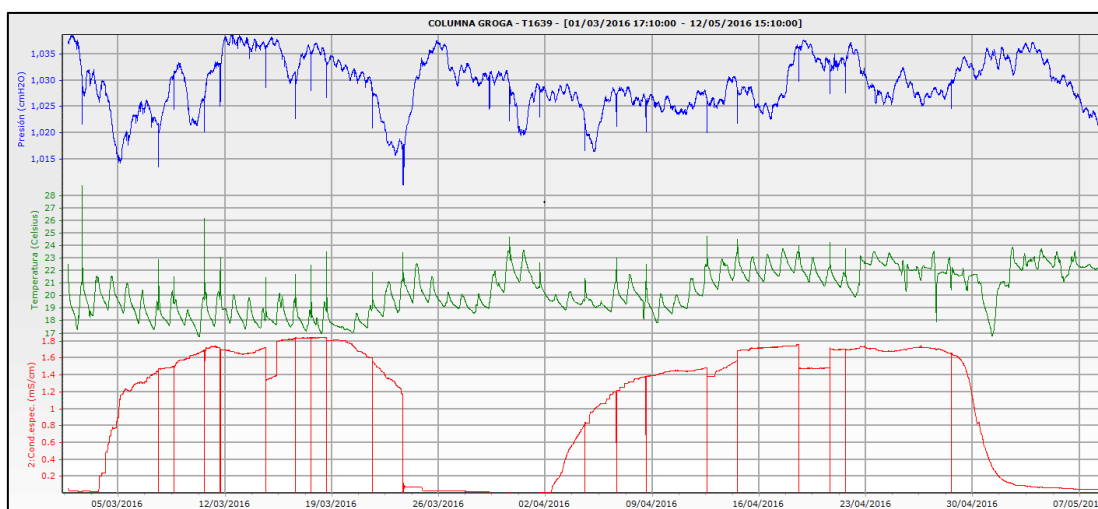


Figura 19: Lectura de los diver. Azul: Presión Verde: Temperatura Rojo: Conductividad

Respecto a la resolución de la ecuación con la solución particular, los datos que se conocen y que se incorporan en el modelo son:

- Caudal Q: 0,0002109 (m³/día)
- Área: 0,00785 (m²)
- Gradiente: 0,01148
- Concentración máxima: 1,9 (mS/cm)
- Permeabilidad: 2,339 (m/d)

Mientras que las variables en el modelo son:

- Porosidad: 0,400
- Coeficiente de dispersividad: 0,045

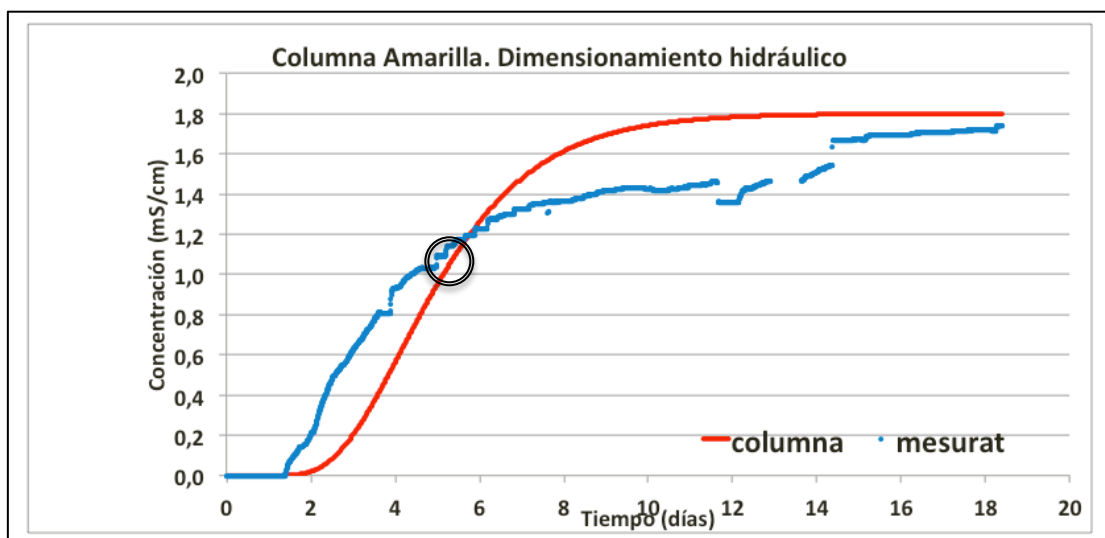


Figura 20: Concentración de trazador en el tiempo. Columna amarilla. Detección del tiempo de tránsito.

5.1.3 Comparación

Se observa que los resultados obtenidos para cada una de las columnas son muy parecidos.

Ambas columnas presentan una porosidad o fracción de huecos de 0,4 no muy alta debido al material granular utilizado para el relleno de las columnas.

Por otro lado, el coeficiente de dispersividad varía de una a otra columna. Mientras que en la columna azul es de 0,048 en la columna amarilla es de 0,045.

Con esto tenemos ya calculados los parámetros de dimensionamiento hidráulico de ambas columnas, de manera que se pueden iniciar los ensayos químicos..

5.2 Resultados de la segunda fase, HPLC-Orbitrap MS

5.2.1 Columna azul

En los ensayos de la segunda fase, la columna azul, se somete a condiciones parecidas a la columna amarilla, excepto por el hecho de que la disolución que forma el afluente, es aireada de forma continua para asegurar que las condiciones sean oxidantes.

El análisis de los espectros de masas indica que no se detecta ningún producto de transformación de la BP3. Esto se podría deber a dos motivos:

El primero, que el entorno oxidante, proporcionado por la inyección de aire, no fuera lo suficientemente oxidante como para formar compuestos derivados de la BP3. Sería por tanto interesante llevar a cabo ensayos en un entorno de mayor potencial de oxidación, cosa que se podría conseguir con la adición al sistema de peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Otra explicación podría ser que, que el tiempo de tránsito por la columna no haya sido suficiente como para que tuviesen lugar procesos de oxidación de la BP3.

Por otro lado, podemos decir que en las muestras se detecta BP3 a partir del segundo día, aunque con una intensidad de señal muy baja (entorno 10^6). Este resultado era de esperar ya que en el caso de la fase de ensayos 1, el trazador también empieza a notarse a partir del segundo día. Esto nos indica, que la disolución ha pasado por la columna sin obstrucciones y con un flujo similar al de la fase de ensayos 1, y que el relleno inerte de la columna se comporta como tal.

En la siguiente figura se observa la detección de BP3 en el tercer día por la mañana. El instrumento detecta el compuesto en cada muestra a un tiempo de retención de 4.64 min, tiempo asignado al compuesto en las condiciones de análisis de esta fase de ensayos. El ión molecular del compuesto tiene la masa molecular correspondiente a su fórmula química como se ve en el espectro de masa, hecho que demuestra su identificación.

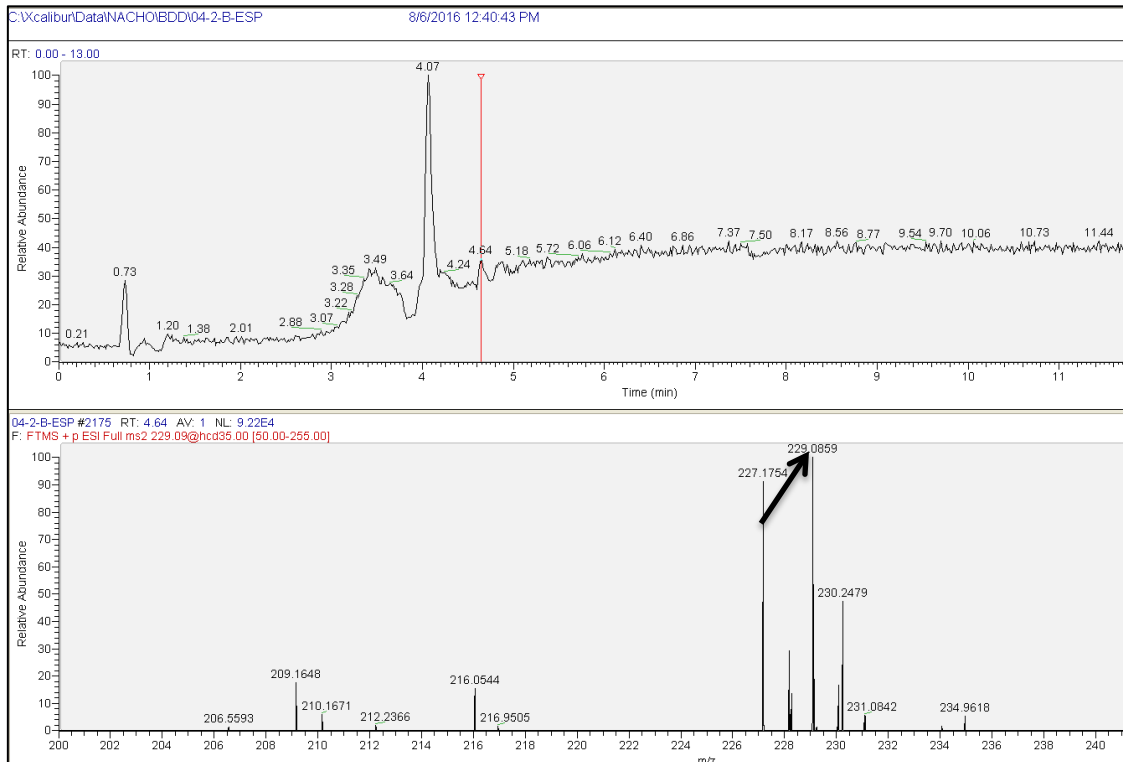


Figura 21: Detección de BP3 en la muestra del segundo por la mañana. Columna azul. Orbitrap

En la siguiente figura observa la detección de BP3 en el último día, a la última toma de muestra, indicando que el flujo sigue sin sufrir cambios.

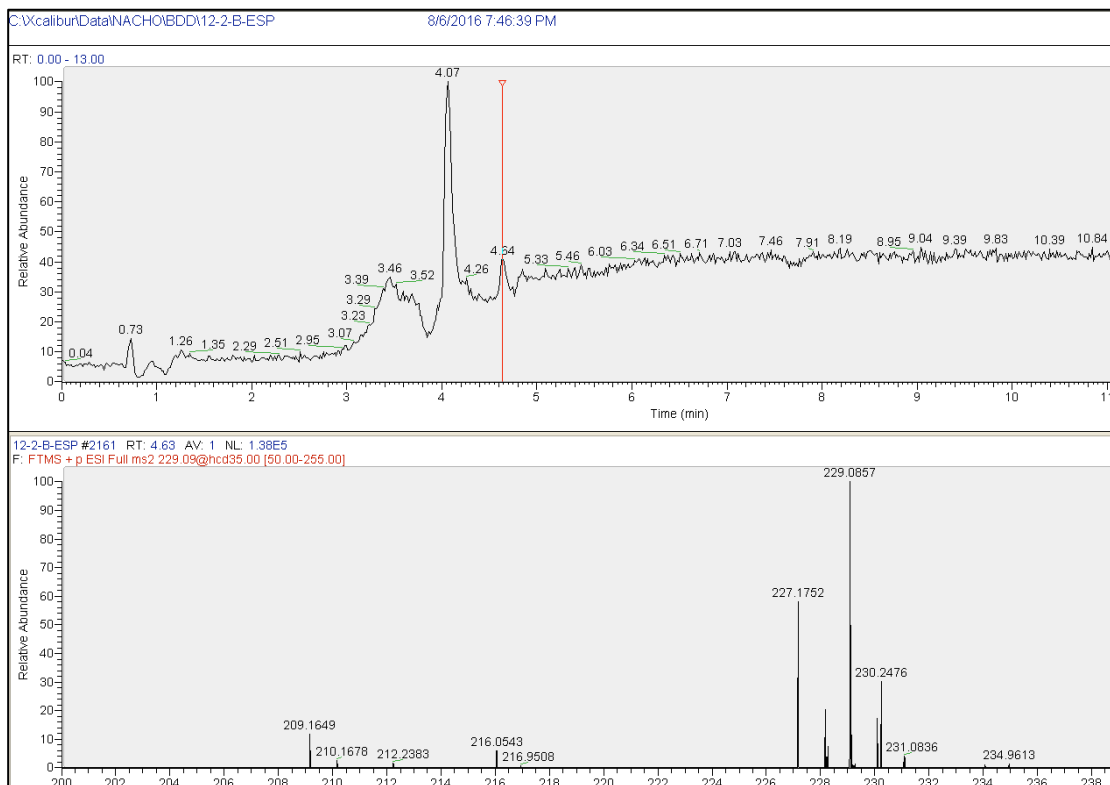


Figura 22: Detección de BP3 en la muestra del sexto día por la tarde. Columna azul. Orbitrap

5.2.1 Columna amarilla

Para la columna amarilla, las condiciones de la muestra son condiciones ambientales, sin adición de aire.

En este caso tampoco se han detectado compuestos relacionados con la BP3, es decir, que no ha habido transformación de ningún tipo.

Del mismo modo que en el caso anterior, se detecta BP3 a partir del segundo día y hasta el final del ensayo.

En la siguiente figura puede observar como la BP3 se encuentra en el afluente el primer día por la mañana. Esto es normal, ya que el afluente está formado por la disolución que contiene BP3 con concentración constante. El peso molecular idéntico (229.0858) nos indica que se trata de BP3. En el caso de la columna azul sucede de forma idéntica.

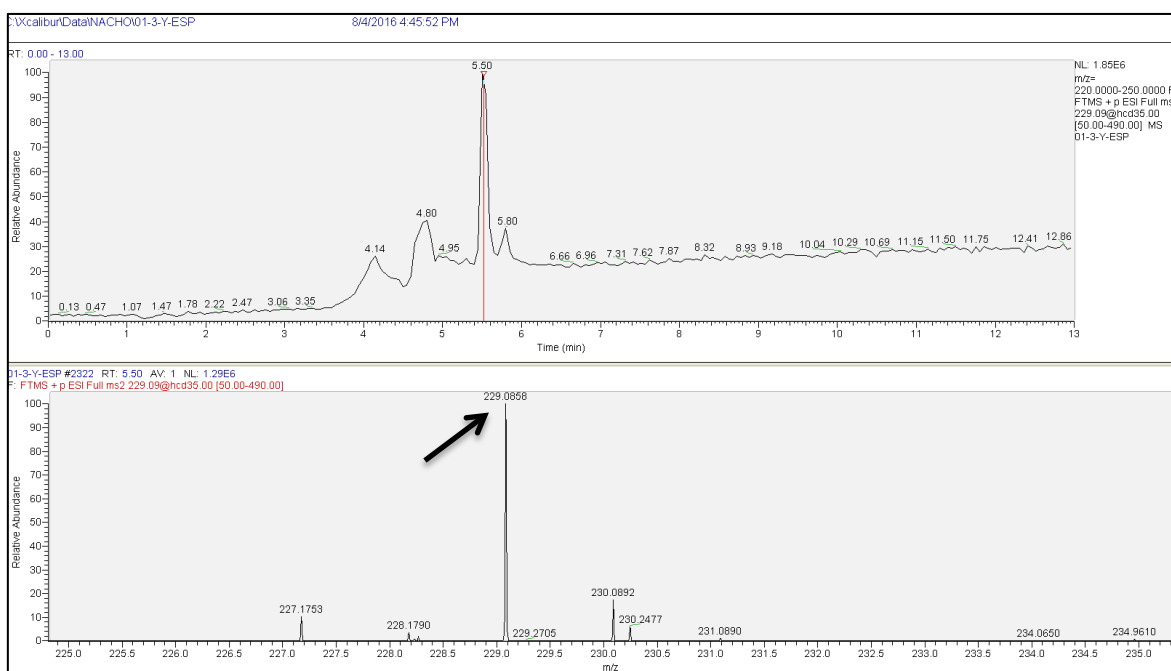


Figura 23: Detección de BP3 en la muestra del afluente. Columna amarilla. Orbitrap

En la siguiente figura se observan el cromatograma y el espectro de masas de la BP3 detectada en el efluente del tercer día:

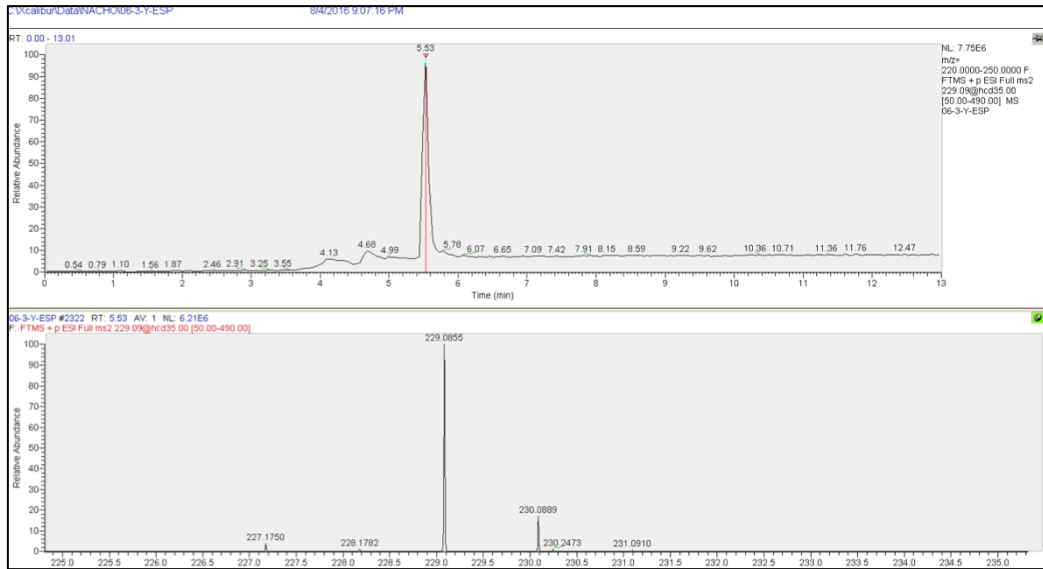


Figura 24: Detección de BP3 en la muestra del tercer día por la tarde. Columna amarilla. Orbitrap

A continuación, se puede observar el hallazgo de BP3 en la muestra del sexto día, lo que denota que el flujo sigue siendo favorable y no se producen alteraciones.

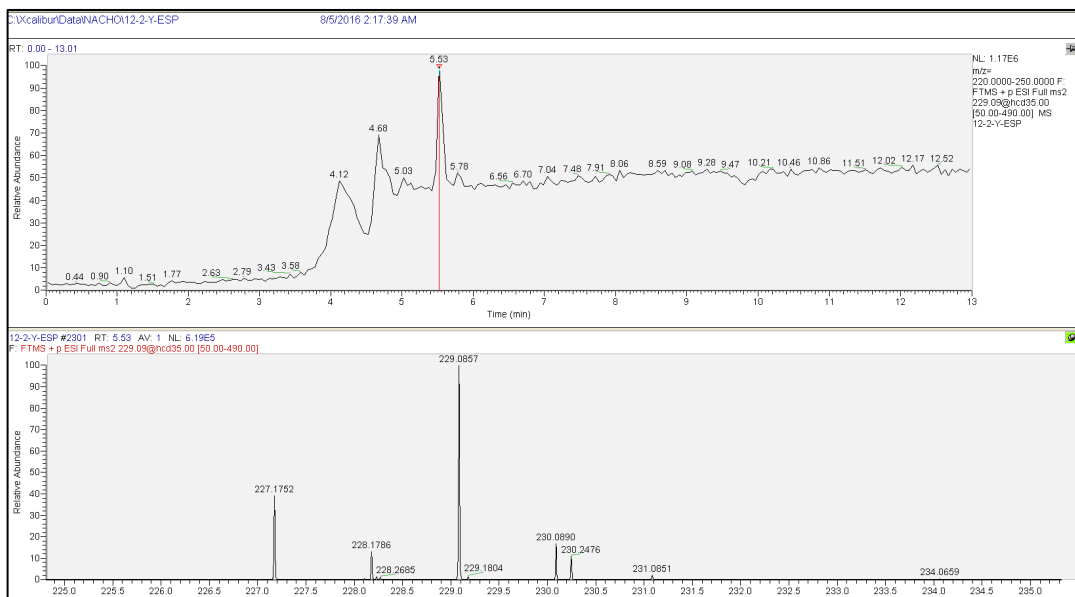


Figura 25: Detección de BP3 en la muestra del sexto día por la tarde. Columna amarilla. Orbitrap

5.3 Resultados de la tercera fase, QTRAP

5.3.1 Columna Azul

La columna azul durante la fase 3 de ensayos se somete a aireación, de la misma forma que en la anterior fase. Por otro lado, la muestra contiene agua de río, con lo que conlleva la presencia de muchos otros compuestos además de materia orgánica. La materia orgánica tiende a oxidarse de forma que alguna sustancia presente en la disolución debería reducirse.

Como se observa en la próxima figura, las concentraciones tanto de la entrada como de la salida son muy parecidas. En este caso tampoco se encuentran derivados de la BP3 ni la tendencia del gráfico es la esperada. Esto puede ser debido a:

- Que en el momento de pesar la cantidad de BP3 a añadir no fuese la correcta, o se disolviese en mayor volumen (disolución más diluida). Causa bastante improbable ya que se sigue la metodología correcta y la disolución se hace con especial cuidado. En este caso al haber tan poca cantidad de BP3 la cantidad formada de los posibles productos de transformación sería muy baja, por debajo de lo que puede llegar a detectar el analizador de masas.
- Que la preparación de muestra se hiciese a una concentración errónea, cosa que explicaría la baja concentración de BP3 encontrada (10 veces menos a la esperada). Aun así, no es un problema ya que podría estudiarse el caso a la concentración que haya. La ausencia de compuestos derivados se explicaría como el supuesto anterior.
- Que se haya degradado mucho la BP3 antes de los ensayos, cosa muy poco probable porque se detectarían los productos de degradación.

En la siguiente figura se puede observar que el afluente y el efluente presentan una evolución similar. Esto denota que la BP3 no ha sufrido ningún cambio significativo en su concentración tras su paso por la columna. Sin embargo, tanto el afluente como el efluente sufren un aumento de concentración a partir del 2º-3º día (punto 5-6 del eje x). Ello podría explicarse por una contaminación cruzada puntual de las muestras de esa tanda.

En la figura, el eje x representa el tiempo de 12 en 12 horas mientras que el eje y se representa la concentración en ng/l de BP3.

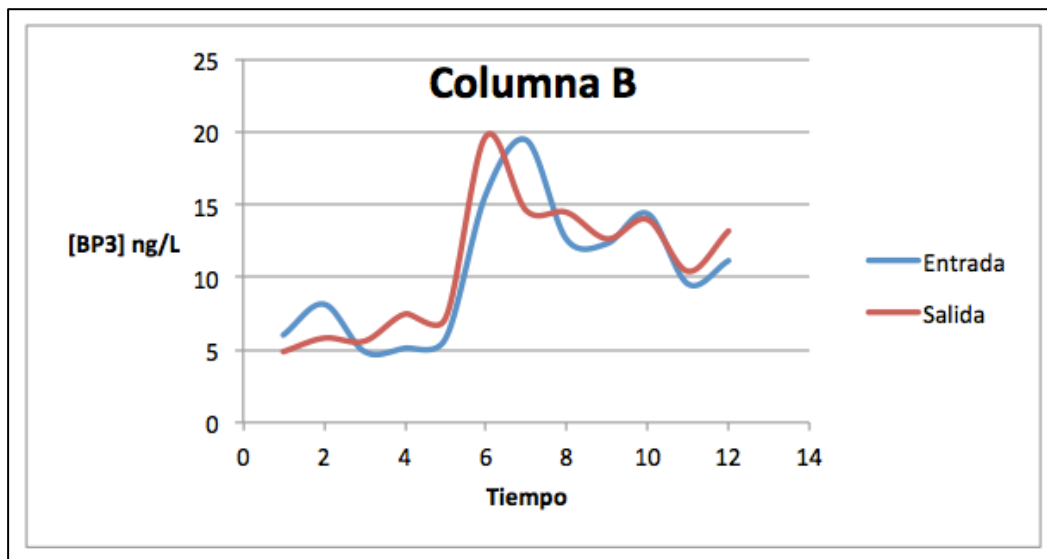


Figura 26: Resultados de la columna azul. Concentración de BP3 en el tiempo. Q-trap

La columna azul durante la fase 3 de ensayos se somete a aireación, de la misma forma que en la anterior fase. Por otro lado, la muestra contiene agua de río, con lo que conlleva la adición de muchos otros compuestos además de materia orgánica.

5.3.2 Columna Amarilla

Los resultados de la columna amarilla de la fase 3 de ensayos, bajo condiciones de reducción mediante la inyección de nitrógeno, no difieren mucho de los presentados en el anterior caso. En la siguiente figura se representa el comportamiento de la BP3. Se observa un crecimiento en el mismo período temporal que en el caso de la columna azul. Como apreciación, se puede decir que en este caso el efluente mantiene la concentración más elevada en el tiempo que en el caso anterior.

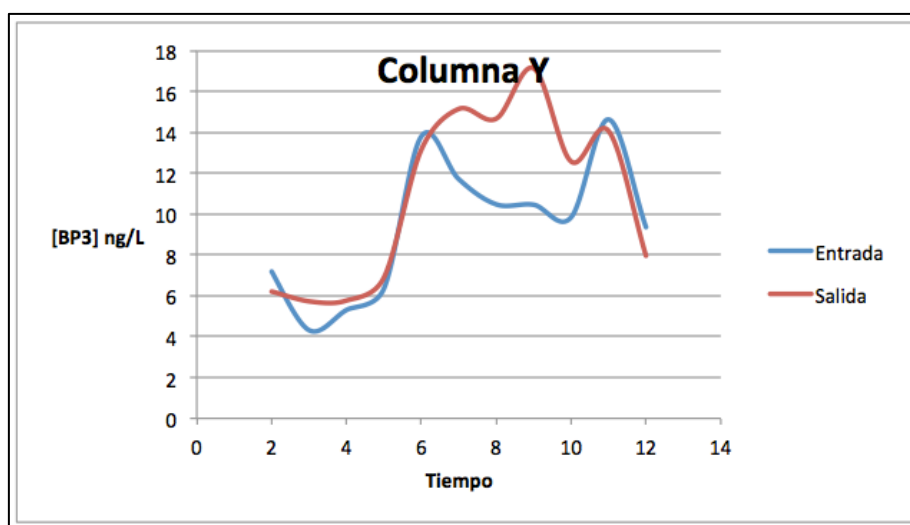


Figura 27: Resultados de la columna amarilla. Concentración de BP3 en el tiempo. Q-trap

Los resultados esperados difieren de los obtenidos. En primer lugar, se pensaba encontrar varios compuestos derivados de la BP3 en todas las muestras, ya que todas contienen agua de río. Sin embargo no se hallan, o el equipo no los detecta en una concentración suficiente como para proporcionar señal.

Por otro lado, el comportamiento de la BP3 tanto en la entrada como en la salida es muy parecido por lo que el paso por la columna no afecta significativamente a la composición de la disolución. Se esperaba encontrar cambios derivados del flujo en la columna y la adsorción.



CONCLUSIONES

Conclusiones

El apartado de conclusiones trata de responder específicamente a los objetivos planteados en el inicio del trabajo de máster. Por consiguiente, las conclusiones se pueden dividir en tres observaciones;

1. Dimensionar hidráulicamente dos columnas de ensayo que traten de simular el terreno natural saturado para posteriormente llevar a cabo ensayos de flujo bajo condiciones conocidas.

Las columnas se han dimensionado gracias a los lectores de conductividad y al tratamiento de datos posterior a aplicar la formulación específica de Ogata & Banks. Los resultados en ambas columnas son parecidos, como era de esperar, ya que son diseñadas como réplicas. La porosidad obtenida es de 0,40 para ambas, mientras que la dispersividad varía entre 0,045 y 0,048.

Se observa que durante la fase 2 y 3 de ensayos la concentración del trazador (NaCl) se mantiene constante, a concentración máxima. No se observa interacción con el compuesto BP3 ya que su concentración se mantiene estable durante hasta el día 30/08, fecha de finalización de los ensayos.

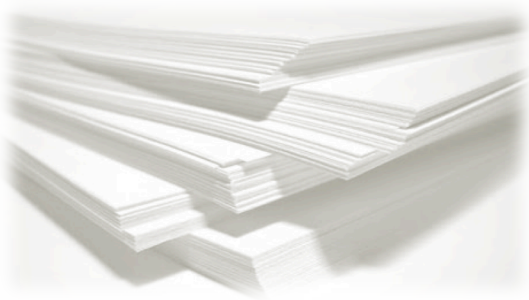
2. Estudiar el comportamiento de la benzofenona 3, utilizado como filtro solar en un gran número de productos de uso diario y considerado como microcontaminante orgánico. Se realizan ensayos bajo diferentes condiciones experimentales en medio saturado formado por relleno de arena silícica.

En los ensayos de la fase 2, la BP3 tiene un comportamiento similar al trazador. Se incorpora al flujo de la columna y se detecta a partir del segundo día, al igual que el trazador. No reacciona con la columna ni produce derivados. En los ensayos de la fase 3, el comportamiento de la BP3 no puede definirse bien. Se espera que se degrade bajo condiciones de oxidación y reducción, siguiendo la bibliografía consultada. No se detectaron productos de degradación posiblemente debido a que los agentes reductor y oxidante no tuvieron suficiente potencial como para llegar a producir los procesos. Otra explicación sería que el potencial fuera suficiente pero no así el tiempo necesario para llegar a transformar la BP3 en derivados, o bien que la transformara en una proporción tan pequeña (a concentración por tanto muy baja) que no se lleguen a detectar pese a trabajar con equipos de espectrometría de masas de alta sensibilidad y resolución como son el QTRAP y el Orbitrap.

3. Reafirmar los hallazgos recientes sobre el comportamiento de la benzofenona 3 bajo condiciones oxidantes y reductoras en agua del río Besós [3]. Se realizan ensayos con presencia y ausencia de oxígeno en medio saturado formado por relleno de arena silícica.

La BP3 se ha encontrado en todos los ensayos correspondientes a la fase 2 y 3. Sin embargo, no se ha podido definir un comportamiento concreto bajo circunstancias de aireación con flujo de aire, reducción con flujo de nitrógeno y condiciones ambientales sin modificar en agua de ría. Se esperaba que las condiciones redox degradasen el compuesto y produjesen derivados conocidos y no conocidos pero identificables.

La aplicación directa de este estudio en la Ingeniería Civil va enfocada a encontrar un método nuevo para degradar la BP3 e implantarlo en las depuradoras de aguas de tal manera que el compuesto no entrase en acuíferos, contaminándolos.



Referencias

Referencias

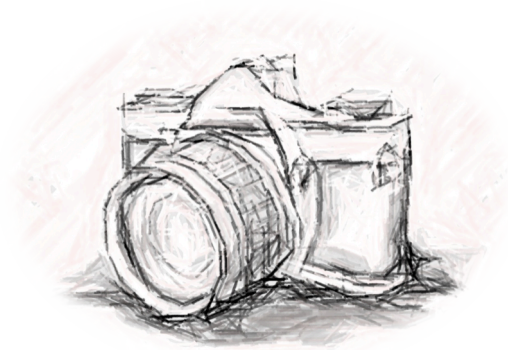
- [1] Ash M, Ash I. Handbook of green chemicals. 2nd Edition. NY: Synapse Information Resources Inc:2004
- [2] Calafat AM, Wong LY, Ye X, Reidy JA, Needham LL. Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: national health and nutrition examination survey 2003-2004. *Environ Health Perspect* 2008;116:893-7
- [3] Anna Jurado, Pablo Gago-Ferrero, Enric Vázquez-Suñé, M.Silvia Díaz-Cruz. Urban groundwater contamination by residues of UV filters. *Journal of hazardous Materials* 2014: 271;141-149
- [4] Domínguez, C., Reyes- Contreras, C., Bayona. J.M., 2012. Determination of benzothiazoles by using ionic liquid stationary phases in gas chromatography mass spectrometry. Application to their characterization in wastewaters, *J. Chromatogr., A* 1230, 177-122
- [5] Snyder SA, Wert EC, Rexing DJ; Zegers RE, Drury DD. Ozone oxidation of endocrine disruptors and pharmaceuticals in surface water and wastewater. *Ozone Sci Eng*
- [6] Li W, Ma Y, Guo C, Hu W, Liu K, Wang Y, et al. Occurrence and behaviour of four of the most sunscreen UV filters in a wastewater reclamation plant. *Water Res* 2007;41:3506-12.
- [7] Rodil R, Quintana JB, López-Mahía P, Muniategui-Lorenzo S, Prada-Rodríguez D. Multiclass determination of sunscreen chemicals in water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2008;80:1307-15
- [8] Negreira N, Rodríguez I, Ramil M, Rubí E, Cela R. Sensitive determination of salicylate and benzophenone type UV filters in water samples using solid-phase microextraction, derivatization and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2009;638:36-44
- [9] Plagellat C, Kupper T, Furrer R, De Alencastro LF, Grandjean D, Tarradellas J. Concentrations and specific loads of UV filters in sewage sludge originating from a monitoring network in Switzerland. *Chemosphere* 2006;62:915-25
- [10] Gago-Ferrero O, Díaz-Cruz MS, Barceló D. Occurrence of multiclass UV filters in treated sewage sludge from wastewater plants. *Chemosphere* 2011a;84:1158-65.
- [11] M.E. Balmer, H.R. Buser, M.D. Müller, T. Poiger, Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss Lakes, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 953-962
- [12] H.R. Buser, M. Schmid, Occurrence of UV filters 4-methylbenzylidene camphor and octocrylene in fish from various Swiss rivers with inputs from wastewater treatment plants, *Environ. Sci. Technol.* 40 (5) (2006) 1427-1431
- [13] K. Fent, A. Zenker, M. Rapp, Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. *Environ. Pollut.* 158 (2010) 1817-1824
- [14] T. Kunisue, Z. Chen, G.M. Buck Louis, R. Sundaram, M.L. Hediger, L. Sun, K. Kannan, Urinary concentrations of benzophenone-type UV filters in U.S. women and their association with endometriosis, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 4624-4632

- [15] Schreurs RHMM, Sonneveld E, Jansen JHJ, Seinen W, van der Burg B. Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicol Sci* 2005;83:264-72
- [16] Balmer ME, Buser HR, Müller MD, Poger T. Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes. *Environ Sci Technol* 2005;39:953-62
- [17] EU. Commission Staff working Document on the implementation for the "Community Strategy for Endocrine Disrupters". A range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. SEC (2007) 1635. Brussels, 30 November 2007;2007.
- [18] Vanquerp V, Rodriguez C, Coiffard C, Coiffard L, Roeck-Holtzhauer Y. High-performance liquid chromatographic method for the comparison of the photostability of five sunscreen agents. *J Chromatogr A* 1999;832:273-7
- [19] Rodil R, Moeder M, Altenburger R, Schmitt-Jansen M. Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water. *Anal Bioanal Chem* 2009;395:1513-24.
- [20] Pointing SB. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001;57:20-33.
- [21] Blázquez P, Casas N, Font X, Gabarrell X, Sarrà M, Caminal G. Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*. *J Environ Mang* 2012;104:114-20
- [22] Auriol M, Filali-Meknassi Y, Adams CD, Tyagi RD, Noguerol TN, Piña B. Removal of estrogenic activity of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater: efficiency of horseradish peroxidase and laccase from *Trametes versicolor*. *Chemosphere* 2008;70:445-52
- [23] Marco-Urrea E, Perez-Trujillo M, Vicent T, Caminal G. Ability of white-rot fungus to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere* 2009;74:765-72
- [24] En Fetter, 1999, p.61, Hiscock, 2005, p.207; Hiscock, H. (2005) –Hydrogeology. Principles and practice. Blackwell, 389pp.
- [25] T. Kupper, C. Plagellat, R.C. Braendli, L.F de Alencastro, D. Grandjean, J. Tarradellas, *Water Res.* 40 (2006) 2063.
- [26] K.M Onesyos, J.. Yu, E.J. Bouwer, *Biodegradation* 20 (2009) 441.
- [27] W. Li, Y. Ma, C. Guo, W. Hu, K. Liu, Y. Wang, T. Zhu, *Water Res.* 41 (2007) 3506.
- [28] I. Tarazona, A. Chisvert, Z. Leon, A. Salvador, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 4771.
- [29] M.S. Díaz-Cruz, P. Gago-ferrero, M. Llorca, D. Barceló, *Anal. Bioanal. Chem.* 402 (2012) 2325.
- [30] P. Gago-Ferrero, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, *Anal. Bioanal. Chem* 400 (2011) 2195
- [31] P. Gago-Ferrero, M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló, *Chemosphere* 84 (2011) 1158

[32] Pablo Gago-Ferrero, Marina Badia-Fabregat, Alba Olivares. Evaluation of fungal and photodegradation as potential treatments for the removal of sunscreens BP3 and BP1. *Science of the Total Environment*, 427-428 (2012) 355-363.

La información en referencia al estado del arte se extrae de las clases impartidas por el profesor Enric Vázquez en el curso internacional de hidrología subterránea de la *Fundación Centro Internacional de Hidrología Subterránea FCIHS*, de la UPC.

Para los apartados en referencia a análisis químicos, la información se obtiene del departamento de análisis químico y ambiental del *Instituto de Diagnóstico ambiental y estudios del agua IDAEA*, en el *Centro Superior de Investigación Científica CSIC*.



Anexo fotográfico



Figura 28 : Detalle de la bomba peristáltica



Figura 29: Grifo regulador del efluente

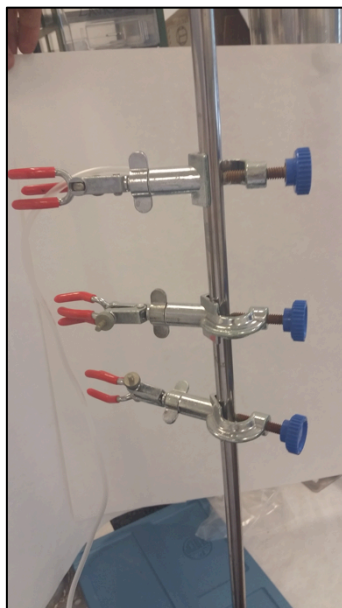


Figura 30: Soporte para sujeción de los divers

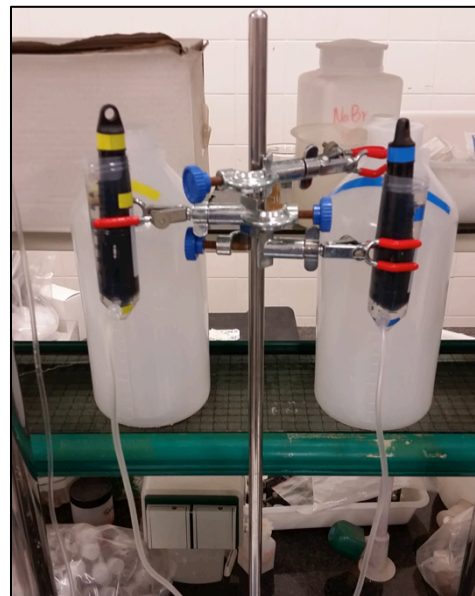


Figura 31: Detalle de los divers y recipientes

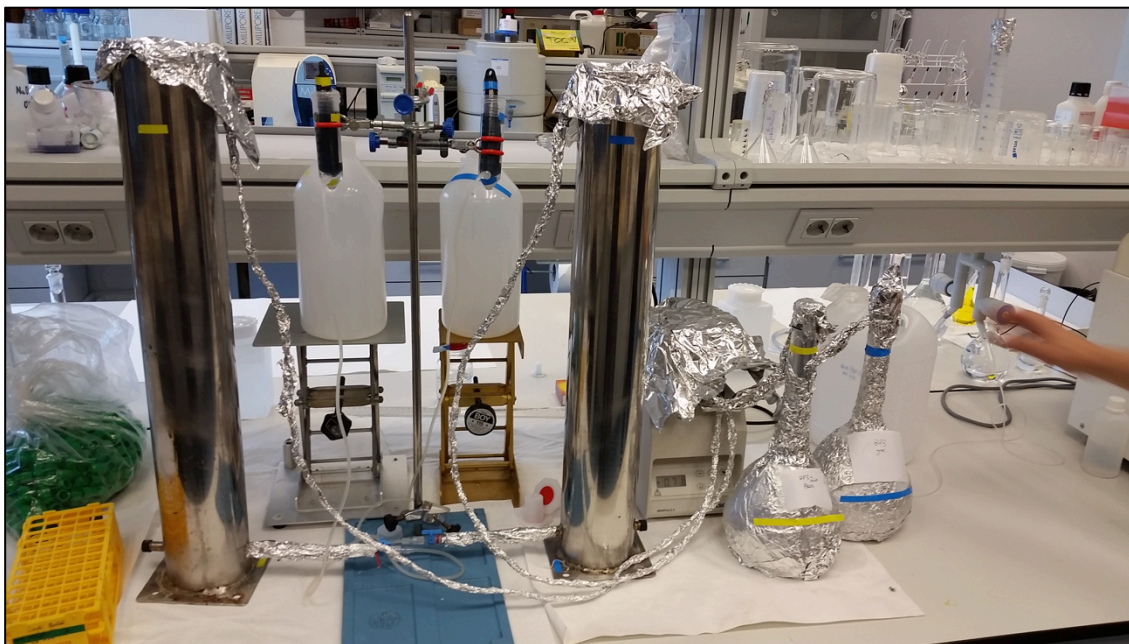


Figura 32: Preparación del ensayo para ambas columnas durante la segunda fase de ensayos



Figura 33: Columna utilizada para el análisis químico con Orbitrap. Merck



Figura 34: Parte de las muestras de la segunda fase de ensayos. Numeración provisional

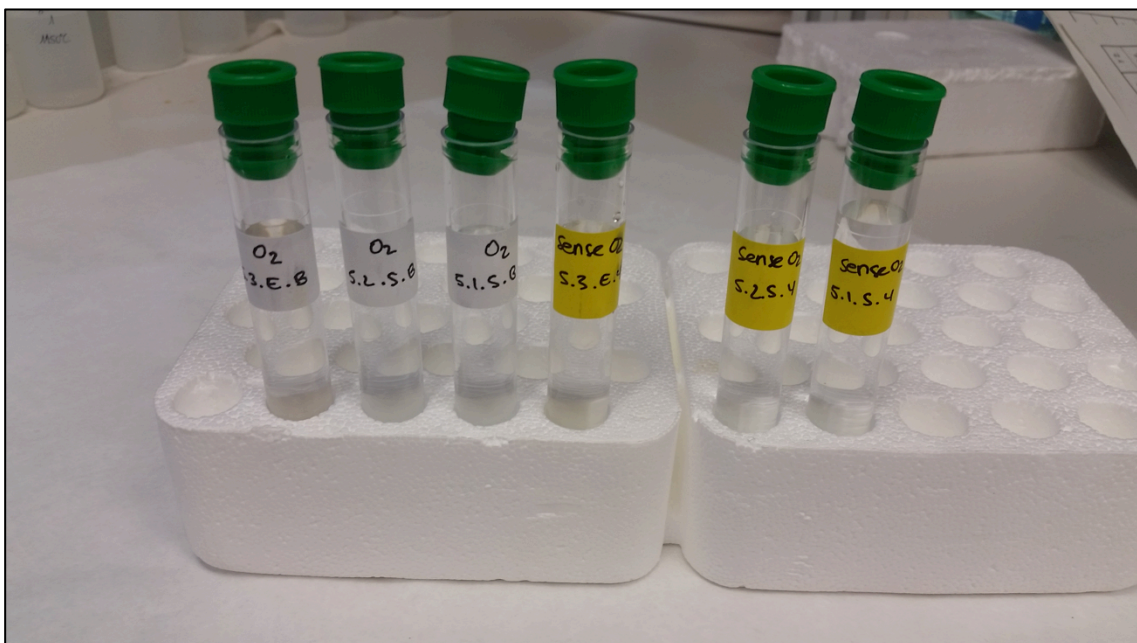


Figura 35: Ejemplo de muestras de la tercera fase de ensayos. Tercer día, primera toma

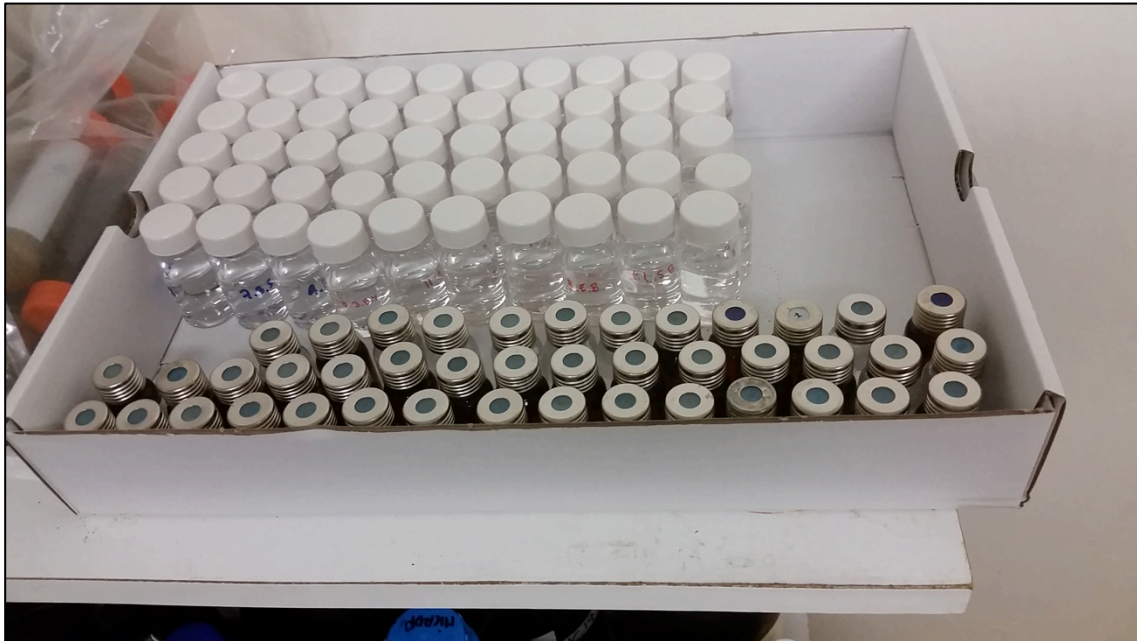


Figura 36: Preparación de muestras para análisis con Qtrap. Los recipientes pequeños (viales de cromatografía) contienen la muestra a pinchar en el instrumento mientras que los recipientes grandes (viales de centelleo) contienen el sobrante.