



Departamento de Hidrogeología y Química Analítica  
Universidad de Almería

**EVALUACIÓN ANALÍTICA Y OPTIMIZACIÓN DE  
PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA  
EN PLANTA PILOTO SOLAR**

**JULIA CÁCERES VAZQUEZ**

**TESIS DOCTORAL**  
Año 2002



**MINISTERIO  
DE CIENCIA  
Y TECNOLOGÍA**

**Ciemat**

Centro de Investigaciones  
Energéticas, Medioambientales  
y Tecnológicas

# **EVALUACIÓN ANALÍTICA Y OPTIMIZACIÓN DE PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA EN PLANTA PILOTO SOLAR**

Memoria presentada para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Químicas por:

**JULIA CÁCERES VÁZQUEZ**

Fdo. Julia Cáceres Vázquez

Visado en Almería a 25 de Octubre de 2002

LOS DIRECTORES DE LA TESIS

Dr. Amadeo Rodríguez Fernández-Alba  
Profesor titular del Departamento de  
Hidrogeología y Química Analítica  
Universidad de Almería

Dr. Sixto Malato Rodríguez  
Investigador Titular de OPI  
CIEMAT  
Ministerio de Ciencia y Tecnología

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a mis directores de Tesis, el Dr. D. Amadeo Rodríguez Fernández-Alba y el Dr. D. Sixto Malato Rodríguez, gracias a ellos ha sido posible la consecución de este trabajo de investigación.

Al Dr. D. Amadeo Rodríguez Fernández-Alba quisiera agradecerle su constante esfuerzo por poner a mi alcance todos los medios necesarios para poder llevar a cabo mi trabajo.

Al Dr. D. Sixto Malato Rodríguez, quiero agradecer su constante transmisión de conocimientos y su tenaz empeño en hacer de mi una investigadora de provecho.

Al Dr. D. Julian Blanco, quisiera agradecer su trato siempre amable y cortés, así como sus consejos en la realización de esta memoria.

Quiero agradecer sinceramente a todos los miembros del grupo de investigación de Residuos de Plaguicidas, del departamento de Química Analítica de la Universidad de Almería, la imprescindible ayuda prestada en todo momento (a la profesora Dr. Ana Agüera por sus consejos, a los veteranos Loli y Luis por sus enseñanzas, a Milagros por su paciencia y tesón, y por último, a M<sup>a</sup> Jose por su ánimo). El apoyo y asesoramiento recibido por todos y en todo momento han sido formidables.

Agradezco a la Plataforma Solar de Almería la beca para realizar la Tesis Doctoral, concedida a través del convenio de colaboración entre la Universidad de Almería y la Plataforma Solar de Almería, cuya cooperación se inició en 1996.

A todo el personal de la PSA, y en particular a “Pedro y Pablo”, que siempre me ha tratado genial y me han hecho sentirme como en el mismo “sol”.

A los informáticos quisiera agradecer su paciencia conmigo y su agilidad para resolverme todos los problemas que me han surgido durante estos cuatro años de estancia en la PSA. A Ángel Soler por todas y cada una de sus contribuciones a esta memoria, ya sea con escáners o con fotografías.

En particular, agradezco muy sinceramente a todos los miembros de Área de Química Solar de la PSA, su apoyo desde mi incorporación a este grupo. En especial a Sonia, Antonio, Agustín y a Wolfgang por su paciencia diaria y su aliento en los momentos duros.

A Carmen Montesinos me gustaría agradecerle su ayuda y apoyo incondicional tanto en lo profesional como en lo personal. Su hombro ha sido y será siempre imprescindible. Sus consejos son como los de una Madre, mi Madre Almeriense. Gracias Carmen, nunca podré agradecértelo lo suficiente. Y ya sabes, “vamos a medias en esto”.

Por último, y no por ello menos importante, me gustaría dar las gracias a toda mi familia por su apoyo y paciencia.

A mi marido, Francisco, por ser como es, incondicional. Sin ti yo no soy nadie y sobre todo no hubiese sido capaz de culminar este trabajo de investigación. Nunca podré agradecerte lo suficiente cada uno de los segundos que me regalas.

A Elvira, por las horas que le he robado y sus aplausos en mis ensayos. Gracias por regalarme esas sonrisas que tanto me gusta y esos besos que tanto anhelo.

Y por último, a Francisco hijo, que está por nacer, pero que en la redacción y defensa de esta Tesis Doctoral llevo dentro de mí y es el que más sufre mis nervios y mi ritmo agotador. Espero que cuando todo esto termine los dos tengamos un final feliz.

Los resultados que se presentan en este trabajo de investigación han sido publicados o han sido enviados a ello en las siguientes revistas científicas internacionales:

- Malato S., Cáceres J., Agüera A., Mezcua M., Hernando D., Vial J., Fernández-Alba A. R. **“Degradation of Imidacloprid in Water by Photo-Fenton and TiO<sub>2</sub> Photocatalysis at a Solar Pilot Plant: a Comparative Study”**. *Env. Sci. Technol.*, **35**, 4359-4366, 2001.
- Malato S., Blanco J., Vidal A., Fernández P., Cáceres J., Trincado P., Oliveira J. C., Vincent M. **“New Large Solar Photocatalytic Plant: Set-up and Preliminary Results”**. *Chemosphere*, **47**, 235-240, 2002.
- Fernández-Alba A. R., Hernando D., Agüera A., Cáceres J., Malato S. **“Toxicity Assays: a Way for Increasing AOPs Efficiency”**. *Water Research*, **36**, 4255-4262, 2002.
- Malato S., Blanco J., Cáceres J., Fernández-Alba A. R., Agüera A., Rodríguez A. **“Photocatalytic Treatment of Water-Soluble Pesticides by Photo-Fenton and TiO<sub>2</sub> using Solar Energy”**. *Catalysis Today*, **In press**, 2002.
- Malato S., Cáceres J., Fernández-Alba A.R., Piedra L., Hernando D., Agüera A., Vial J. **“Photocatalytic Treatment of Diuron by Solar Photocatalysis: Evaluation of Main Intermediates and Toxicity”**. *Environ. Sci. Technol.*, **Submitted**, 2002.

Además, el doctorando ha tenido la oportunidad de colaborar en varios proyectos de investigación, cuyos resultados también se han publicado en revistas científicas internacionales:

- Augugliaro V., Blanco-Gálvez J., Cáceres-Vázquez J., García-López E., Loddo V., López-Muñoz M.J., Malato-Rodríguez S., Marci G., Palmisano L., Schiavello M., Soria-Ruiz J. **“Photocatalytic Oxidation of Cyanide in Aqueous TiO<sub>2</sub> Suspensions Irradiated by Sunlight in Mild and Strong Oxidant Conditions”**. *Catalysis Today*, **54**, 245-253, 1999.

- Malato S., Blanco J., Fernández-Ibáñez P., Cáceres J., **“Treatment of 2,4-dichlorophenol by Solar Photocatalysis: Comparison of Coupled Photocatalytic-Active Carbon vs. Active Carbon”**. *J. Solar Energy Engin.* **123**, 138-142, 2001.
- Mailhot G., Sarakha M., Lavedrine B., Cáceres J., Malato S. **“Fe(III)-Solar Light Induced Degradation of Diethyl Phthalate (DEP) in Aqueous Solution”**. *Chemosphere*, **49**, 525-532, 2002.
- Malato S., Blanco J., Campos A., Cáceres J., Guillard C., Herrmann J.M., Fernández-Alba A.R. **“Effect of Operational Parameters on the Testing of New Industrial Titania Catalysts at Solar Pilot Plant Scale”**. *Appl. Catal. B: Aceptado*. 2002
- Gernjak W., Krutzler T., Glaser A., Malato S., Cáceres J., Bauer R., Fernández-Alba A.R. **“Photo-Fenton Treatment of Water Containing Natural Phenolic Pollutants”**. *Chemosphere*, **In press**. 2002.
- Augugliaro V., Bianco-Prevot A., Cáceres J., García-López E., Irico A., Loddo V., Malato S., Marcí J., Palmisano L., Pramauro E. **“Photocatalytic Oxidation of Acetonitrile in Aqueous Suspensión of Titanium Dioxide Irradiated by Sunlight”**. *Adv. Environ. Reserch*, **In press**, 2002.
- Malato S., Cáceres J., Piedra L., Agüera A., Hernando D., Fernández-Alba A.R. **“LC-MS and LC-MS/MS Strategies for the Evaluation of Pesticide Intermediates formed by Degradative Processes. Photo-Fenton Degradation of Diuron”**. Capitulo libro, **Aceptado**,. 2002.
- Agüera a., Mezcua M., Hernando D., Malato S., Cáceres J., Fernández-Alba A.R. **“Application of GC-MS and GC-AED to the Evaluation of By-Products formed by Solar Photo-Fenton Degradation of MTBE in Water”**. *J. Chromatography: A*, **Enviado**, 2002.
- Kositzi M., Poullos I., Malato S., Caceres J., Campos A. **“Solar Photocatalytic Treatment of Synthetic Municipal Wastewater”**. *Water Research*, **Enviado**, 2002.

# ÍNDICE



<b>RESUMEN</b>	<b>I</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>i</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1.1</b>
<b>1.1. Problema Medioambiental</b>	<b>1.3</b>
1.1.1. Problemática de la Contaminación de las Aguas.	1.3
1.1.2. Problemática de las Aguas contaminadas con Plaguicidas.	1.9
1.1.3. Técnicas de Tratamiento de Agua	1.14
<b>1.2. Procesos de Oxidación Avanzada, AOPs</b>	<b>1.19</b>
1.2.1. Procesos Fotocatalíticos basados en la Luz Solar	1.22
1.2.2. Fotocatálisis Heterogénea con TiO <sub>2</sub>	1.24
1.2.3. Fotocatálisis Homogénea, foto-Fenton.	1.32
<b>1.3. Tecnología para Fotocatálisis Solar</b>	<b>1.36</b>
1.3.1. Radiación Solar	1.36
1.3.2. Tecnología de Colectores Solares	1.39
1.3.3. Colectores Cilindro Parabólicos Compuestos, CPCs	1.46
<b>1.4. Técnicas Analíticas Avanzadas</b>	<b>1.51</b>
1.4.1. Tratamiento de Muestras	1.55
1.4.2. Métodos basados en Cromatografía Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas	1.58
1.4.3. Métodos basados en Cromatografía Gaseosa con Detector de Emisión Atómica	1.60
1.4.4. Métodos basados en Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas	1.63
1.4.5. Evaluación de la Toxicidad Aguda	1.67
<b>ANEXO I: AOPs / Técnicas Analíticas Avanzadas</b>	<b>1.79</b>
<b>2. EXPERIMENTAL</b>	<b>2.1</b>
<b>2.1. Planta Piloto Solar</b>	<b>2.3</b>
2.1.1. Colectores Solares	2.3
2.1.2. Fotorreactores	2.6
2.1.3. Materiales empleados en el Sistema Experimental	2.9

2.1.4.	Procedimiento Experimental	2.10
2.1.5.	Radiación Solar Incidente en un Fotorreactor	2.11
<b>2.2.</b>	<b>Técnicas Analíticas Convencionales</b>	<b>2.16</b>
2.2.1.	Analizador de Carbono Orgánico Total	2.16
2.2.2.	Determinación de los Contaminantes Orgánicos mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución, HPLC	2.19
2.2.3.	Determinación de Aniones Inorgánicos mediante Cromatografía Iónica, IC	2.24
2.2.4.	Determinación de Ácidos Carboxílicos mediante Cromatografía Iónica, IC	2.31
2.2.5.	Determinación de Amonio por el Método NESSLER	2.35
2.2.6.	Determinación de Agua Oxigenada, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2.40
2.2.7.	Eliminación de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> mediante CATALASA	2.43
<b>2.3.</b>	<b>Técnicas Analíticas Avanzadas</b>	<b>2.47</b>
2.3.1.	Preparación y preconcentración de muestras mediante Extracción en Fase Sólida, SPE.	2.47
2.3.2.	Determinación de los Productos de Degradación, PDs, mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas, GC-MS	2.55
2.3.3.	Determinación de los PDs mediante Cromatografía de Gases con Detector de Emisión Atómica, GC-AED	2.60
2.3.4.	Determinación de los PDs mediante Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas, LC-MS	2.65
<b>2.4.</b>	<b>Bioensayos de Toxicidad Aguda</b>	<b>2.72</b>
2.4.1	Bioensayo basado en la Movilidad de <i>Daphnia Magna</i>	2.72
2.4.2.	Bioensayo basado en la actividad bioluminiscente de <i>Vibrio Fishcheri</i>	2.78
2.4.3.	Bioensayo basado en crecimiento de <i>Selenastrum Capricornotum</i>	2.84
<b>3.</b>	<b>DISCUSIÓN Y RESULTADOS I: IMIDACLOPRID</b>	<b>3.1</b>
3.1.	Introducción	3.3
3.2.	Materiales y Métodos	3.8

3.2.1.	Planta Piloto Solar	3.8
3.2.2.	Evaluación de la Radiación Solar UV	3.8
3.2.3.	Reactivos	3.8
3.2.4.	Determinaciones Analíticas	3.9
3.2.5.	Preparación de Muestras	3.11
<b>3.3.</b>	<b>Discusión y Resultados</b>	<b>3.12</b>
3.3.1.	Degradación y Mineralización de Imidacloprid	3.12
3.3.2.	Evaluación de la Toxicidad	3.17
3.3.3.	Evolución de los Iones Orgánicos e Inorgánicos	3.18
3.3.4.	Identificación y Cuantificación de los Productos de Degradación	3.21
<b>3.4.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>3.32</b>
<b>4.</b>	<b>DISCUSIÓN Y RESULTADOS II: METOMILO</b>	<b>4.1</b>
4.1.	Introducción	4.3
4.2.	Materiales y Métodos	4.9
4.2.1.	Planta Piloto Solar	4.9
4.2.2.	Evaluación de la Radiación Solar UV	4.9
4.2.3.	Reactivos	4.9
4.2.4.	Determinaciones Analíticas	4.10
4.3.	Discusión y Resultados	4.12
4.3.1.	Evolución de la Toxicidad durante la Degradación de Metomilo.	4.13
4.3.2.	Mineralización de Metomilo y Evolución de la Toxicidad	4.16
4.4.	Conclusiones	4.21
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN Y RESULTADOS III: DIURON</b>	<b>5.1</b>
5.1.	Introducción	5.3
5.2.	Materiales y Métodos	5.8
5.2.1.	Planta Piloto Solar	5.8
5.2.2.	Evaluación de la Radiación Solar UV	5.8
5.2.3.	Reactivos	5.8
5.2.4.	Determinaciones Analíticas	5.9

<b>5.3. Discusión y Resultados</b>	<b>5.12</b>
5.3.1. Degradación y Mineralización de Diurón	5.13
5.3.2. Evolución de los Iones Orgánicos e Inorgánicos	5.16
5.3.3. Evaluación de la Toxicidad	5.19
5.3.4. Identificación y Cuantificación de los Productos de Degradación	5.21
<b>5.4. Conclusiones</b>	<b>5.31</b>
<b>6. DISCUSIÓN Y RESULTADOS IV: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DE CUATRO PLAGUICIDAS</b>	<b>6.1</b>
<b>6.1. Introducción</b>	<b>6.3</b>
<b>6.2. Materiales y Métodos</b>	<b>6.9</b>
6.2.1. Planta Piloto Solar	6.9
6.2.2. Evaluación de la Radiación Solar UV	6.9
6.2.3. Reactivos	6.10
6.2.4. Determinaciones Analíticas	6.10
<b>6.3. Discusión y Resultados</b>	<b>6.12</b>
6.3.1. Evaluación de la Degradación de los Plaguicidas	6.14
6.3.2. Evaluación de la Mineralización de los Plaguicidas	6.17
6.3.3. Pre-diseño de una Planta de Tratamiento Fotocatalítico de Aguas Contaminadas con Plaguicidas	6.20
6.3.4. Aplicabilidad de los AOPs al tratamiento de Plaguicidas Comerciales	6.28
<b>6.4. Conclusiones</b>	<b>6.34</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>7.1</b>
<b>8. REFERENCIAS</b>	<b>8.1</b>
<b>9. NOMENCLATURA</b>	<b>9.1</b>
<b>ANEXO II: EU Priority Substances List</b>	

# **RESUMEN**



En esta Tesis Doctoral se ha llevado a cabo la evaluación analítica utilizando técnicas analíticas avanzadas de procesos de oxidación avanzada (AOPs) con el objetivo de optimizar la detoxificación de aguas contaminadas con plaguicidas.

Para ello, se ha estudiado la viabilidad técnica, los mecanismos y el comportamiento de la degradación de plaguicidas en agua a escala de planta piloto utilizando dos sistemas fotocatalíticos bien definidos y de especial interés, ya que la luz UV natural puede ser utilizada: fotocatalisis heterogénea con  $\text{TiO}_2$  y fotocatalisis homogénea con foto-Fenton.

La planta piloto utilizada ha estado formada por dos reactores gemelos contruidos a partir de colectores parabólicos compuestos (CPCs), especialmente diseñados para aplicaciones de fotocatalisis solar, en la Plataforma Solar de Almería. Las condiciones experimentales equivalentes que se han utilizado para ambos tratamientos han hecho posible comparar adecuadamente los dos sistemas fotocatalíticos. Para la realización de esta comparación, se ha evaluado en detalle la desaparición de los plaguicidas, el grado de mineralización y toxicidad que se alcanza en cada momento, así como la aparición de los productos de degradación (PDs) que se generan en dichos procesos.

La concentración inicial de plaguicida utilizada para llevar a cabo los experimentos fotocatalíticos ha sido de 50 mg/L para imidacloprid, metomilo y formetanato, y de 30 mg/L para diurón. Estas concentraciones no se encuentran en el medio ambiente, pero si pueden originarse en vertidos procedentes de industrias agrarias, plantas de formulado o síntesis, limpieza de equipos de aplicación, etc. Las concentraciones de catalizador han sido de 200 mg/L de  $\text{TiO}_2$  para las experiencias de fotocatalisis heterogénea, ya que este es el valor óptimo determinado para el fotorreactor y 0.05 mM de hierro para las de foto-Fenton. Esta última, se ha comprobado como óptima para poder llevar a cabo la evaluación analítica de los procesos y además, el agua una vez tratada cumple las condiciones legales para poder ser vertida a una EDAR sin necesidad de separación del catalizador.

Es necesario destacar que los resultados mostrados en esta memoria son únicamente un resumen de la experimentación llevada a cabo. En todos los casos los experimentos se han repetido las veces que ha sido necesario, con el fin de poner a punto las técnicas analíticas y demostrar la repetitividad y reproducibilidad de los resultados. Únicamente aquellos

experimentos que han llevado a resultados concluyentes y/o interesantes son recogidos en esta memoria.

Antes de comenzar con las experiencias se realizaron varios ensayos a la misma concentración inicial que los experimentos fotocatalíticos, para asegurar que los resultados obtenidos durante dichos tratamientos son consistentes y no debidos a efectos laterales de hidrólisis y/o de fotólisis. En todos los casos, la hidrólisis detectada fue irrelevante comparada con los resultados de la degradación fotocatalítica. En cuanto a los resultados obtenidos de fotólisis, debemos decir que estos indican que la degradación de los plaguicidas debido a la iluminación solar es siempre irrelevante, en términos relativos, comparada con los resultados fotocatalíticos. Y en todos los casos, una disminución significativa del TOC nunca se ha detectado bajo irradiación sin catalizadores.

Con ambos tratamiento se ha obtenido la degradación total del compuesto original y la mineralización de al menos el 90 % del TOC para todos los plaguicidas ensayados. El Metomilo ha sido el plaguicida más resistente a la degradación tanto con foto-Fenton como con  $\text{TiO}_2$ .

En todos los casos se han calculado las constantes de velocidad de primer orden, la velocidad inicial y el tiempo necesario para la mineralización del 90 % del TOC, para poder comparar adecuadamente ambos tratamientos fotocatalíticos y la reactividad del plaguicida seleccionado.

Se ha llevado a cabo el balance de materia de los distintos heteroátomos presentes en los plaguicidas. Para ello se han realizado un seguimiento de la aparición de los aniones y cationes inorgánicos correspondientes a estos heteroátomos. Estos balances de materia han sido cerrados con éxito en la mayoría de los casos, confirmando que la mineralización de los plaguicidas ha sido obtenida.

Para la obtención de una ruta de degradación de los plaguicidas en aguas mediante fotocatalisis con  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton se han identificado y cuantificado sus PDs utilizando lo que llamamos “técnicas analíticas avanzadas”, tales como LC-MS, GC-MS y GC-AED. La selección de cada una de estas técnicas ha sido realizada buscando la adecuación de las características de cada plaguicida a las condiciones y ventajas que ofrecen cada una de ellas. La

combinación de estas técnicas con diferentes métodos de extracción en fase sólida ha permitido la identificación y cuantificación de multitud de PDs.

Los PDs detectados mediante estas técnicas han sido los mismos para ambos tratamientos. La principal diferencia entre estos procesos ha sido la cantidad de estos PDs generados durante los mismos. En todos los casos se ha propuesto una ruta de degradación a partir de los PDs detectados y su cuantificación a lo largo del tratamiento. No se ha detectado ningún PD recalcitrante al tratamiento fotocatalítico.

Para la evaluación de la evolución de la toxicidad durante los tratamientos han sido aplicados tres bioensayos distintos de toxicidad aguda con organismos pertenecientes a tres estados taxonómicos diferentes del medio acuático: bacteria *Vibrio Fischeri*, invertebrado *Daphnia Magna* y microalga *Selenastrum Capricornotum*. Los valores de toxicidad durante las experiencias siempre han disminuido significativamente al final de las mismas. En algunos bioensayos estos valores aún resultaban tóxicos ( $E_c \geq 50\%$ ) incluso después de la desaparición total del plaguicida. Solo cuando el tratamiento se ha mantenido el tiempo necesario para lograr una transformación suficiente y adecuada de los PDs ( $TOC \leq 10\%$  del inicial) la toxicidad se reduce claramente por debajo del nivel umbral,  $EC_{50}$ .

# **OBJETIVOS**



El objetivo principal del trabajo de investigación realizado en esta Tesis Doctoral ha sido doble. Primero, desarrollar una metodología analítica para evaluar correctamente los Procesos de Oxidación Avanzada (AOPs). Y segundo, optimizar dichos procesos para conseguir la detoxificación de aguas contaminadas con compuestos no biodegradables. En concreto, se ha estudiado la descontaminación de aguas conteniendo plaguicidas. También se ha pretendido obtener información relevante de varios plaguicidas que son de uso muy habitual en la agricultura intensiva almeriense. Todo ello con el objetivo de poder diseñar un tratamiento adecuado para estas aguas.

Se ha pretendido alcanzar estos objetivos mediante la consecución de los siguientes objetivos parciales:

- Descontaminar agua contaminada con plaguicidas mediante fotocátalisis utilizando los dos únicos procesos que se pueden llevar a cabo mediante radiación solar: fotocátalisis heterogénea con  $\text{TiO}_2$  y fotocátalisis homogénea con  $\text{Fe}/\text{H}_2\text{O}_2$  (foto-Fenton).
- Operar una planta piloto que permita desarrollar la experimentación en las condiciones más reales posible, ajustando todos sus parámetros de control con el objetivo de conseguir los resultados más fiables posible.
- Comparar cual de los dos procesos fotocatalíticos aplicados es el más adecuado para la degradación de plaguicidas.
- Evaluar la mineralización de los plaguicidas mediante el seguimiento de la desaparición del Carbono Orgánico Total (TOC) y la aparición de sus iones, tanto inorgánicos como orgánicos.
- Identificar los productos de degradación (PDs) de los procesos y establecer sus posibles rutas de degradación, aplicando cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y a un detector de emisión atómica (GC-AED) además de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS).
- Evaluar la cinética de degradación tanto del compuesto original como de sus PDs, mediante el análisis por cromatografía líquida de alta resolución con detector

ultravioleta (HPLC-UV) del compuesto original y con HPLC-MS, GC-AED, o GC-MS el de los PDs.

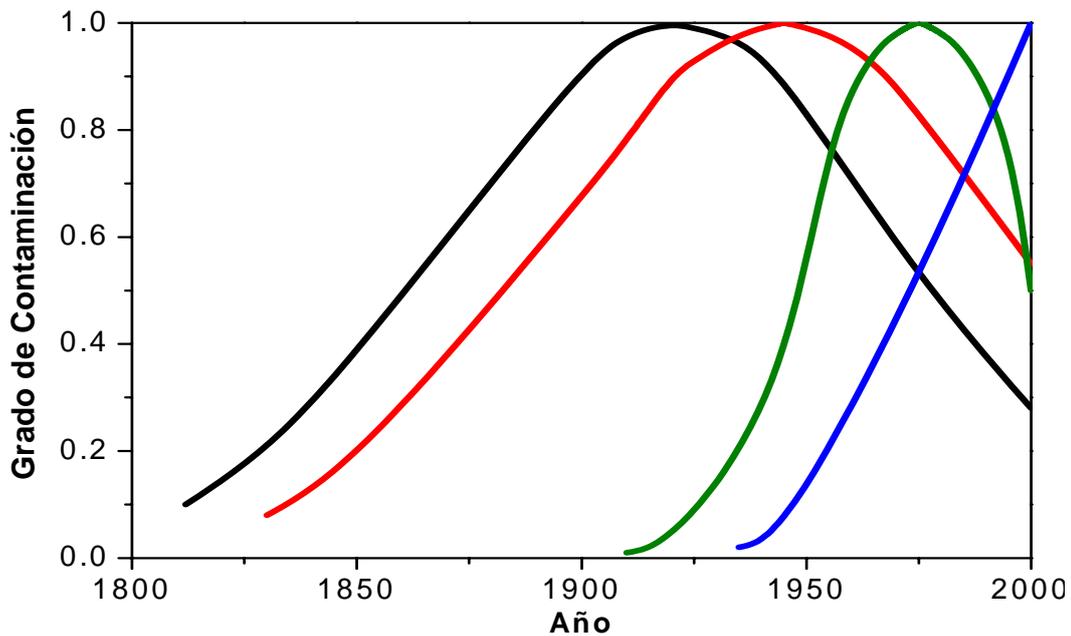
- Asegurar la correcta detoxificación de las aguas durante los procesos estudiados, mediante la aplicación de bioensayos de toxicidad aguda. Para ello se han aplicado tests de toxicidad de tres grupos taxonómicos diferentes del medio acuático: (1) Invertebrado, *Daphnia Magna*; (2) Bacteria, *Vibrio Fischeri*; (3) Alga, *Selenastrum Capricornotum*.
- Demostrar que la combinación de toda la información obtenida permite evaluar mejor un tratamiento de oxidación avanzada y, por tanto, conocer mejor su comportamiento para intentar optimizarlo. Todo ello debe conducir a una reducción de costes que permita la implantación de esta tecnología.

# **1. INTRODUCCIÓN**

## 1.1. PROBLEMA MEDIOAMBIENTAL

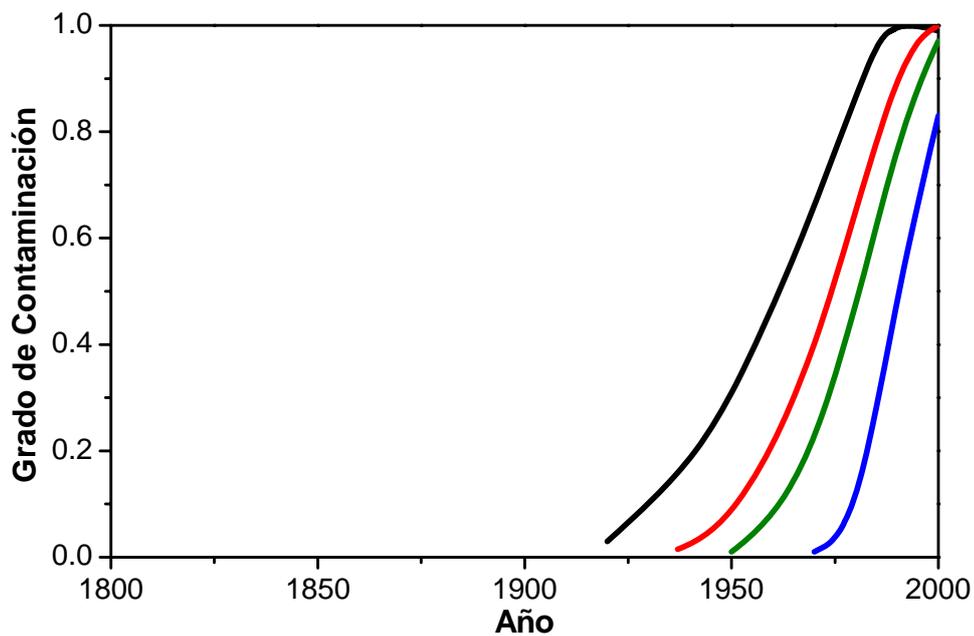
### 1.1.1. Problemática de la Contaminación de las Aguas

Una de las características que mejor define la sociedad actual en lo que se entiende por países desarrollados es la producción de residuos. Prácticamente no hay actividad humana alguna que no genere residuos existiendo además una relación directa entre el nivel de vida de una sociedad o país y la cantidad de residuos generados. Aproximadamente, el 23 % de la población mundial vive en países desarrollados, consume el 78 % de los recursos y produce el 82 % de los residuos [Blanco y Malato, 1996]. Además se ha de resaltar que el volumen de residuos crece de forma exponencial con respecto al nivel de industrialización de un país. Existen actualmente registradas unos cinco millones de sustancias conocidas de las que aproximadamente 70.000 son ampliamente usadas en todo el mundo, estimándose en unas 1.000 las nuevas sustancias químicas que cada año son incorporadas a la lista.



*Figura 1.1.1.* Evolución esquemática del grado de contaminación (en escala arbitraria) de las aguas naturales en países desarrollados sosteniblemente. Los trazos, de izquierda a derecha, representan desagües fecales municipales, efluentes industriales, nutrientes y microcontaminantes. Los problemas medioambientales van creciendo hasta que se encuentra una solución para resolverlos y a continuación disminuyen.

La necesidad de un crecimiento sostenible se contrapone con la realidad del crecimiento demográfico. Muchos países atraviesan una etapa de crecimiento no-sostenible, con logros macroeconómicos muy variables en los distintos países. Aún en los casos en los que los países han alcanzado interesantes progresos macroeconómicos, estos logros no se reflejan en la calidad de vida de grandes porciones de la población. Esos grandes contrastes se reflejan en los problemas asociados con la gestión racional del agua, que no puede enfrentarse de forma unilateral, si no que hay muchos procedimientos.



*Figura 1.1.2.* Evolución esquemática del grado de contaminación (en escala arbitraria) de las aguas naturales en países desarrollados no-sosteniblemente. Los trazos, de izquierda a derecha, representan desagües fecales municipales, efluentes industriales, nutrientes y microcontaminantes. Los problemas medioambientales van creciendo sin que sea encontrada una solución para resolverlos.

Una publicación reciente [Schertenleib y Gujer, 2000] describe de forma genérica los problemas que han debido enfrentar las sociedades en función del uso del agua, a medida que dicha sociedad iba evolucionando. Los países de desarrollo sostenible han ido enfrentando uno por uno, problemas relacionados con la contaminación biológica, con los niveles de metales pesados, con el uso intensivo de nutrientes, y con los contaminantes orgánicos a niveles de ultra-traza. La desinfección de aguas, el tratamiento de efluentes antes de su vertido a cauces de agua, la limitación y sustitución de nitratos y fosfatos en productos de uso masivo,

y los desarrollos en química analítica y en ecotoxicología ilustran algunas de las herramientas usadas para enfrentar dichas categorías de problemas. Como resultado de su propia evolución armónica, surge el comportamiento como el esbozado en la figura 1.1.1. Debe advertirse que la escala de tiempo para resolver cada problema, a medida que el mismo va surgiendo, es cada vez más corto.

En contraste, los países de desarrollo no sostenible tienen un comportamiento que queda descrito en la figura 1.1.2. No cabe duda de que muchos países en vías de desarrollo están en este caso, o aun en situación más complicada, con estadios de desarrollo aún más primitivos. Se deben resolver problemas derivados de los efectos toxicológicos de compuestos orgánicos, que son activos a niveles de ultra-trazas (plaguicidas, etc), al mismo tiempo que la desinfección de aguas para comunidades rurales. Queda claro que se necesitan procedimientos innovadores para enfrentar un amplio espectro de problemas, que varía notablemente en la escala de su aplicación y en la complejidad de los problemas a resolver [Blesa, 2001].

Hasta hace relativamente pocos años, el vertido de residuos en la naturaleza ha sido el medio de eliminarlos, hasta que la capacidad auto-depuradora del medio ambiente ha dejado de ser suficiente. Éstos han sobrepasado con creces los niveles permitidos, provocando una contaminación del medio ambiente que, hace inservibles nuestros recursos naturales para determinados usos y alteran sus características. El principal problema lo constituyen los vertidos procedentes de la industria y la agricultura, aunque la población también juegan un papel destacado en la contaminación del medio ambiente. Plaguicidas, fertilizantes, detergentes, fenoles y otros productos químicos son arrojados sin tratamiento directamente a la naturaleza, a través de vertederos, controlados o incontrolados y situados sin una estrategia de tratamiento.

Se define como Residuo Tóxico y Peligroso a "aquellos materiales sólidos, semi-líquidos, líquidos, así como gaseosos contenidos en recipientes, que siendo resultado de un proceso de producción, transformación, utilización o consumo, su productor destine al abandono y contengan en su composición alguna de las sustancias o materias que figuran en el anexo de la Ley 20/1986, de 14 de mayo, Básica de Residuos Tóxicos y Peligrosos, o en las revisiones sucesivas que pueda tener la Directiva de la CE, en cantidades o concentraciones tales, que representen un riesgo para la salud humana, recursos naturales y medio ambiente y necesiten de un proceso de tratamiento o eliminación especial". Entre dichos residuos, los más

preocupantes desde el punto de vista medioambiental son los denominados no biodegradables o persistentes ya que, en caso de no recibir un tratamiento específico para su destrucción o inertizado, pueden afectar a los distintos compartimentos medioambientales. A partir de ahí, pueden producir una serie de daños muy diversos e irreversibles que van desde el deterioro o desaparición de un entorno determinado hasta la alteración de la salud de los individuos que viven en dicho entorno.

Una gran parte de este tipo de residuos son generados en solución acuosa y, debido a su propia naturaleza de no biodegradabilidad, los procesos de tratamiento biológico (los más comúnmente utilizados) no tienen ninguna acción sobre ellos por lo que, si no hay ningún tratamiento específico adicional, acaban vertidos sobre el medio ambiente. La presencia de este tipo de contaminantes en disolución acuosa resulta especialmente problemática ya que el residuo no puede ser almacenado indefinidamente (como ocurre con algunos residuos sólidos) y tiene la particularidad de que pequeños volúmenes de agua pueden contaminar, a su vez, a otros volúmenes de agua mucho mayores. También es destacable que un amplio espectro de compuestos pueden transformarse, a su vez, en sustancias potencialmente peligrosas durante el proceso de tratamiento de agua potable y particularmente por la cloración, como es el caso de los compuestos precursores de la formación de clorocarbonados [Marhaba y Washington, 1998].

Las técnicas disponibles para el tratamiento de residuos en general son muy diversas. En algunos casos se aplica únicamente una inertización del residuo y su traslado posterior a un vertedero controlado donde se almacena de forma segura. Otra posibilidad es el transporte de residuos a una planta de incineración. Este procedimiento, además de necesitar un importante aporte energético para llevar a cabo el proceso, tiene el problema de que puede arrojar a la atmósfera productos tóxicos intermedios de la mineralización, lo que ha causado que la incineración sea una fuente de controversia continua. Por otro lado, la incineración es muy cara y requiere largas distancias de transporte de los residuos a una instalación central [Dempsey y Oppelt, 1993; Kakko y *col.*, 1995; Steverson, 1991].

La política de la Unión Europea referente a la protección del medio ambiente ha ganado importancia de forma continua desde los años 80 motivada por la presión social y el compromiso de los centros de investigación. Este hecho ha estado motivado por una gran presión social de los medios de comunicación y de la comunidad científica que han alertado de los daños medioambientales que están todavía lejos de estar bajo control. A pesar de la

introducción de estándares de calidad de agua en la Unión Europea, no ha habido mejoras globales en la calidad de los ríos desde principios de los 90 [Comisión Europea, 1999]. Se estima que el 20 % de todas las aguas superficiales de la UE están seriamente amenazadas por la contaminación. Las aguas subterráneas abastecen alrededor del 65 % del agua potable de toda Europa y también se han detectado importantes niveles de contaminación en ellas. Consecuentemente, la salud está amenazada por altas concentraciones de plaguicidas, hidrocarburos clorados, nitratos, metales pesados, hidrocarburos, etc., [Comisión Europea, 1998b]. En este contexto, la Comisión Europea ha adoptado una propuesta para una nueva y ambiciosa estrategia medioambiental que señala las prioridades de acción para el medio ambiente durante los próximos cinco a diez años: “**Environment 2010: Our Future, Our Choice**” [Comisión Europea, 2001b]. Esta propuesta se centra en cuatro áreas de acción principales: cambio climático, salud y medio ambiente, naturaleza y bio-diversidad y gestión de los recursos naturales. Para cada una de las cuatro áreas prioritarias, el programa explica las salidas posibles, define los objetivos y enumera las acciones prioritarias a emprender. Un hito importante es la agenda “medio ambiente y salud”, que será en los años venideros una revisión fundamental del sistema comunitario para gestionar los riesgos de los productos químicos. Igualmente se dedicará una atención especial a estrategias específicas para reducir los riesgos de los pesticidas.

La gestión del agua en Europa ha tenido y tiene muchas dificultades aún en la actualidad. Los distintos Miembros tienen diferente visión sobre la protección del medio ambiente. Deben también defender su economía nacional y existe la problemática de las fuentes de aguas y la contaminación transfronterizas. Afortunadamente, la UE está en posición de jugar un papel de coordinación de los diferentes intereses en este campo. Es obvia la necesidad de nuevas tecnologías de tratamiento de aguas, que puedan ayudar a integrar las estrategias de gestión sostenibles y que faciliten el camino para definir una estrategia Europea para la gestión de aguas residuales.

La política del agua comunitaria está basada en los objetivos de las siguientes Directivas principales en el Marco de Directivas del Agua: la Directiva de Aguas de Baño 76/160/EEC salvaguardando la salud de los bañistas y manteniendo la calidad de las aguas de baño; la Directiva de Agua Potable 80/778/EEC salvaguardando la salud humana mediante el establecimiento de normas estrictas para la calidad del agua destinada al consumo humano; la Directiva de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas 91/271/EEC controlando la

polución, en particular eutrofización de aguas superficiales con nutrientes (particularmente nitrógeno y fósforo), procedente de aguas residuales urbanas; la Directiva de Nitratos 91/676/EEC controlando la contaminación procedente de la agricultura y ganadería, complementando la Directiva de Tratamiento de Aguas Residuales Urbanas; la Directiva de Sustancias Peligrosas 76/464/EEC y sus Directivas Filiales, controlando la contaminación de aguas superficiales con sustancias peligrosas procedentes de la industria; la Directiva Control y Prevención Integrada de la Contaminación 96/61/EEC (conocida como IPPC directiva) controlando la contaminación con sustancias peligrosas procedentes de grandes industrias y obligando a la reutilización de esas aguas.

Por otro lado, la política de residuos (90/C 122/02, Resolución de 7 Mayo 1990) reitera la necesidad de cambiar hacia procesos de producción más sostenibles a través del desarrollo de tecnologías limpias con el objetivo final de alcanzar “descarga cero” en los procesos industriales. La política de Conservación de las Aguas precisa iniciativas con el objetivo de proteger el medio ambiente acuático y hacer más racional la utilización de los recursos de agua. Su objetivo es cambiar la gestión de las fuentes tradicionales aumentando la disponibilidad de agua utilizando “pantanos, trasvases, re-utilización y desalación, especialmente en zonas propensas a las sequías” [Angelaskis, 1999; Naciones Unidas, 2000].

Desde la primera directiva europea en 1975, se han hecho muchos progresos para mejorar la política sobre contaminación de aguas de Europa [Comisión Europea, 1999a]. Pero quedan por resolver serios problemas relacionados con las sustancias denominadas “Sustancias Contaminantes Prioritarias”, PHS, [Comisión Europea, 2001a] y Contaminantes Orgánicos Persistentes, POPs [Naciones Unidas, 1999]. Entre otros compuestos se encuentran plaguicidas, metales pesados, hidrocarburos, hidrocarburos clorados, etc. presentes en agua y cuya procedencia es generalmente aguas residuales industriales, que contienen PHS a baja-media concentración (<500 mg/L). En este contexto, la Directiva IPPC (Integrated Prevention Pollution Control, 96/61/EC) obliga al desarrollo de tecnologías y prácticas de gestión para sectores industriales específicos (ver Anexo I de la Directiva), para la minimización de la polución y para el desarrollo del reciclado de agua. Debido a la falta de tecnologías para tratamiento in situ, una gran cantidad de actividades industriales incluidas en el Anexo I de la Directiva IPPC no están realizando ningún tipo de tratamiento sobre estas aguas residuales. Como consecuencia, tecnologías sencillas, de bajo coste y fácil aplicación son fundamentales para la consecución de estos objetivos [Comisión Europea, 1998a].

La directiva WFD (Water Framework Directive, 2000/60/EC) adoptada en Octubre 2000, en su Artículo 16 contiene el marco legal y las bases metodológicas par la priorización de sustancias contaminantes. Según la WFD, la Comisión Europea (CE) presentará una propuesta estableciendo una lista de sustancias prioritarias seleccionadas entre aquellas que presentan un riesgo importante para el medio acuático. A partir de las discusiones de los expertos en el tema [Comisión Europea, 2000a], se ha propuesto una lista de 32 sustancias [Comisión Europea, 2001a]. Estas sustancias deben estar sujetas a controles de emisión a nivel comunitario para alcanzar una reducción progresiva en las descargas, emisiones y pérdidas.

### **1.1.2. Problemática de las Aguas Contaminadas con Plaguicidas.**

El incremento en la producción y el uso de los compuestos químicos en los últimos cien años ha dado origen a una preocupación creciente sobre el efecto que dichos compuestos pueden tener sobre los ecosistemas terrestre y acuático (ver figura 1.1.3). Debido a sus características químicas los plaguicidas son en la mayoría de los casos contaminantes persistentes que resisten en grado variable la degradación fotoquímica, química y bioquímica, por lo que su vida media en el ambiente puede ser elevada [Albert, 1998; Hayo y van der Werf, 1996; Tomin, 1994]. La aplicación de plaguicidas sintéticos ha sido una práctica rutinaria en la agricultura en los últimos cincuenta años. El uso indiscriminado que en el pasado se ha dado a estos compuestos, ha producido que en la actualidad se detecten residuos de estos en el ambiente y se asocien con riesgos potenciales a la salud pública [Bandala *y col.*, 1998].

Actualmente los residuos de estos plaguicidas han sido identificados en todos los compartimentos ambientales (aire, agua y suelo), y en todas las regiones geográficas incluyendo aquellas muy remotas al sitio original de su liberación ambiental, como océanos, desiertos y zonas polares. Igualmente se ha demostrado su presencia en organismos de todos los niveles tróficos, desde el plancton hasta las ballenas y los animales del ártico. Estos compuestos se pueden bio-acumular y se han bio-magnificado a través de todas las redes tróficas del mundo. Los seres humanos no están exentos de esta contaminación y los plaguicidas se han podido identificar en diversos tejidos y secreciones humanos, inclusive de los habitantes de regiones muy aisladas [Albert, 1998].

Hay una gran cantidad de informes en los cuales se alerta sobre la amplia distribución de plaguicidas en el Mundo [Morrison *y col.*, 1996; Nair *y col.*, 1996; Sitarska *y col.*, 1993]. En los países en vías de desarrollo hay grandes cantidades de plaguicidas tóxicos y/o obsoletos, que son un peligro mortal para la salud humana y el medio ambiente. Se ha estimado que en el mundo hay varios cientos de miles de toneladas de plaguicidas obsoletos, y más de 100 mil toneladas están en los países en desarrollo [OMS, 1998].

En el tercer mundo, los plaguicidas terminan en muchos casos en manos de personas poco informadas, y poco capaces de protegerse de sus efectos nocivos. A menudo los bidones se guardan a la intemperie, junto a almacenes de alimentos o mercados y donde los niños tienen fácil acceso a ellos. En Estados Unidos, a pesar de ser una de las naciones más desarrolladas, la tasa de mortalidad entre los trabajadores agrícolas en toda la nación está estimada en 20.9 por cada 100 mil, debido a que los trabajadores del campo se exponen a los plaguicidas más que cualquier otro segmento de la población [Reeves *y col.*, 2000].

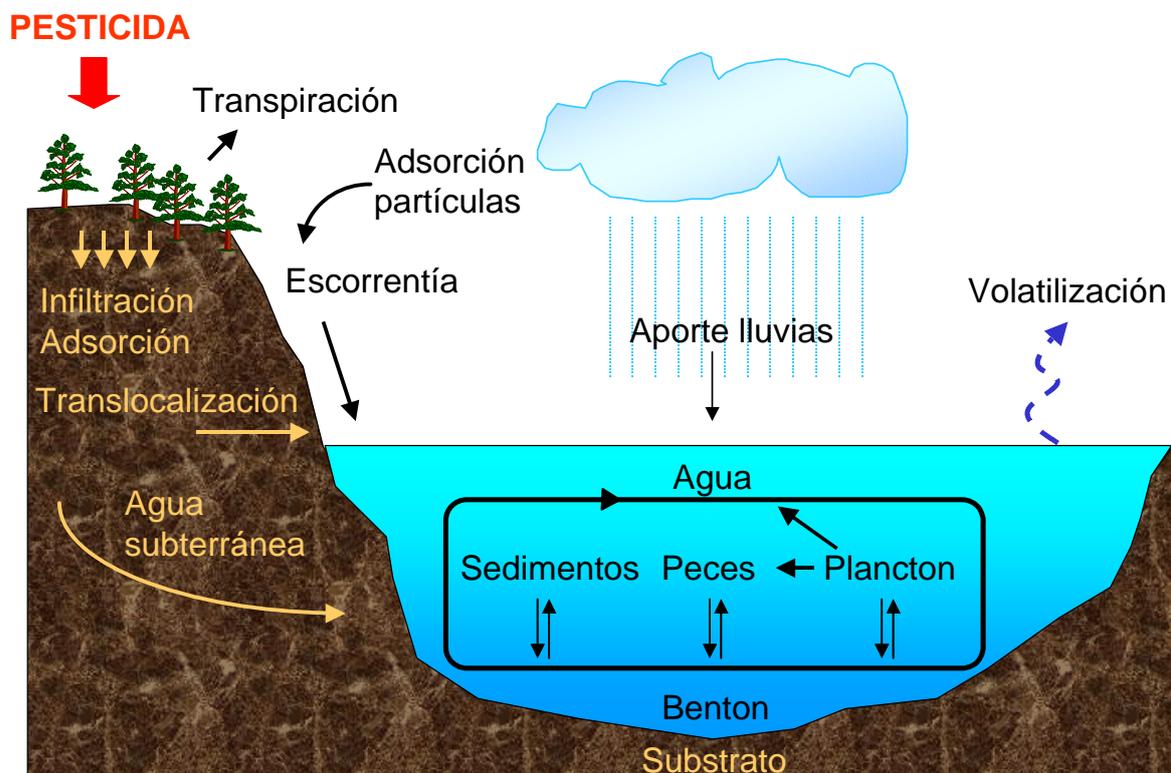


Figura 1.1.3. Procesos que afectan a los plaguicidas en el medio ambiente.

Los pesticidas y herbicidas son también un componente común en las aguas residuales urbanas y provienen del tratamiento de las malas hierbas de carreteras, de los jardines, parques y áreas de arbolado urbanas. Entre ellos están incluidos el grupo de las triazinas, las fenil-ureas, ácidos fenólicos y glifosatos [Revitt *y col.*, 1999].

Informes de las Naciones Unidas estiman que de todos los pesticidas usados en la agricultura, menos del 1 % alcanza los cultivos. El resto termina contaminando la tierra, el aire y, principalmente, el agua. Como estos contaminantes no son en su mayoría biodegradables y sólo una pequeña cantidad de los residuos son tratados actualmente (debido a la carencia de tecnologías de tratamiento in-situ disponibles), existe un gran problema de acumulación de consecuencias no predecibles en un futuro de cercano. No obstante todas las características nocivas de estos compuestos, la venta de plaguicidas en todo el mundo aumenta sustancialmente todos los años, sobre todo en los países en desarrollo. En 1996, las ventas mundiales de esta industria fueron de 33 mil millones de dólares de las cuales más del 70 por ciento se consume en países en vías de desarrollo. En el mercado español, la evolución de las materias activas de plaguicidas para uso agrícola ha ido desde 35000 toneladas durante 1996 hasta 35700 toneladas en 2001, lo cual se traduce en un volumen de ventas de los mismos de 504.95 y 594.50 millones de euros respectivamente [AEPLA, 2001]. Por tanto, la contaminación medioambiental con plaguicidas es un gran problema [Chiron *y col.*, 1995; Koplíng *y col.*, 1996; Meyer y Thurman, 1996; Malato *y col.*, 2001a] con consecuencias ecológicas de grandes dimensiones. En respuesta a este problema, la Comunidad Europea ha implementado programas para: (1) el desarrollo de tecnologías analíticas rápidas y eficaces de control y monitorización en aguas superficiales y subterráneas de los plaguicidas, y (2) el desarrollo de tecnologías que sean útiles para reducir o eliminar el vertido a los efluentes naturales de aguas contaminadas con plaguicidas [Comisión Europea, V Framework Programme, 1997, 1998a, 1999a, 1999b y 1999c, 2000a, 2000b, 2000c, y 2000d; Naciones Unidas, 1997, 1999 y 2000; Directiva 91/414/EEC; Directiva 793/93/EEC; Directiva 1999/31/EC; Directiva 2000/60/EC]. Por este motivo, se requieren tanto el conocimiento de las distintas fuentes de contaminación como los niveles de contaminación que éstos involucran. La mayor fuente de contaminación de aguas por plaguicidas proviene de:

1. Las prácticas agrícolas pueden generar niveles de contaminación en aguas de hasta 10  $\mu\text{g/L}$ .

2. Aguas contaminadas procedentes del aclarado de envases de plaguicidas y equipos de aplicación de los mismos: 10-100 mg/L.
3. Aguas residuales provenientes de las industrias agrícolas: 10-100 mg/L.
4. Aguas residuales procedentes de las plantas de fabricación de plaguicidas: 1-1000 mg/L.

A cualquiera de los niveles en los que se encuentran, estos tienen que ser eliminados para proteger nuestras fuentes de agua y para poder tener agua de bebida de calidad [Chiron y *col.*, 1997 y 2000].

Las prácticas agrícolas pueden contaminar el medio ambiente a través de distintas rutas, dependiendo de sus propiedades físico-químicas y de las condiciones medioambientales. Los principales factores que influyen en el comportamiento medioambiental de los plaguicidas son las propiedades físico-químicas de dichos compuestos (coeficiente de adsorción, solubilidad en agua, coeficiente de reparto en octanol-agua, constante de ionización, estabilidad, volatilidad), el tipo de aplicación (formulación, método de aplicación, dosis, frecuencia), las características del suelo (textura, composición química, propiedades físico-químicas, actividad biológica, orografía), las prácticas culturales y las condiciones medioambientales (laboreo, riego, drenaje, cubierta vegetal, lluvia, temperatura, viento) [Tadeo, 1994; Van der Werf, 1996]. El hecho de que muchos plaguicidas se apliquen al suelo, donde deben persistir durante un cierto tiempo para poder controlar las plagas, puede explicar que las concentraciones encontradas en aguas de riego sean a menudo relevantes [Chiron y *col.*, 1995; Gómez de Barreda y *col.*, 1991; Koplíng y *col.*, 1996; Meyer y Thurman, 1996; Sánchez-Brunete y *col.*, 1994; Sánchez-Camazano y *col.*, 1994]. Como se ha comentado anteriormente, además de por su aplicación en cultivos, los plaguicidas pueden llegar al agua procedentes de otras prácticas: aguas de desecho de industrias agroalimentarias, aguas de desecho de plantas productoras de plaguicidas, aguas de lavado procedentes de contenedores y equipos de pulverización. En todos los estos casos, esas aguas contienen cantidades mucho más relevantes que las que se encuentran en las aguas de riego de las zonas agrícolas.

La persistencia de un plaguicida en el medio es el resultado de una serie de procesos que determinan su destino (ver figura 1.1.4) y que se pueden resumir en [Tadeo, 1994]:

- Degradación: Química (ejemplo: hidrólisis), Biológica (degradación por microorganismos del suelo), Fotolítica.
- Transporte: Volatilización (riesgo de contaminación de áreas distantes a las zonas de aplicación de los plaguicidas), Escorrentía (riesgo de contaminación de aguas superficiales), Lixiviación (riesgo de contaminación de aguas subterráneas).
- Adsorción: En el suelo; asociado a los componentes orgánicos y minerales que forman parte de éste.
- Absorción: Por la planta. Es la principal fuente de bio-acumulación en la cadena alimentaria y una ruta importante de exposición a los animales y humanos [Paterson *y col.*, 1990].

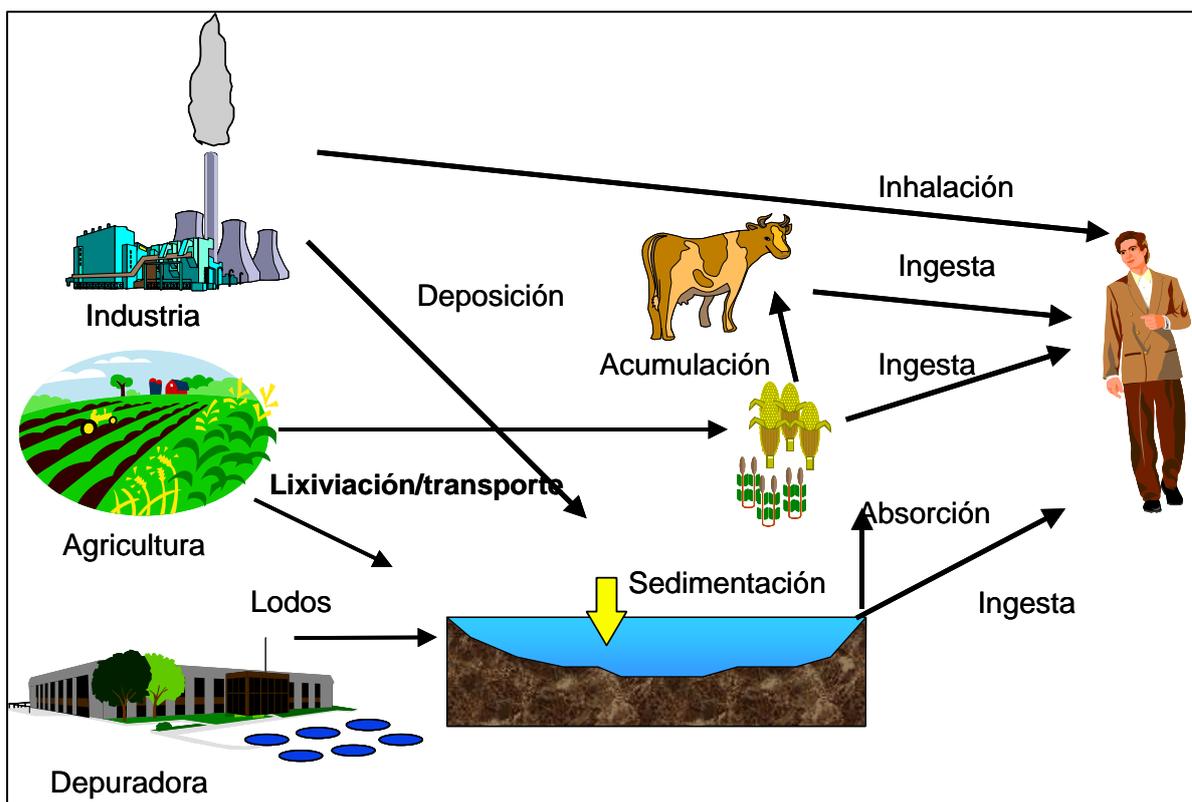


Figura 1.1.4. Procesos que afectan a la distribución de los plaguicidas en el medio ambiente y por los cuales llegan al hombre.

Por otra parte, determinar el impacto medioambiental de los distintos plaguicidas y todas las posibles combinaciones de los factores que afectan a su disipación en el medio es no

sólo una labor tremendamente complicada, sino que a menudo resulta prácticamente imposible de llevar a cabo [Addiscott y *col.*, 1985; Carsel y *col.*, 1985; DeCoursey, 1988; Grover, 1988; Gustafson, 1994; Martínez y *col.*, 1994; Obrador y *col.*, 1993; Reus y *col.*, 2002; Wagenet, 1990; Walker, 1987]. Por tanto, se hace necesario evitar en la medida de lo posible la contaminación de plaguicidas mediante una óptima utilización de los mismos y/o la aplicación de métodos de tratamiento que los destruyan antes que los posibles vertidos se produzcan al medio ambiente.

Así, una creciente concienciación pública del daño ambiental relacionado con el uso de plaguicidas puede suponer un serio obstáculo al uso de los mismos. Sin embargo parece claro que su utilización es necesaria si se pretende producir alimentos vegetales (a un coste razonable) para una población cada vez mayor. Por tanto, es fundamental el desarrollo de tecnologías que sean capaces de reducir o eliminar el impacto ambiental de la síntesis, formulación, distribución y aplicación de plaguicidas.

### **1.1.3. Técnicas de Tratamientos de Aguas.**

Hoy día resulta bastante evidente que el agua es un recurso natural preciado y escaso cuyo cuidado constituye, además, una de las principales preocupaciones sociales. Como consecuencia, las normativas legales imponen criterios cada vez más estrictos para lograr una mayor y mejor depuración de las aguas, como indica la reciente aprobación de una Directiva Marco sobre el agua a nivel Europeo [WFD, 2000/60/EC]. Esto lleva a su vez aparejada la necesidad de su adecuado uso y reciclaje [Comisión Europea, 1998a], como se exige en la Directiva IPPC (96/61/EC).

El objetivo de cualquier tratamiento de contaminantes en agua es siempre el mismo: eliminar ciertos contaminantes, normalmente mezclas complejas de compuestos orgánicos e inorgánicos, presentes en un efluente de tal manera que una vez tratado cumpla las especificaciones de vertido determinadas por el organismo competente. El mayor énfasis siempre ha sido puesto en una lista determinada de contaminantes. La primera de estas listas surgió a finales de los años 70 en Estados Unidos como consecuencia de la aparición creciente de contaminantes en aguas destinadas al consumo humano; debido a ello, la Agencia de Protección Medioambiental Norteamericana (EPA) centró su preocupación en 129 sustancias y elementos derivados de 65 clases distintas de contaminantes [Callahan y *col.*, 1979]. Estos

"contaminantes prioritarios" eran, en su gran mayoría, sustancias orgánicas. Otras listas de contaminantes han sido publicadas por las Naciones Unidas [Naciones Unidas, 1999]. La última de estas listas ha sido recientemente publicada por la Comisión Europea [Comisión Europea, 2001a] y hace referencia a un total de 33 sustancias o familias de compuestos.

Para estudiar los posibles tratamientos que hay que dar a un determinado efluente, lo primero que se ha de realizar es la caracterización del mismo, tanto en las materias contaminantes que pueda contener, como en los componentes mayoritarios que, aunque no sean tóxicos, pueden tener mucha influencia a la hora de decidir el tratamiento adecuado. También será necesario conocer el caudal del mismo, así como las posibles oscilaciones tanto en caudal como en composición, que puedan producirse. Los problemas del tratamiento de los efluentes contaminados pueden resolverse de varias maneras [Eckenfelder, 1989]:

- Reciclando el agua después de eliminar los contaminantes del efluente mediante las diversas técnicas existentes.
- Intercambiando residuos. Se trata de establecer una base de datos de los residuos producidos por diferentes industrias cercanas entre sí, de manera que el residuo de una pueda ser materia prima en el proceso de otra.
- Minimizando los efluentes o no produciéndolos, a través del cambio de las especificaciones de los productos o cambiando el proceso de producción, de tal manera que implique la generación de efluentes menos contaminantes.
- Segregando determinados efluentes con características especiales y tratándolos por separado antes de ser mezclados con el resto.
- Concentrándolos y llevándolos a una planta centralizada de tratamiento de residuos.

Los procesos y tecnologías de que se dispone en la actualidad para el tratamiento de contaminantes en agua son muy diversos [Cheremisinoff, 1995; Henze, 2000; Kiely, 2001; Letterman, 2002; Manahan, 1997; Metcalj y Eddy, 1998 y 2000; Wilderer, 2002]. Las técnicas de tratamiento de residuos en agua que se usan con más frecuencia en la actualidad se pueden dividir en tres grandes grupos: tratamientos físicos, químicos y biológicos. Entre las técnicas convencionales, las más habituales son las que se relacionan en la tabla 1.1.1. Sin embargo, y

como norma general, los diferentes tratamientos existentes se dividen en los siguientes grupos generales:

- Tratamientos naturales: Estos sistemas de tratamiento no suelen ser muy utilizados en el caso de aguas residuales industriales debido a que requieren unas condiciones de contaminación muy específicas, debiendo tener los vertidos de partida unas condiciones comparables a los urbanos. Sin embargo son muy utilizados debido a su bajo coste y su naturaleza ecológica. Entre ellos están el Filtro Verde y el Lagunaje.
- Tratamientos primarios: Se incluyen en este grupo aquellos procesos o conjunto de procesos que tienen como misión la separación por medios físicos de partículas en suspensión que existan en el agua a tratar [Judson, 1971]. Se suelen incluir procesos como: la Decantación, Homogeneización, Cribado o filtrado, Coagulación – Flocculación, Precipitación y Neutralización.
- Tratamientos secundarios: Fundamentalmente consisten en procesos biológicos empleados para degradar la materia orgánica biodegradable. Pueden agruparse en dos grandes grupos: los procesos Aerobios y Anaerobios.
- Tratamientos terciarios: Tradicionalmente se han considerado los tratamientos terciarios como procesos de afino para sustraer los contaminantes que no han podido ser eliminados en las fases de tratamiento anteriores. Además, los tratamientos terciarios a utilizar dependían mucho del uso posterior que iba a hacer del agua ya depurada. Sin embargo en la actualidad esto ya no es así y los tratamientos terciarios se han generalizado y, en el caso de las aguas con contaminantes industriales, muchas veces es el único que se realiza ya que se trata, normalmente, de eliminar contaminantes muy específicos. Se suelen incluir procesos como: Adsorción, Intercambio Iónico, Ultrafiltración, Procesos con Membranas, Electrodialisis, “Stripping”, Desinfección, Procesos de Oxidación Convencionales y **Procesos de Oxidación Avanzada**.

En aguas urbanas, se suele utilizar únicamente los tratamientos primarios y secundarios, con los que se logra reducir en gran medida la contaminación de los efluentes, pero con los cuales generalmente no se cumple la normativa vigente, cada vez más estricta como se ha comentado anteriormente. La tendencia es hacia la utilización cada vez mayor de

tratamientos terciarios, tanto para cumplir la normativa, como para lograr un reciclado cada vez mayor del agua utilizada, que es el gran objetivo del futuro.

<b>Tratamientos Físicos</b>	<b>Tratamientos Químicos</b>	<b>Tratamientos Biológicos</b>
Arrastre mediante aire	Estabilización química	Lodos activados
Adsorción por carbón Activo	Catálisis	Lagunas aireadas
Centrifugación	Clorolisis	Digestión anaeróbica
Destilación	Electrolisis	Compostaje
Electro-diálisis	Hidrólisis	Tratamiento enzimático
Evaporación	Descarga de microondas	Filtros percoladores
Filtración	Neutralización	Balsa de estabilización
Floculación	Oxidación	
Flotación	Ozonolisis	
Cristalización por congelación	Fotolisis	
Intercambio iónico	Precipitación	
Destilación por vapor	Reducción	
Osmosis inversa		
Sedimentación		
Extracción líquido-líquido		
Arrastre mediante vapor		
Ultrafiltración		

*Tabla 1.1.1. Técnicas convencionales de tratamiento de contaminantes en agua.*

Las técnicas de tratamiento biológico están muy bien instauradas y son relativamente baratas, pero estos métodos biológicos son muy susceptibles a los plaguicidas, ya que pueden resultar tóxicos para los microorganismos y por tanto resulta imposible su biodegradación. Ha sido observado frecuentemente que los contaminantes que no son susceptibles de tratamiento biológico pueden caracterizarse también por una alta estabilidad y/o por una extrema dificultad para ser mineralizados totalmente. En estos casos, como en el que nos ocupa (tratamiento de aguas contaminadas por plaguicidas), es necesario adoptar sistemas reactivos mucho más efectivos que los adoptados en los procesos de purificación convencionales

[Zinkus y *col.*, 1998]. La alternativa que presentan el uso del “air stripping” y de la adsorción en carbón activo granulado, que meramente transfieren de un medio a otro los compuestos tóxicos, no es una solución a largo plazo. La incineración, como ya se ha comentado, no es una solución aceptable. La fotólisis directa normalmente no es una opción debido a su baja eficiencia cuántica para la mayoría de los plaguicidas [Galadi y Julliard, 1996; Mansour y *col.*, 1989].

Este trabajo está enfocado en una tecnología que podría ayudar a solucionar el problemas del tratamiento de estos compuestos no biodegradables y tóxicos. Los procesos de oxidación avanzada (AOPs) posiblemente constituyan en un futuro próximo uno de los recursos tecnológicos más utilizados en el tratamiento de aguas contaminadas con productos orgánicos, que no son tratables mediante técnicas convencionales debido a su elevada estabilidad química y/o baja biodegradabilidad, De hecho, los congresos y conferencias en este campo son cada vez más numerosos [Congresos AOPs].

## 1.2. PROCESOS DE OXIDACIÓN AVANZADA

Solo algunas de las técnicas descritas anteriormente son válidas para el tratamiento de contaminantes persistentes en agua, como los plaguicidas, ya que muchos de estos compuestos se caracterizan por una alta estabilidad y/o gran dificultad para ser mineralizados totalmente [Comisión Europea, 2000a; Naciones Unidas, 1999]. Por ello, muchas veces es necesario adoptar sistemas más efectivos. Entre estos sistemas se encuentran los Procesos de Oxidación Avanzada, comúnmente denominados AOPs, y que son aquellos procesos de tratamiento terciario que están basados en la generación de especies fuertemente oxidantes [Andreozzi y *col.*, 1999].

Entre los AOPs, aquellos que producen radicales hidroxilos ( $\bullet\text{OH}$ ) son los que tienen más éxito, ya que esta especie es fuertemente oxidante (Potencial de Oxidación 2.8 V) [Andreozzi y *col.*, 1999; Chiron y *col.*, 2000; Goswami y *col.*, 1996; Herrmann, 1999a; Hoffman y *col.*, 1995; Huston y Pignatello, 1999; Legrini y *col.*, 1993; Mills y *col.*, 1993; Pelizzetti y Minero, 1999; Prousek, 1996; Rajeshwar, 1996; Safarzadeh-Amiri y *col.*, 1996; Serpone y Emeline, 2002]. Estos radicales al ser agentes oxidantes muy enérgicos, son capaces de oxidar compuestos orgánicos principalmente por abstracción de hidrógeno (reacción 1.2.1) o por adición electrofílica a dobles enlaces generándose radicales orgánicos libres ( $\text{R}\bullet$ ). Estos reaccionan a su vez con moléculas de oxígeno formando un peroxiradical, iniciándose una serie de reacciones de degradación oxidativa que pueden conducir a la completa mineralización del contaminante. Igualmente, los radicales hidroxilo pueden atacar a los anillos aromáticos en posiciones ocupadas por un halógeno. El radical libre  $\text{HO}_2\bullet$  y su conjugado  $\text{O}_2\bullet$  con frecuencia están también involucrados en los procesos de degradación, pero estos radicales son mucho menos reactivos que los radicales  $\bullet\text{OH}$ .



En definitiva, las características más positivas de los AOPs pueden resumirse en las siguientes:

- Capacidad para llevar a cabo una profunda mineralización de los contaminantes orgánicos y oxidación de compuestos inorgánicos hasta dióxido de carbono e iones como cloruros, nitratos, etc.

- Reactividad no selectiva con una inmensa mayoría de compuestos orgánicos. Hecho especialmente interesante si se quiere evitar la presencia de subproductos potencialmente tóxicos procedentes de los contaminantes originales, que sí pueden originarse mediante otros métodos que no consiguen la oxidación hasta sus últimas consecuencias.

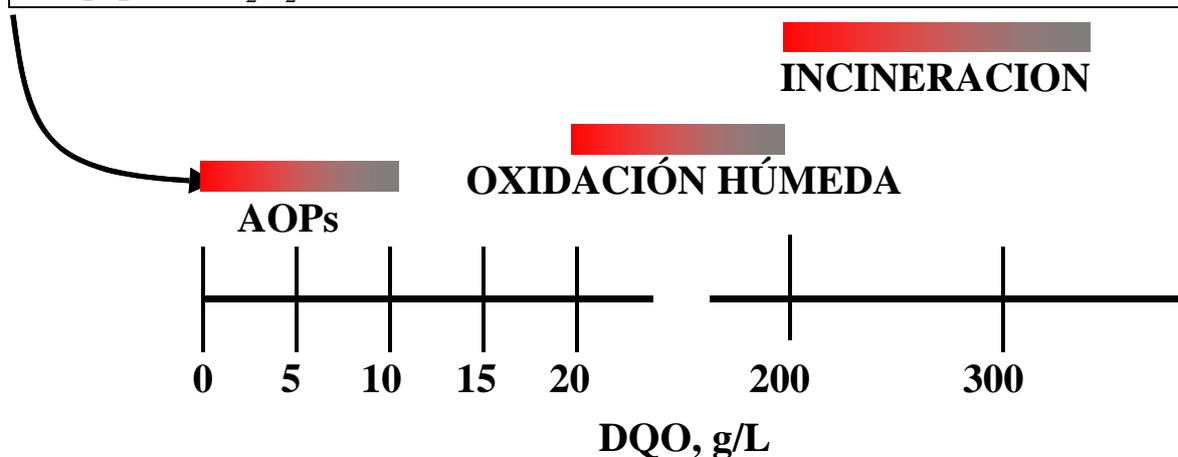
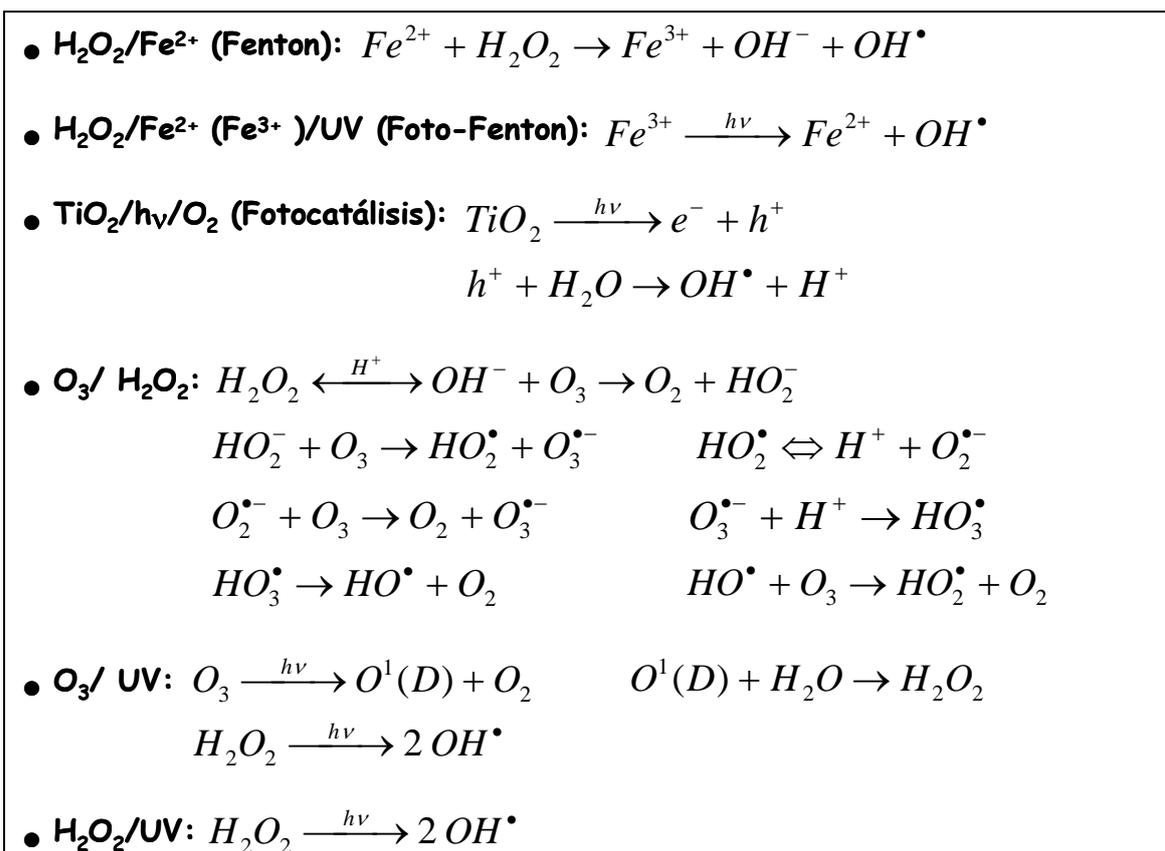


Figura 1.2.1. Procesos de Oxidación Avanzada más habituales e idoneidad de los mismos para el tratamiento de aguas en función de la Demanda Química de Oxígeno (DQO).

El principal inconveniente de los AOPs es su elevado coste por el uso de reactivos caros (p.e. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y/o el elevado consumo energético (lámparas para generar radiación UV) y es obvio que nunca deben utilizarse como alternativa a tratamientos más económicos, como la biodegradación. Otro aspecto importante relacionado con los AOPs es su aplicabilidad en función del contenido orgánico de las aguas, expresado como DQO (Demanda Química de Oxígeno). Únicamente aguas residuales con un contenido orgánico inferior a algunos gramos por litro de DQO pueden ser susceptibles de ser tratadas mediante esas tecnologías, debido fundamentalmente al elevado coste de reactivos y/o energía, así como a razones de índole cinético (adsorción en catalizador, absorción de luz, consumo de oxígeno durante la oxidación, etc). Aguas con contenidos mayores deberían ser tratadas mediante otras técnicas como la oxidación húmeda y/o la incineración (ver figura 1.2.1).

Los métodos fotoquímicos para la degradación de contaminantes disueltos en agua se basan en proporcionar energía a los compuestos químicos en forma de radiación, que es absorbida por las distintas moléculas para alcanzar estados excitados el tiempo necesario para experimentar reacciones. La energía radiante es absorbida por las moléculas en forma de unidades cuantizadas denominadas fotones, los cuales han de contener la energía requerida para excitar electrones específicos y formar radicales libres, dando lugar a una serie de reacciones en cadena. Estos radicales libres pueden generarse por transferencia electrónica desde el estado excitado de la molécula orgánica hacia el oxígeno molecular, originándose el radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>•</sup>), o hacia otros reactivos químicos como el ozono o el peróxido de hidrógeno, en cuyo caso se producen radicales hidroxilo (<sup>•</sup>OH). Los métodos basados en la acción de la luz utilizan normalmente radiación ultravioleta (UV) debido a la mayor energía de sus fotones como indica la ecuación de Planck (Ec. 1.2.2):

$$E_{\lambda} = \frac{hc}{\lambda} \quad (1.2.2)$$

donde E<sub>λ</sub> es la energía de un fotón asociada a la longitud de onda (λ) de la radiación; h es la constante de Planck y c es la velocidad de la luz. Se deben considerar tres aspectos fundamentales en el momento de analizar la efectividad de un determinado método fotoquímico [Lemaire y *col.*, 1982]:

- Capacidad de absorber radiación de la longitud de onda incidente por parte de los compuestos a degradar.
- Rendimiento cuántico de los mismos.
- Estabilidad y simplicidad de los productos de fotodegradación.

El rendimiento cuántico ( $\Phi$ ) se define como la relación entre el número de moléculas que reaccionan y el número de fotones absorbidos, existiendo propuestas de métodos de competición y métodos basados en diversos modelos de radiación para su cálculo [Esplugas y *col.*, 1983].

La radiación ultravioleta por si misma (fotólisis), no constituye un proceso de oxidación avanzada, presentando además, de forma general, una baja eficacia en la degradación de compuestos orgánicos disueltos en agua en comparación con otros procesos que implican la generación de radicales hidroxilo. Aún así, existen estudios basados en la generación de radiación UV de 254 nm mediante lámparas (de mercurio de baja y media presión o arcos de Xe/Hg). Atrazina, simazina, y metil-paratióon son algunos ejemplos de plaguicidas que han sido degradados mediante radiación de 254 nm [Gal y *col.*, 1992; Lai y *col.*, 1995; Zwiener y *col.*, 1993]. Igualmente, diversas estructuras han sido degradadas mediante irradiación directa con luz solar [Barceló y *col.*, 1993; Woodburn y *col.*, 1993] y otros compuestos han sido transformados en derivados de menor toxicidad mediante la aplicación de radiación UV en presencia de oxígeno [Rejto y *col.*, 1984]. Otros plaguicidas, sin embargo, presentan una baja eficiencia cuántica [Galadi y Julliard, 1996; Mansour M. y *col.*, 1989] por lo que la fotólisis directa no resulta una opción viable. No obstante, la fotólisis puede resultar interesante en aquellos casos en que tanto la absorptividad (coeficiente de extinción) como el rendimiento cuántico de los contaminantes tratados sea elevado.

### **1.2.1. Procesos Fotocatalíticos basados en la Luz Solar**

De entre todos los AOPs aquellos que son capaces de aprovechar la radiación solar son de especial interés, ya que se eliminaría la desventaja que tienen estos procesos del consumo de energía mediante lámparas, ya que éstas son sustituidas por el Sol. Estos procesos son la fotocatalisis “heterogénea” con  $\text{TiO}_2$  y fotocatalisis “homogénea” con foto-Fenton. La

descontaminación de aguas contaminadas mediante fotocatalisis solar es en la actualidad una de las más exitosas aplicaciones de la fotoquímica solar [Bahnmann *y col.*, 1993, 1994a y 1994b; Bauer, 1994 y 1999; Blanco y Malato, 2001; Bockelmann *y col.*, 1995; Curcó *y col.*, 1997; Freundenhammer *y col.*, 1997; Goslich R. *y col.*, 1997b; Jiménez *y col.*, 1997 y 1999; Herrmann *y col.*, 1998 y 1999d; Malato *y col.*, 1999a y 2002b; Marques *y col.*, 1996; Minero, 1997; Zhang *y col.*, 2001]. Esto no es sólo debido a que es una excepcional demostración de la aplicación de la energía solar a la conservación medioambiental, sino que, al contrario de la mayoría de los procesos fotoquímicos, su versatilidad permite que sea empleada con mezclas complejas de contaminantes. Corroboran el hecho la variedad de instalaciones y proyectos que están actualmente en operación [Ajona y Vidal 2000; Blanco *y col.*, 2000; Mukherje *y col.*, 1999; Well *y col.*, 1997].

Se define la fotocatalisis solar como la aceleración de una foto reacción química mediante la presencia de un catalizador [Mills y Le Hunte, 1997]. Tanto la luz como el catalizador son elementos necesarios. El término fotocatalisis incluye un proceso según el cual se produce una alteración fotoquímica de alguna especie química como resultado de la absorción de radiación por otra especie fotosensible, que en este caso se trata del catalizador. El concepto de fotocatalisis heterogénea es simple: el uso de un sólido semiconductor (ej.:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ , etc.) que forma una suspensión estable bajo irradiación para estimular una reacción en la interfase sólido / líquido o sólido / gas. En el caso de la fotocatalisis homogénea el catalizador está disuelto en el agua que contiene los contaminantes a tratar, también disueltos, por lo que todos los elementos que intervienen en el proceso se encuentran en la misma fase. Por definición, en ambos casos, el catalizador debe de poder ser reutilizado después de actuar en el sistema de oxidación-reducción sin sufrir cambios significativos. Se describen a continuación los dos procesos fotocatalíticos más importantes, desde el punto de vista de la luz solar, y que han sido utilizados en esta tesis doctoral.

## 1.2.2. Fotocatálisis Heterogénea con $\text{TiO}_2$

En el caso de los procesos donde interviene un sólido semiconductor, el mecanismo de fotorreacción (reacciones 1.2.3, 1.2.4 y 1.2.5) comienza cuando un semiconductor del tipo calcogénico (óxidos como  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{CeO}_2$ , etc., o sulfuros como  $\text{CdS}$ ,  $\text{ZnS}$ , etc.) es iluminado con fotones cuya energía es igual o mayor a la separación energética existente entre la banda de valencia y la de conducción (ver figura 1.2.2). En esta situación, tiene lugar una absorción de esos fotones y la creación en el seno del catalizador de pares electrón-hueco ( $e^-$  y  $h^+$ ), los cuales se disocian en foto-electrones libres en la banda de conducción y foto-huecos en la banda de valencia.

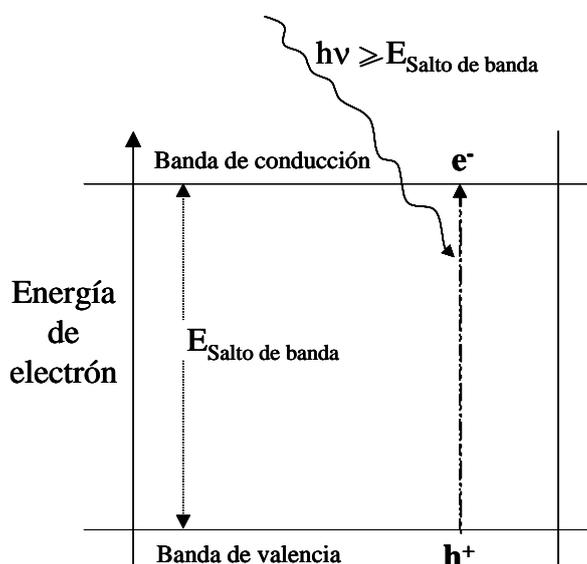


Figura 1.2.2. Diagrama energético de un semiconductor durante el proceso de fotoexcitación.

Simultáneamente, tiene lugar una adsorción de reactivos y, de acuerdo con el potencial redox (o nivel de energía) del catalizador, un electrón es transferido hacia una molécula aceptora ( $\text{Ox}_i$ ), produciendo una reacción de reducción de la misma; al mismo tiempo, un foto-hueco es transferido hacia una molécula donadora ( $\text{Red}_2$ ), que se oxidará. Cada ión formado reacciona para formar productos intermedios y finales. El flujo neto de electrones es nulo y el catalizador permanece inalterado. La excitación fotónica del catalizador aparece como el paso inicial de la activación de la totalidad del sistema catalítico.



Los óxidos y sulfuros metálicos representan una extensa clase de materiales semiconductores capaces de tener aplicaciones fotocatalíticas. En la tabla 1.2.1 aparecen relacionados algunos compuestos semiconductores, posibles candidatos a ser utilizados para reacciones fotocatalíticas. La columna final de la tabla indica la longitud de onda máxima de la radiación requerida para activar el catalizador. La longitud de onda ( $\lambda$ ) de la radiación capaz de producir el salto de banda (formación del par  $e^-/h^+$ ) puede calcularse mediante la aplicación de la ecuación de Planck (Ec. 1.2.2), donde  $E_\lambda$  es la energía de salto de banda del semiconductor,  $h$  es la constante de Planck y  $c$  la velocidad de la luz.

Una partícula de semiconductor es un fotocatalizador ideal para una reacción si se cumplen las siguientes características:

- Los productos formados son los deseados.
- El catalizador permanece inalterado durante el proceso.
- Se generan una cantidad suficiente de pares electrón / hueco.
- La reacción es exotérmica, no almacenándose la energía de los fotones en los productos finales.

Multitud de sustancias semiconductoras han sido probadas para la degradación de compuestos. Sin embargo, el fotocatalizador con el que se han obtenido mejores resultados es el dióxido de titanio ( $TiO_2$ ) [Andreozzi y *col.*, 1999; Blake D.M., 1994, 1995, 1997, 1999 y 2001; Guillard y *col.*, 1999; Hermann y *col.*, 1999a y 1999d; Prousek, 1996]. Sólo el óxido de zinc ( $ZnO$ ) es tan activo como el  $TiO_2$ , pero la gran estabilidad del  $TiO_2$  frente a la acción química y a la fotocorrosión [Pelizzetti, 1995] así como su bajo coste e inocuidad, han sido determinantes en la elección de esta sustancia como la más idónea. Además, el  $TiO_2$  tiene la ventaja adicional de poder utilizar radiación UV solar, debido a que la separación energética entre las bandas de valencia y de conducción (ver tabla 1.2.1), es tal que los fotones con

longitud de onda inferior a 387 nm tienen energía suficiente para producir la excitación fotónica del catalizador [Herrmann J.M., 1999a].

Compuesto	Energía de salto de banda (eV)	Longitud de onda correspondiente a la energía de salto de banda (nm)
BaTiO <sub>3</sub>	3.3	375
CdO	2.1	590
CdS	2.5	497
CdSe	1.7	730
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	2.2	565
GaAs	1.4	887
GaP	2.3	540
SnO <sub>2</sub>	3.9	318
SrTiO <sub>3</sub>	3.4	365
TiO <sub>2</sub>	3.2	387
WO <sub>3</sub>	2.8	443
ZnO	3.2	390
ZnS	3.7	336

*Tabla 1.2.1.* Semiconductores utilizados como catalizadores en procesos fotocatalíticos.

Otras sustancias semiconductoras (como CdS o GaP) absorben grandes fracciones del espectro solar (ver figura 1.2.8), pero desafortunadamente, se degradan durante los distintos ciclos catalíticos que ocurren en la fotocatalisis heterogénea. Finalmente, otras sustancias semiconductoras deben ser descartadas por su elevado coste. Al igual que la catálisis heterogénea clásica, el proceso fotocatalítico global puede dividirse en 5 pasos independientes (ver figura 1.2.3):

1. Transferencia del reactivo de la fase fluida a la superficie del catalizador.
2. Adsorción de al menos uno de los reactivos.
3. Reacción en la fase adsorbida bajo irradiación.

4. Desorción de los productos.
5. Transferencia de los productos a la fase fluida.

La reacción fotocatalítica ocurre en la fase adsorbida (paso 3). La única diferencia con la catálisis convencional es el modo de activación. En este caso la activación (normalmente térmica) es sustituida por una activación fotónica.

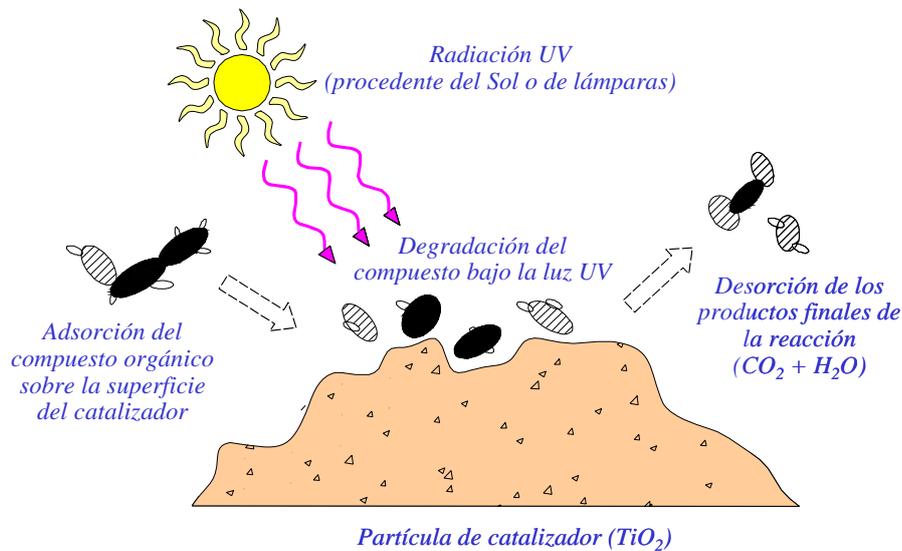


Figura 1.2.3. Proceso de fotocatalisis heterogénea sobre una superficie de dióxido de titanio.

El proceso fotocatalítico heterogéneo mediante  $\text{TiO}_2$  se muestra en la figura 1.2.4, donde la luz (que puede ser tanto solar como artificial) con fotones de energía superior al ancho de banda del semiconductor promueve el paso de un electrón desde la banda de valencia hasta la banda de conducción para acabar generando, en presencia de agua, radicales hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ). El catalizador usualmente más utilizado para este proceso es el denominado “Degussa P-25”, constituido por un 80 % de anatasa y 20 % de rutilo (estados cristalográfico y amorfo, respectivamente, del óxido de titanio), y con un área superficial de unos  $50 \text{ m}^2/\text{g}$ . Este  $\text{TiO}_2$ , entre los comercialmente disponibles, se ha mostrado como el más activo después de los ensayos realizados por multitud de autores y es reconocido como un estándar por la comunidad científica [Guillard *y col.*, 1999; Herrmann *y col.*, 1999d; Malato *y col.*, 2002b; Serpone *y col.*, 1996].

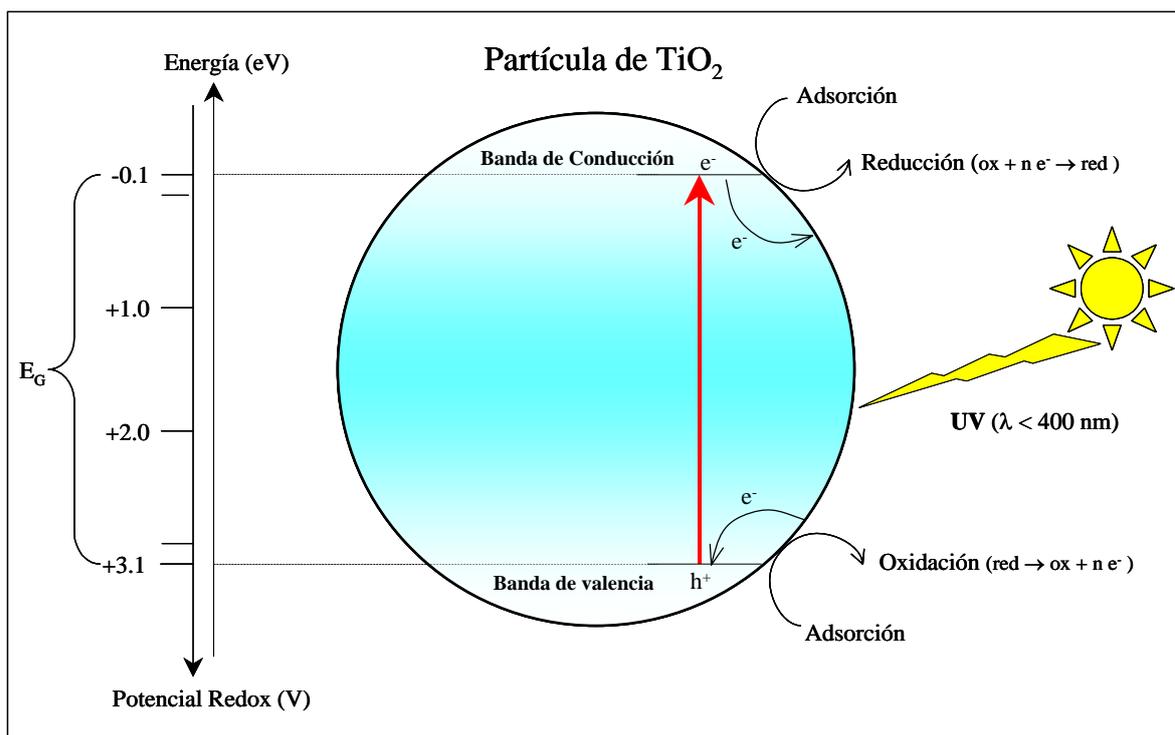
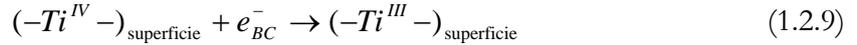
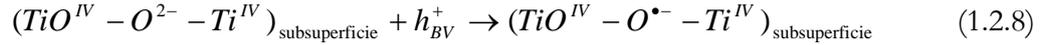


Figura 1.2.4. Representación de proceso fotocatalítico heterogéneo en una partícula de catalizador  $\text{TiO}_2$ .

La formación de los distintos radicales, así como otros procesos que pueden tener lugar durante la fotocatalisis mediante el uso de  $\text{TiO}_2$ , se pueden explicar mediante las reacciones 1.2.6 a 1.2.15 [Serpone y *col.*, 1993]. La primera consecuencia, tras la absorción de radiación (UV cercano,  $\lambda \leq 387$  nm), es la generación de pares  $e^-/h^+$  que se separan entre la banda de valencia y la de conducción (ver ecuación 1.2.6). Ambos migran rápidamente hacia la superficie [Bahnmann y *col.*, 1993], donde el  $h^+$  es atrapado por trampas de energía sub-superficial ( $\text{Ti}^{\text{IV}}\text{-O}^2\text{-Ti}^{\text{IV}}$ ) y el  $e^-$  por trampas superficiales ( $-\text{Ti}^{\text{IV}}-$ , ver ecuaciones 1.2.8 y 1.2.9), o bien por trampas externas mediante donantes de electrones ( $\text{Red}_{2,\text{ads}}$ ) y captadores de electrones ( $\text{Ox}_{1,\text{ads}}$ ), respectivamente (ver ecuaciones 1.2.10 y 1.2.11). Para impedir la recombinación de los pares generados (ver ecuación 1.2.7), se requiere que  $\text{Red}_2$  y  $\text{Ox}_1$  estén previamente adsorbidos en la superficie, antes de la excitación del catalizador por la radiación. Si el disolvente es oxidorreductoramente activo (agua) también actúa como donante yceptor de electrones, de manera que para una superficie de  $\text{TiO}_2$  hidratada e hidroxilada, los huecos atrapados generan radicales  $\bullet\text{OH}$  enlazados a la superficie (ver ecuaciones 1.2.12 y 1.2.13). No obstante, debe remarcarse que incluso los electrones y huecos atrapados pueden recombinarse

rápidamente en la superficie de la partícula (ver ecuación 1.2.7). Para prevenir este proceso el electrón puede ser capturado por oxígeno molecular pre-adsorbido formando el radical superóxido  $O_2^{\bullet-}$  (ver ecuación 1.2.14).



En fase acuosa y en presencia de oxígeno disuelto, el agua actúa como elemento reductor (donador de electrones) y las reacciones 1.2.10 y 1.2.11 se transforman, respectivamente, en las reacciones 1.2.15 y 1.2.14. Como consecuencia, el agua y oxígeno resultan elementos esenciales en el proceso, no existiendo degradación alguna en su ausencia.



Las evidencias han demostrado que los radicales  $\bullet OH$  son los principales causantes de las reacciones de oxidación de contaminantes orgánicos mediante la ruptura progresiva de sus enlaces. Se ha demostrado la descomposición total de compuestos orgánicos simples y complejos (halogenados, derivados de alcanos, alquenos, ácidos carboxílicos y sustancias aromáticas, etc) mediante fotocatalisis heterogénea. En compuestos aromáticos, por ejemplo, se produce la hidroxilación de la parte aromática y sucesivos pasos de oxidación / adición llevan a la apertura del anillo. Los aldehídos y ácidos carboxílicos resultantes son descarboxilados y finalmente producen  $CO_2$ . Hay que tener en cuenta que, al tratarse de un proceso de oxidación-reducción, se puede usar también la vía reductiva (ver figura 1.2.4). Un ejemplo puede ser la reducción mediante fotocatalisis de metales (como es el caso de  $Cr^{6+}$  a

Cr<sup>3+</sup>), de forma simultánea a la oxidación de compuestos orgánicos [Aguado *y col.*, 1991; Prairie *y col.*, 1992 y 1994].

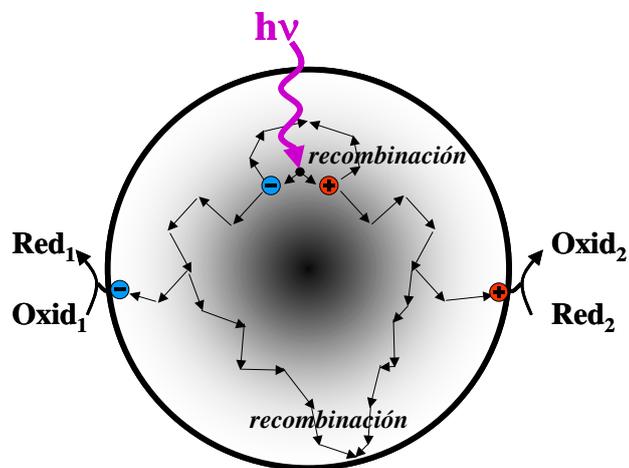
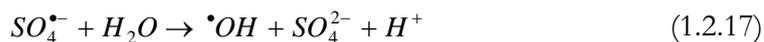
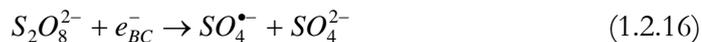


Figura 1.2.5. Generación y recombinación de un par e<sup>-</sup>/h<sup>+</sup> sobre una partícula de TiO<sub>2</sub>.

Cuando los pares e<sup>-</sup>/h<sup>+</sup> son generados en una partícula de semiconductor, ambos migran desde el interior de la partícula del semiconductor hacia la superficie. Si los pares son separados lo suficientemente rápido pueden ser usados para reacciones químicas en la superficie del fotocatalizador. No obstante, el principio que gobierna la eficiencia de la degradación fotocatalítica oxidativa es la minimización de la recombinación e<sup>-</sup>/h<sup>+</sup> (ver figura 1.2.5) y la potenciación, en la interfase semiconductor / electrolito, de la transferencia electrónica para “capturar” los electrones y/o huecos fotogenerados y hacerlos reaccionar con las especies en disolución.

Una forma de potenciar el proceso es introduciendo reactivos que actúen como “captadores de electrones”, de manera que se reduzca la posibilidad de recombinación de los huecos y electrones generados antes de que estos den lugar al proceso de oxidación-reducción. Existen, y se han ensayado, multitud de reactivos con este fin [Al-Ekabi *y col.*, 1993; Chen *y col.*, 1998; Doong *y col.*, 1997; Malato *y col.*, 1998; Mengyue *y col.*, 1995; Mills *y col.*, 1993; O’Shea *y col.*, 1997; Peñuela *y col.*, 1996; Poulouis *y col.*, 1998], pero uno de ellos resulta particularmente interesante; es el caso del persulfato, cuya adición al proceso puede mejorar significativamente el rendimiento del sistema [Grätzel *y col.*, 1990; Malato *y col.*, 2000b; Marques *y col.*, 1996; Minero *y col.*, 1996b; Pelizzetti *y col.*, 1991]. El sistema fotocatalítico “mejorado” con TiO<sub>2</sub>-persulfato está basado en las reacciones 1.2.16 y 1.2.17, además de las anteriores reacciones

1.2.6 a 1.2.15. Como puede apreciarse, este sistema presenta la ventaja de producir radicales hidroxilo adicionales, además de radicales sulfato, al mismo tiempo que aumenta el rendimiento de la reacción 1.2.15 al mantener los  $h_{\text{BV}}^+$  separados de los  $e_{\text{BC}}^-$  mediante la reacción 1.2.16.



Durante la última década, el número de referencias y patentes publicadas sobre tratamiento de sustancias tóxicas y peligrosas en agua y aire mediante fotocátalisis puede ser contado por miles [Blake D.M., 1994, 1995, 1997, 1999 y 2001]. El número de compuestos que se han ensayado mediante fotocátalisis con  $TiO_2$  también puede ser contado por centenares. Además, resulta notable que el número de publicaciones realizadas sobre este tema se haya ido incrementando de forma continua durante los últimos años (ver figura 1.2.6). Sin embargo, la gran mayoría de las experiencias realizadas hasta la fecha, lo han sido en el ámbito de laboratorio y utilizando lámparas para la generación de los fotones necesarios.

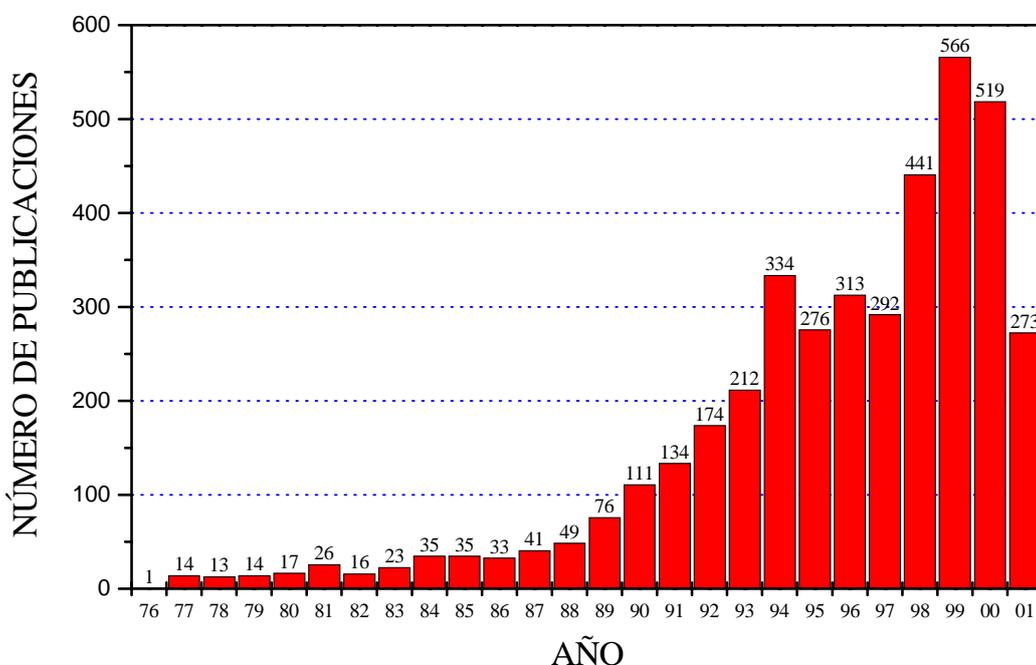
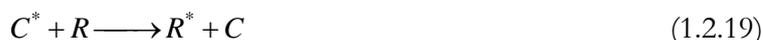


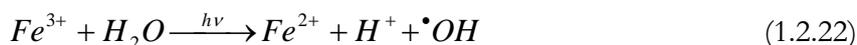
Figura 1.2.6. Referencias publicadas entre 1977 y 2001 relacionadas con el proceso de fotocátalisis mediante  $TiO_2$  (años 2000 y 2001 incompletos) [Blake D.M., 1994, 1995, 1997, 1999 y 2001].

### 1.2.3. Fotocatálisis Homogénea, Foto-Fenton.

En el caso de los procesos fotocatalíticos en fase homogénea (ver reacciones 1.2.18, 1.2.19 y 1.2.20), la interacción de especies capaces de absorber fotones (complejos de metales de transición, colorantes orgánicos, etc.), un substrato o reactivo (ejemplo: el contaminante) y luz pueden también conducir a la modificación química del substrato. La especie capaz de absorber fotones (C) es activada a través de la luz a un estado de excitación (C<sup>\*</sup>). La interacción posterior con el reactivo (R) lleva a este a un estado excitado (R<sup>\*</sup>) que acelera el proceso hasta la obtención de los productos finales (P).



El reactivo de Fenton (descrito por H. J. H. Fenton a finales del siglo XIX) [Fenton, 1884] consiste en una disolución acuosa de peróxido de hidrógeno e iones ferrosos que proporciona una importante fuente de radicales hidroxilo (reacción 1.2.21). Bajo condiciones ácidas (pH 2-4), este reactivo es un poderoso oxidante de compuestos orgánicos [Ruppert y *col.*, 1993; Safarzadeh-Amiri y *col.*, 1996; Sun y *col.*, 1993a; Venkatadri y *col.*, 1993]. Por otra parte, las velocidades de degradación de compuestos orgánicos aumentan significativamente al complementar el proceso con radiación UV/visible [Bauer y *col.*, 1999; Hoigné y *col.*, 1976; Huston y *col.*, 1999; Parra y *col.*, 2000; Pignatello, 1992; Ruppert y *col.*, 1994], llamándose entonces proceso o método foto-Fenton. En este caso, el proceso se convierte en catalítico ya que el ión Fe<sup>2+</sup> oxidado a Fe<sup>3+</sup> en la reacción de Fenton (ver reacción 1.2.21) se reduce de nuevo a Fe<sup>2+</sup> por acción de la radiación (reacción 1.2.22), con lo que se tiene ya un proceso fotocatalítico. Ambas reacciones generan radicales hidroxilo.

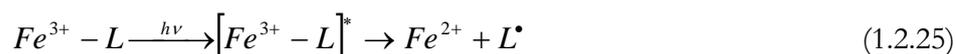


El hecho de que esta reacción genera radicales hidroxilos ha sido probado químicamente [Lunak y *col.*, 1994]. Se observó también que el ión férrico acelera la foto-

descomposición del peróxido de hidrógeno ya que la fotólisis directa de soluciones ácidas de  $H_2O_2$  da radicales  $\bullet OH$  como fotoproducto primario (ver reacción 1.2.23) junto con pequeñas cantidades de radicales  $\bullet HOO$  (ver reacción 1.2.24).



Por otro lado, las reacciones (1.2.21) y (1.2.22) describen los procesos reales de una manera muy simple. Una descripción más detallada involucra a varios complejos de hierro (los posibles ligandos L son  $OH^-$ ,  $H_2O$ ,  $HO_2^-$ ,  $HSO_3^-/SO_3^{2-}$ ,  $Cl^-$ , carboxilatos...) que, cuando están excitadas, exhiben transiciones de transferencia de carga ligando-metal, como se describe en la reacción (1.2.25), alcanzando la producción de los deseados radicales.



La principal ventaja del proceso Foto-Fenton con respecto al  $TiO_2$  es su mayor sensibilidad a la luz de hasta una longitud de onda de 580 nm, lo que podría suponer más aprovechamiento de la energía solar que con el proceso mediante  $TiO_2$  (ver figura 1.2.8).

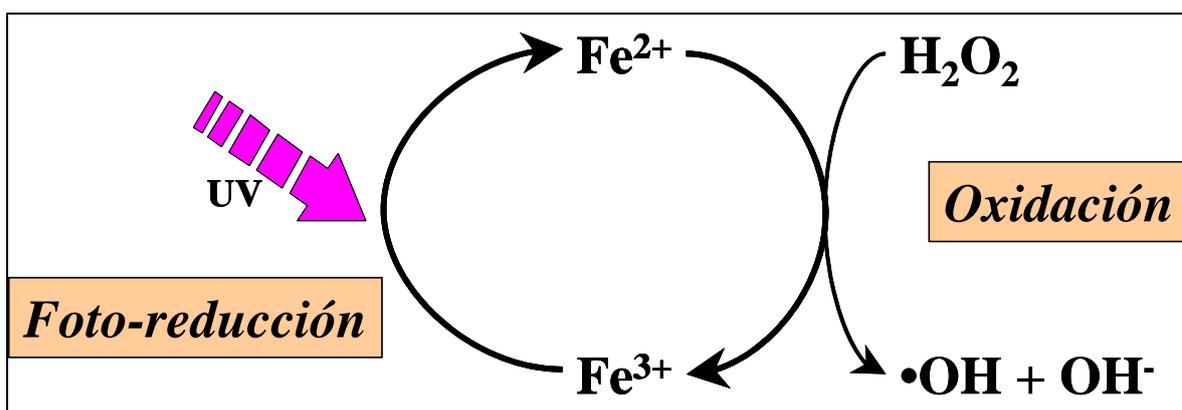


Figura 1.2.7. Esquema del ciclo catalítico de la reacción de Foto-Fenton.

Otra ventaja del proceso de Foto-Fenton es que la profundidad de penetración de la luz es grande. El catalizador está en disolución permitiendo la penetración de la luz en función de la concentración del hierro añadido. En el caso del  $TiO_2$ , al ser un sólido en suspensión, la

transferencia de luz en el seno de la reacción es muy compleja [Alfano *y col.*, 2002; Arancibia-Bulnes *y col.*, 2002; Bahnemann *y col.*, 1991a y 1991b; Curcó *y col.*, 1996 y 2002; Giménez *y col.*, 1999; ] y a menudo se convierte en limitante al diseñar reactores fotocatalíticos [Alfano *y col.*, 2000; Cassano, 2000; Dillert *y col.*, 1999; Fernández-Ibáñez *y col.*, 1999]. En el caso de foto-Fenton, los reactores se pueden diseñar con más libertad, ajustándose después la concentración de hierro a aquella que permite una mayor absorción de la luz, en función del diámetro interno del fotorreactor. Es necesario remarcar que la concentración correcta de  $\text{TiO}_2$ , para un fotorreactor determinado, no sólo es función de su diámetro sino del pH (que afecta fundamentalmente a la aglomeración de las partículas [Fernández-Ibáñez *y col.*, 1999, 2000a y 2000b]), de la fuerza iónica del agua (también relacionada con la aglomeración de partículas), de la velocidad de agitación del reactor, de la intensidad de iluminación (aspecto especialmente complicado en el caso de fotorreactores solares, por la variación de ésta), etc. Todo esto ha hecho que en muchos de los trabajos publicados, uno de los parámetros a optimizar en cada caso haya sido la concentración del catalizador [Cunningham *y col.*, 1999; Herrmann *y col.*, 1999a; Mills *y col.*, 1997; Pozzo *y col.*, 1997; Serpone *y col.*, 1995]. Sin embargo, en el caso de foto-Fenton, todo esto es mucho más sencillo, pudiéndose controlar la absorción de luz mediante el ajuste correcto de la concentración de hierro. Además, como la solución es homogénea, el contacto entre el contaminante y el agente oxidante es mejor [Bauer *y col.*, 1999]. Las principales desventajas son el bajo pH requerido (menor que 3, para evitar la precipitación de hidróxidos de hierro) y la necesidad de separar el hierro después de concluida la reacción.

Ha sido demostrado que mediante foto-Fenton se pueden destruir fenoles, fenoles clorados y plaguicidas en medio acuoso, así como reducir la demanda química de oxígeno (DQO) en diferentes aguas residuales. Este método se ha ensayado satisfactoriamente para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con contaminantes fenólicos [Barbeni *y col.*, 1987; Bauer y Fallmann, 1997; Brillas *y col.*, 1998; Engwall *y col.*, 1999; Kuo *y col.*, 1998; Krutzler *y col.*, 1999], colorantes [Bandara *y col.*, 1996; Liao *y col.*, 1999], ácidos carboxílicos [Centi *y col.*, 2000], compuestos aromáticos nitrogenados [Dillert *y col.*, 1999b; Kiwi *y col.*, 1994; Maleczky *y col.*, 1998; Wang *y col.*, 1999] y para la degradación de plaguicidas disueltos en agua [Andreotti *y col.*, 2000; Balmer *y col.*, 1999; Doong *y col.*, 1998; Huston *y col.*, 1999; Pignatello *y col.*, 1993 y 1995; Sun *y col.*, 1993b]. Especialmente interesantes han resultado para esta Tesis los trabajos llevados a cabo en una de las plantas piloto de la Plataforma Solar de Almería [Bauer *y col.*, 1999; Blanco *y col.*, 1999b; Fallmann *y col.*, 1999a y 1999b] en los que se ha estudiado el

proceso de degradación mediante radiación solar de mezclas de formulaciones comerciales de pesticidas.

En general, la degradación de la mayoría de contaminantes es muy similar con ambos procesos fotocatalíticos ( $\text{TiO}_2$  y Foto-Fenton), variando solamente el tiempo necesario de exposición a la iluminación en función de la distinta resistencia de cada sustancia a la degradación. En esta tesis doctoral se hace una valoración y comparación continua entre ambos tratamientos, que se describe con detalles en los capítulos de discusión y resultados.

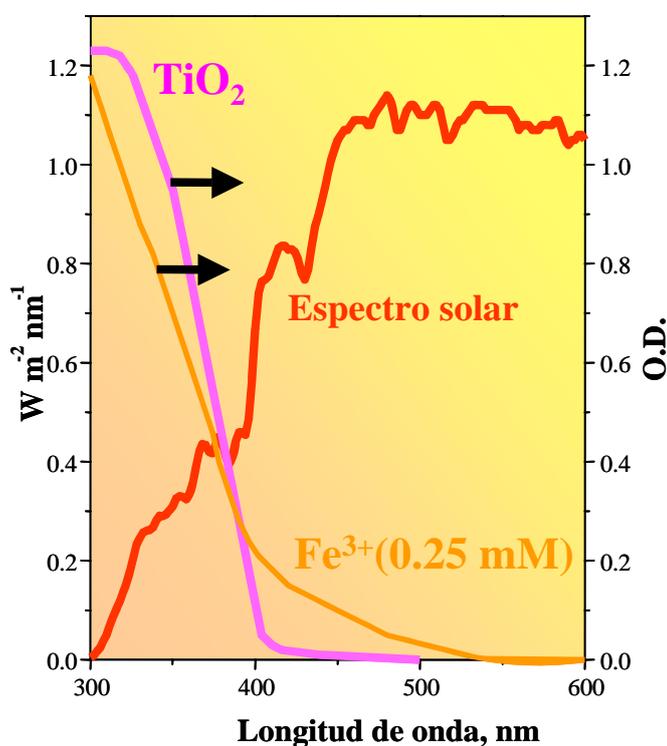


Figura 1.2.8. Espectro de la irradiancia solar comparado con los espectros de absorción de una solución de  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  (0.25 mM Fe) y una suspensión de  $\text{TiO}_2$  (50 mg/L). O.D.: densidad óptica de muestras de 1 cm de espesor.

### 1.3. TECNOLOGÍA PARA FOTOCATÁLISIS SOLAR

#### 1.3.1. Radiación Solar

Debido a que una de las claves de todo proceso fotocatalítico, tanto heterogéneo como homogéneo, es la existencia de una fuente de radiación ultravioleta, es de especial interés tratar el tema de la radiación solar, tanto de forma general como en su componente UV, que es la que más nos interesa. A partir del conocimiento de la naturaleza y las características de la radiación solar se pueden extraer importantes conclusiones de utilidad para la mejor comprensión y valoración de los procesos fotocatalíticos.

Toda la energía que proviene del Sol, del que la Tierra recibe una potencia de  $1.7 \times 10^{14}$  kW, supone  $1.5 \times 10^{18}$  kWh cada año (ver figura 1.3.1). Aproximadamente 28000 veces la consumida en el mundo en este mismo periodo. La radiación solar que alcanza la superficie terrestre, sin ser absorbida o desviada, se denomina *radiación directa*, la que alcanza la superficie de la Tierra pero que ha sido desviada es la *radiación difusa* y la suma de ambas es la *radiación global*. En general la componente directa de la radiación global es mínima en días nublados y la componente difusa es máxima, produciéndose la situación contraria en días claros.

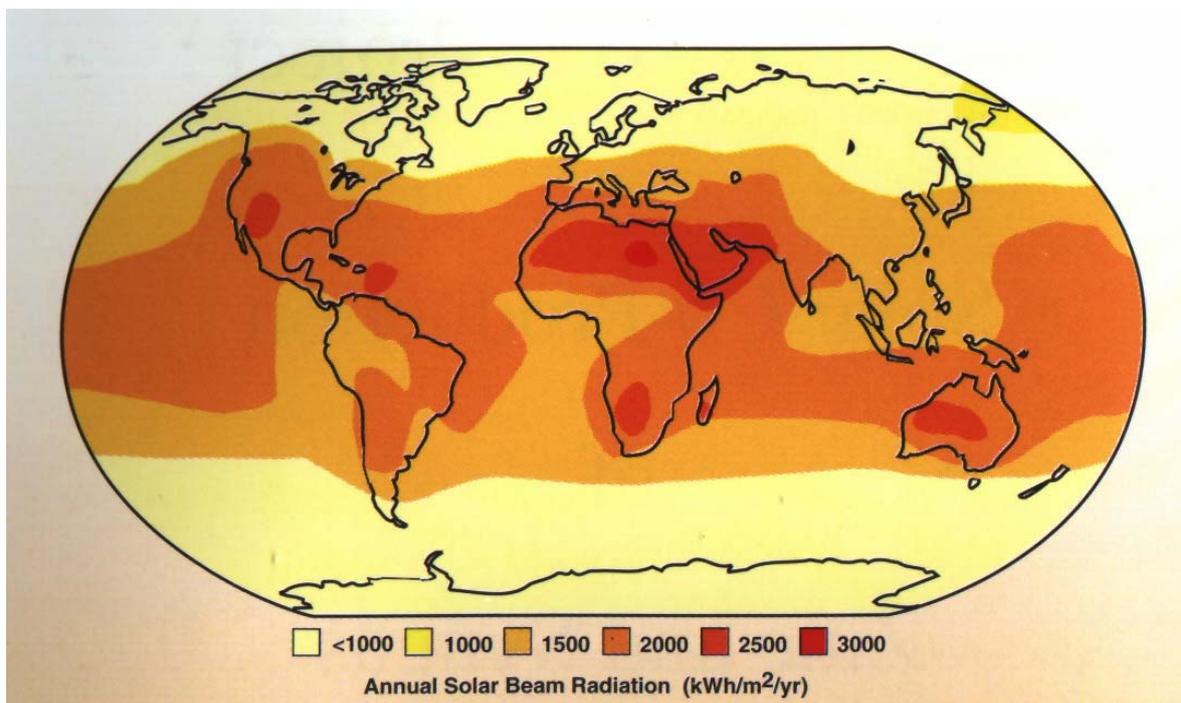


Figura 1.3.1. Distribución mundial de la Irradiación Solar, kWh m<sup>-2</sup> año<sup>-1</sup>.

La figura 1.3.2 muestra el espectro estándar de la radiación solar directa que incide en la superficie terrestre en un día claro. Se aprecia claramente la escasa proporción del espectro solar que puede utilizarse en los procesos de fotocatalisis pero, como fuente de energía barata y abundante, aún se considera viable e interesante su utilización [Wilskins F.W. *y col.*, 1994]. La radiación ultravioleta solar es, por tanto, una parte muy pequeña del espectro solar. Las medidas realizadas demuestran que la parte UV del espectro solar representa entre un 3.5 % y un 8 % del total [Riordan C.J. *y col.*, 1990], aunque esta relación suele variar para un emplazamiento determinado y según se trate de días nublados o claros. El porcentaje de radiación UV global (directa + difusa), con respecto a la global total, suele aumentar al disminuir la transmisividad de la atmósfera, debido esto fundamentalmente a nubes, pero también a aerosoles y polvo [Mehos M.S. *y col.*, 1992]. De hecho, la relación porcentual media entre la radiación UV y total en días nublados es hasta dos puntos mayor que los valores de días claros, para cada emplazamiento determinado. Esto puede suponer que el proceso de fotocatalisis tenga un rendimiento aceptable incluso con la presencia de nubes.

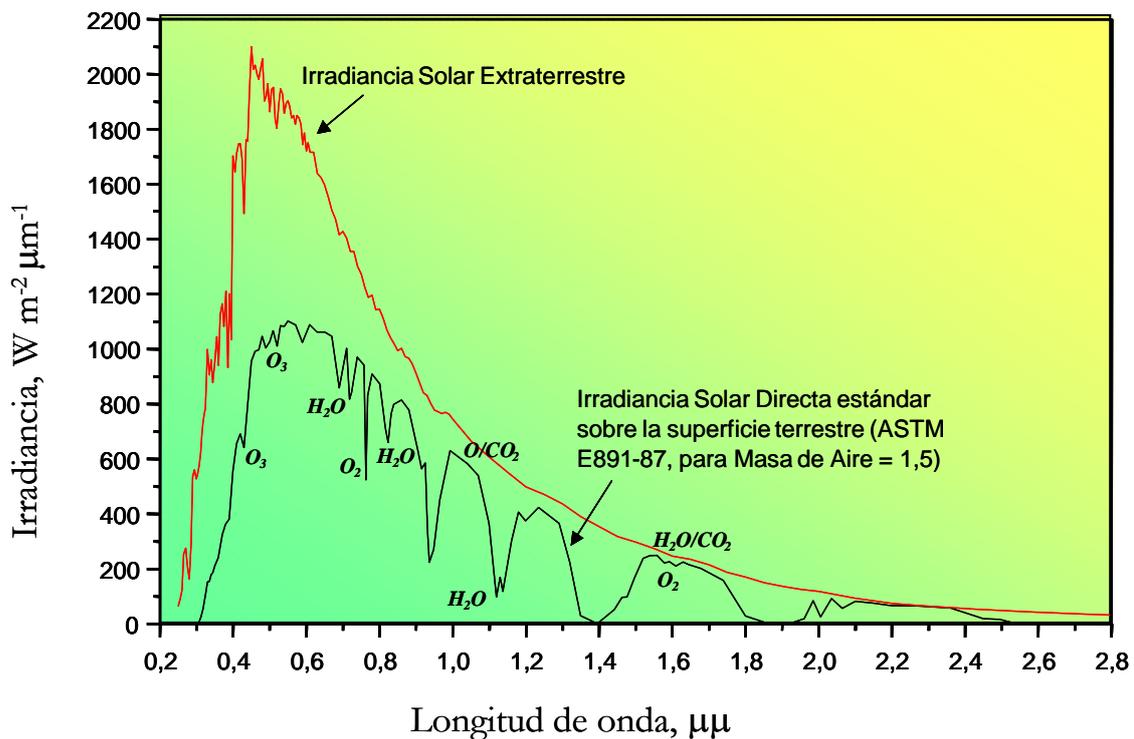


Figura 1.3.2. Espectros terrestre [ASTM, 1987a y 1987b] y extraterrestre [Thekaekara, 1973] de la irradiación solar directa. La absorción de la radiación por parte de diversas sustancias de la atmósfera reduce la radiación sobre la superficie terrestre en determinadas longitudes de onda.

La radiación UV puede dividirse en diferentes intervalos espectrales según el criterio utilizado. Desde un punto de vista astrofísico, la radiación solar UV puede ser: cercana (380 a 300 nm), media (300 a 200 nm), lejana (200 a 100 nm) y extrema (100 a 40 nm). Desde un punto de vista fotobiológico, la radiación UV se divide en tipo A (rango de 400 a 315 nm), tipo B (rango de 315 a 290 nm) y tipo C (radiación de longitud de onda menor de 290 nm).

Debido a la absorción que efectúa la capa de ozono conjuntamente con otros elementos como el O, N, O<sub>2</sub> y N<sub>2</sub>, cuando la radiación solar alcanza la estratosfera, la atmósfera terrestre absorbe toda la radiación por debajo de 200 nm. Posteriormente la atmósfera absorbe fuertemente radiación entre 200 y 300 nm y mucho más débilmente entre 300 y 335 nm. Debido a ello, la radiación UV existente sobre la superficie terrestre es fundamentalmente de tipo A con una componente muy pequeña del tipo B y nada del C.

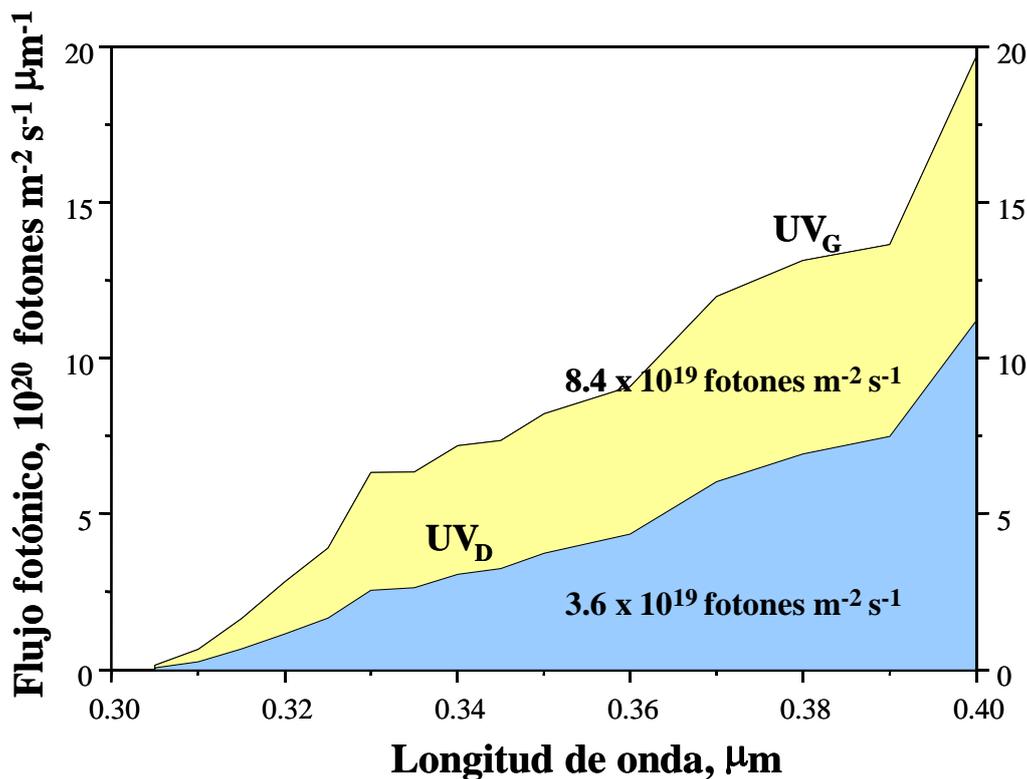


Figura 1.3.3. Espectro UV en la superficie terrestre (estándar ASTM).

Del total de la energía asociada a la radiación solar, considerando el espectro estándar normalizado a 1000 W/m<sup>2</sup>, el 7,82 % de dicha radiación es debido a radiación UV (longitud de onda ≤ 400 nm); el 47,33 % corresponde a la luz visible, y el 44,85 % restante es debido a la

radiación infrarroja (longitud de onda  $\geq 700$  nm) [Hulstrom y *col.*, 1985]. En la Figura 1.3.2 se muestra dicho espectro estándar de la radiación solar directa sobre la superficie terrestre (a nivel del mar y en un día claro), conjuntamente con el espectro de la radiación solar existente fuera de la atmósfera terrestre, cuya forma viene a constituir una envolvente del anterior. La absorción que tiene lugar a determinadas longitudes de onda modifica dicho espectro extraterrestre.

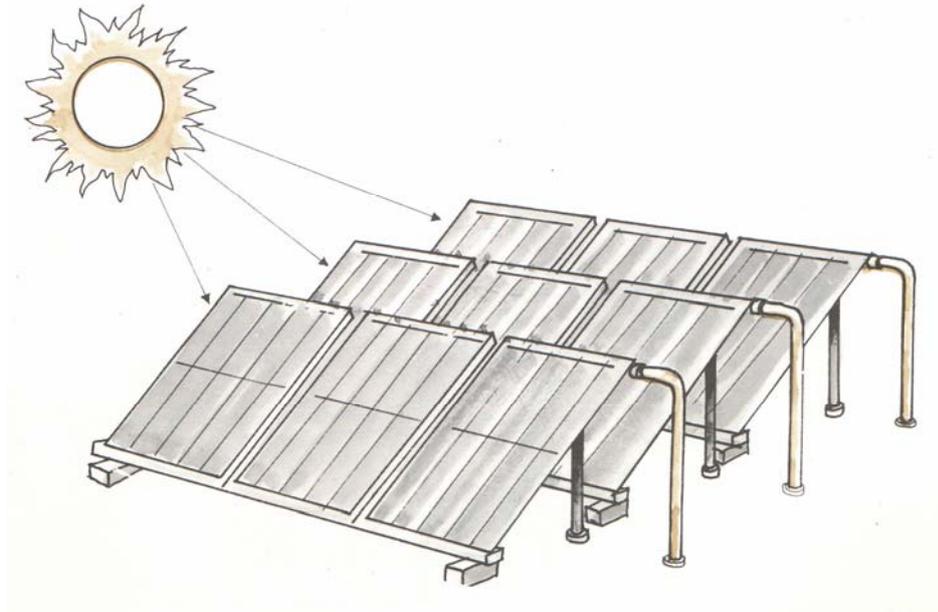
Los dos espectros de la figura 1.3.3 corresponden al mismo espectro representado en la figura 1.3.3 para la franja UV del espectro solar [ASTM, 1987a y b]. El menor de los espectros corresponde a la UV directa y su valor alcanza los  $22 \text{ W m}^{-2}$  entre 300 y 400 nm; el mayor corresponde a la UV global y su valor es de  $46 \text{ W m}^{-2}$ . Estos dos valores dan una idea de la energía UV procedente del Sol y disponible para reacciones fotocatalíticas con  $\text{TiO}_2$  y Foto-Fenton, que como se puede apreciar en la figura 1.2.8, su actividad únicamente permite aprovechar una parte de este espectro UV. No obstante, los valores descritos de radiación UV varían de un emplazamiento a otro y, por supuesto, a lo largo del día y entre diferentes épocas del año, por lo que será necesario conocer estos datos en cada lugar y en tiempo real. Las correspondientes medidas radiométricas utilizadas en este trabajo de investigación han sido recogidas en el mismo lugar y al mismo tiempo donde y cuando se han realizado los ensayos fotocatalíticos. Esto se describe con detalle en la sección 2.1.5 de esta Tesis Doctoral.

### **1.3.2. Tecnología de Colectores Solares.**

Tradicionalmente se han clasificado los diferentes sistemas de aprovechamiento de la radiación solar, o colectores solares, dependiendo del grado de concentración alcanzado con ellos. La *relación de concentración* (RC) puede ser definida como la relación entre el área de superficie de captación de radiación (o área de apertura) y el área del reactor (área del componente que recibe la radiación solar concentrada, esté completamente iluminada o no). Esta RC influye directamente en la temperatura de trabajo del sistema y, de acuerdo con este criterio, los colectores se clasifican en tres tipos [Ciemat, 2001a y 2001b]:

- Sin concentración o baja temperatura, hasta  $150^\circ \text{ C}$ .
- Concentración media o media temperatura, desde  $150^\circ \text{ C}$  hasta  $400^\circ \text{ C}$ .
- Alta concentración o temperatura, por encima de  $400^\circ \text{ C}$ .

Esta clasificación tradicional considera únicamente el rendimiento térmico de los colectores solares. Sin embargo, en aplicaciones fotocatalíticas, el factor térmico es irrelevante (incluso un aumento de temperatura puede desfavorecer la adsorción de los reactivos en el catalizador ya que es un proceso exotérmico espontáneo) y lo realmente importante es la cantidad de radiación de longitud de onda deseada que se recoge.



*Figura 1.3.6.* Colectores solares sin concentración para aplicaciones domésticas de agua caliente.

Los colectores solares sin concentración (figura 1.3.6) se caracterizan por ser estáticos y no poseer ningún tipo de seguimiento solar. Usualmente consisten en una placa plana, en muchos casos situada hacia el Sol mediante una inclinación determinada, dependiente del emplazamiento geográfico dónde se sitúe. Sus principales ventajas son su simplicidad y su bajo coste, ya que la radiación solar que captan es suficiente para muchas aplicaciones. Un ejemplo es la tecnología doméstica de agua caliente.

Los colectores solares de concentración media concentran la luz solar entre 5 y 50 veces. En este grupo se encuentran los colectores cilindro-parabólicos (PTC) y los colectores holográficos (formados por lentes de Fresnel). Los primeros tienen una superficie reflectante de forma parabólica (figura 1.3.7) que concentra la radiación sobre un receptor tubular situado en el foco de la parábola, pueden ser de seguimiento en un eje, bien acimutal (movimiento este-oeste alrededor de un eje situado norte-sur) o de altura (movimiento norte-sur alrededor

de un eje orientado este-oeste), o de seguimiento en dos ejes (acimutal + altura). Los colectores holográficos consisten en superficies refractantes (parecidas a lentes convexas) que desvían la radiación, al mismo tiempo que la concentran en un foco [Romero *y col.*, 2001].



*Figura 1.3.7.* Colector solar de media concentración instalado en la Plataforma Solar de Almería.

Los colectores de alta concentración suelen tener un foco puntual en vez de lineal y se basan en un paraboloide de revolución con seguimiento solar (figura 1.3.8). Concentran la radiación solar entre 100 y 10000 veces y requieren elementos ópticos de precisión. En esta categoría están incluidos los discos parabólicos y los hornos solares [Martínez-Plaza, 2001].

Hasta ahora, los colectores solares utilizados para tratamiento de aguas contaminadas mediante fotocátalisis corresponden a las dos primeras categorías [Alfano *y col.*, 2000; Blanco *y col.*, 2001; Dillert *y col.*, 1999a; Goswami *y col.*, 1997; Malato *y col.*, 2002b; Mukherje *y col.*, 1999; Yi-Zhong *y col.*, 1998 ].

Los materiales específicos necesarios para aplicaciones fotocatalíticas tienen mucho en común con los usados para aplicaciones térmicas. Como resultado, los sistemas fotocatalíticos y reactores han seguido los diseños de los colectores térmicos, como son los colectores

cilindro-parabólicos (PTC) y los colectores sin concentración [Anderson *y col.*, 1991; Minero *y col.*, 1993; Pacheco *y col.*, 1993; Turchi *y col.*, 1994].

Las primeras plantas piloto con reactores para descontaminación solar fueron desarrollados al final de la década de los años 80 por los Laboratorios Nacionales Sandia en EE.UU. donde PTCs para aplicaciones térmicas fueron modificados simplemente reemplazando el tubo receptor por un tubo de Pyrex a lo largo del cual fluía el agua contaminada [Anderson *y col.*, 1991]. Desde entonces, diferentes conceptos con una amplia variedad de diseños han sido propuestos y desarrollados en todo el mundo, en un continuo esfuerzo por aumentar el rendimiento y reducir los costes de los sistemas de descontaminación [Malato *y col.*, 2002b].



*Figura 1.3.8.* Colector solar de alta concentración.

Una de las cuestiones más importantes en el diseño de reactores es la decisión entre sistemas de colectores con o sin concentración [Feitz *y col.*, 2000; Funken *y col.*, 2001; Malato *y col.*, 1997; Pacheco *y col.*, 1993; Wyness *y col.*, 1994; Well *y col.*, 1997; Yi-Zhong *y col.*, 1998]. Los sistemas de concentración tienen la ventaja de tener un área de reactor-tubos menor, lo que puede significar un circuito menor y con mayor facilidad para confinar, controlar y manipular el agua a tratar. La alternativa de utilizar reactores con una alta calidad en la transmisividad de

la radiación UV y mecanismos de soporte o fijación del catalizador también parecen lógicos desde el punto de vista económico y de la ingeniería, si son utilizados los sistemas de colectores con concentración.

#### Colectores con concentración, Cilindro-parabólicos, PTCs:

Los primeros colectores PTCs (Parabolic Trough Collectors) para aplicaciones fotocatalíticas fueron desarrollados en los Laboratorios Nacionales Sandia (EE.UU., 1989) [Pacheco *y col.*, 1990] y los segundos en la Plataforma Solar de Almería (España, 1990) [Blanco *y col.*, 1990a]. Ambos se operaron formando parte de grandes plantas piloto (cientos de metros cuadrados de superficie colectora) y pueden considerarse las primeras etapas en la industrialización de los procesos fotocatalíticos.



*Figura 1.3.9.* Colector cilindro-parabólico con seguimiento en dos ejes instalado en la PSA.

Los PTCs con seguimiento en dos ejes para aplicaciones de fotocatalisis solar han demostrado ser muy adecuados para el conocimiento exacto de la radiación que llega en cada momento al fotorreactor [Malato, 1999b; Minero *y col.*, 1996a; Curcó *y col.*, 1996a] y además permiten evaluar correctamente todos los demás parámetros relacionados con la fotocatalisis solar [Malato *y col.*, 1996 y 1998; Minero *y col.*, 1993 y 1996b]. Esta exactitud, ha permitido la

comparación con trabajos realizados con fotorreactores de laboratorio, donde el cálculo de la radiación incidente es mucho más sencillo, al trabajar con fuentes de radiación constante, y con sistemas más pequeños [Curcó *y col.*, 1996b; Giménez *y col.*, 1992, 1997 y 1999].

No obstante, los colectores con concentración tienen tres importantes desventajas frente a los sistemas sin concentración. La primera es que no pueden concentrar (y, por tanto, aprovechar) la radiación solar difusa. Como ya se ha reseñado, la descontaminación fotocatalítica solar utiliza la fracción UV del espectro solar, y ya que esta radiación no es absorbida por el vapor de agua, un 50 % o incluso más puede ser radiación difusa [Romero *y col.*, 1999]. Como los colectores solares sin concentración pueden aprovechar ambas componentes de la radiación UV (directa y difusa) su eficiencia puede llegar a ser más alta. La segunda desventaja es su complejidad, coste y sus necesidades de mantenimiento. La tercera desventaja se fundamenta en las experiencias llevadas a cabo por diferentes grupos de investigación [Al-Sayyed *y col.*, 1991; Blake *y col.*, 1991; Egerton *y col.*, 1979; Okamoto *y col.*, 1985; Ollis, 1991b; Trillas *y col.*, 1994]. Durante estas experiencias, han detectado como la relación entre la velocidad de las reacciones fotocatalíticas y la intensidad de irradiación incidente en los fotorreactores varía al aumentar esta última.

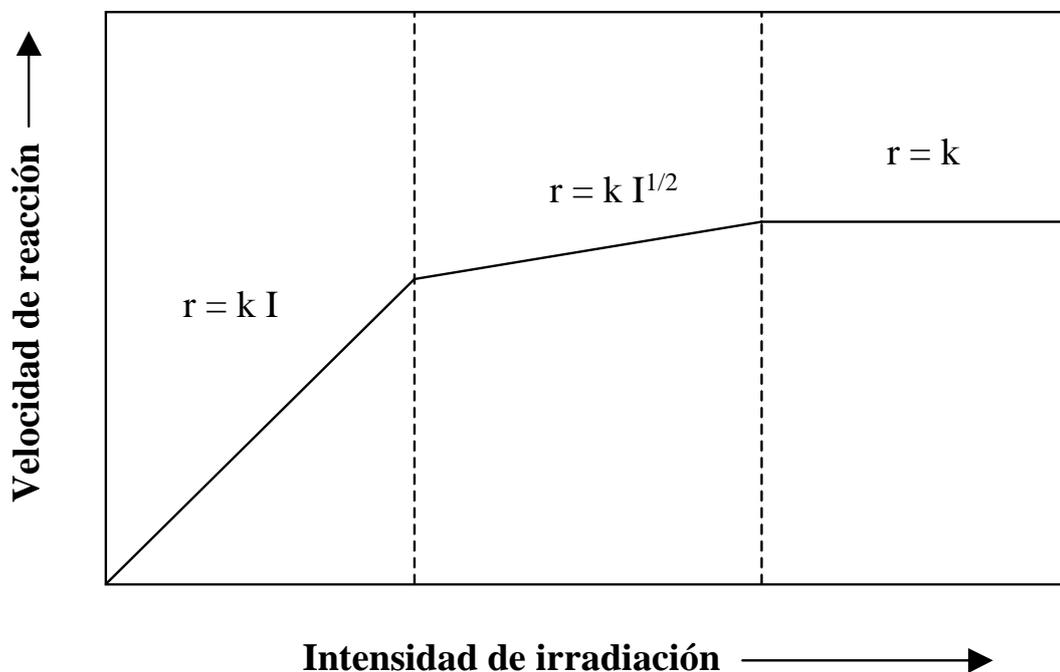


Figura 1.3.10. Relación entre la velocidad de reacción fotocatalítica y la intensidad de irradiación recibida en el fotorreactor.

Esta transición no se produce a una intensidad determinada, ya que diferentes autores obtienen resultados distintos, puesto que las condiciones experimentales influyen de manera importante [Malato *y col.*, 1999b]. No obstante, la forma que adquieren los gráficos, cuando se representa la velocidad de reacción en función de la intensidad de reacción incidente, es muy parecida en todos los casos a la que aparece en la figura 1.3.10. Varios autores [Egerton *y col.*, 1979, Kormann *y col.*, 1991; Turchi *y col.*, 1990] responsabilizan de la transición  $r = k (I^{1.0})$  a  $r = k (I^{0.5})$  al exceso de especies fotogeneradas ( $e^-$ ,  $h^+$  y  $\bullet OH$ ). A intensidades de irradiación aún mayores se produce la transición de  $r = k (I^{0.5})$  a  $r = k (I^0)$ . En este momento, la reacción fotocatalítica abandona su dependencia con la intensidad de irradiación recibida, para depender únicamente de la transferencia de masa en el seno de la reacción, estabilizándose la velocidad de reacción por mucho que aumente la intensidad de irradiación. Este efecto puede deberse a diferentes causas, como pueden ser, las limitaciones que tiene el catalizador iluminado en cuanto a la producción de huecos ( $h^+$ ), la falta de concentración suficiente de captadores de electrones, o de moléculas orgánicas en las proximidades de la superficie del catalizador y/o excesiva cantidad de productos de reacción ocupando centros activos del catalizador. La consecuencia de estas desventajas es la tendencia actual a escala mundial del uso de colectores sin concentración para las aplicaciones de descontaminación fotocatalítica de aguas.

#### Colectores solares sin concentración:

Los colectores solares sin concentración son, en principio, más baratos que los PTCs y no tienen partes móviles o mecanismos de seguimiento solar. No concentran la radiación de manera que su eficiencia no se ve reducida por factores asociados a la reflexión, concentración y seguimiento solar. Los costes de manufactura son más baratos porque sus componentes son más simples, lo que significa un fácil y reducido mantenimiento. Además, los colectores sin concentración están soportados por estructuras más fáciles y baratas de instalar y la superficie requerida para su instalación es más reducida, porque al ser estáticos, las sombras que proyectan son menores que las que proyectan los colectores con seguimiento solar para la misma superficie de colector [Blanco, 2002].

Como consecuencia de un intenso esfuerzo, en los últimos años, en el diseño de colectores estáticos pequeños, un amplio número de reactores solares sin concentración han sido desarrollados para aplicaciones fotocatalíticas [Bockelman *y col.*, 1995; Cassano *y col.*, 2000;

Dillert *y col.*, 1999; Giménez *y col.*, 1999; Goslich *y col.*, 1997a; Pacheco *y col.*, 1993]. En la figura 1.3.11 se muestra un ejemplo de un colector sin concentración ensayado en la PSA, España.



*Figura 1.3.11.* Instalación experimental de un colector de placa plana utilizado por el ISFH (Institut für Solarenergieforschung GmbH, Hannover, Alemania) en las instalaciones de la PSA.

### **1.3.3. Colectores cilindro-parabólicos compuestos (CPCs).**

Los colectores CPCs son una interesante mezcla entre los PTCs y los sistemas sin concentración y suponen una de las mejores opciones para las aplicaciones fotocatalíticas solares. Proporcionan las mejores ópticas para los sistemas de baja concentración. Son colectores estáticos con una superficie reflectante enfocada hacia un fotorreactor cilíndrico (figura 1.3.12) y pueden ser diseñados con un factor de concentración 1, consiguiendo las ventajas de los PTCs y las de los colectores sin concentración [Curcó *y col.*, 1996a; Giménez *y col.*, 1999; Pacheco *y col.*, 1993] ya que estos colectores estáticos pueden capturar tanto la radiación UV directa como difusa [Malato *y col.*, 1997; Goswami *y col.*, 1997; Turchi y Mehos, 1994; Yi-zhong *y col.*, 1998]. Lo bueno de los sistemas solares CPCs es su simplicidad intrínseca, además de su buena relación coste - efectividad, su fácil manejo y el bajo capital de inversión que requieren [Malato *y col.*, 2002b].

Gracias al diseño de su superficie reflectante, casi toda la radiación que llega al área de apertura del colector (no sólo la directa, también la difusa) puede ser recogida y estar disponible para el proceso fotocatalítico en el reactor. La radiación UV reflejada por el CPC es distribuida alrededor de la parte trasera del tubo fotorreactor y como resultado la mayoría de la circunferencia del tubo fotorreactor es iluminada. Debido a la relación entre la superficie del tubo fotorreactor y del colector, ningún punto del tubo recibe mucho más de 1 Sol de radiación UV ( $RC = 1$ ). Como resultado, la radiación UV incidente en el reactor es muy similar a la de los fotorreactores basados en colectores de placa plana. La eficiencia máxima anual se consigue con un ángulo de inclinación del colector sobre la horizontal semejante a la latitud del lugar de emplazamiento [Blanco, 2002].

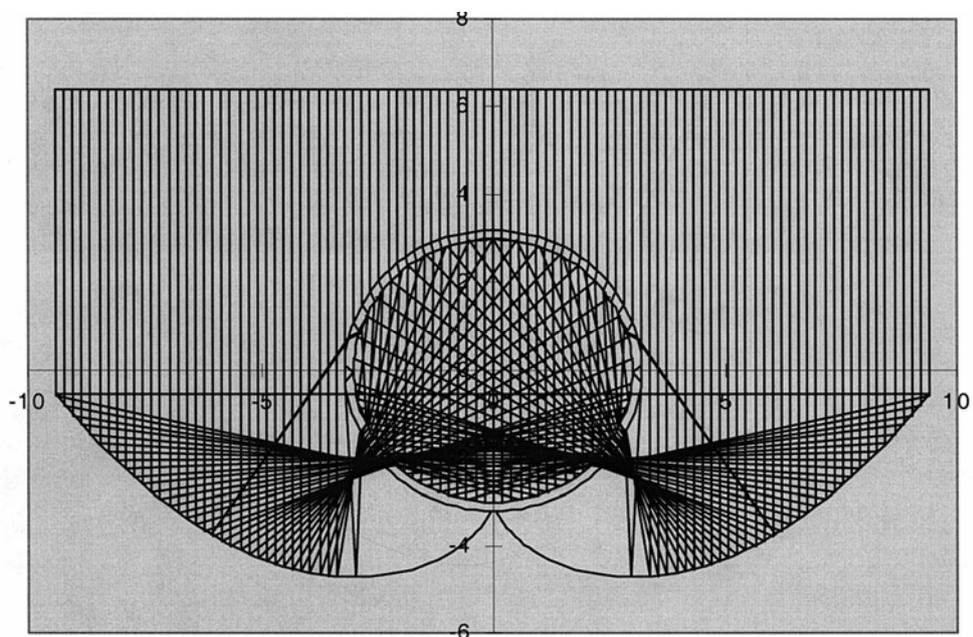


Figura 1.3.12. Radiación solar reflejada en un colector CPC [Ajona y Vidal, 2000].

Además, como en un PTC, el agua es más fácilmente conducida y distribuida que en los diseños de los colectores sin concentración. A diferencia de las instalaciones de PTCs, no se necesitan equipos de refrigeración (que aumentan el coste de la instalación) porque no existe un sobrecalentamiento del agua. Es importante resaltar que al tratarse de colectores sin concentración la relación entre la velocidad de la reacción y la intensidad de irradiación incidente en el fotorreactor no varía al aumentar esta última, como se ha explicado anteriormente para los colectores con concentración. Todos estos factores contribuyen al excelente comportamiento de los colectores CPCs en las aplicaciones fotocatalíticas solares

[Ajona y Vidal, 2000; Blanco *y col.*, 1999b y 2000; Funken *y col.*, 2001; Malato *y col.*, 1997, 2002a y 2002b; Richter *y col.*, 1997; Vidal *y col.*, 1999].

La mayoría de los componentes de un sistema fotoquímico solar están hechos de materiales estándares, sin requerimientos especiales, excepto para el reactor, la superficie reflectiva y el catalizador/sensibilizador, ya que casi todos los procesos fotoquímicos solares requieren un catalizador o un sensibilizador [Wilkins *y col.*, 1994; Goswami *y col.*, 1997]. Los reactores fotocatalíticos deben contener el fluido de trabajo, incluyendo al catalizador, y deben transmitir la luz UV solar eficientemente, además deben permitir fluir el líquido de trabajo con la mínima presión a través del sistema. Deben también tener buena transferencia de masa desde la corriente de fluido a la superficie iluminada del catalizador. Se debe asegurar una adecuada distribución del flujo dentro del reactor, ya que una distribución no uniforme conlleva unos tiempos de residencia no uniformes dentro del reactor.



*Figura 1.3.13.* Detalle de un colector CPC donde se observa la configuración de los tubos reactores.

La elección de materiales transparentes a la luz UV y resistentes a su efecto destructivo es limitada. Las temperaturas dentro del fotorreactor pueden alcanzar fácilmente los 40-50 °C. Por lo tanto, los fotorreactores deben poder soportar temperaturas de verano de 70-80 °C. Además, el material del reactor debe ser inerte y resistente a pH altos y bajos. El cuarzo tiene

una excelente transmisión UV, y es resistente a la temperatura y a los reactivos, pero su alto coste lo hace completamente inviable. Los fluoropolímeros son una buena elección ya que tienen una buena transmitancia UV y es químicamente inerte [Malato *y col.*, 1996]. Una de sus mayores desventajas es que, para alcanzar una resistencia razonable a la presión, el grosor de la pared de un tubo de fluoropolímero debe incrementarse, lo cual hace disminuir su transmitancia UV.

El vidrio es la elección lógica para los fotorreactores. El vidrio borosilicatado de bajo contenido en hierro tiene buenas propiedades transmisivas del espectro solar con un límite inferior a unos 285 nm, y por tanto, parece ser el más adecuado [Curcó *y col.*, 1996a; Marqués *y col.*, 1996; Vidal *y col.*, 1999]. Dos efectos indeseables reducen la eficacia del reactor de vidrio para los propósitos de detoxificación solar [Blake *y col.*, 1997]: (i) la absorción en el rango UV solar entre 300 y 400 nm; (ii) un decrecimiento adicional de la transmisividad UV durante la operación debido al impacto perjudicial de la radiación solar (solarización UV) [Blanco, 2002]. Ambos efectos son causados por cambios de valencia de los cationes de metales de transición. El efecto de los iones de hierro en el vidrio es especialmente dañino, ya que los iones  $\text{Fe}^{2+}$  son oxidados a  $\text{Fe}^{3+}$  por fotones de longitudes de onda menores de 400 nm. Además,  $\text{Fe}^{3+}$  absorbe en el UV. Puede valorarse que el realzamiento de la transmisividad en la región entre 300 y 400 nm sólo se puede lograr por una fuerte reducción del contenido en hierro, por debajo de 50 mg/kg de vidrio [Blanco *y col.*, 2000].

Los requisitos para la calidad óptica de superficies reflectivas en aplicaciones solares están normalmente relacionados con la concentración solar. En el caso de aplicaciones fotoquímicas solares, los requerimientos más estrictos son los de PTCs. Este es un importante factor adicional en favor de los sistemas sin concentración, ya que alta calidad significa alto coste de producción. Con respecto al reflector / concentrador, el aluminio es la mejor opción debido a su bajo coste y su alta reflectividad. La superficie reflectiva ideal para aplicaciones fotoquímicas solares debe tener alta reflectividad UV, resistencia a la intemperie adecuada para un largo tiempo de vida y un precio razonable. Las superficies actualmente disponibles que mejor cumplen estos requerimientos son de aluminio anodizado electropulido [Blanco *y col.*, 2000; Malato *y col.*, 1996; Marqués *y col.*, 1996; Vidal *y col.*, 1999] o de películas de plástico orgánico aluminizado [Borthen *y col.*, 1992; Jorgensen *y col.*, 1991; Turchi *y col.*, 1994]. Sin embargo, las películas de plástico aluminizado es una solución que se ha abandonado debido a que su utilización estaba relacionada con el aluminizado de los espejos parabólicos de los

PTCs. En estos momentos, los colectores CPCs se construyen utilizando aluminio anodizado, que es fácilmente manejable y conformable para la construcción de grandes cantidades de colectores [Blanco, 2002]. Los colectores solares (tipo CPC) utilizados en esta Tesis Doctoral son descritos con detalle en la sección 2.1.1 del capítulo 2 de la misma.

## 1.4. TÉCNICAS ANALÍTICAS AVANZADAS

En la evaluación de los AOPs como métodos de tratamiento de aguas contaminadas con plaguicidas, existen dos aspectos claves para la obtención de mejores métodos de descontaminación:

- Optimización de los foto-reactores y los parámetros que gobiernan la reacción.
- Evaluación, lo más precisa posible, de la eficiencia de los métodos fotocatalíticos.

Este primer punto necesita de la Ingeniería Química, y su importancia radica en la obtención de métodos de descontaminación cada vez más eficientes y rentables. El segundo punto, necesita de la Química Analítica y tiene como fin, no solo controlar la efectividad de los procesos de degradación, mediante el seguimiento de la cinética de degradación de los contaminantes iniciales, sino determinar la presencia de intermedios, establecer posibles rutas de degradación y asegurar la inocuidad del vertido final. En este segundo punto es en el que se centra este trabajo de investigación.

Desde un punto de vista analítico, la tarea que entraña mayor dificultad es, sin duda, la evaluación cualitativa y cuantitativa de los intermedios o productos de degradación (PDs). Como los radicales hidroxilo no son selectivos en sus ataques, se forman numerosos PDs en el camino hacia la completa mineralización de los plaguicidas inicialmente presentes en las aguas a tratar. Los principales intermedios de la degradación de plaguicidas son de cinco tipos:

- a) productos hidroxilados y deshalogenados, derivados estos últimos de la pérdida del sustituyente halogenado del plaguicida original, si es que éste lo tuviese.
- b) productos de la oxidación de la cadena alquílica, si la tuviese.
- c) productos derivados de la apertura del anillo aromático para plaguicidas aromáticos.
- d) productos de descarboxilación.
- e) productos de isomerización y ciclación.

El análisis químico de estas complejas mezclas de reacción es dificultoso, de ahí que, en la mayoría de los casos donde los AOPs se han aplicado, no se haya prestado atención a la

identificación de estos compuestos y la evaluación analítica se haya limitado al seguimiento de la desaparición del contaminante inicial [Borello *y col.*, 1989; Chiarenzelli *y col.*, 1995; Chukwudebe *y col.*, 1989; D'oliveira *y col.*, 1993; Gratzel *y col.*, 1990; Hidaka *y col.*, 1992; Sabin *y col.*, 1992; Pelizzetti *y col.*, 1985; Sullivan *y col.*, 1994], combinado con el seguimiento de la disminución del TOC y la aparición de iones inorgánicos. De este modo, se evalúa la cinética de degradación de los contaminantes y la velocidad de mineralización obtenida a lo largo del proceso. Sin embargo, sería necesario un mayor conocimiento de los PDs originados, ya que en muchos casos, pueden ser más tóxicos y persistentes a la degradación que los compuestos iniciales [Bianco-Prevot *y col.*, 1999a; El-Zawahry *y col.*, 1998; Glaze *y col.*, 1993; Gratzel *y col.*, 1990; Parra *y col.*, 2000; Pramauro *y col.*, 1993; Pulgarin *y col.*, 1999]. Por ello, una evaluación toxicológica de estos procesos también resulta necesaria.

Los problemas que aparecen durante la evaluación analítica de los PDs de plaguicidas en agua son:

- i) El número de PDs generados es habitualmente alto y el intervalo de concentración amplio.
- ii) Presentan propiedades químicas muy diferentes, sobre todo en lo que se refiere a polaridad.
- iii) La identificación y evaluación cuantitativa de éstos es difícil debido a la ausencia de patrones analíticos disponibles en el mercado.

Por lo tanto, el análisis de mezclas de reacción conteniendo uno o varios plaguicidas y sus PDs, requiere disponer de métodos analíticos que permitan la separación e identificación de gran número de compuestos, con muy diferentes propiedades químicas y presentes en un amplio intervalo de concentraciones.

En la práctica, esto es posible mediante el empleo de sofisticadas herramientas analíticas, tales como cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (GC-HRMS) [Richardson et al., 1996]; espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) [Wolfe et al., 1977]; espectrometría de infrarrojos con transformada de Fourier (FT-IR) [Amalric et al., 1995]; cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS) [Arnold et al., 1995]; etc.. Estos métodos o combinaciones de ellos pueden confirmar

la identidad de los PDs presentes en una mezcla de reacción, sin embargo, presentan dificultad y/o un alto consumo de tiempo.

En los últimos diez años, la instrumentación y las técnicas analíticas han experimentado un gran desarrollo. Se han desarrollado equipos y técnicas muy sofisticadas, en especial en el campo de la GC-MS o LC-MS, que permiten la determinación eficaz de compuestos orgánicos, como es el caso de los plaguicidas. La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) ha sido, sin duda, la técnica mayoritariamente aplicada, ya que ofrece importantes ventajas en el análisis de muestras complejas y su uso es relativamente sencillo y extendido (ver figura 1.4.1).

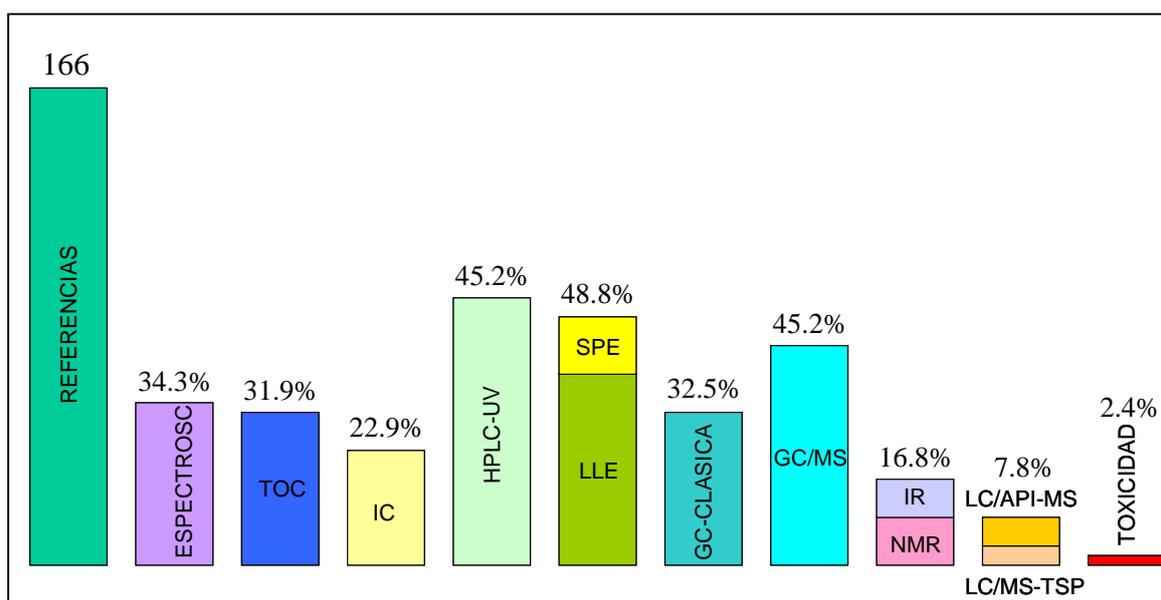


Figura 1.4.1. Revisión bibliográfica realizada para valorar el número de artículos publicados en revistas científicas internacionales que utilizan técnicas analíticas para la evaluación de los AOPs en aplicaciones de aguas contaminadas con Plaguicidas (166 publicaciones de entre 549 revisadas en total responden a esta selección).

La cromatografía de gases con detector de emisión atómica (AED) también se ha revelado como una herramienta muy útil para la identificación de PDs en procesos fotocatalíticos, ya que hasta el momento no había sido aplicada para la evaluación de estos AOPs. Con el GC-AED se pueden analizar las muestras por elementos para encontrar picos de interés primario. El cálculo de fórmulas empíricas con AED también simplifica la interpretación másica espectral de compuestos desconocidos, como los PDs en los

experimentos fotocatalíticos de degradación de plaguicidas que se llevan a cabo en este trabajo y, gracias a la Calibración de Compuestos Independientes, se pueden cuantificar los PDs sin necesidad del estándar analítico correspondiente. Por estas razones, en la realización de esta tesis doctoral se ha utilizado una combinación de GC/MS con GC-AED, para poder realizar de forma más exacta la identificación de los PDs generados durante los procesos fotocatalíticos y su cuantificación.

La cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS) está ganando aceptación progresivamente, ya que presenta varias ventajas sobre la cromatografía gaseosa, algunas de ellas muy importantes para la evaluación de los procesos de oxidación avanzada (AOPs): (i) el análisis directo de las muestras acuosas evita la posibilidad de que se pierdan PDs polares durante el proceso de extracción; (ii) compuestos altamente polares, de escasa volatilidad y/o térmicamente lábiles son analizados con más facilidad; y (iii) se necesita poca o ninguna limpieza del sistema entre muestras.

Las técnicas de LC-MS han conseguido la identificación de productos de transformación en un gran rango de polaridades. Las interfases de Ionización a Presión Atmosférica (API) de LC-MS, tales como la Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI) y electrospray (ES), aportan información estructural con mucha sensibilidad [Chiron *y col.*, 1996 y 2000]. Esto permite la identificación de compuestos muy polares y termolábiles, así como el análisis directo de las muestras acuosas, evitando de esta manera la posibilidad de modificar su concentración con los procesos de extracción.

La evaluación analítica de los contaminantes y sus PDs tiene sus limitaciones en cuanto a que las técnicas analíticas no son capaces de detectar ni cuantificar los efectos tóxicos o riesgos generados por los mismos, por lo que la podemos considerar incompleta. Por ello, la integración de metodologías toxicológicas globales, que permitan la detección y cuantificación de los efectos tóxicos de las muestras objeto de análisis, será siempre relevante y complementaria al análisis químico y asegurará que todos los compuestos presentes sean evaluados. Con este objetivo, la Agencia del Medio Ambiente de Estados Unidos (EPA) ha desarrollado las llamadas metodologías de Evaluación por Identificación de la Toxicidad (TIEs), consistentes en la integración de la evaluación toxicológica en las metodologías analíticas [Coombe *y col.*, 1996; Deanovic *y col.* 1999; Farré *y col.*, 2000; Galassi *y col.*, 2000; Wadhia *y col.*, 1996].

Las TIEs constituyen una serie de métodos orientados a determinar qué fracción de una muestra ambiental, es responsable de unos determinados efectos tóxicos, con la finalidad de identificarlos y poder neutralizar los agentes causantes de los mismos. Entre las prioridades establecidas por la UE en su V Programa Marco de Investigación y Desarrollo Tecnológico, se establece el desarrollo de herramientas para identificar y caracterizar las fuentes de contaminación [Comisión Europea, V Framework Programme, Key Actions 1, 2 y 3]. Es evidente que en la Química Analítica se aumentará el uso de bases biológicas de análisis en un futuro próximo y se desarrollarán metodologías analíticas que permitirán completar y mejorar de forma notable la evaluación de los contaminantes en el medio ambiente.

Durante los procesos fotocatalíticos de degradación de plaguicidas pueden originarse un gran número de PDs [Agüera *y col.*, 2000b]. Estos PDs generados, pueden ser más resistentes a la degradación [Pelizzetti *y col.*, 1992], y presentar igual o incluso mayor toxicidad que los compuestos originales [Fernández-Alba *y col.*, 2002c; Jardim *y col.*, 1997; Manilal *y col.*, 1992], y su elevado número puede ser causante de efectos de potenciación de la toxicidad. Por todo ello, una evaluación toxicológica de estos procesos resulta necesaria.

En esta tesis doctoral se ha estudiado, además de la evolución de los PDs mediante GC-AED, GC-MS y LC-MS, la evolución de la toxicidad durante los tratamientos fotocatalíticos solares mediante diferentes bioensayos.

#### **1.4.1. Tratamiento de Muestras.**

Aunque recientemente se están empezando a aplicar técnicas de inyección directa de muestras acuosas en cromatografía líquida y de gases, lo cierto es que, hasta ahora, la determinación de los productos de degradación, presentes en muestras de agua tratada mediante AOPs, ha implicado la aplicación de un paso de extracción previo al análisis. Esta extracción permite preconcentrar las muestras entre 10 y 50 veces, de forma que sean detectables compuestos minoritarios presentes a concentraciones inferiores a unidades de mg/L. Sin embargo, disponer de un método de extracción adecuado, capaz de recuperar un elevado número de compuestos con propiedades químicas que pueden ser muy diferentes entre sí, no es sencillo.

El método tradicionalmente aplicado ha sido la extracción líquido-líquido (LLE) con disolventes orgánicos adecuados, como metanol, acetonitrilo, acetato de etilo, diclorometano, éter dietílico, etc. [Amalric *y col.*, 1995; Kerzhentsev *y col.*, 1996; Kochany *y col.*, 1990]. Sin embargo, esta técnica presenta serias limitaciones, que incluyen pérdida de los compuestos más polares al desechar la fase acuosa y presencia de elevadas interferencias de matriz en los extractos, al tratarse de una técnica poco selectiva [Chiron *y col.*, 1998; Richardson *y col.*, 1996]. Desde un punto de vista práctico, la LLE presenta también importantes desventajas, como la dificultad de romper las emulsiones que pueden formarse durante la extracción y la dificultad en su automatización.

Por todo ello, las técnicas de extracción en fase sólida (SPE) están ganando aceptación en los últimos años [Agüera *y col.*, 1998]. Estas técnicas, más selectivas, originan menos interferencias de matriz [Fernández-Alba *y col.*, 1998], lo que constituye una importante ventaja para el posterior análisis. Por otro lado, existe en el mercado una amplia gama de adsorbentes, como las sílicas enlazadas con cadenas alquílicas (C-18), polímeros porosos (estireno-divinilbenceno, PRP-1 o PLRP-S) o carbón modificado (PGC). Estos materiales poseen diferentes propiedades y su comportamiento, en lo referente a capacidad y volumen de rotura, varía en función de los compuestos a analizar. Esto nos permite seleccionar adsorbentes adecuados para la determinación de analitos dentro de un mayor rango de polaridades.

Aunque el C-18 es el material más utilizado en la extracción de muestras acuosas, y recupera eficientemente un gran número de plaguicidas, su aplicación al estudio de intermedios en mezclas de reacción presenta algunas limitaciones como i) escasa capacidad de retención para compuestos de elevada polaridad e ii) inestabilidad del adsorbente a valores de pH entre 2 y 10. Ambos aspectos representan un serio problema para la extracción de los metabolitos generados en los procesos de degradación ya que éstos presentan a menudo mayor polaridad que los plaguicidas iniciales y pueden encontrarse en forma ionizada. La ventaja de los nuevos materiales poliméricos sobre los materiales de C-18 estriba en que pueden ser utilizados en un intervalo de pH más amplio sin descomposición del adsorbente y presentan mayor capacidad para retener compuestos polares. Así, analitos como fenol, compuestos ácidos o derivados de aminas aromáticas son recuperados más eficientemente con estos materiales [Chiron *y col.*, 1994 y 1997; Hennion *y col.*, 1993; Peñuela y Barceló, 1996; Pocorull *y col.*, 1994; Zaleska *y col.*, 2000]. Estos materiales han sido utilizados con éxito para la caracterización de contaminantes en efluentes industriales [Castillo *y col.*, 1997].

Una ventaja adicional de la SPE consiste en la posibilidad de diseñar esquemas de extracción secuencial, utilizando diferentes adsorbentes y modificando adecuadamente el pH de las muestras [Benfenati *y col.*, 1996]. La aplicación de esta técnica permite la extracción conjunta de un gran número de compuestos con polaridades muy diferentes. A modo de ejemplo, un posible esquema consistiría en hacer inicialmente una extracción con C-18 a pH 7, para recuperar compuestos hidrofóbicos neutros. Seguidamente, el volumen eluido por la fase C-18, a pH 7, puede ser pasado a través de un adsorbente polimérico, que permita retener compuestos de polaridad intermedia. Durante una tercera y cuarta etapa, las muestras pueden ser acidificadas a pH 4.5 y pH 2.5, respectivamente, para extraer la mayoría de compuestos ácidos mediante un adsorbente polimérico o de carbón [Fhien *y col.*, 1996].

Finalmente, un último problema lo constituyen los PDs generados en la última fase del proceso de degradación. En general, se trata de moléculas pequeñas, de elevada polaridad, como ácidos alifáticos de menos de 4 átomos de carbono (ej.: ácido fórmico, ácido oxálico), que no son recuperadas con los métodos de SPE. En estos casos, se suele realizar una extracción con éter dietílico y posterior esterificación, previa al análisis cromatográfico, o bien se realiza el análisis directo de las muestras mediante cromatografía iónica. En el presente trabajo se ha utilizado la cromatografía iónica para la determinación de estos ácidos alifáticos de cadena corta.

Cabe esperar que, la microextracción en fase sólida (SPME) tenga un uso importante en un futuro próximo, ya que esta metodología permitirá una evaluación rápida del comportamiento cinético de los reactores en procesos de oxidación avanzada (AOPs) y la identificación de PDs [Zaleska *y col.*, 2000; Sakkas *y col.*, 2002].

### 1.4.2. Métodos basados en GC-MS.

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas es, con diferencia, la herramienta de análisis más frecuente para la identificación de los PDs (ver fig. 1.4.1). Las ventajas más importantes de los métodos basados en la GC-MS son:

- i) Alta sensibilidad y eficiencia de separación, que evita el solapamiento de compuestos de estructuras similares.
- ii) Elevado potencial de identificación, gracias a la abundante información estructural que proporcionan los espectros de masas.
- iii) Posibilidad de utilizar bibliotecas comerciales de espectros que facilitan la identificación de PDs desconocidos.

La identificación de los PDs se realiza habitualmente en base a los espectros obtenidos en impacto electrónico (EI). Este modo de ionización proporciona abundante información estructural y la ventaja de poder realizar identificaciones mediante comparación con librerías de espectros comerciales o con espectros publicados en artículos de investigación. Una desventaja, sin embargo, de este modo de trabajo es que, en muchos casos, no aporta información acerca del peso molecular de los compuestos, lo que dificulta su identificación. En estos casos, la utilización combinada del modo de ionización química (CI) puede resultar de gran ayuda. La menor fragmentación obtenida mediante esta técnica de ionización blanda, permite identificar el ión molecular protonado  $[M+1]^+$  o desprotonado  $[M-1]^-$ , confirmándose así el peso molecular de los compuestos detectados.

Agüera y col., (en uno de los primeros trabajos en los que se revisa el uso de GC-MS y LC-MS para la identificación de PDs de los AOPs), ilustra hasta donde se puede utilizar la GC-MS como una poderosa herramienta analítica para la identificación de PDs [Agüera y col., 1998b]. También muestra el espectro de masa en “full-scan” obtenido con GC-IT (trampa de iones) del ácido cloronicotínico ( $P_m=157$ ), uno de los principales PDs del imidacloprid bajo tratamiento fotocatalítico con  $TiO_2$ . Dicho espectro de masa muestra cuatro fragmentos de iones con altas abundancias relativas ( $> 30\%$ ) a  $m/z=157$ , 139, 112 y 76 respectivamente, permitiendo la elucidación de su estructura mediante la comparación de su espectro con los disponibles en la base de datos. La confirmación del peso molecular se obtuvo con masa de

espectro CI utilizando acetonitrilo como gas reactivo que exhibió  $[M+H]^+$  el ión ( $m/z = 158$ ) como el pico base. También se muestran resultados similares con el cloronicotinaldehído, otro importante producto de degradación del Imidacloprid.

El conocimiento del peso molecular y la interpretación del patrón de fragmentación permite proponer la estructura molecular de los PDs (ver figura 1.4.2). Sin embargo, ni siquiera el espectro de masas en “full-scan” en modo EI proporciona información suficiente acerca de la posición de los grupos funcionales en la molécula, por lo que una identificación inequívoca requiere disponer de los patrones analíticos correspondientes a falta de librerías adecuadas para estos compuestos. Puesto que la disponibilidad de patrones comerciales es limitada, algunos investigadores han procedido a la síntesis de PDs en laboratorio [Durand *y col.*, 1994; Chiron *y col.* 1995].

A pesar del indudable potencial de las técnicas de GC-MS en la identificación de metabolitos, existen una serie de limitaciones inherentes a la técnica, como son su limitada capacidad para analizar compuestos muy polares, de escasa volatilidad o térmicamente inestables y en especial las dificultades para cuantificar PDs en ausencia de estándares comerciales. Con el fin de ampliar el rango de compuestos que pueden ser detectados por esta técnica, en ocasiones se ha recurrido a procesos de derivación con diazometano [Nelieu *y col.*, 1996];  $BF_3/MeOH$  [Chiron *y col.*, 1998]; BSTFA [Guillard *y col.*, 1996], etc., previos al análisis cromatográfico.

Las técnicas de derivación, pese a representar una interesante alternativa, son en general complicadas y tediosas, pueden ocasionar la degradación de algunos PDs, como consecuencia de las severas condiciones de operación aplicadas (calentamiento, pH ácido), o afectar seriamente a su recuperación, lo que hace inviable una correcta evaluación cuantitativa de los intermedios [Nelieu *y col.*, 1996]. Por otro lado, la formación de compuestos indeseados durante el proceso de derivación, como consecuencia de la presencia en las muestras de compuestos adicionales (agentes del formulado, ácidos fúlvicos, etc.), puede complicar la interpretación de los resultados. Como consecuencia, el uso de la derivación ha sido limitado [Buxton *y col.*, 1998b; Chiron *y col.*, 1997; Richardson *y col.*, 1996].

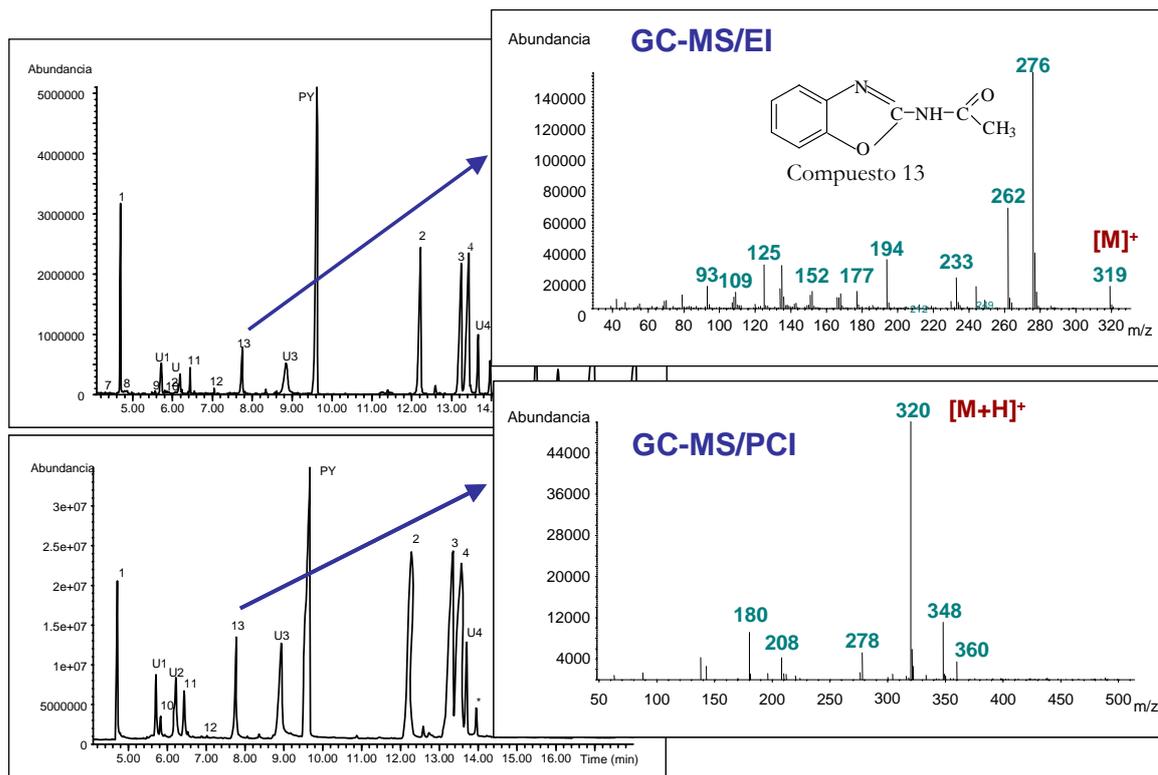


Figura 1.4.2. Cromatogramas y espectros de masas de un PD detectado en el análisis mediante GC-MS en el modo ionización química positiva (PCI) e impacto electrónico (EI) de una muestra procedente de la aplicación de un tratamiento fotocatalítico con  $\text{TiO}_2$  a la degradación del plaguicida pyrimetanil [Agüera y col., 2000a].

Otra alternativa de interés para la determinación de compuestos polares en GC consiste en usar columnas cromatográficas con fases poliméricas del tipo polietilen-glicol, que presentan una mayor polaridad, siempre y cuando las características de las columnas, en cuanto a estabilidad y sangrado a altas temperaturas, lo permitan [Agüera y col., 2000a].

### 1.4.3. Métodos basados en GC-AED.

Un Detector de Emisión Atómica acoplado a un cromatógrafo de gases, GC-AED, puede ser usado como un selectivo y sensible detector para contaminantes en mezclas medioambientales complejas, tales como: bifenilos policlorados [Pedersen-Bjergaard y col., 1996], compuestos orgánicos volátiles, [Silgoner y col., 1997; Mezcua y col., 2002] o plaguicidas [Bernal y col., 1996]. Este detector se introdujo en el mercado en 1989 y se basa en la utilización de un plasma de He inducido por microondas en combinación con un

espectrómetro de emisión atómica que permite detectar de forma altamente selectiva cualquier elemento presente en los compuestos (ver figura 1.4.3). La sensibilidad del AED depende del elemento que se determine. Se han realizado diversos estudios de linealidad y sensibilidad [Ting *y col.*, 1991] y se ha comparado su aplicabilidad en diversas matrices con otros detectores selectivos [Lee *y col.*, 1991], demostrándose su elevada selectividad en el análisis de plaguicidas que contienen heteroátomos como flúor, bromo, cloro, fósforo, azufre y nitrógeno, especialmente para las matrices consideradas como más complejas. Pueden encontrarse interesantes aplicaciones en la determinación de carbamatos, piretroides, organoclorados y organofosforados [Ting *y col.*, 1991] y herbicidas [Stan *y col.*, 1993]. La GC-AED puede considerarse una poderosa herramienta para la confirmación cualitativa y, puesto que existe una relación lineal entre la respuesta del detector y el porcentaje de los diferentes átomos presentes en la molécula, es posible identificar y cuantificar compuestos, incluso sin necesidad de disponer del estándar correspondiente, mediante el uso de la calibración de compuestos independientes (CIC), como se comenta más adelante.

Cuando se analizan muestras multicomponentes complejas, la GC-AED puede complementar a la GC-MS con gran ventaja. Si se dirige el análisis directamente a los compuestos de interés y mediante la interpretación espectral, se puede ahorrar tiempo en un amplio rango de aplicaciones. El análisis de compuestos desconocidos con GC-AED se realiza de forma conjunta y complementaria a GC-MS. Las muestras se barren con GC-MS en su modo de ionización química positiva (PCI) para detectar los pesos moleculares de los compuestos a determinar. Posteriormente, se hace el barrido del contenido de elementos de los compuestos (puede determinar todos los elementos de la tabla periódica, incluyendo los metales de transición, menos el He), midiendo hasta cuatro elementos simultáneamente (por ejemplo: C, N, O y Cl), y confirmando la presencia o ausencia de elementos específicos, y con ayuda de los pesos moleculares (determinados por GC-MS/CI) y la calibración de compuestos independientes, se proponen las fórmulas moleculares de los compuestos. Con AED también se asegura que no se pierden compuestos que de otro modo no se detectarían.

Además, la GC-AED puede utilizarse para resolver ambigüedades en la identificación de compuestos mediante “bibliotecas de espectros de masas”. Utilizando valores de área de todos los elementos detectados en cada pico cromatográfico, se proponen las fórmulas empíricas para cada compuesto y, con el número de carbonos normalizado a “1”, más los datos de pesos moleculares obtenidos mediante GC-MS en PCI, se determina la fórmula

molecular correcta de cada compuesto. Todo esto resuelve el problema de los múltiples emparejamientos que surgen en los informes de búsqueda en las bibliotecas de espectros, simplificando enormemente las identificaciones que se realizan a partir de ellos.

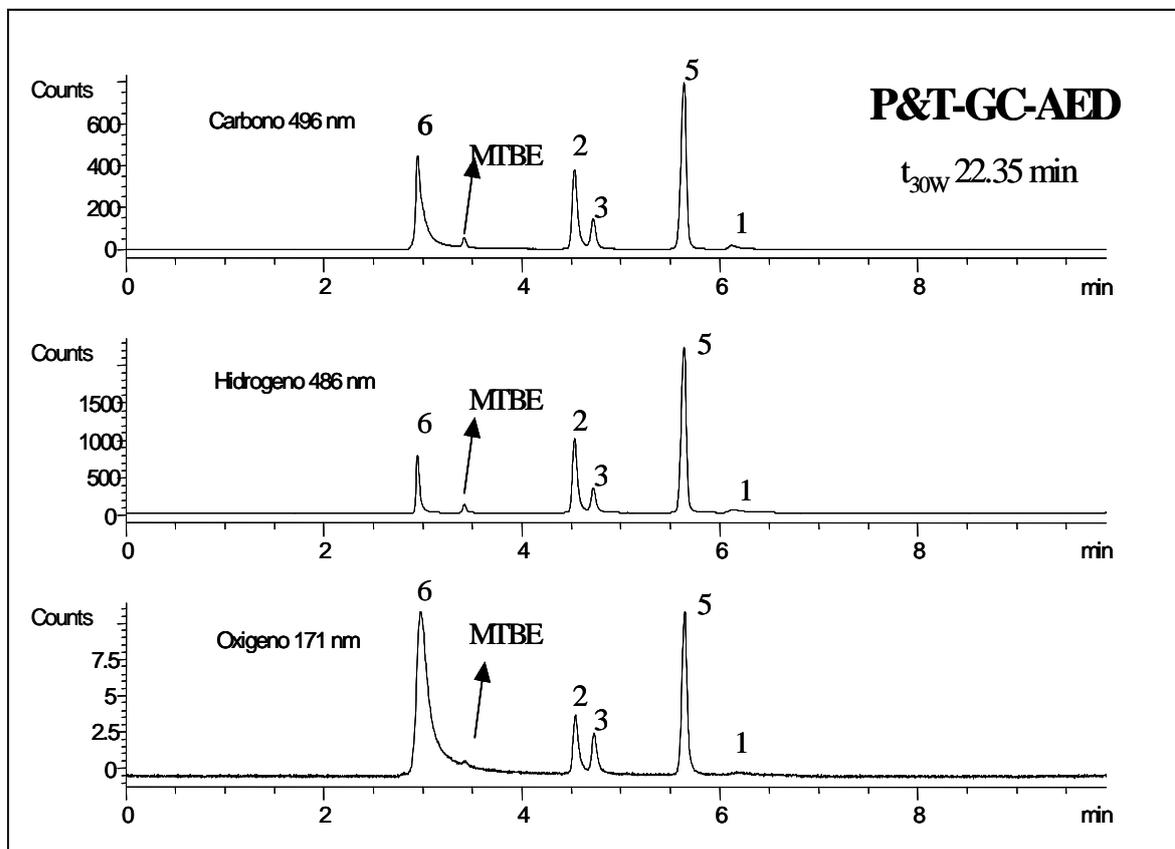


Figura 1.4.3. Cromatogramas obtenidos mediante GC-AED para las líneas de emisión atómica del oxígeno, hidrógeno y carbono, en una muestra procedente de la aplicación del tratamiento fotocatalítico con foto-Fenton de MTBE (metil-*terc*-butil eter) en disolución acuosa.

Se pueden hacer análisis cualitativos y cuantitativos a la vez. GC-AED simplifica la cuantificación de concentraciones desconocidas. Mientras los sistemas GC-MS necesitan compuestos idénticos para la calibración, mediante GC-AED pueden calibrarse compuestos desconocidos con precisión utilizando cualquier compuesto conocido que contenga los mismos elementos que contiene el compuesto a determinar; el factor de respuesta para cada elemento es independiente de la estructura molecular del compuesto en el que se encuentre. La calibración de compuestos independiente, gracias a los “softwares” comerciales, consiste en seleccionar un pico cromatográfico de un compuesto conocido, escribir el peso molecular del

compuesto y el número de átomos por cada elemento que tiene dicho compuesto. Así, de forma automática se calibra el sistema y seleccionando los picos de los compuestos de interés y con ayuda de su peso molecular, el equipo GC-AED propone la fórmula molecular para dicho compuesto y lo cuantifica. Con GC-AED se pueden detectar todos los elementos químicos menos el Helio, ya que éste es usado como gas portador en dichos sistemas.

Las capacidades del GC-AED también se pueden utilizar para la detección selectiva de compuestos “marcados isotópicamente” conteniendo isótopos tales como  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  y  $^2\text{H}$ . Debido a que sus factores de respuesta son independientes de la estructura molecular y responde a todos los compuestos “marcados” en la muestra, puede barrer todos los posibles metabolitos. También puede analizar cuantitativamente metabolitos inesperados derivados del compuesto original. Como resultado, GC-AED es de particular valor en la identificación de metabolitos de productos de degradación de plaguicidas [Bernal *y col.*, 1996; Silgorner *y col.*, 1997; Pedersen-Bjergaard *y col.*, 1996].

#### **1.4.4. Métodos basados en LC-MS.**

Para la determinación de los PDs más polares, por ejemplo los derivados hidroxilados, la técnica analítica más adecuada es la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Mediante LC-MS se ha logrado la identificación de una gran variedad de intermedios de degradación, como alternativa a GC-MS, o sobre todo como dos técnicas complementarias [Agüera *y col.*, 1998 y 2000a; Chiron *y col.*, 1995b y 1997; Herrmann *y col.*, 1999b; Marinas *y col.*, 2001; Mascolo *y col.*, 2001; Maurino *y col.*, 1999; Tahmasseb *y col.*, 2002].

A pesar de que el primer acoplamiento entre LC y MS fue divulgado hace unos 25 años y que se han desarrollado diferentes interfases LC-MS en el transcurso del tiempo, combinar un instrumento de HPLC con un MS se puede considerar una “unión artificial”, y por lo tanto, de especial dificultad técnica. Esto es consecuencia del acoplamiento de un instrumento que opera en fase condensada con otro que opera a vacío. Estas dificultades han retrasado el uso generalizado de esta técnica. No obstante, en los últimos años, el diseño de nuevas interfases ha solventado estos obstáculos. Actualmente las técnicas utilizadas para la introducción y análisis de muestras líquidas por LC-MS se pueden clasificar en dos grupos: (1) las que introducen la muestra en la fuente iónica del espectrómetro de masas, como es el caso de Haz de Partículas (PB, “particle beam”) y (2) las que realizan una “ionización suave” de la

muestra con la participación de la fase móvil, como “thermospray” (TSP) o las interfases de ionización a presión atmosférica (API). Gracias a ellos, en unos pocos años la LC-MS ha empezado a ser una técnica ampliamente aceptada en diferentes campos de aplicación, pasando a ser la técnica preferida para la identificación y cuantificación de plaguicidas y otros compuestos polares y termolábiles en el medio ambiente y en alimentos [Abián *y col.*, 1999; Balog *y col.*, 1997; Blasco *y col.*, 2002; Hogenboom *y col.*, 2000; Niessen *y col.*, 1998; Nunes *y col.*, 2000; Picó *y col.*, 2000]. Los progresos realizados en el uso de interfases LC-MS para determinar plaguicidas y sus productos de degradación en el medio ambiente, en particular plaguicidas polares, han sido descritos en varias revisiones bibliográficas y varios capítulos de libros [Bossi *y col.*, 2002; Draper *y col.*, 2001; Hernández *y col.*, 2001; La Farre, 2001; Ferrer *y col.*, 1998 y 2002; Krol y Romano, 2002; Lamoree *y col.*, 1993; Pozzo *y col.*, 2001; Reemtsma, 2001; Slobodnik *y col.*, 1995; Thurman *y col.*, 2001].

Las interfases para LC-MS de “thermospray” (TSP) y “particle beam” (PB) han sido utilizadas para el análisis de distintas clases de plaguicidas y sus PDs, en experimentos de fotólisis [Barceló *y col.*, 1997; Lacorte *y col.*, 1995]. Sin embargo, la confirmación de compuestos puede ser difícil con TSP, debido a la insuficiente fragmentación, así como las dificultades con los compuestos térmicamente lábiles. La técnica de PB tiene la ventaja que los espectros de masas que se producen se parecen a los espectros en EI de referencia, aunque la sensibilidad para analitos polares es, generalmente, baja y a menudo la técnica no puede ionizar compuestos no volátiles.

El desarrollo de las interfases de Ionización a Presión Atmosférica (API) permite obtener información estructural similar a las técnicas de ionización química, CI, superando por tanto las limitaciones de otras interfases LC-MS [Barceló *y col.*, 1997]. Tanto las interfases de electrospray (ES)/ ionspray (IS) y los sistemas de interfases de Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI) han extendido la aplicabilidad de LC-MS en estos estudios, principalmente debido a la alta sensibilidad y la gran información estructural que se puede obtener [Agüera *y col.*, 1998a; Chiron *y col.*, 1997; Barceló *y col.*, 1997; Piedra *y col.*, 2000]. El papel principal de los LC-MS en los estudios de degradación de plaguicidas es: (i) comprobar el peso molecular de los PDs, y (ii) detectar los PDs que no son directamente manejables con técnicas GC-MS. Electrospray positivo de gran caudal (ISP) parece ser la forma de ionización más adecuada para la identificación de los PDs, puesto que la formación de iones aducidos  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  permite la confirmación del peso molecular de los productos de degradación en

muchos casos, y los iones moleculares protonados  $[M+H]^+$  son generalmente los picos base de los espectros.

Chiron *y col.*, [1998], es un buen ejemplo para mostrar hasta dónde se puede utilizar LC-API-MS como una poderosa herramienta analítica para la identificación de PDs. Los compuestos denominados en el trabajo como 1 y 2 son detectados por ISP y APCI; sin embargo no son detectados cuando se aplica GC-MS. ISP permite una mejor confirmación de los pesos moleculares de los PDs con los iones  $[M+H]^+$  como el pico base, así como la formación de iones aducidos de  $Na^+$  o  $K^+$ . Además, el modo negativo es una buena herramienta para la confirmación del peso molecular, de los PDs detectados en el modo positivo. Por el contrario, APCI da más patrones de fragmentación, pero el peso molecular no se discierne fácilmente, ya que la vaporización de la fase móvil es necesaria a temperaturas de 300 – 400 °C y puede ocurrir la degradación de PDs termolábiles. Un aumento de los valores de los potenciales de extracción de iones aporta información estructural adicional ya que se producen más fragmentos (ver figura 1.4.4). Aunque, generalmente no se obtienen más de tres fragmentos de iones útiles, haciendo la elucidación de la estructura difícil, ya que es difícil conseguir un potencial de extracción en el que se obtenga una fragmentación las moléculas suficiente sin pérdida apreciable de sensibilidad. Sin embargo, se pueden obtener las principales características estructurales tales como la preservación de los anillos aromáticos y la naturaleza de los grupos funcionales. Mayor información estructural requiere un análisis adecuado de estos PDs utilizando los sistemas GC-MS, haciendo las dos técnicas GC-MS y LC-MS complementarias.

A este respecto, Chiron *y col.*, [1998], describen dos cromatogramas obtenidos después de 1 hora de tratamiento con ozono de pyrimiphos-methyl en una muestra de aguas residuales industriales. GC-EI-MS permitió la detección de tres PDs principales mientras que LC-APCI-MS permitió la detección de dos compuestos adicionales. De la información estructural obtenida con ambas técnicas una elucidación tentativa de cinco PDs es viable. Aunque generalmente tiene capacidad suficiente, LC-MS presenta importantes debilidades como consecuencia de la falta de información estructural que se alcanza habitualmente y una menor sensibilidad y poder de discriminación con respecto a GC-MS. Estos factores pueden a menudo impedir la identificación de PDs como consecuencia de un bajo umbral de detección o solapado de picos de compuestos con estructura química similar [Mas *y col.*, 1997], que es un caso común en los Procesos de Oxidación Avanzada, AOPs.

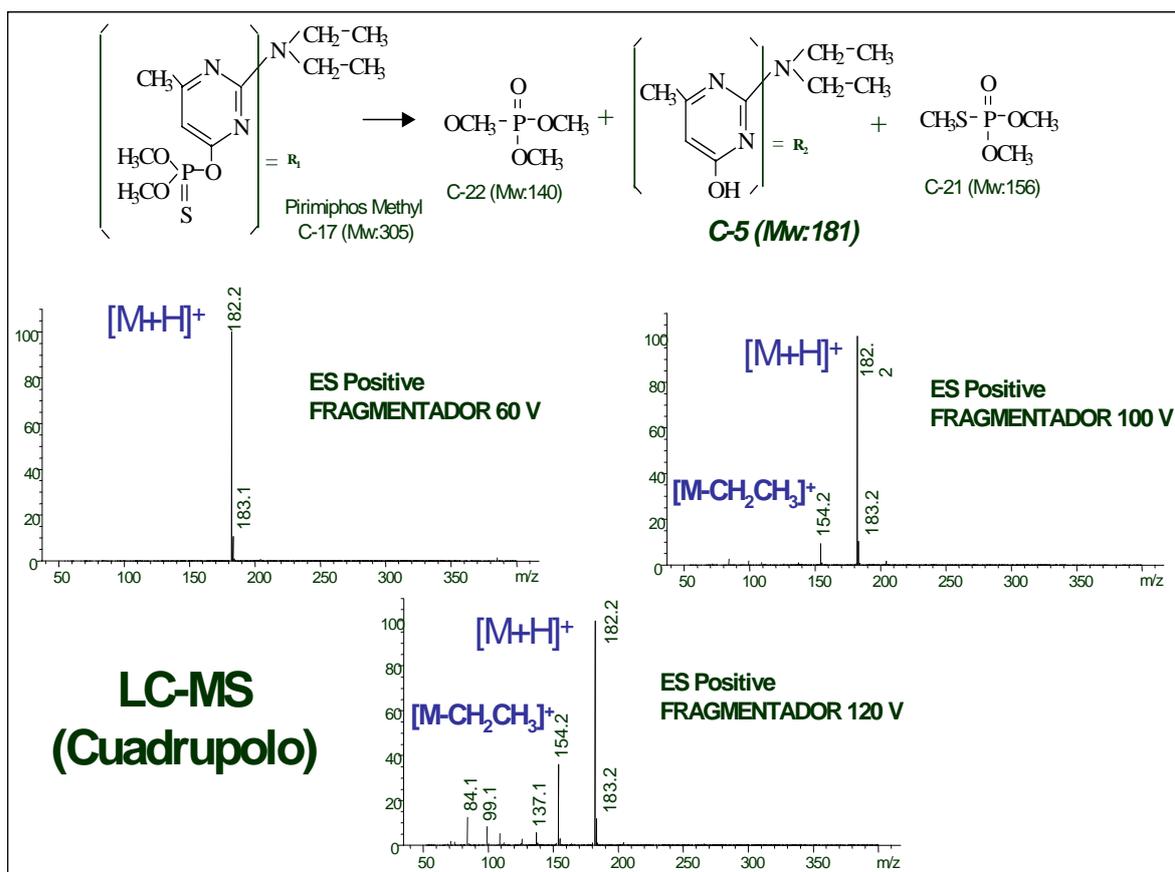


Figura 1.4.4. Espectros de masa obtenidos del análisis mediante LC-Q-MS de una muestra procedente del tratamiento con ozono de un agua contaminada con pyrimiphos-methyl, a distintos voltajes de fragmentación. Con ellos se muestra como al aumentar el potencial de fragmentación se obtiene más iones haciendo posible la elucidación estructural de los PDs.

En otro artículo interesante [Agüera *y col.*, 2000a], se describe hasta que punto una baja capacidad de resolución y una menor sensibilidad limita la identificación de LC-MS comparada con la de GC-MS. En la figura 1.4.5 se muestran los cromatogramas obtenidos de una muestra procedente de 300 minutos de tratamiento fotocatalíticos con  $TiO_2$  de Pyrimethanil. Tanto APCI como ES obtuvieron información sobre 6 picos cromatográficos (ver A y B de la figura 1.4.5). No obstante, el primer pico que se muestra en él, es el resultado del solapamiento del compuesto 1 con los compuestos 11 y 12, siendo solo posible su identificación solo en combinación con análisis GC-MS (ver C de la figura 1.4.5).

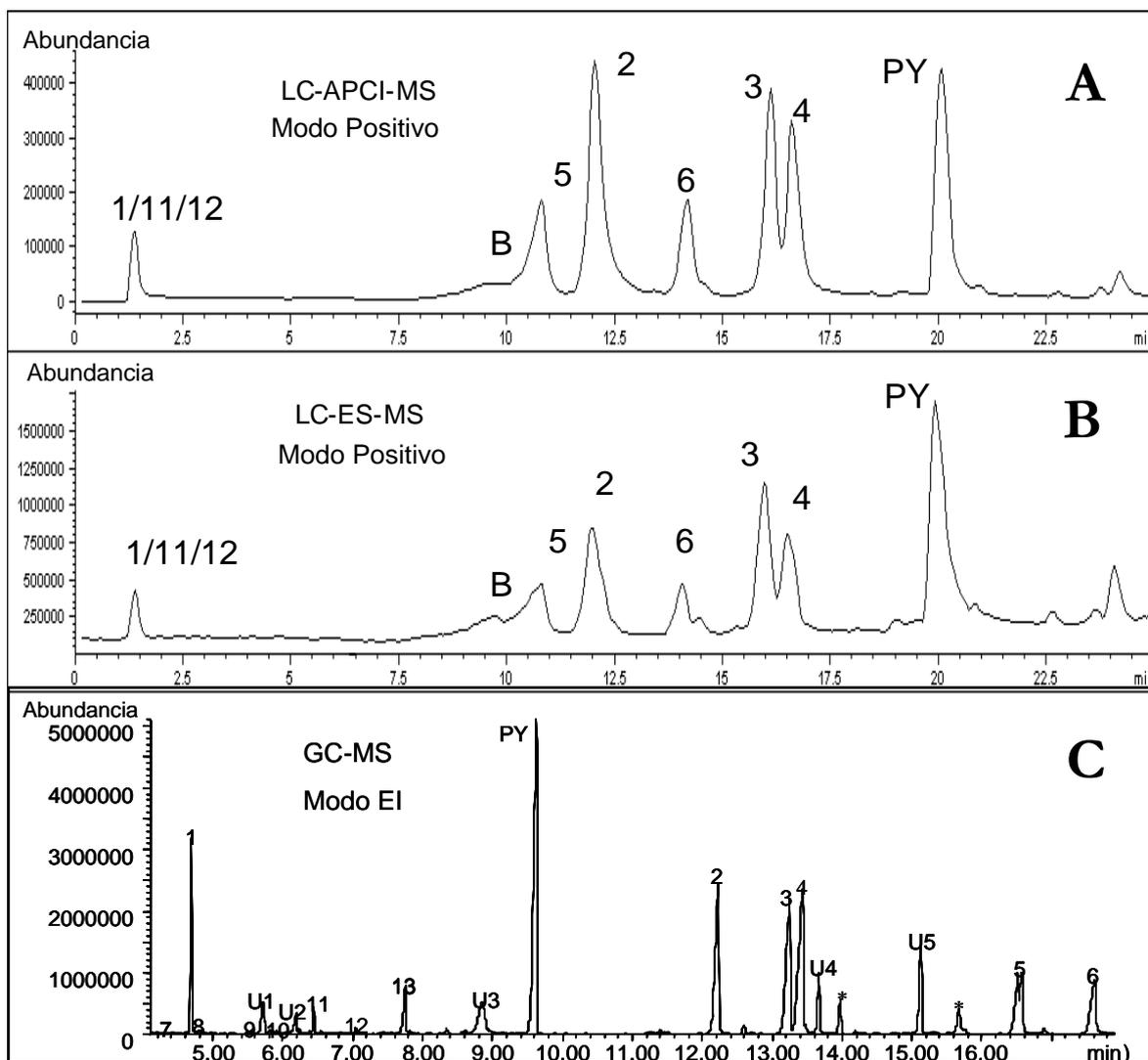


Figura 1.4.5. **A** y **B**: Cromatogramas obtenidos mediante LC-MS en el modo APCI y ES, correspondientes a una muestra acuosa procedente del tratamiento de pyrimetanil mediante fotocatalisis con  $\text{TiO}_2$ . **C**: Cromatograma GC-MS en el modo EI.

#### 1.4.5. Evaluación de la Toxicidad.

Los bioensayos son experimentos, normalmente llevados a cabo en el laboratorio, donde los efectos tóxicos originados por determinados contaminantes, son medidos bajo condiciones controladas [Paustenbach, 2000]. Dada la amplia variedad de bioensayos que existen, éstos se pueden clasificar dependiendo de: los organismos utilizados, el tiempo de exposición y la dosificación de la concentración del agente tóxico [Connell, 1997].

#### Clasificación en función de los organismos:

- Bioensayos con especies individuales.
- Bioensayos con múltiples especies.
- Bioensayos con sistemas basados en infra-organismos (células, orgánulos celulares, tejidos celulares).

#### Clasificación en función del tiempo de exposición:

- Bioensayos de *toxicidad aguda*: son los ensayos capaces de detectar los efectos tóxicos a corto plazo, con un tiempo máximo de exposición de 96 horas.
- Bioensayos de *toxicidad crónica*: son los ensayos capaces de detectar los efectos tóxicos que se generan a largo plazo.
- Bioensayos de *toxicidad subaguda*: son los ensayos donde el tiempo de exposición de los organismos no excede el 10 % de la vida media de la especie estudiada.
- Bioensayos *multigeneracionales*: son ensayos capaces de determinar si las sustancias contaminantes alteran los procesos reproductivos o producen efectos teratógenos, para ello estos bioensayos se llevan a cabo en varias generaciones de la especie estudiada.

Clasificación en función de la dosificación de la concentración de agente tóxico: Estos bioensayos son llevados a cabo con organismos acuáticos, y se clasifican en función de la concentración de sustancias tóxicas. La concentración de sustancias tóxicas en el medio acuoso puede ser mantenido empleando tres sistemas experimentales:

- *Sistemas Estáticos*: en los que los organismos son expuestos a la concentración total de agente tóxico en una sola dosis.
- *Sistemas Semi-estáticos*: en los que los organismos se exponen a la concentración total de agente tóxico en varias dosis, mediante la adición y sustitución del medio acuoso junto con la dosis fraccionada del agente tóxico.

- *Sistemas de flujo constante*: en los que los organismos se exponen a la concentración total de agente tóxico mediante la adición de forma constante de la disolución del agente tóxico en el medio acuoso.

En la mayoría de los casos, la aplicación de AOPs conduce a la total eliminación de los plaguicidas inicialmente presentes en las aguas de tratamiento [Agüera *y col.*, 1998b; Chiron *y col.*, 1997 y 2000; Herrmann *y col.*, 1999a y 1999c; Prousek, 1996; Pulgarin y Kiwi, 1996; Reynolds *y col.*, 1989], sin embargo, no siempre es posible alcanzar la total mineralización, al menos, dentro de un tiempo y con un coste razonables [Chiron *y col.*, 2000; Malato *y col.*, 1998 y 2000b; Romero *y col.*, 1999; Parent *y col.*, 1996]. De esta forma, intermedios tóxicos generados durante los procesos de degradación, pueden estar presentes en los efluentes, constituyendo así, un serio problema para el medio ambiente [Meyer y Thurman, 1996; Muneer *y col.*, 1999].

La determinación de la toxicidad del agua, en distintas fases del tratamiento de AOPs con bioensayos de toxicidad aguda, utilizando diferentes microorganismos [Fernández-Alba *y col.*, 2002a y 2002b] es otra forma de reducir los costes de operación de AOP. En este caso, la biodegradabilidad podría predecirse a menudo, (los productos de degradación intermedios podrían ser degradados por microorganismos en un post-tratamiento biológico [Pulgarín *y col.*, 1999; Parra *y col.*, 2000]) y es más, se puede determinar la biocompatibilidad con el medio ambiente. Actualmente hay numerosos procedimientos disponibles para bioensayos [Tohill y Turner, 1996], sin embargo, como la toxicidad es una respuesta biológica, un aparato de monitorización universal es poco probable que esté disponible y por lo tanto, para aumentar la confianza en la evaluación de toxicidad, es necesario utilizar una serie de distintos organismos de distintos grupos taxonómicos.

La correcta evaluación toxicológica de las mezclas complejas de reacción que se originan en las distintas etapas de los procesos de degradación fotocatalíticos, tampoco es tarea fácil. La toxicidad de estas mezclas es difícil de predecir, ya que a menudo se desconoce la identidad y concentración de cada compuesto presente en las muestras. Además, es necesario conocer el mecanismo de acción de los compuestos, tanto los originales como los productos de degradación, lo cual a menudo es imposible.

En la actualidad, hay un gran número de bioensayos que han sido desarrollados para determinar los niveles de toxicidad que los contaminantes pueden producir en organismos acuáticos. Los organismos incorporados en los “tests” normalizados de toxicidad incluyen cuatro grupos representativos del ecosistema marino o fluvial: microorganismos, plantas, invertebrados y peces; y sistemas infra-organismos [Tothill y col., 1996]. La Organización para Cooperación Económica y Desarrollo (OECD) sugiere cual debería ser el conjunto de datos mínimos para evaluar los efectos de los productos químicos en el medio ambiente. La OECD enumera dentro de este conjunto: la mortandad en peces, la reproducción dispar en crustáceos e inhibición del crecimiento en algas. Los dos ensayos principales de toxicidad en invertebrados utilizados rutinariamente son los ensayos de supervivencia y reproducción en 21-días de *Daphnia* y 7-días *Ceriodaphnia*. Los ensayos se realizan exponiendo los organismos a los contaminantes bajo condiciones controladas y después del período de incubación necesario, los organismos vivos se recuentan.

Los bioensayos de peces se vienen realizando desde hace décadas. Las distintas respuestas fisiológicas y de conducta de los peces a bajos niveles de contaminantes han sido empleadas en el desarrollo de peces “monitores” que actúan como indicadores de la calidad del agua [Tothill y col., 1996]. Los ensayos están basados generalmente en el crecimiento y supervivencia de larvas, donde los peces recién nacidos son expuestos a una serie de efluentes durante 1-2 días o incluso hasta 7 días. Los ensayos agudos de mortandad con peces miden la concentración de un contaminante que es letal para el 50 % de la población expuesta durante 96 h (LC<sub>50</sub>) a dicho compuesto. Especies como la trucha arco iris (*Oncorhynchus Mykiss*) y el pez cabezón (*Pimephales Promelas*) se utilizan normalmente. Durante los últimos años, se ha realizado investigación para reducir o reemplazar ensayos agudos de peces con pruebas in-vitro, utilizando células cultivadas de peces. La utilización de algas en bioensayos se ha comprobado que es útil para detectar metales, herbicidas, pesticidas y compuestos de petróleo en agua. Sin embargo, el cultivo y preparación de la suspensión de algas es un proceso largo y, además, es difícil de mantener un cultivo idéntico de algas cada vez que se realiza el bioensayo.

Muchos de los ensayos anteriores requieren equipos y operadores especializados y llevan mucho tiempo. La utilización de organismos más grandes tales como peces puede también ser éticamente indeseable. En los últimos años, ha aumentado el interés en la monitorización de bacterias para estudiar la toxicidad. Estudios de efectos sobre la función o

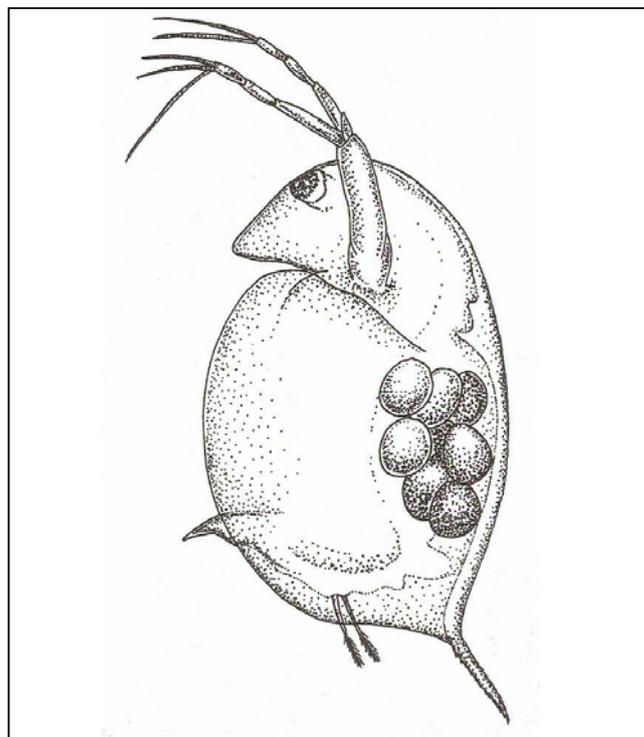
actividad microbiana constituye un intento más directo, rápido y sensible para medir estrés químico. Estos pueden ser clasificados por el tipo de medida utilizado:

- Monitorización de la transformación de carbón, sulfuro o nitrógeno.
- Determinación de la actividad de enzimas microbianas tales como las deshidrogenasas, adenosina trifosfatasa u otras.
- Medida de crecimiento, mortandad y fotosíntesis.
- Determinación de la actividad de absorción de glucosa utilizando radioisótopos.
- Medida de consumo de oxígeno utilizando electrodos de oxígeno o respirómetros.
- Medida de luminiscencia utilizando un luminómetro.

El desarrollo y aplicaciones de la toxicidad biológica están aumentando rápidamente. Ahora hay disponibles numerosos procedimientos de bioensayos, sin embargo, es difícil de establecer la sensibilidad de estos ensayos, y por lo tanto, un dispositivo de monitorización universal para los ensayos de toxicidad es poco probable. En cualquier caso, la mayoría de los estudios recientes han tratado sobre la utilización de ensayos de bacterias luminiscentes para monitorización de toxicidad. El uso de ensayos de toxicidad para la evaluación de tratamientos fotocatalíticos no es muy común por el momento [Acher *y col.*, 1997; Chiron *y col.*, 2000; Jardim *y col.*, 1997; Herrmann *y col.*, 1999b; Muneer *y col.*, 1999; Somich *y col.*, 1990].

En el presente trabajo se han utilizado tres tipos de bioensayos, pertenecientes a tres grupos taxonómicos diferentes: Invertebrados, bacterias y algas. Se ha determinado la evolución de la toxicidad en los procesos de degradación fotocatalíticos, con  $\text{TiO}_2$  y Foto-Fenton, de distintos plaguicidas, con los bioensayos Algotoxkit<sup>TM</sup>, Microtox<sup>TM</sup> y Daphtoxkit<sup>TM</sup>.

***Bioensayos con Invertebrados. “Daphnia Magna”.***



*Figura 1.4.6.* Dibujo del crustáceo *Daphnia Magna*.

“*Phylum Artrópoda*” es el grupo de animales más extenso, que comprende más de un millón de especies, la mayoría de los cuales son insectos. Los artrópodos se pueden encontrar en todos los ambientes, incluyendo en aguas continentales y marinas. De entre ellos dos tipos de artrópodos son usados extensamente en los tests de toxicidad, los crustáceos y los insectos. *Daphnia* es un pequeño crustáceo de agua dulce. *Daphnia pulex* alcanza una longitud máxima de aproximadamente 3.5 mm, mientras que *Daphnia Magna* es mucho más larga y alcanza una longitud de 5 a 6 mm. El tiempo de vida de *Daphnia*, desde que sale de la larva en la cámara de incubación hasta su muerte siendo ya adulta, es muy variable y depende de las especies y las condiciones ambientales [Pennak, 1989]. Generalmente, este aumenta según disminuye la temperatura. La vida media de *D. Magna* es aproximadamente 40 días a 25 °C y alrededor de 56 días a 20 °C. La vida media de *D. Pulex* es aproximadamente 50 días a 20 °C.

Los invertebrados son seleccionados como organismos de los tests de toxicidad porque representan un eslabón intermedio en la cadena alimenticia. Estos organismos forman el zooplancton que se alimenta de algas y constituyen un eslabón importante entre los

productores primarios y los peces. La especie *Daphnia Magna* es uno de los invertebrados más utilizados en los tests de toxicidad. La sensibilidad de *Daphnia Magna* a determinados contaminantes se pone de manifiesto en numerosos estudios relacionados con la evaluación toxicológica de determinados contaminantes como metales pesados, detergentes o plaguicidas [Alberdi y col., 1996; Juergenses y col., 2000; Moore y col., 1998; Sankaramanachi y col., 1999; Van Wijngaarden y col., 1996; Villarroel y col., 1999].

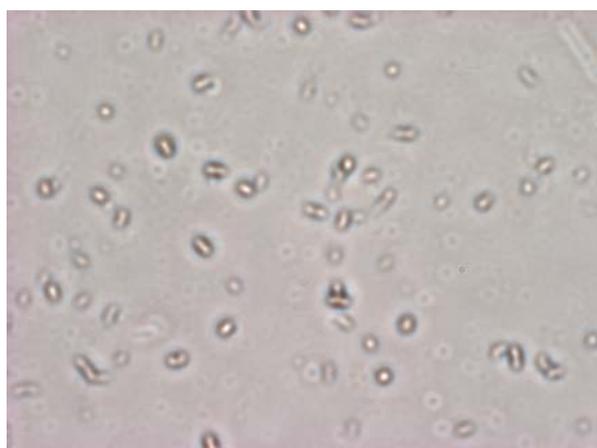
Plaguicidas	EC <sub>50</sub> (24 horas) µg/L	EC <sub>50</sub> (48 horas) µg/L
Diazinon	-	0.6
Lindano	1640	-
3,4-dicloroanilina	200	-
Pentaclorofenol	390	-
Clortalonil	130	-
Polyphase P-10	-	40
Cyanobacterin	-	1.37
Nuvacron	0.018	-
Malatión	0.007	-
Sevin	0.063	-
DDT	0.006	-
Keltane	0.071	-

Tabla 1.4.1. Sensibilidad de *Daphnia Magna* frente a determinados plaguicidas.

La especial sensibilidad de *Daphnia Magna* hacia determinados plaguicidas se muestra en la tabla 1.4.1, en la que se muestran valores de EC<sub>50</sub> obtenidos tras un tiempo de exposición de 24 y 48 horas [Ernst y col., 1991; Farell y col., 1998; Faucon y col., 2001; Fernández-Alba y col., 2001 y 2002; Fernández-Casalderrey y col., 1994; Ferrando y col., 1992; Klapes, 1990; Rawash y col., 1975]. La sensibilidad de *Daphnia Magna* hacia determinados compuestos, del orden de µg/L, ha hecho que este sea un bioensayo muy utilizado en la evaluación de la toxicidad de los contaminantes en aguas. En otros casos, en cambio, la sensibilidad de este organismo no es tan acusada, siendo del orden de mg/L. Por ejemplo, valores de toxicidad con *Daphnia Magna* (48h) para: Diuron = 12 mg/L; Imidacloprid = 85 mg/L; Pymetrozine = 100 mg/L; Naptalam = 118.5 mg/L; Benazolin = 233.4 mg/L [Tomlin, 1997].

### ***Bioensayos microbiológicos. Bacteria “Vibrio Fischeri”.***

Existe una gran variedad de bioensayos microbiológicos que son clasificados según la función biológica que es estudiada [Eisman *y col.*, 1999; Van Beelen *y col.*, 1997]. Así podemos encontrar (i) bioensayos basados en la actividad de determinados sistemas enzimáticos como deshidrogenasas, fosfatasa, y otras enzimas [Megharaj *y col.*, 1999; Riis *y col.*, 1996; Speir *y col.*, 1999; Suominen *y col.*, 1999]; (ii) bioensayos basados en el crecimiento y mortalidad de los cultivos bacterianos [Celebi *y col.*, 1996; Diaz-Baez *y col.*, 1996; Ghosh *y col.*, 1997]; (iii) bioensayos fundamentados en la mineralización de la glucosa [Botton *y col.* 1996; Hwang *y col.*, 1998; Romero *y col.*, 1999]; (iv) bioensayos fundamentados en la actividad respiratoria [Almanza *y col.*, 1996; De Moraes *y col.*, 1999; Murray *y col.*, 2000] y (v) bioensayos basados en la actividad bioluminiscente de las bacterias [Fernández-Alba *y col.*, 2001 y 2002; Ghosh *y col.*, 1997; Ruiz *y col.*, 1997; Thomulka *y col.*, 1993].



*Figura 1.4.7.* Fotografía de bacterias de la especie *Vibrio Fischeri*.

Los bioensayos de bacterias bioluminiscentes son test de inhibición metabólica que usan una suspensión estandarizada de bacterias luminiscentes bajo condiciones estándares. Estos métodos proporcionan unas medidas rápidas, fiables y útiles de la toxicidad determinada de aguas residuales. Los bioensayos de bacterias bioluminiscentes han sido validados para una gran variedad de aplicaciones medioambientales incluyendo la monitorización de efluentes, el análisis de sedimentos, de residuos peligrosos, aseguramiento de la eficiencia de procesos biológicos de depuración, y biomonitorización en general.

Las bacterias luminiscentes tienen varios atributos que respaldan su uso para bioensayos de toxicidad. Su pequeño tamaño (menor que una micra de diámetro) proporciona una relación superficie / volumen muy alta. Este hecho, así como su relativamente sencilla morfología y su carencia de compartimentación en las funciones internas, proporcionan muchos sitios activos en o cerca de la membrana citoplasmática. Las bacterias tienen muchas rutas metabólicas como la respiración, la fosforilación oxidativa, la estabilización osmótica, y el transporte de protones e iones dentro y fuera de la célula, que tienen lugar dentro o muy cerca de la membrana citoplasmática. La ruta de la luciferasa, la cual actúa como un portador directo de electrones al oxígeno para producir la reducción del flavin nucleótido, también está situada dentro de la compleja membrana de la célula. Esta caracterización celular, unida al hecho de que la respiración bacteriana es entre 10 y 100 veces mayor de la de la célula de los mamíferos, proporciona un sistema metabólico dinámico que nos provee de una cuantificable y fácilmente medible cantidad de luz que emite una suspensión bacteriana.

Cierta especie de bacterias luminiscentes invierten un 10 % de su energía respiratoria en una ruta metabólica específica que convierte la energía química en luz visible. Esta ruta está intrínsecamente ligada a la respiración; algún cambio en la respiración celular o alguna disfunción de la estructura de la célula lleva a un cambio en la respiración con un consecuente cambio en la cantidad de bioluminiscencia. En los bioensayos con bacterias luminiscentes, la luz que emiten los organismos que conforman el ensayo es medida bajo condiciones estándares, estos organismos son expuestos a una determinadas muestras a ensayar durante un tiempo específico y la luz emitida entonces es nuevamente medida. La reducción de los valores medidos después de esta exposición de los organismos a los contaminantes es esencialmente proporcional a la toxicidad de dichas muestras ensayadas.

Las bacterias bioluminiscentes también son utilizadas para la evaluación toxicológica de contaminantes ambientales como los plaguicidas. La sensibilidad de *Vibrio Fischeri* ha sido evaluada para bastantes plaguicidas [Ruiz y col., 1997] como se puede ver en la tabla 1.4.2. Por esta razón lo hemos utilizado para la consecución de este trabajo.

Plaguicidas	EC <sub>50</sub> (15 min) (µg/L)	RSD %
Bentazone	28.58	14.99
Carbaril	0.79	11.97
Carbofuran	23.6	16.82
Clormequat	1482	13.82
Diazinon	74.58	5.66
Diquat	71.4	7.47
Difenzoquat	25.26	4.51
Iprodiona	>11.25	-
Malation	33.73	14.65
Mepiquat	>3600	-
Clorpyrifos-metil	>11.25	-
Molinate	8.36	9.58
Paraquat	349.6	11.19
Pirimicarb	>22.5	-
Prometrin	>22.5	-
Propanil	28.15	9.18
Tetraclorvinfos	2.56	5.26

Tabla 1.4.2. Sensibilidad de *Vibrio Fischeri* a algunos plaguicidas [Ruiz y col., 1997].

***Bioensayo con microalgas: Selenastrum Capricornotum.***

Las algas son plantas unicelulares y pluricelulares que se proliferan en agua tanto dulce como marina y en ambientes húmedos. Todas las algas poseen clorofila, el pigmento verde esencial para la fotosíntesis. Las algas pueden contener pigmentos adicionales tales como fucoxanthin (marrón) o phycoerythrin (rojo), que pueden enmascarar el color verde de la clorofila. El ciclo de vida de las algas puede ser sencillo, conteniendo división de células, o complejo, conteniendo alteración de generaciones. Las algas son productores primarios de materia orgánica de la que dependen animales bien directa o indirectamente a través de la cadena alimenticia. Los procedimientos de bioensayos que utilizan algas son importantes para determinar la productividad primaria de un agua y para ensayar la toxicidad de los productos químicos presentes en el agua. Estos bioensayos permiten la evaluación de los efectos de una

descarga en aguas dulces y marinas. Los bioensayos de algas constan de tres pasos fundamentalmente: (a) selección y medida de los factores más apropiados o condiciones ideales para la realización del ensayo (ej. indicadores de biomasa); (b) presentación y análisis estadístico de las medidas obtenidas; y (c) interpretación de resultados.



Figura 1.4.3. Fotografía de microalgas de la especie *Selenastrum Capricornotum*, realizada con un microscopio electrónico acoplado a una cámara DCA.

El procedimiento de los bioensayos con algas para determinar productividad primaria de una muestra de agua está basado en la “Ley del Mínimo” de Liebig que dice que el crecimiento está limitado por aquella sustancia que está presente en menor cantidad con respecto a la necesidad que tiene organismo de la misma. Los bioestimulantes son sustancias que aumentan el crecimiento del alga o el potencial para el crecimiento de la misma. Las especies de algas utilizadas en los bioensayos de bioestimulación están seleccionadas para un ensayo estándar de respuesta de crecimiento utilizando un organismo bien caracterizado bajo condiciones estándares de laboratorio. Los resultados se evalúan comparando el crecimiento de las algas en presencia de nutrientes seleccionados y con la adición de quelatos para el crecimiento controlado de las algas en contacto con los contaminantes. Los diseños experimentales deben incorporar suficientes réplicas para permitir la evaluación estadística de los resultados.

Se han desarrollado bioensayos basados en el crecimiento de plantas y algas. Las algas representan un componente importante de cualquier comunidad acuática porque son el primer eslabón en la cadena alimenticia, siendo el alimento del zooplancton. Así, una sustancia no

necesita ser directamente tóxica para los peces u otros animales acuáticos para impactar severamente sobre el medio acuático. Especies de microalgas como *Selenastrum Capricornotum* se emplean en la evaluación de la toxicidad por su gran sensibilidad hacia los metales, plaguicidas y compuestos derivados del petróleo [Caux y col., 1996; El-dib y col., 1997; Faust y col., 1994; Geis y col., 2000; Haglund, 1997; Rojickva-Padrtova y col., 1999].

<b>Plaguicidas</b>	<b>EC<sub>50</sub> (48 horas) (µg/L)</b>
Diuron	45
2-clorofenol	540
Chlorthalonil	6.8
Irgarol	10.8
Metronidazole	40400
Estireno	720
Surfactantes	500
TBT	3

Tabla 1.4.3. Sensibilidad de *Selenastrum Capricornotum* frente a determinados Contaminantes.

**ANEXO I:**  
**AOPs / Técnicas Analíticas Avanzadas**



Esta tabla pretende ser un resumen de parte de la revisión bibliográfica llevada a cabo durante la realización de esta Tesis Doctoral. En ella se recogen todas las referencias revisadas en las que se han utilizado AOPs para el tratamiento de aguas contaminadas con plaguicidas y en las que se han aplicado Técnicas Analíticas Avanzadas para evaluar los resultados.

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
Acrinathrin	Chiron y col., Aceptado.	O <sub>3</sub>	GC-MS/EI GC-MS/CI
	Malato y col., 2000c.	TiO <sub>2</sub>	GC-TI-MS/EI GC-TI-MS/CI
Alachlor	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Moza y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS RMN
	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
	Peñuela y col., 1996.	TiO <sub>2</sub> Foto-Fenton	GC-ECD GC-MS/EI SPE
	Somich y col., 1998.	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN IR R-X
Aldicarb	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
Amitrole	Legube y col., 1987.	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN
Atrazine	Craig y col. 1992.	O <sub>3</sub>	GC-MS/EI LC-MS/TSP SPE
	Agüera y col., 1998b.	O <sub>3</sub>	GM-MS/EI y CI LC-MS/API y ESP SPE
	Arnold y col., 1995.	Foto-Fenton	LC-MS/ ESP y TSP GC-MS/EI
	Chiron y col., 2000.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS LC-MS Toxicity

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
	Legube y col., 1987.	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN
	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
	Kearney y col., 1988.	O <sub>3</sub>	GC-MS/EI
	Koga y col., 1992.	O <sub>3</sub>	GC-MS
	Richard y col., 1991.	Foto-Fenton	GC-MS SPE
	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
	Nelieu y col., 1996.	O <sub>3</sub>	GC-TID GC-MS/EI y CI
	Pellizzetti y col., 1990.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-NPD SPE
	Pellizzetti y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-MS/CI
	Somich y col., 1990.	O <sub>3</sub>	Toxicidad
	Sun y Pignstello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
	Zwiener y col., 1993.	O <sub>3</sub>	GC-NPD GC-MS/EI SPE
Azinphos-methyl	Sun y Pignstello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
Bentazon	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
Bendiocarb	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Benzopyran	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
BHT	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
Bromacil	Acher y col., 1997.	O <sub>3</sub>	LC-MS RMN Toxicidad
	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
Bromoxynil	Guittonneau y col., 1995.	O <sub>3</sub>	GC-MS
	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
Butylate	Mogyorodi y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Vidal, 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Carbaril	Sun y Pignatello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
Carbofuran	Mansour y col., 1997.	TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
Chloroxynil	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
Chlorsulfuron	Maurino y col., 1999.	TiO <sub>2</sub>	HPLC-MS
Cianobenzoato	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
Cyanazine	Somich y col., 1990.	O <sub>3</sub>	Toxicidad
Cycloate	Mogyorodi y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Vidal, 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
2,4-D	Chiron y col., 2000.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS LC-MS Toxicity
	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	D'Oliveira y col., 1993b.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
	Lu y col., 1997.	TiO <sub>2</sub>	Toxicidad
	Pichat y col., 1993a.	TiO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
	Pichat y col., 1993b.	TiO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV O <sub>3</sub>	GC-MS
	Piera y col., 2000.	TiO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / O <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS
	Somich y col., 1990.	O <sub>3</sub>	Toxicidad

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
	Sun y Pignatello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
	Sun y Pignatello, 1993a.	Foto-Fenton	GC-MS
DBCP	Glaze y col., 1989.	O <sub>3</sub>	GC-MS
	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
DCB	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
DDT	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Galadi y col., 1995.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-FID
	Zaleska y col., 2000.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD SPME
Diazinon	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Mansour y col., 1997.	TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
Dichloroanilina	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
Dichlorvos	Koga y col., 1992.	O <sub>3</sub>	GC-MS
DCP	D'Oliveira y col., 1993a.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID
	Jardim y col., 1997.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS Toxicidad
	Sehili y col., 1991.	ZnO	GC-MS
	Tseng y col., 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID
DDVP	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Koga y col., 1992.	O <sub>3</sub>	GC-MS
Dicofol	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
	Ormand y col., 1994.	O <sub>3</sub>	GC-MS GC-ECD Toxicidad
Diuron	Muneeer y col., 1999.	TiO <sub>2</sub>	Toxicidad
	Tahmasseb y col., 2002.	O <sub>3</sub>	MS DCI-MS-MS LC-ESI-MS SPE
Endrin	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
EPTC	Mogyorodi y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID SPE
	Vidal, 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Fenitrothion	Agüera y col., 1998b.	O <sub>3</sub>	GM-MS/EI y CI LC-MS/API y ESP SPE
	Chiron y col., 2000.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS LC-MS Toxicity
	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Kerzhentsev y col., 1996.	TiO <sub>2</sub>	GC-FID GC-MS/EI
Fenobucarb	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Fenuron	Richard y col., 1996.	TiO <sub>2</sub> ZnO	GC-MS/EI
Formetanato	Marinas y col., 2001.	TiO <sub>2</sub>	LC-MS SPE
Glyfosate	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
Imidacloprid	Agüera y col., 1998a.	TiO <sub>2</sub>	GC-IT-MS/EI y CI LC-MS/API SPE

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
Iprobenfos	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Irgarol	Peñuela y col., Pendiente.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub>	LC-MS-ESP GC-MS/EI
Isoprothiolano	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Isoproturon	Mansour y col., 1997.	TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
	Mascolo y col., 2001.	O <sub>3</sub>	LC-MS LC-MS-MS SPE
Lindano	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Guillard y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI y CI GC-FID
	Guillard y col., 1996.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-FID
	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
	Vidal y col., 1994.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD SPE
	Zaleska y col., 2000.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD SPME
Linuron	Tahmasseb y col., 2002.	O <sub>3</sub>	MS DCI-MS-MS LC-ESI-MS SPE
Malathion	Laplanche y col., 1984	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN IR
	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
	Somich y col., 1990.	O <sub>3</sub>	Toxicidad

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
MCPA	Benoit-Guyod y col., 1986.	O <sub>3</sub>	GC-MS GC-FID
Mecoprop	Topalov y col., 2000.	TiO <sub>2</sub>	RMN
Metamitro	Mansour y col., 1997.	TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
Methoxychlor	Zaleska y col., 2000.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD SPME
Metolachlor	Agüera y col., 1998b.	O <sub>3</sub>	GM-MS/EI y CI LC-MS/API y ESP SPE
	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Pignatello y Sun, 1995.	Foto-Fenton	GC-MS GC-FID
	Somich y col., 1990.	O <sub>3</sub>	Toxicidad
Metobromuron	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
MITC	Vidal y col., 2001.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS XPS SPE
MMPU	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
Molinate	Mogyorodi y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID SPE
	Vidal, 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Konstantinou y col., 2001.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD GC-FID SPE
Monocrotophos	Hua y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	TF-IR
Monuron	Pramauro y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-TID GC-TCD SPE
	Tahmasseb y col., 2002.	O <sub>3</sub>	MS DCI-MS-MS LC-ESI-MS SPE

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
Paraoxon	Laplanche y col., 1984	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN IR
Paraquat	Somich y col., 1990.	O <sub>3</sub>	Toxicidad
Parathion	Chiron y col., 2000.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS LC-MS Toxicity
	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Laplanche y col., 1984	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN IR
	Zwiener y col., 1993.	O <sub>3</sub>	GC-NPD GC-MS/EI SPE
Parathion-methyl	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Pignatello y Sun, 1995.	Foto-Fenton	GC-MS GC-FID
Pendimethalin	Mansour y col., 1997.	TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
	Moza y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS RMN
PCP	Engwall y col., 1999.	Foto-Fenton	GC-MS GC-FID Toxicidad
	Jardim y col., 1997.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS Toxicidad
	Minero y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI
	Puma y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD SPE
	Tseng y col., 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID
Perbutrin	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
Phosalone	Laplanche y col., 1984	O <sub>3</sub>	GC-MS RMN IR

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
Picloram	Haag y col., 1992.	Foto-Fenton O <sub>3</sub> Cu <sup>2+</sup> /isopropanol	GC-MS GC-ECD HPLC-DAD
	Sun y Pignatello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
Pyrimethanil	Agüera y col., 2000a.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/CI y EI LC-MS/APCI Y ES SPE
Pirimiphos-Methyl	Herrmann y col., 1999b.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/CI y EI LC-MS/APCI Y ES Toxicidad SPE
Procymidone	Hustert y Moza, 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub>	GC-MS RMN
Promethon	Richard y col., 1991.	Foto-Fenton	GC-MS SPE
	Pellizzetti y col., 1990.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-NPD SPE
Prometryn	Richard y col., 1991.	Foto-Fenton	GC-MS SPE
	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
	Pellizzetti y col., 1990.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-NPD SPE
Propachlor	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
Propazine	Muszkat y col., 1995.	TiO <sub>2</sub>	GC-TID GC-MS
	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
	Pellizzetti y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-MS/CI
Propanil	Konstantinou y col., 2001.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-ECD GC-FTD SPE
Propyzamide	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
	Torimoto y col., 1996.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-TCD GC-FID
Simazine	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE

Plaguicida	Referencia	AOPs Aplicado	Evaluación de PDs
	Koga y col., 1992.	O <sub>3</sub>	GC-MS
	Pellizzetti y col., 1990.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-NPD SPE
	Pellizzetti y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-MS/CI
2,4,5-T	Barbeni y col., 1987.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI
	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Pignatello y Huang, 1993.	Foto-Fenton	GC-MS
	Sun y Pignatello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
2,3,6-TBA	Bianco-Prevot y Pramauro, 1999b.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-TCD
Terbuthylazine	Mansour y col., 1997.	TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /UV	GC-MS
Terbutryn	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS
Tetrachlororvinphos	Kerzhentsev y col., 1996.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI y CI GC-FID
Tetradifon	Chiron y col., 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	GC-MS/EI y CI LC-MS/API GC-NPD GC-ECD SPE
	Ormand y col., 1994.	O <sub>3</sub>	GC-MS GC-ECD Toxicidad
Thifensulfuron-Methyl	Maurino y col., 1999.	TiO <sub>2</sub>	HPLC-MS
Thiram	Hasegawa y col., 1998.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Trichlorophenol	Barbeni y col., 1987.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI
	D'Oliveira y col., 1993a.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID
	Jardim y col., 1997.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS Toxicidad
	Tseng y col., 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID
Trietazina	Muszkat y col., 1992.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS

<b>Plaguicida</b>	<b>Referencia</b>	<b>AOPs Aplicado</b>	<b>Evaluación de PDs</b>
	Pellizzetti y col., 1990.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS/EI GC-NPD SPE
Trifluralin	Sun y Pignatello, 1993b.	Foto-Fenton	GC-MS
Vernolate	Mogyorodi y col., 1993.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS GC-FID SPE
	Vidal, 1991.	TiO <sub>2</sub>	GC-MS SPE
Vinclozolin	Hustert y Moza, 1997.	Foto-Fenton TiO <sub>2</sub>	GC-MS RMN

## **2. EXPERIMENTAL**

## 2.1. PLANTA PILOTO SOLAR

### 2.1.1. Colectores Solares

Todos los experimentos llevados a cabo en este trabajo fueron realizados en la Plataforma Solar de Almería (PSA) (latitud 37 °N, longitud 2.4 °W, usando irradiación solar natural. Se ha utilizado un campo de colectores Cilindro Parabólicos Compuestos (CPC, colectores solares sin concentración) para las experiencias de degradación fotocatalíticas tanto con  $\text{TiO}_2$  como con Foto-Fenton. La figura 2.1.1 muestra una fotografía de los colectores CPC de la planta piloto. Este reactor solar fue construido en la PSA en una de las tareas del proyecto europeo (BRPR-CT97-0424(DG12-GZMM)) del programa Brite-Euram [Blanco *y col.*, 1999b; Funken *y col.*, 2001; Malato *y col.*, 2002a; Parra *y col.*, 2001].



*Figura 2.1.1.* Fotografía de CPC tomada en la PSA

En dicho proyecto se realizaron una serie de cálculos ópticos utilizando un programa de trazado [Blanco, 2002]. Esto tenía el objetivo de averiguar cual era el comportamiento óptico de los colectores tipo CPC. Los primeros prototipos de CPC se construyeron basados en los siguientes datos de diseño:

Ángulo de aceptación:  $90^\circ$   
Ángulo de truncado:  $90^\circ$   
Radio interno del absorbedor: 14.6 mm  
Radio externo del absorbedor: 16.0 mm  
Espesor de pared de tubo: 1.4 mm  
Valor de concentración: 1.0

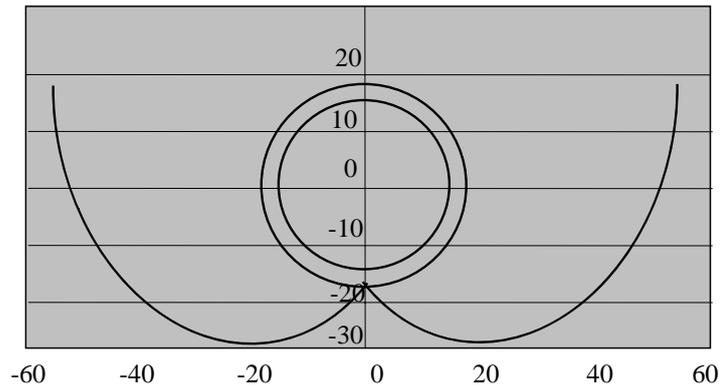


Figura 2.1.2.a. Diseño del tubo absorbedor colocado en el eje del CPC

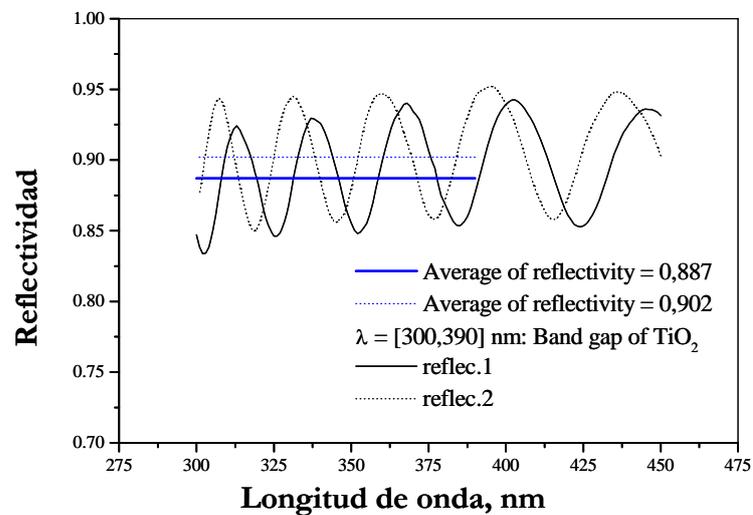


Figura 2.1.2.b. Medidas de reflectividad de los CPC.

Los resultados de simulación muestran que las pérdidas ópticas resultantes en el colector tienen un valor insignificante. La figura 2.1.2.a muestra el diseño del colector y la figura 2.1.2.b muestra las medidas de reflectividad del espejo de aluminio para el intervalo espectral solar que nos interesa.

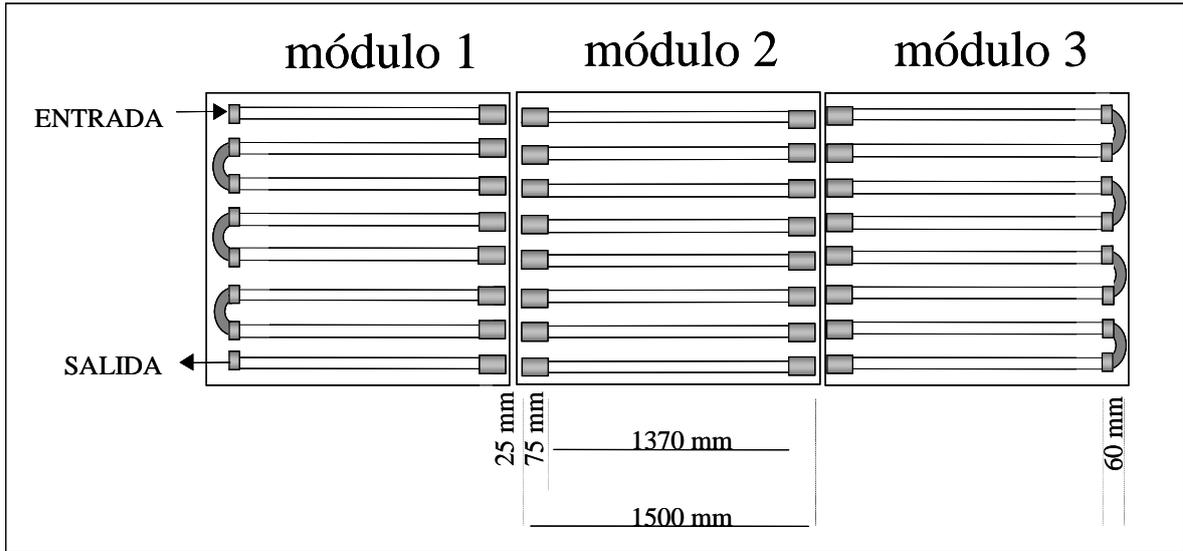


Figura 2.1.3.a. Esquema de las conexiones entre tubos y conectores terminales de los prototipos.



Figura 2.1.3.b. Fotografía de los conectores terminales de los prototipos.

Se construyeron así dos prototipos gemelos y se instalaron en la PSA. El reflector CPC está fabricado con aluminio altamente anodizado. Cada colector está construido con un marco de chapa galvanizada y 8 tubos que permiten la entrada y salida del agua por ambos lados. Cada tubo tiene en su extremo un conector para unirlo al tubo del siguiente colector o a otro adyacente. Las figuras 2.1.3.a y 2.1.3.b muestran las conexiones y sus dimensiones, en forma de esquema y fotografía respectivamente. En la figura 2.1.4 se muestra la estructura soporte de

cada módulo, con la posibilidad de distintos ángulos de inclinación, así como una fotografía general de los mismos.

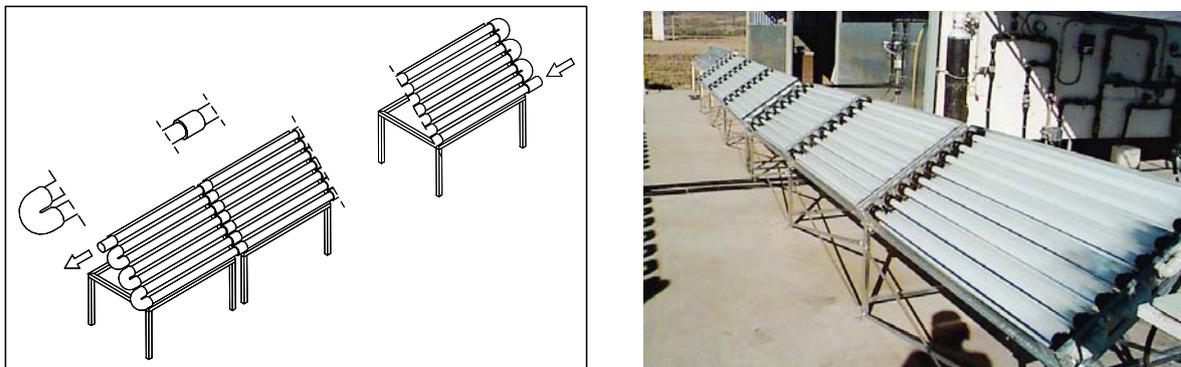


Figura 2.1.4. Estructura del módulo y fotografía del sistema.

### 2.1.2. Fotorreactores.

Número total de tubos	8 tubos / módulo x 3 módulos = 24 tubos
Longitud total de un tubo	1500 mm
Longitud irradiada de un tubo	1370 mm
Diámetro exterior de un tubo	32 mm
Grueso de pared de un tubo	1.4 mm
Transitividad de los tubos	$0.900 \leq \tau \leq 0.915$ ( $\lambda \geq 350$ nm)
Reflectividad media (300-390 nm)	0.895
Área total irradiada de un tubo	1.0275 m <sup>2</sup>
Área total irradiada de un reactor	3.0825 m <sup>2</sup>
Volumen total del reactor	35-40 L
Volumen total irradiado del reactor	22 L
Caudal	20 L/min

Tabla 2.1. Características de cada reactor de las dos plantas de la PSA utilizados en esta Tesis.

La configuración actual del campo CPC-PSA tiene dos reactores gemelos. Cada reactor consiste en 3 módulos, donde un módulo está formado por 8 tubos transparentes. Los datos técnicos de los tubos y CPC están presentados en la tabla 2.1.

Los tres módulos de cada reactor están montados en una plataforma fija inclinada  $37^\circ$  (latitud local). La figura 2.1.4 muestra una foto del sistema. Los tres módulos están conectados en serie y el agua circula directamente de uno a otro y al final hasta un tanque. Una bomba centrífuga devuelve el agua a los colectores. Esto hace que el agua circule en un circuito formado por tubos de vidrio irradiados y tubos opacos de HDPE (polietileno de alta densidad) que los conectan con el tanque. El volumen total del reactor está por tanto dividido en dos partes: una de ellas de 22 L (7.3 L por colector) que es el volumen total irradiado y el resto está formado por tuberías y tanques. Las figuras 2.1.5 y 2.1.7 muestran esquemas técnicos de la totalidad de la planta piloto, en los que se muestran los dos reactores gemelos.

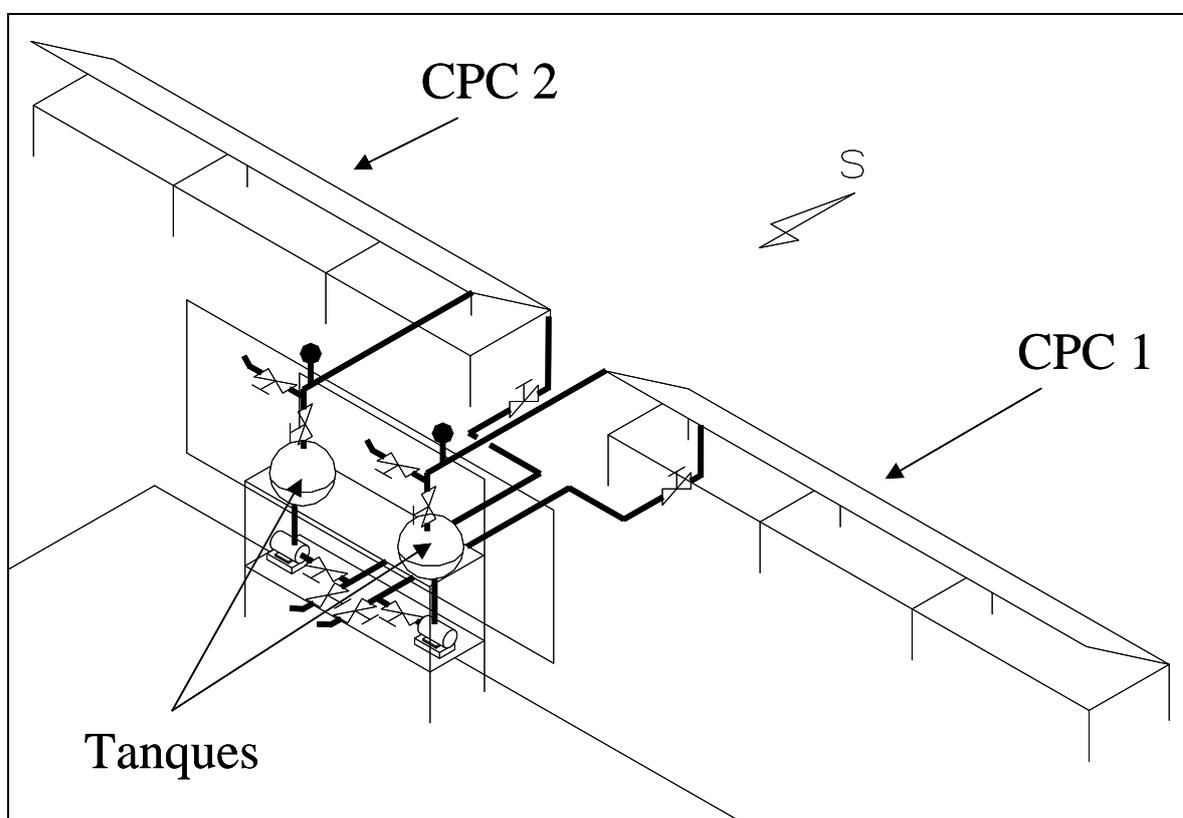


Figura 2.1.5. Esquema técnico isométrico de la Planta piloto de la PSA.

El tanque utilizado es un matraz esférico de vidrio borosilicatado. Tiene un volumen de 10 L y tiene una marca que indica el nivel correcto para alcanzar un volumen total dentro del reactor. En la figura 2.1.6 se muestra una fotografía de los dos tanques. Es posible observar que cada tanque tiene una tapa de cristal que permite introducir algunos elementos durante un ensayo tales como reactivos, gas (aire, oxígeno, gas inerte, etc), un electrodo de pH

o cualquier otro elemento útil. En la tubería de entrada de ambos tanques se han colocado dos termopares (Philips, Digital-280) que indican la temperatura dentro del reactor.



Figura 2.1.6. Fotografía de los tanques del reactor CPC en la planta piloto.

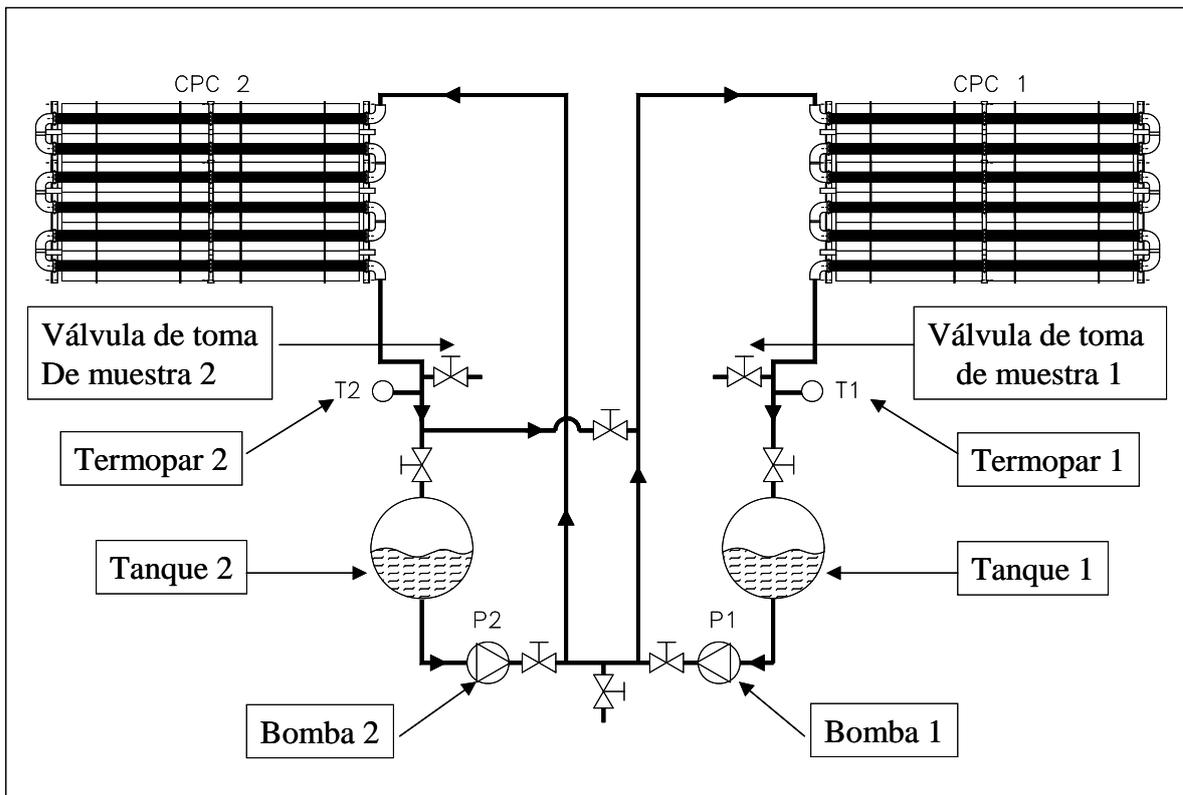


Figura 2.1.7. Diagrama de Flujo del módulo, tanques y conexiones de la planta piloto de la Plataforma Solar de Almería.

### 2.1.3. Materiales Empleados en el Sistema Experimental.

El agua utilizada para la realización de las experiencias en la planta piloto es agua destilada proveniente de la Planta Desalinizadora construida en la Plataforma Solar de Almería, que tiene una conductividad menor de 10  $\mu\text{S}$ , una concentración de cloruros y nitratos de 0.2 y 0.5 mg/L respectivamente y un TOC (carbono orgánico total) menor de 0.5 mg/L.

#### Fotocatálisis Heterogénea con $\text{TiO}_2$ :

Las experiencias son realizadas con dióxido de titanio en suspensión. El  $\text{TiO}_2$  utilizado es Degussa P-25 (Frankfurt, Alemania), que tiene un área superficial de 51-55  $\text{m}^2\text{g}^{-1}$ . Tanto la recuperación del catalizador de la suspensión como su reuso ha sido previamente estudiada y desarrollada. La recuperación del catalizador se logra mediante sedimentación acelerada e inducida de las partículas de dióxido de titanio [Blanco *y col.*, 1999a y 2000], la cual depende de la estabilidad coloidal, movilidad y tamaño de las partículas.

#### Fotocatálisis Homogénea con Foto-Fenton:

Para preparar un experimento de foto-Fenton se debe ajustar el pH del agua del reactor, que ya contiene el contaminante, a  $\text{pH} = 2.7$ , para evitar la formación de hidróxidos que precipitarían en el medio. Para ello, se utiliza una solución de ácido sulfúrico 2 N preparada con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (96 % p.a. de Merck). Se añade al tanque de mezcla la cantidad necesaria (p.e.: 30 mL para 40 L de agua) de dicha disolución y se recircula el agua por todo el sistema durante 15 minutos para homogeneizar la concentración. Transcurrido este tiempo se comprueba que el pH del agua es correcto.

Cuando el pH es correcto se añade al tanque el hierro en forma de solución concentrada de una sal de  $\text{Fe}^{2+}$ : Para preparar dicha disolución, se disuelve en aproximadamente 100 mL de agua destilada la cantidad necesaria de sulfato ferroso heptahidratado (que es la sal de hierro (II) seleccionada), para obtener en el reactor la concentración de  $\text{Fe}^{2+}$  deseada para realizar las experiencias con foto-Fenton, que normalmente es de 0.05 mM. El  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  utilizado es de calidad p.a. de Panreac. Esta

solución es añadida al tanque de mezcla y con el sistema en recirculación se esperan 15 minutos para que se homogenice la concentración.

El último reactivo que es necesario añadir al sistema para una experiencia con foto-Fenton es  $H_2O_2$ . El peróxido de hidrógeno utilizado en la planta piloto proviene de garrafas de 25 L (p.s. Panreac), que tienen una concentración del 30 % p/v de  $H_2O_2$ .

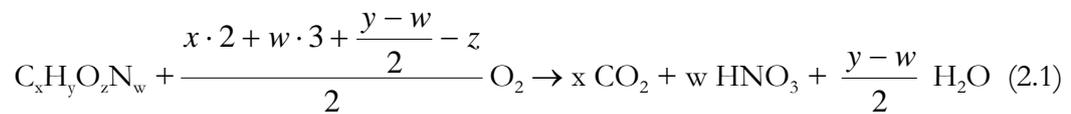
#### **2.1.4. Procedimiento Experimental.**

Al principio de los experimentos, con los colectores tapados, todos los productos químicos se añaden al tanque y se mezclan hasta alcanzar una concentración homogénea en todo el sistema. Entonces se retira la cubierta y se toman muestras a tiempos determinados. A veces, solo ha sido descubierto uno de los módulos ( $1.03\text{ m}^2$  y 7.3 L volumen iluminado) para ralentizar los experimentos y permitir la correcta evaluación de algunos de los parámetros relacionados con el proceso. Cada uno de los dos fotorreactores que conforman la planta piloto se usa respectivamente, para  $TiO_2$  y foto-Fenton. De esta forma se asegura la ausencia de interferencias en los resultados por: contaminación de los fotorreactores, confusión en la toma de muestras, etc.

En las experiencias con  $TiO_2$  hay que añadir en el reactor la cantidad de dióxido de titanio necesario para alcanzar una concentración final de 200 mg/L (si se trabaja con 35 L en el fotorreactor, habría que añadir 7 g de  $TiO_2$ ) y la cantidad correspondiente del compuesto que se está estudiando.

En las experiencias con foto-Fenton se modifica el pH del agua con ácido sulfúrico, se añade hierro (II) sulfato ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) y la cantidad correspondiente del compuesto estudiado en cada experimento (los detalles han sido comentados en la sección 2.1.3). El  $H_2O_2$  se dosifica durante todo el experimento intentando mantener la concentración suficiente y necesaria para el correcto transcurso de la reacción. La cantidad de peróxido de hidrógeno necesaria para mineralizar un compuesto se calcula mediante el procedimiento que se describe a continuación. Es necesario comentar que en la gran mayoría de los casos ha sido necesario adicionar más  $H_2O_2$  de la calculada teóricamente, debido a que no todo este peróxido de hidrógeno añadido se aprovecha eficientemente en la reacción, tal cual se describe en la discusión de resultados de los capítulos 3, 4, 5 y 6 de este trabajo de investigación.

Si se desea degradar un contaminante  $C_xH_yO_zN_w$  hasta su oxidación total a  $CO_2$ ,  $H_2O$  y su sal correspondiente, que en este caso, por contener nitrógeno sería nitrato (si contuviera azufre sería sulfato, si fuera fósforo sería fosfato, o cloro sería cloruro, etc.), se necesitan  $\frac{x \cdot 2 + w \cdot 3 + \frac{y - w}{2} - z}{2}$  moles de  $O_2$  según la reacción 2.1. Si este oxígeno proviniese en su totalidad del agua oxigenada según la reacción 2.2 para completar la reacción de oxidación necesitaríamos  $x \cdot 2 + w \cdot 3 + \frac{y - w}{2} - z$  moles de  $H_2O_2$  por cada mol de esta sustancia a degradar.



### 2.1.5. Radiación Solar Incidente en el Fotorreactor.

Las constantes cinéticas de los procesos fotocatalíticos pueden ser obtenidas mediante la representación de la concentración de sustrato en función de tres variables diferentes: tiempo, radiación incidente dentro del reactor y flujo fotónico absorbido por el catalizador. Dependiendo del procedimiento, la complejidad de estas constantes varía tanto como su aplicabilidad. Cuando se usa el flujo fotónico absorbido por el catalizador como variable independiente, la extrapolación de los resultados es mejor. Sin embargo, deben ser conocidos para esto algunos parámetros como los fotones incidentes que pasan a través del reactor sin interacción con el catalizador, dirección de la luz dispersada, distribución de tamaño de las partículas suspendidas en el líquido, etc., lo cual es impracticable en el reactor utilizado para la realización de esta tesis doctoral. El uso del tiempo experimental como unidad de cálculo podría originar errores en la interpretación de los resultados, ya que el reactor tiene elementos iluminados y no iluminados. Los reactores experimentales, como el utilizado en este trabajo, requieren mucha instrumentación y el reactor debe ser también lo más versátil posible, lo cual incrementa sustancialmente el volumen no iluminado. Usando el tiempo de residencia, que es

el tiempo que el agua está expuesta a la radiación, las conclusiones serían erróneas también. Esto es debido a que cuando el tiempo es la variable independiente, las variaciones en la radiación incidente en el reactor durante un experimento no son tomadas en cuenta. Por tanto, es necesario llegar a una solución de compromiso para incluir la *radiación solar incidente en el reactor* en los cálculos cinéticos de los experimentos de degradación realizados. A continuación se comenta someramente el método utilizado en este trabajo de investigación, que ha sido discutido en detalle con anterioridad en [Malato *y col.*, 2000a].



Figura 2.1.8. Fotografía del Radiómetro de UV global utilizado en esta Tesis Doctoral.

Consiste en una aproximación matemática para el tratamiento de los datos obtenidos en experimentos solares reales usando una relación entre la concentración de contaminante ( $C_t$ ), el tiempo experimental ( $t$ ), el volumen de planta ( $V_t$ ), superficie de los colectores iluminada ( $A_t$ ) y la densidad de la radiación ( $UV_G = W_{UV} \text{ m}^{-2}$ ) medida por un radiómetro. Como los datos de radiación son recogidos continuamente, es muy fácil calcular el promedio de la radiación incidente sobre la superficie del colector ( $\overline{UV}_{G,n}$ ), para cada periodo de tiempo ( $t$ ), y además calcular la energía acumulada en ese periodo. Consecuentemente, la cantidad de energía recogida por los colectores (por unidad de volumen) desde el comienzo del experimento hasta que cada muestra es tomada puede ser expresada mediante la siguiente ecuación:

$$Q_{UV,n} = Q_{UV,n-1} + \Delta t_n \overline{UV}_{G,n} \frac{A_r}{V_t} \quad (2.1)$$

$$\Delta t_n = t_n - t_{n-1}$$

donde  $t_n$  es el tiempo experimental de cada muestra y  $Q_{UV,n}$  es la energía acumulada (por unidad de volumen,  $\text{kJ L}^{-1}$ ) incidente en el reactor para cada muestra tomada durante el experimento. Para evaluar  $\overline{UV}_{G,n}$ , se ha utilizado el siguiente equipo (ver figura 2.1.8): Sensor de medida de la radiación global UV (KIPP&ZONEN, modelo CUV3) montado en una plataforma fija inclinada  $37^\circ$  (el mismo ángulo que los CPCs). Este radiómetro proporciona datos en términos de radiación incidente,  $W_{UV} \text{ m}^{-2}$ , los cuales dan una idea de la energía que reciben las superficies que están en la misma posición que él con respecto al Sol.

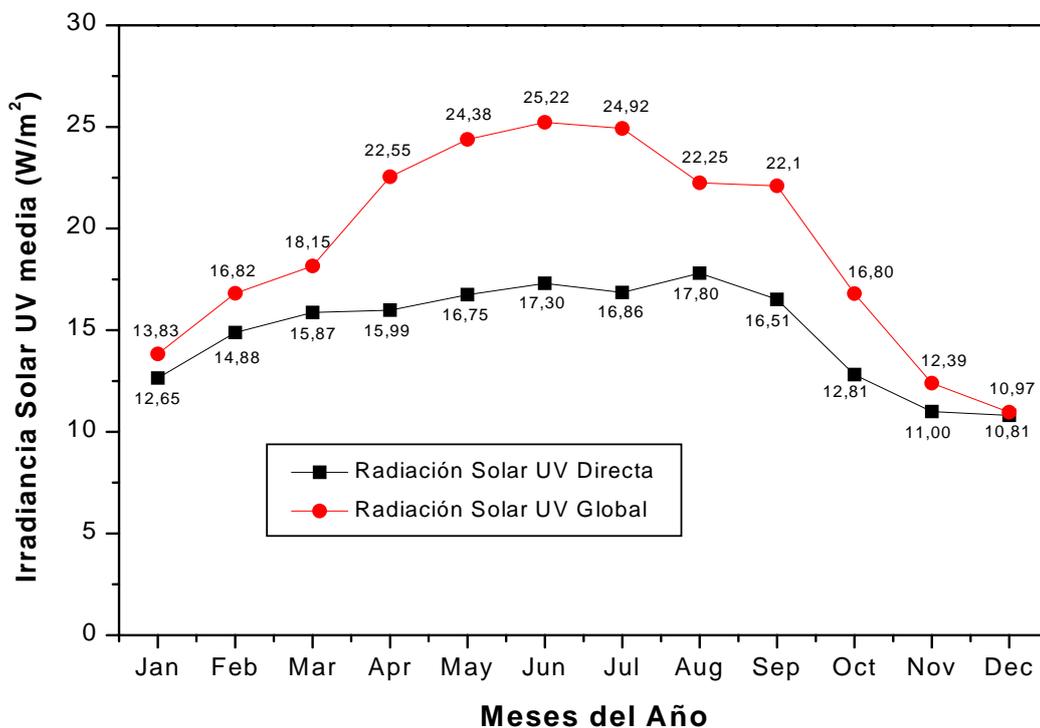


Figura 2.1.9. Irradiación solar ultravioleta media (global y directa) para los diferentes meses del año medida en la Plataforma Solar de Almería (período: 1991-1995) [Maldonado, 2000].

La aplicación de la ecuación 2.1 permite que puedan realizarse experimentos suficientemente largos en condiciones de radiación solar muy diferentes (ver figuras 2.1.9 y 2.1.10). La figura 2.1.11 extraída de [Malato *y col.*, 2000a] muestra las mejoras obtenidas usando la ecuación 2.1 para calcular la velocidad de reacción de un experimento de 2 días de degradación fotocatalítica de un pesticida comercial. Obviamente, la energía UV cambia a lo largo del día y las nubes del primer día hacen que esta variación sea aún más notable, pero con

la ecuación 2.1, los datos de ambos días pueden ser combinados y comparados con los de otros experimentos fotocatalíticos. Así, utilizando  $Q_{UV}$ , la velocidad inicial de reacción (ver ecuación 2.2) es expresada en términos de mg de pesticida degradado por kJ de radiación UV incidente sobre la superficie iluminada del fotorreactor. Un tratamiento similar podría hacerse para cinéticas de primer orden. Como Goslich y col. [Goslich y col., 1997b], han comentado, si  $r_Q$  es conocida, la eficiencia del colector está ya incluida en ella a través del uso de la radiación incidente en su superficie. De este modo,  $r_Q$  diferentes, para la misma sustancia y en diferentes colectores solares, significa que la eficiencia de los colectores es diferente.

$$r_{Q,0} = -\frac{\Delta C}{\Delta Q_{UV}} \quad (2.2)$$

$$C_1(Q_{UV}) = C_0 - k_{ap} \cdot Q_{UV}$$

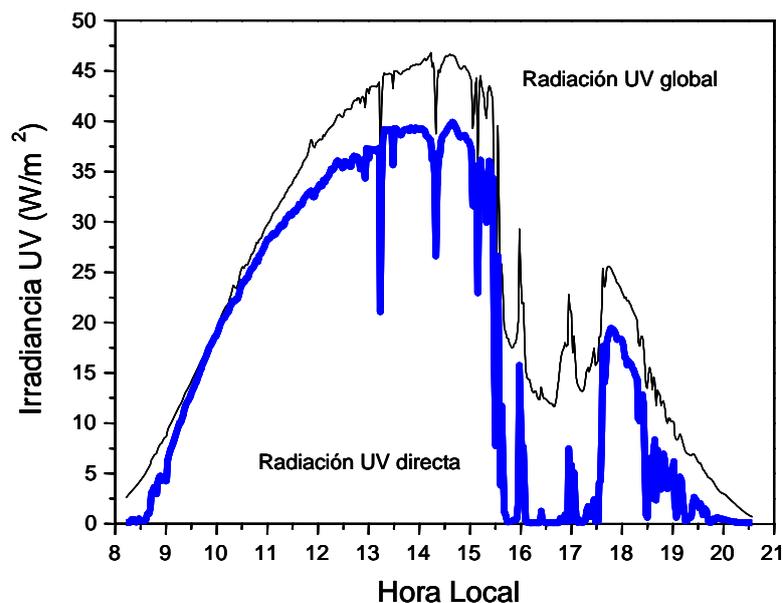


Figura 2.1.10. Irradiancia solar UV global (negro) y directa (azul grueso) en un día donde confluyen una buena radiación (mañana sin nubes) y una mala radiación (tarde nublada), en la PSA (Plataforma Solar de Almería).

Algunas veces, es útil explicar los resultados en términos de tiempo de iluminación en lugar de en términos de  $Q_{UV,n}$  (energía acumulada). Para este propósito puede asumirse que la radiación UV solar media en un día perfectamente soleado durante 2 horas alrededor del mediodía es aproximadamente de  $30 \text{ W}_{UV} \text{ m}^{-2}$ .

$$1 \frac{kJ}{L} = \Delta t_{30W} \times 30 \frac{W}{m^2} \times \frac{A_r}{V_{illu}} \quad (2.3)$$

En estas condiciones y en el fotorreactor que se ha utilizado para la realización de la parte experimental de esta tesis doctoral, 1 kJ/L es equivalente a 4.0 minutos de tiempo de iluminación (ver ecuación 2.3). Cuando se usa esta simplificación, el tiempo de iluminación calculado por este procedimiento se llama  $t_{30W}$ .

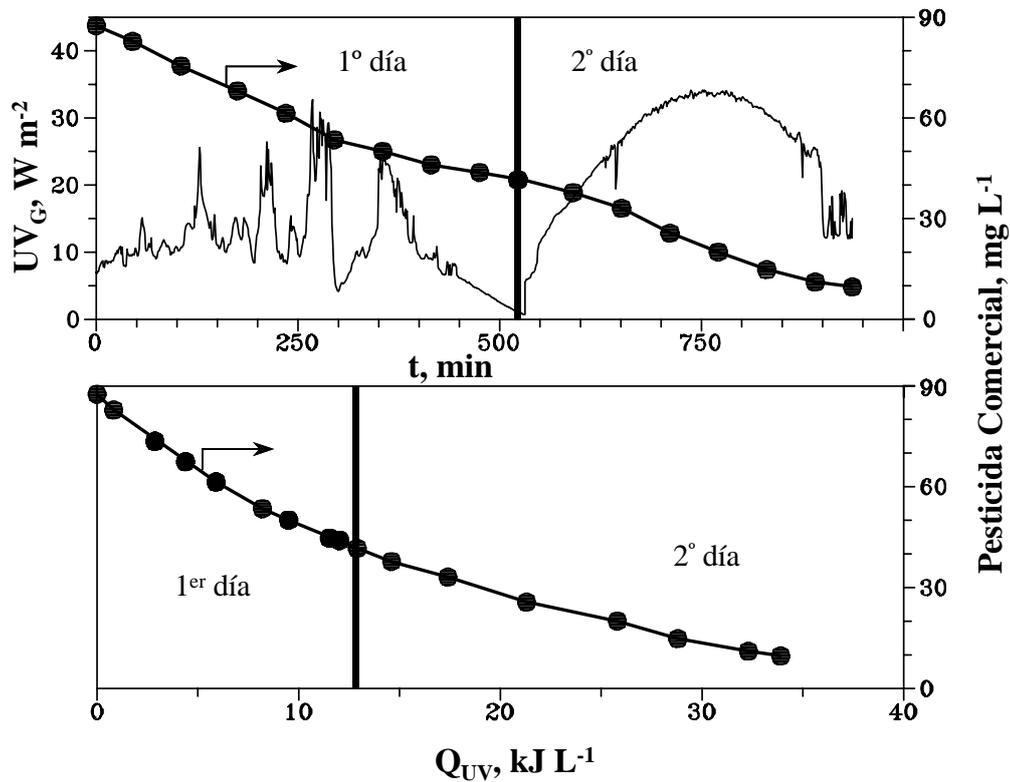


Figura 2.1.11. Degradación fotocatalítica con  $TiO_2$  de un pesticida comercial en la planta piloto de PSA. Se representa la concentración de pesticida ( $\bullet$ ) en función del tiempo de experimentación (arriba) y la energía acumulada (abajo). Se muestra también la intensidad de radiación UV solar a lo largo del experimento.

## 2.2. TÉCNICAS ANALÍTICAS CONVENCIONALES.

### 2.2.1. Analizador de Carbono Orgánico Total.

#### Descripción y fundamento:

Para la determinación del grado de mineralización del contaminante a lo largo de los procesos fotocatalíticos se determina el Carbono Orgánico Total. Para ello se ha utilizado un Analizador Shimadzu modelo TOC-5050A. Este analizador realiza mediciones de Carbono Total (TC) y Carbono Inorgánico Total (TIC) en agua. El TOC se mide por diferencia entre el TC y el TIC de las muestras acuosas. Su funcionamiento está basado en el método de combustión de las muestras en presencia de un catalizador de platino soportado sobre bolas de alúmina, y el posterior análisis del gas resultante ( $\text{CO}_2$ ) mediante un detector de infrarrojos no dispersivo, ampliamente utilizado en las mediciones de  $\text{CO}_2$ . La señal analógica de salida del detector de infrarrojo genera un pico y el procesador de datos calcula su área. El área de ese pico es proporcional a la concentración de TC o TIC de la muestra.

Para las mediciones de TIC, el sistema añade automáticamente a las muestras ácido fosfórico y las purga con aire de alta pureza. De esta manera al disminuir el pH y burbujear aire se provoca la generación de  $\text{CO}_2$  a partir de carbonatos y bicarbonatos, es decir, del carbono inorgánico, el cual es conducido directamente al detector de IR.

La temperatura de combustión en el catalizador es de 680 °C. El rango de medidas es de 50  $\mu\text{g/L}$  a 4000 mg/L para TC y 50  $\mu\text{g/L}$  a 5000 mg/L para TIC. La desviación estándar es del 1% sobre el rango del fondo de escala. El gas portador es aire de alta pureza con un flujo de 150 mL/min.

El cálculo de las concentraciones se realiza mediante rectas de calibración de 4 puntos. Para ello se han realizado 5 rectas de calibración, en los rangos de 1-10, 10-50, 50-250, 250-1000 y 1000-4000 mg/L para el Carbono Total y de 0.5-5, 2.5-15, 10-75, 50-200 y 150-1000 mg/L para el Carbono Inorgánico, cuyos coeficientes de regresión lineal logrados son correctos. Dichas rectas de calibrado fueron realizadas con estándares de biftalato de potasio p.a. (Merck) recién preparados en agua ultra pura (sistema Milli-Q) y acidificados con unas

gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  para evitar la contaminación con  $\text{CO}_2$  de la atmósfera (los de TC), utilizando siempre material de vidrio para evitar contaminaciones orgánicas.

El equipo selecciona automáticamente la recta de calibración óptima de entre 3 rectas de calibrado, elegidas previamente por el analista. Además, elimina automáticamente valores anormales y hace una medida adicional para corregir este error. Para ello mide la desviación estándar (DS) y el coeficiente de variación (CV) de las mediciones y descarta las que sean mayores de las establecidas por el analista.

#### Reactivos, material e instrumentación:

- Filtros de PTFE o similar con un diámetro de poro de  $0.22\ \mu\text{m}$ .
- Agua ultra pura que proviene de un sistema Milli-Q.
- Ácido fosfórico al 25 % v/v, utilizado en las medidas de Carbono Inorgánico del analizador.
- Analizador de Carbono Orgánico Total (Shimadzu modelo TOC-5050A) con muestreador automático (ASI 5000A).



*Figura 2.2.1.* Fotografía del Analizador de Carbono Orgánico Total Shimadzu 5050A instalado en el laboratorio de la Plataforma Solar de Almería.

### Procedimiento:

1.- Preparación de muestra: Recién tomadas las muestras de los experimentos fotocatalíticos se filtran usando filtros de 0.22  $\mu\text{m}$  y se colocan unos 10 mL en el muestreador automático del analizador de TOC.

2.- A continuación se programa la secuencia de análisis en el equipo, especificando el rango de medida que se va a utilizar a través de las rectas de calibrado seleccionadas. El Carbono Orgánico Total (TOC) se obtiene como diferencia entre el Carbono Total (TC) y el Carbono Inorgánico (TIC) de las muestras.

### Evaluación de los resultados:

El valor obtenido es un valor directo de TOC en mg/L que calcula el equipo automáticamente previa selección de la recta de calibrado más adecuada interpolando el valor de área obtenida.

### *Parámetros de Control:*

Para comprobar el buen funcionamiento del equipo y la correcta calibración del mismo, se intercalan en el análisis patrones de concentraciones pertenecientes a las rectas de calibrado que se van a utilizar y blancos con agua ultra pura. Además de esto, se dispone de la concentración inicial de TOC de cada experiencia fotocatalítica, que debe ser congruente con la masa añadida al agua en la planta piloto, que tiene un volumen conocido. Por último, la concentración inicial del contaminante medido por HPLC y el valor de TOC inicial deben ser estequiométricamente congruentes.

## 2.2.2. Determinación de los Contaminantes Orgánicos mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

### Descripción y fundamento:

Para hacer el seguimiento de los tratamientos fotocatalíticos y poder evaluar la degradación del contaminante orgánico estudiado se utiliza Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector Ultravioleta (HPLC-UV), siempre que el compuesto a estudiar lo permita.

Es incuestionable que la cromatografía de líquidos de alta resolución es una de las técnicas de separación más ampliamente utilizada, con unas ventas anuales de equipos de HPLC que superan la cifra del billón de Euros. Las razones de la popularidad de esta técnica son su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en el medio ambiente, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estas sustancias incluyen aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, carbohidratos, drogas, terpenoides, plaguicidas, antibióticos esteroides, especies organometálicas y una cierta variedad de sustancias inorgánicas [Skoog, 2000; Walton , 1983].

En la cromatografía líquida de alta resolución la fase móvil se bombea a alta presión por una columna pequeña que contiene partículas de fase estacionaria con un diámetro de entre 3 y 10  $\mu\text{m}$ . A menor tamaño de partícula, más eficiente es la columna, pero mayor la resistencia que opone al flujo. Las partículas microporosas esféricas e irregulares con una superficie adsorptiva o una fase líquida ligada son las más comunes. En la cromatografía de fase normal, la fase estacionaria es más polar que la fase móvil, los solutos menos polares eluyen primero y la retención del soluto se incrementa disminuyendo la polaridad de la fase móvil. En la cromatografía en fase reversa (que es con la que se trabaja para la realización de este trabajo de investigación) la fase estacionaria es menos polar que la fase móvil, los solutos más polares eluyen primero y la retención del soluto se incrementa aumentando la polaridad de la fase móvil. La elección del procedimiento de separación se basa en el tamaño, la polaridad y la naturaleza iónica del soluto. En HPLC puede emplearse elusión isocrática o en gradiente, con una bomba de pistón para proporcionar un flujo libre de pulsos. Las válvulas de inyección

permiten una introducción precisa y rápida de las muestras, preferentemente utilizando una pre-columna o también llamada “guard-column” [Harris, 1992; Meyer, 1996; Skoog, 1996].

#### Reactivos, material e instrumentación:

- Filtros para HPLC con un diámetro de poro de 0.22  $\mu\text{m}$ .
- Acetonitrilo y Metanol calidad cromatográfica (Merck) utilizados para elaborar la fase móvil de HPLC y si es necesario, para la pre-dilución de la muestra.
- Agua ultra pura proveniente de un sistema Milli-Q utilizada también para la fase móvil del equipo.
- Viales de 1 mL especiales para el muestreador automático (Agilent Technologies serie 1100).
- Cromatógrafo Líquido de Alta Presión (Agilent Technologies serie 1100) equipado con: desgasificación a vacío “on-line”, bomba cuaternaria, compartimiento de columna termostaticado, Detector “Diode-array”, muestreador automático y un sistema de adquisición de datos informatizado a través del programa ChemStation. En la Figura 2.2.2 se muestra una fotografía del equipo HPLC empleado.

#### Procedimiento:

1.- Preparación de las muestras: Se diluye la muestra, normalmente 1:1, con el disolvente orgánico utilizado en la fase móvil y se filtra por 0.22  $\mu\text{m}$ . De esta manera las muestras se asemejan a la fase móvil y no desestabilizan el sistema al inyectarlas.

Dos ventajas adicionales se consiguen mediante este procedimiento, que están íntimamente relacionadas con el proceso fotocatalítico. Cuando las muestras son de un experimento con dióxido de titanio, al diluir con un disolvente orgánico se facilita la desorción del compuesto a analizar de la superficie del catalizador. Si se filtraran las muestras antes de diluirlas, los compuestos orgánicos que se adsorben en el catalizador, se perderían en la filtración ya que se quedarían en el catalizador y, por tanto, en el filtro. De esta forma se mediría exclusivamente la porción de compuesto disuelto en el agua y no la totalidad que estaría contenida en la misma.

Otra razón para la dilución de las muestras previamente a su análisis mediante HPLC es el denominado efecto “quenching”, que se refiere a la paralización de una reacción por desnaturalización del medio de reacción. Por tanto, al diluir las muestras con el disolvente orgánico la reacción fotocatalítica se detiene. Esto es especialmente importante en experimentos con foto-Fenton, en los que puede ocurrir efectos relevantes en la oscuridad después de tomar la muestra del reactor.

2º.- Preparación del equipo: Previamente al análisis se selecciona la columna analítica más adecuada, que normalmente suele ser una C<sub>18</sub>. Según el tipo de columna y su diámetro interno, el flujo de la fase móvil tiene un valor determinado. Las columnas con las que se suele trabajar en la PSA tienen un diámetro de 3 mm y se recomienda trabajar con un flujo de 0.5 mL/L.

La proporción de disolvente orgánico y agua, ya sea natural o tamponada, que forman la fase móvil es específica para cada compuesto a degradar y es necesario ponerla a punto con anterioridad al análisis. También hay que seleccionar la longitud de onda más adecuada para cuantificar. El equipo que se ha utilizado para la realización de este trabajo de investigación, al tener detector de red de diodos, posibilita el poder hacer un espectro completo en cada uno de los picos cromatográficos. Lo cual es una herramienta útil para la verificación de la identificación del compuesto sometido a tratamiento fotocatalítico, ya que permite la comparación de dichos espectros con los espectros de los estándares que son guardados en la librería del programa informático. Además de todo esto, simplifica mucho el desarrollo del método ya que no es necesario optimizar la longitud de onda de medida.

El procedimiento general de análisis con el HPLC es: Con la válvula de purga abierta se enciende el equipo, bomba, termostato y detector, y con un flujo de 5 mL/min., se purgan durante 5 minutos los cuatro canales de disolvente de la fase móvil. Una vez purgado el sistema, se disminuye el flujo, se cierra la válvula de purga y con una fase móvil 100 % acetonitrilo se limpia la columna y el sistema en general.

Cuando la línea base es recta y horizontal, el sistema está estable. Entonces se selecciona a la fase móvil del método analítico con el que vamos a trabajar y se espera a que la columna se estabilice (aproximadamente 20 minutos). Una vez el sistema estabilizado y con la fase móvil de trabajo, el equipo está preparado para el análisis.

3°.- Inyección de las muestras: Se programa en el software del equipo, ChemStation, la secuencia de inyección, en la que se especifica, entre otros: el número de inyecciones por muestra, el volumen de inyección, el método analítico a aplicar, etc. Se colocan los viales con las muestras en la bandeja de inyección y se inicia la secuencia.

4°.- Con ayuda del software también, se integran los picos, siendo las áreas correspondientes proporcionales a la concentración del analito en la muestra.



*Figura 2.2.2.* Fotografía del HPLC (Agilent Technologies serie 1100), instalado en el laboratorio de la Plataforma Solar de Almería.

*Parámetros de Control:*

Para comprobar el buen funcionamiento del equipo y la correcta calibración del mismo, se introducen antes del análisis agua ultra pura que nos asegura la ausencia de contaminaciones y el buen estado del sistema. Y además se inyecta un patrón con una concentración típica de la recta de calibrado, que normalmente suele ser la mitad de la concentración inicial del experimento, y se comprueba que el área resultante se corresponde con el valor de área obtenido en la realización del calibrado. Además de esto, se dispone de la concentración inicial de cada experiencia fotocatalítica, que debe ser congruente con la masa

añadida al agua en la planta piloto, que tiene un volumen conocido. Por último, la concentración inicial del contaminante y el valor de TOC inicial deben ser estequiométricamente congruentes.

#### Evaluación de los resultados:

Previamente a la medida de las muestras, se ha realizado una recta de calibrado del compuesto a determinar de al menos seis puntos por triplicado, utilizando un patrón cromatográfico del compuesto sometido a estudio. Siempre se ha procurado que el límite superior de esta recta esté por encima de la concentración máxima utilizada al inicio de los experimentos. Los datos de áreas de cada muestra permiten, a partir de la recta de calibrado correspondiente, calcular la concentración del analito en la muestra.

### 2.2.3. Determinación de Aniones Inorgánicos mediante Cromatografía Iónica, IC

#### Descripción y fundamento:

Este método analítico es aplicado para el análisis de muestras en los procesos de degradación fotocatalíticos para determinar el grado de mineralización de los compuestos tratados. Al mineralizar los compuestos orgánicos estos se transforman en  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y los ácidos (o sales) minerales correspondientes, que provienen de los heteroátomos contenidos en las moléculas orgánicas. Mediante la monitorización de estas especies iónicas se puede evaluar el grado de mineralización de los compuestos originales. Con este método basado en cromatografía iónica se analizan:  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ .

La cromatografía iónica es un método moderno y eficaz de separación y determinación de iones, que se basa en el uso de columnas cromatográficas que contienen resinas de intercambio iónico. La cromatografía iónica empezó a desarrollarse a mediados de los años setenta, cuando se demostró que mediante las columnas de HPLC rellenas con resinas de intercambio catiónico o aniónico, se podían resolver fácilmente mezclas de cationes y aniones. Pero su aplicación se retrasó debido a la inexistencia de un método general y sensible para la detección de especies como los cationes alcalinos y alcalinotérreos, y aniones como los haluros, acetato y nitrato. Esta situación se remedió en 1975 al desarrollarse la técnica de supresión del eluente, la cual hace posible la detección conductimétrica de los iones eluidos.

Los procesos de intercambio iónico se basan en los equilibrios de intercambio entre los iones de una disolución y los iones del mismo signo de la fase estacionaria. Durante varias décadas se han utilizado intercambiadores iónicos naturales como las arcillas y las zeolitas. A mediados de los años treinta se fabricaron por primera vez resinas de intercambio iónico sintéticas para eliminar la dureza del agua, desionizarla y purificarla. Los puntos activos más comunes en las resinas de intercambio catiónico son los grupos de ácido sulfónico  $-\text{SO}_3\text{H}^+$ , un ácido fuerte, y los de ácido carboxílicos  $-\text{COOH}^+$ , un ácido débil. Los intercambiadores aniónicos contienen grupos de amina cuaternaria  $-\text{N}(\text{CH}_3)_3^+\text{OH}^-$ , como los que presenta la columna que se ha utilizado para la realización de este trabajo de investigación, o grupos de amina primaria  $-\text{NH}_3^+\text{OH}^-$ ; los primeros son de base fuerte y los segundos de base débil [Harris, 1992; Skoog, 1996 y 2000].

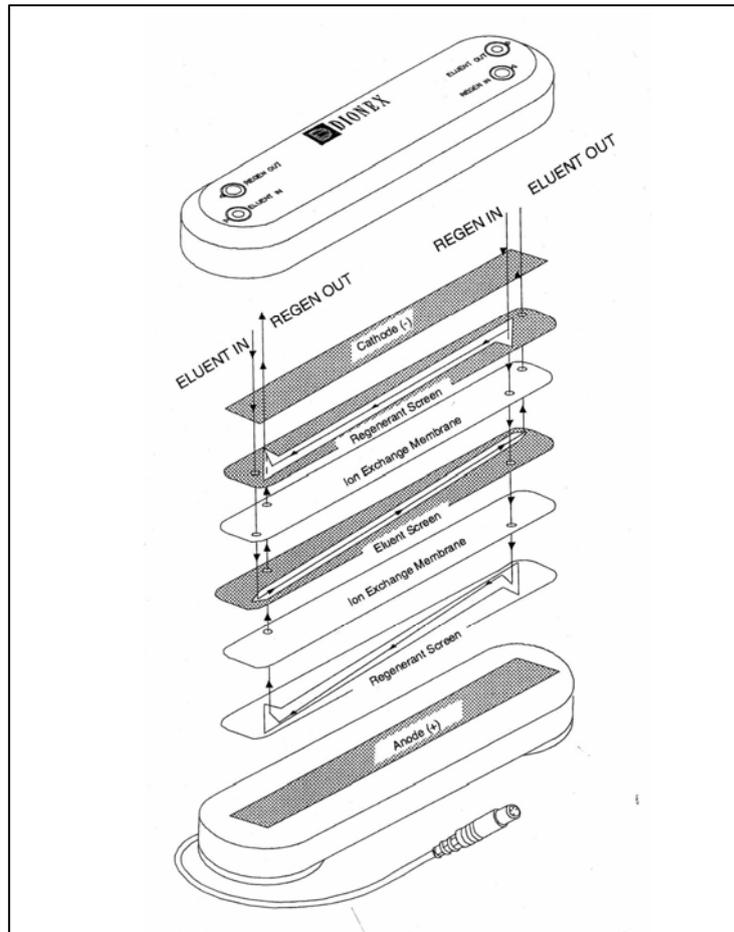


Figura 2.2.3. Diagrama de la configuración de una columna de membrana supresora de conductividad, suministrado por DIONEX.

Como se ha señalado anteriormente, la aplicación de la cromatografía iónica para la determinación de especies inorgánicas no se desarrolló antes debido a la falta de un buen sistema de detección universal, que permitiera la determinación cuantitativa basada en las áreas de los picos cromatográficos. Los detectores de conductividad eran la elección obvia para este objetivo. Estos detectores pueden tener una elevada sensibilidad, son universales para las especies cargadas y, como norma general, responden de una forma predecible a los cambios de concentración. Por otra parte, dichos detectores son simples, baratos de fabricar y mantener, fáciles de miniaturizar, y por lo común son robustos y de prolongada duración. La única limitación de los detectores de conductividad resultó ser un serio problema que impidió su uso generalizado. Esta limitación proviene de la elevada concentración de electrolito que se requiere para eluir la mayoría de los iones analitos en un tiempo razonable. En consecuencia, la conductividad de los componentes de la fase móvil tiende a enmascarar la de los analitos, y

por ello se reduce considerablemente la sensibilidad del detector. En 1975, el problema de la elevada conductividad del eluyente se resolvió mediante la introducción de la denominada columna supresora que se utiliza inmediatamente a continuación de la columna de intercambio iónico. La columna supresora está rellena con una segunda resina que convierte eficazmente los iones del disolvente en especies moleculares poco ionizadas, sin alterar los iones del analito. Un inconveniente de estas columnas supresoras es la necesidad de regenerarlas continuamente.

Sin embargo, recientemente se dispone de supresoras de membrana que operan en continuo, como la que dispone el equipo con el que se ha trabajado para la realización de esta tesis doctoral. En este caso, el eluyente y la disolución supresora fluyen en direcciones opuestas a ambos lados de unas membranas permeables de intercambio iónico, convirtiendo el eluyente en una forma no iónica de manera que los analitos puedan detectarse por su conductividad con mayor sensibilidad.

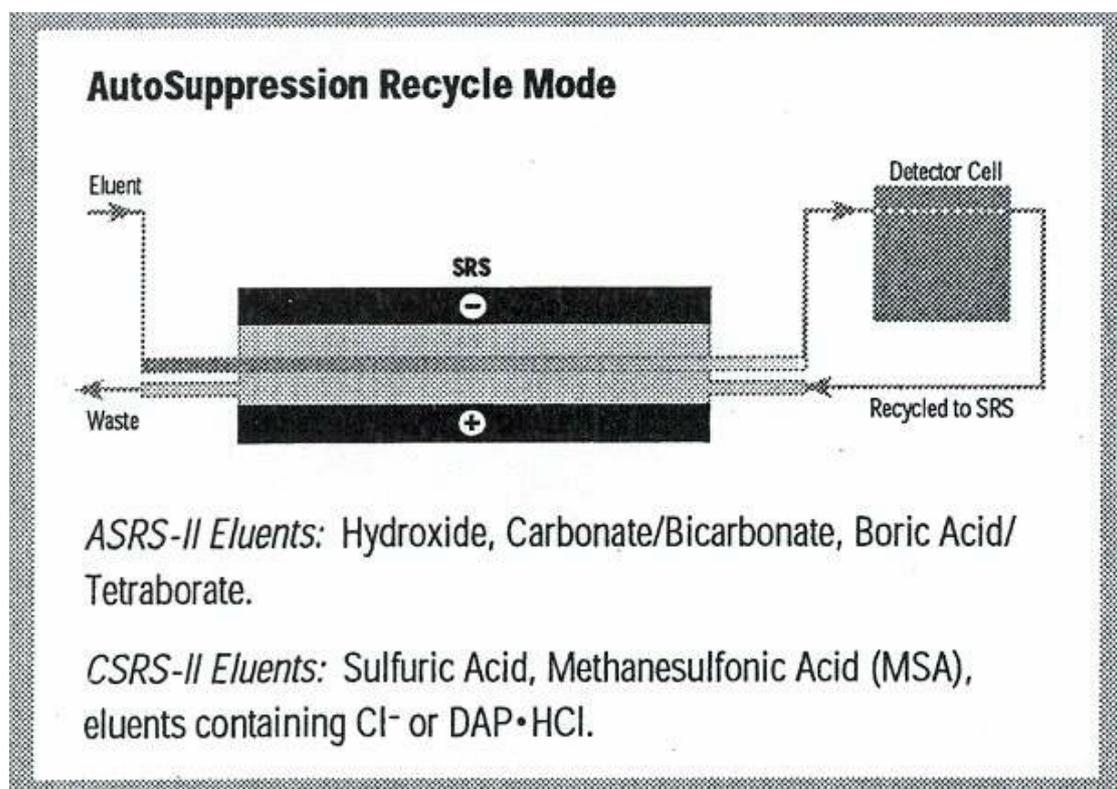


Figura 2.2.4. Esquema de funcionamiento de la supresión de conductividad del sistema DIONEX.

La supresora de conductividad de DIONEX ASRS en concreto, trabaja en el modo de operación que se conoce como “AutoSuppression Recycle Mode”, que es la forma más fácil en la que se puede operar con este tipo de supresora. Cuando el eluyente pasa a través de la supresora hacia el detector, es neutralizado a su forma débilmente ionizada. Después de pasar a través de la celda de conductividad, el efluente es recirculado a través de la entrada de regeneración de la supresora, de esta manera surte a la supresora con agua para la electrolisis. La auto-supresión con este tipo de supresora tiene lugar por electrolisis y electro-diálisis con supresión química. Dentro de la supresora, el agua “regenerante” sufre una electrolisis que da lugar a hidrogenoiones en la cámara del ánodo e iones hidróxidos en la cámara del cátodo. El potencial eléctrico aplicado a los electrodos adyacentes a las membranas de intercambio iónico facilita el transporte de los iones a través de dichas membranas. Los hidrogenoiones reaccionan con el eluyente, neutralizando los carbonatos y bicarbonatos, y el sodio pasa a la cámara del cátodo donde es arrastrado hacia fuera del equipo por el agua “regenerante”. De esta forma la conductividad final nunca es superior a  $20 \pm 5 \mu\text{S}$ .

#### Reactivos, material e instrumentación:

- Agua ultra pura procedente de un sistema Milli-Q, para preparar las soluciones madre y la fase móvil.
- Solución madre 0.5M de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ : Pesar 13.25 g de carbonato sódico de calidad p.a. de MERCK y enrasar con agua en un matraz de 250 mL.
- Solución madre 0.5M de  $\text{NaHCO}_3$ : Pesar 10.50 g de carbonato sódico de calidad p.a. de MERCK y enrasar con agua en un matraz de 250 mL.
- Filtros con un diámetro de poro de  $0.22 \mu\text{m}$ .
- Patrones concentrados de 1000 mg/L de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  y  $\text{SO}_4^{2-}$ , que se preparan a partir de sus sales sódicas correspondientes.
- Disoluciones patrón de distintas concentraciones, entre 0.5 y 50 mg/L, de todos los iones a analizar para la realización de las rectas de calibrado.
- Cromatógrafo iónico (DIONEX-120, ver figura 2.2.5), equipado con columna de aniones IonPAC AS14 de 4 mm de diámetro y 250 mm de largo, precolumna IonPac AG14 de 4 mm y supresora iónica de conductividad de membrana ASRS-Ultra de 4

mm. El volumen del loop de inyección es de 100  $\mu\text{L}$  y el caudal es de 1.2 mL/min. Los datos son adquiridos mediante un integrador HP3396 Series II de Hewlett Packard.

Procedimiento:

1.- Se prepara la fase móvil 3.5 mM de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y 1 mM de  $\text{NaHCO}_3$ , a partir de las soluciones madre 0.5 M de Carbonato sódico (7 ml en 1L de agua Milli-Q) y de Bicarbonato sódico (2 ml en 1L). Se coloca la disolución en el recipiente de la fase móvil, se conecta al sistema y con la “presión del eluyente” encendida (7 bares de nitrógeno) se purga el sistema a través de la válvula de purga, situada justo antes de la bomba de alta presión.



*Figura 2.2.5.* Fotografía del Cromatógrafo Iónico DIONEX-120, instalado en el laboratorio de la Plataforma Solar de Almería (PSA).

2.- Una vez purgado el sistema se enciende la bomba, se enciende la supresora y se espera a que el sistema se estabilice. El sistema se considera estabilizado cuando la conductividad de la celda de medida es de  $20 \pm 5 \mu\text{S}$ .

3.- Preparación de muestra: Recién tomadas las muestras de los experimentos fotocatalíticos se filtran por  $0.22 \mu\text{m}$  y se inyectan directamente.

#### *Parámetros de Control:*

Para comprobar el buen funcionamiento del equipo y la correcta calibración del mismo, se introducen en el análisis agua ultra pura que nos asegura la ausencia de contaminaciones y el buen estado del sistema. Además se inyectan patrones de 0.2 y 10 mg/L de cada uno de los aniones a analizar y se comprueba que las áreas resultantes se corresponden con los valores de área obtenidos en la realización del calibrado. Todo esto se realiza antes de inyectar cualquier serie de muestras procedentes de un experimento fotocatalítico.

Antes del análisis de las muestras, se inyecta en el cromatógrafo iónico con detector de conductividad (IC-CD) el agua con la que se van a realizar los experimentos, para evaluar cual es el efecto de fondo o matriz que tiene este agua. Al tratarse de agua destilada, contiene pequeñas cantidades de cloruros, nitratos y sulfatos. Los valores obtenidos son restados a cada uno de los resultados de los experimentos fotocatalíticos para evaluar correctamente los aniones procedentes de los heteroátomos de los contaminantes. También, se ha comprobado que preparando los patrones de los aniones en ese mismo agua, los resultados son exactamente los mismos (restando, lógicamente el valor obtenido al inyectar el agua sola). Además de eso, también se ha comprobado (mediante fortificado de las muestras con estándares de aniones) que la presencia de plaguicidas, peróxido de hidrógeno, hierro (II), hierro (III), etc. (compuestos presentes en el agua de los experimentos) no tienen un efecto apreciable en los resultados.

#### Evaluación de los resultados:

Mediante los valores de área de cada pico, y la recta de calibrado correspondiente, se calculan los valores de concentración de cada uno de los iones en la muestra. El área de cada

pico es directamente proporcional a la concentración del ión en la muestra en el intervalo de concentraciones recogido en la tabla 2.2.1.

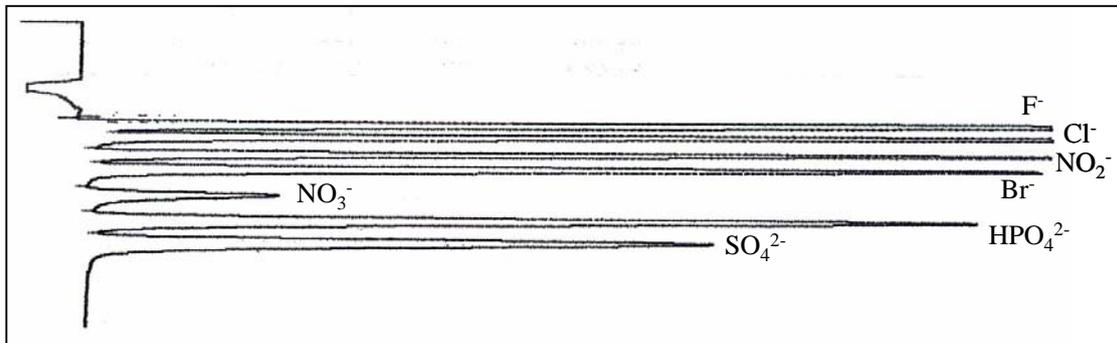


Figura 2.2.6. Cromatograma procedente del análisis por IC-CD de una muestra acuosa que contiene los iones inorgánicos a determinar.

Aniones Inorgánicos determinados IC	Tiempo Retención $t_R$ (min)	Coefficiente Regresión Lineal	Rang. Calibración (mg/L)
Fluoruros, F <sup>-</sup>	2.88	0.9978	0.2-20
Cloruros, Cl <sup>-</sup>	3.93	0.99899	0.2-20
Nitritos, NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	4.57	0.9997	0.2-50
Bromuros, Br <sup>-</sup>	5.56	0.9988	0.2-50
Nitratos, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	6.41	0.9995	0.2-50
Fosfatos, HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	8.83	0.9973	0.2-50
Sulfatos, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	10.58	0.9994	0.2-50

Tabla 2.2.1. Rectas de calibrado realizadas en Cromatografía Iónica para la determinación de aniones inorgánicos.

#### **2.2.4. Determinación de Ácidos Carboxílicos de bajo peso molecular mediante Cromatografía Iónica, IC.**

##### Descripción y fundamento:

Este método analítico es aplicado para el análisis de muestras en los procesos de degradación fotocatalíticos. La determinación de estos ácidos carboxílicos de bajo peso molecular ayuda en el establecimiento de la ruta de degradación de los compuestos tratados. Estos ácidos debido a su polaridad y a su bajo peso molecular son difíciles de analizar mediante otras técnicas analíticas avanzadas como la cromatografía tanto líquida como gaseosa acoplada con detector de masas (GC/MS, LC/MS). Esto es debido a que, al ser compuestos muy simples tienen poca posibilidad de fragmentación y por tanto se generan pocos iones que puedan confirmar inequívocamente su identificación.

Mediante cromatografía iónica se ha logrado un método eficaz y sencillo de determinación de estos compuestos. Los ácidos carboxílicos de bajo peso molecular que pueden ser determinados con el método analítico que a continuación se expone son: ácido fórmico, acético, glicólico, propanóico y pirúvico. Estos compuestos son intermedios de los procesos de degradación fotocatalíticos, en los últimos estadios de las rutas de degradación de los contaminantes orgánicos hacia CO<sub>2</sub>.

El ácido oxálico se determina con el mismo método utilizado para los aniones inorgánicos, y que se explica con detalle en el apartado 2.2.3. El calibrado ha sido realizado en el rango de concentraciones de 0-10 mg/L y su tiempo de retención es de 11.53 min.

##### Reactivos, material e instrumentación:

- Agua ultra pura, procedente de un sistema Milli-Q, para preparar las soluciones madre y la fase móvil.
- Solución madre 0.1 M de Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: Pesar 5.03 g de tetraborato sódico de calidad p.a. de MERCK y enrasar con agua en un matraz de 250 mL.
- Filtros con un diámetro de poro de 0.22 µm.

- Patrones concentrados de 1000 mg/L de formiato, acetato, glicolato, propanoato, piruvato y oxalato, que se preparan a partir de sus sales sódicas correspondientes.
- Disoluciones patrón de distintas concentraciones, entre 0.1 y 10 mg/L, de todos los iones a analizar para la realización de las rectas de calibrado.
- Cromatógrafo iónico (DIONEX-120, ver figura 2.2.5), equipado con columna de aniones IonPAC AS14 de 4 mm de diámetro y 250 mm de largo, precolumna IonPac AG14 de 4 mm y supresora iónica de conductividad de membrana ASRS-Ultra de 4 mm. El volumen del “loop” de inyección es de 100  $\mu$ L y el caudal es de 1.2 mL/min. Los datos son adquiridos mediante un integrador (HP3396 Series II).

#### Procedimiento:

1.- Se prepara la fase móvil 1 mM de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , a partir de la solución de madre 100 mM de tetraborato sódico (10 mL en 1L de agua ultra pura). Se coloca la disolución el recipiente de la fase móvil, se conecta al sistema y con la “presión del eluyente” encendida (7 bares de nitrógeno) se purga el sistema a través de la válvula de purga, situada justo antes de la bomba de alta presión.

2.- Una vez purgado el sistema se enciende la bomba, se enciende la supresora y se espera a que el sistema se estabilice. El sistema se considera estabilizado cuando la conductividad de la celda de medida es de  $2.5 \pm 0.5 \mu\text{S}$ .

3.- Preparación de muestra: Recién tomadas las muestras de los experimentos fotocatalíticos se filtran por 0.22  $\mu\text{m}$  y se inyectan directamente.

#### *Parámetros de Control:*

Para comprobar el buen funcionamiento del equipo y la correcta calibración del mismo, se introducen en el análisis agua ultra pura que nos asegura la ausencia de contaminaciones y el buen estado del sistema. Además se inyectan patrones de 0.1 y 10 mg/L de cada uno de los ácidos carboxílicos a analizar y se comprueba que las áreas resultantes se corresponden con los valores de área obtenidos en la realización del calibrado. Todo esto se

realiza antes de inyectar cualquier serie de muestras procedentes de un experimento fotocatalítico.

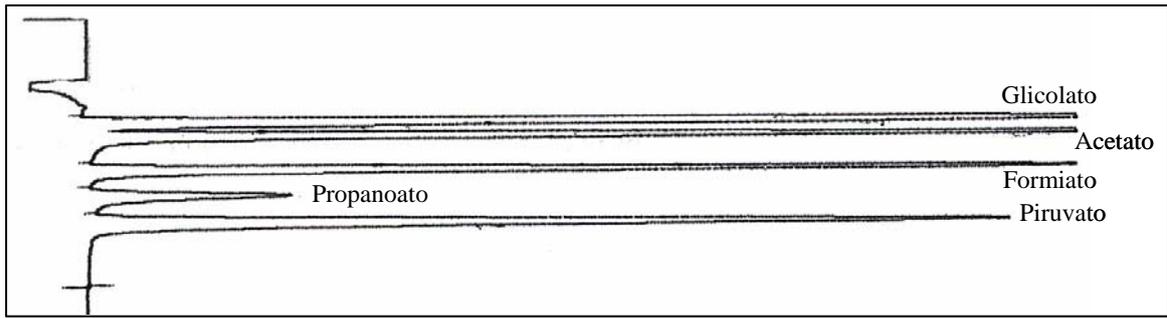
Se ha comprobado que preparando los patrones de los ácidos carboxílicos en ese mismo agua, los resultados son exactamente los mismos. Además de eso, también se ha comprobado (mediante fortificado de las muestras con estándares de ácidos carboxílicos) que la presencia de plaguicidas, peróxido de hidrógeno, hierro (II), hierro (III), etc. (compuestos presentes en el agua de los experimentos) no tienen un efecto apreciable en los resultados.

Determinación de los resultados:

Mediante los valores de área de cada pico, y la recta de calibrado correspondiente, se calculan los valores de concentración de cada uno de los iones en la muestra. El área de cada pico es directamente proporcional a la concentración del ión en la muestra en el intervalo de concentraciones recogido en la tabla 2.2.2.

<b>Ác.Carboxílicos determinados IC</b>	<b>Tiempo Retención t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>Coefficiente de Regresión Lineal</b>	<b>Rango Calibración (mg/L)</b>
Glicolato	8.47	0.9996	0.1-10
Acetato	9.07	0.9987	0.1-10
Formiato	9.49	0.9996	0.1-10
Propanoato	11.28	0.9993	0.1-10
Piruvato	12.66	0.9998	0.1-10
Oxalato	8.89*	0.9994	0.1-10

*Tabla 2.2.2.* Rectas de calibrado realizadas en Cromatografía Iónica para la determinación de ácidos carboxílicos de bajo peso molecular. (\*) Valor determinado usando el método de los aniones inorgánicos



*Figura 2.2.7.* Cromatograma procedente del análisis por IC-CD de una muestra acuosa que contiene los iones orgánicos a determinar.

### 2.2.5. Determinación de Amonio por el método NESSLER.

#### Descripción y fundamento:

Este método analítico es aplicado para valorar el grado de mineralización de los compuestos a degradar en los tratamientos fotocatalíticos, mediante la determinación de los compuestos inorgánicos procedente de los heteroátomos de las moléculas originales. En el caso del amonio es el estado más reducido del nitrógeno contenido en la molécula orgánica. Haciendo un seguimiento de este ión nos puede ayudar a establecer la ruta de degradación de los compuestos orgánicos nitrogenados.

Este método ofrece buenos resultados en muestras con contenidos en amonio menores de 15 mg/L, que no tengan niveles altos de turbidez, color y/o, dureza.

La técnica del método Nessler se basa en la reacción coloreada producida entre el reactivo de Nessler (iodomercuriato potásico) y el amonio de la muestra en un medio alcalino. Esta coloración es proporcional al contenido en amonio, siendo susceptible de medida colorimétrica ( $\lambda = 495 \text{ nm}$ ) [Romer , 1989; Strada , 1983; AWWA, 1985]. El fundamento químico del análisis es:



#### Reactivos, disoluciones, material e instrumentación:

- Disolución de Sulfato de Zinc 0.35 M (para eliminar interferencia de Ca, Mg, Fe y S que producen turbidez): Se disuelven 100 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en 1L de agua ultra pura.
- NaOH 6N: Se disuelven 120 g de lentejas de sosa en 500 mL de agua ultra pura.
- Sal de Rochelle (agente estabilizador para evitar la precipitación de calcio y magnesio al añadir el reactivo Nessler): Se disuelven 50 g de tartrato sódico potásico tetrahidratado,  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , en 100 mL de agua ultra pura.

- Reactivo Nessler.
- Filtros con un diámetro de poro de 0.22  $\mu\text{m}$ .
- Espectrofotómetro UV/VIS (UNICAM UV-2, ver figura 2.2.8), de doble haz, equipado con lámpara de mercurio y wolframio que permite realizar mediciones en el intervalo de longitud de onda entre 190-1092 nm.
- Cubetas de cuarzo de 1cm de paso de luz.



*Figura 2.2.8.* Fotografía del espectrofotómetro Unicam del laboratorio de la PSA.

Procedimiento:

1°.- Se toman 25 mL de muestra. Se añaden 0.2 mL de NaOH 6N y 0.5 mL de  $\text{ZnSO}_4$  0.35 M. Se esperan 10 min a que tenga lugar la reacción de precipitación de Ca, Mg, Fe y S y se filtra con filtros 0.22  $\mu\text{m}$ .

2°.- Se toman 10 mL del filtrado. Añadir 2 gotas de sal de Rochelle, para inhibir la precipitación de los iones residuales de Ca y Mg en presencia del reactivo Nessler alcalino.

3°.- Se añaden, a continuación, 0.5 mL del reactivo Nessler. Se esperan 30 minutos para que se complete la reacción redox.

4°.- Se mide en el espectrofotómetro a 495 nm.

#### Evaluación de los resultados:

Una vez anotados los valores de absorbancia medidos para las distintas muestras, y mediante la ecuación de la recta de calibrado, se obtienen los valores de concentración de  $\text{NH}_4^+$ .

La recta de calibrado realizada es de 0 – 15 mg/L. Si la concentración de amonio es mayor de 15 mg/L se pierde la linealidad de la recta de calibrado.

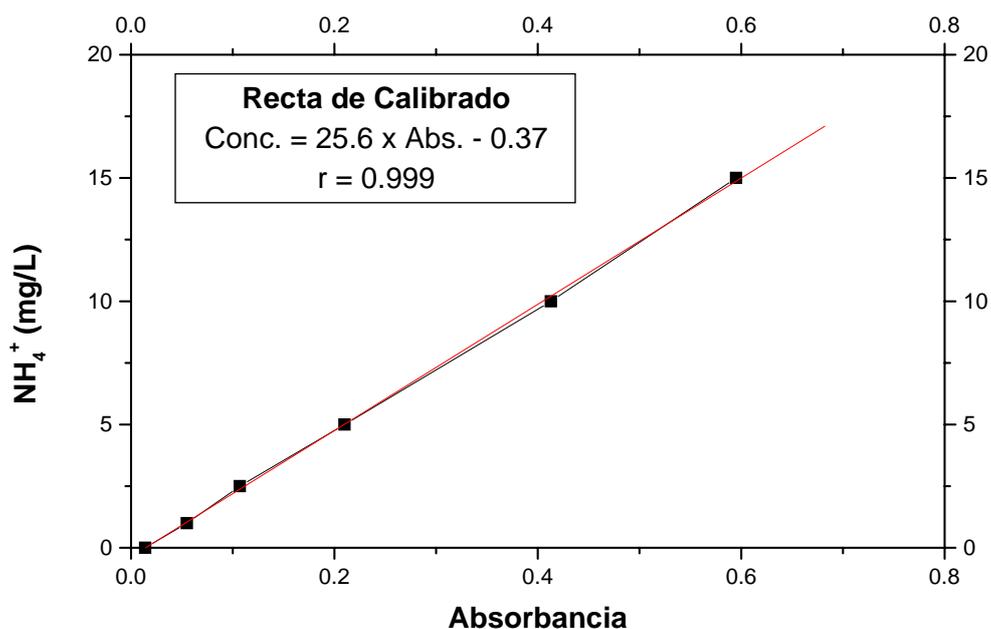


Figura 2.2.9. Recta de calibrado de amonio en función de la absorción de luz usando el método Nessler.

#### *Parámetros de Control:*

Para comprobar el buen funcionamiento del método analítico y la correcta calibración del mismo, se introducen en el análisis patrones de 1 y 10 mg/L de amonio (pertenecientes a

los extremos de rectas de calibrado) y se comprueba que las absorbancias resultantes se corresponden con los valores obtenidos en la realización del calibrado.

A continuación se explica en detalle el estudio de las posibles interferencias que podrían presentar las muestras de los tratamientos fotocatalíticos al serle aplicado este método analítico. En el caso de las muestras de las experiencias con foto-Fenton, se ha estudiado la posible interferencia del pH ácido, el hierro y el peróxido de hidrógeno. Para las muestras con  $\text{TiO}_2$  se ha estudiado la interferencia de este catalizador.

- **Efecto del  $\text{Fe}^{2+}$  y pH:** Preparamos 2 patrones de amonio en los dos extremos de la recta de calibrado, 2 y 10 mg/L. Añadimos a ambos,  $\text{Fe}^{2+}$  para conseguir una concentración de 1 mM (mayor que en los experimentos de foto-Fenton). Dividimos las disoluciones en cuatro porciones y modificamos sus pH a:

1. pH = natural
2. pH = 7
3. pH = 3
4. pH = 2

Le aplicamos a estas 8 disoluciones el método Nessler de determinación de amonio y obtenemos que: Para las dos concentraciones no interfiere ni el Fe ni el pH ya que los resultados son iguales para todas las disoluciones de la misma concentración e igual al patrón original.

Además del  $\text{Fe}^{2+}$ , el  $\text{Fe}^{3+}$  no interfiere porque éste se elimina al filtrar la muestra después del tratamiento con NaOH y  $\text{ZnSO}_4$  en el método aplicado, ya que NaOH eleva el pH inicial a valores en los que precipita el  $\text{Fe}^{3+}$ .

- **Efecto del  $\text{H}_2\text{O}_2$ :** A las disoluciones anteriores de pH 3, que es típico de foto-Fenton, le añadimos peróxido de hidrógeno para obtener una concentración de 10 mM, para tratar de simular las muestras reales que tenemos en los experimentos de foto-Fenton. Le aplicamos el método y obtenemos el resultado esperado, confirmando así que el  $\text{H}_2\text{O}_2$  tampoco interfiere en el método.

- **Efecto del  $\text{TiO}_2$ :** Se prepara una disolución de 200 mg/L de  $\text{TiO}_2$  en agua destilada. Además, a tres estándares de amonio de los extremos y el centro de la recta de calibrado se le añade  $\text{TiO}_2$  para obtener también 200 mg/L. A estas cuatro disoluciones le aplicamos el método y obtenemos los resultados adecuados que coinciden con el cero de la recta de calibrado y con los valores de absorbancias de los estándares cuando se realizó la recta de calibrado, respectivamente. Por lo cual, se confirma también, que el dióxido de titanio no interfiere en el método.

## 2.2.6. Determinación de Agua Oxigenada, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### Descripción y fundamento:

Este método analítico es aplicado para la determinación de agua oxigenada durante los tratamientos fotocatalíticos de foto-Fenton. Este análisis es necesario para el control del consumo de este reactivo durante los procesos. Este reactivo es esencial en la fotocatalisis con foto-Fenton, ya que es el único reactivo que se consume en el proceso y que cierra el ciclo catalítico (ver ecuaciones 1.2.21 y 1.2.22).

Numerosos métodos analíticos se basan en reacciones del yodo. En la yodometría, un analito oxidante se añade a un exceso de I<sup>-</sup> para formar yodo, que se titula después con una disolución de tiosulfato patrón, usando almidón como indicador. El yodo molecular en presencia del exceso de I<sup>-</sup> se acompleja formando I<sub>3</sub><sup>-</sup> y en realidad es este ión el que se titula con el tiosulfato patrón.

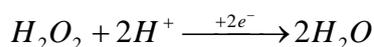
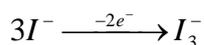
El tiosulfato es el titulante universal para el ión triyoduro. En disoluciones ácidas o neutras el triyoduro oxida el tiosulfato a tetrionato.

Para la determinación de peróxido de hidrógeno mediante yodometría, un exceso de KI es añadido a la muestra en medio ácido. Posteriormente, se añade el almidón y se titula con tiosulfato potásico patrón. Las reacciones y semi-reacciones que tiene lugar se exponen a continuación [Marín Galvín, 1999].

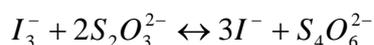
1º.- Reacción redox global de formación del ión triyoduro:



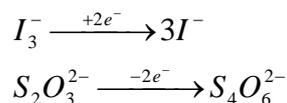
Semi-reacciones redox:



2º.- Titulación redox global con tiosulfato patrón:



Semi-reacciones redox:



Reactivos, material e instrumentación:

- Solución de yoduro potásico 0.2 N: Se pesan 33.2 g de KI de calidad p.a. de Merck y se enrasa en un matraz aforado de 1 L con agua ultra pura.
- Solución de ácido sulfúrico 2 N: Se toman 53.2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 96% de calidad p.a. de Merck en un matraz aforado de 1 L y se enrasa con agua ultra pura.
- Disolución comercial de Almidón con yoduro de zinc de calidad p.a. de Merck.
- Solución de tiosulfato potásico 0.1 N: Se pesan 24.82 g de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> p.a. de Merck y se disuelve en 1 L de agua ultra pura.
- Agua ultra pura, procedente de un sistema Milli-Q, para la preparación de las disoluciones.
- Bureta digital de Brand de 25 mL.
- Dosificadores de Brand de 2.5-25 mL.

Procedimiento:

1.- Preparación de la muestra: Las muestras son diluidas para facilitar el análisis y no añadir mucho agente valorante (< 2 mL) en la titulación iodométrica. En este caso, para las experiencias realizadas en este trabajo de investigación, se toman 5 mL de muestra y se diluyen 5 veces ( $f_{\text{dilución}} = 5$ ), es decir hasta 25 mL, en un matraz aforado.

2.- Reacción redox: Se añaden con los dosificadores 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N y 25 mL de KI 0.2N a la muestra diluida y colocada en erlenmeyer. Se añaden 10 gotas de almidón (la disolución adquiere un color azul verdoso) y se esperan 30 minutos a que tenga lugar la reacción de oxidación-reducción.

3.- Titulación con tiosulfato: Se pone un imán en la disolución y se pone a agitar. Con ayuda de la bureta automática se titula poco a poco la muestra con la disolución 0.1N de K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. El

punto final de la valoración yodométrica se alcanza cuando la disolución se vuelve transparente.

Evaluación de los resultados:

El número de equivalentes de peróxido de oxígeno presente en la disolución es igual en el punto de equivalencia al número de equivalentes de tiosulfato gastado en la valoración:

$$n^{\circ} \text{ equivalentes } (H_2O_2) = n^{\circ} \text{ equivalentes } (S_2O_3^{2-})$$

$$N_{H_2O_2} \times V_{muestra} = N_{S_2O_3^{2-}} \times V_{valorante}$$

$$N_{H_2O_2} = N_{S_2O_3^{2-}} \times \frac{V_{valorante}}{V_m} \times f_{dilución}$$

$$M_{H_2O_2} = \frac{N_{S_2O_3^{2-}}}{n^{\circ} \text{ electrones}} \times \frac{V_{gastado}}{V_m} \times f_{dilución}$$

$$M_{H_2O_2} = \frac{0.1N}{2} \times \frac{V_{valorante}}{25mL} \times 5$$

$$mM_{H_2O_2} = 10 \times V_{valorante}$$

Por tanto, en este caso, se multiplica por 10 el volumen (en mL) de tiosulfato gastado en la titulación y obtenemos la concentración de agua oxigenada en milimolar (mM) en la muestra y por tanto en el reactor.

*Parámetros de Control:*

Para comprobar que el hierro que hay en la disolución en las experiencias con foto-Fenton no interfiere en la determinación, se prepara una disolución 10 mM de  $H_2O_2$ , que es un valor normal en este tipo de ensayos, y con distintas concentraciones de sulfato de hierro, que son las normales en los tratamientos de foto-Fenton, y se le aplica este método analítico. Los resultados obtenidos son satisfactorios y se corrobora la no interferencia de esta sustancia en el método.

Para comprobar el estado de las disoluciones del método, este es aplicado a una disolución estándar 10 mM de agua oxigenada y se comprueba que el resultado es el esperado.

### 2.2.7. Eliminación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediante *CATALASA*

#### Descripción y fundamento:

Este método analítico se aplica para la eliminación del agua oxigenada presente en las muestras de los tratamientos fotocatalíticos con foto-Fenton, que puede interferir en algunos de los métodos analíticos avanzados aplicados, así como en los toxicológicos, y en los instrumentos analíticos requeridos para dichos análisis. Además, se elimina el peróxido de hidrógeno para parar la reacción de Fenton que tiene lugar en la oscuridad y que haría que las muestras no fuesen representativas del momento del tratamiento en el que son tomadas.

La catalasa usada para la realización de este método es “Catalasa de hígado de bovino”, de 2300 unidades / mg. Una unidad descompone 1 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto.



La catalasa es una enzima capaz de neutralizar formas tóxicas derivadas del oxígeno, como el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que se forman en los ambientes acuosos que contienen oxígeno disuelto, como el citoplasma de las células. La catalasa convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular [Marín Galvín, R., 1999].

#### Reactivos, material e instrumentación:

- Catalasa de hígado de bovino de Sigma-Aldrich de 2300 unidades / mg. Una unidad descompone 1.0 μmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por minuto a pH 7 y 25 °C, aproximadamente.
- Agua ultra pura, procedente de un sistema Milli-Q, para preparar la disolución de catalasa.
- pH-metro CRISON, modelo GLP21.
- Soluciones de NaOH 1N, 0.1N y 0.01N, para ajuste de pH.

Procedimiento:

1. Preparamos una solución de catalasa de concentración 0.1 g/L : Para ello se pesan 10 mg de la catalasa y se llevan hasta 100 mL en un matraz aforado, con agua ultra pura y agitar hasta su total disolución. Esta solución hay que prepararla cada 2 días para que mantenga su actividad.
2. Preparación de la muestra: Ajustar el pH de la muestra a aproximadamente 7, la catalasa se inactiva a pH superiores a 8 e inferiores a 5, luego debemos de trabajar a pH 6-7.
3. Eliminación H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Añadir a 25 mL de muestra (a pH = 7) 0.5 mL de la solución de catalasa 0.1 g/L (esta cantidad de catalasa está pensada para eliminar hasta aproximadamente una concentración de agua oxigenada 20 mM), esperar 10 minutos y filtrar.

Este método analítico está basado en las siguientes consideraciones que no deja de ser un método práctico adaptado a las necesidades de esta Tesis Doctoral, pero que es extrapolable a cualquier otra situación en la que se precise la eliminación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Además, es necesario remarcar que la catalasa que se encuentra en el mercado no tiene una actividad definida, si no que depende de cada partida concreta de producto. Por tanto, es necesario adaptar el método a la calidad o mejor dicho a la actividad de la catalasa, a la concentración de peróxido de hidrógeno y al volumen de muestra disponible.

En el caso concreto de este trabajo de investigación, si se tienen 25 mL de muestra con 20 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, la cantidad en moles de peróxido de hidrógeno que habrá en la muestra será de:

$$20 \frac{\text{mmol}}{\text{L}} \times 0.025 \text{ L} \times \frac{1000 \mu\text{mol}}{1 \text{ mmol}} = 500 \mu\text{moles } H_2O_2$$

Si se añaden 0.5 mL de catalasa 0.1g/L, los mg de catalasa que se están añadiendo son:

$$0.5 \text{ mL Catalasa} \times 0.1 \frac{\text{g}}{\text{L}} \times \frac{1\text{L}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 0.05 \text{ mg Catalasa}$$

Si la catalasa comercial que se ha usado para la realización de esta Tesis Doctoral tiene 2300 unidades de catalasa por mg, en los 0.05 mg de catalasa tenemos:

$$0.05 \text{ mg Catalasa} \times \frac{2300 \text{ unidades}}{1 \text{ mg}} = 115 \text{ unidades Catalasa}$$

Si 1 unidad de catalasa descompone 1  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  por minuto y en este método se esperan 10 minutos, con las 115 unidades de catalasa se descomponen:

$$115 \text{ unidades} \times \frac{1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2}{1 \text{ unidad}} \times 10 \text{ minutos} = 1150 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$$

Luego normalmente, se añaden casi 3 veces más catalasa de la necesaria para eliminar el agua oxigenada presente en las muestras, y el método es satisfactorio.

*Parámetros de Control:*

Para comprobar el buen funcionamiento del método de eliminación del peróxido de hidrógeno y su interferencia en la medición del TOC, se realizaron una serie de ensayos cuyos resultados se muestran en la tabla 2.2.3. Los valores de TOC de las muestras a las que se le añade catalasa no se ven afectados significativamente. Como puede apreciarse también, el  $\text{H}_2\text{O}_2$  se elimina por completo al añadir la catalasa y no hay diferencias apreciables en al doblar la cantidad añadida de la misma. Además, el método analítico para medir el peróxido de hidrógeno muestra la ausencia de este después de añadir la catalasa de la misma forma que si nunca hubiera habido (agua ultra pura).

Conc. $\text{H}_2\text{O}_2$ Inicial	Catalasa Añadida	TOC	$\text{H}_2\text{O}_2$
20 mM	0.5 mL	0.52	0
20 mM	1.0 mL	1.03	0
Agua ultra pura	0.5 mL	-0.65	0

Tabla 2.2.3. Efectividad del método para la eliminación de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y efecto sobre el TOC.

También, fueron llevadas a cabo pruebas con agua a pH 2.7, y con distintas cantidades de Fe y de agua oxigenada, que son las condiciones que tienen las muestras de los tratamientos fotocatalíticos con foto-Fenton, ya que son las muestras que se van a tratar con este método. En todos los casos también se consiguió eliminar el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sin afectar apreciablemente el contenido orgánico de las mismas.

Además de todo esto, después de haber aplicado este proceso a las muestras reales, se comprueba en éstas que el método ha sido efectivo. Para ello, se utiliza el método de análisis que ya se ha explicado con detalle en el apartado 2.2.6. Si al añadir almidón no se genera color, queda garantizada la ausencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## 2.3. TÉCNICAS ANALÍTICAS AVANZADAS

### 2.3.1. Preparación y Preconcentración de Muestras mediante Extracción en Fase Sólida (SPE)

#### Descripción y fundamento:

Los procedimientos comunes en el tratamiento de muestras en los análisis de aguas tratadas químicamente incluyen el uso de una extracción líquido-líquido (LLE) o bien una extracción líquido-sólido (SPE). Como la identificación de productos de degradación en agua tiene que realizarse a niveles por debajo de mg/L (al menos por encima de 10 µg/L), ya que estas son las concentraciones que se pueden encontrar de estos compuestos después o durante un proceso fotocatalítico de degradación de un contaminante, y además porque a estos niveles de concentración suelen ser tóxicos los mismos, generalmente es necesario un paso de preconcentración de 10-50 veces. Normalmente los volúmenes de extracción no deberían exceder los 50 mL, para evitar el posterior “clean-up” de la muestra. Además, esto permite no superar el límite de rotura de los analitos en los cartuchos de los procedimientos SPE.

Generalmente LLE es el método elegido utilizando un disolvente adecuado como acetato de etilo, diclorometano, dietiléter, etc [Almaric *y col.*, 1995; Kerzhentsev *y col.*, 1996; Kochany *y col.*, 1990], pero pueden ocurrir pérdidas de los compuestos más polares e importantes interferencias en la matriz [Chiron *y col.*, 1998; Richardson *y col.*, 1996]. Desde un punto de vista práctico, LLE tiene una importante desventaja: a veces se encuentran emulsiones difíciles de romper, cuando se extraen aguas residuales tratadas, así como la necesidad de varios pasos en el tratamiento de las muestras.

Últimamente, SPE está ganando aceptación principalmente porque: (i) en lo que concierne a los análisis de GC-MS, el método SPE genera menos interferencias de la matriz que cuando se usa LLE [Fernández-Alba *y col.*, 1998], los nuevos absorbentes SPE pueden adsorber los productos de degradación (PDs) en un gran rango de polaridades y se puede introducir selectividad en los pasos de preconcentración utilizando distintos absorbentes (ej. C<sub>18</sub>, y C<sub>18</sub> encapsulado; polímeros porosos; materiales de carbono modificados, etc). Así como, diferentes valores de pH del agua [Benfenati *y col.*, 1996].

Se puede utilizar un esquema de extracción secuencial utilizando distintos absorbentes SPE para identificar tantos productos de degradación como sea posible. En primer lugar, una fase C<sub>18</sub> puede extraer todos los compuestos hidrofóbicos neutros a pH 7. En segundo lugar, los filtrados procedentes de la extracción con C<sub>18</sub> a pH 7 pueden pasarse a través de un absorbente polimérico, donde los compuestos de media polaridad pueden extraerse. Durante un tercer y cuarto paso, las muestras pueden ser acidificadas a pH 4.5 y pH 2.5 respectivamente, para la extracción de la mayoría de los compuestos ácidos con un absorbente de tipo polimérico o de carbono [Fhien *y col.*, 1996].

Las ventajas de los materiales poliméricos absorbentes, Lichrolut EN e Isolute ENV+, sobre materiales C<sub>18</sub> son que los absorbentes poliméricos pueden ser utilizados a pH entre 2 y 13 sin descomposición y pueden por lo tanto extraer una gran cantidad de PDs con distintas polaridades. Esos materiales han sido utilizados con éxito para la caracterización de contaminantes orgánicos en efluentes industriales [Castillo *y col.*, 1998] y para la extracción de PDs polares de fotocálisis de pirimetanil [Agüera *y col.*, 2000]. Al tratar con absorbentes poliméricos, pueden surgir problemas de falta de reproducibilidad con compuestos multifuncionales tales como derivados de atrazina. Una alternativa para la recuperación de compuestos hidrofílicos ( $\log P_{oct} < 0$ ) es por medio de materiales de carbono, grafito poroso o carbono grafitizado no poroso. Por ejemplo, las oximas polares derivadas del pirimiphos-methyl después de un proceso de ozonización podrían ser analizados utilizando un material EnviCarb [Chiron *y col.*, 2000].

Sin embargo, los límites de rotura de los cartuchos están fuertemente influenciados por la cantidad y la naturaleza de las interferencias de las matrices. La influencia en los resultados de estos procesos de SPE de otros compuestos orgánicos presentes en las muestras, que a menudo son más del 50% del carbono orgánico total presente en el agua, raramente se ha estudiado. Por este motivo, antes de la utilización rutinaria del procedimiento SPE en estudios de degradación de plaguicidas, se recomienda la comparación de los resultados con los de LLE. Finalmente, los últimos productos de degradación tienden a ser ácidos alifáticos de una longitud de cadena de 2-4 carbonos (ej. Ácido oxálico o fórmico) que no son recuperados con métodos clásicos de extracción SPE. Las muestras, en tal caso, pueden congelarse o secarse a vacío [Nelieu *y col.*, 1996; Sun *y col.*, 1995] o pueden ser extraídas con éter dietílico [Almaric *y col.*, 1995] antes de la esterificación para el análisis de estos productos orgánicos en forma ester.

Reactivos, material e instrumentación:

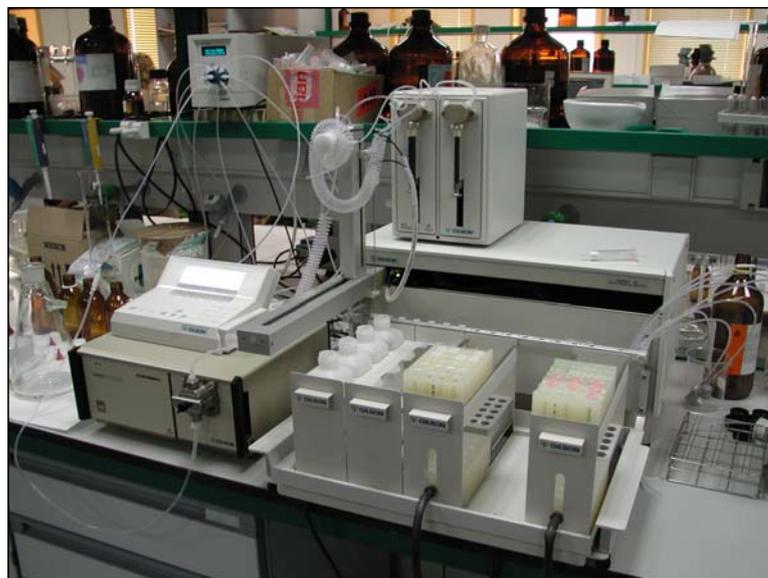
- Filtros de 0.22  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro.
- Disolventes orgánicos para el proceso de extracción; acetato de etilo, metanol, acetonitrilo, diclorometano, eter dietílico, etc. de calidad cromatográfica.



*Figura 2.3.1.* Fotografía de los cartuchos de SPE.

- Cartuchos de extracción en fase sólida:
  - Oasis HLB 30  $\mu\text{m}$ , 28C1 (Waters, Miliford, MA), que consiste en un copolímero macroporoso, sintetizado a partir de dos monómeros, divinilbenceno, de carácter lipofílico, y N-vinilpirrolidona, de carácter hidrofílico. El adsorbente está disponible en cartuchos de extracción de 6 mL con un contenido de 200 mg.
  - Oasis HLB 30  $\mu\text{m}$ , 30C (Waters, Miliford, MA), que consiste en un copolímero macroporoso, sintetizado a partir de dos monómeros, diseñado para tener un balance lipofílico-hidrofílico en su carácter, que da una recuperación alta y reproducible para compuestos ácidos, básicos y neutros. En concreto se trata del adsorbente bien conocido  $\text{C}_{18}$ . El adsorbente está disponible en cartuchos de extracción de 6 mL con un contenido de 200 mg.

- EnviCarb (Supelco, Bellefonte, PA), que consiste en carbón grafizado poroso (GCB, Graphitized carbon black), con un tamaño de partícula de 40-100  $\mu\text{m}$  y un área específica de 100  $\text{m}^2$ .
- Equipo de Extracción en fase sólida automatizado, ASPEC XL de Gilson (Villiers-le-Bel, Francia) con una bomba externa, modelo 306 de Gilson, que dispensa las muestras y los disolventes a través de los cartuchos SPE y una válvula multicanal, modelo 817 de Gilson, para la selección de las muestras (ver figura 2.3.2).



*Figura 2.3.2.* Fotografía del sistema de Extracción en Fase Sólida automatizado, ASPEC XL, de los laboratorios de investigación del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Almería.

Procedimiento:

***ENVI-Carb:***

1°.- Acondicionamiento del cartucho para activar el empaquetado antes de extraer la muestra. Los disolventes de acondicionamiento dependen del empaquetado de los cartuchos y la aplicación.

Se acondiciona el cartucho con 6 mL de una mezcla de diclorometano y metanol 80:20, seguido por 6 mL de agua a pH 2-3. Una capa fina de agua mezclada con disolvente

permanecerá en el empaquetado después de añadir el disolvente acuoso acondicionador. Esto promueve mejor contacto entre una muestra acuosa matriz y la fase sólida hidrofóbica.

Para asegurarse que el empaquetado SPE no se seca entre el acondicionamiento y la adición de muestra (lo cual paralizaría el procesos de extracción, ya que los cartuchos al secarse se bloquean y ya no adsorben ni eluyen nada), se deja aproximadamente 1 mm, del último disolvente acondicionador, por encima de la parte superior de la frita de vidrio del cartucho utilizado y se procede rápidamente a la adición de la muestra, antes de que desaparezca totalmente este disolvente de acondicionamiento. Si el empaquetado se seca antes de añadir la muestra, es necesario repetir el proceso de acondicionamiento, ya que se paraliza el proceso. Para ello, se enjuaga con agua el cartucho antes de reintroducir disolventes orgánicos de acondicionamiento.

2°.- Carga de muestra: Se ajusta el pH de las muestras a 2-3 para mejorar la retención de los compuestos ácidos en el cartucho de extracción y la elución o precipitación de compuestos no deseados. Para evitar la obstrucción de las fritas de vidrio de los cartuchos, se filtra o centrifuga las muestras que contengan partículas antes de la extracción. Estándares internos pueden añadirse a las muestras antes de transferirlas al cartucho para comprobar la recuperación lograda.

La muestra se pasa lentamente a través del cartucho de extracción utilizando vacío o presión positiva. La velocidad de circulación por el cartucho puede afectar la retención de algunos compuestos. Generalmente, la velocidad de circulación no debería exceder 5 mL/min. El volumen de muestra que se pasa a través de los cartuchos dependerá del factor de preconcentración deseado (20, 30 o 50 mL nos darán un factor de concentración de 20, 30 o 50 veces respectivamente, ya que el volumen final se este proceso de extracción es de 1 mL).

Para eliminar materiales débilmente retenidos y no deseados, se lava el empaquetado con soluciones de fuerza de elución intermedias (ej. más fuertes que la muestra matriz pero más flojos que el eluyente necesario para eliminar los compuestos de interés). Se selecciona cuidadosamente la solución de lavado para que sólo se eliminen los materiales no deseados. Una solución típica debe contener menos concentración de disolvente orgánico o sal orgánica que el eluyente final. También se puede usarse una solución con un pH diferente al de las muestras. Los disolventes puros o mezclas de disolventes que difieren suficientemente en

polaridad del eluyente final también son soluciones de lavado útiles. Generalmente no se necesita para el lavado más de un volumen de un cartucho de esta solución de lavado.

3°.- Elución: Los compuestos de interés son eluidos añadiendo 2 alícuotas de 4 mL de la misma disolución usada para el acondicionamiento del cartucho, en este caso una mezcla de diclorometano y metanol 80:20. Dos alícuotas pequeños de eluyente generalmente eluyen los compuestos de interés más eficientemente que una alícuota más grande. La recuperación de analitos es mejor cuando cada alícuota está en contacto con el empaquetado entre 30 segundos y 1 minuto.

Todo este procedimiento de extracción se hace usando el Equipo de Extracción en fase sólida automatizado, ASPEC XL de Gilson, gracias a la programación del mismo. En la figura 2.3.3. se muestra un esquema del proceso de extracción en fase sólida de las muestras.

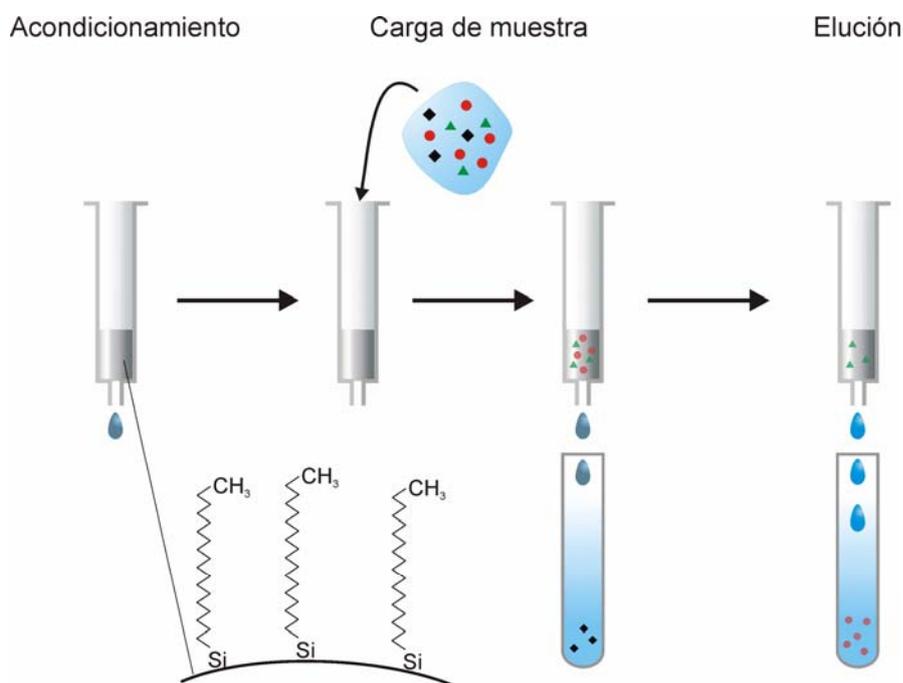


Figura 2.3.3. Esquema del procedimiento de extracción en fase sólida.

Una vez las muestras son eluidas, se evaporan llevándolas a sequedad a 30 °C con corriente de nitrógeno. Después de esto las muestras son reconstituidas en ultrasonidos con 1 mL del disolvente más adecuado según el análisis a realizar (normalmente acetato de etilo para

GC/MS y acetonitrilo o metanol para LC-MS). Este procedimiento es común a todos los métodos de SPE descritos.

**OASIS:**

El procedimiento de extracción con los cartuchos Oasis HLB 28C1 es el mismo que para EnviCarb, descrito anteriormente, salvo en los disolventes empleados para el acondicionamiento y elución:

1°.- Acondicionamiento: Se añaden primero 5 mL de acetato de etilo, después 5 mL de metanol y finalmente 4 mL de agua a pH entre 2-3, acidificada con ácido sulfúrico.

3°.- Elución: Una vez cargado el cartucho de extracción en fase sólida se eluyen los compuestos deseados con dos alícuotas de 1 mL de metanol.

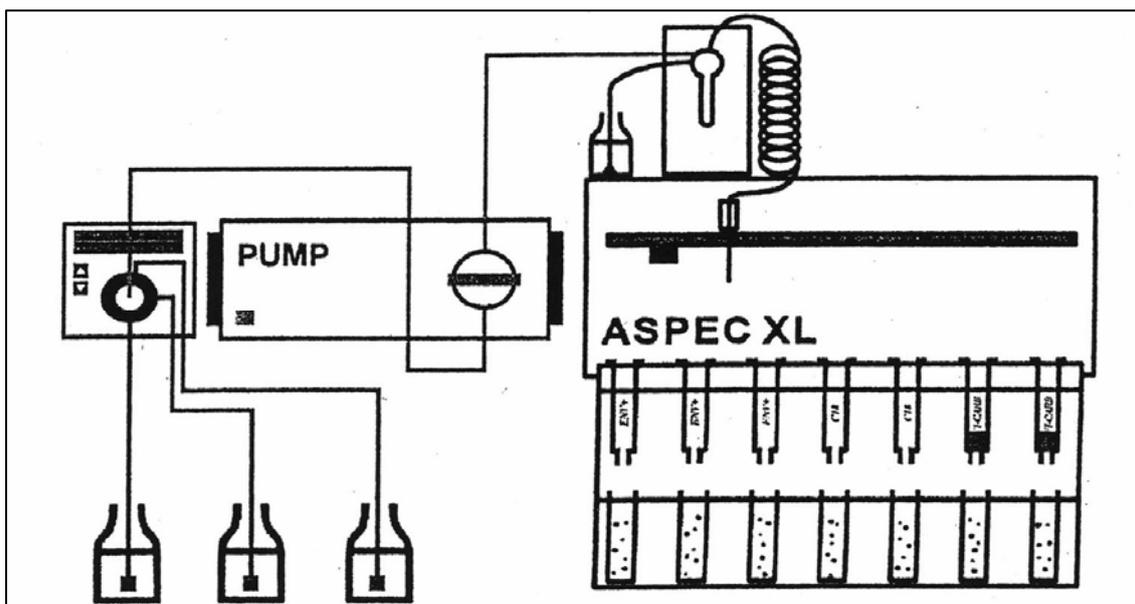


Figura 2.3.4. Diagrama del funcionamiento de sistema ASPEC de SPE automático.

**C<sub>18</sub>:**

El procedimiento de extracción con los cartuchos Oasis HLB 30C es el mismo que para EnviCarb, descrito anteriormente, salvo en los disolventes empleados para el acondicionamiento y elución:

1°.- Acondicionamiento: El acondicionamiento se realiza en este tipo de cartuchos con 7 mL de metanol y después con 6 mL de agua.

3°.- Elución: Una vez cargado el cartucho de extracción en fase sólida con la muestra se eluyen los compuestos deseados con dos alícuotas de 4 mL de metanol.

### 2.3.2. Determinación de los Productos de Degradación, PDs, mediante Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas, GC/MS.

#### Descripción y fundamento:

La cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS) es con diferencia la herramienta analítica utilizada más frecuentemente para identificar Productos de Degradación. Las importantes ventajas de los métodos basados en GC-MS son: (i) la gran cantidad de información estructural adquirida y la posibilidad de utilizar librerías comerciales que hacen posible la identificación de PDs desconocidos; (ii) la solidez y fiabilidad de las interfases GC-MS; y (iii) la alta sensibilidad y separación eficiente que evita el solapado de compuestos con estructuras similares. Un ejemplo que demuestra la utilidad de esta técnica en muestras procedentes de Procesos de Oxidación Avanzada (AOPs) es el trabajo de Agüera y col. [Agüera *y col.*, 2000] que muestra los PDs para el proceso de degradación de pyrimethanil mediante tratamiento fotocatalítico con  $\text{TiO}_2$ , donde 16 PDs fueron identificados mediante análisis GC-MS en el rango de concentración de 0.03 – 4 mg/L.

Sin embargo, los métodos GC-MS tienen importantes limitaciones como consecuencia de su baja capacidad para analizar compuestos muy polares, poco volátiles y térmicamente inestables. Para aumentar el rango de PDs cubiertos por los métodos GC-MS, los extractos secados pueden ser derivatizados con diazometano [Nelieu *y col.*, 1996],  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  [Chiron *y col.*, 2000], BSTFA [Guillard *y col.*, 1996], etc., antes de aplicar el método cromatográfico. Estos métodos presentan una alternativa interesante, pero su utilización puede causar degradación de los PDs, debido a condiciones severas de derivatización (calentamiento, pH ácido). Además de introducir pasos adicionales en el análisis, las derivatizaciones pueden originar una gran variabilidad en la recuperación de analitos, haciendo la evaluación cuantitativa de los PDs inviable [Nelieu *y col.*, 1996]. También se pueden formar compuestos no deseados durante la derivatización debido a la presencia de otros compuestos extraños (ej. aditivos de formulación, ácidos fúlvicos, etc.) y sus productos de degradación. Consecuentemente, la derivatización tiene limitada su utilidad [Buxton *y col.*, 1988; Chiron *y col.*, 1997; Richardson *y col.*, 1996]. Otra alternativa en los análisis GC-MS de PDs es la utilización de columnas de alta polaridad tales como las de tipo polietilenglicol. Esta alternativa está limitada por la estabilidad de la columna y el sangrado a altas temperaturas [Guillard *y col.*, 1996].



*Figura 2.3.5.* Fotografía de cromatógrafo de gases acoplado a detector de masa, GC/MS, instalado en el laboratorio de investigación del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Almería.

Generalmente la identificación de PDs se lleva a cabo basándose en los espectros de sus masas por impacto electrónico (EI), principalmente porque su elucidación estructural puede alcanzarse fácilmente comparando el espectro del compuesto desconocido con espectros publicados, bien en bases de datos o en artículos de investigación. Una desventaja del modo EI es que generalmente no aporta información del peso molecular [Barceló *y col.*, 1997]. Información adicional muy útil sobre los PDs puede obtenerse utilizando el modo de ionización química (CI), especialmente para determinar el peso molecular (Pm) de los PDs. Otros estudios se basan en GC-MS en modo de ionización química (CI) para la identificación de PDs, principalmente utilizando como analizador un cuadrupolo, el cual necesita instrumentación adicional para llevar a cabo análisis en modo CI positivo y negativo [Fhien *y col.*, 1996; Nelieu *y col.*, 1996]. En los equipos con analizador de trampa de iones (ion-trap, IT), el paso de EI a CI se puede conseguir muy fácilmente con la ayuda de los equipos comerciales actuales. De esta manera, se facilita el trabajo experimental en gran medida, al poder introducir cambios en la cámara de ionización Sin embargo, esta técnica puede producir buenos espectros de algunos compuestos, especialmente los halogenados, que al no tener una

adecuada correspondencia en las librerías comerciales habituales se dificulta aún más su identificación [Fernandez-Alba *y col.*,1998].

Reactivos, material e instrumentación:

- Sistema completo de SPE, descrito con detalle en el apartado 2.3.1.
- Helio gas (utilizado como gas portador) y metano (utilizado para la ionización química en la cámara de ionización del espectrómetro de masas).
- Viales de 1 mL especiales para el muestreador automático de Agilent Technologies.
- Cromatógrafo de Gases modelo HP 6890 de Hewlett-Packard (Palo Alto, USA) acoplado a un Detector selectivo de Masas modelo HP 5973 también de Hewlett-Packard (ver figura 2.3.5). Este equipo está provisto de un inyector automático modelo G1512A de Agilent Technologies. La adquisición y procesado de los datos, así como el control del instrumento se realiza mediante el programa HP MSD ChemStation (Hewlett-Packard).
- Estándares cromatográficos de los compuestos identificados, de los que están disponibles en el mercado.

Procedimiento:

1º.- Preparación del equipo cromatográfico: Se selecciona la columna capilar, la precolumna y el alineador del inyector más adecuados en cada experiencia. Se selecciona, también, el gas portador y el flujo.

Con ayuda del software, se introduce el programa de temperaturas del horno, que va a utilizarse durante el análisis, y las condiciones de operación del inyector. La línea de transferencia entre el cromatógrafo y el detector se mantuvo a 280 °C.

2º.- Preparación del detector: Las condiciones de operación del detector selectivo de masas se optimizan con un programa de autoajuste del equipo.

Con ayuda del software se introducen las condiciones de ionización de espectrómetro de masas en sus distintos modos:

- Impacto Electrónico (EI): Energía electrónica, que normalmente suele ser de 70 eV; temperaturas de la fuente de ionización y del analizador de cuadrupolo.
- Ionización Química (CI) tanto negativa como positiva: elección del gas reactivo, temperaturas de la fuente de ionización y del analizador cuadrupolar.

Se elige también el modo de operación, ya sea un barrido completo de masas (Full-Scan) o buscando una serie de masas en concreto (SIM).

3º.- Inyección de la muestra: Se programa el inyector automático la secuencia de inyección, en el que se especifica: el volumen de inyección, la temperatura, etc. (ver figura 2.3.6).



*Figura 2.3.6.* Fotografía del inyector automático del GC/MS instalado en el laboratorio de investigación del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Almería.

#### Evaluación de los resultados:

Con ayuda del programa informático se procesan los cromatogramas analizando los espectros de masas de cada uno de los picos y buscando en las librerías comerciales y en las

generadas por nosotros. También se puede realizar la elucidación estructural, mediante el estudio de los distintos iones o fragmentos que aparecen en los espectros de masas de cada pico cromatográfico.

Cuando adicionalmente se utiliza GC-MS para completar la cromatografía gaseosa con detector de emisión atómica, GC-AED, se resuelve perfectamente en su modo de ionización química positiva, PCI. En dicho modo de operación el pico base de los cromatogramas es el ión molecular protonado  $[M+H]$ , que nos da información de los pesos moleculares de los productos de degradación, PDs, detectados en los cromatogramas.

Para la cuantificación de los compuestos es necesario disponer de los estándares correspondientes. Al igual que en HPLC y en Cromatografía Iónica, el área bajo cada pico es proporcional a la concentración de los compuestos en la muestra. Cuando se dispone del estándar, se realiza una recta de calibrado para cada compuesto e interpolando los valores de área de los picos de las muestras se calcula la concentración de los analitos en las mismas.

### 2.3.3. Determinación de Productos de Degradación mediante Cromatografía Gaseosa con Detector de Emisión Atómica (GC-AED).

#### Descripción y fundamento:

La Cromatografía Gaseosa con Detector de Emisión Atómica, GC-AED, puede ser usada como un selectivo y sensible detector para contaminantes en mezclas medioambientales complejas, tales como: bifenilos policlorados [Pedersen-Bjergaard *y col.*, 1996], VOC, compuestos orgánicos volátiles, [Silgoner *y col.*, 1997] o plaguicidas [Bernal *y col.*, 1996]. El mayor beneficio del uso de GC-AED es que la respuesta de los compuestos es teóricamente independiente de su estructura, en lo cual se basa la calibración de compuestos independientes que permite la identificación de la fórmula molecular de los compuestos, así como su cuantificación sin necesidad de los estándares correspondientes.

Con el Detector de Emisión Atómica (AED), la monitorización de las de las longitudes de onda características para los átomos de carbono e hidrógeno aportan cromatogramas no selectivos universales, similares a aquellos obtenidos con la detección de ionización en la llama. Por otra parte, monitorizando las líneas de emisión para otros elementos tales como fósforo, nitrógeno y azufre asegura cromatogramas específicos para cada elemento, aumentando remarcadamente la selectividad del detector, que es especialmente deseable al tratar con muestras medioambientales y alimenticias [Olson *y col.*, 1994; Lee *y col.*, 1991; Bjergaard y Greibrokk, 1994; Cooke *y col.*, 1993].

Cuando se analizan muestras complejas multicomponentes, GC-AED se complementa con GC/MS muy adecuadamente. Para la identificación de los PDs de los tratamientos fotocatalíticos se hace un barrido en GC/MS en el modo de Ionización Química Positiva (PCI) para detectar los iones moleculares protonados  $[M+1]$ , que nos dan los pesos moleculares de los compuestos. A continuación se analizan las muestras en GC-AED y con ayuda de los pesos moleculares se calculan las fórmulas empíricas de los compuestos. El AED también asegura que no se pierden compuestos que de otro modo no se detectarían.

Se puede usar esta técnica para realizar análisis cualitativos y cuantitativos a la vez. GC-AED hace fácil la cuantificación de compuestos desconocidos, ya que los sistemas GC/MS necesitan estándares para la calibración, GC-AED puede calibrarse para compuestos

desconocidos con precisión utilizando cualquier compuesto conocido que contenga los mismos elementos y estructura similar al compuesto objeto de estudio, es decir, similar comportamiento cromatográfico; y factor de respuesta.

Reactivos, material e instrumentación:

- Sistema completo de SPE, descrito con detalle en el apartado 2.3.1.
- Helio gas (utilizado como gas portador). Oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y metano (utilizados como gases reactivos, para mantener y formar el plasma).
- - Jeringa de inyección cromatográfica de 10  $\mu\text{L}$ .
- Cromatógrafo de Gases modelo HP 6890 de Hewlett-Packard (Palo Alto, USA) acoplado a un Detector de Emisión Atómica HP G2350 también de Hewlett-Packard (ver figura 2.3.7). La adquisición y procesado de los datos, así como el control del instrumento se realiza mediante el programa HP ChemStation versión B.02.05 (Hewlett-Packard).
- Estándares cromatográficos de los compuestos identificados, de los que están disponibles en el mercado.



*Figura 2.2.7.* Fotografía del Cromatógrafo de Gases con Detector de Emisión Atómica, GC-AED, instalado en el laboratorio de investigación del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Almería

Procedimiento:

1°.- Preparación del equipo cromatográfico: Se selecciona la columna capilar, la precolumna y el alineador del inyector más adecuados en cada experiencia. Se selecciona, también, el gas portador y el flujo. Con ayuda del programa informático ChemStation, se introduce La rampa de temperaturas del horno, que va ha utilizarse durante la realización de cada análisis, y las condiciones de operación del inyector. La línea de transferencia entre el cromatógrafo y el detector se mantuvo a 250 °C.

<b>Elementos</b>	<b>Longitud de onda de Emisión Atómica, nm.</b>	<b>Análisis General, nº de inyección</b>
Carbono	496	1
Hidrógeno	486	1
Cloro	479	1
Bromo	478	1
Carbono	834	2
Cloro	837	2
Bromo	827	2
Carbono	193	3
Carbono	179	3
Azufre	181	3
Nitrógeno	174	3
Oxígeno	171	4
Fósforo	178	5
Fluor	690	6
Carbono	248	7
Silicio	252	7

*Tabla 2.3.1.* Tabla de longitudes de onda de características de Emisión de los elementos a determinar, en Análisis General.

2°.- Preparación del detector: Se enciende el plasma seleccionando la proporción y presión de cada uno de los gases reactivos, así como el flujo. Las temperaturas de las zonas calientes

fueron: línea de transferencia 250 °C y la temperatura de la cavidad 250 °C. Con ayuda del programa informático se seleccionan las longitudes de onda características de emisión de los elementos a determinar. En la tabla 2.3.1 se muestra la relación de longitudes de onda de los elementos a determinar en el análisis general. Existen además, otro tipo de análisis en el detector de emisión atómica como son: isotópico, muestras medioambientales, metales, olefinas, petróleos, etc. con los cuales se podrán analizar otros elementos.

Para poder analizar C, H, N, O y Cl es necesario realizar al menos tres inyecciones, seleccionando las diferentes longitudes de onda en el análisis general. Esto es debido a que el detector trabaja con pequeños intervalos de longitudes de onda y no puede analizar todos estos elementos al mismo tiempo.

3°.- Inyección de muestra: Con la jeringa de inyección se inyecta el volumen de muestra exactamente medido. Como ya hemos mencionado anteriormente, es necesario para el análisis de cada muestra inyectarla varias veces, dependiendo de los elementos que se quieran determinar. Normalmente suelen ser tres las que permiten medir en amplio rango de moléculas: en la primera se determinan hidrógeno y cloro; en la segunda se determina carbono y nitrógeno y en la tercera oxígeno.

#### Evaluación de los resultados:

La cromatografía gaseosa con detector de masas, GC-MS, aplicada en su modo de ionización química positiva, PCI, aporta información muy relevante para la identificación de los compuestos desconocidos detectados en el análisis mediante GC-AED. En GC-PCI-MS el pico base de los espectros de masas de cada pico cromatográfico es el ión molecular protonado  $[M+H]$ , que nos da información de los pesos moleculares de productos de degradación, PDs, detectados en los cromatogramas. Con ayuda de esos pesos moleculares y estudiando en GC-AED la respuesta para cada elemento que tienen los compuestos detectados se calcula la fórmula empírica de los mismos. La respuesta para cada elemento, contenido en los compuestos que se detectan en el cromatograma, es proporcional al número de átomos de ese elemento que está contenido en el compuesto. De este modo se pueden identificar compuestos desconocidos, tales como los PDs de un tratamiento fotocatalítico.

Con ayuda del programa informático ChemStation, que es un sistema de control, adquisición y evaluación de datos para instrumentos cromatográficos de Agilent Technologies, se procesan los cromatogramas analizando los espectros de emisión de cada uno de los picos cromatográficos. El área bajo cada pico, al igual que las demás técnicas cromatográficas, es proporcional a la concentración del compuesto en la muestra. Por tanto, calibrando el equipo con los estándares correspondientes, se puede calcular la concentración de los PDs detectados en las muestras.

Pero a diferencia de GC-MS, para la cuantificación de los PDs no es necesario disponer del estándar correspondiente cuando se utiliza GC-AED. De hecho es difícil disponer de los estándares de forma comercial de todos los PDs de los compuestos degradados, mediante fotocatalisis solar con  $\text{TiO}_2$  y Foto-Fenton. La emisión atómica de cada elemento es teóricamente independiente de la estructura del compuesto. Esta cualidad permite cuantificar un compuesto utilizando otro que contenga los mismos elementos y que tenga una estructura similar para producir “procesos de atomización” similares, mediante lo que en esta técnica se denomina “Calibración de Compuestos Independientes”.

Cuando se dispone del estándar, la calibración es realizada utilizando la respuesta del elemento más selectivo, por ejemplo: en un compuesto clorado se calibra con respecto al cloro. Sin embargo, cuando se realiza la calibración sin el estándar, ésta se realiza con respecto al carbono que tiene una respuesta más repetitiva, reproducible y robusta.

#### **2.3.4. Determinación de los Productos de Degradación, PDs, mediante Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas, LC-MS.**

##### Descripción y fundamento:

La Cromatografía Líquida acoplada a Espectrometría de Masas (LC-MS) está ganando aceptación progresivamente en éste área, ya que presenta interesantes ventajas sobre la Cromatografía Gaseosa, para la evaluación de los Procesos de Oxidación Avanzada (AOPs): (i) el análisis directo de las muestras acuosas evita la pérdida de PDs polares durante el proceso de extracción; (ii) compuestos altamente polares, menos volátiles y/o térmicamente lábiles son analizados con más facilidad que utilizando técnicas de cromatografía gaseosa; y (iii) el proceso de inyección es muy restrictivo respecto a GC.

En la realización de esta tesis doctoral, las dos interfases utilizadas en los equipos LC-MS están comprendidas en la tecnología de Ionización a Presión Atmosférica (API). Se trata de Electrospray (ES) e Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI). La interfase ES es un sistema de ionización en el que cualquier ión que esté en disolución se puede detectar, incluido las macromoléculas, sales, etc. Esta detección puede realizarse en cualquier rango de polaridades. Además la posibilidad de obtener iones múltiplemente cargados hace que su utilidad sea aplicable a todas las áreas, incluida la de identificación de compuestos desconocidos como los PDs de los procesos fotocatalíticos. La interfase APCI es aplicable en un rango de polaridades menor que en ES y el rendimiento de la ionización también es menor, luego es menos sensible. Sin embargo, en ES debido a su forma particular de ionización (que se explica a continuación) pueden aparecer asociaciones o aduptos de moléculas (dímeros, etc.), que en APCI se evita gracias al calentamiento de la muestra ya que la ionización es más enérgica. Para poder detectar el ión molecular  $[M+1]$  de un compuesto desconocido se utiliza el espectro obtenido con APCI pues en ES el pico de mayor peso puede ser un adupto. Por ejemplo, en ES puede aparecer el ión  $[M+23]$ , es decir  $[M+Na]$  ya que el metanol suele tener impurezas de sodio.

En la figura 2.3.8 se ilustran los rangos de aplicación de los diferentes métodos de acoplamiento de la cromatografía líquida con la espectrometría de masas en función de las masas y la naturaleza de los compuestos a determinar. En ella se puede observar el gran rango de aplicación que se cubre con la utilización conjunta de las interfases ES y APCI en LC-MS.

APCI es una técnica de ionización química que usa reacciones ión-molécula en fase gas a presión atmosférica con la participación del disolvente. Los iones primarios se producen en la corona de descarga (ver figura 2.3.9.a). El eluente cromatográfico se introduce directamente en un nebulizador neumático, donde es convertido en una fina niebla gracias a una corriente a alta velocidad de aire o de partículas de nitrógeno. Las gotas formadas se exponen, a través de un tubo de cuarzo, a un calentamiento cuidadosamente controlado, conocido como cámara de desolvatación / vaporización. El gas caliente (120° C) y los compuestos que salen del tubo y llegan al área de reacción de la fuente son ionizados bajo presión atmosférica vía transferencia de protones. La fase móvil evaporada actúa como gas ionizante y produce iones  $[M+H]^+$ . Los electrones necesarios para la ionización primaria provienen de la corona de descarga. La descomposición térmica es llevada al mínimo y la ionización de los analitos es muy efectiva.

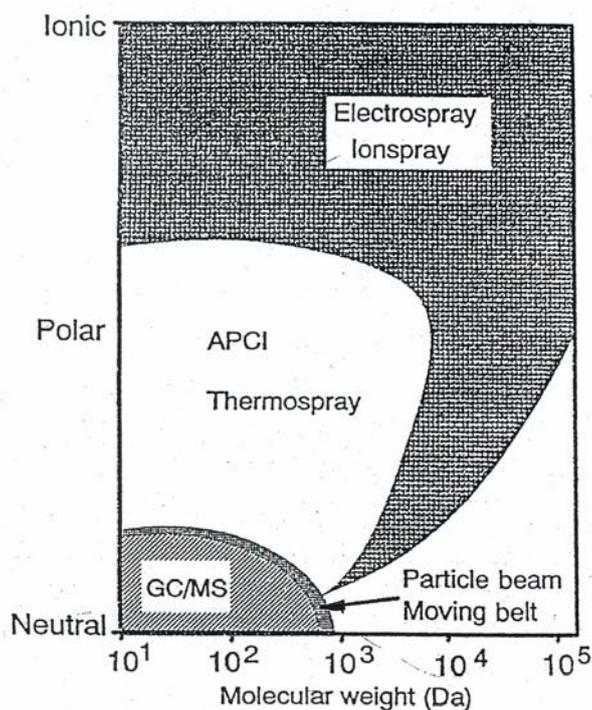


Figura 2.3.8. Diagrama de los rangos de aplicación de los distintos sistemas de acoplamiento LC-MS.

El ES se produce por aplicación de un campo eléctrico fuerte, a presión atmosférica, del eluente líquido que pasa a través de un capilar a un flujo suave (1-10  $\mu\text{L}/\text{min.}$ ). El campo eléctrico es obtenido por aplicación de una diferencia de potencial de 3-6 kV entre el tubo capilar y el electrodo contrario, los cuales están separados 0.2-0.3 cm (ver figura 2.3.9.b). Este

campo induce una acumulación de carga en la superficie del líquido que está al final del capilar, el cual se rompe formando gotas altamente cargadas. Como el disolvente contenido en estas gotas se evapora, estas se encogen hasta el punto que las fuerzas de repulsión coulombimétricas superan sus fuerzas de cohesión, causando así su explosión. Eventualmente, después de una cascada de explosiones adicionales los iones altamente cargados se desorben. ES puede ser usado con moléculas no ionizables gracias a la formación de aduptos de sodio, potasio, amonio y otros. El espectro de masas de ES normalmente muestra una distribución estadística de iones moleculares múltiplemente cargados por protonación  $[M+nH]^{n+}$ , además de evitar la contribución de disociaciones o de fragmentaciones.

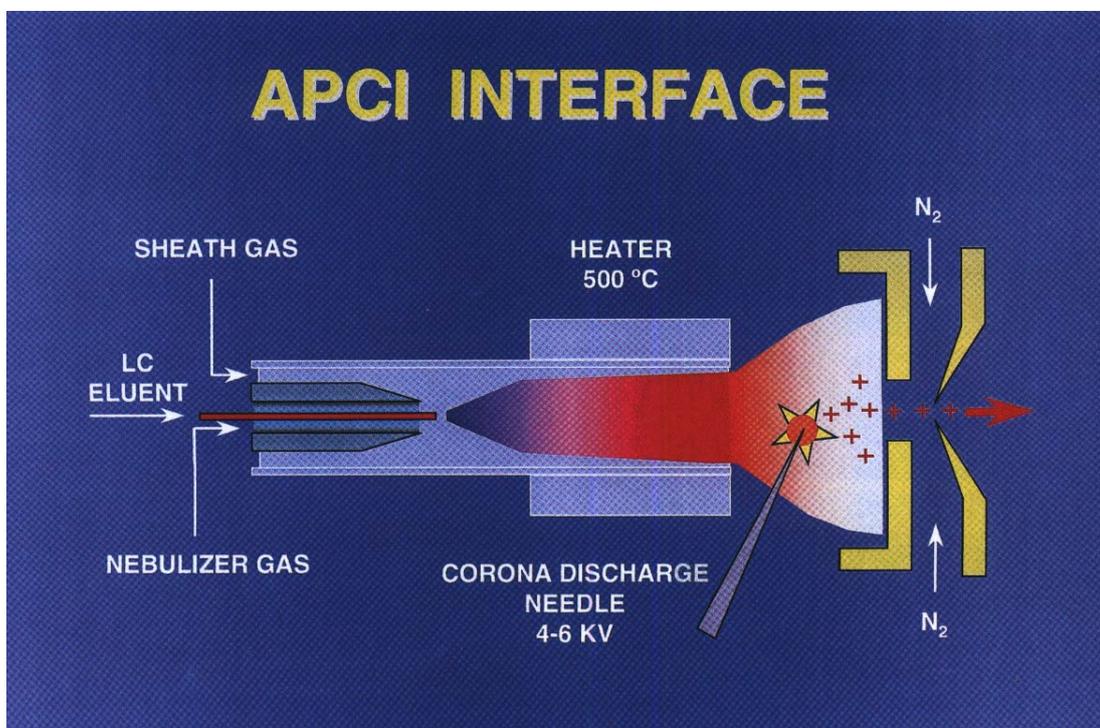


Figura 2.3.9.a. Representación esquemática de una interfase APCI.

Reactivos, material e instrumentación:

- Sistema completo de SPE, descrito con detalle en el apartado 2.2.1.
- Acetonitrilo y Metanol calidad cromatográfica de Merck utilizados para elaborar la fase móvil del cromatógrafo líquido.

- Agua ultra pura procedente de un sistema Milli-Q utilizada también para la fase móvil del equipo.
- Viales de 2 mL del muestreador automático Agilent Technologies serie 1100.
- Sistema LC-Q-ES-MS: Cromatografo de Líquidos Agilent serie 1100 (Palo Alto, California, USA) compuesto por: desgasificador, bomba binaria, inyector automático y cámara termostatzada para la columna cromatográfica. Detector UV de longitud de onda variable Agilent G1314A. Detector de Masas con analizador de cuadrupolo Agilent serie 1100 G1946A, equipado con cámara de ionización de electrospray (ES). Software para el funcionamiento y trabajo posterior con los datos generados, Agilent Chemstation Rev. A.08.03.

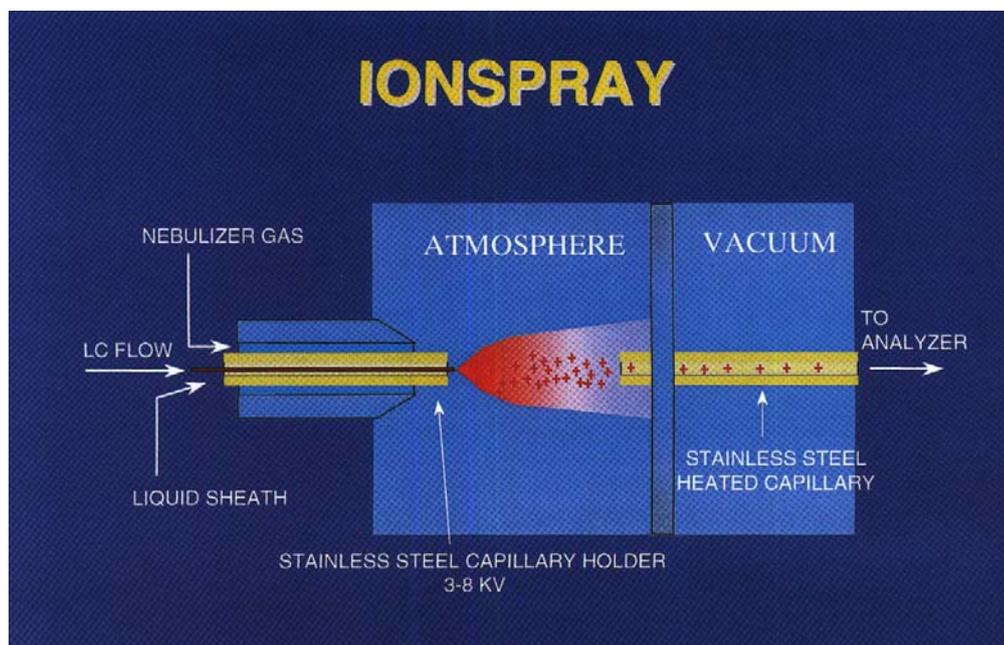


Figura 2.3.9.b. Representación esquemática de una interfase ES.

- Sistema LC-IT-MS: Cromatógrafo de Líquidos Agilent serie 1100 (Palo Alto, California, USA) compuesto por: desgasificador, bomba binaria, inyector automático y cámara termostatzada para la columna cromatográfica. Detector UV de longitud de onda variable Agilent G1314A. Detector de Masas con analizador de trampa de iones Agilent serie 1100 G2445A, equipado con cámaras de ionización de electrospray (ES) e ionización química a presión atmosférica (APCI). El Software para el funcionamiento del cromatógrafo es el Agilent Chemstation Rev.A08.03. El detector

de masas se controla a través del software suministrado por Bruker Daltonics, MSD-Trap 4.0. Los cromatogramas y espectros de masas resultantes son tratados mediante el software de Bruker Daltonics, DataAnalysis Versión 2.0. En la Figura 2.3.4.1 se muestra una fotografía de uno de los dos equipos LC-MS empleados.

- Estándares cromatográficos de los compuestos identificados, de los que están disponibles en el mercado.



*Figura 2.3.10.* Fotografía del LC-MS instalado en los servicios técnicos de la Universidad de Almería.

#### Procedimiento:

1º.- Preparación del equipo cromatográfico: Se selecciona la columna analítica y la precolumna más adecuados para cada experiencia. Normalmente se ha usado una columna  $C_8$  o  $C_{18}$ . Se pone a punto la fase móvil según el compuesto elegido para los procesos de degradación fotocatalítica estudiados. Se selecciona la longitud de onda característica a las que absorben los compuestos de interés.

2º.- Preparación de Espectrómetro de Masas: Para la utilización del modo de ionización de Electrospray positivo los parámetros a ajustar son: la presión del nebulizador, la temperatura y flujo del gas de secado ( $N_2$ ) el voltaje del capilar y el voltaje de fragmentación (diferencia de potencial entre la salida del capilar y un skimmer). En el caso del analizador de trampa de

iones de iones se tendrán en cuenta otros parámetros adicionales como son: el ión que se va a aislar ( $m/z$ ), la ventana de aislamiento ( $m/z$ ), y el voltaje de fragmentación (V). El calibrado de los equipos tanto en el caso del cuadrupolo como en el de la trampa de iones se realiza mediante el software de control de los mismos, Chemstation en el caso del cuadrupolo y MSD-Trap en el de la trampa de iones.

En la utilización de la ionización Química a presión Atmosférica, APCI, los parámetros de control son la temperatura del vaporizador, intensidad de la corona de descarga, además de los mencionados para Electrospray.

3°.- Inyección de las muestras: Se realiza de forma automática la secuencia de inyección, en la que se especifica, entre otros: el número de inyecciones por muestra, el volumen de inyección, el método analítico a aplicar, etc. Se colocan los viales con las muestras en la bandeja de inyección y se inicia la secuencia. A veces es necesario realizar varias secuencias modificando los distintos parámetros que pueden afectar a la fragmentación de las moléculas presentes, obteniendo así mayor información sobre los Productos de Degradación, PDs, y poder llevar a cabo una identificación más fehaciente de su estructura.

#### Evaluación de los resultados:

Con ayuda del programa informático también, se procesan los cromatogramas analizando los espectros de masas de cada uno de los picos. La identificación de los compuestos desconocidos se realiza por elucidación estructural, mediante el estudio de los distintos fragmentos que aparecen en los espectros de masas de cada pico cromatográfico y sus abundancias relativas. Se identifican así los PDs resultantes de la aplicación de los tratamientos fotocatalíticos con Foto-Fenton y con  $TiO_2$  de los contaminantes orgánicos sometidos a estudio.

La cuantificación de estos compuestos se realiza por calibración utilizando los estándares de los compuestos identificados, si existen y están disponibles comercialmente. En LC-Q-ES-MS se selecciona un ión para cada pico cromatográfico, es decir para cada compuesto a determinar, que normalmente suele ser el pico base de su espectro de masas. A continuación, se integra este pico calculando su área y se calibra el compuesto con respecto a ese ión seleccionado. Cuando el pico base del compuesto aparece solapado con la matriz se

selecciona otro ión que tenga una abundancia relativa alta, para tener la máxima selectividad posible. Cuando se trabaja con LC-IT-MS, el método de cuantificación es parecido. Se extrae un ión, que también suele ser el pico base del espectro de masas, y se cuantifica de igual forma con respecto a él. Pero cuando este pico está solapado con la matriz se fragmenta este ión y se cuantifica con respecto a los picos obtenidos. Estos sistemas con “trampa de iones” permiten seleccionar varios iones para realizar la cuantificación, que suelen ser el pico base más otros 3-5 iones más, con lo cual se tiene mayor selectividad y se pueden evitar problemas de interferencias.

## 2.4. BIOENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA

### 2.4.1. Bioensayo Basado en la Movilidad de *Daphnia Magna*.

#### Descripción y fundamento del bioensayo

*Daphnia Magna* es un invertebrado, perteneciente a los crustáceos, del suborden Diplostracos o Cladocera, género *Daphnia*, especie *Daphnia Magna*. Es una de las especies más conocida de cladóceros. El tamaño de los crustáceos es aproximadamente 1 mm, lo que dificulta su observación visual. Su hábitat natural son aguas ricas en sustancias nutritivas, como lagos y estanques. Se alimenta de algas, detritus y bacterias que filtra previamente. En cuanto a su morfología, se caracterizan por tener un caparazón que protege el tronco, y presentar en la cabeza unas potentes antenas, responsables de la locomoción, desarrollando un movimiento vertical y espasmódico. En la figura 2.4.1 se muestra una fotografía realizada mediante microscopio electrónico acoplado a una cámara DCA (Dispositivo de Carga Acoplada), del crustáceo *Daphnia Magna*.



Figura 2.4.1. Fotografías de crustáceos de la especie *Daphnia magna*

La presencia de agentes tóxicos en el medio puede afectar al sistema nervioso o digestivo de estos crustáceos, que se manifiestan en su capacidad de movilidad. La toxicidad

aguda se determinó evaluando los diferentes efectos observados tras la exposición de los crustáceos a diferentes concentraciones de sustancias tóxicas.

#### Reactivos, material e instrumentación.

- Kit Daphtoxkit™ de Trademark Products de CREASEL BVBA, (Deinze, Bélgica). Permite la evaluación de la toxicidad de vertidos, residuos o sustancias químicas en agua dulce, utilizando los individuos neonatos de *Daphnia magna* desarrollados en 3 o 4 días a partir de su forma de resistencia (efipias), obtenidos mediante un ciclo de producción partenogenética. El kit (Figura 2.4.2) contiene los siguientes reactivos:
  - Efipias de *Daphnia magna*, huevos uniformes protegidos por una cápsula quitinosa denominada efipium. En esta forma latente pueden mantenerse durante largos períodos de tiempo, sin pérdida de viabilidad. En condiciones ambientales óptimas son capaces de generar los neonatos, en un período de 3 o 4 días.
  - Los neonatos son los dáfidos utilizados en el bioensayo de toxicidad. Las efipias han de estar protegidas de la luz y mantenida a una temperatura de 4°C hasta su utilización para el bioensayo.
  - Soluciones concentradas de sales: NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>, KCl, para la preparación del medio de ubicación y para la preparación de las diluciones de sustancias tóxicas a analizar.
  - *Spirulina*, es una alga utilizada como nutriente de los neonatos. Este alga es suministrada en forma deshidratada para su mejor conservación.
- Placas petri de 10 cm de diámetro para la incubación de las efipias. Las placas han de ser grandes para que el volumen de medio cultivo sea mayor, e impida un deterioro en la calidad del medio debido a la producción de metabolitos y al gran consumo de oxígeno disuelto en el medio por parte de los neonatos, durante la eclosión de los huevos. Un deterioro en la calidad del medio provocaría el estrés y el debilitamiento de los organismos.
- Placas de poliestireno de 30 pocillos para desarrollar el análisis de toxicidad.
- Bandas de Parafilm, para cubrir las placas de pocillos y minimizar la posible evaporación de las diluciones de muestras, durante el período de incubación.

- Pipetas Pasteur, para la transferencia de los neonatos a las placas de análisis.
- Micro-tamiz, de 100  $\mu$  de malla, para el lavado de las efipias y preconcentración de los organismos.
- Incubador, estufa refrigerada de 4 - 40°C.
- Lupa de aumento.



Figura 2.4.2. *Daphtoxkit*<sup>TM</sup>, bioensayo basado en la movilidad de *Daphnia magna*

Procedimiento:

1.- Incubación de efipias: el cultivo se inicia 3 o 4 días antes de comenzar el bioensayo. Las efipias se lavan con agua del grifo para eliminar las trazas del medio de conservación, para ello se utiliza un micro-tamiz que permite su retención y lavado.

Una vez lavadas, se incorporan en el medio de incubación (40-50 mL), en placas petri. El medio de incubación se prepara por dilución de las soluciones concentradas de las sales, explicadas anteriormente, en agua destilada y se airea intensamente mediante agitación, durante al menos 30 minutos, para disminuir el riesgo de anoxias. Las placas petri se cubren para evitar procesos de evaporación y se incuban las efipias durante 3 o 4 días a 20 °C y en condiciones de luminosidad constante de 6000 lux. El medio de incubación se renueva cada 24 horas, utilizando el tamiz para evitar la pérdida de los organismos.

El período de incubación no es sincrónico y depende, entre otros factores, de la edad de la efípia. Algunos huevos de *Daphnia* pueden eclosionar antes de los tres primeros días de incubación, mientras que otros lo pueden hacer a las 94 o más horas.

Los organismos nacidos antes de los tres días se desecharon. Si después de los tres primeros días de incubación (84-88 horas) el número de eclosiones es suficientemente elevado como para realizar el test completo, éste puede adelantarse y no esperar al cuarto día.

2.- Preparación de las muestras: se lleva a cabo mediante filtración de las mismas por 0.22  $\mu\text{m}$ . En las muestras de los tratamientos con foto-Fenton es necesaria la eliminación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  por su toxicidad para estos organismos y para parar la reacción de Fenton en la oscuridad. Para ello se utiliza el método de la catalasa explicado con detalle en el apartado 2.2.7. Si fueron necesarias diluciones de estas muestras se preparan en el medio de cultivo, antes de llenar los 5 pocillos de las placas de análisis (ver punto 5).

3.- Se seleccionan las muestras más adecuadas para realizar los tests de una serie de muestras seleccionadas de entre todas las tomadas en cada tratamiento fotocatalítico.

4.- Proceso de nutrición de los organismos: Los neonatos de *Daphnia* consumen sus reservas internas de nutrientes rápidamente, debido a su elevada actividad metabólica. Por este motivo, dos horas antes de comenzar el test de toxicidad se alimentan los neonatos con algas (*Spirulina*). Esta alimentación ayuda a disminuir el porcentaje de muerte por inanición (a veces, superior al 10%). Las algas se suministran en forma liofilizadas y para que puedan ser consumidas como nutrientes por los neonatos, se hidratan por adición de medio de cultivo.

5.- Transferencia de las larvas neonatas a las placas de análisis (placas de pocillos): Cada placa de pocillos tiene 6 líneas de pocillos iguales. Cada línea de las placas de pocillos contiene 1 “pocillo de lavado” y 4 “pocillos de análisis”, para una evaluación estadística aceptable de los efectos (análisis por cuadruplicado). Cada uno de estos 5 pocillos se llena con 10 mL de muestra.

La transferencia de los neonatos activos desde la placa de incubación se realiza mediante succión con pipeta pasteur provista de una goma, de forma que al ejercer una presión adecuada sobre ésta, se produce la succión de los neonatos. De esta forma, poco a

poco se transfieren 20 neonatos a cada uno de los “pocillos de lavado”. A continuación, se realiza la transferencia de 5 neonatos desde el “pocillo de lavado” a cada uno de los 4 pocillos réplicas. De esta forma se previene la dilución de las muestras, debida a la succión conjunta de los organismos y del medio de cultivo, ya que la única posible dilución adicional ocurriría en el “pocillo de lavado” debido a la adición de los 20 neonatos conjuntamente con una pequeña cantidad de medio de cultivo. Las daphnias quedan con facilidad atrapadas en la superficie del medio líquido debido a fenómenos de tensión superficial. Los organismos sobrenadantes mueren rápidamente y pueden alterar el resultado del ensayo. Por ello, para evitar este fenómeno, se coloca la punta de la pipeta en el interior del medio antes de depositar los organismos en los pocillos y nunca se arrojan mediante goteo sobre la superficie. Si después de estas precauciones se producen fenómenos de atrapamiento de los dáfnidos en la superficie del medio, estos fenómenos se pueden corregir añadiendo unos granos de acetil-alcohol (tensoactivo no tóxico) durante unos minutos en cada pocillo.



Figura 2.4.3. Fotografía de las placas de pocillos para medidas de toxicidad aguda con *Daphnia Magna*.

Debido al pequeño tamaño de los neonatos, la transferencia se realiza con la ayuda de una lupa, además de una superficie oscura (negra) sobre la que se coloca la placa de análisis, para aumentar el contraste y facilitar la observación visual de los organismos.

6.- Incubación. Se cubre la placa de análisis con una banda de Parafilm y se coloca la tapadera de la placa para evitar fenómenos de evaporación de las muestras de análisis. La incubación se lleva a cabo en oscuridad y a una temperatura de 20 °C, durante 24 y 48 horas.

7.- Finalizado el período de incubación, se procede a realizar la lectura a las 24 y 48 horas respectivamente. La lectura se efectúa mediante la observación y recuento del número de organismos inmovilizados frente al número de organismos móviles. Los organismos son considerados inmovilizados si después de 15 segundos de observación, éstos no desarrollan movimiento alguno de locomoción y permanecen en el fondo del pocillo.

#### *Test de referencia:*

Para comprobar la correcta ejecución del bioensayo en términos de sensibilidad de los organismos, así como de obtención de una respuesta homogénea, se desarrolla una evaluación de la respuesta de los dáfnidos frente a un control negativo y a un control positivo.

El control negativo corresponde con la exposición de los dáfnidos al medio de cultivo y el control positivo corresponde con la exposición de los dáfnidos a una sustancia tóxica de referencia, en este caso, el dicromato potásico. El valor de  $EC_{50}$  a las 24 horas de exposición, para el dicromato potásico debe ser de 1.0 mg/L y con unos límites de confianza al 95 % de 0.7 a 1.3 mg/L. El valor de  $EC_{50}$  a las 48 horas de exposición, debe ser 0.8 mg/L y con unos límites de confianza al 95 % de 0.6 a 1.0 mg/L: Para que el bioensayo sea válido, de acuerdo con el protocolo ISO 6341, la inmovilización en el control negativo no debe exceder al 10 %.

#### Evaluación de los resultados

La toxicidad aguda se evalúa mediante la exposición de los dáfnidos a diferentes diluciones de las muestras de los tratamientos de degradación de los contaminantes y determinación de los efectos tóxicos generados basados en la movilidad desarrollada por los dáfnidos. Los parámetros de toxicidad que se determinan son la concentración efectiva o  $EC_{50}$  y la menor concentración que produce un efecto observable o LOEC.

El  $EC_{50}$  es la concentración efectiva de agente tóxico que reduce la movilidad del 50 % de los organismos después de 24 o 48 horas de exposición. El  $EC_{50}$  se determina mediante interpolación gráfica, en la relación establecida entre el efecto inhibitorio expresado en términos de porcentaje de inmovilidad y las concentraciones causantes de dichos efectos. Para este bioensayo, el LOEC se establece como la concentración de agente tóxico que produce un efecto inhibitorio de un 10 % en la respuesta biológica estudiada (movilidad).

#### 2.4.2. Bioensayo basado en la actividad bioluminiscente de la bacteria *Vibrio Fischeri*

##### Descripción y fundamento del bioensayo.

*Vibrio Fischeri*, es una especie perteneciente al grupo de bacterias anaeróbicas facultativas, bacilos y gram negativos. Se engloba en la familia Vibrionaceae, género Vibrio, especie *Vibrio Fischeri*. En la figura 2.4.2.1, se puede observar una fotografía realizada con microscopio óptico acoplado a una cámara DCA (Dispositivo de Carga Acoplada), de estas bacterias identificadas mediante Tinción Gram.

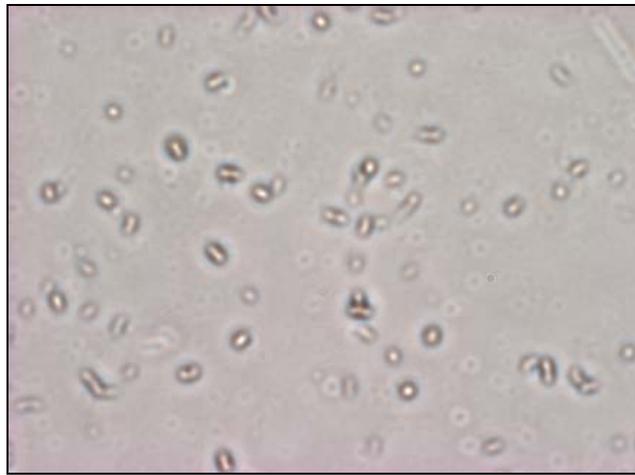


Figura 2.4.4. Fotografía de bacterias de la especie *Vibrio Fischeri*, realizada con microscopio óptico acoplado a una cámara DCA.

Las especies pertenecientes a esta familia se encuentran en ambientes marinos y de agua dulce en asociación con otros organismos. Algunas especies del género Vibrio tienen la capacidad de emitir luz de forma natural como la especie *Vibrio Fischeri* y se pueden encontrar estableciendo una asociación simbiótica con peces teleósteos que viven en las zonas más profundas del mar [Bauman *y col.*, 1980]. La reacción bioquímica por la que algunos organismos son capaces de emitir luz de forma natural se conoce como bioluminiscencia. La bioluminiscencia, es la energía en forma de luz visible, generada como consecuencia de una reacción de oxido-reducción, que está catalizada por una enzima oxido-reductasa, conocida como luciferaza [Meighen, 1988].

La ruta de la formación de aldehídos y la producción de bioluminiscencia, en la bacteria *Vibrio Fischeri* se recoge en la Figura 2.4.5. La actividad bioluminiscente de *Vibrio Fischeri* puede ser mermada debido a la acción bloqueante o inhibidora de agentes tóxicos sobre los enzimas implicados en la ruta de formación de aldehídos o en la reacción de luminiscencia desencadenada. El bioensayo basado en la actividad bioluminiscente de la bacteria *Vibrio Fischeri* NRRL B-117, es similar al bioensayo conocido como Microtox<sup>®</sup>, que utiliza la bacteria *Photobacterium Phophoreum* [Chang y col., 1981; Ribo y col., 1987; Ruiz y col., 1997] y cuyos protocolos pueden utilizarse directamente para este caso.

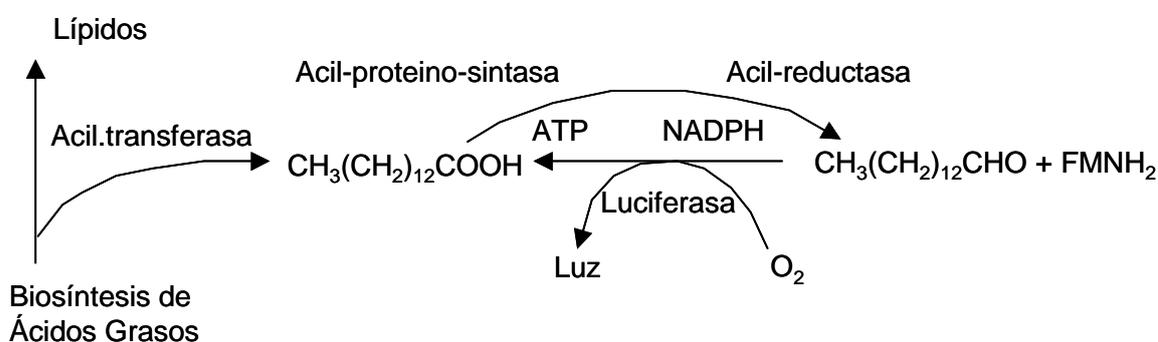


Figura 2.4.5. Ruta de la formación de aldehídos y reacción de bioluminiscencia en *Vibrio Fischeri*.

#### Reactivos, material e instrumentación

- Kit Biotox<sup>™</sup>, de Bio-Orbit (Turku, Finlandia). El Kit contiene los siguientes reactivos:
  - Bacteria luminiscente *Vibrio Fischeri* NRRL B-11177, en forma liofilizada y congelada. La estabilidad de las bacterias está garantizada manteniéndose congeladas a una temperatura de  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
  - Cloruro sódico sólido con una pureza del 99.9 %.
  - Solución salina esterilizada de cloruro sódico al 2 %
  - Solución de cloruro sódico al 20 %.
- Luminómetro Optocom de MGM Instruments, (Hamden). Mide en el espectro de luz visible, aproximadamente de 390 a 620 nm. Es capaz de detectar la luz emitida en una reacción bioluminiscente mediante un tubo fotomultiplicador de electrones que

convierte los fotones de luz en señal eléctrica o pulsos. El número de pulsos detectados por unidad de tiempo es directamente proporcional a la cantidad de reactivo emisor de bioluminiscencia. La señal detectada es registrada como unidades relativas de luz (URL).

- Incubador termorregulado a una temperatura de 15 °C, con capacidad para 54 tubos de ensayos. La figura 2.4.6 muestra el luminómetro y el incubador utilizados en la realización de este bioensayo.
- pH-metro CRISON, modelo GLP21.



Figura 2.4.6. Luminómetro, incubador y kit Biotox™

#### Procedimiento:

1.- Las muestras previamente son filtradas y se ha eliminado el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de las muestras de foto-Fenton, como se ha explicado para la aplicación del bioensayo con *Daphnia Magna*. Se prepararan las muestras a analizar mediante el ajuste de salinidad al 2 % (p/v) por adición de cloruro sódico sólido de alta pureza y se comprueba que el pH de las muestras está comprendido entre 6 y 8, 5, procediéndose en caso contrario, al ajuste del pH a 7±0.2 con soluciones de NaOH o HCl.

2.- Se activan las bacterias liofilizadas y congeladas, mediante hidratación por adición de solución salina esterilizada de cloruro sódico obteniéndose así una suspensión bacteriana. La solución salina esterilizada es previamente atemperada a 4 °C. Para una adecuada reconstitución de las bacterias, se mantienen a 4 °C y 15 °C durante 30 minutos, sucesivamente, antes de iniciar el bioensayo. Las bacterias una vez que son activadas son efectivas para la ejecución del bioensayo con un margen de 5 a 6 horas y no pueden volver a congelarse.

3.- Se preparan diluciones de la suspensión bacteriana por transferencia de 10 µL de la suspensión en 500 µL de solución salina de cloruro sódico al 2 %. Estas diluciones se dejan estabilizar en las cubetas de análisis durante 20 minutos a 15° C.

4.- Se acondicionan las muestras a analizar mediante la adición de solución salina al 2 %, (obtenida de la dilución 1:10 de la solución salina de cloruro sódico al 20 %) y ajuste térmico a 15 °C durante 15 minutos, antes de iniciar el ensayo.

El control de la temperatura en la ejecución de este bioensayo es esencial, debido a su influencia sobre la emisión natural de luz por la bacteria. Estudios realizados en este sentido con la bacteria *Photobacterium Phosporeum*, han demostrado que se produce una variación de un 10% en la intensidad de luz emitida, por cada °C de variación en la temperatura de incubación [Ribo y col.,1987]. *Photobacterium Phosporeum* y *Vibrio Fishcheri* son utilizadas de igual forma en este tipo de bioensayos debido a que la reacción bioquímica desencadenante de la luminiscencia es la misma en ambas especies. El bioensayo basado en la actividad bioluminiscente de la bacteria *Photobacterium Phophoreum*, conocido como Microtox<sup>®</sup> ha sido utilizado para la determinación de la toxicidad de plaguicidas [Chang y col., 1981; Ribo y col., 1987; Ruiz y col., 1997].

5.- Transcurridos los 20 minutos, necesarios para la estabilización de la suspensión de bacterias, se procede a realizar la lectura. Esta lectura se considera la medida de la intensidad luminiscente inicial, designada como I<sub>0</sub>.

Inmediatamente después de finalizar esta lectura, se adiciona a cada suspensión de bacterias, 500 µL de muestra, en intervalos de tiempos iguales (10 segundos).

6.- Se incuban las muestras inoculadas a una temperatura de 15 °C, durante los tiempos de exposición de 5, 15 y 30 minutos.

7.- Finalizado el periodo de exposición, se procede de nuevo a la lectura de la intensidad luminiscente, designadas como  $I_5$ ,  $I_{15}$  o  $I_{30}$ . Las medidas de intensidad luminiscente son la media de dos lecturas.

*Test de referencia:*

La evaluación de la sensibilidad y viabilidad de las fotobacterias se determina mediante la exposición a un control positivo y a un control negativo. Para la evaluación de la sensibilidad se utiliza un control positivo, una disolución de fenol cuya concentración efectiva para *Vibrio Fischeri* es de 26 mg/L. Para la comprobación de la viabilidad de las fotobacterias se utiliza un control negativo o blanco, una disolución salina de cloruro sódico preparada al 2% en agua destilada.

Evaluación de los resultados

Los parámetros de toxicidad determinados son la concentración efectiva ( $EC_{50}$ ) y la menor concentración que produce un efecto observable (LOEC). La determinación de estos parámetros se hace en base la pérdida de luminiscencia. Cuando las bacterias son expuestas a muestras no tóxicas, no se produce ninguna alteración en la intensidad de luz emitida por éstas. Por el contrario, si la muestra resulta tóxica tras un periodo de exposición de 5, 15 o 30 minutos a 15 °C, la emisión de luz de las bacterias decrecerá, siendo esta pérdida proporcional a la toxicidad de la muestra y a la concentración de agentes tóxicos.

El efecto inhibitorio puede ser expresado en términos de gamma ( $\tau$ ), definida como la relación entre la pérdida de emisión de luz natural ( $I_o$ ) y la emitida ( $I_t$ ), durante un período de exposición, para una determinada concentración de sustancias tóxicas. Esta relación se expresa con la siguiente fórmula:

$$\tau_t = (R_t I_o - I_t) / I_t = [(R_t x I_o) \div I_t] - 1$$

donde,  $R_t$ , es un factor de corrección, definido como la relación entre la luz emitida por el control negativo, inicialmente ( $I_{c_0}$ ) y transcurridos los períodos de tiempo de exposición seleccionados en el ensayo ( $I_{c_t}$ ). El control negativo se corresponde con el blanco, es decir, la muestra adicionada a la suspensión de bacterias, no contiene ningún agente tóxico, únicamente, solución salina. La relación que define el factor de corrección  $R_t$ , viene dada por la siguiente expresión:

$$R_t = \frac{I_{c_t}}{I_{c_0}}$$

La relación entre el efecto inhibitorio, expresado en términos de gamma ( $\tau$ ), y la concentración, puede ser expresada en forma de ecuación lineal. Esta relación permite la determinación de valores de concentración a partir de los valores de gamma. Esta relación se expresa según la ecuación:

$$\text{LogC} = b \log\tau + \log a$$

La regresión lineal del logaritmo de la concentración frente al logaritmo de gamma, permite la estimación de un valor de concentración que genera un efecto inhibitorio dado, como el  $EC_{50}$ . El  $EC_{50}$ , es la concentración efectiva y que genera una caída del 50 % de la luminiscencia de las fotobacterias. El valor de  $EC_{50}$  representa un valor de  $\tau$  igual a 1.

El efecto inhibitorio, también puede ser expresado en forma de porcentaje, mediante la siguiente expresión:

$$\%E = [\tau \div (1 + \tau)] \times 100$$

Además de la determinación del valor de  $EC_{50}$ , se determina el valor de LOEC, que se determina mediante la siguiente expresión matemática:

$$LOEC = \frac{3se_b}{m}$$

donde  $se_b$  y  $m$  son el error estándar de la ordenada en el origen y la pendiente, definidos en la relación efecto inhibitorio y concentración, respectivamente.

### 2.4.3. Bioensayo basado en el Crecimiento de *Selenastrum Capricornotum*

#### Descripción y fundamento del bioensayo.

*Selenastrum Capricornotum* es una microalga verde unicelular. Es una especie perteneciente a la división de algas verdes Clorofitas, familia Chlorophyceae, género *Selenastrum*. Este bioensayo está basado en la inhibición del crecimiento de las microalgas por la acción de agentes tóxicos. La inhibición del crecimiento de las microalgas determina una menor densidad celular. La densidad celular es determinada espectrofotométricamente a 670 nm. En la Figura 2.4.7 se aprecia el color verde de las algas, que las clasifica en la división Clorofita.



Figura 2.4.7. Fotografía de microalgas de la especie *Selenastrum Capricornotum*, realizada con un microscopio electrónico acoplado a una cámara DCA.

#### Reactivos, materiales e instrumentación

- Algatoxkit™, de Trademark Products de CREASEL BVBA (Deinze, Bélgica). El kit contiene los siguientes reactivos (ver figura 2.4.8):
  - *Selenastrum Capricornotum*, ATCC 22662, microalga suministrada en forma latente, inmovilizadas en un medio de cultivo que les permite la supervivencia durante meses sin pérdida de viabilidad. Para su conservación, deben mantenerse a una temperatura de 4° C y en condiciones de oscuridad.

- Medio disolvente de la matriz: este disolvente permite la activación de las microalgas. Este medio debe conservarse en oscuridad y a una temperatura de 4 °C.
- Medio de cultivo: disoluciones concentrada de sales que permiten la elaboración del medio de cultivo por dilución en agua destilada: 15 mg/L de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 12 mg/L de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 18 mg/L de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 15 mg/L de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.6 mg/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.08 mg/L de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $3 \cdot 10^{-3}$  mg/L de  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $10^{-5}$  mg/L de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $7 \cdot 10^{-3}$  mg/L de  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 50 mg/L de  $\text{NaHCO}_3$ . Estas disoluciones de sales son esterilizadas mediante autoclave y filtración. Una vez preparado el medio de cultivo por dilución de las sales en agua destilada, el pH del medio debe de ser aproximadamente de 8, valor óptimo para que las algas sean viables.



Figura 2.4.8. Algotoxkit™, bioensayo basado en el crecimiento de *Selenastrum Capricornotum*

- Viales de incubación.
- Cubetas de poliestireno para realizar la medida.
- Espectrofotómetro Unicam UV/Vis, capaz de medir a 670 nm.
- Incubador, estufa refrigerada de 4-40°C, Ing. Climas, modelo EC-160 PP.
- Centrífuga modelo Centromix de Selecta.
- pH-metro CRISON, modelo GLP21.

### Procedimiento:

1.- Activación de las microalgas. Para la activación de las microalgas se desecha el medio de cultivo donde se encuentran las mismas en su forma latente. Posteriormente se realiza el procedimiento de activación mediante la adición de medio disolvente de la matriz y agitación vigorosa durante 20 a 40 minutos para conseguir la disolución de las mismas. La disolución obtenida se somete a centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm. Se elimina el sobrenadante, y se añaden 10 mL de agua destilada para la obtención de la suspensión de las microalgas mediante agitación. La suspensión se centrifuga de nuevo durante otros 10 minutos a 3000 rpm y se vuelve a eliminar el sobrenadante. Por último se añaden 10 mL de medio de cultivo, para la activación de las microalgas mediante agitación.

2.- Preparación del inóculo concentrado de microalgas. El inóculo se prepara por dilución de la suspensión de algas hasta 25 mL en medio de cultivo. La determinación de la densidad celular se hace mediante la lectura de la densidad óptica en el espectrofotómetro, haciendo un ajuste previo con la medida de la densidad óptica del medio de cultivo como blanco. Una vez determinada la densidad óptica de la suspensión de microalgas, ésta se diluye hasta que la concentración celular es de  $1.10^4$  células /mL.

3.- Preparación de las muestras a analizar. Las diluciones de las muestras que contienen los agentes tóxicos sometidos a estudio se realizan en medio de cultivo. El rango de muestras seleccionado para la determinación de los parámetros de toxicidad, se realiza mediante el análisis preliminar de una serie de muestras seleccionadas previamente de entre todas las muestras tomadas durante los tratamientos fotocatalíticos de los contaminantes estudiados, en puntos estratégicos de los mismos. El rango seleccionado comprende desde las muestras que no producen un efecto tóxico observable hasta aquellas capaces de producir un efecto inhibitorio del 100%. Para que la evaluación estadística del efecto inhibitorio sea aceptable, el análisis de las muestras se realiza por triplicado para cada muestra.

4.- Transferencia de las diluciones alga-tóxico a los viales del test. A cada dilución de muestra se le inoculará 1 mL de suspensión de microalgas, e inmediatamente se procede a realizar la primera lectura de la densidad óptica, previa agitación de la disolución para asegurar una adecuada homogenización de la suspensión de algas.

5.- Incubación de los viales. Las diluciones de muestras inoculadas con algas se incuban dejando los viales semiabiertos para permitir su oxigenación, y para evitar evaporaciones en las diluciones de las muestras, se cubrieron con una banda de Parafilm. Los viales se incuban durante 3 días en una estufa termorefrigerada a una temperatura de 23 a 25 °C y bajo condiciones de iluminación continua y uniforme de 8000 lux.

6.- La lectura de la densidad óptica se efectúa después de 72 horas de incubación. Antes de efectuar la medida de la densidad óptica, se agitan los viales para homogeneizar la suspensión de las algas.

#### *Tests de referencia*

Para comprobar la respuesta homogénea y la sensibilidad de las algas se realiza un control interno de calidad. Para la evaluación de la sensibilidad se utiliza como control positivo el dicromato potásico comprobándose que el valor de  $EC_{50}$  a 24 horas, fue de 0.6 mg/L y cuyos límites de confianza al 95% estaban comprendidos entre 0.45 y 0.75.

Para la evaluación de la viabilidad se utiliza como control negativo agua destilada y se comprueba que la concentración celular correspondiente al cultivo de control, experimenta un incremento con un factor de 16, después de 3 días de iniciar el bioensayo.

#### Evaluación de los resultados

Las lecturas obtenidas mediante determinación espectrofotométrica a 670 nm, son las correspondientes a las medidas de densidad celular en las muestras analizadas. Los parámetros de toxicidad que se determinan son la concentración efectiva ( $EC_{50}$ ) y la menor concentración que produce un efecto observable (LOEC).

Para el tratamiento de los datos se elabora una curva de crecimiento obtenida de la representación gráfica del logaritmo de la media aritmética de las concentraciones celulares correspondientes a cada concentración de la muestra y de los controles o blancos frente al tiempo de exposición.

La inhibición del crecimiento celular en los cultivos de algas se puede determinar mediante dos parámetros: comparación del área bajo la curva de crecimiento (biomasa total) o relación de crecimiento medio.

- a) El área bajo la curva de crecimiento ( $A$ ) se determina mediante una integración numérica. El porcentaje de inhibición del crecimiento celular para cada concentración de muestra analizada ( $I_{A_i}$ ) se determina como la diferencia entre el área bajo la curva de crecimiento del control ( $A_c$ ) y el área bajo la curva de crecimiento de cada concentración de muestra analizada ( $A_i$ ), según se expresa en la siguiente fórmula:

$$I_{A_i} = \frac{A_c - A_i}{A_c} \times 100$$

- b) La relación de crecimiento medio ( $\mu$ ) para un cultivo con crecimiento exponencial se determina con la siguiente expresión:

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n}$$

donde  $t_n$  = tiempo correspondiente a la última medida realizada después de comenzar el test,  $N_0$  = densidad celular inicial,  $N_n$  = densidad celular final. La relación de crecimiento también puede determinarse mediante la pendiente obtenida de la regresión lineal de  $\ln N$  frente al tiempo. El porcentaje de inhibición se determina mediante la siguiente ecuación:

$$I_{\mu_i} = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \times 100$$

donde,  $I_{\mu_i}$  = porcentaje de inhibición (relación de crecimiento) para cada concentración de muestra analizada,  $\mu_i$  = relación de crecimiento medio para cada concentración de muestra analizada,  $\mu_c$  = relación de crecimiento medio para el control.

La concentración efectiva  $EC_{50}$  se determina por interpolación gráfica en la relación establecida entre la respuesta expresada en términos de área bajo la curva o crecimiento medio celular y la concentración.

El LOEC se define mediante la relación definida entre respuesta y concentración, y se determinó mediante la siguiente expresión:

$$LOEC = \frac{3se_b}{m}$$

donde,  $se_b$  es el error estándar asociado con la ordenada en el origen, y  $m$  es la pendiente.

### **3. DISCUSIÓN Y RESULTADOS I:**

#### **IMIDACLOPRID**

### 3.1. INTRODUCCIÓN

Este trabajo de investigación se centra en los problemas medioambientales derivados de las actividades de la agricultura intensiva. Este sector está creciendo durante los últimos años en el área mediterránea y actualmente cuenta con más de 150000 hectáreas de invernaderos, la mayoría de ellos en países de la UE. Esta actividad necesita aproximadamente 200 veces más plaguicidas que la agricultura tradicional. Por ello, hay una creciente concienciación pública del daño ambiental relacionado con la agricultura intensiva. Los problemas medioambientales asociados son una de las amenazas más críticas para el futuro de este sector, tan importante económicamente. Como consecuencia, es muy urgente el desarrollo de tecnologías simples, de bajo costo y asequibles para el tratamiento in-situ de aguas contaminadas.

En zonas de agricultura intensiva, las principales fuentes de contaminación del agua por plaguicidas son:

- (i) Tratamiento con plaguicidas como práctica rutinaria de la agricultura.
- (ii) Agua contaminada con plaguicidas procedente del lavado de contenedores y equipos de dosificado.
- (iii) Aguas residuales procedentes de la industria agrícola (limpieza o lavado de frutas y hortalizas)
- (iv) Residuos de plantas contaminadas con plaguicidas (los restos de plantas sin tratar se depositan normalmente en vertederos).

En concreto, en este trabajo se hace una comparación de dos tratamientos fotocatalíticos solares: con  $\text{TiO}_2$  y con foto-Fenton, para degradar agua contaminada con imidacloprid. Ambos tratamientos son descritos ampliamente en la sección 1.2. Este plaguicida ha sido seleccionado porque es un insecticida de uso muy común en la agricultura intensiva del Mediterráneo y está considerado por la EPA (Agencia de protección medioambiental de Estados Unidos) y por la OMS (Organización Mundial de la Salud) de tipo II, lo cual se interpreta como un pesticida con una toxicidad aguda moderadamente peligrosa. Por añadidura, su alta estabilidad y solubilidad en agua, puede causar contaminación en las aguas subterráneas muy fácilmente.

El imidacloprid es uno de los plaguicidas nicotinoides junto a acetamiprid, nitenpyram y thiamethoxam (nombres provisionales propuesto por ISO). Son insecticidas potentes de amplio espectro que poseen por contacto e ingestión una actividad sistémica. Estos insecticidas son utilizados para aplicaciones foliales y en suelo, pero el imidacloprid también tiene una utilización muy importante en el tratamiento de semillas. Se aplican en cantidades muy pequeñas: por ejemplo el thiamethoxam se aplica típicamente en las hojas en cantidades de solo 2.5-50 g.ha<sup>-1</sup>. Los neonicotinoides son sólidos polares no volátiles con alta solubilidad en el agua y no se ionizan con el pH que se encuentra normalmente en el medioambiente. Su naturaleza polar los hace potencialmente móviles en el suelo pero esto es mitigado por su baja cantidad de aplicación y, para el acetamiprid y nitenpyram, baja persistencia. El imidacloprid y thiamethoxam son suficientemente persistentes para ser utilizados en tratamientos de suelo. Todos los insecticidas se sitúan eficientemente en las plantas y son agentes sistemáticos eficaces contra los chupópteros.

Los neonicotinoides actúan en el sistema nervioso central de los insectos bloqueando los receptores postsinápticos nicotínicos de la acetilcolina. Los nicotinoides, como el cartap y la nicotina, actúan como bloqueadores en el canal abierto del receptor nicotínico de la acetilcolina (nAChR). Son bases y por lo tanto pueden tener una carga catiónica que interactúa fuertemente con insectos nAChR. Los neonicotinoides actúan como agonistas parciales. Tienen solamente una carga parcial positiva conferida por un fuerte grupo de receptor de electrones que interactúa levemente con los vertebrados nAChR y fuertemente con los insectos nAChR. Así pues, los neonicotinoides son insecticidas más potentes que los nicotinoides. Matsua [Matsua y col., 1998] mostró que el  $\alpha$ -subunit del receptor contribuye a la alta afinidad de los insectos nAChR por imidacloprid.

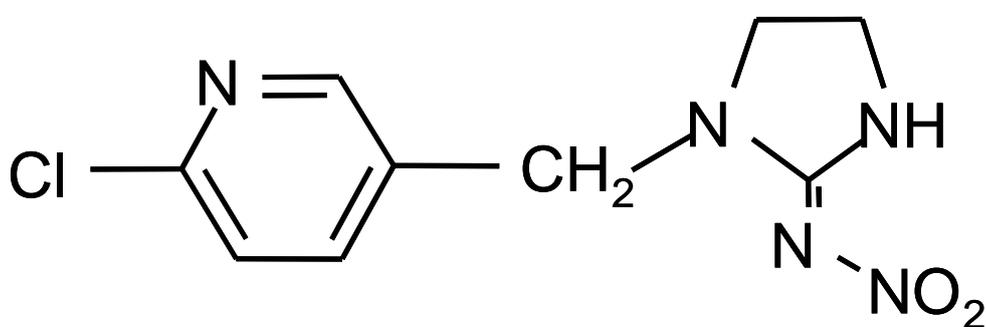


Figura 3.1.1. Estructura molecular del Imidacloprid.

Su nombre IUPAC es 1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine, y otras propiedades físicas de interés son:

- Peso molecular de 255.7 g/mol
- Fórmula molecular es  $C_9H_{10}ClN_5O_2$
- Solubilidad en agua es 0.61 g/L a 20 °C
- Punto de fusión es de 144 °C

Este producto es comercializado por Bayer. El producto comercial es un líquido amarillento con una pureza del 50 % p/v, llamado Confidor. Éste se utiliza para el control de chupópteros incluyendo los saltamontes del arroz, trips, y la mosca blanca. También es efectivo contra los insectos del suelo, termitas y algunas especies de insectos mordedores, como los gorgojos del arroz y el escarabajo de Colorado. No tiene efecto sobre los nematodos o los ácaros de araña. Se utiliza como aderezador de semillas, tratamientos de suelos y tratamientos foliales en distintos cultivos, como el arroz, algodón, cereales, maíz, remolacha azucarera, patatas, hortalizas y cítricos, frutos con hueso y pulpa. Imidacloprid es un insecticida sistemático con acción por contacto y por ingestión.

Sus principales rutas de biotransformación son la hidroxilación del anillo imidazolidinio con la consiguiente deshidratación para formar un alqueno y/o la hidrólisis hasta el ácido 6-cloronicotínico. La pérdida del grupo nitro origina un guanidina cíclica y la conjugación del ácido 6-cloronicotínico con la producción de glicerina. La hidrólisis de imidacloprid ha sido investigada siguiendo las directrices de la EPA [PSD, 1993] y no se encontraron productos de hidrólisis a pH 5 o 7. Aunque, un bajo porcentaje del imidacloprid (7%) se degrada a pH 9 ( $DT_{50}$  355 días) y se detectan dos productos de degradación (PDs). El principal PDs no fue identificado pero sospecha que puede haber resultado de una pequeña transformación del anillo imidazol y el producto menor es urea cíclica.

La fotodegradación de imidacloprid en agua a pH 7 también ha sido investigada según las directrices EPA. El  $DT_{50}$  para la fotólisis de imidacloprid fue 57 minutos. No se originaron productos volátiles pero se formó una gran cantidad de fotoproductos. En un estudio más profundo realizado utilizando una concentración inicial de imidacloprid más alta, de manera que los fotoproductos pudieran ser identificados, se identificaron nueve PDs. Los cinco

productos más importantes fueron los derivados de guanidina cíclica y los productos fundidos del anillo[PSD, 1993].

Imidaclopid muestra una absorción media en la tierra. Ensayos en columna de lixiviado (con envejecimiento previo) con ingrediente activo y varias formulaciones, muestran que imidaclopid y sus metabolitos son clasificados como inmóviles en tierra; no se espera que lixivien en capas más profundas si el imidaclopid se utiliza como se recomienda. Estable a la hidrólisis bajo condiciones estériles (bajo la exclusión de luz). Para el estudio de la degradación de imidaclopid en suelos este fue aplicado en cuatro suelos diferentes (tres tierras arenosas y una tierra pantanosa) siguiendo las directrices (para dos tierras) de la EPA. Los valores  $DT_{50}$  para imidaclopid determinados por encima de 100 días estaban en el rango 188-997 días. Además de la luz solar, la actividad microbiana de un sistema agua/sedimento es un factor importante para la degradación de imidaclopid en suelos.

En cuanto a su toxicidad:

- Toxicología en Mamíferos: Su toxicidad oral aguda tiene un  $LD_{50}$  (Dosis requerida para matar al 50 % de los individuos probados) de 450 mg/kg para ratas machos y hembras, y de 150 mg/kg para ratones. En la piel y ojos el  $LD_{50}$ , en 24 horas, para ratas es  $>5000$  mg/kg. No es irritante para los ojos y la piel de los conejos. No es sensibilizador de la piel. Por inhalación, el  $LC_{50}$  (concentración requerida para matar al 50 % de los individuos probados), en 4 horas, para ratas es  $>5323$  mg/m<sup>3</sup> en forma de polvo y de 69 mg/m<sup>3</sup> en el aire (en forma de aerosol). NOEL (no observed effect level), en un periodo de 2 años, es para ratas macho de 100 mg/kg, para ratas hembra de 300 mg/kg y para ratones de 330 mg de sustancia por kg de dieta. Sin embargo, en un periodo de 52 semanas, el NOEL para perros es de 500 mg/kg de dieta. El ADI (ingestión diaria admisible) es de 0.057 mg/kg de peso corporal. No es mutagénico o teratogénico.
- Ecotoxicología: Para pájaros, la Toxicidad Oral aguda tiene un  $LD_{50}$  para la codorniz japonesa de 31mg/kg y para codorniz albina de 152 mg/kg. En alimentación, el  $LC_{50}$ , en 5 días, para codorniz albina es de 2225 mg/kg y para el ánade real es de  $>5000$  mg/kg. En cuanto a los peces su  $LC_{50}$ , en 96 horas, para la trucha arco-iris es de 211 mg/L. Es peligroso para abejas por contacto directo, pero no se esperan problemas si

no se pulveriza sobre la plantación en flor o cuando se utiliza como tratamiento de una semilla. Para los gusanos el  $LC_{50}$  para *Eisenia foetida* es de 10.7 mg de imidacloprid por kg de tierra seca. Para *Daphnia*, el  $LC_{50}$ , en 48 horas, es de 85 mg/L. Y por último en algas el  $E_rC_{50}$  (concentración media efectiva) para *Scenedesmus Subspicatus* es  $>10$  mg/L.

En este capítulo se pretende demostrar la viabilidad técnica del tratamiento fotocatalítico aplicado a aguas contaminadas con imidacloprid a elevada concentración (50 mg/L). Se ha utilizado esta concentración inicial debido a que el tratamiento fotocatalítico no es viable para aguas contaminadas a muy bajas concentraciones (ver figura 1.2.1). Por tanto, el tratamiento es planteado para fuentes de contaminación tales como el lavado de envases de plaguicidas para su reciclado, contenedores, equipos de dosificado, plantas de formulado, etc. Además, de esta forma es posible evaluar correctamente los PDs generados y la toxicidad. El estudio analítico de los procesos tiene como fin, no solo controlar la efectividad global de los procesos, mediante el seguimiento de la cinética de degradación de los contaminantes, sino también determinar la presencia de intermedios y establecer posibles rutas de degradación mediante la aplicación de técnicas analíticas avanzadas tales como: GC-MS, GC-AED, HPLC-MS. La aplicación de bioensayos de toxicidad aguda (*Daphnia Magna* y *Vibrio Fischeri*) pretende además asegurar la inocuidad del vertido final. De esta forma se cubre cada una de las limitaciones que estas técnicas analíticas pueden tener para una correcta determinación del momento en que las aguas pueden considerarse descontaminadas y/o inocuas para el medio ambiente [Chiron *y col.*, 1997 y 2000; Pulgarin *y col.*, 1999].

## **3.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los equipos y técnicas utilizados en la realización de este estudio de investigación han sido descritos en detalle en la sección 2.2. La descripción experimental de este capítulo se restringirá a comentar aspectos no detallados en dicha sección.

### **3.1.1. Planta Piloto Solar**

Todos los experimentos fueron llevados a cabo con luz solar en una planta piloto solar que se ha descrito con detalle en las secciones 2.1.1 y 2.1.2 de esta memoria. El procedimiento experimental que se ha seguido en todas las experiencias ha sido desarrollado ampliamente en la sección 2.1.4.

### **3.1.2. Evaluación de la Radiación Solar UV**

Para medir la radiación solar UV se ha utilizado un radiómetro (KIPP&ZONEN, modelo CUV3), que se ha descrito con detalle en la sección 2.1.5. En dicha sección se detalla también, como a partir de estos datos de radiación se calcula el tiempo de iluminación  $t_{30W}$ , parámetro necesario para la correcta interpretación de los resultados y utilizado en las representaciones gráficas de los mismos.

### **3.1.3. Reactivos**

Para la realización de las experiencias se ha utilizado imidacloprid producto técnico, que tiene una pureza del 97.9% y que ha sido suministrado por Bayer Hispania S.A. (Barcelona, España). Los experimentos han sido realizados con una concentración inicial de imidacloprid de 50 mg/L. El agua y los reactivos utilizados para la realización de los experimentos fotocatalíticos tanto con  $TiO_2$  como con foto-Fenton han sido descritos con detalle en la sección 2.1.3.

Se ha utilizado estándar cromatográfico de imidacloprid suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Asburgo, Alemania) para su calibración y posterior cuantificación mediante HPLC-UV y LC-MS. Los estándares cromatográficos de ácido 6-cloronicotínico y piridina-3-carbaldehído fueron suministrados por Fluka Chemie AG (Buchs, Suiza), 6-cloronicotinamida

y 2-imidazolina por Sigma Aldrich (Steinheim, Alemania). Todos ellos han sido usados como estándares de cuantificación en GC-AED. Todos los disolventes orgánicos y sales inorgánicas utilizadas en HPLC-UV, LC-MS, LC-IC y SPE son de calidad analítica.

#### **3.1.4. Determinaciones Analíticas**

GC-MS: El análisis con GC-MS fue llevado a cabo en un cromatógrafo de gases HP serie 6890 acoplado a un detector de masas HP 5973 descrito con detalle en la sección 2.3.2. La columna analítica fue una columna capilar HP-5MS compuesta por un 5 % de difenilo y un 95 % de metilsiloxano. Se inyectaron siempre 2  $\mu\text{L}$  en el modo “splitless de pulsos” con una temperatura del inyector de 250 °C y una presión de 13.9 psi. La presión del pulso fue de 20.0 psi y el tiempo de 0.5 minutos. El flujo de purga en el split fue de 50 ml/min durante 0.5 minutos y el del gas portador de 2 mL/min durante dos minutos. Un control neumático electrónico (EPC) proporciona un flujo constante de He y el programa de temperaturas del horno fue de: 1 min a 60 °C, una rampa a 25 °C/min hasta 180 °C, y otra de 5 °C/min hasta 280 °C, en la que se mantiene durante 3 minutos. La temperatura de la línea de transferencia fue de 250 °C. Más detalles sobre el procedimiento de análisis en GC-MS pueden verse en la sección 2.3.2.

GC-AED: El análisis con GC-AED fue llevado a cabo en un cromatógrafo de gases HP serie 6890 acoplado a un detector de emisión atómica HP G2350 descrito con detalle en la sección 2.3.3. La columna analítica fue, al igual que en GC-MS, una columna capilar HP-5MS. Se inyectaron siempre 2  $\mu\text{L}$  en el modo “splitless de pulsos” en las mismas condiciones que en GC-MS explicadas anteriormente. El gas portador fue He en el modo de flujo constante de 1.0 mL/min y el programa de temperaturas del horno fue de: 70 °C durante la inyección, después de 1 min la temperatura fue programada en una rampa a 180 °C a una velocidad de 24 °C/min, y otra a 240 °C a 6 °C/min, y finalmente un calentamiento a 280 °C durante 1 minuto. Fueron necesarias la realización de tres inyecciones seleccionando rangos de longitudes de onda diferentes (dependiendo del heteroátomo a estudiar). En la primera se analizaron hidrógeno a 486 nm y cloro a 479 nm. En la segunda carbono a 193 nm y nitrógeno a 174 nm. Y por último, en el tercero, oxígeno a 171 nm. Más detalles sobre el procedimiento de análisis en GC-AED pueden verse en la sección 2.3.3.

Para el análisis GC-AED fueron preparadas disoluciones estándares en acetato de etilo de concentraciones entre: 0.1 y 20 mg/L de piridina-3-carbaldehído, 5-20 mg/L de 6-cloronicotinamida y 5-80 mg/L de ácido 6-cloronicotínico para la cuantificación de los PDs. Las calibraciones fueron realizadas usando la emisión del cloro para la 6-cloronicotinamida y el ácido 6-cloronicotínico de sus estándares analíticos. Para los demás compuestos la cuantificación fue realizada usando la emisión del carbono de la piridina-3-carbaldehído. Los gases de “makeup” y reactivos usados fueron los siguientes: oxígeno a 36 psi, hidrógeno a 11.5 psi, 10 % metano-90 % nitrógeno a 39 psi, y helio a 13.9 psi. El flujo del “makeup” fue de 35 mL/min.

LC-MS y LC-UV: Imidacloprid y sus PDs fueron analizados utilizando cromatografía líquida de alta resolución mediante: HPLC-UV (Agilent Technology Serie 1100) a 270 nm y mediante HPLC-ES-MS (Agilent Technology Serie 1100), cuyos procedimientos experimentales pueden verse con detalle en la sección 2.2.2 y 2.3.4, respectivamente. La fase móvil utilizada en cada caso fue del 80 % de H<sub>2</sub>O a pH = 3 y un 20 % de acetonitrilo para el HPLC-UV, y 80 % de H<sub>2</sub>O a pH = 3, (50 mM de formiato amónico) y un 20 % de acetonitrilo para HPLC-MS. La columna utilizada para la separación cromatográfica en ambos casos fue una columna C-18 (Luna, Phenomenex) de 5 micras de tamaño de partículas, y unas dimensiones de 3 x 150 milímetros. El flujo de la fase móvil fue de 0.5 mL/min. En una proporción 1:3 acetonitrilo / agua fueron preparadas disoluciones estándares de imidacloprid en un rango de concentraciones de 0.2 a 50 mg/L, para la realización de una recta de calibrado con la que se realizará su cuantificación.

LC-IC: La formación de aniones inorgánicos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular fue seguida mediante cromatografía iónica con detector de conductividad (Dionex-120) y cuyos procedimientos experimentales pueden verse con detalle en las secciones 2.2.3 y 2.2.4, respectivamente.

El método espectrofotométrico de Nessler, comentado con detalle en la sección 2.2.5, fue aplicado para la determinación de amonio.

TOC: La mineralización lograda en cada momento de las experiencias se mide mediante el análisis del Carbono Orgánico Total. Este fue llevado a cabo mediante inyección directa de las muestras previamente filtradas en un analizador de TOC (Shimadzu-5050A) y cuyo

procedimiento experimental se detalla en la sección 2.2.1. Este equipo es calibrado con disoluciones estándares de ftalato ácido de potasio preparados en agua ultra pura procedente de un sistema Milli-Q.

Toxicidad: La evaluación de la toxicidad aguda fue llevada a cabo mediante el estudio de la movilidad de *Daphnnia Magna* y la luminiscencia de *Vibrio Fischeri*, organismos pertenecientes a dos estados taxonómicos diferentes del medio acuático y que nos pueden dar una idea del impacto que pueden tener las muestras en el medioambiente. Para el estudio con *Daphnnia Magna* las larvas latentes de estos organismos (efípias) procedentes de un kit comercial (Daphto kit F) fueron incubadas en el laboratorio y el procedimiento experimental puede verse en la sección 2.4.1. En cuanto a *Vibrio Fischeri*, se ha utilizado también un kit comercial normalizado (Biotox™) y cuyo procedimiento experimental puede verse en la sección 2.4.2

### **3.2.5. Preparación de Muestras**

A las muestras procedentes de las experiencias con foto-Fenton hay que eliminarles el peróxido de hidrógeno antes de su extracción para el análisis cromatográfico. Para ello se sigue el procedimiento mediante Catalasa detallado en la sección 2.2.7 de esta memoria.

SPE: Previo al análisis con GC-AED y GC-MS las muestras son tratadas mediante extracción en fase sólida. Para SPE se han utilizado cartuchos de extracción Oasis HLB 30 µm, 28C1 (Waters, Miliford, MA) y EnviCarb (Supelco, Bellefonte, PA), y su procedimiento experimental es detallado en la sección 2.3.1.

LLE: También previo al análisis con GC-AED y GC-MS se probó la utilidad de la extracción líquido-líquido con acetato de etilo y sulfato sódico. El método utilizado consiste en: a 100 mL de muestra acidificada a pH 2.5 con ácido sulfúrico se le añade 50 g de sulfato sódico anhidro. Después de esto las muestras son extraídas a alta velocidad durante tres minutos con 75 y 50 ml de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se filtran a través de una delgada capa de sulfato sódico anhidro para eliminar los residuos acuosos y son concentrados en evaporador rotativo a vacío hasta 2-3 mL. Los extractos así obtenidos son evaporados a sequedad mediante una corriente suave de nitrógeno y redisolventes utilizando un baño de ultrasonidos en una mezcla de ciclohexano / acetato de etilo en proporción 9:1.

### 3.3. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Es necesario comentar que los resultados mostrados en este capítulo son únicamente un resumen de la experimentación llevada a cabo. En todos los casos los experimentos se han repetido al menos una vez, con el fin de poner a punto las técnicas analíticas y demostrar la repetitividad de los resultados. Únicamente aquellos experimentos que han llevado a resultados concluyentes y/o interesantes son recogidos en este capítulo.

#### 3.3.1. Degradación y Mineralización de Imidacloprid.

Para poder controlar los procesos en la planta piloto se analiza Carbono Orgánico Total (TOC) para conocer el grado de mineralización del plaguicida logrado en cada momento de los experimentos. Para medir el grado de desaparición del compuesto original se utiliza cromatografía líquida de alta resolución con detector UV (HPLC-UV).

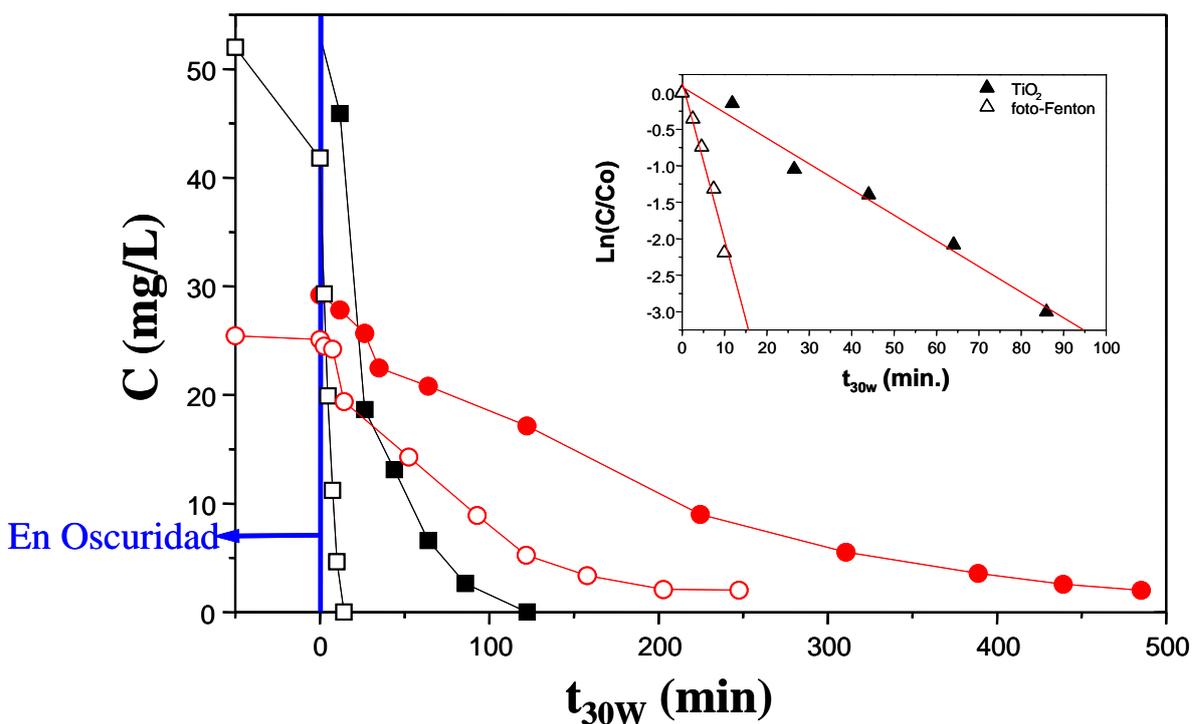


Figura 3.3.1. Desaparición de imidacloprid (■ TiO<sub>2</sub> y □ foto-Fenton) y evolución del TOC (● TiO<sub>2</sub> y ○ foto-Fenton) en función de t<sub>30w</sub> (tiempo de iluminación) en el tratamiento fotocatalítico de imidacloprid (50 mg/L). En la figura insertada se muestra el ajuste de los datos a una cinética de orden 1 (ver ecuación 3.3.2).

Imidacloprid es muy estable en agua, como ya se ha explicado en la introducción de este capítulo, pero para comprobar su estabilidad a los distintos pH en los que se puede encontrar en las muestras de las experiencias a realizar, previamente a la realización de las mismas se ha llevado a cabo un estudio de hidrólisis de una disolución de imidacloprid de 50 mg/L a pH de 2.7, 5, y 8. Después de 36 horas no se han observado pérdidas por degradación de imidacloprid, luego se puede afirmar que no hay hidrólisis de imidacloprid durante las experiencias fotocatalíticas. Un estudio realizado sobre el efecto de la fotólisis de imidacloprid, en el que una disolución del mismo fue sometida a iluminación durante 48 horas, revela que la degradación espontánea por la iluminación solar de imidacloprid no es relevante.

En la figura 3.3.1 se muestra la desaparición de imidacloprid a 50 mg/L en agua, durante los tratamientos fotocatalíticos con  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton, así como la evolución del TOC en función del tiempo de irradiación. Los valores de TOC medidos al principio de los experimentos de ambos tratamientos fotocatalíticos mostraron buena correlación con la concentración inicial de imidacloprid de los mismos. La total desaparición de imidacloprid fue lograda a los 14.2 min de iluminación ( $t_{30w}$ ) con el tratamiento de foto-Fenton y 122.3 min con el  $\text{TiO}_2$ . La velocidad de reacción inicial es 3.6 veces mayor con foto-Fenton que con  $\text{TiO}_2$ . Puede observarse un comportamiento similar para la desaparición de TOC, pero en este caso las diferencias en las velocidades de reacción no son tan grandes. Con el tratamiento mediante foto-Fenton se logra una mineralización más rápida que con  $\text{TiO}_2$ .

Los cálculos cinéticos realizados están basados en las características del sistema experimental y en la forma con la que se opera en el mismo. La planta piloto utilizada (ver sección 2.1.2) tiene un volumen en cada fotorreactor de 22 L, con un lazo de recirculación de 10 L y con un tanque de mezcla bien agitado de 8 L. En este sistema dinámico, la concentración de salida del fotorreactor ( $C_1$ ) no es exactamente la misma que la concentración a la salida del tanque de mezcla ( $C_2$ ). En un fotorreactor grande, la conversión, cada vez que la mezcla pasa a través del reactor, es apreciable. Como el agua “relativamente limpia” del fotorreactor se mezcla con el agua “sucio” del tanque de recirculación, entonces, el agua enviada desde este tanque al fotorreactor tiene cada vez menor concentración. Como la velocidad de reacción, generalmente, disminuye con la concentración, la velocidad global del fotorreactor responde de la misma forma. Por lo tanto, a menos que se considere adecuadamente, la presencia del tanque alterará el comportamiento del fotorreactor. Hay dos soluciones para este problema. La primera es utilizar un caudal muy alto para alcanzar muy

baja conversión en cada “vuelta” a través del fotorreactor. Esta alta velocidad de flujo no debe permitir más del 1 % de conversión por pasada para conseguir que  $C_1(t)$  sea aproximadamente igual a  $C_2(t)$ . Hemos seleccionado este 1 % porque es más que suficiente teniendo en cuenta el error asociado a cualquier método químico aplicado para análisis de  $C_1$  y  $C_2$ .

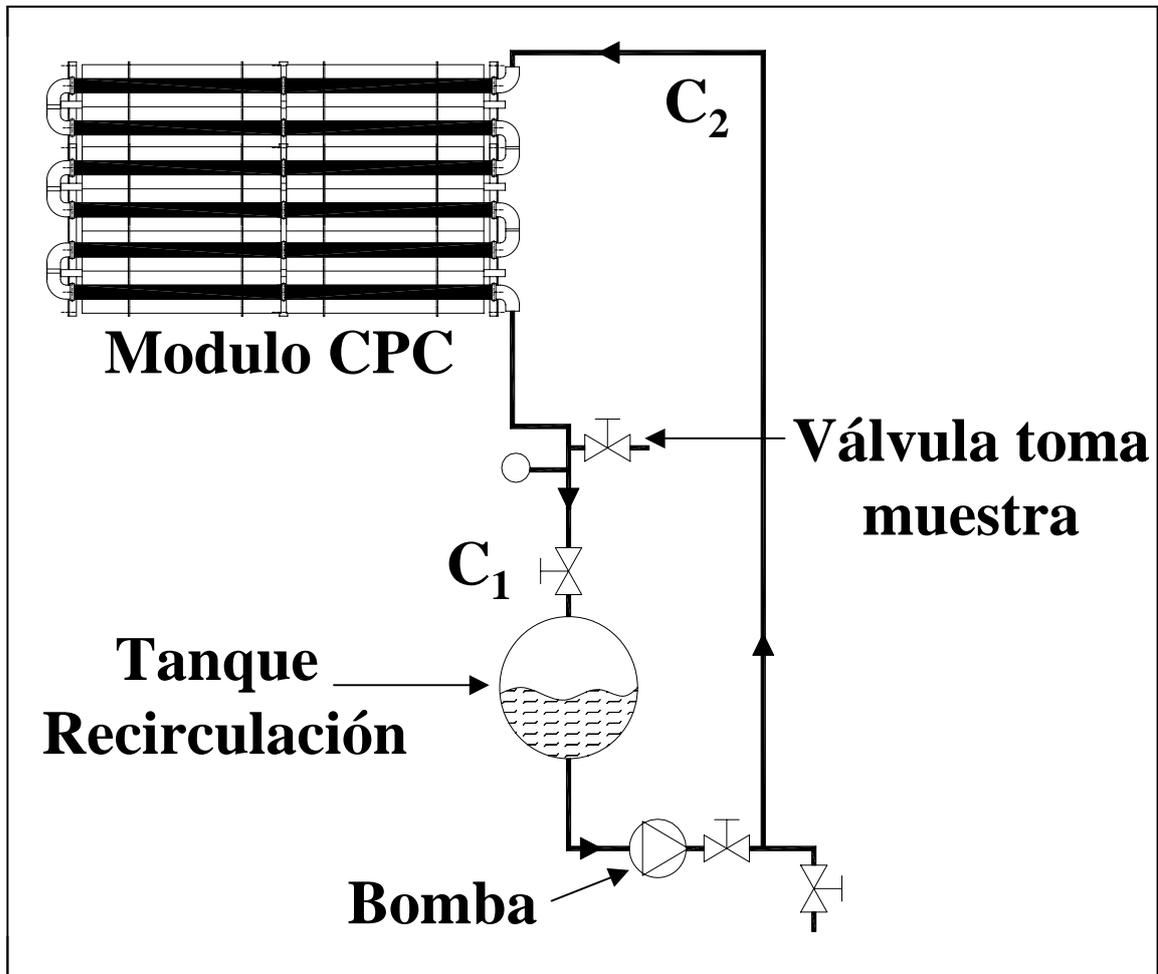


Figura 3.3.2. Esquema de un sistema (modulo CPC + tanque + bomba + conexiones) de la planta piloto solar (PSA).

La segunda solución es que la concentración en la salida del reactor en cada momento,  $C_1(t)$ , sea determinada por la concentración de entrada y la cinética de reacción. Sin embargo, como el sistema está continuamente cambiando, la ecuación habitual de un reactor con flujo de pistón en estado estacionario no puede utilizarse para modelizar el fotorreactor. Como la concentración de entrada varía con el tiempo,  $C_2(t)$  se define como lo que entra en el reactor en un tiempo de residencia  $t$  (tiempo que tarda en dar una “vuelta” en el fotorreactor) y  $C_2(t-\tau)$

con un tiempo anterior a  $t$ , y la cinética de la reacción. El tanque de recirculación sí podría ser modelizado como un tanque de mezcla perfecta.

La solución de estas ecuaciones es más difícil en el caso de baja conversión por “vuelta”, y se necesita una rutina numérica para ajustar los datos de ensayos de recirculación. Esta rutina también debe tener en cuenta el volumen de la tubería entre la salida del reactor y el tanque de recirculación. Esta metodología [Wolfrum y Turchi, 1992] puede utilizarse para resolver numéricamente el perfil de concentración en cualquier proceso de recirculación. Aunque, en cualquier caso, este método es solo realmente necesario cuando el caudal de recirculación no es suficientemente alto. Pero en el caso que nos ocupa, la velocidad de caudal es muy alta (1200 L/h) comparada con el volumen total del fotorreactor (22 L). Esto se traduce en una conversión muy pequeña por pasada. Es decir, el agua pasa por el lazo una vez por minuto y por lo tanto se alcanza una conversión muy pequeña por pasada ( $C_1 \approx C_2$ ), ya que la conversión de imidacloprid en 1 min es casi despreciable, ver figura 3.3.1. Como indican Wolfrum y Turchi [Wolfrum y Turchi, 1992] solo si se obtiene una conversión importante por pasada ( $C_2 > C_1$ ) se debe considerar seriamente la mezcla del tanque oscuro. Estas mismas consideraciones son válidas para los experimentos realizados con otros plaguicidas en la misma planta piloto y cuyos resultados se muestran en los capítulos 4, 5 y 6.

La degradación fotocatalítica de imidacloprid con  $\text{TiO}_2$  sigue cinéticas de primer orden como es habitual en fotocatalisis heterogéneas [Herrmann *y col.*, 1998], cuando la concentración inicial es lo suficientemente baja y no se produce saturación de catalizador. Hay que remarcar que la descomposición de imidacloprid genera PDs, que podrían también ser competitivos en la superficie del  $\text{TiO}_2$ . Su concentración varía durante la reacción hasta la mineralización, y por lo tanto, las siguientes ecuaciones, basadas en el modelo cinético de Langmuir Hiselwood y que son comúnmente utilizadas para describir cinéticas en tratamientos fotocatalíticos con  $\text{TiO}_2$  [Herrmann *y col.*, 1998; Legrini *y col.*, 1993; Malato, 1999a], podrían describir la cinética.

$$r = \frac{k_r K C}{1 + KC + \sum_{i=1}^n K_i C_i} \quad (C_i = 1, n) \quad (3.3.1)$$

donde  $k_r$  es la constante de velocidad de reacción,  $K$  es la constante de adsorción del reactivo (imidacloprid),  $C$  es la concentración en cualquier momento de imidacloprid,  $K_i$  es la

constante de adsorción de los PDs, y  $C_i$  es la concentración de los PDs en cualquier momento. Cuando  $C_o$  (50 mg/L de imidacloprid) es lo suficientemente baja, la ecuación 1 puede simplificarse ( $1 + KC + \Sigma...=1$ ) a una ecuación de velocidad de reacción de orden uno:

$$r = k_{ap} C \quad (3.3.2)$$

Esto se ha podido confirmar debido al comportamiento lineal de  $\ln(C_o/C)$  en función de  $t_{30w}$  que se muestra en la figura 3.3.1. Puede observarse también, un comportamiento similar en el tratamiento de foto-Fenton [Kuo *y col.*, 1998; Malezky y Bauer, 1998] si  $C_o$  utilizado para el cálculo corresponde al principio de la iluminación y no se considera la reacción en la oscuridad. Es necesario recordar que el proceso de foto-Fenton origina radicales  $\bullet\text{OH}$  como principal especie reactiva (ver sección 1.2.3) y responsable de la descomposición de imidacloprid.



Asumiendo que la reacción entre los radicales  $\bullet\text{OH}$  e imidacloprid es el paso que determina la velocidad de la reacción fotocatalítica de foto-Fenton (ver sección 1.2.3), la ecuación de velocidad de reacción se escribiría así:

$$r = k_{OH} [\bullet\text{OH}] C = k'_{ap} C \quad (3.3.4)$$

donde  $C$  es la concentración de imidacloprid,  $k_{OH}$  es la constante de velocidad de reacción, y  $k'_{ap}$  es una constante de pseudo-primer orden. De esta manera, se ha calculado constante de velocidad en ambos tratamientos resultando que  $k'_{ap} = 0.23 \text{ min}^{-1}$  para el ensayo de foto-Fenton y  $k_{ap} = 0.034 \text{ min}^{-1}$  para  $\text{TiO}_2$ .

El noventa y cinco por ciento de la mineralización ( $\text{TOC} < 2.0 \text{ mg/L}$ ) fue alcanzada después de aproximadamente 250 min de tratamiento fotocatalítico con foto-Fenton y 450 min con  $\text{TiO}_2$ . Los resultados muestran tres fases claramente diferenciadas en el tratamiento de foto-Fenton. Durante los primeros 20 minutos de tratamiento, no se observa una reducción apreciable de los valores del TOC inicial. Esto puede atribuirse a que es el período de mayor formación de PDs durante el cual, no se logra mineralización o esta es muy baja. Para un  $t_{30w} = 14.2 \text{ min}$ , ya no se detecta presencia de imidacloprid y el TOC es todavía alto

(18-15 mg/L), sugiriendo la presencia en el agua de una cantidad apreciable de PDs generados durante el proceso. A partir de este momento y hasta los 125 min de tratamiento, la eliminación de TOC es mayor (cinéticas de degradación cercanas al orden cero, es decir,  $r =$  constante), con una desaparición de más del 50% del TOC inicial. La velocidad de mineralización durante este período fue de  $r_{\text{TOC}} = 0.19 \text{ mgL}^{-1}\text{min}^{-1}$ . Después de un  $t_{30w}$  de 125 min la disminución de TOC es más baja (cinética aparente de primer orden) y al final del experimento el TOC es de 2 mg/L.

La figura 3.3.1 muestra que con el tratamiento con  $\text{TiO}_2$ , solo hay dos zonas de TOC diferenciadas. La primera, al principio del experimento y durante 30 min, durante los cuales no se observa una disminución apreciable del TOC inicial y que, al igual que en el tratamiento con foto-Fenton, puede explicarse debido a una cantidad apreciable en el agua de PDs generados durante el proceso. A partir de este punto y hasta el final del experimento, la eliminación de TOC es continua. La velocidad de mineralización durante este período fue de  $r_{\text{TOC}} = 0.083 \text{ mgL}^{-1}\text{min}^{-1}$ , 2.4 veces más lenta que durante el tratamiento con foto-Fenton. Al final del experimento el TOC también fue de 2 mg/L. Esta diferencia en la desaparición del TOC entre los dos tratamientos puede explicarse debido a la diferencia de la velocidad de reacción de ambos. La velocidad de reacción del  $\text{TiO}_2$  es lenta, y los PDs son degradados a la vez que se van formando a partir del imidacloprid. Esto hace que la cinética aparente de orden cero se mantenga durante casi todo el tratamiento, salvo en el periodo de inducción inicial. Durante el tratamiento con foto-Fenton, el imidacloprid se degrada muy rápidamente y los PDs se forman y se degradan también muy rápido. Por lo tanto, la mineralización tiene lugar inmediatamente después del periodo de inducción. Solamente al final, cuando el contenido de TOC es muy bajo, se originan cinéticas aparentes de primer orden.

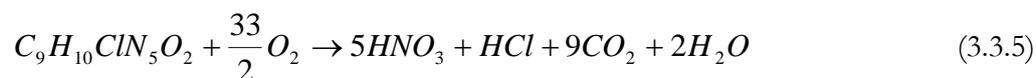
### 3.3.2 Evaluación de la toxicidad.

La toxicidad de las muestras de los tratamientos ha sido evaluada en el momento inicial de los mismos, en el que hay solo una disolución inicial de imidacloprid en el agua, y al final de cada uno de ellos (485 y 247 min para fotocatalisis y foto-Fenton, respectivamente). Debido a la alta relación dosis / respuesta para los plaguicidas del bioensayo con *Daphnia Magna* [Fernández-Alba y col., 2001] fue necesaria la realización de una dilución 2:1 de las muestras con el agua de cultivo, antes de la evaluación de toxicidad. La mortalidad con 50 mg/L de imidacloprid fue del 50 y 62 % después de 24 y 48 h, respectivamente, lo que

significa que los valores iniciales están alrededor de  $EC_{50}$ . Después de 491 min de tratamiento con  $TiO_2$  y de 247 min con foto-Fenton se obtuvo un descenso considerable de la toxicidad de las muestras, con un 1 % y 10 % inmovilidad a las 24 y 48 h para el ensayo con  $TiO_2$  y con un 8 y 12 % inmovilidad para foto-Fenton. Esto indica claramente que se obtuvo un descenso considerable en la toxicidad con los tratamientos propuestos. Las diferencias de toxicidad entre los tratamientos es despreciable, teniendo en cuenta la desviación típica que se puede esperar en tales medidas [Fernández-Alba *y col.*, 2002b] y por lo tanto, la efectividad de ambos tratamientos para la detoxificación de aguas contaminadas con imidacloprid se considera similar. Resultados parecidos fueron obtenidos en la aplicación del bioensayo de bioluminiscencia con *Vibrio Fischeri*. Esto también indica que el poco contenido orgánico presente en el agua al final de los tratamientos es inocuo para los organismos ensayados y por tanto, se puede inferir, que también para el medio ambiente.

### 3.3.3. Evolución de los iones orgánicos e inorgánicos.

La formación de cloruro, nitrato, acetato, formiato y oxalato se mide mediante cromatografía iónica con detector de conductividad (LC-IC) y la de amonio por el método Nessler. El seguimiento de estos iones durante los procesos proporciona información sobre el grado de mineralización alcanzado en ambos tratamientos. En el caso del amonio, su formación es a menudo previa o paralela a la del nitrato. Aunque, si el tratamiento es lo suficientemente prolongado el amonio es finalmente oxidado a nitrato. Es necesario recordar, que el imidacloprid se mineraliza de acuerdo con la siguiente reacción:



La evolución del cloro durante los tratamientos con foto-Fenton fue mucho más rápida que con  $TiO_2$  lo que nos sugiere una fase muy rápida de degradación / dechloración (figura 3.3.3). En ambos casos la cantidad total de cloruro producido al final del experimento es aproximadamente 7 mg/L (100 % del contenido en cloro del imidacloprid). Esto significa que el TOC residual (alrededor de 2 mg/L) al final de los experimentos no es debido a ningún compuesto clorado. La eliminación de compuestos clorados también es un síntoma de la reducción de la toxicidad en el agua. El balance de materia del nitrógeno del imidacloprid es un proceso más complejo (figura 3.3.4). Se han detectado tanto iones amonio como nitrato en

ambos procesos fotocatalíticos, con un comportamiento muy similar para el amonio y muy diferente para el nitrato (la aparición de este ión es aproximadamente tres veces mayor para foto-Fenton que para  $\text{TiO}_2$ ).

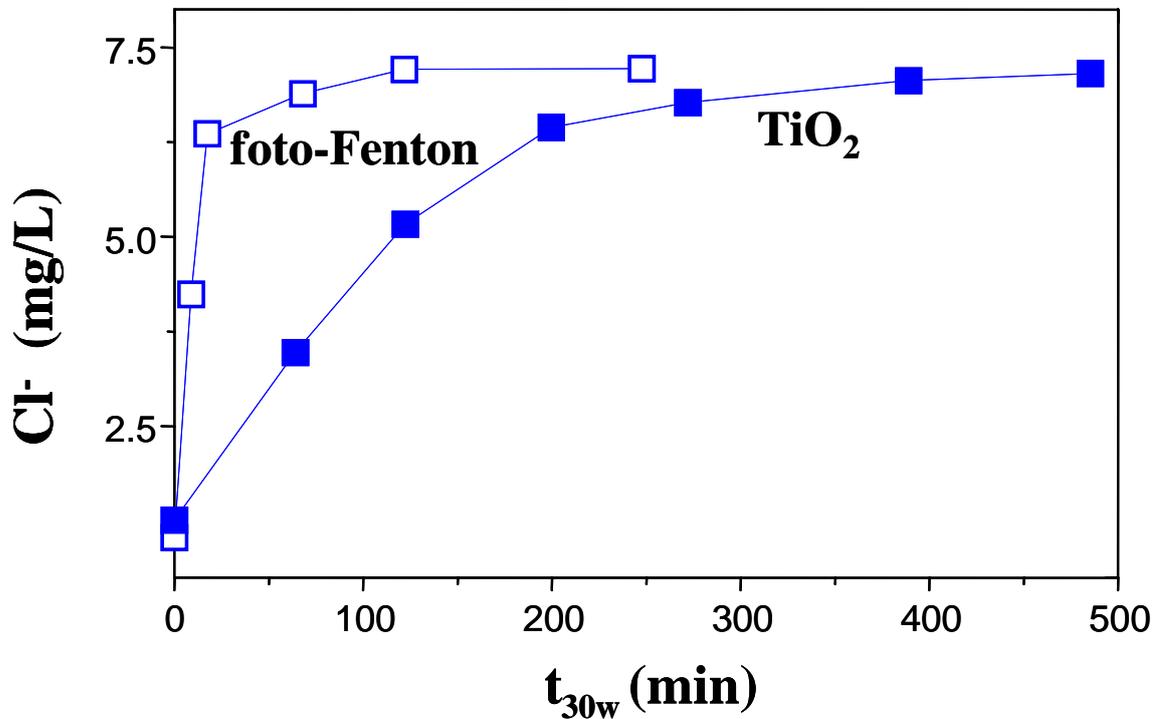


Figura 3.3.3. Evolución de los cloruros durante los tratamientos con  $\text{TiO}_2$  y con foto-Fenton.

Al final del experimento el balance de materia de nitrógeno es constante (6.5 mg/L para tratamiento con foto-Fenton y 5.8 mg/L para  $\text{TiO}_2$ ) y claramente menor al valor estequiométrico (13.7 mg/L). Este balance incompleto de nitrógeno al final de los experimentos se ha observado frecuentemente en estos procesos [Klare *y col.*, 2000] e indica en el caso de imidacloprid que otros compuestos que contienen nitrógeno deben estar presentes en la muestra o adsorbidos en la superficie del  $\text{TiO}_2$  [Low *y col.*, 1991]. También puede explicarse por la presencia de compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que no son detectados, y porque se pueden generar hidroxilaminas y/o nitrógeno gas. La posible presencia de PDs alquílicos nitrogenados podría explicar también el TOC residual y el balance incompleto de nitrógeno, pero mediante la extracción y los procedimientos analíticos aplicados a las muestras no se han podido detectar.

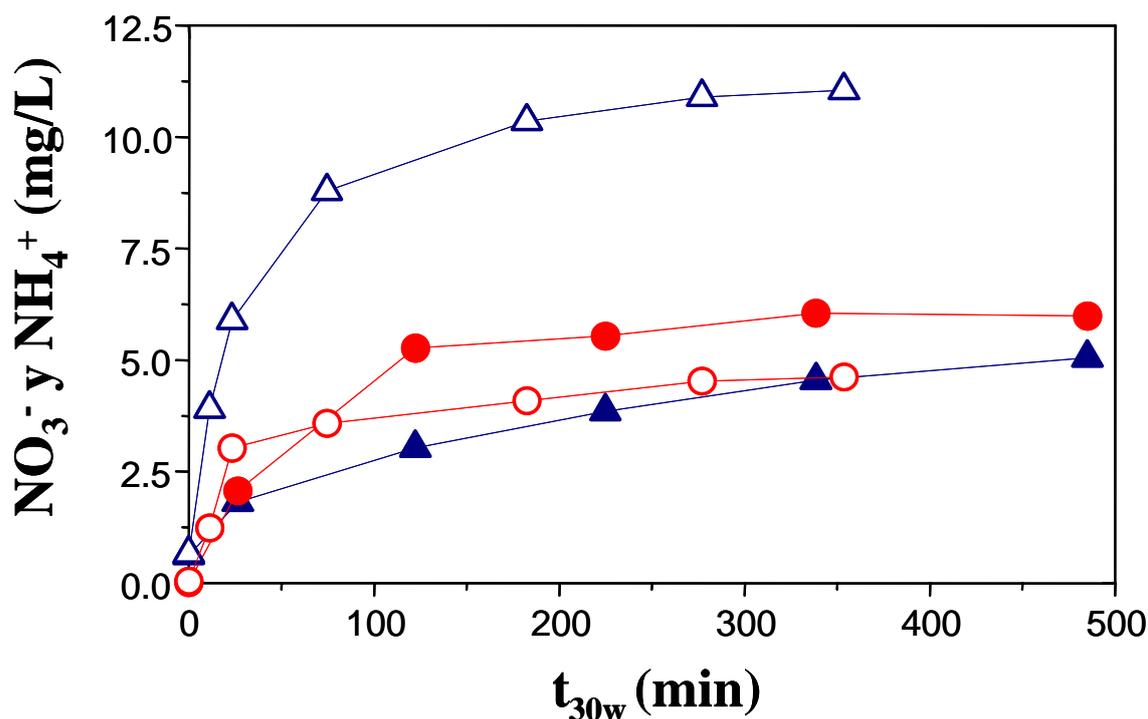


Figura 3.3.4. Evolución de los iones nitrato (● y ○) y amonio (▲ y △), durante los tratamientos con TiO<sub>2</sub> (símbolos sólidos) y con foto-Fenton (símbolos abiertos).

En cuanto a los iones orgánicos, en el tratamiento con foto-Fenton se detectaron cantidades de oxalato, formiato y acetato superiores a las detectadas con TiO<sub>2</sub> y en menor tiempo (figura 3.3.5). Este hecho puede justificarse por la mayor velocidad de reacción de dicho proceso (figura 3.3.1), ya que los iones son formados y mineralizados más rápidamente. Al final de los experimentos desaparecen estos iones, excepto el formiato que permanece a una concentración de alrededor de 1 mg/L. Sin embargo con TiO<sub>2</sub> estos iones orgánicos se forman a la vez que se degradan, manteniendo la concentración estable y baja durante gran parte del proceso. La diferencia más importante entre los iones orgánicos detectados en ambos tratamientos se refiere al acetato. En el tratamiento con foto-Fenton, aparece al principio del ensayo, y con TiO<sub>2</sub> sólo al final. Esto podría atribuirse a algunas diferencias en las rutas de degradación de los dos tratamiento después de la división del anillo aromático, o posiblemente por la hidrólisis de algunos PDs durante el proceso foto-Fenton debido a su bajo pH (alrededor de 2.8).

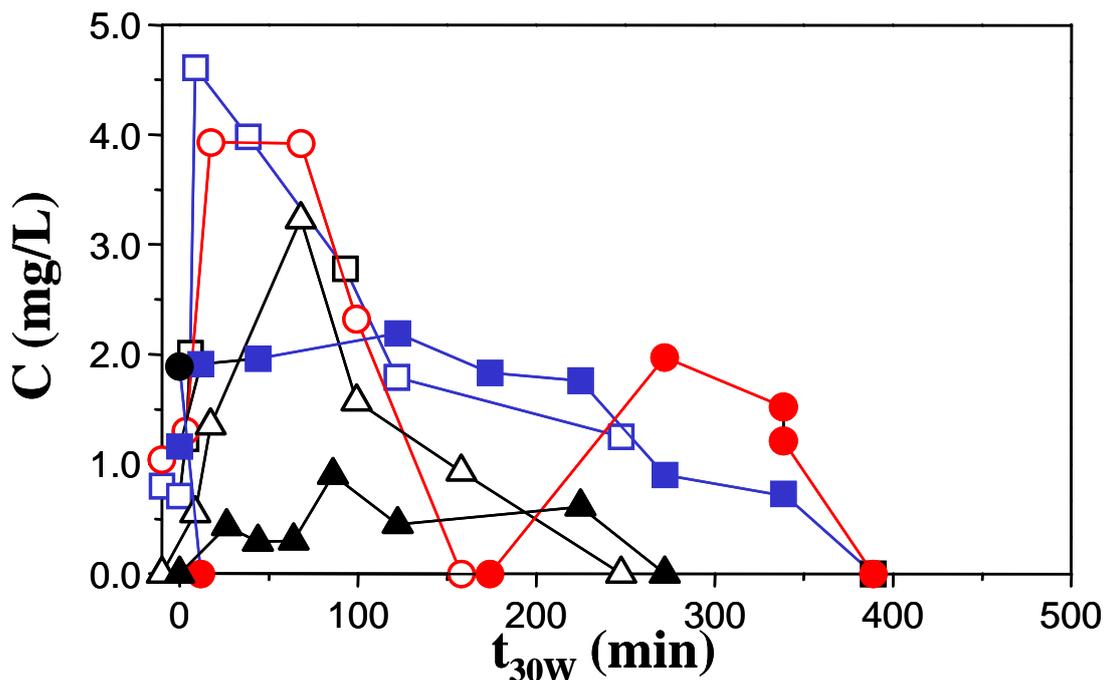


Figura 3.3.5. Evolución de los ácidos carboxílicos de bajo peso molecular: oxalato (▲ y □), formiato (■ y □) y acetato (● y ○), durante los tratamientos con TiO<sub>2</sub> (símbolos sólidos) y con foto-Fenton (símbolos abiertos).

### 3.3.4. Identificación y cuantificación de PDs.

Para el análisis de los productos de degradación (PDs) mediante cromatografía gaseosa, ya sea con detector de espectrometría de masas o de emisión atómica, es necesario el tratamiento de las muestras. Para ello se ha llevado a cabo una preconcentración y extracción de las muestras mediante LLE y SPE utilizando varios adsorbentes diferentes. Con ello se pretende averiguar cual es la técnica de extracción mejor para las muestras procedentes de estos tratamientos fotocatalíticos, y también intentar identificar el mayor número de intermedios posible.

En la figura 3.3.6.a y b se muestran los cromatogramas GC-MS obtenidos aplicando: (1) LLE con sulfato de sodio anhidro y acetato de etilo, (2) SPE con Oasis HLB 28C1, (3) SPE con EnviCarb, (4) SPE con Oasis HLB 28C1 a pH = 2-3, y (5) SPE con EnviCarb a pH = 2-3. Comparando dichos cromatogramas se puede concluir que el mejor método de extracción aplicado, y que por tanto se aplicará a todas las muestras, es Oasis a pH ácido ya que se obtienen cromatogramas más limpios, sin por ello perder información de interés. De

todos modos, para ambos tratamientos se han extraído las muestras mediante SPE con Oasis y EnviCarb a pH ácido los dos, para evitar pérdidas como consecuencia de las distintas recuperaciones que logran los distintos materiales adsorbentes usados. Todas ellas han sido analizadas, y solo las cantidades más grandes, es decir las recuperaciones mayores para cada uno de los PDs para cada procedimiento de preparación de muestra, fueron tomadas en cuenta para evitar subestimaciones.

En el análisis directo de las muestras con HPLC-MS varios PDs hidroxilados se detectaron en la primera fase de ambos tratamientos fotocatalíticos como consecuencia del ataque de radicales  $\bullet\text{OH}$ . Pero todos estos compuestos desaparecen después de 110 min de tratamiento en ambos casos.

<b>PDs</b>	<b>t<sub>R</sub> (min)</b>	<b>GC-MS-PCI</b>	<b>GC-AED</b>
		<b>[M+H]</b>	<b>Form. Empir.</b>
Compuesto 1. Pirrolidinona	4.7	86 (100)	C <sub>4</sub> H <sub>7</sub> NO
Compuesto 2. 6 -cloronicotinaldehido	5.4	142(100)	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NOCl
Compuesto 6. Acido 6-cloronicotínico	6.8	158(100)	estándar
Compuesto 3. 6 -cloronicotinamida	8.3	140 (100)	estándar
Compuesto 4. (1 -(6-cloro-3piridilmetil) -imidazolidin -2-ona)	14.6	212(100)	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> OCl
Compuesto 5	15.9	226(100)	C <sub>9</sub> H <sub>x</sub> ClN <sub>y</sub> O <sub>z</sub>

*Tabla 3.3.1.* Productos de degradación del imidacloprid (PDs), tiempos de retención, relación masa / carga (m/z) correspondiente a los iones [M+H<sup>+</sup>] determinados por GC-MS y las fórmulas moleculares determinadas con GC-AED.

La determinación de los pesos moleculares de los PDs se ha realizado mediante cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) operando en modo de ionización química positiva (PCI), a través del ión [M+1] (ver figura 3.3.7). La elucidación y determinación de las estructuras de los PDs, así como la cuantificación de los mismos durante los experimentos, se ha llevado a cabo mediante cromatografía gaseosa acoplada a un detector

de emisión atómica (GC-AED). La respuesta en cada uno de los elementos de los intermedios es directamente proporcional a la cantidad de dichos elementos presentes en la molécula. La cuantificación es realizada por calibración de compuestos independientes.

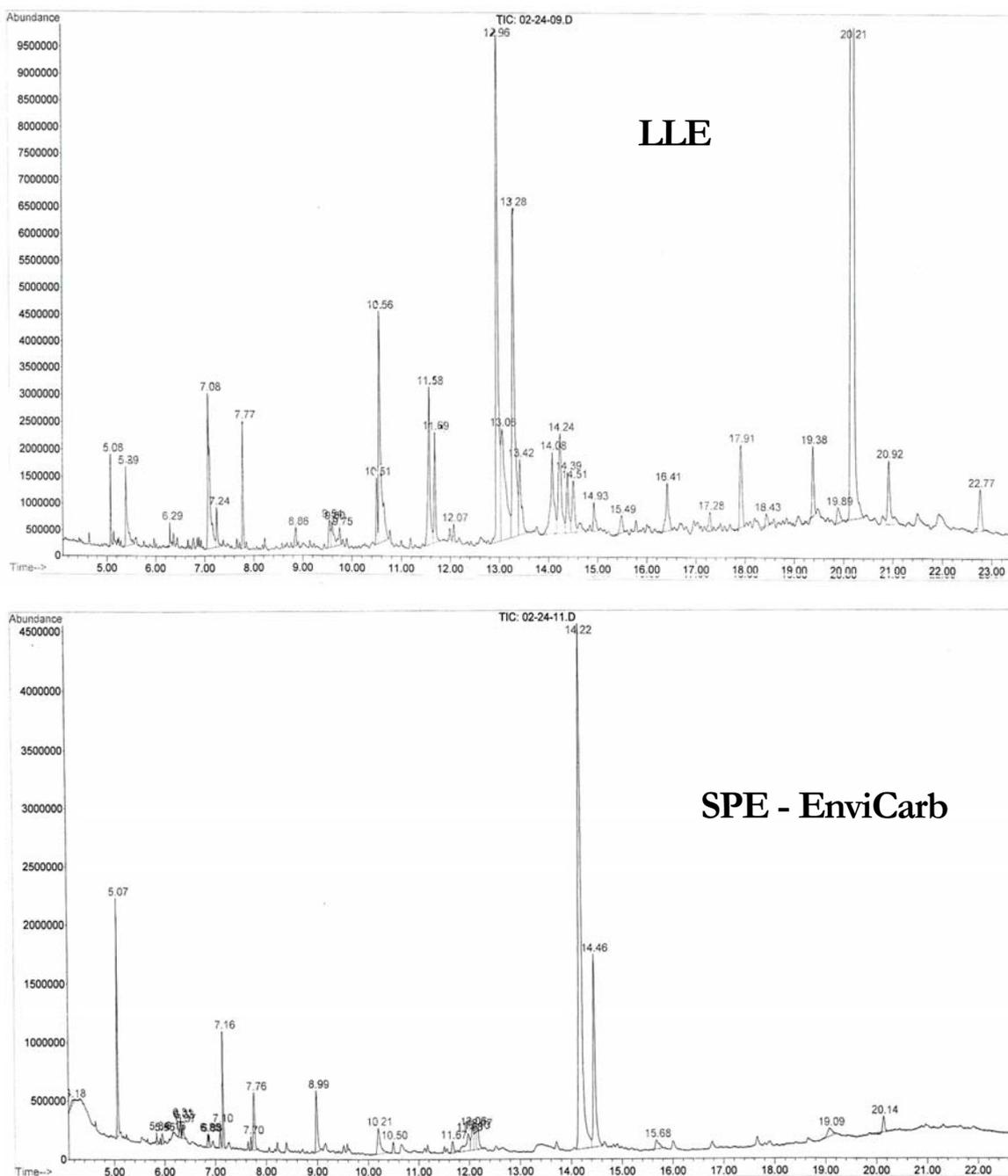


Figura 3.3.6.a. Cromatogramas obtenidos por GC-MS de los distintos métodos de extracción aplicados. Arriba: Extracción Líquido – Líquido. Abajo: Extracción en fase sólida con cartuchos EnviCarb sin ajuste de pH.

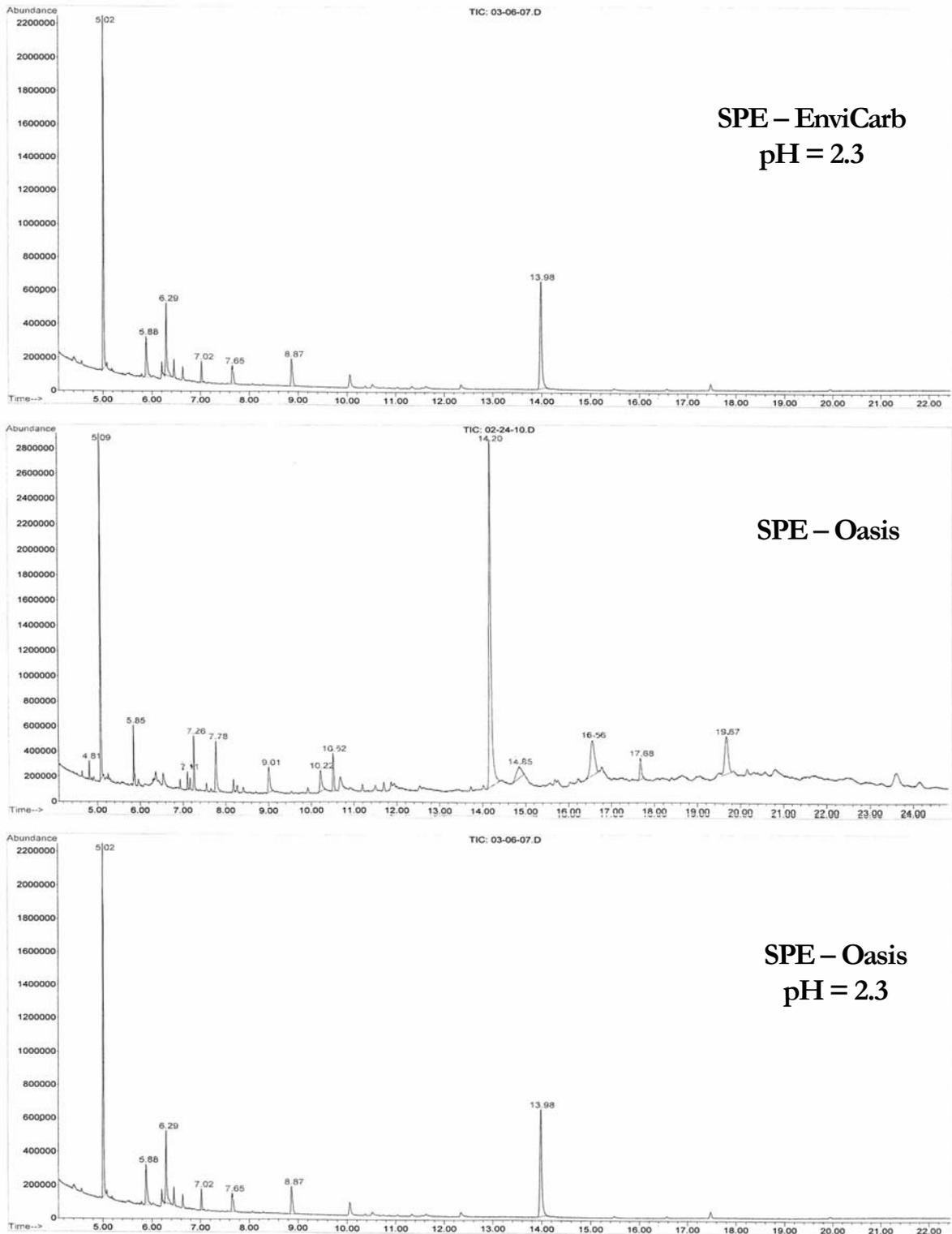
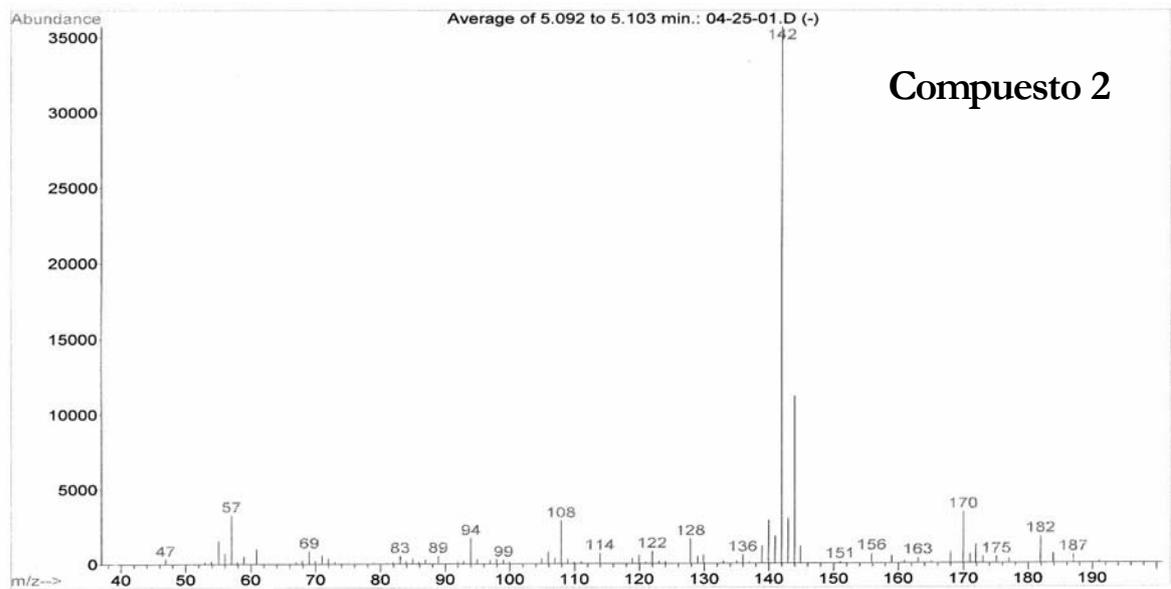
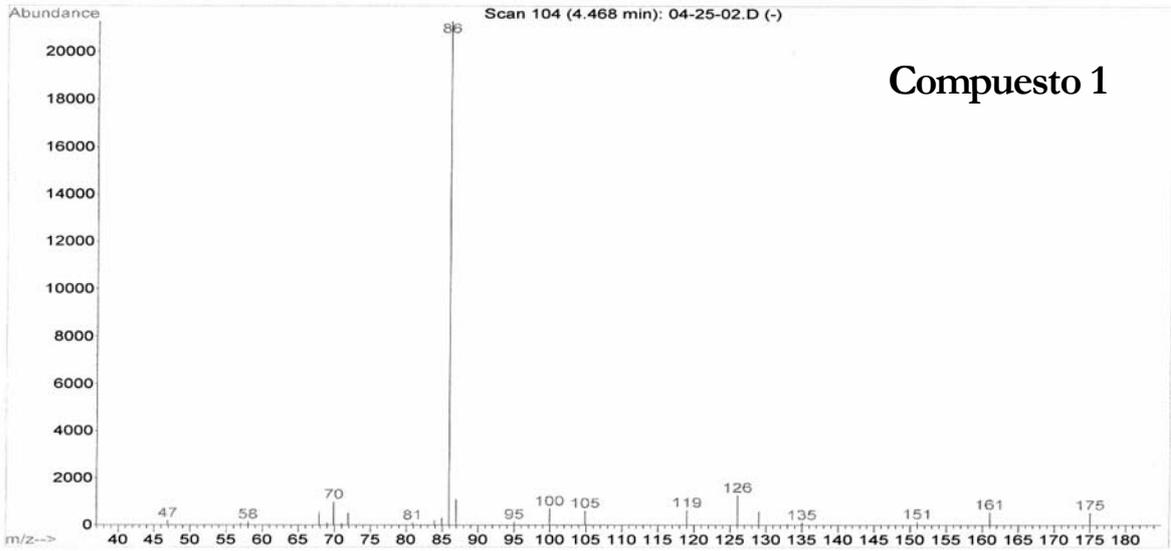
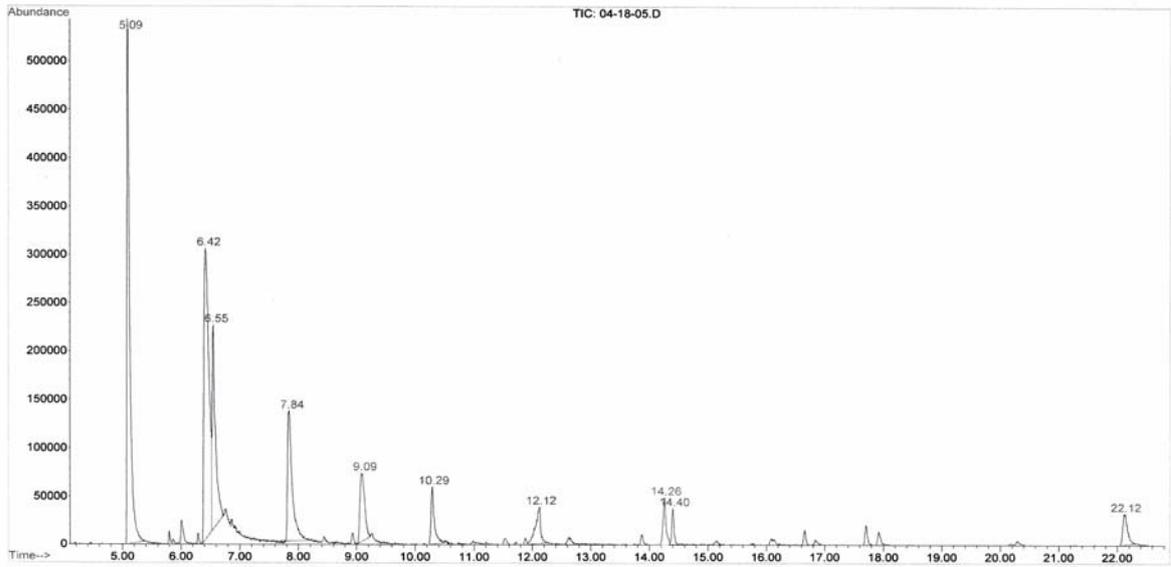


Figura 3.3.6.b. Cromatogramas obtenidos por GC-MS de los distintos métodos de extracción aplicados. Arriba: Extracción en fase sólida con cartuchos EnviCarb a pH = 2.3. En medio: Extracción en fase sólida con cartuchos Oasis sin ajuste de pH. Abajo: Extracción en fase sólida con cartuchos Oasis a pH = 2.3.



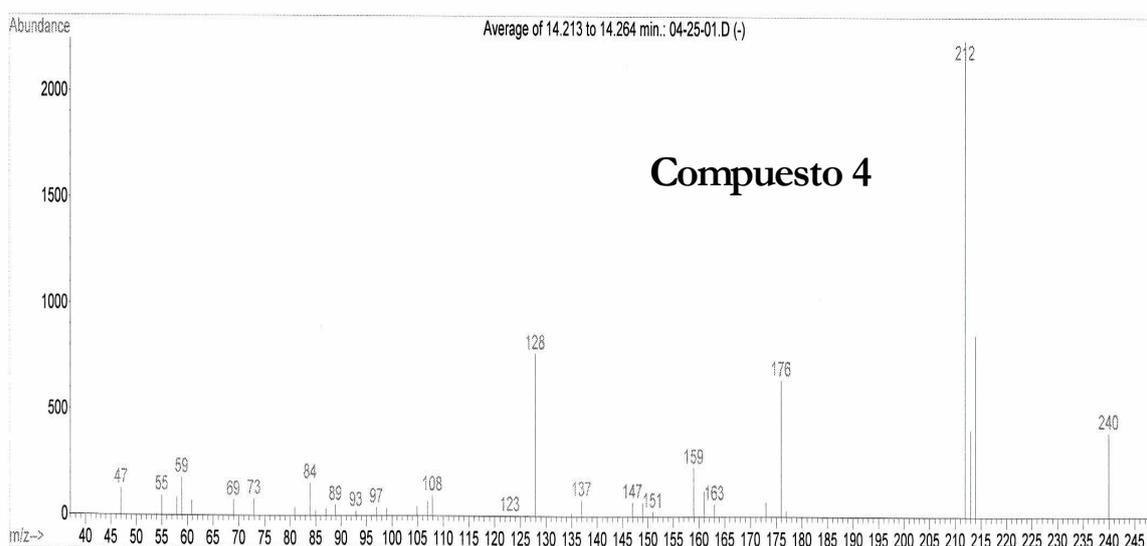
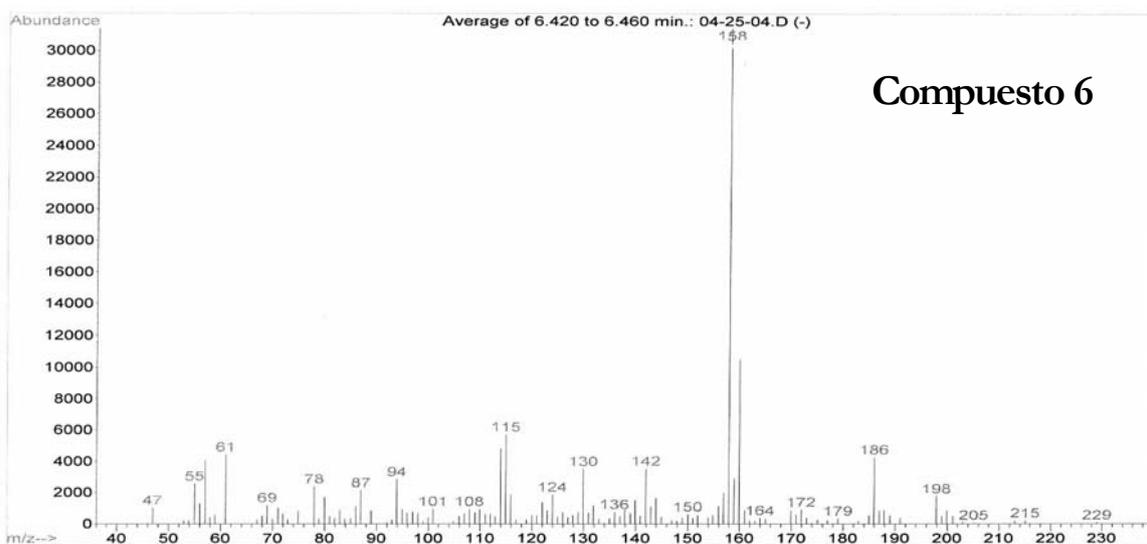


Figura 3.3.7. Cromatograma (arriba) y espectros de masas de una muestra analizada por GC-MS en el modo PIC.

Se han identificado los mismos 6 productos de degradación durante los dos tratamientos fotocatalíticos. La única diferencia entre ellos fue la concentración de cada uno de los compuestos identificados. Como consecuencia de las distintas recuperaciones obtenidas para cada uno de los materiales adsorbentes utilizados en la preparación de las muestras mediante SPE, solo la cantidad mayor de cada PDs obtenida de los dos procedimientos de extracción (es decir, su mayor recuperación) fueron tomadas en cuenta para minimizar pérdidas durante la preparación de las muestras. Con este procedimiento, las pérdidas durante SPE pueden considerarse mínimas.

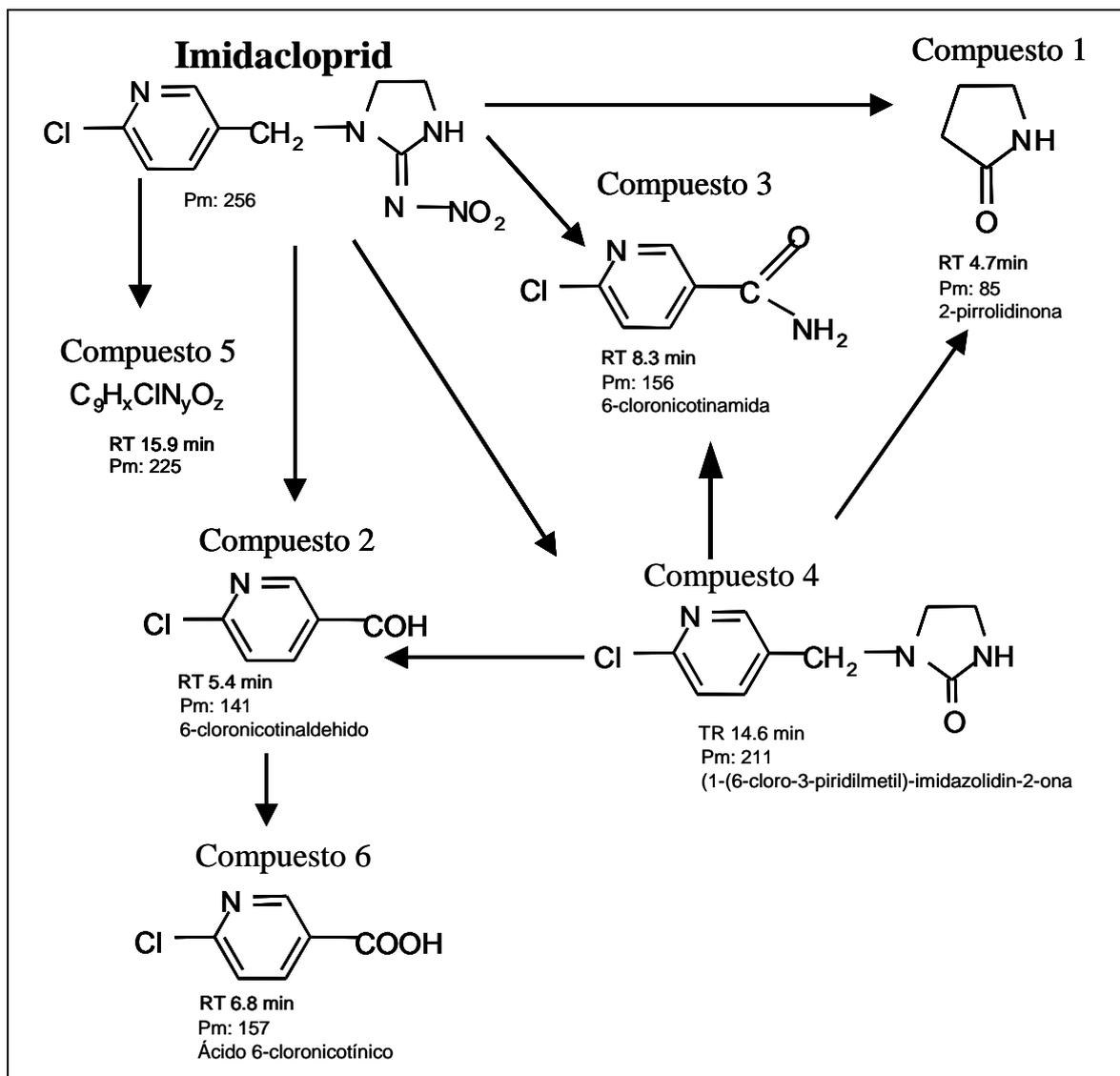


Figura 3.3.8. Esquema de la ruta de degradación propuesta del imidacloprid durante el tratamiento fotocatalítico con  $TiO_2$  y foto-Fenton en agua.

Los tiempos de retención y los pesos moleculares de los PDs obtenidos con GC-MS-PCI se muestran en la tabla 3.3.1. Además, el uso combinado de detección AED/MS es una de las alternativas más poderosas para la identificación y cuantificación de compuestos desconocidos [Pedersen-Bjergaard *y col.*, 1996; Leo *y col.*, 1999].

La detección de los mismos PDs para ambos tratamientos fotocatalíticos nos hace pensar que, las rutas de degradación en ambos tratamientos son iguales, aunque sus cinéticas no (ver figura 3.3.8). Esto puede explicarse teniendo en cuenta que ambos tratamientos están

basados en la reactividad de los radicales hidroxilos, siendo diferente únicamente la cantidad de radicales que se generan en cada caso. La figura 3.3.9 y 3.3.10 muestran la estrategia de identificación en GC-AED mostrando la evolución de los seis PDs para los átomos seleccionados, que son: Cl, H, N, C y O. En estas figuras están presentes todos los átomos excepto los de hidrógeno. Nótese que sólo el compuesto 1 no contiene cloro.

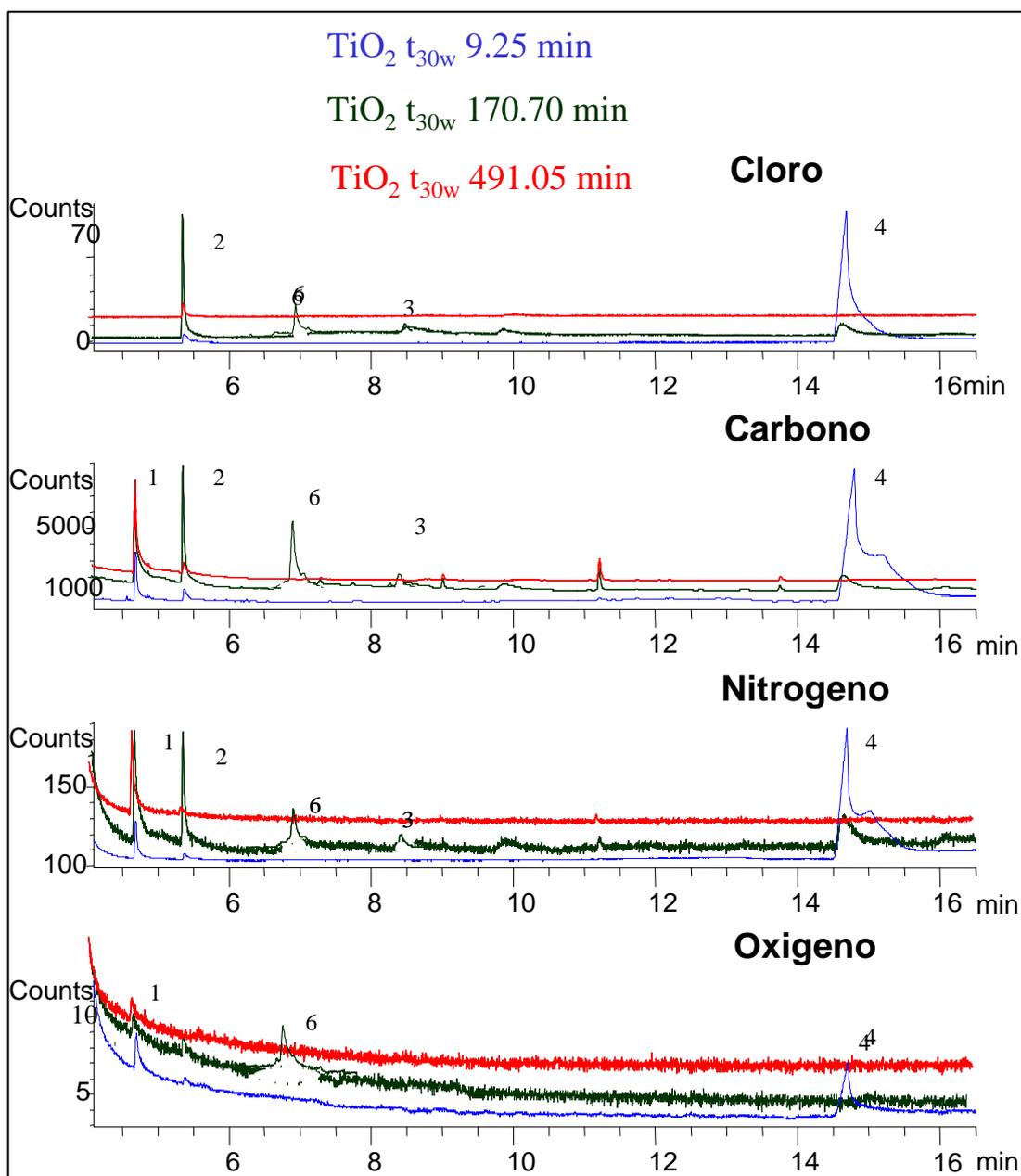


Figura 3.3.9. Cromatogramas de dos muestras reales de foto-Fenton analizados por GC-AED. Los números corresponden a los de la figura 3.3.8.

De entre los PDs, los compuestos 3 y 6 fueron inequívocamente identificados y cuantificados en el análisis por GC-AED/MS comparándolos con los estándares correspondientes, (ácido 6-cloronicotínico y 6-cloronicotinamida). La presencia de estos PDs ha sido descrito con anterioridad [Agüera y col., 1998a]. Los compuestos 1, 2 y 4 fueron identificados y cuantificados utilizando y comparando la respuesta de los estándares de piridina-3-carbaldehído y ácido 6-cloronicotínico, aplicando la calibración de compuestos independientes [Szlewski, Nota de Aplicación 228-382] en el análisis en GC-AED. En el caso del compuesto 5, no ha sido posible determinar su fórmula molecular exacta aunque si su composición atómica y su peso molecular. En la figura 3.3.10 se puede observar que al final de los dos tratamientos el único PDs que permanece es el compuesto 1, identificado como 2-pirrolidinona. Esto puede atribuirse a la dificultad de los radicales hidroxilos para atacar anillos no-aromáticos, aunque también es necesario remarcar que la concentración detectada es irrelevante si se compara con la concentración inicial de imidacloprid.

Una segunda ventaja del detector AED, como consecuencia de su respuesta independiente para cada compuesto, es su accesibilidad para simplificar la calibración, en comparación con otros detectores, y por lo tanto permitir una cuantificación más robusta que con MS en ausencia de estándares. La cuantificación de PDs ha sido realizada en análisis con GC-AED utilizando la emisión del átomo de cloro para los compuestos: ácido 6-cloronicotínico (área = 14.406 . ng – 683.8 ;  $r^2 = 0.9731$ ) y 6-cloronicotinamida (área = 17.029 ng – 73;  $r^2 = 0.9992$ ), para el cual estaban disponibles los estándares analíticos. La cuantificación de los demás intermedios, donde el estándar analítico no estaba disponible, ha sido realizada con la respuesta del átomo de carbono utilizando la curva de calibración de la piridina-3-carbaldehído (área = 3986 . ng – 96.075;  $r^2 = 0.9987$ ). La figura 3.3.11 muestra la evolución de los intermedios obtenidos siguiendo este procedimiento.

Los compuestos 1 y 4 son los principales PDs en la primera fase de foto-oxidación en el caso de foto-Fenton y por lo tanto tienen una gran influencia en la cinética de degradación en esta primera fase. Después de eso, el ácido 6-cloronicotínico es siempre el principal PDs para los dos tratamientos, antes de la división del anillo aromático y la consiguiente oxidación a oxo-compuestos lineales. La evolución de los perfiles de concentraciones de los PDs es similar en los dos tratamientos. Sin embargo, la producción del compuesto 3 es favorecida en el caso del tratamiento con  $\text{TiO}_2$  y el compuesto 4 en foto-Fenton, apuntando a la hidrólisis como la prevaleciente vía de la reacción en este último caso. El producto de degradación ácido

6-cloronicotínico también representa el principal intermedio en ruta hacia la mineralización total en ambos casos. A diferencia del tratamiento con foto-Fenton, la producción del ácido 6-cloronicotínico en el tratamiento con  $\text{TiO}_2$  empieza desde el principio, probablemente de nuevo como consecuencia de la vía hidrolítica en foto-Fenton que origina grandes cantidades de los compuestos 4 y 5, en lugar de 6. El compuesto 1 permanece al final de los dos tratamientos, pero él solo no puede justificar el TOC residual ( $< 2 \text{ mg/L}$ ) que permanece al final de los mismos.

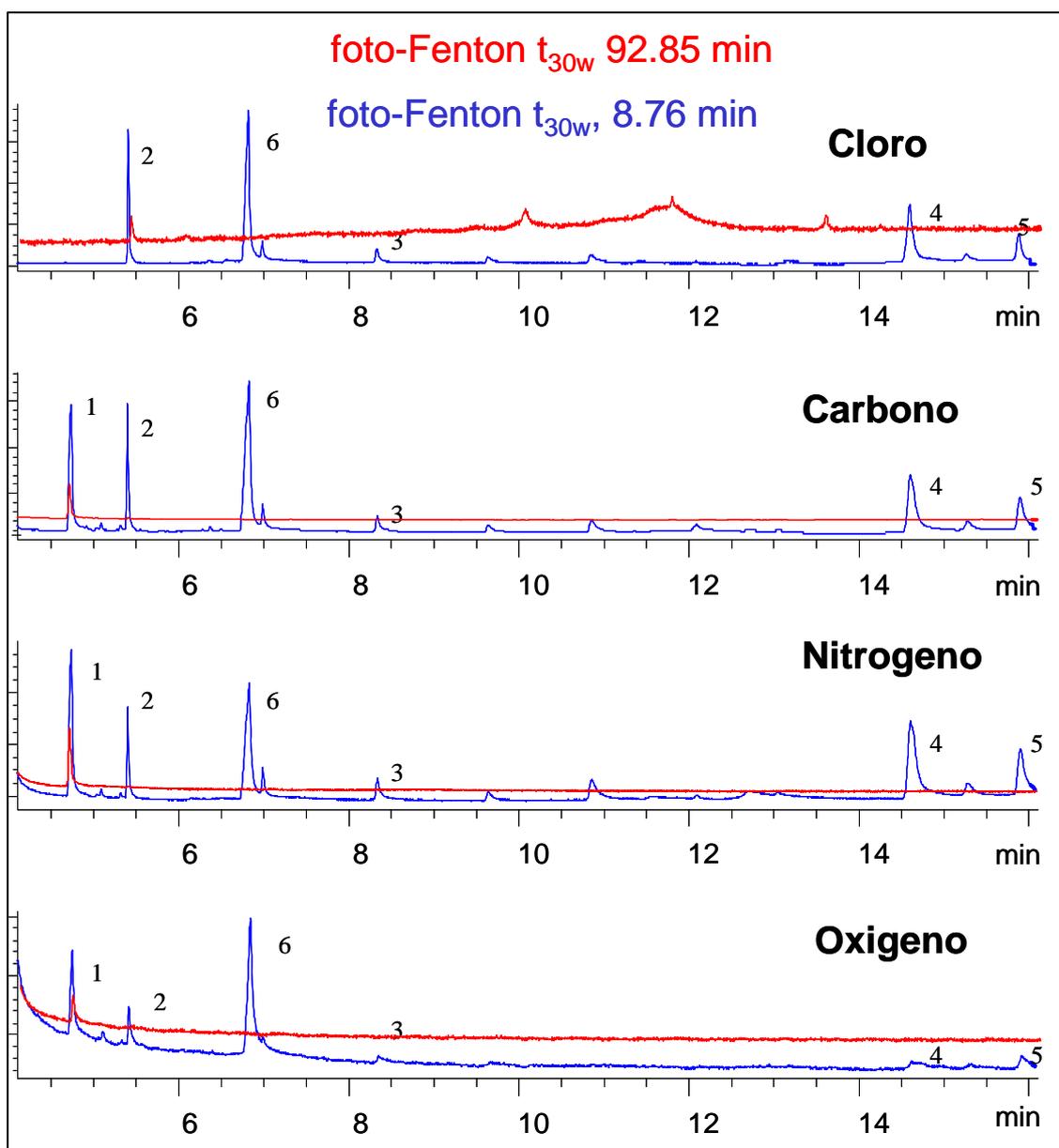


Figura 3.3.10. Cromatogramas de tres muestras reales de  $\text{TiO}_2$  analizados por GC-AED. Los números corresponden a los de la figura 3.3.8.

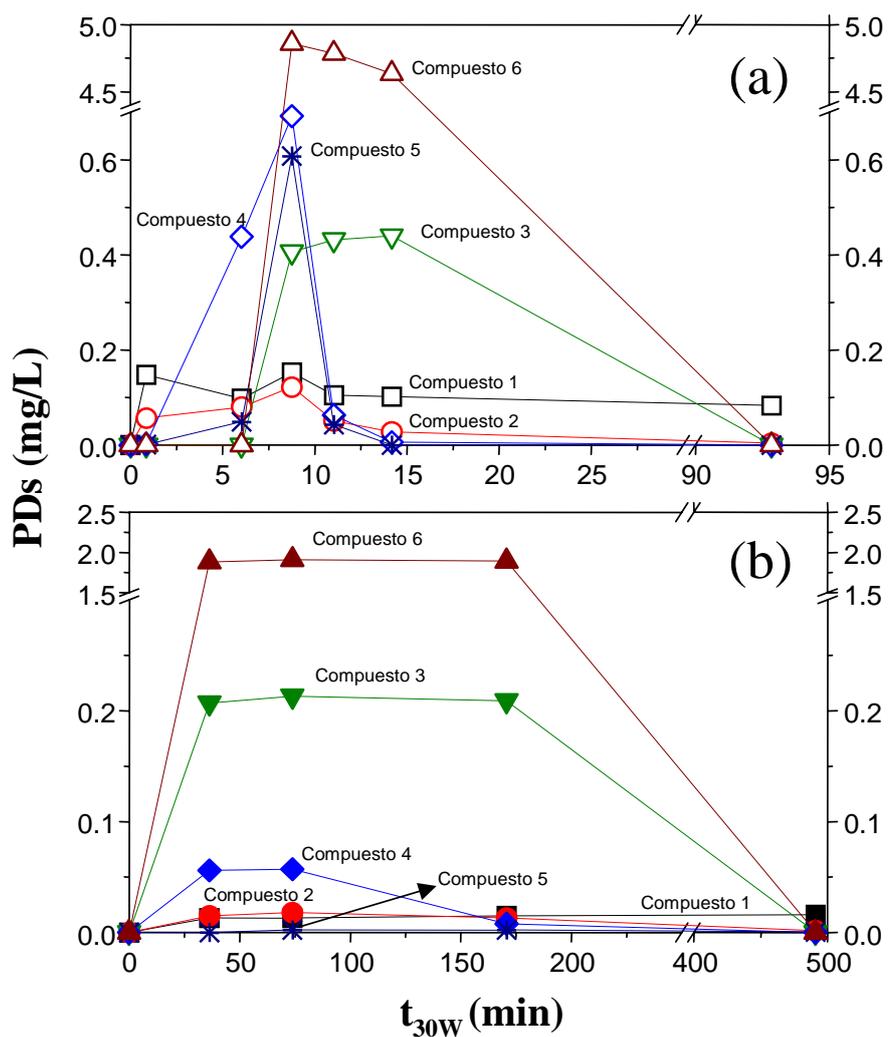


Figura 3.3.11. Formación y degradación de los productos de degradación de imidacloprid: (a) foto-Fenton y (b)  $TiO_2$ . Los números se corresponden con los compuestos mostrados en la figura 3.3.8.

### 3.4. CONCLUSIONES

Ambos tratamientos, tanto fotocátalisis con  $\text{TiO}_2$  y como foto-Fenton, son tratamientos viables para depurar y detoxificar aguas contaminadas con imidacloprid.

Los tratamientos de fotocátalisis con foto-Fenton y  $\text{TiO}_2$  han sido evaluados en los dos sistemas de colectores CPC durante 6 meses para ensayar la robustez del sistema, así como la reproducibilidad de los procesos de degradación. Continuamente se han tratado nuevas disoluciones de imidacloprid en agua, reutilizando los catalizadores de  $\text{TiO}_2$  y hierro por medio de sedimentación acelerada y coagulación respectivamente. Durante estos períodos no se apreciaron diferencias en las cinéticas de degradación de los experimentos. Los parámetros integrales (TOC y toxicidad) siguieron un comportamiento similar con un coeficiente de variación alrededor del 20%.

Mediante foto-Fenton se degradan 50 mg/L de imidacloprid en 14.2 min y con  $\text{TiO}_2$  en 122.3 min, y el 95 % de la mineralización es alcanzada en 250 min y 450 min respectivamente, con lo cual se puede concluir que el tratamiento con foto-Fenton el más efectivo de los dos.

Se ha logrado la dechloración completa y la eliminación de la toxicidad, medida mediante dos organismos diferentes pertenecientes a distintos estados taxonómicos del medio acuático.

Los productos de degradación identificados durante ambos tratamientos fotocatalíticos son iguales, aunque se presentan en distinta proporción, debido a que en ambos procesos los radicales  $\bullet\text{OH}$  son la principal vía de ataque de las moléculas orgánicas.

La técnica GC-AED demuestra ser una herramienta muy útil en la identificación y cuantificación de compuestos desconocidos, como los PDs de tratamientos fotocatalíticos, gracias a la calibración de compuestos independientes.

## **4. DISCUSIÓN Y RESULTADOS II:**

### **METOMILO**

## 4.1. INTRODUCCIÓN

Las investigaciones dedicadas a la protección ambiental han sufrido un gran desarrollo y en la última década, como consecuencia de la atención especial que prestan las autoridades internacionales sociales, políticas y legislativas al medioambiente, ha llevado a normativas legales muy severas y restrictivas [Angelakis *y col.*, 1999]. El cumplimiento estricto de estándares de calidad es especialmente requerido en el caso de aquellas sustancias tóxicas que afectan a la biosfera e impiden los procesos de tratamiento biológicos. Entre esas sustancias, los plaguicidas presentan uno de los mayores problemas, ya que como se espera que la población mundial continúe creciendo durante el siglo XXI, la necesidad de aumentar la producción agrícola también será inevitable. Asociado a todo esto, está también el aumento proporcional, incluso más, de la producción y consumo de productos agroquímicos. Los plaguicidas y compuestos agroquímicos en general vienen siendo detectados en el agua desde los años 50. Como estos compuestos no son biodegradables, este es un problema acumulativo con consecuencias impredecibles para el futuro a medio plazo [Hayo, 1996].

El problema de la destrucción de los contaminantes tóxicos biológicamente recalcitrantes debe ser abordado mediante tecnologías no-biológicas. Estas tecnologías consisten principalmente en técnicas convencionales de cambio de fase como los procesos de adsorción, o por métodos que destruyan los contaminantes como la oxidación o reducción química de los mismos. La oxidación química logra la mineralización de los contaminantes y los convierte en dióxido de carbono, agua e inorgánicos. Obviamente, los métodos basados en la destrucción química, cuando son desarrollados adecuadamente, consiguen la desaparición completa de los contaminantes, mientras que aquellos que solo realizan un paso de los contaminantes a otra fase dejan el consiguiente problema del vertido final. Como ya se ha comentado, los procesos de oxidación avanzada, consiguen la destrucción completa del contaminante. Sin embargo, el principal problema de los AOPs es su alto coste. La aplicación de las tecnologías solares a estos procesos podría ayudar a disminuir el problema reduciendo el consumo de energía necesaria para generar radiación UV. Pero, de todos modos, la destrucción total de los contaminantes no es siempre necesaria. Los costes de operación de AOPs son siempre superiores a los de tratamiento biológico, sin embargo, su utilización como pretratamiento podría justificarse para la mejora de la biodegradabilidad de aguas residuales que contienen compuestos recalcitrantes o inhibidores de estos tratamientos biológicos. Los productos de degradación intermedios podrían ser degradados por microorganismos en un

post-tratamiento biológico [Pulgarín *y col.*, 1999; Parra *y col.*, 2000]. La determinación de la toxicidad del agua, en distintas fases del tratamiento de los contaminantes con AOPs mediante bioensayos de toxicidad aguda, utilizando diferentes microorganismos [Fernández-Alba *y col.*, 2001 y 2002b] es otra forma de reducir los costes de operación de los AOPs. En este caso, la biodegradabilidad podría predecirse a menudo, y es más, es posible determinar la biocompatibilidad con el medioambiente de una agua tratada mediante AOPs sin necesidad de destruir completamente los contaminantes que contenía.

La determinación de la toxicidad aguda ha sido seleccionada ya que los bioensayos de toxicidad están normalizados y son estándares y fiables. La biodegradabilidad, por el contrario, depende fuertemente de la biomasa seleccionada para la realización de las determinaciones y los resultados obtenidos son generalmente muy difíciles de reproducir por otros investigadores. Actualmente, hay numerosos procedimientos disponibles para la realización de bioensayos de toxicidad [Tothill y Turner, 1996], sin embargo, como la toxicidad es una respuesta biológica, un sistema de monitorización universal de la misma no está disponible y por lo tanto, para aumentar la fiabilidad en la evaluación de toxicidad, es necesario utilizar diferentes organismos y que representen a distintos grupos taxonómicos del medio.

En este capítulo se evalúan dos AOPs, ya definidos, que utilizan luz UV natural, fotocatalisis heterogénea con  $\text{TiO}_2$  y con foto-Fenton, en una planta piloto solar. Ambos procesos fueron aplicados a la degradación de Metomilo, que es un plaguicida de uso común en la agricultura intensiva. Los procedimientos aplicados, así como los resultados obtenidos, deben permitir el planteamiento de una sistemática de trabajo mediante el que se puede abordar el estudio toxicológico de cualquier otro AOP aplicado a diferentes contaminantes.

Los N-Metil oxima y oxiimidotioato carbamatos ejercen un potente control de plagas de forma muy similar a los ésteres de arilo de ácido N-methylcarbámico. Compuestos como aldicarb, metomilo y oxamilo se utilizan ampliamente para el control de un gran espectro de insectos (Calópteros, Dípteros, Hemípteros, Homópteros, Himenópteros, Lepidópteros Tisanópteros, etc.) y ácaros fitófagos de la agricultura extensiva, invernaderos y animales de labranza. Aldicarb y oxamilo, por ejemplo, son también muy activos en el control de insectos del suelo y nemátodos. Aldicarb, aldoxicarb, butocarboxim, butoxicarboxim y thiofanox están estructuralmente relacionados y considerados como ésteres de oxima-carbamatos. Metomilo, oxamilo, alanicarb y thiodicarb son todos ésteres oxiimidotioato carbamatos, en los que el

grupo metil-tio está ligado directamente al carbono imínico. Puesto que estos compuestos contienen el grupo funcional C=N-O, han sido tradicionalmente agrupados con los otros oxima-carbamatos. Alanicarb y thiocarb son pro-insecticidas, que tras modificación biológica dentro de los organismos seleccionados producen metomilo como la principal molécula activa.

La mayoría de los oxima y oxyimidothioato carbamatos son compuestos sistémicos, absorbidos inmediatamente desde el suelo o desde la hoja y repartidos por toda la planta. Son insecticidas activos tanto por contacto como por ingestión oral. El modo de acción de los insecticidas carbamatos ha sido bien definido. Han demostrado afectar al sistema nervioso del insecto seleccionado por la inhibición de enzimas acetilcolinesterasa (ChE). La estructura química de aldicarb, por ejemplo, fue sintetizada por ser análoga a la de acetilcoline [Payne y Weiden, 1966].

El mecanismo de inhibición de ChE incluye la formación del complejo carbamato ChE, seguido por carbamilación de los enlaces ChE. En el caso de los insecticidas carbamatos, la hidrólisis (o regeneración) de las enzimas ChE carbamoiladas es mucho más rápida que la observada por las enzimas fosforiladas (como en el caso de la exposición de organofosforados). La resistencia cruzada es común en los insectos entre insecticidas organofosforados y carbamatados, en parte debido a este mecanismo de acción.

Los oxima y oxyimidothioato carbamatos son susceptibles a hidrólisis alcalina, fotólisis y se metabolizan en suelos, plantas y animales. Los procesos de activación y detoxificación afectan en gran medida a la actividad biológica, eficacia y persistencia medioambiental de estos compuestos. La oxidación del medio produce los correspondientes sulfoxidos y sulfonas que son también insecticidas muy activos. Esta reacción de oxidación del sulfuro ha sido observada bajo condiciones fotolíticas y en suelos, plantas, insectos y animales. Se han observado muy pocos casos de oxidación de sulfuro con los compuestos oxyimidothiatos. La división hidrolítica del ester es una degradación y reacción metabólica importante que ha sido observada con los oxima y oxyimidothioato carbamatos. Los derivados de oxima y oxyimidothioato se metabolizan con mayor facilidad por oxidación y/o reacciones reductoras, especialmente en plantas, a los aldehídos, alcoholes y ácidos carboxílicos, que están típicamente recubiertos por hidratos de carbono conjugados. En el caso del oxamilo, ocurre la conjugación y N-dimetilación, mientras que con metomilo y sus análogos se observan pocos

derivados de oximidotioato en la mayoría de los residuos siendo estos mineralizados a dióxido de carbono o reincorporados dentro de los constituyentes naturales.

La reacción de eliminación de los oxima-carbamatos produce los correspondientes nitrilos. Estos nitrilos experimentan subsecuentes reacciones de hidratación / oxidación para producir amidas y ácidos carboxílicos. La formación de nitrilo es también una reacción importante para los oximidotioato carbamatos. En el caso de metomilo y los insecticidas tiodicarb y alanicarb, se recupera acetonitrilo como producto metabólico principal [Huhtanen y Dorough, 1976]. El acetonitrilo es respirado por animales y plantas en pequeñas cantidades degradándose aún más a acetamida y ácido acético. La incorporación de ácido acético en ácidos grasos y otros constituyentes naturales en animales y plantas es significativa [Hawkins y col., 1991]. Últimamente, pequeñas fracciones de acetonitrilo procedentes de metomilo y oxamilo han sido recuperados como iones  $\text{SCN}^-$ , especialmente en tejido de cabra y excrementos [Reiser y col., 1997].

En general, es evidente que los oxima y oximidotioato carbamatos y sus productos de degradación están sujetos a metabolismos extensivos ya que en varios estudios realizados al respecto una importante cantidad del carbono isotópico incorporado en los mismos es recuperado como dióxido de carbono mineralizado, o como carbono incorporado en constituyentes naturales de las plantas y los animales, o en el suelo [Zwick y Malik, 1990].

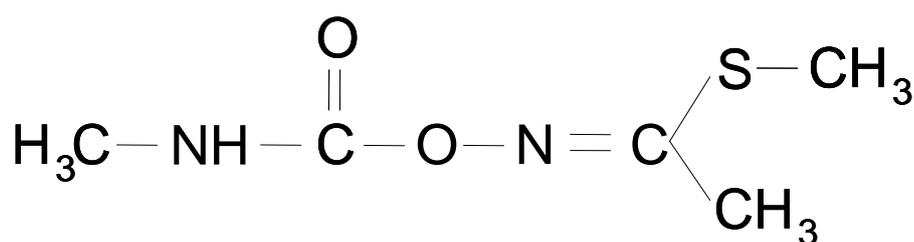


Figura 4.1.1. Estructura molecular del Metomilo.

Las principales propiedades del plaguicida metomilo, cuya denominación IUPAC es S-metil-N-(metilcarbamoiloxi) tioacetamidato, son:

- Peso moleculares: 162.2 g/mol
- Fórmula molecular:  $C_5H_{10}N_2O_2S$
- Solubilidad en agua: 57.9 g/L a 25 °C
- Punto de fusión: 79 °C

Metomilo es utilizado ampliamente en todo el mundo [Shosberg *y col.*, 1997; El-Zawahry *y col.*, 1998; Strathmann y Stone, 2001] debido a su capacidad potente de controlar muchas plagas [Basheer *y col.*, 1999; Hussein *y col.*, 1999; Ma *y col.*, 2000]. Metomilo, ha sido clasificado por la OMS de tipo Ib, por la EPA como tipo I y IV, y por la CE como tipo T<sup>+</sup>, lo cual quiere decir que es clasificado como un plaguicida muy tóxico y peligroso [Tomlin, 1997]. Es altamente soluble en agua y también tiene una baja capacidad de adsorción en el suelo, por lo cual puede causar fácilmente contaminación de las aguas subterráneas en zonas agrícolas [Barceló *y col.*, 1996; Strathmann y Stone, 2001]. El metomilo es un compuesto neurotóxico que produce toxicidad por contacto e ingestión [Dietrich y Ryan, 1997; Sabourin y Ryan, 1997]. Recientemente ha surgido una gran preocupación referente a su capacidad para producir toxicidad crónica en mamíferos [El-Zawahry *y col.*, 1998]. Además, es un insecticida comúnmente utilizado en la agricultura intensiva del Mediterráneo, que no deja de ser una de las razones principales de la realización de esta Tesis Doctoral. metomilo (ver figura 4.1.1), como ya se ha indicado anteriormente, es un plaguicida que pertenece a la familia de los carbamatos, algunos de los cuales han sido ya tratados con éxito mediante fotocatalisis con  $TiO_2$  y foto-Fenton [Huston y Pignatello, 1999; Malato *y col.*, 2000a; Mearlier *y col.*, 1993; Parreño *y col.*, 1994; Percherancier *y col.*, 1995].

El metomilo se hidroliza bajo condiciones alcalinas a 25°C ( $DT_{50}$  14 días) y es estable bajo condiciones neutras y ácidas ( $DT_{50}$  >> 30 días a pH 5 y 7). La división del enlace ester carbamato es la vía primaria de degradación, produciendo S-methyl N-hidroxitioacetimidato. La iluminación ( $\lambda = 254$  nm) de metomilo diluido en soluciones acuosas produce acetonitrilo, dimetil disulfóxido, acetona, N-etilidenetilamina y dióxido de carbono. El metomilo no absorbe la luz solar y la degradación microbiana es el mecanismo primario de disipación de metomilo en el suelo con valores  $DT_{50}$  de 11-30 días [Zwick y Malik, 1990].

La razón más importante para la elección de metomilo como objeto de estudio está relacionada con su especial interés para el tratamiento fotocatalítico con foto-Fenton. Huston y Pignatello han determinado la eficiencia de foto-Fenton en la mineralización de varios plaguicidas y han descrito las bajas velocidades de mineralización para plaguicidas formados por cadenas alifáticas [Huston y Pignatello, 1999]. Un efecto similar ha sido descrito también por Fallmann y col. en un estudio realizado con diez plaguicidas diferentes [Fallmann *y col.*, 1999]. En este caso se ha pretendido tratar un plaguicida para el que la mineralización es muy difícil y lenta, ya que los ensayos de toxicidad determinarían si es posible reducir la toxicidad sustancialmente por fotocatalisis sin llegar a la mineralización total del contaminante. Para ello se han utilizado tres bioensayos distintos para determinar la toxicidad en distintas fases de mineralización; *Vibrio Fischeri*, *Daphnia Magna* y *Selenastrum Capricornotum*, que pertenecen a tres estados taxonómicos diferentes del medio acuático.

Es necesario comentar, que en este caso no se ha utilizado ninguna técnica analítica avanzada (GC-MS, HPLC-MS, etc) para la determinación de intermedios de reacción debido a que, por un lado, la cantidad y estructura de los mismos hace relativamente simple su determinación (en la figura 4.1.1 queda reflejada la sencillez de la estructura molecular del metomilo) y, por otro lado, ya se han descrito en la literatura los principales (si no todos) productos de degradación de este compuesto [Strahman y Stone, 2001 y 2002].

## **4.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los equipos y técnicas utilizados en la realización de este estudio de investigación han sido descritos en detalle en la sección 2.2. La descripción experimental de este capítulo se restringirá a comentar aspectos no detallados en dicha sección.

### **4.2.1. Planta Piloto Solar**

Todos los experimentos fueron llevados a cabo con luz solar en una planta piloto solar que se ha descrito con detalle en las secciones 2.1.1 y 2.1.2 de esta memoria. El procedimiento experimental que se ha seguido en todas las experiencias ha sido desarrollado ampliamente en la sección 2.1.4. Todos los cálculos cinéticos realizados están basados en lo descrito en la sección 3.3.1, ya que en la planta piloto se ha operado de igual forma que allí se comenta y las muestras han sido recogidas en la “toma de muestras” que aparece en la figura 3.3.2.

### **4.2.2. Evaluación de la Radiación Solar UV**

Para medir la radiación solar UV se ha utilizado un radiómetro (KIPP&ZONEN, modelo CUV3), que se ha descrito con detalle en la sección 2.1.5. En dicha sección se detalla también, como a partir de estos datos de radiación se calcula el tiempo de iluminación  $t_{30W}$ , parámetro necesario para la correcta interpretación de los resultados y utilizado en las representaciones gráficas de los mismos.

### **4.2.3. Reactivos**

Para la realización de las experiencias se ha utilizado metomilo producto técnico, que tiene una pureza del 98% y que ha sido suministrado por Aragonesas Agro S.A. (Madrid, España). Los experimentos han sido realizados con una concentración inicial de metomilo de 50 mg/L. El agua y los reactivos utilizados para la realización de los experimentos fotocatalíticos tanto con  $TiO_2$  como con foto-Fenton han sido descritos con detalle en la sección 2.1.3.

Se ha utilizado estándar cromatográfico de metomilo suministrado por Riedel-deHaën (Seelze, Alemania) para su calibración y posterior cuantificación mediante HPLC-UV. Todos

los disolventes orgánicos y sales inorgánicas utilizadas en HPLC-UV y LC-IC son de calidad analítica.

#### **4.2.4. Determinaciones Analíticas**

HPLC-UV: Metomilo fue analizado utilizando la cromatografía líquida de alta resolución mediante HPLC-UV (Agilent Technology Serie 1100) a 234 nm, cuyo procedimiento experimental puede verse con detalle en la sección 2.2.2. La fase móvil utilizada fue del 90% de H<sub>2</sub>O y un 10% de acetonitrilo. La columna utilizada para la separación cromatográfica fue una columna C-18 (Luna, Phenomenex) de 5 micras de tamaño de partícula, y unas dimensiones de 3 x 150 milímetros. El flujo de la fase móvil fue de 0.5 mL/min. Fueron preparadas disoluciones estándares de metomilo en agua en un intervalo de concentraciones de 0.2 a 50 mg/L, para obtener una recta de calibrado con la que se realizará su cuantificación.

LC-IC: : La formación de aniones inorgánicos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular fue seguida mediante cromatografía iónica con detector de conductividad (Dionex-120) y cuyos procedimientos experimentales pueden verse con detalle en las secciones 2.2.3 y 2.2.4, respectivamente.

El método espectrofotométrico Nessler, comentado con detalle en la sección 2.2.5, fue aplicado para la determinación de amonio.

TOC: La mineralización lograda en cada momento de las experiencias se mide mediante el análisis del Carbono Orgánico Total. Este fue llevado a cabo mediante inyección directa de las muestras previamente filtradas en un analizador de carbono orgánico total (Shimadzu-5050A) y cuyo procedimiento experimental se detalla en la sección 2.2.1. Este equipo se ha calibrado con disoluciones estándares de ftalato ácido de potasio preparados en agua ultra pura procedente de un sistema Milli-Q.

Toxicidad: La evaluación de la toxicidad aguda fue llevada a cabo mediante el estudio de la movilidad de *Daphnia Magna*, la luminiscencia de la bacteria *Vibrio Fischeri* y el crecimiento de las microalgas *Selenastrum Capricornotum*, organismos pertenecientes a tres estados taxonómicos diferentes del medio acuático. Para los bioensayos de *Daphnia Magna* y *Selenastrum Capricornotum*, las muestras se prepararon mediante la dilución de las mismas en cada medio de

cultivo específico y para bioensayos de *Vibrio Fischeri*, se ajustó la concentración salina del agua con un 2 % NaCl para conseguir un comportamiento óptimo de las bacterias. La reproducibilidad media de la respuesta de los bioensayos ( $EC_{50}$ ) fue evaluada en un 24 %, 26 % y 25 % para Biotox, Algaltokit y Daphtokit, respectivamente. Se evaluaron realizando seis replicas de las medidas utilizando la misma solución tóxica y el mismo organismo de ensayo en diferentes días.

- ***Daphnnia Magna***: Para el estudio con *Daphnnia Magna* de la toxicidad de metomilo y sus fotoproductos, las larvas latentes de estos organismos (efipias) procedentes de un kit comercial (Toxkit Daphtokit) fueron incubadas en el laboratorio y cuyo procedimiento experimental está descrito en la sección 2.4.1. Los estudios de toxicidad se realizaron de acuerdo con las condiciones de ensayo descritas por la guía de la OECD [OECD, 1995a] y por la norma ISO 6341.
- ***Vibrio Fischeri***: El efecto de los compuestos de ensayo en *Vibrio Fischeri*, se evaluó utilizando un kit comercial normalizado (Biotox<sup>TM</sup>) de acuerdo con la norma [ISO 11348, 1994] y cuyo procedimiento experimental puede verse en la sección 2.4.2.
- ***Selenastrum Capriconotum***: El ensayo de inhibición del crecimiento de las algas se ha llevado a cabo utilizando la microalga verde de agua dulce *Selenastrum Capriconotum*, según las indicaciones de OEDC [OECD, 1995b], y utilizando el test comercial Toxkit Algaltokit, que utiliza lechos de microalga movilizada a partir de una matriz inerte. Su procedimiento experimental puede verse en la sección 2.4.3.

### 4.3. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Es necesario comentar que los resultados mostrados en este capítulo son únicamente un resumen de la experimentación llevada a cabo. En todos los casos los experimentos se han repetido las veces necesarias, con el fin de poner a punto las técnicas analíticas y demostrar la repetitividad de los resultados. Únicamente aquellos experimentos que han llevado a resultados concluyentes y/o interesantes son recogidos en este capítulo.

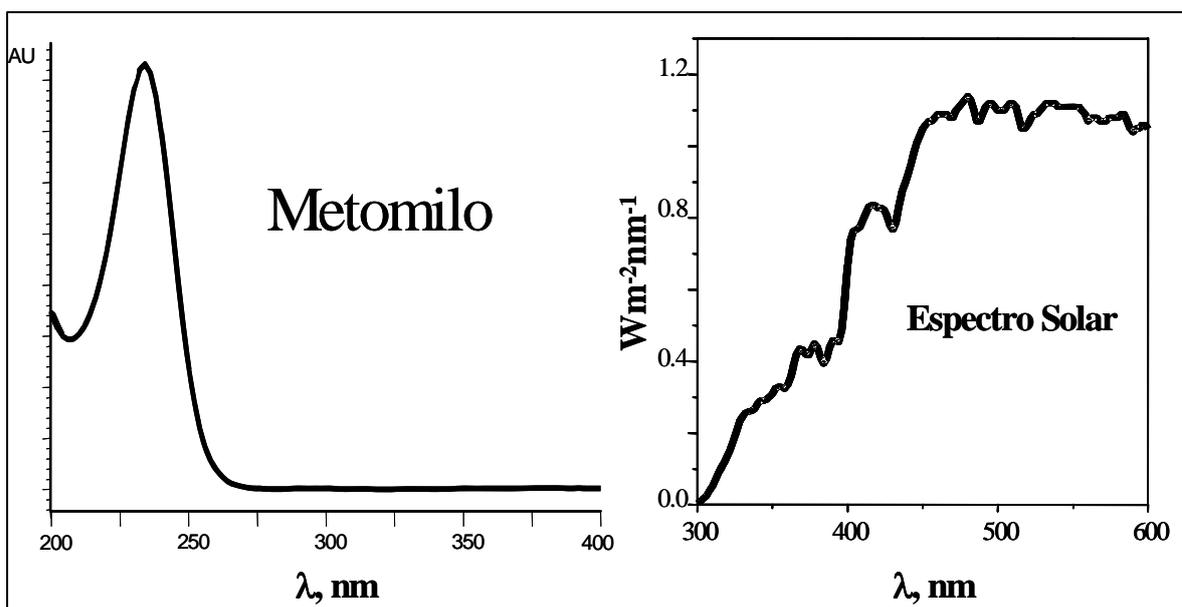


Figura 4.3.1. Comparación del espectro de absorción del metomilo (izquierda) y el espectro UV solar (derecha).

Se realizaron diferentes experimentos “en blanco” antes de los ensayos fotocatalíticos. El metomilo y el espectro UV solar no se solapan (ver figura 4.3.1), por lo cual la capacidad de absorción de fotones solares por parte del metomilo es nula. Por tanto, por si solo, en este compuesto no se pueden producir procesos de fotoalteración al exponerse, en el medioambiente, a la iluminación solar. Para demostrar esto han sido realizados experimentos en los cuales se expone al Sol una solución de metomilo de 50 mg/L durante dos semanas en un recipiente (3 L) de vidrio “pirex” (transparente a la radiación UV) con agitación continua. En estas condiciones, no se ha detectado ninguna alteración de dicho compuesto. Además, han sido realizados distintos experimentos en la oscuridad y a distintos pH (4.5, 3.5, 2.5 y 1.5), seleccionados (los tres primeros) por ser valores de pH que normalmente se suelen producir

durante los experimentos fotocatalíticos. La experiencia a pH 1.5 se ha utilizado como control para evaluar si un pH muy ácido provoca alguna alteración y efectivamente, se ha detectado una ligera hidrólisis de menos del 10 %. A los otros valores de pH no se ha detectado efecto hidrolítico alguno. Por lo tanto, se puede inferir que todos los resultados de degradación obtenidos durante los experimentos realizados en la planta piloto solar están relacionados solo con “procesos fotocatalíticos”.

#### 4.3.1. Evolución de Toxicidad durante la Degradación de Metomilo

La figura 4.3.2 muestra la evolución de las curvas representativas de toxicidad expresadas como el porcentaje de inhibición, medido para tres bioensayos diferentes realizados durante los experimentos fotocatalíticos solares de degradación de metomilo, mediante foto-Fenton y  $\text{TiO}_2$ . Los productos químicos añadidos al agua para la fotocatalisis son eliminados de las muestras antes de los bioensayos.  $\text{TiO}_2$  se elimina por filtración,  $\text{H}_2\text{O}_2$  mediante catalasa (procedimiento detallado en la sección 2.2.7) y el hierro por coagulación y filtración después de la neutralización de las muestras. En estas muestras, han sido determinados los valores  $\text{EC}_{50}$  de metomilo para *Vibrio Fischeri* y *Selenastrum Capricornotum*, resultando valores de 0.4 mg/L y  $\geq 50$  mg/L, respectivamente, aunque hay que aclarar que estos valores de  $\text{EC}_{50}$  para metomilo son obtenidos en presencia de sus metabolitos. Los valores correctos de  $\text{EC}_{50}$  para metomilo puro en agua han sido determinados en el laboratorio para *Vibrio Fischeri* y *Selenastrum Capricornotum* (no disponibles literatura) resultando 0.25 mg/L y 60 mg/L, respectivamente.

Los valores  $\text{EC}_{50}$  de 0.4 mg/L y  $\geq 50$  mg/L obtenidos de las muestras procedentes de los tratamientos fotocatalíticos no son los resultados de una respuesta tóxica al metomilo, ya que en dichos resultados están involucrados no solo metomilo, sino también la presencia de sus productos de degradación generados durante la fotodegradación del mismo. En dichas experiencias han sido detectadas distintas sustancias durante la determinación de metomilo, mediante el análisis de las muestras con HPLC-UV. Oximas sustituidas, metanotiol, nitrilo sustituido y metilamina han sido descritos como metabolitos de degradación de metomilo en la literatura que ha sido revisada [Strathmann y Stone, 2001 y 2002].

El  $\text{EC}_{50}$  ha sido determinado en cada caso a partir de la intersección de la línea  $\text{EC}_{50}$  (concentración de contaminante que origina un cambio del 50 % en el parámetro de respuesta,

ya sea movilidad, bioluminiscencia o crecimiento) con los datos de inhibición obtenidos para cada bioensayo y la concentración de plaguicidas en este punto. *Daphnia magna* es el sistema de bioensayo más complejo y también el más sensible a metomilo. Para *Daphnia Magna* el EC<sub>50</sub> en 48 horas es de 28.7 µg/L, pero este dato descrito en la literatura [Tomlin, 1998] no ha podido ser confirmado directamente en “muestras fotocatalíticas” ya que el método analítico utilizado (HPLC-UV) no permite la medida de una concentración tan baja, es decir, no es lo suficientemente sensible como para ello. Pero, gracias a una adecuada dilución de las muestras tomadas durante el ensayo fotocatalítico, ha sido posible confirmar que en 48 h el EC<sub>50</sub> es muy similar al dato de 28.7 µg/L descrito en la literatura. Estos resultados no se muestran en la figura 4.3.2 porque han sido obtenidos diluyendo las muestras que aparecen en dicha figura, en las que el porcentaje de inhibición para *Daphnia Magna* es siempre muy alto (> 90 %).

De la figura 4.3.2 se puede extraer que, el EC<sub>50</sub> para *Vibrio Fischeri* es de 0.4 mg/L en los ensayos con foto-Fenton y menor de 0.1 mg/L en los ensayos con TiO<sub>2</sub>. Esta incongruencia podría deberse a la presencia de los fotoproductos que se generan durante dichos procesos, que afectan a la toxicidad. Ambos valores están dentro del mismo nivel de toxicidad de metomilo puro (0.25 mg/L). El EC<sub>50</sub> para las muestras de TiO<sub>2</sub> ha sido más bajo porque los fotoproductos son más abundantes en este caso. Durante el tratamiento con TiO<sub>2</sub> el TOC es más alto que el tratamiento con foto-Fenton cuando el metomilo está casi completamente degradado (ver figura 4.3.4). Por lo tanto, 0.4 mg/L para *Vibrio Fischeri* es un valor conservador, puesto que hay otros compuestos presentes además del metomilo y ellos aumentan la toxicidad de la muestra.

El comportamiento de *Selenastrum Capricornotum* es diferente. El EC<sub>50</sub> ≥ 50 mg/L en las muestras iniciales (ver figura 4.3.2 cuando t<sub>30W</sub> = 0), pero la toxicidad, es decir, el porcentaje de inhibición aumenta al principio de los tratamientos fotocatalíticos y disminuye otra vez por debajo de EC<sub>50</sub> cuando el metomilo ha desaparecido casi por completo. Así pues, la toxicidad está claramente relacionada con la formación de los productos de degradación durante la oxidación fotocatalítica y presenta siempre valores mucho más altos que metomilo puro (60 mg/L). Estos resultados son importantes y nos llevan una conclusión relevante: la toxicidad de este plaguicida no es muy alta para *Selenastrum Capricornotum*, pero a medida que se va degradando, la toxicidad aumenta debido a la aparición de los productos intermedios de degradación. Por lo tanto, ¿cómo se comportará el metomilo en el medio ambiente? En los

experimentos de fotocatalisis realizados, los intermedios formados podrían no ser considerados “productos naturales de degradación”. Sin embargo, cuando el metomilo se vierte en el medioambiente puede sufrir diferentes procesos: degradación química (por ejemplo, la hidrólisis), degradación biológica por microorganismos en el suelo, fotolisis por luz solar, adsorción en el suelo, adsorción por las plantas (bio-acumulación en la cadena alimenticia), etc. ¿Es posible entonces asegurar que no se forman intermedios tóxicos (similares a los que se forman en fotocatalisis) durante estos procesos?

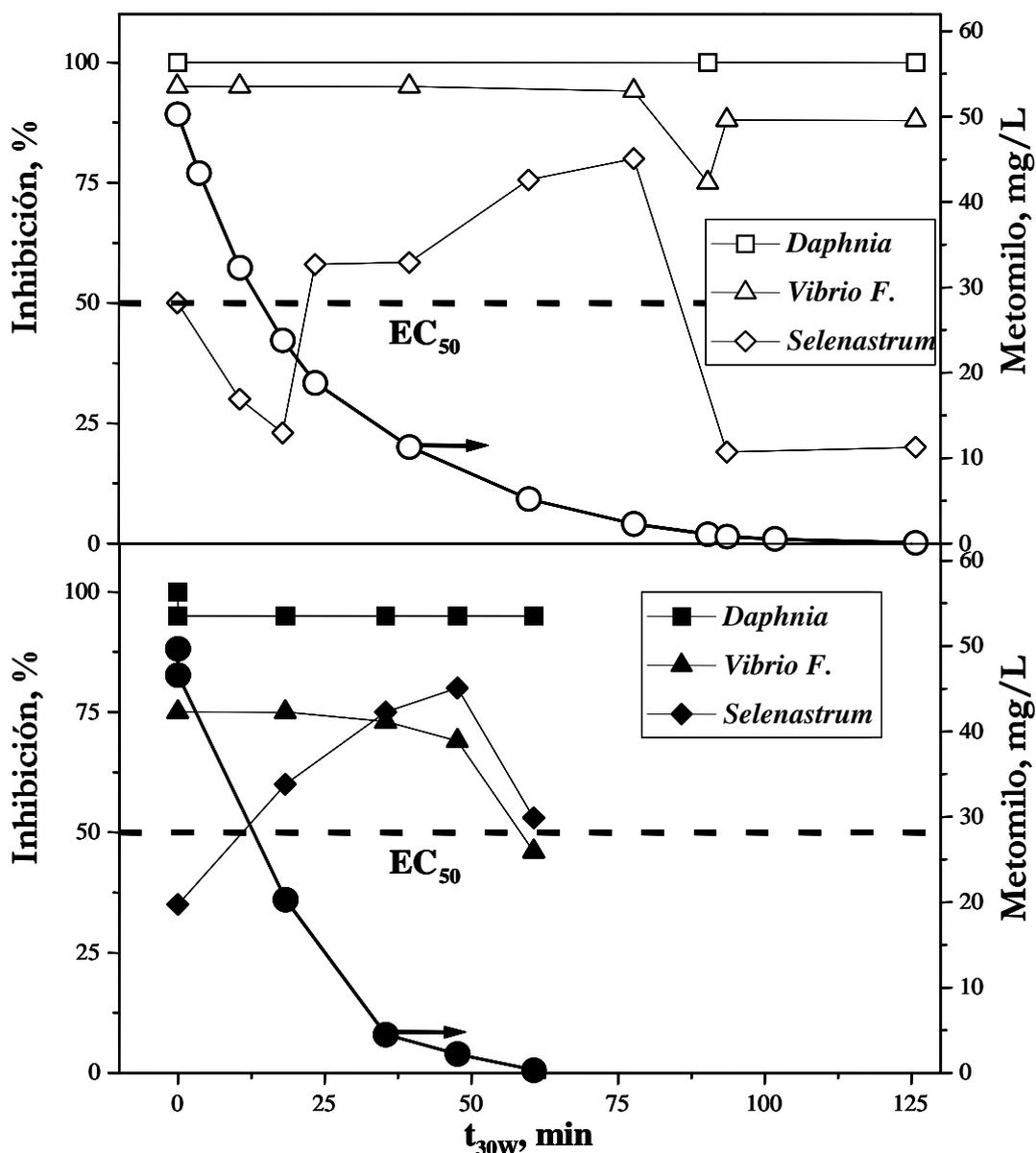


Figura 4.3.2. Degradación de Metomilo (ejes de la derecha) y evolución de la toxicidad (ejes de la izquierda). Símbolos sólidos: foto-Fenton ( $H_2O_2$ , Fe 0.05 mM, pH 2.8). Símbolos abiertos:  $TiO_2$  (200 mg/L,  $3.5 < pH < 5$ ).

### 4.3.2. Mineralización de metomilo y evolución de toxicidad

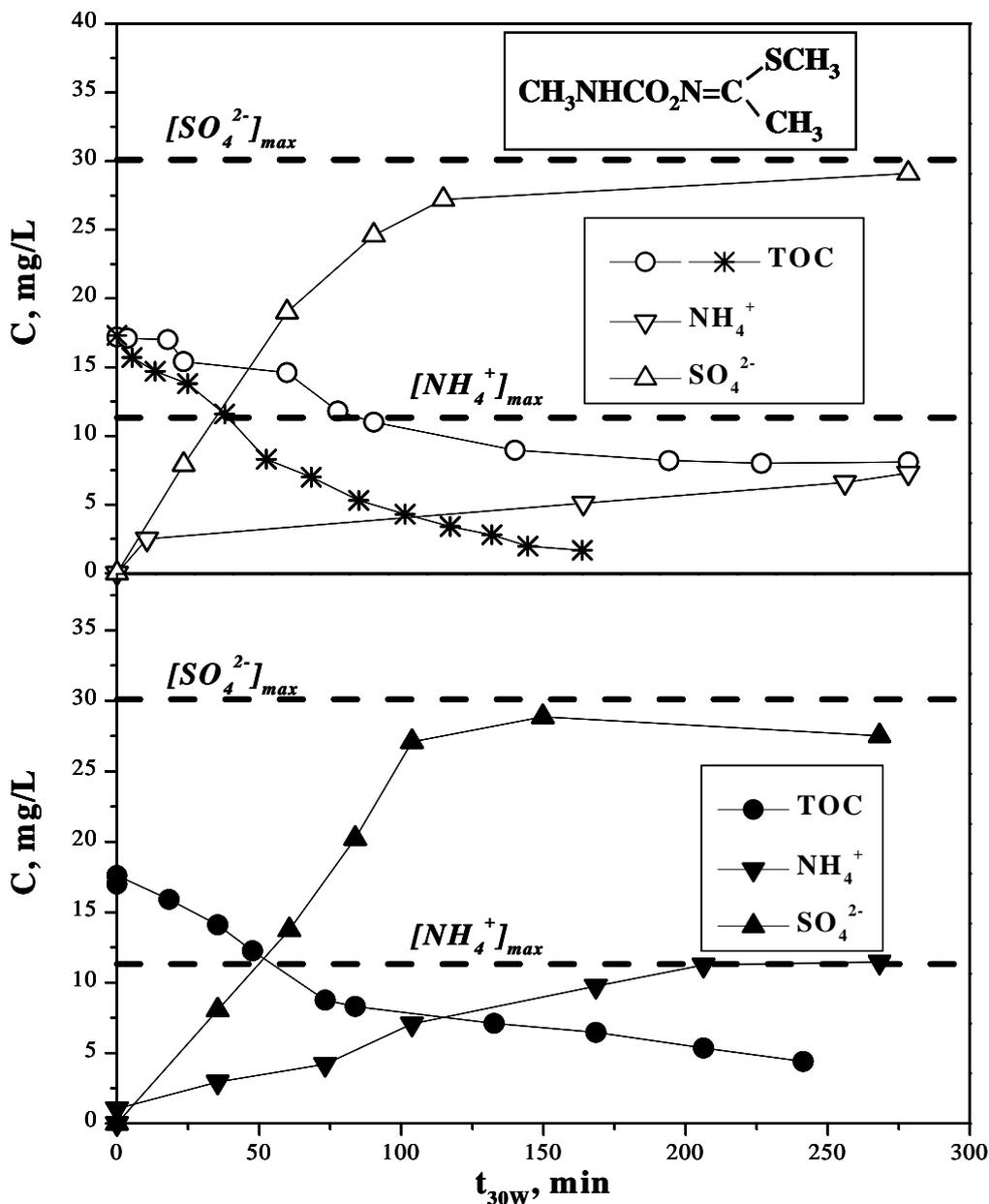
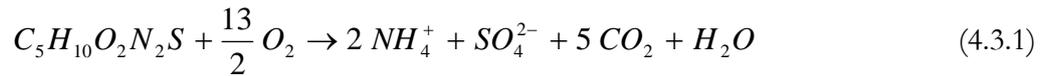


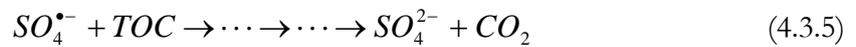
Figura 4.3.3. Degradación de metomilo (mineralización y producción de especies inorgánicas). Símbolos sólidos: foto-Fenton. Símbolos abiertos: TiO<sub>2</sub>. Los asteriscos muestran los resultados de la experiencia con TiO<sub>2</sub> + peroxodisulfato.

Como ya se ha comentado anteriormente, tiene un especial interés el tratar de degradar un plaguicida para el cual la mineralización es muy difícil o no alcanzable. En la figura 4.3.3 se muestran los resultados de mineralización de metomilo. Se puede apreciar que la

mineralización lograda en cada momento con  $TiO_2$  y foto-Fenton es muy lenta. Sin embargo, la producción de sulfato y amonio (especies inorgánicas que se forman a partir de los átomos de azufre y nitrógeno contenidos en el metomilo) en el proceso de oxidación fotocatalítico, no es tan lenta y al final es casi estequiométrica (1 mol de  $SO_4^{2-}$  y 2 moles de  $NH_4^+$  por mol de plaguicida) con respecto a la concentración inicial de plaguicida (50 mg/L). Basándonos en estos resultados, se propone la siguiente reacción de mineralización:



Para demostrar las dificultades para mineralizar metomilo, además de las experiencias con  $TiO_2$  y foto-Fenton, ha sido llevado a cabo un experimento con  $TiO_2$  y un oxidante fuerte como es el peroxodisulfato, que es una sustancia aceptora de electrones y fuente de radicales  $SO_4^{\bullet}$ . El peroxodisulfato ha demostrado ser un aditivo muy útil para mejorar la velocidad de mineralización de una amplia gama de sustancias [Grätzel *y col.*, 1999; Pelizzetti *y col.*, 1991; Al-Ekabi *y col.*, 1993; Malato *y col.*, 2000b], pero en este caso, el efecto del peroxodisulfato no está tan claro, porque la velocidad de mineralización es solamente el doble que solo con  $TiO_2$  y el 50 % mejor que con foto-Fenton. Por lo tanto, la mineralización rápida de metomilo no es posible, a pesar de la aplicación de varios métodos de producción de radicales  $\bullet OH$ . El efecto del peroxodisulfato en el proceso se puede resumir con las siguientes reacciones:



donde  $e_{BC}^-$  es el electrón generado en la banda de conducción. Como se puede apreciar las reacciones (4.3.2) y (4.3.3) aumentan la velocidad de reacción fotocatalítica evitando la recombinación del par  $e^-/h^+$ . Esto conduce a un gran número de huecos disponibles para producir radicales hidroxilo. Además, el radical  $SO_4^{\bullet}$  ( $E^0 = 2.6$  eV) es también un potente oxidante que puede formar radicales  $\bullet OH$  (reacción 4.3.4) e interviene en los procesos de oxidación (reacción 4.3.5).

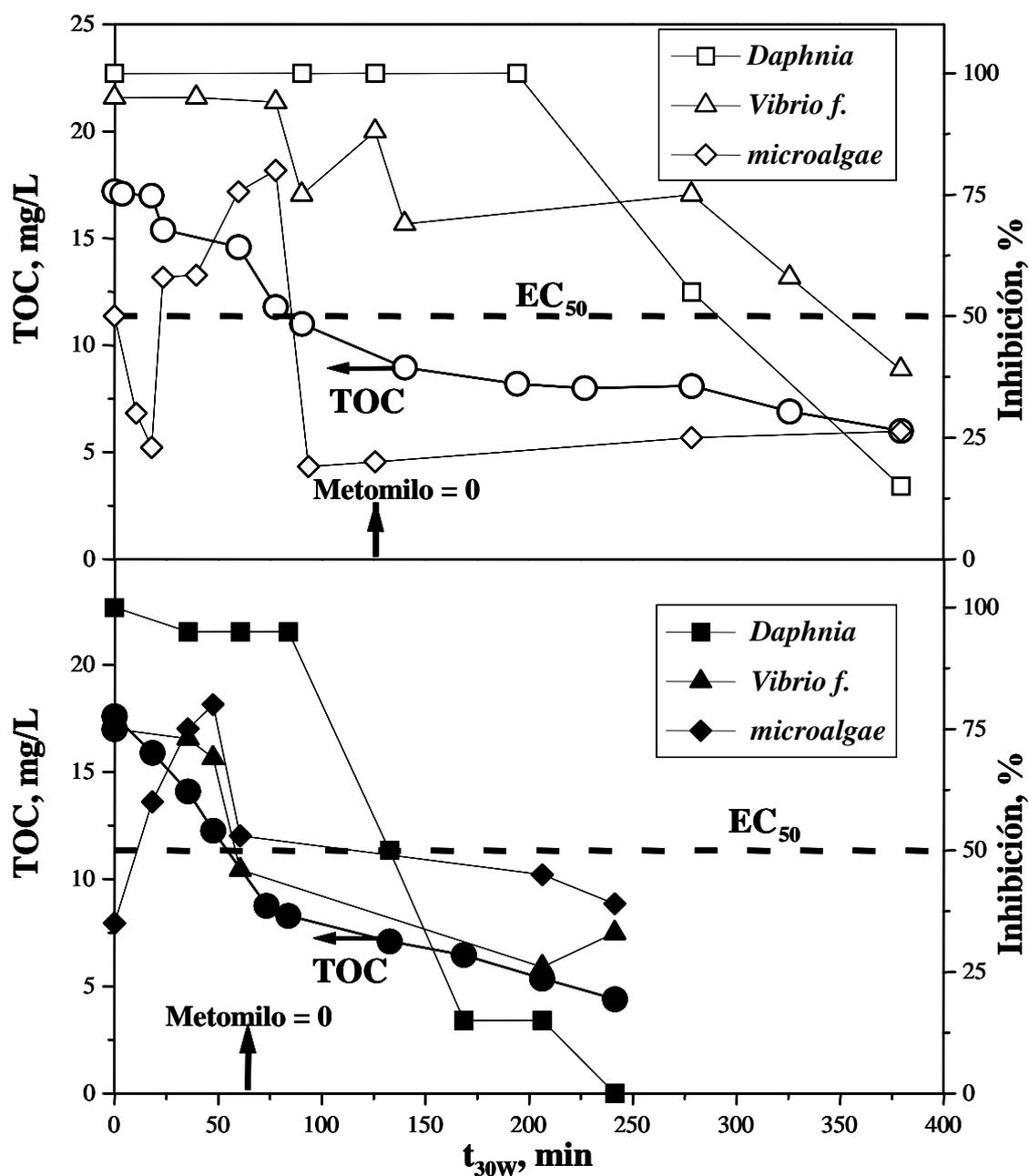


Figura 4.3.4. Evolución de la mineralización de metomilo (ejes izquierdos) y toxicidad (ejes derechos). Símbolos sólidos: foto-Fenton. Símbolos abiertos:  $TiO_2$ .

En fotocatalisis, el paso final de la degradación, la oxidación de los compuestos orgánicos hasta  $CO_2$ , solo es alcanzado después de una largo periodo de iluminación. Pero este hecho no ha sido posible demostrarlo en este trabajo de investigación, ya que unos períodos de degradación tan largos no son viables para estas aplicaciones de la fotocatalisis solar. La velocidad de reacción está directamente relacionada con el tamaño del campo de

colectores solares, que es el componente más caro de una planta solar fotocatalítica [Parent y col., 1996]. En este caso, los bioensayos de toxicidad aguda aplicados para la evaluación de AOPs son de especial interés.

La figura 4.3.4 muestra la evolución de la toxicidad en los tres bioensayos aplicados en función del tiempo de iluminación ( $t_{30W}$ ) durante experiencias largas de degradación de metomilo con  $TiO_2$  y foto-Fenton. En este caso los experimentos han sido extendidos en el tiempo hasta que todos los bioensayos de toxicidad mostraron un porcentaje de inhibición por debajo del umbral de cada uno, es decir, por debajo del  $EC_{50}$ , ya que en ese instante el agua tratada puede ser considerada no tóxica. Los resultados para los tres bioensayos aplicados muestran que con foto-Fenton, después de 125 min de tratamiento, se reduce la toxicidad por debajo del 50 % de inhibición, pero con  $TiO_2$  es claramente más lento, ya que solo después de 350 min de tratamiento se reduce la toxicidad por debajo del 50 % de inhibición. Esta importante diferencia entre ambos tratamientos fotocatalíticos en cuanto a la evolución de la toxicidad no es tan clara si solo se comparan los resultados de los análisis químicos realizados del compuesto original, TOC y aniones generados, como se muestra en las figuras 4.3.3 y 4.3.4. En todo caso, para un valor de TOC de 5 mg/L todos los bioensayos realizados muestran valores del porcentaje de inhibición por debajo del 50 %. No se ha detectado influencia apreciable, en la toxicidad global de las muestras, de la mineralización total de nitrógeno orgánico hasta amonio y la del azufre a sulfato. En todos los bioensayos de toxicidad aguda aplicados se observa un porcentaje de inhibición mayor del 50 % después de haber obtenido la cantidad estequiométrica de sulfato y amonio.

Se han utilizado los valores de TOC para calcular el  $EC_{50}$  puesto que el metomilo ya había sido degradado cuando algunos bioensayos todavía mostraban porcentajes de inhibición mayores del 50 % (ver figura 4.3.2). Los resultados obtenidos con *Daphnia Magna* muestran un comportamiento similar para ambos tratamientos, en los que el porcentaje de inhibición es superior al 50 % hasta que el TOC es menor de 7.5 mg/L. Pero *Selenastrum Capricornotum* y *Vibrio Fischeri* muestran un comportamiento distinto para cada tratamiento. En los resultados con las microalgas se observa un  $EC_{50}$  de 7.5 mg/L de TOC para los ensayos con foto-Fenton y 11 mg/L para los de  $TiO_2$ . Por lo tanto, se puede concluir que se forman distintos intermedios en estos dos tratamientos fotocatalíticos y que dichos intermedios muestran distintas toxicidades para los dos últimos microorganismos mencionados. Más aún, puede apreciarse que cuando los valores de TOC son similares, los intermedios formados en los dos

tratamientos tampoco son iguales, ya que los valores de la toxicidad medidos son claramente diferentes. Esto quiere decir que, el análisis de TOC es un parámetro inadecuado por sí solo para determinar el rendimiento en la detoxificación de distintos métodos fotocatalíticos, porque para el mismo valor de TOC, la toxicidad es diferente.

#### 4.4. CONCLUSIONES

Metomilo ( $C_0 = 50$  mg/L) puede descomponerse por completo mediante fotocatalisis solar con  $TiO_2$  y foto-Fenton. Pero aplicando tres bioensayos diferentes, los  $EC_{50}$  no están claramente por debajo del umbral de toxicidad después de la desaparición total del plaguicida. Se ha observado un efecto similar después de que los heteroátomos (S y N) hubieran sido completamente mineralizados. En cualquier caso, los tres bioensayos aplicados mostraron un claro descenso en la toxicidad del agua tratada por ambos métodos fotocatalíticos.

Los metabolitos de metomilo pueden ser más tóxicos que sus componentes originales.

Los bioensayos de toxicidad han mostrado un comportamiento diferente en función del TOC para los dos AOPs aplicados. Esto significa que el TOC es un parámetro que no puede correlacionarse fácilmente con la toxicidad cuando se comparan distintos AOPs, debido a los metabolitos diferentes que pueden formarse durante dichos procesos.

El proceso de foto-Fenton se ha mostrado más eficiente que el de  $TiO_2$ , no solo para la degradación de metomilo, sino también para la mineralización del TOC y la reducción de la toxicidad.

La correcta evaluación de cualquier AOP aplicado al tratamiento de aguas residuales no debe incluir solamente un estudio de la desaparición del compuesto original. Siempre es necesario un estudio completo del grado de mineralización alcanzado de la sustancia en cuestión y es fundamental el conocimiento de la evolución de la toxicidad del agua residual, evaluada ésta a través una serie de bioensayos diferentes.

## **5. DISCUSIÓN Y RESULTADOS III:**

### **DIURÓN**

## 5.1. INTRODUCCIÓN

Uno de los herbicidas más extensamente utilizados en la agricultura es el diurón, un derivado de la fenilurea, debido a su capacidad para la inhibición de la fotosíntesis. Su acción como herbicida ya fue descrita en 1951 [Tomlin, 1997] y fue comercializada por E.I. DuPont de Nemours y Co (que en la actualidad pertenece a DuPont) en 1954. Este plaguicida es el objeto de estudio de este capítulo.

La mayoría de los plaguicidas clasificados como pertenecientes a la familia de las ureas están sustituidos en el átomo de nitrógeno terminal con dimetilo o grupos metilo / metoxi. Las excepciones a estas sustituciones son el sidurón, que tiene un grupo 2-metilciclohexilo, y daimurón, que tiene un grupo fenilo sustituido. Daimurón es un herbicida, utilizado en cultivos de arroz, que tiene un modo de acción diferente del de las otras ureas. Los sustituyentes de anillos en el otro nitrógeno de la urea son normalmente grupos fenilos sustituidos excepto para el dimefurón, isourón, metabenzthiazurón y tebuthiurón, que tienen anillos heterocíclicos.

Los plaguicidas del grupo de la urea son herbicidas con un amplio rango de aplicación y gran selectividad, utilizados para el pre y post control de hierbas estacionales de mucha hoja en gran número de cultivos y para el control de algunas hierbas de hoja perenne cuando se aplica en dosis más elevadas. Diurón es utilizado en espárragos, piñas, bananas, caña de azúcar, algodón, menta, alfalfa, legumbres, cereales, maíz, sorgo y gramíneas perennes. En resumen, son requeridos sistemáticamente por su actividad herbicida. Con los estándares modernos, estos compuestos se utilizan a dosis altas, por ejemplo el diurón se utiliza a 0.5-5 kg ha<sup>-1</sup>. Las ureas son sólidos relativamente no volátiles con puntos de fusión bastante altos y no están ionizados en el intervalo habitual de condiciones de pH que se encuentran en el medioambiente.

Los herbicidas son absorbidos y concentrados por las raíces [Briggs *y col.*, 1982]. La mayoría de estos compuestos son llevados desde las raíces a los brotes por los vasos leñosos. Las ureas son inhibidoras de la reacción de Hill, inhibiendo la fotosíntesis mediante su reacción con el foto-sistema-II en las membranas del cloroplasto tilacoide. Impide la fijación de CO<sub>2</sub> y la producción de ATP y NADPH<sub>2</sub>. Su fitotoxicidad surge como resultado de la formación de la clorofila triplete y su interacción con oxígeno en estado fundamental, para

formar el oxígeno singulete, que tiene como resultado la incapacidad de las plantas para reoxidar la proteína D1. La clorofila triplete y el oxígeno singulete pueden abstraer hidrógeno de los lípidos no saturados e iniciar peroxidación de lípidos en una reacción en cadena. Esta oxidación produce la pérdida de clorofila y carotenoides por las membranas porosas de la planta [Ahrens, 1994].

Las primeras revisiones amplias sobre el comportamiento de las ureas en el medioambiente han sido publicadas por Geissbuhler [Geissbuhler *y col.*, 1975; Geissbuhler y Voss, 1972]. En dichas publicaciones se comenta que las ureas tienen una ruta de transformación similar en suelos, plantas y animales, especialmente por reacciones de fase I. La primera reacción es la N-desmetilación / desmetoxilación que ocurre vía hidroximetilo y posiblemente por intermedios N-formilo. La desmetoxilación es más rápida y sus intermedios son más difíciles de aislar que para el desmetilación. La hidroxilación de los anillos aromáticos y de las cadenas laterales alifáticas de estos anillos pueden ocurrir simultáneamente a estas reacciones, originando una gran variedad de productos.

Las ureas no son hidrolizadas de forma importante a los valores de pH usuales en el medioambiente y tampoco se fotodegradan con facilidad. Esto refleja la estabilidad de los grupos de urea. Su persistencia en suelos aeróbicos es intermedia, aunque en suelos anaeróbicos el isourón se degrada rápida y completamente. Muchos autores han afirmado que las ureas son metabólicamente hidrolizadas a compuestos derivados de la anilina en suelos, plantas, animales y microorganismos.. Si las anilinas llegarán a formarse en suelos podrían formar residuos rápidamente al combinarse con algunos de los constituyentes que conforman el mismo. Las hierbas pueden llegar a hacerse resistentes a los herbicidas de la familia de la urea, por ejemplo, existen evidencias que afirman que la hierba negra (*Alopecurus myosuroides*) se ha hecho resistente al clorotolurón.

Tanaka [Tanaka *y col.*, 1986] ha realizado una comparación de la fotólisis de diurón con luz solar y usando lámparas UV. En ambos casos los principales productos identificados fueron compuestos hidroxilados en el anillo. Los productos menores de estas fotólisis resultaron ser compuestos procedentes de la desmetilación y de la oxidación de un metilo. De forma parecida, los fotoproductos más importantes identificados por Jirkovsky [Jirkovsky *y col.*, 1997] en soluciones acuosas, son compuestos procedentes de la sustitución del cloro heterocíclico por un OH. Con radiación de longitud de onda corta (254 nm) el producto

hidroxilado en el carbono C3 constituye el 90% de la conversión, mientras que a longitudes de onda más largas (365 y 334 nm) el principal producto es el compuesto hidroxilado en C4. La presencia de metanol en experiencias de fotólisis tiene como resultado la foto reducción a monurón.

La actividad microbiana contribuye a la degradación bioquímica de diurón en suelos y en ciertas condiciones la presencia de dicho herbicida en los mismos favorece esta actividad microbiana. Los metabolitos dimetilados de diurón son detectados en suelos de campos de algodón tratados. La degradación anaeróbica de diurón ha sido estudiada y el único metabolito detectado se forma por dechloración reductiva.

En los mamíferos, las ureas se absorben rápidamente en los intestinos. En estudios realizados con ureas radio-etiquetadas, la mayoría de radioactividad producida por estas es excretada rápidamente. Como ya se ha mencionado anteriormente, las reacciones más importantes son la N-desmetilación / desmetoxilación e hidroxilación. En las reacciones de la fase II tienen lugar la conjugación del ácido glucurónico y el ácido sulfúrico. La vía metabólica que ha sido encontrada en ratas y perros también tiene lugar en humanos. A altas dosis de clorotolurón se forman derivados del tiometilo.

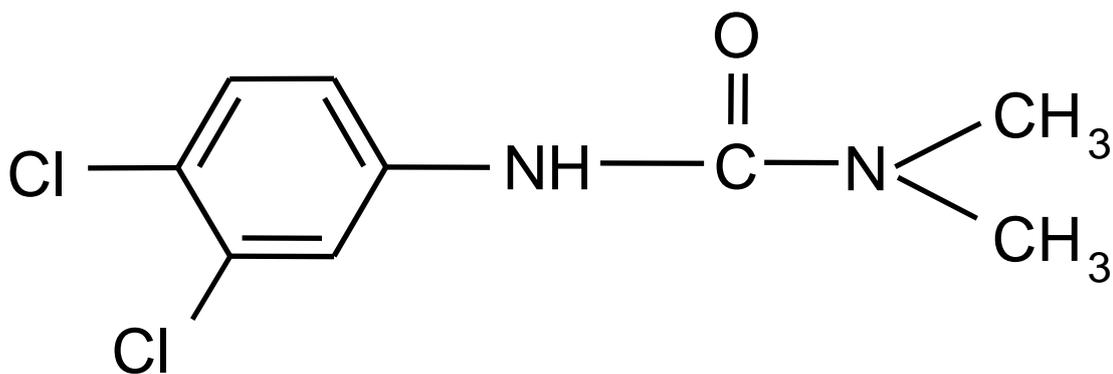


Figura 5.1.1. Estructura molecular del Diurón.

Las principales propiedades del plaguicida diurón, cuya denominación IUPAC es [3-(3,4-diclorofenilo)-1,1-dimetilurea, son:

- Peso moleculares: 233.1 g/mol
- Fórmula molecular:  $C_9H_{10}Cl_2N_2O$
- Solubilidad en agua: 36.4 mg/L a 25 °C
- Punto de fusión: 159 °C

La producción global de diurón es alrededor de 14.000 a 16.000 toneladas por año [Comisión Europea, 2000a]. Diurón se fabrica haciendo reaccionar 3,4-diclorofenil-isocianato con dimetilamina lo cual da lugar a un sólido incoloro. Como ya se ha comentado, es estable a pH neutro a temperatura ambiente y se hidroliza a valores de pH ácidos y alcalinos. El principal producto que se forma en esta hidrólisis es 3,4-dicloroanilina [Salvestrini *y col.*, 2002], que es un intermedio muy tóxico [Simon *y col.*, 1998]. El diurón es soluble en agua y es un herbicida altamente persistente, con una permanencia en suelo superior a los 300 días. La alta toxicidad de algunos de sus principales productos de degradación, tales como 1-(3,4-diclorofenil) urea y metilurea, también ha sido descrita en la literatura [Fernández-Alba *y col.*, 2002c; Tixier *y col.*, 2000]. Por lo tanto, al ser un plaguicida ampliamente utilizado en todo el mundo, muy soluble en agua, muy persistente en el suelo y que genera intermedios muy tóxicos, es un claro candidato para contaminar seriamente el suelo [Higarashi y Jardim, 2000] y el medio acuático en cantidades de mg/L. Diurón también se degrada con métodos fotoquímicos [Jirkovski *y col.*, 1997; Okamura, 2002] y ozonización [Ramírez-Zamora y Seux, 1999], pero una gran cantidad de los fotoproductos que se forman tienen efectos ecotoxicológicos desconocidos. La degradación biológica de diurón en lodos procedentes de una planta de tratamiento convencional de aguas residuales es casi inapreciable y solamente se detecta una pequeña cantidad de su producto de degradación 1-(3,4-diclorofenil) metilurea, que presenta una demanda química de oxígeno, DBO = 0 [Yarita *y col.*, 1998]. La degradación de diurón mediante hongos lleva a la formación de metabolitos más tóxicos que el propio diurón [Tixier *y col.*, 2000]. Por todos estos motivos, diurón está incluido en la lista de los contaminantes peligrosos prioritarios de la Unión Europea [Comisión Europea, 2001a], como una sustancia sujeta a control de emisión y de estándares de calidad, a nivel Comunitario, para alcanzar una "reducción progresiva de descargas, emisiones y pérdidas". En esta lista de 33 sustancias, también está incluido el isoproturón que pertenece también a la familia de las ureas, lo cual da una idea de la importancia relativa que tienen estos compuestos en los problemas medioambientales de la UE (ver Anexo II).

En este contexto es importante desarrollar métodos de tratamiento de agua adecuados y eficaces para la eliminación de diurón. Como ya se ha comentado, entre los AOPs, la fotocatalisis se presenta con éxito como una tecnología emergente para la descontaminación de efluentes bio-recalcitrantes. Los mecanismos de estos procesos han sido descritos en detalle en la sección 1.2. Este trabajo se centra en un aspecto de la investigación sobre los AOPs que hoy en día todavía es poco usual, como es la aplicación de un proceso analítico completo para lograr una evaluación adecuada del AOP desde el punto de vista de la química medioambiental. El objetivo no es solo seguir las cinéticas del proceso mediante la determinación de la desaparición del compuesto original, mineralización completa y liberación de aniones, sino evaluar también la generación de intermedios (PDs) mediante LC-MS y la bio-toxicidad del agua tratada. Por este procedimiento, se pretende alcanzar un completo control del proceso de degradación y el poder garantizar la “viabilidad” medioambiental del tratamiento global. Además, este procedimiento ha sido utilizado para comparar dos tratamientos fotocatalíticos solares: fotocatalisis en fase heterogénea con  $\text{TiO}_2$  y en fase homogénea con foto-Fenton.

## **5.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los equipos y técnicas utilizados en la realización de este estudio de investigación han sido descritos en detalle en la sección 2.2. La descripción experimental de este capítulo se restringirá a comentar aspectos no detallados en dicha sección.

### **5.2.1. Planta Piloto Solar**

Todos los experimentos fueron llevados a cabo con luz solar en una planta piloto solar que se ha descrito con detalle en las secciones 2.1.1 y 2.1.2 de esta memoria. El procedimiento experimental que se ha seguido en todas las experiencias ha sido desarrollado ampliamente en la sección 2.1.4. Todos los cálculos cinéticos realizados están basados en lo descrito en la sección 3.3.1, ya que en la planta piloto se ha operado de igual forma que en dicha sección y las muestras han sido recogidas en la “toma de muestras” que aparece en la figura 3.3.2.

### **5.2.2. Evaluación de la Radiación Solar UV**

Para medir la radiación solar UV se ha utilizado un radiómetro (KIPP&ZONEN, modelo CUV3), que se ha descrito con detalle en la sección 2.1.5. En dicha sección se detalla también, como a partir de estos datos de radiación se calcula el tiempo de iluminación  $t_{30W}$ , parámetro necesario para la correcta interpretación de los resultados y utilizado en las representaciones gráficas de los mismos.

### **5.2.3. Reactivos**

Para la realización de las experiencias se ha utilizado diurón producto técnico, que tiene una pureza del 98.5 % y que ha sido suministrado por Aragonesas Agro S.A. (Madrid, España). Los experimentos han sido realizados con una concentración inicial de diurón próxima a su límite de solubilidad. Para ello, se ha preparado una disolución saturada de diurón utilizando un tanque de 200 L perfectamente agitado y suficiente cantidad de diurón sólido. Cuando se alcanza el límite de solubilidad, el agua con el plaguicida disuelto y sin restos de sólidos (retirados por filtración) se trasvasa a la planta piloto. El agua y los reactivos utilizados para la realización de los experimentos fotocatalíticos tanto con  $TiO_2$  como con foto-Fenton han sido descritos con detalle en la sección 2.1.3.

Se ha utilizado un estándar cromatográfico de diurón suministrado por "Dr. Ehrenstorfer GmbH" (Augsburgo, Alemania) para su calibración y posterior cuantificación mediante HPLC-UV. Todos los disolventes orgánicos y sales inorgánicas utilizadas en HPLC-UV y LC-IC son de calidad analítica.

#### 5.2.4. Determinaciones Analíticas

LC-IT-MS: El análisis de los PDs ha sido llevado a cabo mediante LC-MS con un analizador de trampa de iones (IT) (Agilent Series 1100 MSD G2445A), y equipado con las interfaces de electrospray (ES) e ionización química a presión atmosférica (APCI), y cuyo procedimiento experimental se detalla en la sección 2.3.4. El sistema de calibración ha sido realizado con el programa de control MSD.

La polaridad de la ionización con ES se ha utilizado en modo positivo y las condiciones fueron las siguientes: presión del nebulizador de 50 psig, caudal de gas de secado de 10 mL min<sup>-1</sup>, temperatura de gas de secado de 325 °C y voltaje del capilar de 3500 V. El modo ionización positiva también ha sido utilizado con la interfase APCI. Los parámetros para el modo positivo APCI fueron: temperatura de vaporizador de 275 °C, intensidad de la corona de descarga de 4 mA, caudal de gas de secado de 10 ml min<sup>-1</sup>, presión del nebulizador de 50 psig, temperatura de gas de secado de 325 °C y voltaje del capilar de 3500 V. Para obtener información sobre la estructura de diurón y sus PDs se utilizaron distintos voltajes en el fragmentador (60, 90y 120 V), para de este modo producir distinta fragmentación de las moléculas y así obtener distintas masas de los iones. Para obtener más fragmentación e información más detallada de las posibles estructuras se ha utilizado MS<sup>n</sup>.

La columna utilizada para la separación cromatográfica es una XTerra MS C<sub>8</sub> (100 x 2.1 mm – 3.5 µm) suministrada por Waters (Milford, MA, U.S.A.). Como fase móvil se ha usado un gradiente de elución, que consiste en un gradiente binario de A = una mezcla formada por formiato amónico 50 mM con un 5 % de acetonitrilo y acidificado con ácido fórmico a pH 3.5 y B = acetonitrilo, que sigue la siguiente secuencia: gradiente lineal desde un 10 % a un 50 % de B en 10 min, a continuación 100 % B en 10 min, finalmente se mantiene durante 1 min al 100 % acetonitrilo y la fase móvil se vuelve a las condiciones iniciales. El caudal se mantiene a 0.25 mL min<sup>-1</sup> y la elución de las muestras se monitoriza mediante espectrofotometría UV-Vis a 254 nm.

HPLC-UV: Metomilo fue analizado utilizando la cromatografía líquida de alta resolución mediante: HPLC-UV (Agilent Technology Serie 1100) a 254 nm, cuyo procedimiento experimental puede verse con detalle en la sección 2.2.2. La fase móvil utilizada fue del 40 % de H<sub>2</sub>O y un 60 % de acetonitrilo. La columna utilizada para la separación cromatográfica fue una columna C-18 (Luna, Phenomenex) de 5 micras de tamaño de partículas, y unas dimensiones de 3 x 150 milímetros. El flujo de la fase móvil fue de 0.5 mL/min. Fueron preparadas disoluciones estándares de diurón en agua en un rango de concentraciones de 0.1 a 50 mg/L, para la realización de una recta de calibrado con la que se realizará su cuantificación. Bajo estas condiciones el límite de detección de diurón es de 0.02 mg/L y el límite de cuantificación de 0.1 mg/L.

LC-IC: : La formación de aniones inorgánicos y ácidos orgánicos de bajo peso molecular fue seguida mediante cromatografía iónica con detector de conductividad (Dionex-120) y cuyos procedimientos experimentales pueden verse con detalle en las secciones 2.2.3 y 2.2.4, respectivamente.

El método espectrofotométrico Nessler, comentado con detalle en la sección 2.2.5, fue aplicado para la determinación de amonio.

TOC: La mineralización lograda en cada momento de las experiencias se mide mediante el análisis del Carbono Orgánico Total. Este fue llevado a cabo mediante inyección directa de las muestras previamente filtradas en un analizador de carbono orgánico total (Shimadzu-5050A) y cuyo procedimiento experimental se detalla en la sección 2.2.1. Este equipo se calibrada con disoluciones estándares de ftalato ácido de potasio preparados en agua ultrapura procedente de un sistema Milli-Q.

Toxicidad: La evaluación de la toxicidad aguda fue llevada a cabo mediante el estudio de la movilidad de *Daphnia Magna* y el crecimiento de las microalgas *Selenastrum Capricornotum*, organismos pertenecientes a dos estados taxonómicos diferentes del medio acuático. Para los bioensayos de *Daphnia Magna* y *Selenastrum Capricornotum*, las muestras se prepararon mediante la dilución de las mismas en cada medio de cultivo específico. La reproducibilidad media de la respuesta de los bioensayos (EC<sub>50</sub>) fue evaluada en un 26 % y 25 % para Algaltokit y Daphtokit, respectivamente. Se evaluaron realizando seis replicas de las medidas utilizando la misma solución tóxica y el mismo organismo de ensayo en diferentes días.

- ***Daphnnia Magna***: Para el estudio con *Daphnnia Magna* de la toxicidad de diurón y sus PDs, las larvas latentes de estos organismos (efípias) procedentes de un kit comercial (Toxkit Daphtoxkit) fueron incubadas en el laboratorio siguiendo el procedimiento experimental descrito en la sección 2.4.1. Los estudios de toxicidad se realizaron de acuerdo con las condiciones de ensayo descritas por la guía de la OECD [OECD, 1995a] y por la norma ISO 6341.
- ***Selenastrum Capriconotum***: El ensayo de inhibición del crecimiento de las algas se ha llevado a cabo utilizando la microalga verde de agua dulce *Selenastrum Capriconotum*, según las indicaciones de OEDC [OECD, 1995b], y utilizando el test comercial Toxkit Algaltoxkit, que utiliza lechos de microalga movilizada a partir de una matriz inerte. Su procedimiento experimental puede verse en la sección 2.4.3.

### 5.3. DISCUSION Y RESULTADOS

Es necesario comentar que los resultados mostrados en este capítulo son únicamente un resumen de la experimentación llevada a cabo. En todos los casos los experimentos se han repetido al menos una vez, con el fin de poner a punto las técnicas analíticas y demostrar la repetitividad de los resultados. Únicamente aquellos experimentos que han llevado a resultados concluyentes y/o interesantes son recogidos en este capítulo.

Todos los ensayos fueron realizados a las máximas concentraciones de diurón (alrededor de 22 mg/L) alcanzadas al disolverlo en agua a una temperatura de alrededor de 10°C (temperatura ambiente en la Plataforma Solar de Almería en Noviembre). La intención ha sido la de alcanzar la máxima concentración inicial del plaguicida y así poder estar en el 100 % de inhibición en los bioensayos de toxicidad aplicados y poder evaluar los intermedios de degradación que se generan durante los procesos fotocatalíticos. Varios experimentos en blanco, a las mismas concentraciones iniciales de los experimentos fotocatalíticos, fueron realizados para poder garantizar que los resultados obtenidos durante los ensayos fotocatalíticos son debidos a los mismos y no a efectos de hidrólisis y/o fotólisis.

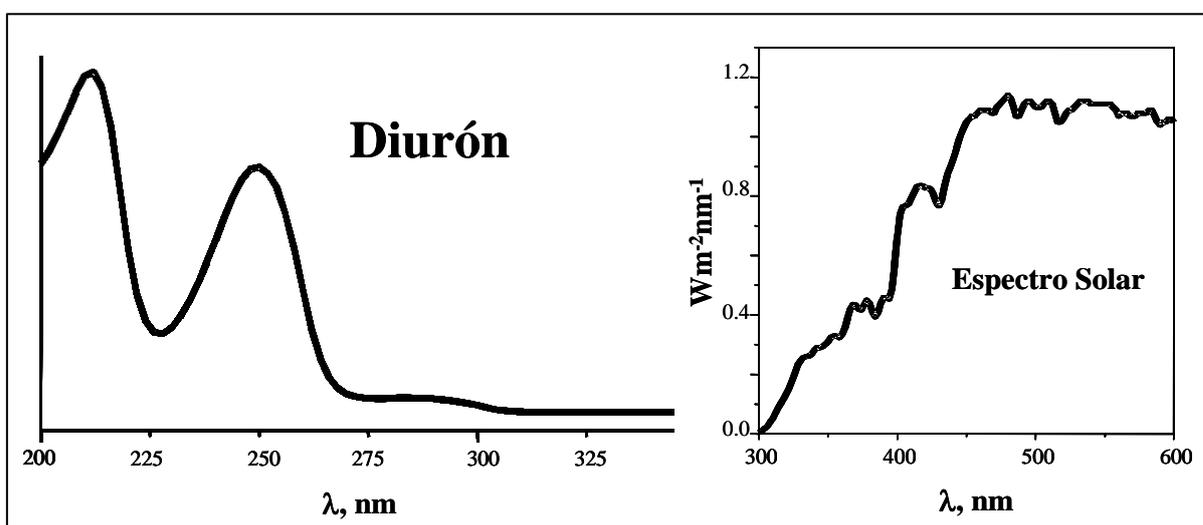


Figura 5.3.1. Comparación del espectro de absorción del metomilo (izquierda) y el espectro UV solar (derecha).

Los experimentos de hidrólisis fueron realizados a pH 2.7, 5, 7 y 9, seleccionados por ser valores de pH que normalmente se suelen producir durante los experimentos

fotocatalíticos. En ningún caso fue detectado efecto de hidrólisis después de 72 horas. En las experiencias de fotólisis, los resultados obtenidos con iluminación solar (sin catalizador) indican que la degradación fue siempre baja (44 % de degradación de diurón después de 48 horas de iluminación, 0 % desaparición del TOC) comparándolos con los de los tratamientos fotocatalíticos (ver figura 5.3.2). El espectro del diurón y el espectro UV solar se solapan ligeramente en la región entre 300 y 330 nm, de modo que la absorción de los fotones solares puede producir fotoalteración de diurón después de su exposición al medioambiente, pero nunca ocurre su mineralización como se ha comentado anteriormente. Por lo tanto el vertido de diurón en la naturaleza podría ser muy peligroso, ya que es posible la formación de PDs de comportamiento medioambiental y toxicidad desconocidos.

### 5.3.1. Degradación y Mineralización de Diurón

Este plaguicida ha sido degradado con éxito en los dos procedimientos fotocatalíticos (ver figura 5.3.2). La reacción de Fenton en la “oscuridad” ha producido una pequeña mineralización del diurón antes de la iluminación. Sin embargo, la mineralización completa del mismo, es decir la desaparición de TOC, solo puede obtenerse después del periodo de irradiación. Esta desaparición en la oscuridad de los compuestos originales mediante Fenton ha sido descrita por numerosos autores, pero en este caso, es muy pequeña debido a la pequeña cantidad de  $\text{Fe}^{2+}$  utilizada (0.05 mM), que es convertida rápidamente (menos de 10 minutos) a  $\text{Fe}^{3+}$  por el peróxido de hidrogeno. La desaparición total de diurón fue obtenida a los 45 min de iluminación ( $t_{30w}$ ) con foto-Fenton y aproximadamente en el mismo tiempo con  $\text{TiO}_2$ . La desaparición fotocatalítica de diurón con  $\text{TiO}_2$  ha seguido cinéticas aparentes de primer orden como es habitual en fotocatalisis heterogénea para otros contaminantes [Herrmann, 1999a] cuando la concentración inicial es lo suficientemente baja y por tanto no ocurre saturación de catalizador. Hay que resaltar que diurón se descompone dando lugar a PDs, que podrían también ser competitivos en la superficie de  $\text{TiO}_2$  y que su concentración va variando a lo largo de la reacción hasta su mineralización. Esto se confirma por el comportamiento lineal de  $\ln(C_0/C)$  en función de  $t_{30w}$ , lo que tiene como resultado una constante  $k_{ap} = 0.092 \text{ min}^{-1}$  en el tratamiento con  $\text{TiO}_2$ . Estos cálculos cinéticos, como ya se ha comentado anteriormente han sido realizados siguiendo el razonamiento detallado en la sección 3.3.1.

De igual forma, se ha observado un comportamiento similar con el tratamiento de foto-Fenton, si se utiliza para el cálculo cinético una  $C_0$  que corresponde a la concentración de diurón al principio de la iluminación y no se tiene en cuenta la reacción en la oscuridad. Esto también se ha confirmado por el comportamiento lineal de  $\ln(C_0/C)$  en función de  $t_{30w}$  (ver sección 3.3.1). De este modo, se ha podido calcular una constante  $k'_{ap} = 0.20 \text{ min}^{-1}$ , correspondiente al tratamiento fotocatalítico con foto-Fenton.

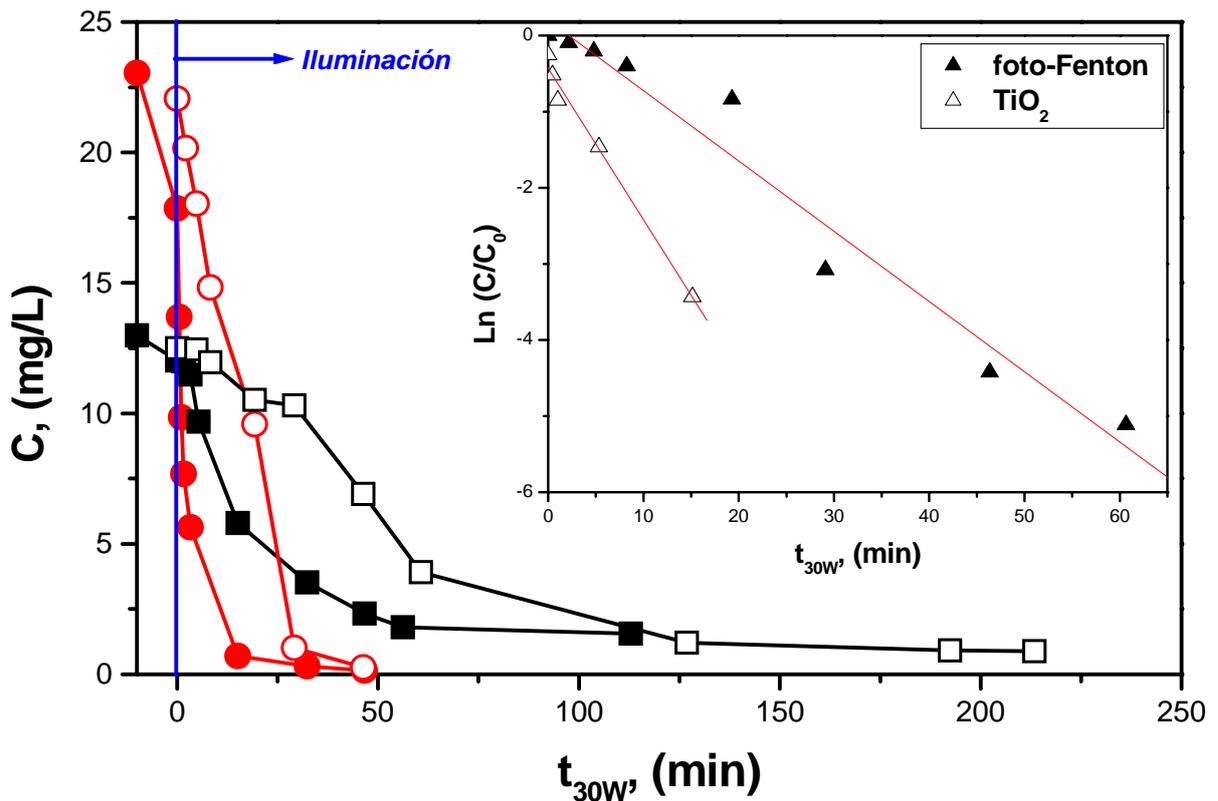


Figura 5.3.2. Desaparición de diurón (● y ○) y evolución del TOC (■ y □) en función de  $t_{30w}$  (tiempo de iluminación).  $\text{TiO}_2$ : Símbolos abiertos. Foto-Fenton: Símbolos sólidos. En la figura insertada se muestra el ajuste de los datos a una cinética de orden 1.

Debemos resaltar que, siendo la constante cinética de primer orden en el caso de foto-Fenton mayor que la de  $\text{TiO}_2$ , la desaparición total de diurón ( $< 0.02 \text{ mg/L}$ ) se alcanza aproximadamente a los 45 min en los dos casos. Este resultado está basado en la principal diferencia entre  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton, que es que  $\text{TiO}_2$  es un catalizador sólido que está en suspensión en el agua a tratar y en foto-Fenton las especies de hierro están disueltas. La

fotocatálisis con  $\text{TiO}_2$  actúa mediante reacciones en la superficie del catalizador y, bajo estas condiciones, cuando la concentración de diurón es muy baja, la pre-adsorción de diurón en la superficie del catalizador antes de la reacción con los radicales  $\cdot\text{OH}$  facilita el ataque de los radicales. Por el contrario, en foto-Fenton al estar el hierro en fase homogénea, cuando la concentración de diurón es muy baja al final del tratamiento, la velocidad de reacción disminuye más que con  $\text{TiO}_2$ . Este efecto ha sido tan pronunciado debido a la baja concentración de hierro utilizado en las experiencias con foto-Fenton (0.05 mM Fe).

Este efecto también es observado en el TOC (ver figura 5.3.2). La desaparición de TOC es más rápida con foto-Fenton que con  $\text{TiO}_2$  al principio del tratamiento y la situación es a la inversa al final. Por lo tanto, el tiempo de irradiación necesario es similar en los dos casos para alcanzar una mineralización del 90 % de diurón. En las experiencias con foto-Fenton, durante el periodo de Fenton en la oscuridad y los 4 primeros minutos de iluminación, no se aprecia una disminución apreciable en los valores de TOC inicial. Pero a partir de este momento y hasta los 30 min, la disminución de TOC es muy pronunciada, con una mineralización de más del 75 % del TOC inicial. Obsérvese que para un  $t_{30w} = 15$  min, cuando ya prácticamente no se detecta presencia de diurón, el TOC es todavía alto (5-6 mg/L), lo cual sugiere la presencia de una cantidad considerable de PDs que se generan durante el proceso de degradación. Después de 30 min, el TOC disminuye más lentamente, y al final del experimento permanece un TOC residual de 1.1 mg/L. Durante el tratamiento de foto-Fenton, diurón se degrada muy rápidamente, pero los PDs también se forman rápidamente, de forma que la mineralización tiene lugar súbitamente después de un período de inducción.

En los ensayos con  $\text{TiO}_2$ , la desaparición de TOC es mucho más lenta en los 30 primeros minutos que en el proceso foto-Fenton, pero después de este período la velocidad de reacción es mucho más alta que en foto-Fenton, alcanzando un valor residual de TOC de 1.1 mg/L en un tiempo de iluminación similar. En la figura 5.3.2 se puede observar claramente que después del periodo de inducción, la degradación de TOC mediante el tratamiento fotocatalítico con  $\text{TiO}_2$  sigue una cinética aparente de orden cero hasta que se llega al 90 % de mineralización. Este hecho es difícil de explicar, ya que la degradación de TOC es debida a una suma de reacciones que a menudo incluye distintos productos y que sufren reacciones múltiples.

### 5.3.2. Evolución de los Iones Inorgánicos y Orgánicos

La liberación de heteroátomos como iones inorgánicos en los procesos de degradación estudiados ha sido confirmada según la reacción de mineralización propuesta en la ecuación 5.3.1. Habría que resaltar que la liberación de nitrógeno se mide como una combinación de amonio y nitrato, pero como el amonio puede ser oxidado a nitrato después de largo tiempo de radiación [Bonsen *y col.*, 1997; Pramauro *y col.*, 1993] en la reacción que se propone aquí solo se contempla el estado más oxidado del nitrógeno.

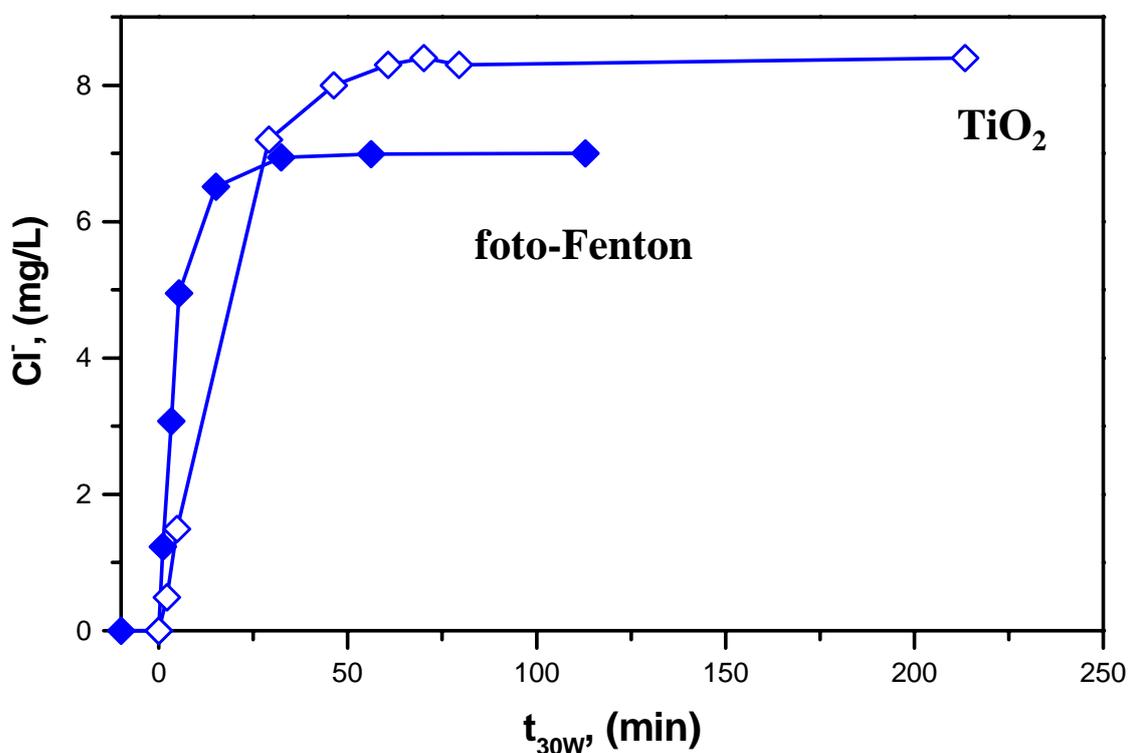
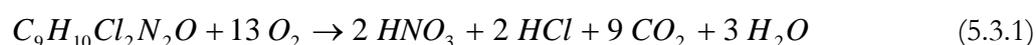


Figura 5.3.3. Evolución de cloruros durante los tratamientos con TiO<sub>2</sub> y con foto-Fenton.

El cloruro evoluciona muy rápidamente en ambos tratamientos, lo cual hace pensar en una dechloración muy rápida de diurón (ver figura 5.3.3). La cantidad total de Cl<sup>-</sup> producido al final del experimento es de 7 mg/L, que se corresponde con un 100 % de conversión del cloro contenido en el diurón a cloruro. Esto significa que el TOC residual al final del experimento no se debe a ningún compuesto clorado. Esta aparición antes de la eliminación

total de TOC del cloro estequiométrico también ha sido observada por otros autores [Muneer y col., 1998 y 1999] al degradar fotocatalíticamente diurón.

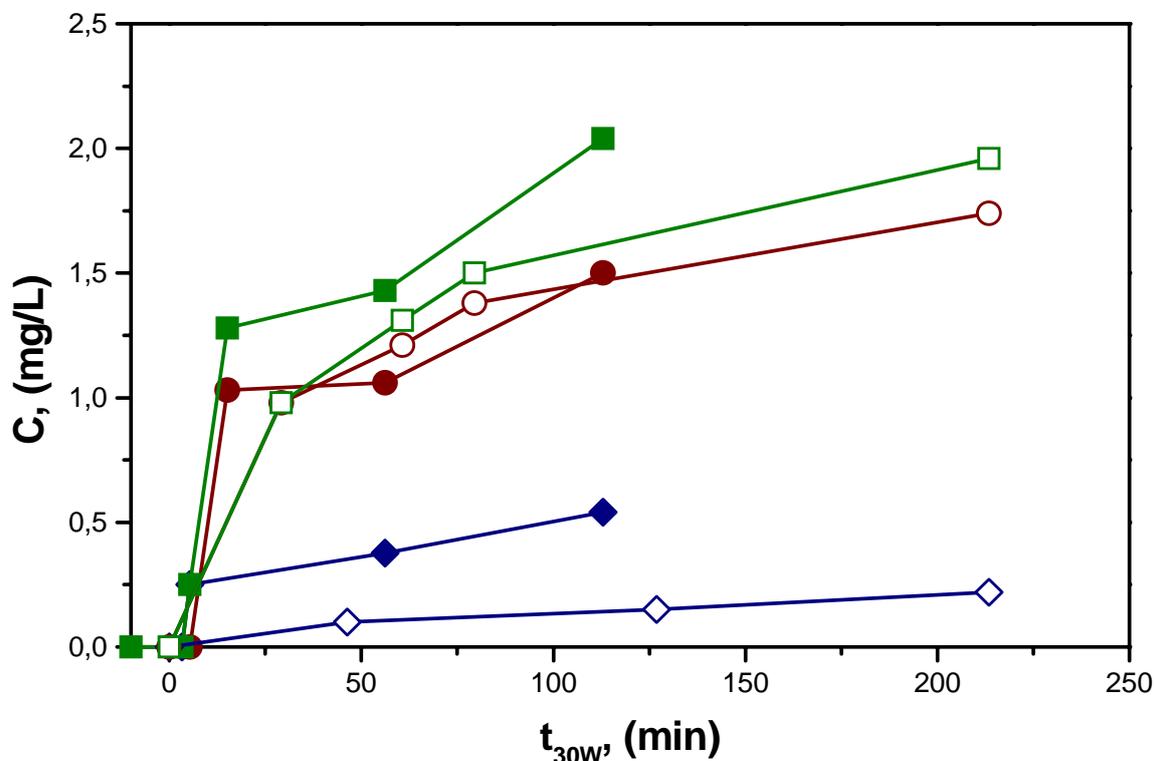


Figura 5.3.4. Evolución de los nitratos (◆ y ◇), amonio (● y ○) y balance de nitrógeno total (■ y □) durante los tratamientos con TiO<sub>2</sub> (símbolos abiertos) y con foto-Fenton (símbolos sólidos).

El balance de materia del nitrógeno del diurón es más complejo (ver figura 5.3.4). Tanto el amonio como el nitrato han sido detectados en diferentes concentraciones relativas. El contenido de nitrógeno del diurón se ha convertido principalmente en amonio, como ya ha sido descrito por otros autores [Krysova y col., 1998], pero solo el 75% del nitrógeno inicial ha sido detectado como amonio o nitrato después de 200 min de irradiación. Este balance de materia incompleto de nitrógeno es observado frecuentemente en estos procesos [Low y col., 1991; Serpone y col., 1997] e indica que otros compuestos que contienen nitrógeno deben estar presentes en la solución, aunque no sean detectados, o que se han evaporado durante el proceso. La posible presencia de nitrógeno alquílico o derivados de cianuro al final de las experiencias podrían explicar el TOC residual, pero los procedimientos analíticos aplicados a las muestras no han podido detectarlos. Además, otros autores han descrito que nitrógeno

molecular ( $N_2$ ) [Waki *y col.*, 1995] y/o hidroxilaminas [Pramauro *y col.*, 1993] pueden formarse en la degradación mediante tratamientos fotocatalíticos de compuestos que contienen nitrógeno.

En cuanto a los iones orgánicos, decir que han sido detectadas concentraciones sustanciales de oxalato, formiato y acetato en el tratamiento con foto-Fenton durante la primera fase del tratamiento (ver figura 5.3.5 izquierda) y solo formiato y oxalato con  $TiO_2$  (figura 5.3.5, derecha). En el caso de foto-Fenton, los iones orgánicos se forman y se mineralizan muy rápidamente, excepto el formiato, que permanece en una concentración de menos de 1 mg/L después de 110 min, lo cual hace ver las dificultades que tiene el método de foto-Fenton para degradar este compuesto tan rápido como acetato u oxalato.

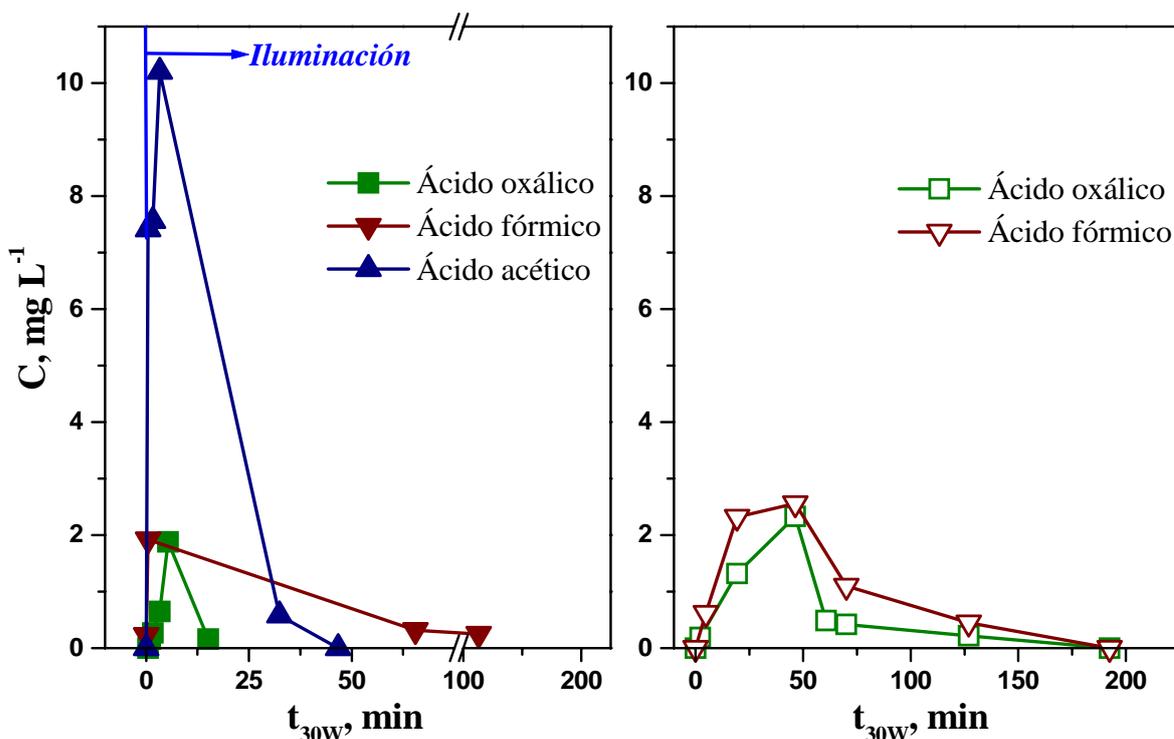


Figura 5.3.5. Evolución de ácidos orgánicos durante la degradación de diurón. Izquierda: foto-Fenton (Fe 0.05 mM). Derecha:  $TiO_2$  (200 mg/L).

Estos compuestos son la última etapa del tratamiento antes de la mineralización y se forman a partir de los principales PDs que se muestran en la figura 5.3.10, ya que se alcanza la máxima concentración de estos iones después de la desaparición de estos PDs, para ambos tratamientos. El acetato se forma y se degrada rápidamente, y su liberación podría atribuirse a la apertura de anillos aromáticos. Este comportamiento ha sido confirmado por Maurino y

col. [Maurino *y col.*, 1999] y por otros estudios concernientes a la transformación de compuestos benzoicos, con estructuras quinolónicas, incluyendo otros plaguicidas del grupo de las ureas [Vulliet *y col.*, 2002; Pramauro *y col.*, 1993]. La misma explicación podría ser válida para el oxalato. Referente al formiato, se ha demostrado que puede formarse directamente a partir de oxalato y acetato.[Franch *y col.*, 2002]. El no haber detectado acetato durante el tratamiento con TiO<sub>2</sub> puede ser atribuido a su rápida degradación a formiato. Como acetato se forma muy lentamente, debido a la lenta liberación y transformación de PDs durante el tratamiento con TiO<sub>2</sub> (ver figura 5.3.10, derecha), las pequeñas cantidades que se van generando se transforman continuamente en formiato, que es un compuesto más resistente a la mineralización. Al final del tratamiento, cuando queda poco TOC, se puede asumir que la mayor parte de éste se debe a estos ácidos carboxílicos, pero en tan baja concentración que la detección con cromatografía iónica no ha sido posible.

### 5.3.3. Evaluación de la Toxicidad

La figura 5.3.6 muestra la evolución de las curvas de toxicidad (% de inhibición) para los bioensayos realizados durante los tratamientos fotocatalíticos solares (foto-Fenton y TiO<sub>2</sub>) para la degradación de diurón. Los productos químicos añadidos al agua para la realización de las experiencias fotocatalíticas fueron eliminados de las muestras antes de la aplicación de los bioensayos de toxicidad aguda con *Daphnia Magna* y *Selenastrum Capricornotum*, y el pH de las mismas también fue neutralizado. El TiO<sub>2</sub> se elimina por filtración, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediante la adición de catalasa (ver sección 2.2.7) y el hierro por coagulación y filtración después de neutralizar las muestras. Al principio de los experimentos, la concentración inicial de diurón (22 mg/L) ha resultado tóxica, con un porcentaje de inhibición del 100 %, para ambos microorganismos. Durante ambos fototratamientos ha sido posible evaluar el EC<sub>50</sub> de los mismos, resultando ser 2 mg/L para *Daphnia Magna* y 0.2 mg/L para *Selenastrum Capricornotum*. El EC<sub>50</sub> en cada caso se determina a partir de la intersección de esta línea (concentración tóxica efectiva a la cual se produce un cambio del 50 % en el parámetro de respuesta) y los datos de inhibición obtenidos durante los tratamientos fotocatalíticos. El EC<sub>50</sub> corresponde a la concentración del plaguicida en este punto. En la literatura se ha descrito un valor del EC<sub>50</sub> para diurón de 12 mg/L para *Daphnia Magna* [Tomlin, 1997], pero es necesario remarcar que en este caso este valor para diurón es medido en presencia de los PDs generados durante los tratamientos fotocatalíticos (obsérvese que para 2 mg/L diurón, el TOC es de alrededor de 6-7 mg/L). Además, también hay que hacer hincapié en que se origina un PD muy tóxico

después de la desaparición completa de diurón (alrededor de 35 min para foto-Fenton y 75 min para  $\text{TiO}_2$ ). Este PD es detectado en un caso por el bioensayo basado en la microalga y en el otro caso por *Daphnia Magna*. También podría inferirse que son dos PDs diferentes, formados uno mediante foto-Fenton y el otro por  $\text{TiO}_2$ , o bien, un efecto sinérgico por la concentración relativa de los diferentes PDs (efecto escrito con anterioridad [Fernández-Alba y col., 2002c] en mezclas de plaguicidas). En cualquier caso, es una razón más para determinar la toxicidad por diferentes bioensayos para asegurar la inocuidad de un vertido. Este PD (o PDs) se elimina del medio después de unos minutos más de foto-tratamiento ya que la toxicidad se reduce. Es necesario remarcar que el  $\text{EC}_{50}$  descrito en la literatura para *Selenastrum Capricornotum* es de  $15 \mu\text{g/L}$  [Hartgers y col., 1998]. Por otro lado, al ser un microorganismo tan sensible, la reducción de la toxicidad por debajo del valor del  $\text{EC}_{50}$  durante el tratamiento fotocatalítico garantiza la inocuidad del TOC remanente del final de los experimentos.

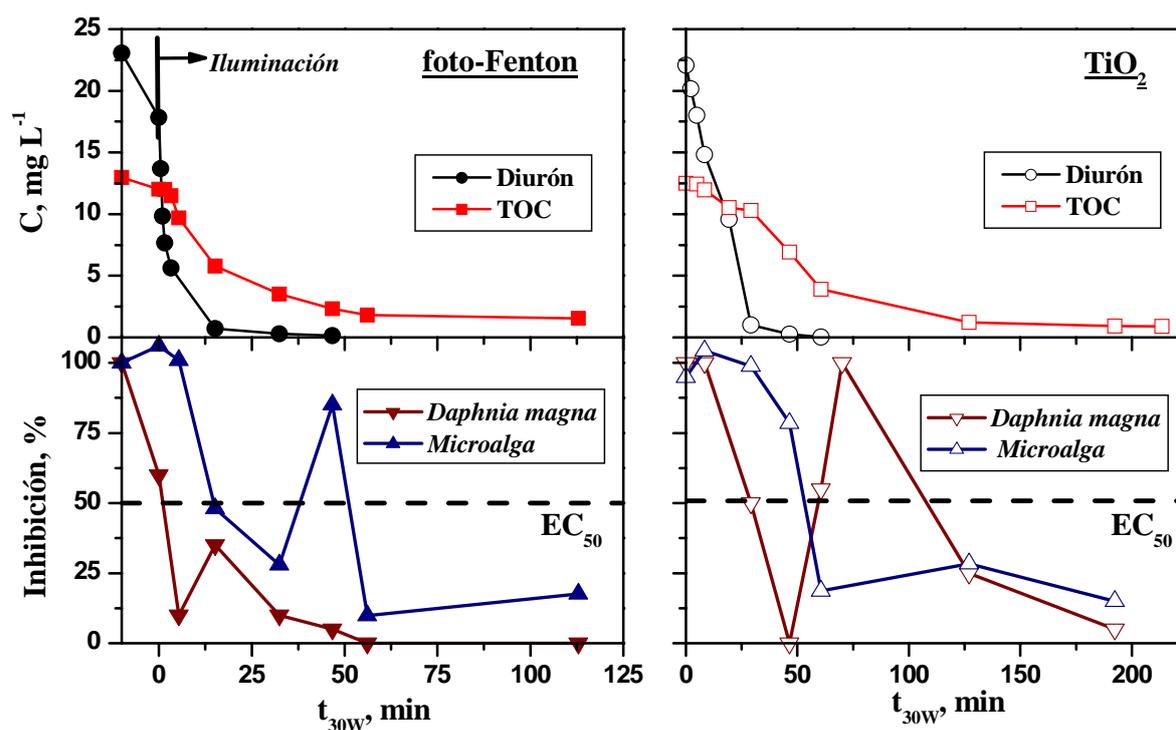


Figura 5.3.6. Degradación de diurón y TOC (arriba) y evolución de la toxicidad (abajo). Izquierda: foto-Fenton. Derecha:  $\text{TiO}_2$ .

Comparando los resultados de toxicidad y la liberación de heteroátomos mostrada en las figuras 5.3.3 y 5.3.4 se puede deducir que los PDs responsables del aumento de la toxicidad, detectada mediante *Selenastrum Capricornotum*, no son compuestos clorados, ya que

todos los cloruros han sido liberados antes de la aparición de estos compuestos. Además, si observamos la formación de los principales PDs detectados por LC-MS (ver figura 5.3.10), ninguno de estos compuestos podría ser el responsable de esta toxicidad porque ya han sido degradados antes de este punto. Es más, no se han detectado intermedios aromáticos con HPLC-DAD en dicho momento del tratamiento. También se muestra en la figura 5.3.6 que la concentración de TOC en ese momento es casi la misma (alrededor de 2.5 mg/L) en ambos casos, y también que el 50 % de este TOC es debido a la presencia en las muestras de ácidos carboxílicos de bajo peso molecular (ver figura 5.3.5). Atendiendo a todas estas consideraciones, se puede deducir que un DP desconocido y muy tóxico (alta toxicidad a muy baja concentración) se forma al final del foto-tratamiento. Esto demuestra que un control completo del proceso de degradación debe ser garantizado para demostrar la viabilidad del tratamiento mediante AOPs de un agua contaminada.

#### 5.3.4. Identificación y Cuantificación de los Productos de Degradación

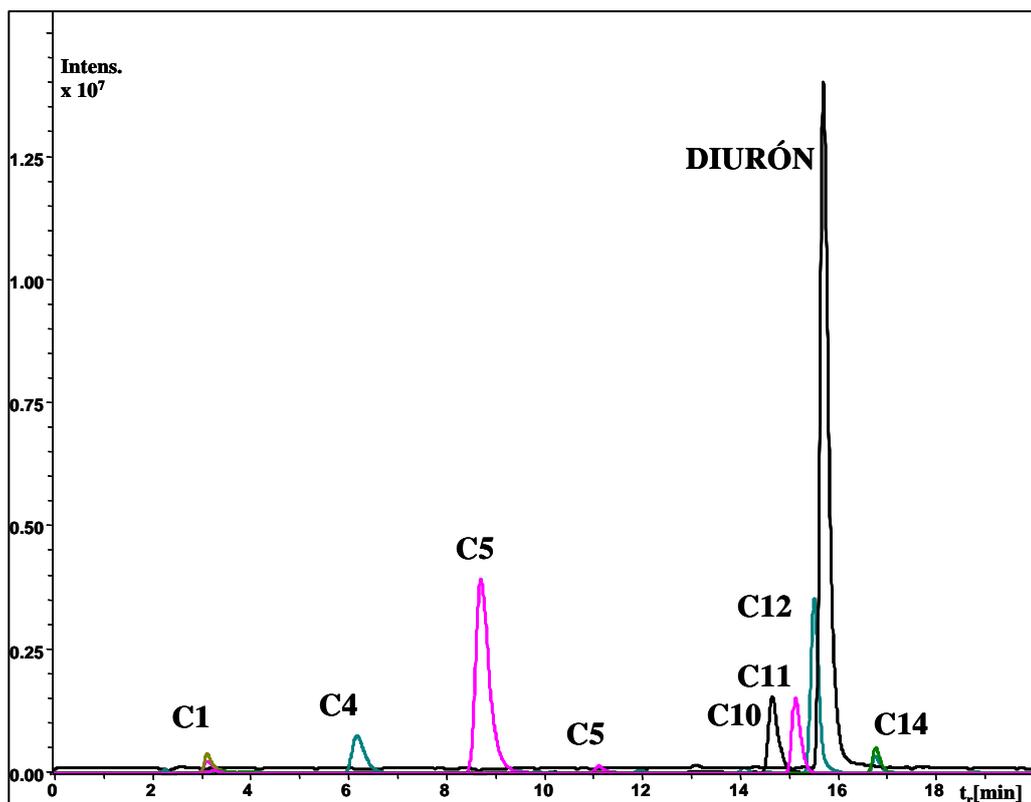


Figura 5.3.7. Cromatograma típico LC-IT-MS en modo “full-scan” obtenido a 60 V, correspondiente a una muestra de un experimento con  $\text{TiO}_2$  tomada a  $t_{30w} = 33.8$  min (ver figura 5.3.11).

Se pueden aplicar varias técnicas para la evaluación de los PDs que se generan en un proceso fotocatalítico. De entre ellas, las más efectivas están basadas en técnicas GC-MS y LC-MS [Chiron y col., 1997]. A pesar de la gran utilización de GC-MS, en la mayoría de los casos hay serios inconvenientes debido a la dificultad en la inyección directa de agua, la generación de PDs “artificiales” debido al incremento de temperatura, pérdidas de compuestos polares, etc. Muchos de estos inconvenientes pueden soslayarse mediante el uso de LC-MS, con las interfaces de ionización a presión atmosférica, API. Mediante esta técnica se aporta información rápida y detallada sobre la aparición y la evolución de los PDs formados durante los tratamientos de aguas (ver figura 5.3.7) [Peñuela y Barceló, 1998; Agüera y Fernández-Alba, 1998b; Chiron *y col.*, 2000].

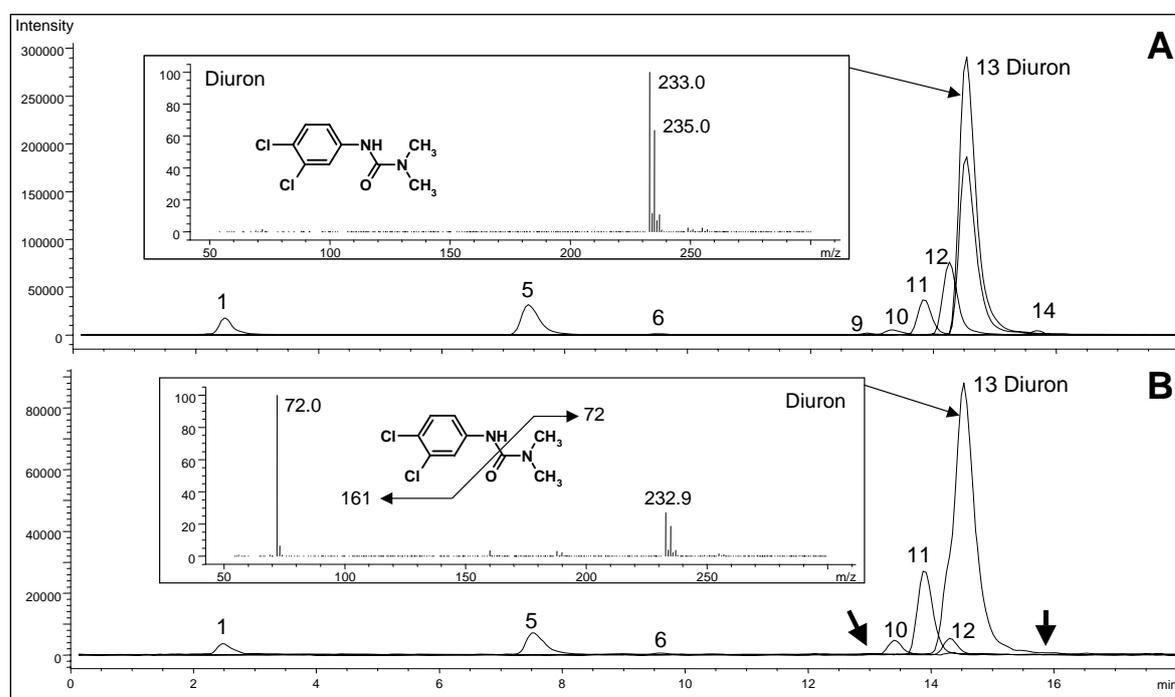


Figura 5.3.8. Muestra inicial de Diurón analizada mediante: (A) LC-IT-MS a 60 V de potencial de fragmentación y (B) LC-Q-MS a 120 V.

Sin embargo, hay varios inconvenientes todavía por resolver que surgen cuando se utilizan los sistemas LC-API-MS tales como (i) se obtiene insuficiente información estructural, (ii) hay dificultades para predecir los parámetros operacionales relacionados con la disociación inducida por colisión, CID, cuando se analizan compuestos desconocidos y (iii) la falta de librerías universales MS disponibles para estas técnicas, que posibilitan la identificación de los intermedios desconocidos. Esto significa que es necesario un esfuerzo considerable para

obtener información concluyente en cuanto a identificación de PDs. En este contexto la selección de las estrategias adecuadas LC-API-MS, como se ha intentado en este trabajo (ver figura 5.3.8), puede por lo menos superar parcialmente estos problemas. La evaluación de los PDs se ha llevado a cabo utilizando LC-ES-MS en modo “scan” mediante la inyección directa de las muestras filtradas del agua tratada. El sistema LC-MS tiene un analizador IT (ver sección 5.2.4). Las muestras de agua analizadas se han preparado siguiendo los procedimientos de muestreo descritos anteriormente. Las principales características cromatográficas y espectrales se muestran en la tabla 5.3.1.

Compuesto	Pm	LC-IT-MS (60V)	LC-Q-MS (120V)	t <sub>R</sub> (min)
<b>1</b>	88	89(100)-72(38)	-	2.9
<b>2</b>	184	185	-	2.9
<b>3</b>	220	221	-	2.9
<b>4</b>	200	201	-	6.0
<b>5</b>	214	215	72(100) 215(25)-142(16)	8.1
<b>6</b>	214	215	72(100) 215(26)-142(13)	9.9
<b>7</b>	248	249(100)-95(51)	-	11.8
<b>8</b>	248	249(100)-95(48)	-	12.6
<b>9</b>	230	231	231 <sup>b</sup>	13.0
<b>10</b>	234	235	178(100) 143(34)-161(10) 235(8)	14.4
<b>11</b>	218	219	127-161-219	13.9
<b>12</b>	248	249	72(100)-249(20)	14.1
<b>13(Diurón)</b>	232	233	72(100)-233(23)	14.5
<b>14</b>	246	247	247 <sup>b</sup>	15.7

Tabla 5.3.1. Tiempos de retención (t<sub>R</sub>, min) y características espectrales del diurón y sus principales productos de degradación (los datos de abundancia ión relativo, %, entre paréntesis). b = solo detectado a 80 V de voltaje de fragmentación.

Como se puede ver en la tabla 5.3.1, trabajando en modo “scan” la alta sensibilidad de un IT permite la detección de trece intermedios de degradación. Este hecho ha sido de gran interés ya que ha evitado procedimientos tediosos de la preparación de muestras para preconcentrar los PDs, que son típicamente necesarios con técnicas menos sensibles. También ha sido de gran ayuda su habilidad para producir iones fragmentados en “tandem”, MS<sup>n</sup>, evitando así la necesidad de trabajar a diferentes voltajes de fragmentación para obtener suficiente información estructural de cada compuesto. La capacidad del analizador IT para trabajar en “tandem”, MS-MS, y así poder producir fragmentos de “iones hijos”, supone una gran oportunidad para determinar estructuras, ya que la fragmentación resultante es altamente específica (ver tabla 5.3.2).

Compuesto	MS <sup>2</sup>				MS <sup>3</sup>			
	Masa aislamiento	Ancho aislamiento (m/z)	Amplitud (V)	Iones Fragmentados	Masa aislamiento	Ancho aislamiento (m/z)	Amplitud (V)	Iones Fragmentados
4	201	8	1.10	201(100) 144(31)	-	-	-	-
5	215	8	1.20	72(100) 215(27)	-	-	-	-
7	249	8	0.70	249(100) 72(33)	-	-	-	-
10	235	8	1.30	178(100) 180(73) 235(20)	178	6	1.20	143(100) 162(21) 178(20)
11	219	8	1.30	219(100) 161(25)	162	6	1.00	162(100) 127(64)
12	249	8	0.70	72(100) 249(46)	-	-	-	-
14	247	8	0.70	247(100) 86(24) 72(20) 162(7)	-	-	-	-

Tabla 5.3.2. Condiciones operacionales LC-ITMS/MS e iones producidos en diferentes análisis de espectrometría de masa y los productos de degradación extraídos.

Además, LC-MS/MS genera espectros de masa que están menos influenciados por el ruido de fondo de la señal. La figura 5.3.9 ilustra la mayor capacidad de LC-MS/MS para la confirmación de los intermedios desconocidos que simplemente LC-MS. El espectro “full scan” del fotoproducto con  $m/z$  de 235, aislado para un tiempo de retención de 14.4 min, podría ser asignado tanto a un compuesto hidrogenado de diurón típicamente presente en tales procesos [Mazellier y Bolte, 1998; Ramírez y Seux, 1999; Tahmasseb *y col.*, 2002; Vulliet *y col.*, 2002] o a la pérdida de un grupo de metilo combinado con la hidroxilación del alquilo o el anillo aromático. El espectro  $MS^2$  del ión 235 muestra el ión fragmentado 178, que puede asignarse a la disociación del enlace de la amida (N-C) si se produce el ataque del radical  $\bullet OH$  en el anillo aromático. Finalmente, el espectro  $MS^3$  de ión fragmentado 178 produce los iones fragmentados 161 y 143 que pueden ser asignados a la pérdida de grupos de hidroxilo y cloro del anillo aromático diclorado e hidroxilado, que a su vez posibilita la confirmación de las estructuras propuestas (ver figura 5.3.9). La pérdida de átomos de cloro se puede observar también por la reducción en la contribución del isótopo  $M+2$ . Sin embargo, esto no siempre es relevante al trabajar con LC-IT-MS debido a que puede producirse la eliminación de masa isotópica [Cox *y col.*, 1995].

De la misma forma, el pico correspondiente al compuesto 14, que tiene una masa iónica de 247  $m/z$  y un tiempo de retención de 15.7 min, podría no ser identificado adecuadamente debido a la falta de información generada y al fuerte ruido de fondo. Sin embargo, el  $MS^2$  de este ión ha dado lugar a los iones producto 86 y 162, que confirman el anillo aromático nitrogenado original 162 sin modificar, así como el fragmento 86 ( $72 + 14$ ), que puede ser fácilmente asignado a la oxidación a aldehído de un grupo metilo en la cadena N-alifática. El compuesto 1 se puede asignar a la 4-isopropilanilina como se indica en la literatura que puede ocurrir en la hidrólisis de diurón [Cullington *y col.*, 1999; Jirkovski *y col.*, 1997]. La elucidación estructural de los compuestos 1 y 2 no ha sido posible ya que son PDs con una estructura difícil de predecir mediante las reacciones típicas relacionadas con estos procesos fotocatalíticos, tales como la adición de grupos de hidroxilo, la sustitución de un átomo de cloro por un grupo hidroxilo, la eliminación de un metilo, etc. No obstante la principal ventaja de la aplicación de esta técnica es la alta sensibilidad alcanzada en modo “scan” y la posibilidad de generar grandes cantidades de iones producto específicos a partir de los iones quasi-moleculares  $[M+H]^+$ , consiguiendo al menos tres o más iones fragmentados para identificar cada PD.

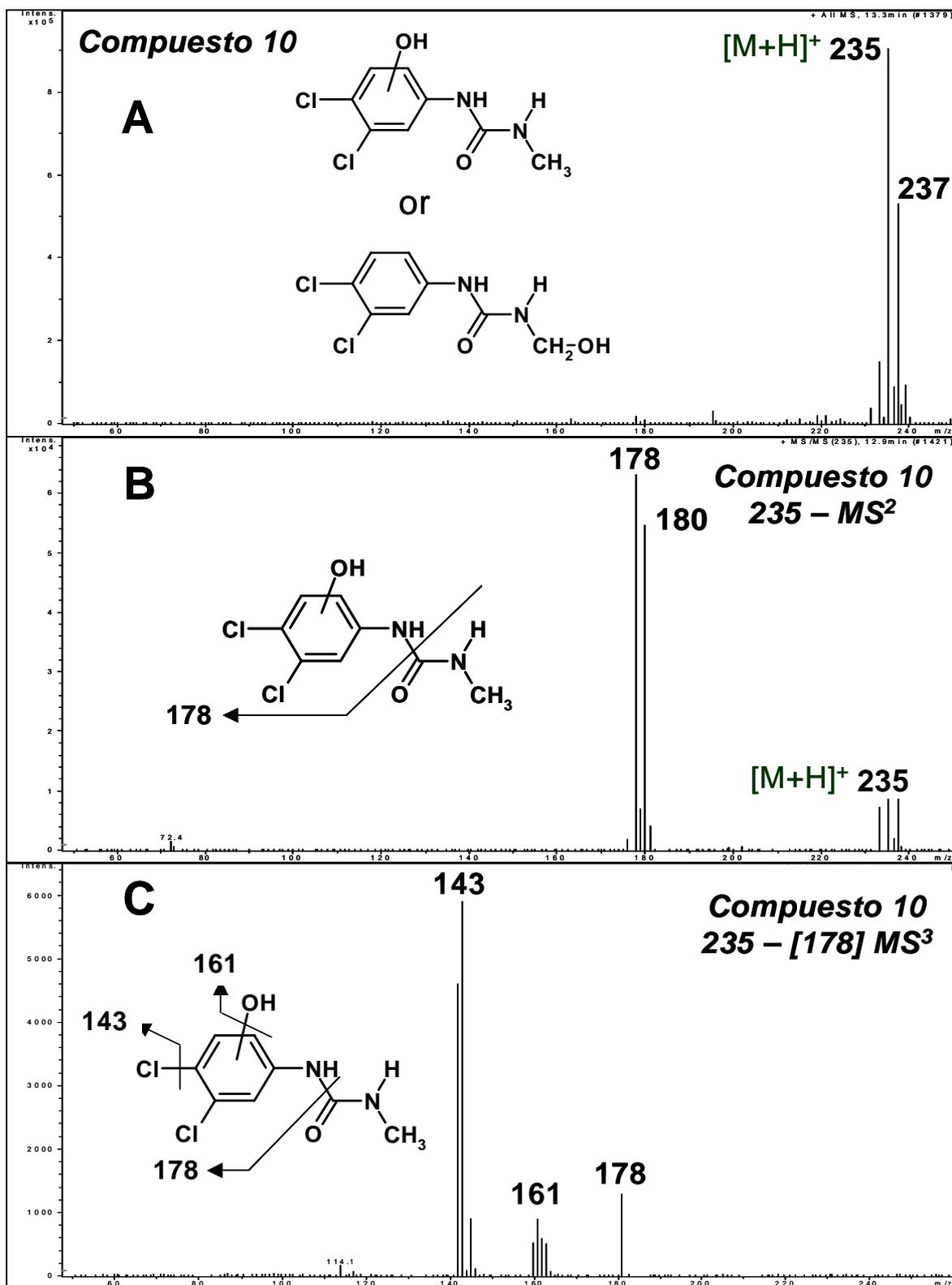


Figura 5.3.9. (A) Espectro del compuesto 10 con LC-IT-MS (tabla 5.3.2) y estructura propuesta de los iones observados.(B y C) Espectros de masa de los iones MS<sup>2</sup> y MS<sup>3</sup> procedentes del mismo compuesto, así como y las estructuras propuestas.

La figura 5.3.10 muestra la ruta de degradación propuesta para la degradación de diurón. Dicha ruta es el resultado de la racionalización de los fotoproductos identificados por LC-IT-MS/MS y no se han encontrado diferencias importantes entre los dos tratamientos fotocatalíticos aplicados. El primer paso en la ruta de degradación es iniciado por el ataque de radicales  $\bullet\text{OH}$  al anillo aromático ya las cadenas alifáticas sin dechloración. El siguiente paso implica una serie de procesos de oxidación y decarboxilación que elimina los grupos alquílicos y los átomos de cloro. El último paso implica apertura del anillo aromático mediante oxidación, dando lugar a la producción de pequeños iones orgánicos y especies inorgánicas. Esta ruta de degradación propuesta es consistente con la información obtenida de trabajos previos realizados al respecto [Jirkovski *y col.*, 1997; Mazellier *y col.*, 1997; Mazellier y Bolte, 1998; Vulliet *y col.*, 2002; Tahmasseb *y col.*, 2002; Pramauro *y col.*, 1993; Mazellier y Sulzberger, 2001]. En cualquier caso, dos de los PDs típicos (anilina y 3,4 dicloroanilina) propuestos como principales intermedios de la degradación química de diurón [Salvestrini *y col.*, 2002; Simon *y col.*, 1998] no han sido detectados, posiblemente porque se degradan fácilmente con los AOPs, como ya ha sido demostrado anteriormente [Daoxin, 1995; Sánchez *y col.*, 1997; Sauteda y Brilla, 2001], y no se encuentran en suficiente concentración como para ser detectados.

Otra cuestión de interés en estos estudios es la detección de los pasos de oxidación críticos a través del proceso, que son las reacciones que puede limitar las cinéticas de reacción. Éstas pueden estimarse considerando que todas las respuestas en el sistema LC-IT-MS (sin ninguna preconcentración) son relativamente similares y por lo tanto comparables. Es decir, los compuestos 5, 11 y 12 pueden considerarse los principales PDs del proceso como se muestra en la figura 5.3.11. Una característica común de estos tres compuestos es que son el primer ataque de los radicales  $\bullet\text{OH}$  al anillo aromático. Este efectivo ataque tiene lugar en dos lugares diferentes del compuesto original, sustitución de un átomo de cloro o adición a un anillo aromático antes (compuestos 5 y 12) y después (compuesto 11) de la decarboxilación de la cadena alifática para generar los correspondientes fenoles. Las concentraciones de los compuestos 5, 11 y 12 son muy grandes comparadas con las de otros intermedios principales detectados, pero también desaparecen muy rápidamente; siendo la concentración de todos ellos muy baja cuando el diurón ha desaparecido completamente. Estos resultados indican que estos compuestos son los principales intermedios durante la primera etapa de la degradación porque se producen en grandes cantidades, pero no son muy resistentes a la degradación.

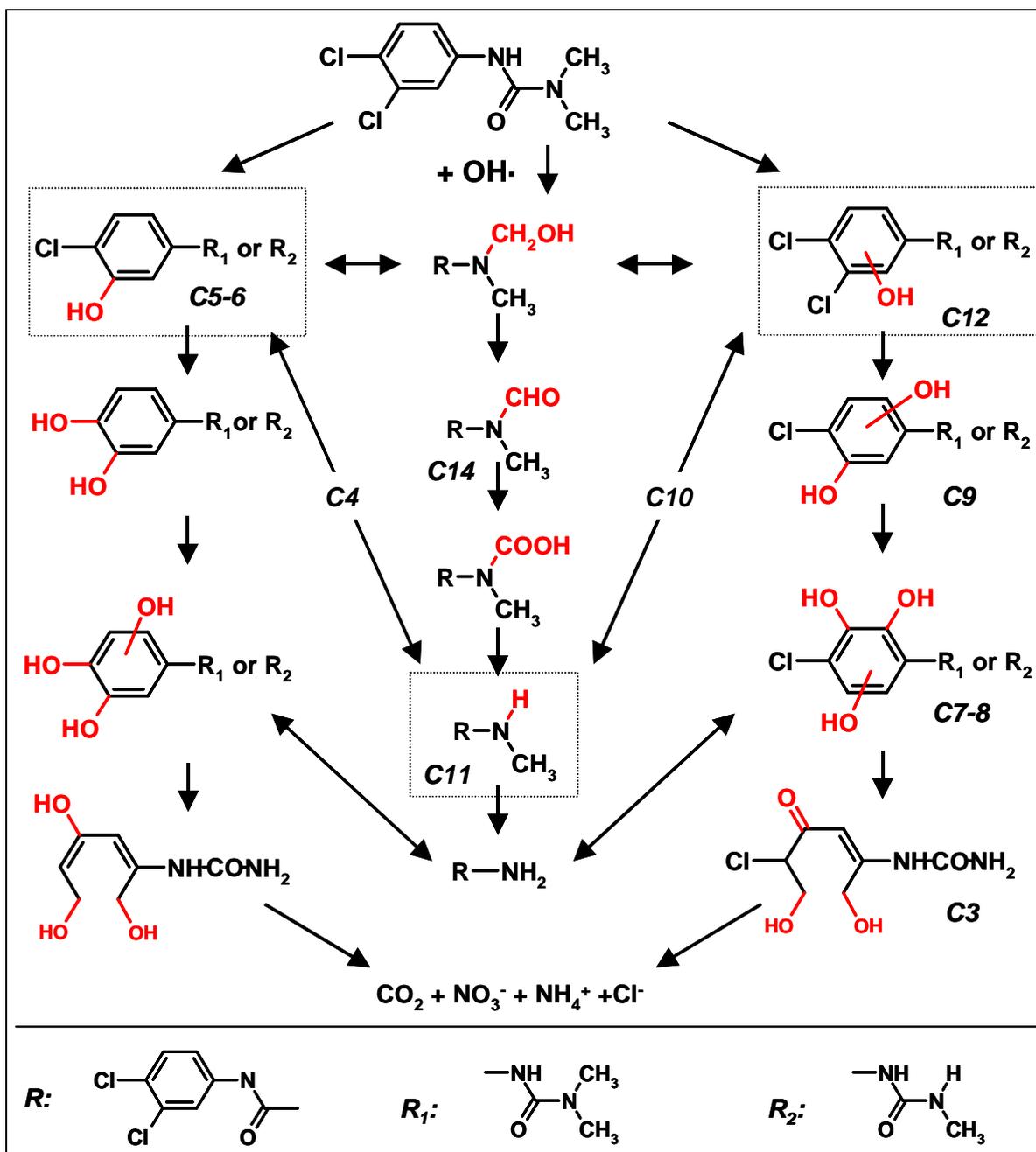


Figura 5.3.10. Ruta de degradación propuesta para la degradación de diurón por fotocatalisis solar mediante TiO<sub>2</sub> y foto-Fenton.

También merece la pena mencionar que, la desaparición de todos los PDs clorados detectados coincide con la aparición de una concentración de cloruros que se corresponde con el valor estequiométrico esperado para la concentración inicial de diurón (ver figura 5.3.3), lo cual sugiere que los PDs clorados que se forman durante estos procesos de degradación

fotocatalíticos no son “resistentes” a la degradación con dichos tratamientos. También es importante remarcar que, después de 32 minutos de tratamiento con foto-Fenton y 70 min con  $\text{TiO}_2$  (cuando aún queda un 25 % del TOC inicial) no se detecta ningún PDs además de los ácidos carboxílicos. La ruta de degradación propuesta es también congruente con la liberación de nitrógeno inorgánico que se muestra en la figura 5.3.4, donde se puede apreciar que el 50 % del nitrógeno total es obtenido muy rápidamente como amonio y nitrato al principio de ambos tratamientos (unos 10 min con foto-Fenton y 25 min con  $\text{TiO}_2$ ), debido a la mineralización del grupo N-dimetilo. Al mismo tiempo, fue detectada una disminución de aproximadamente el 20 % del TOC (también para ambos tratamientos), lo que significa que los dos grupos metilo han sido mineralizados en ese momento.

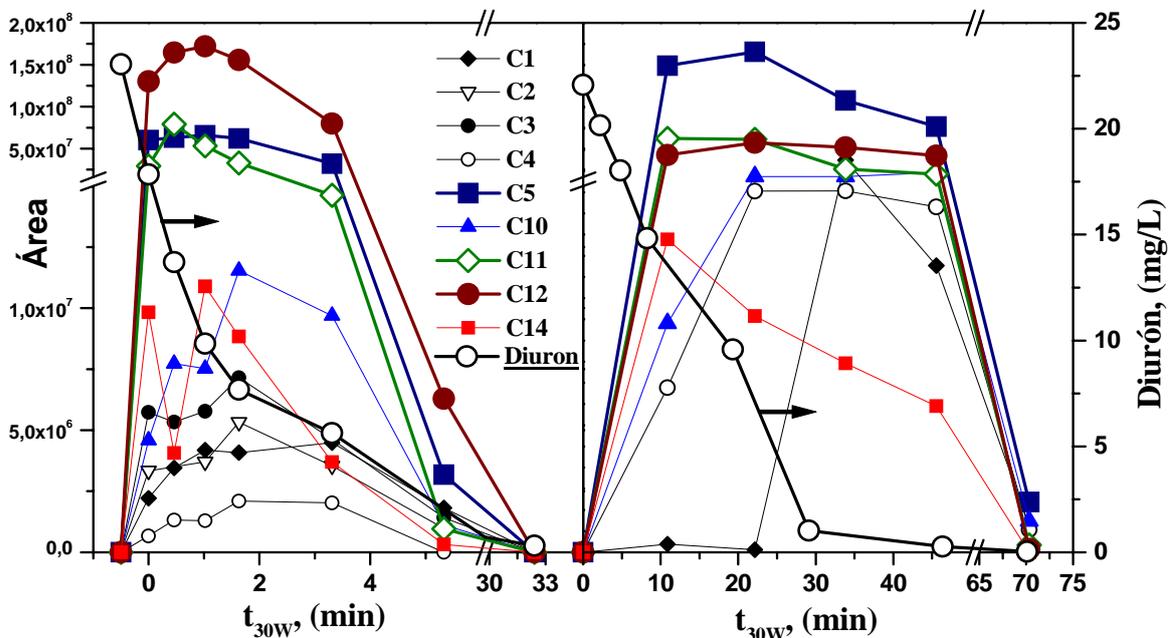


Figura 5.3.11. Evolución de los PDs obtenidos mediante LC-IT-MS durante el tratamiento fotocatalítico solar de diurón con foto-Fenton (izquierda) o  $\text{TiO}_2$  (derecha). También se muestra la degradación de Diurón.

A partir de la ruta de degradación propuesta, también se puede concluir que ninguno de los PDs que se forman limita la cinética de la reacción, ya que éstos se oxidan fácilmente y solo los últimos pasos (la mineralización de los ácidos carboxílicos) de dicha ruta son más lentos. En cualquier caso, y para el tratamiento de aguas residuales, la mineralización completa de diurón con fotocatalisis (un tratamiento “sofisticado” y “caro”) es innecesaria en vista de

los últimos PDs detectados, ya que estos últimos podrían ser fácilmente tratados en una planta de tratamiento biológico convencional. Es necesario remarcar que, en el caso de foto-Fenton, la concentración de hierro utilizada durante el fototratamiento (0.05 mM) es suficientemente baja para permitir su vertido directamente en estas plantas [EEC, 1992].

## 5.4. CONCLUSIONES

Diurón puede descomponerse mediante fotocatalisis solar tanto con  $\text{TiO}_2$  como con foto-Fenton. Ambos tratamientos tienen una eficiencia similar no solo para la degradación de diurón, sino también para la mineralización del TOC y la reducción de la toxicidad.

A concentraciones muy bajas del contaminante o contaminantes ( $< 1 \text{ mg/L}$ ), para lograr su mineralización,  $\text{TiO}_2$  puede ser más efectivo que foto-Fenton.

Se ha demostrado que el  $\text{EC}_{50}$  (con los dos bioensayos diferentes aplicados) no está claramente por debajo del umbral de toxicidad después de la desaparición del plaguicida, ya que algunos de los metabolitos de diurón son más tóxicos que el compuesto original. En cualquier caso, los bioensayos aplicados mostraron una clara disminución en la toxicidad del agua si el tiempo de tratamiento es lo suficientemente largo.

La utilización de LC-ES-MS en modo positivo ha permitido evidenciar la ruta de degradación de diurón mediante procesos fotocatalíticos solares. El uso del analizador de trampa de iones (IT) ha resultado ser una buena herramienta en términos de número de PDs detectados y la capacidad de confirmación de estructuras utilizando los espectros de masas de los iones producto. La ruta de degradación propuesta está en concordancia con los resultados obtenidos a partir del TOC y los iones orgánicos y se ha confirmado la eficacia del tratamiento de degradación propuesto.

Así pues, los AOPs llevados a cabo con energía solar parecen ser un método eficaz para el tratamiento de plaguicidas en agua. En este estudio, se ha demostrado la viabilidad de tales procesos con radiación solar en un colector CPC. Es más, se ha tratado de demostrar que el correcto control de distintos AOPs no es un tema trivial. Por lo tanto, un análisis detallado deben incluir no solo la velocidad de desaparición de los sustratos (conteniendo distintos heteroátomos y estructuras), o un parámetro integral como el TOC, sino también aquellos de los compuestos producidos durante el proceso. Además, es siempre necesario el conocimiento de la toxicidad del agua residual, evaluada mediante distintos bioensayos.

Se ha demostrado que la combinación de métodos analíticos y toxicológicos es fundamental para garantizar la efectividad de un tratamiento de aguas.

## **6. DISCUSIÓN Y RESULTADOS IV:**

### **ESTUDIO COMPARATIVO DE LA DEGRADACIÓN FOTOCATALÍTICA DE CUATRO PLAGUICIDAS**

## 6.1. INTRODUCCIÓN

La investigación de la fotocatalisis en laboratorio se ha llevado a cabo principalmente con equipos experimentales en los que la eficiencia no es tan primordial como obtener condiciones adecuadas que permitieran un conocimiento exhaustivo de los parámetros importantes relacionados con el proceso. Generalmente, en estos dispositivos experimentales la luz UV es proporcionada por una lámpara introducida en un fotorreactor refrigerado con agua, o con simuladores solares, que son cámaras que disponen de una lámpara de Xenón (que proporciona una radiación con un espectro similar al del Sol) con la que se irradia cualquier recipiente que se introduce en dicha cámara. La radiación IR, que puede calentar las soluciones acuosas, es eliminada mediante un filtro interpuesto entre la lámpara y el reactor. Este procedimiento es correcto, pero no siempre es suficiente para deducir los parámetros correctos que permitan lograr un cambio de escala para una aplicación real. Por lo tanto, el procedimiento para conseguir parámetros que permitan un cambio de escala debe incluir la experimentación en planta piloto. El diseño de un sistema a escala piloto requiere la selección de un tipo de reactor, de un catalizador, de una configuración del campo de colectores (en serie o en paralelo), del modo de operación del sistema de tratamiento (en un solo paso o en recirculación), del caudal, del control de pH, etc. Por tanto, una planta piloto tiene que ser todo lo versátil que se pueda y dar suficiente confianza en los resultados de los experimentos que se realizan en ella [Malato *y col.*, 2002b], además de suponer un primer paso en la industrialización de la fotocatalisis.

La tecnología que se ha utilizado en esta Tesis Doctoral para el tratamiento de aguas contaminadas con plaguicidas, también podría aplicarse a otros contaminantes orgánicos peligrosos, tales como disolventes, detergentes y una amplia variedad de productos químicos industriales tóxicos y no biodegradables. Sin embargo, la eficacia del proceso puede considerarse linealmente dependiente del flujo de energía y solo el 5 % del espectro solar completo es adecuado para el ancho de banda de  $\text{TiO}_2$  y el 10-15 % (dependiendo de la concentración de hierro utilizada) para el de foto-Fenton. En una consideración realista en la que se toman en cuenta valores del rendimiento de los colectores solares (de un 75 %) y de los catalizadores [Romero *y col.*, 1999], muy pocos de los fotones solares originales son eficientemente utilizados en el proceso fotocatalítico. Desde este punto de vista, la fotocatalisis es un proceso bastante ineficaz, incluso considerándolo para una aplicación de alto valor añadido. En todo caso,  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton tienen una gran ventaja sobre los otros

AOPs, ya que utilizan la luz solar y tienen como característica principal que es una tecnología respetuosa con el medioambiente. El  $\text{TiO}_2$  y el hierro (en foto-Fenton), son catalizadores fotoestables, baratos y actúan en procesos a presión y temperatura ambiente. En principio, estos procesos incluyen catalizadores “sencillos” que trabajan en condiciones “suaves” con oxidantes baratos. Sin embargo, cuando la concentración y el número de contaminantes aumenta (como en mezclas complejas de plaguicidas), el proceso se hace más complicado y surgen problemas como cinéticas lentas, bajo foto-rendimiento y mecanismos imprevisibles, que son retos que hay que solucionar.

El tratamiento de aguas residuales industriales parece ser uno de los campos más prometedores de aplicación de la detoxificación solar, a pesar de la deficiente producción de radicales de hidroxilo y lentas cinéticas de degradación [Maurino *y col.*, 1999]. Realmente la única regla general que hay es que no existe ninguna regla, siendo cada caso real completamente diferente. Por lo tanto, siempre se requiere una investigación preliminar para optimizar la mejor opción para cada problema específico. En cuanto a los tratamientos fotocatalíticos de aguas con foto-Fenton y  $\text{TiO}_2$  la conclusión general que puede deducirse es que el tratamiento con foto-Fenton puede ser aplicado en las mismas instalaciones que se han diseñado para el tratamiento con  $\text{TiO}_2$  y que su rendimiento y aplicabilidad hay que considerarlos, también, en función de cada caso particular.

Los radicales de  $\bullet\text{OH}$  que se producen en estos tratamientos fotocatalíticos pueden iniciar una serie de reacciones que pueden originar la mineralización completa de los contaminantes. Pero, obviamente el comportamiento de estos tratamientos depende de la naturaleza de los compuestos así como de los parámetros de operación seleccionados. Los plaguicidas pueden ser destruidos con éxito mediante fotocátalisis, pero el objetivo principal de los AOPs no es solo la degradación de los compuestos originales sino que también es deseable conseguir la mineralización total de todos los compuestos generados durante los procesos. La desaparición completa del TOC y liberación completa de los heteroátomos contenidos en los compuestos tratados en forma de iones inorgánicos solo puede obtenerse después de un largo período de irradiación. Es en este aspecto donde ha querido enfocarse esta Tesis. Ya que el tratamiento fotocatalítico es poco “eficiente” y caro, es necesario optimizar todo lo posible los parámetros involucrados en el proceso para reducir los tiempos de tratamiento. Además, la aplicación de técnicas analíticas sofisticadas y test de toxicidad

debe ayudar a evaluar correctamente la inocuidad de un agua tratada y, por tanto, reducir la necesidad de mineralizar por completo los contaminantes.

La degradación fotocatalítica de contaminantes con  $\text{TiO}_2$  sigue cinéticas aparentes de primer orden cuando la concentración inicial es suficientemente baja. Los plaguicidas tratados fotocatalíticamente se descomponen originando productos de degradación que podrían también competir por la superficie del  $\text{TiO}_2$ . Su concentración varía durante la reacción hasta su mineralización y por tanto, la siguiente ecuación basada en el modelo cinético de Langmuir-Hinselwood (ver sección 1.2.2) y utilizada comúnmente para describir los procesos fotocatalíticos mediante  $\text{TiO}_2$ , podría describir estas cinéticas:

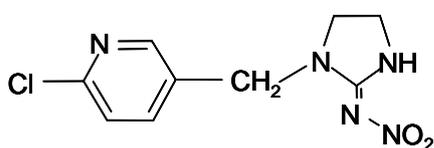
$$r = \frac{k_r KC}{1 + KC + \sum_{i=1}^n K_i C_i (i = 1, n)} \quad (6.1.1)$$

donde  $k_r$  es la constante de velocidad de reacción,  $K$  es la constante de adsorción del reactivo,  $C$  es la concentración en cualquier momento,  $K_i$  es la constante de adsorción de subproductos y  $C_i$  la concentración de subproductos en cualquier momento. Con este modelo, las cinéticas que siguen los resultados que se obtienen en los tratamientos podrían ser conocidas, pero la mineralización no sigue modelos sencillos, y las constantes de velocidad de reacción global no pueden ser calculadas. La complejidad de los resultados, por supuesto, se produce por el hecho de que el TOC es un parámetro global que a menudo incluye varios cientos de productos involucrados en un amplio abanico de reacciones.

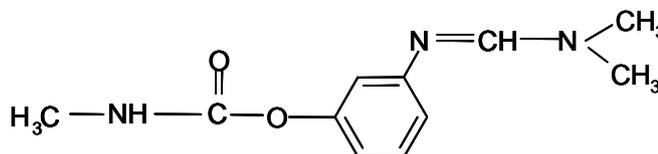
Considerando la disparidad de los resultados que normalmente se obtienen en la literatura, es posible imaginar que la experimentación con compuestos puros podría ser útil para aclarar distintas cuestiones como las rutas de degradación, los principales productos de degradación que se generan, etc., pero no para diseñar un tratamiento adecuado para aguas residuales reales.

En este capítulo se han evaluado la viabilidad técnica y el comportamiento de los dos Procesos de Oxidación Avanzada ya definidos, aplicados a la degradación de cuatro plaguicidas disueltos en agua (ver figura 6.1.1): diurón [3-(3,4-diclorofenil)-1,1-dimetilurea], imidacloprid [1-(6-cloro-3-piridilmetil)-*N*-nitroimidazolidin-2-ylideneamina], formetanate [3-

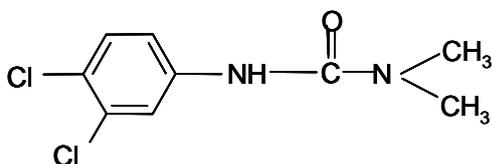
dimetilaminometilenaminofenil metilcarbamato] y metomilo [S-methyl N-(metilcarbamoiloxi) tioacetamidato]. Estos cuatro plaguicidas han sido seleccionados por las siguientes razones: tienen estructuras diferentes que son representativas de un extenso rango de plaguicidas utilizados actualmente (contienen diferentes heteroátomos y diferentes estructuras enlazadas) y son altamente solubles en agua, lo cual es de especial interés por su extremada facilidad para transportarse por el medioambiente y su amenaza seria a todas las aguas superficiales y subterráneas. En todos los casos se han calculado las constantes de velocidad de reacción de primer orden, la velocidad inicial, el tiempo necesario para la mineralización del 90 % del TOC inicial y el consumo de peróxido de hidrógeno, haciendo de esta manera posible la comparación entre ambos tratamientos y entre la reactividad de los plaguicidas seleccionados.



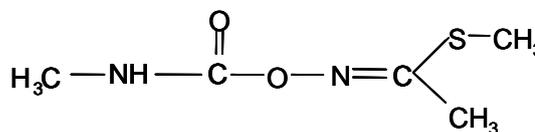
**Imidacloprid**



**Formetanato**



**Diurón**



**Metomilo**

Figura 6.1.1. Estructura de los plaguicidas estudiados

Algunas características [Tomlin, 1997] que hacen interesante el estudio de estos cuatro plaguicidas, son:

- Imidacloprid es clasificado por la EPA (ver tabla 6.1.2) y por la OMS (ver tabla 6.1.1) como tipo II, lo cual significa que es un plaguicida tóxico y moderadamente peligroso, y también es muy soluble en agua (0.61 g/L, 25 °C) (ver más detalles en la sección 3.1). Además es de uso común en la agricultura intensiva almeriense.
- Metomilo ha sido clasificado por la OMS y por la EPA (ver tablas 6.1.1 y 6.1.2) como tipo I, lo cual se traduce en que es considerado un plaguicida muy tóxico y peligroso, y

además es altamente soluble en agua (57.9 g/L). También posee una baja adsorción y afinidad por el suelo lo cual significa que puede ocasionar contaminación en las aguas subterráneas de zonas agrícolas [Barceló y col., 1996; Strathmann y Stone, 2001] (ver más detalles en sección 4.1). Además es de uso común en la agricultura intensiva almeriense.

- Diurón es un plaguicida considerado por la EPA (ver tabla 6.1.2) de tipo III, lo cual significa que es tóxico y ligeramente peligroso, está considerado un PHS por la EC [Comisión Europea, 2000a y 2001a], y es soluble en agua (36.4 mg/L, 25 °C). Además, es un herbicida altamente persistente con una permanencia en el suelo superior a los 300 días (ver más detalles en sección 5.1).
- Formetanato es clasificado por la OMS y por la EPA (ver tablas 6.1.1 y 6.1.2) de tipo I, lo cual se traduce en que es un plaguicida muy tóxico y altamente peligroso que también es muy soluble en agua (822 g/L, 25 °C). Pertenece a la familia de los plaguicidas carbamatos, para alguno de los cuales ya se ha descrito su aplicación en tratamientos con TiO<sub>2</sub> y foto-Fenton [Bianco Prevot y col., 1999; Blanco y col., 1999; Chiron y col., 1996; Climent, 1996; Galadi y col., 1996; Hasegawa y col., 1998; Lu y col., 1999; Malato y col., 2000a; Marinas y col., 2001; Tanaka y col., 1999]. Este acaricida e insecticida actúa por contacto e ingestión. Formetanato es usado en su forma hidrociorada para el control de los ácaros de la araña y algunos insectos como los dípteros, hemípteros, lepidópteros, tisanópteros, especialmente *T. Occidentalis*, en plantas ornamentales, girasoles [Hu y col., 1996], fruta con hueso [Ong y col., 1996; Day y col., 1995], cítricos [Grout y col., 1997], vegetales [Filgus y col., 1999] y alfalfa. Han sido realizados varios estudios de toxicidad en relación con su carácter inhibitorio de la acetilcolinesterasa [Ferrari y col., 1993; Pree y col., 1992 y 2000; Escuriola y col., 1999]. Además es un plaguicida de uso común en la agricultura intensiva almeriense.

La detoxificación de aguas residuales es hoy en día la mejor aplicación de fotones solares de la fotoquímica, con varias instalaciones importantes en funcionamiento [Malato y col., 2002b]. La primera planta fotocatalítica solar con tecnología de colectores cilindro parabólicos compuestos (CPCs) europea a escala industrial ha sido construida recientemente con componentes comerciales en Madrid. Con ello, se ha demostrado que la tecnología fotocatalítica solar está suficientemente desarrollada para su uso industrial [Funken y col., 2001; Malato y col., 2002a]. En este contexto, el alcance de este capítulo es demostrar que la

tecnología solar desarrollada es capaz de degradar distintos compuestos peligrosos tanto con foto-Fenton como  $\text{TiO}_2$ . Además, se presenta un pre-diseño de planta de tratamiento para cada uno de ellos, basándose en los resultados experimentales.

LD <sub>50</sub> para la rata (mg/kg)					
	Clase	Oral		Dérmico	
		Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Extremadamente Peligroso	Ia	≤ 5	≤ 20	≤ 10	≤ 40
Altamente Peligroso	Ib	5 – 50	20 – 200	10 – 100	40 – 400
Medianamente Peligroso	II	50 – 500	200 – 2000	100 – 1000	400 – 4000
Ligeramente Peligroso	III	≥ 501	≥ 2001	≥ 1001	≥ 4001

Tabla 6.1.1. Clasificación de la toxicidad aguda de pesticidas según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Toxicidad aguda para la rata					
Clase	LD <sub>50</sub> oral (mg/kg)	LD <sub>50</sub> dérmico (mg/kg)	LC <sub>50</sub> inhalatoria (mg/L)	Efectos sobre los ojos	Efectos sobre la piel
I	≤ 50	≤ 200	≤ 0.2	Corrosivo; opacidad de cornea, no reversible dentro de 7 días	Corrosivo
II	50 – 500	200 – 2000	0.2 – 2.0	Opacidad de cornea, reversible dentro de 7 días; irritación persistente durante 7 días	Irritación grave después de 72 horas
III	500 – 5000	2000 – 20000	2.0 – 20	Ninguna opacidad de cornea; irritación reversible dentro de 7 días	Irritación mediana después de 72 horas
IV	≥ 5000	≥ 20000	≥ 20	Ninguna irritación	Irritación poco severa después de 72 horas

Tabla 6.1.2. Clasificación de la toxicidad aguda de pesticidas según la Agencia de Protección de Medioambiente de los Estados Unidos, (EPA).

## **6.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

Los equipos y técnicas utilizados en la realización de este estudio de investigación han sido descritos en detalle en la sección 2.2. La descripción experimental de este capítulo se restringirá a comentar aspectos no detallados en dicha sección.

### **6.2.1. Planta Piloto Solar**

Todos los experimentos fueron llevados a cabo con luz solar en una planta piloto solar que se ha descrito con detalle en las secciones 2.1.1 y 2.1.2 de esta memoria. El procedimiento experimental que se ha seguido en todas las experiencias ha sido desarrollado ampliamente en la sección 2.1.4. Todos los cálculos cinéticos realizados están basados en lo descrito en la sección 3.3.1, ya que en la planta piloto se ha operado de igual forma que allí se comenta y las muestras han sido recogidas en la “toma de muestras” que aparece en la figura 3.3.2.

Para la realización de las experiencias de fotólisis e hidrólisis se ha utilizado un recipiente de vidrio pirex que tiene una transmisividad mayor del 80 % a la radiación UV entre 320-400 nm, un diámetro interno de 15 cm y una tapadera también de pirex para evitar la evaporación y contaminación de la solución. Durante la realización de las experiencias la solución es agitada continuamente con ayuda de un agitador magnético. La temperatura máxima dentro del recipiente ha sido de 35 °C. Para la realización de los experimentos de hidrólisis estos recipientes se mantienen en la oscuridad. La planta piloto no ha sido utilizada para realizar estas experiencias para evitar el ligero efecto del TiO<sub>2</sub> depositado en los tubos del fotorreactor después de múltiples experimentos con este catalizador. La eliminación (por abrasión) de la delgada capa de catalizador que permanece en los tubos después de que una suspensión de TiO<sub>2</sub> haya circulado a través de ellos es una tarea ardua, compleja y cara debido a las dimensiones de los tubos y a las de la propia planta piloto.

### **6.2.2. Evaluación de la Radiación Solar UV**

Para medir la radiación solar UV se ha utilizado un radiómetro (KIPP&ZONEN, modelo CUV3), que se ha descrito con detalle en la sección 2.1.5. En dicha sección se detalla también, como a partir de estos datos de radiación se calcula el tiempo de iluminación  $t_{30W}$ ,

parámetro necesario para la correcta interpretación de los resultados y utilizado en las representaciones gráficas de los mismos.

### 6.2.3. Reactivos

Para la realización de las experiencias se han utilizado los productos técnicos de los plaguicidas que en cada caso se trata de: imidacloprid que tiene una pureza del 97.9 %, suministrado por Bayer Hispania S.A. (Barcelona, España), metomilo del 98 % y diurón del 98.5 %, suministrados por Aragonesas Agro S.A. (Madrid, España), y formetanato del 50 %, suministrado por Argos Shering AgrEvo, S.A. (Barcelona, España). Los experimentos han sido realizados con una concentración inicial de los plaguicidas de 50 mg/L, excepto por diurón que fue de 30 mg/L. El agua y los reactivos utilizados para la realización de los experimentos fotocatalíticos tanto con  $\text{TiO}_2$  como con foto-Fenton han sido descritos con detalle en la sección 2.1.3.

Se han utilizado estándares cromatográficos de los plaguicidas para su calibración y posterior cuantificación mediante HPLC-UV. Estos han sido suministrados por: Pestanal en el caso del imidacloprid, Riedel-deHaën (Seelze, Alemania) para metomilo y formetanato hidrociorado y Dr. Ehrenstorfer GMBH (Ausburg, Alemania) para diurón. Todos los disolventes orgánicos y sales inorgánicas utilizadas en HPLC-UV y LC-IC son de calidad analítica.

### 6.2.4. Determinaciones Analíticas

HPLC-UV: Los cuatro plaguicidas, imidacloprid, metomilo, diurón y formetanato, han sido analizados utilizando cromatografía líquida de alta resolución mediante HPLC-UV (Agilent Technology Serie 1100), cuyo procedimiento experimental puede verse con detalle en la sección 2.2.2. La composición de la fase móvil y la longitud de onda utilizadas en cada caso fueron: 80 % de  $\text{H}_2\text{O}$  a  $\text{pH} = 3$  y 20 % de acetonitrilo a 270 nm para imidacloprid, 90 % de  $\text{H}_2\text{O}$  y 10 % acetonitrilo a 234 nm para metomilo, 40 %  $\text{H}_2\text{O}$  y 60 % metanol a 254 nm para diurón, y 80 % de una disolución tampón de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  18.4 mM a  $\text{pH} 8.9$  y 20 % de acetonitrilo a 252 nm para formetanato. La columna y el flujo utilizados para la separación cromatográfica fueron en todos los casos una columna C-18 (Luna, Phenomenex) de 5 micras de tamaño de partícula, y unas dimensiones de 3 x 150 milímetros y el flujo de la fase móvil

fue de 0.5 mL/min. Para obtener las rectas de calibrado con la que se realizará la cuantificación de los plaguicidas fueron preparadas disoluciones estándares de cada uno de los plaguicidas en agua en un intervalo de concentraciones de 0.2 a 50 mg/L en todos los casos, salvo con diurón que ha sido de 0.2-30 mg/L.

LC-IC: La formación de aniones inorgánicos fue seguida mediante cromatografía iónica con detector de conductividad (Dionex-120) y cuyo procedimiento experimental pueden verse con detalle en la sección 2.2.3.

TOC: La mineralización lograda en cada momento de las experiencias se mide mediante el análisis del Carbono Orgánico Total. Este fue llevado a cabo mediante inyección directa de las muestras previamente filtradas en un analizador de carbono orgánico total (Shimadzu-5050A) y cuyo procedimiento experimental se detalla en la sección 2.2.1. Este equipo se ha calibrado con disoluciones estándares de ftalato ácido de potasio preparados en agua ultra pura procedente de un sistema Milli-Q.

El análisis del peróxido de hidrógeno, realizado para el control del consumo del mismo durante las experiencias con foto-Fenton y su correcta dosificación, ha sido llevado a cabo mediante titulación iodométrica, descrita con detalle en la sección 2.2.6.

### 6.3. DISCUSIÓN Y RESULTADOS

Es necesario comentar que los resultados mostrados en este capítulo son únicamente un resumen de la experimentación llevada a cabo. En todos los casos los experimentos se han repetido las veces que ha sido necesario, con el fin de poner a punto las técnicas analíticas y demostrar la repetitividad de los resultados. Únicamente aquellos experimentos que han llevado a resultados concluyentes y/o interesantes son recogidos en este capítulo.

Antes de comenzar con las experiencias fotocatalíticas, se realizaron varios ensayos en blanco a la misma concentración inicial que los experimentos fotocatalíticos, para asegurar que los resultados obtenidos durante dichos tratamientos son consistentes y no debidos a efectos de hidrólisis y/o de fotólisis. Los experimentos de hidrólisis fueron realizados a distintos pH pero sin repetir aquellos resultados encontrados en literatura [Tomlin, 1997]. En cualquier caso, los ensayos de hidrólisis a pH 2.7 se han realizado para todos los plaguicidas, ya que los experimentos con foto-Fenton se realizan a este valor de pH. La tabla 6.3.1 muestra los resultados obtenidos en dichas experiencias de hidrólisis. Solo se ha detectado una ligera hidrólisis a pH 2.7 en el caso de formetanato, pero después de 144 horas. Y solo formetanato se hidroliza considerablemente a valor de pH más altos. En cualquier caso, la hidrólisis es irrelevante comparada con los resultados fotocatalíticos (ver figura 6.3.2).

	pH 2.7		pH 5		pH 7		pH 8-9	
	t (h)	%	t (h)	%	t (h)	%	t (h)	%
<b>Imidacloprid</b>	36	0	36	0	-	-	36	0
<b>Metomilo</b>	20 d	0	20 d	0	-	-	-	-
<b>Diurón</b>	72	0	72	0	-	-	-	-
<b>Formetanato</b>	144	2	144	18	48	24	24	82

Tabla 6.3.1. Hidrólisis expresada en % de desaparición, de los plaguicidas seleccionados a distintos pH. (d: días).

	$t_{\text{illum.}}$	%	$t_{\text{illum.}}$	%
<b>Imidacloprid</b>	24 h	27	48 h	55
<b>Metomilo</b>	24 h	0	48 h	0
<b>Diurón</b>	24 h	20	48 h	44
<b>Formetanato</b>	24 h	10	48 h	10

Tabla 6.3.2. Fotólisis expresada en % de desaparición de los plaguicidas seleccionados.

En la tabla 6.3.2 se muestran los resultados de los experimentos de fotólisis realizados con los cuatro plaguicidas. Estos resultados obtenidos indican que la degradación espontánea de los plaguicidas debido a la iluminación solar es siempre despreciable y, de hecho, metomilo no se degrada en absoluto por fotólisis. En todos los casos, la degradación del TOC nunca se ha detectado bajo irradiación sin catalizadores. En la figura 6.3.1 se muestran los espectros de las soluciones acuosas de los cuatro plaguicidas y el espectro solar.

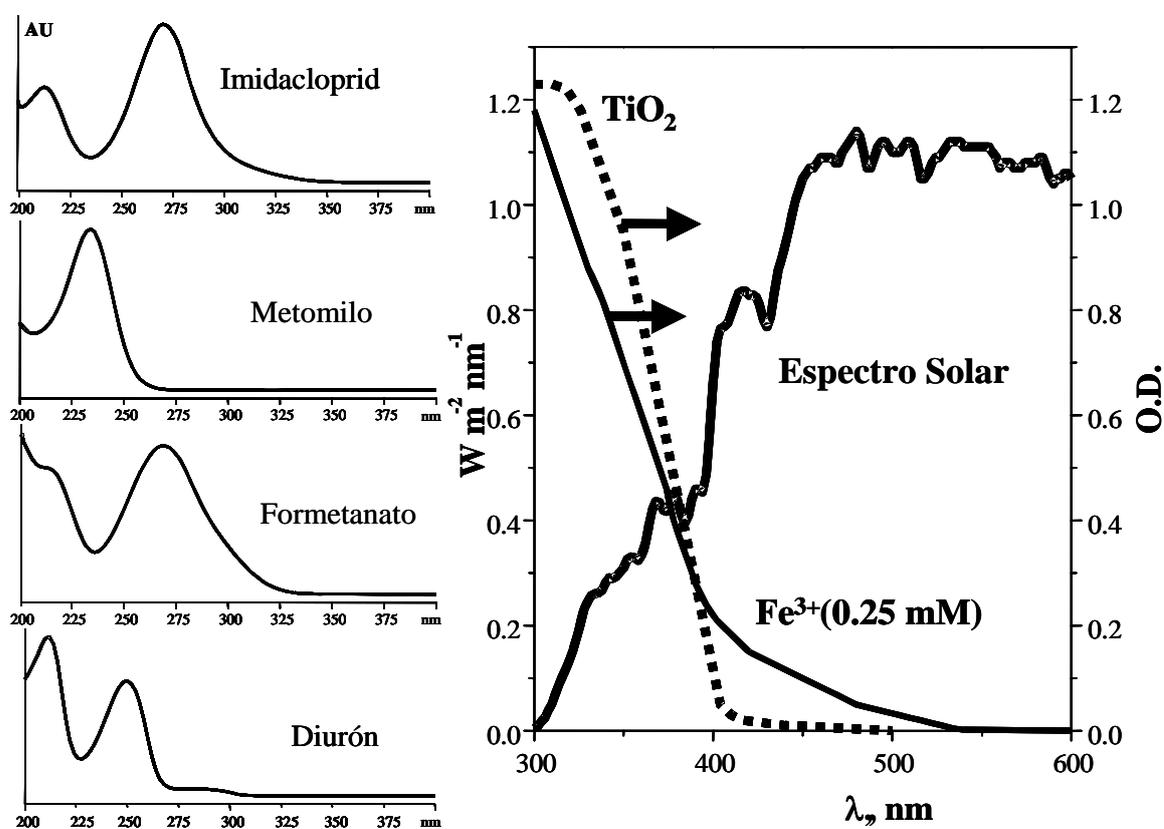


Figura 6.3.1. Espectros de absorción UV de los cuatro plaguicidas y el espectro solar.

Metomilo y el espectro UV solar no se solapan en absoluto, de forma que la incapacidad para la absorción de fotones solares por parte de metomilo impide que se produzcan procesos de fotoalteración cuando está expuesto al medioambiente. Así pues, se puede afirmar que todos los resultados obtenidos durante los ensayos en la planta piloto están relacionados con “efectos fotocatalíticos”. Sin embargo, imidacloprid, diurón y formetanato si se solapan ligeramente con el espectro UV solar (latitud 37 °N, longitud 2.4 °W) en la región 300-330 nm (ver figura 6.3.1) mostrando que la absorción de fotones solares puede producir fotoalteración después de exponerse al medioambiente. Pero esa fotodegradación natural es muy lenta bajo condiciones aeróbicas bien iluminadas (cristal transparente, 15 cm ID) y nunca tiene lugar la mineralización de dichos plaguicidas. Por ello, el efecto debe ser muy similar cuando estos plaguicidas son vertidos en aguas naturales. Por lo tanto el vertido en el medioambiente podría ser muy arriesgado. Varios autores han determinado la gran variedad de fotoproductos intermedios generados por estos plaguicidas cuando son iluminados bajo luz solar natural: diurón [Jirkovski *y col.*, 1997], imidacloprid [Agüera *y col.*, 1998; Malato *y col.*, 2001] y formetanato [Marinas *y col.*, 2001c].

### 6.3.1. Evaluación de la Degradación de los Plaguicidas

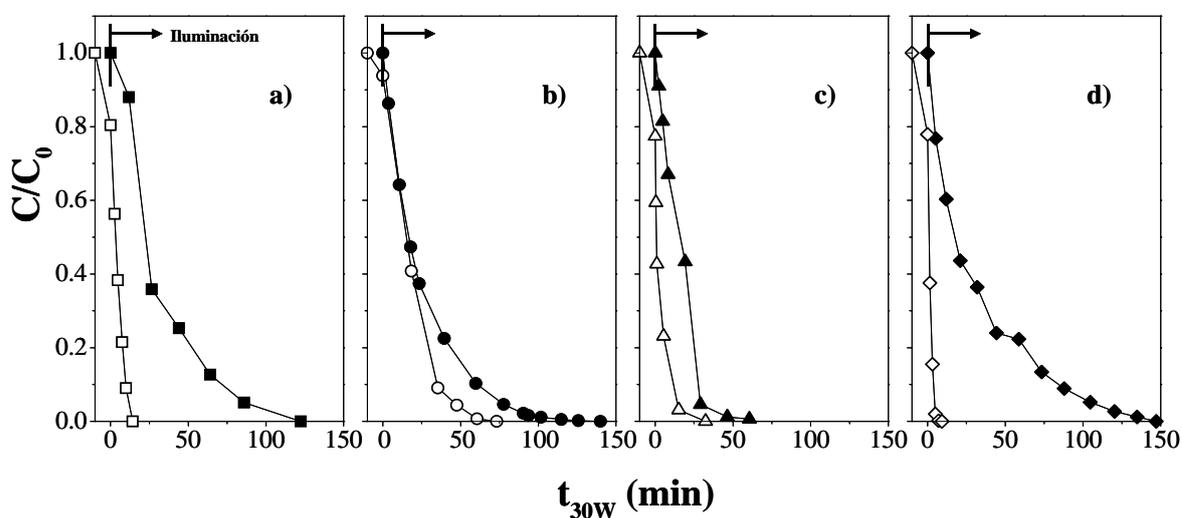


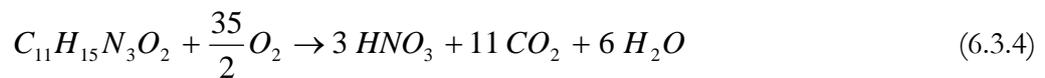
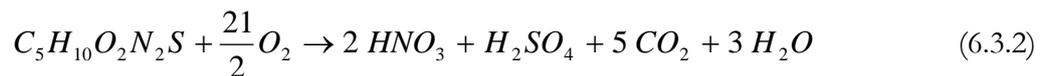
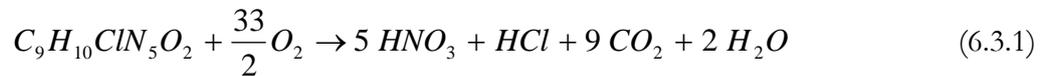
Figure 6.3.2. Desaparición de imidacloprid (a), metomilo (b), diurón (c) y formetanato (d) en función de  $t_{30w}$  (tiempo de iluminación).  $TiO_2$  (200 mg/L): Símbolos sólidos. Foto-Fenton (0.05 mM Fe): Símbolos abiertos.

En la figura 6.3.2 se muestra una evolución de los experimentos realizados con cada uno de los plaguicidas a una concentración inicial de 50 mg/L, excepto para diurón que ha sido realizado a concentración menor (30 mg/L) debido a su baja solubilidad. Pero en cualquier caso, la comparación no está afectada por este parámetro, ya que todos ellos presentan cinéticas de primer orden y pueden compararse directamente sus velocidades de degradación. Se puede observar en dicha figura que, todos los plaguicidas se degradan en un corto periodo de tiempo de iluminación (menos de 150 min) y que en todos los casos el tratamiento con foto-Fenton es más rápido que con  $\text{TiO}_2$ , lo cual será discutido en detalle más adelante.

La reacción de Fenton en la oscuridad (ver ecuación 1.2.21) siempre produce una ligera desaparición del plaguicida antes del periodo de iluminación, foto-Fenton (ver ecuación 1.2.22). Esta desaparición de plaguicida en la oscuridad ha sido descrita por multitud de autores, pero en este caso, es muy ligera debida a la pequeña cantidad de  $\text{Fe}^{2+}$  utilizada (0.05 mM) durante las experiencias, que es rápidamente convertida (menos de 10 minutos) a  $\text{Fe}^{3+}$  por el peróxido de hidrógeno. La razón para utilizar tan baja concentración de hierro fue demostrar que una pequeña cantidad del mismo es suficiente para llevar a cabo la degradación total de los plaguicidas en un tiempo razonable, y permitiendo verter las aguas después del tratamiento sin necesidad de eliminar el hierro. Este hecho puede reducir los costes del proceso fotocatalítico y facilita enormemente la operación de estas plantas de tratamiento. También puede observarse que, las velocidades de degradación de metomilo y diurón son bastante similares en ambos tratamientos, con foto-Fenton y  $\text{TiO}_2$ , mientras que la degradación de imidacloprid y formetanato es claramente más rápida en el tratamiento con foto-Fenton. El orden es el siguiente: diurón > metomilo > imidacloprid > formetanato, para los tratamientos con  $\text{TiO}_2$  y formetanato > imidacloprid > diurón > metomilo, para foto-Fenton. Excluyendo al metomilo, que es un plaguicida alifático cuyo comportamiento se explicará posteriormente (ver sección 6.3.2), el orden de velocidad de las reacciones con  $\text{TiO}_2$  parece estar relacionado con la solubilidad de los plaguicidas. A mayor solubilidad, se observa menor velocidad de reacción. Es razonable pensar que los plaguicidas menos solubles se adsorben más fácilmente en el  $\text{TiO}_2$  y por tanto reaccionan más rápido. En lo que se refiere a foto-Fenton, no se ha podido concluir nada de estos resultados que nos permita explicar la reactividad relativa de formetanato, imidacloprid y diurón.

Como ya se ha resaltado anteriormente y como se muestra en la figura 6.3.2, los cuatro plaguicidas han sido degradados con éxito con ambos tratamientos fotocatalíticos solares. La reacción de Fenton en la oscuridad produce una mineralización muy ligera. Sin embargo, la mineralización total (desaparición total de TOC) solo es alcanzada después de un periodo de irradiación muy largo (ver figura 6.3.3). De cualquier modo, los intermedios de reacción detectados en el último paso del proceso de degradación, antes de la mineralización, son siempre muy sencillos, generalmente ácidos carboxílicos de bajo peso molecular [Malato *y col.*, 2001c; Marinas *y col.*, 2001; Huston y Pignatello, 1999].

La liberación completa de los heteroátomos contenidos en las moléculas de los plaguicidas como ácidos inorgánicos ha sido confirmada mediante el análisis de los aniones producidos con cromatografía iónica (ver sección 6.2.4), según la estequiometría propuesta en las reacciones 6.3.1, 6.3.2, 6.3.3 y 6.3.4, correspondientes a imidacloprid, metomilo, diurón, y formetanato, respectivamente. Habría que señalar que la liberación de nitrógeno muy a menudo se ha medido como una combinación de amonio y nitrato pero, ya que el amonio se oxida a nitrato después de un largo periodo de irradiación [Bonsen *y col.*, 1997], el nitrógeno se expresa en su estado más oxidado.



Como ya se ha comentado anteriormente los cuatro plaguicidas presentan cinéticas de primer orden en los tratamientos con  $TiO_2$ . Esto se confirma con el comportamiento lineal de  $\ln(C_0/C)$  en función de  $t_{30w}$ , para todos los ensayos realizados (ver tabla 6.3.3). Se ha observado un comportamiento similar con foto-Fenton, si el  $C_0$  utilizado para el cálculo correspondiente es la concentración del plaguicida al principio de la iluminación y la reacción en la oscuridad no es considerada. En la tabla 6.3.3 se muestran también, las velocidades iniciales de desaparición para cada plaguicida y el tiempo necesario para lograr una mineralización del 90 % del TOC ( $t_{30w, 90\% TOC}$ ).

Plaguicida	<b>k</b>		<b>r<sub>0</sub></b>		<b>t<sub>30W, 90%TOC</sub></b>	
	<b>k<sub>ap</sub></b>	<b>k'<sub>ap</sub></b>	<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>Foto-Fenton</b>	<b>TiO<sub>2</sub></b>	<b>Foto-Fenton</b>
<b>Imidacloprid</b>	-0.035	-0.22	-0.61	-4.73	421	187
<b>Metomilo</b>	-0.046	-0.08	-1.34	-1.44	635	368
<b>Diurón</b>	-0.092	-0.20	-0.69	-1.06	124	159
<b>Formetanato</b>	-0.026	-0.85	-0.87	-10.79	399	105

*Tabla 6.3.3.* Constantes de velocidad de primer orden, velocidad inicial y tiempo necesario para la mineralización 90 % del TOC inicial para los cuatro plaguicidas ensayados con TiO<sub>2</sub> y foto-Fenton

### 6.3.2. Evaluación de la Mineralización de los Plaguicidas

Puesto que la mineralización del TOC no sigue modelos sencillos con cinéticas de primer orden u orden cero, la constante de velocidad de reacción global no ha podido ser calculada (ver figura 6.3.3). La complejidad de los resultados, por supuesto, está causada por el hecho de que el TOC es un parámetro que engloba a muchos otros, que a menudo incluye diferentes productos, involucrados en múltiples reacciones. Por tanto, se ha elegido  $t_{30W, 90\% TOC}$  como un parámetro fácil de determinar y manejar, y por lo tanto ha sido seleccionado para poder realizar una comparación desde el punto de vista práctico. A partir de los datos de la tabla 6.3.3 se puede ver que el tratamiento con foto-Fenton es más efectivo que con TiO<sub>2</sub> para tratar todos los plaguicidas ensayados, excepto para la mineralización de diurón, en cuyo caso los dos tratamientos son bastante similares. Es más, los compuestos originales desaparecen más rápidamente con foto-Fenton comparándolo con TiO<sub>2</sub>, pero esta diferencia es atenuada si se considera la degradación del TOC. No hay que olvidar que el éxito de un AOPs es la cantidad del compuesto objeto que es mineralizado a CO<sub>2</sub> e iones inorgánicos, ya que esto significa que ocurre la destrucción total de, además del compuesto original, de los posibles intermedios tóxicos.

Huston y Pignatello [Huston y Pignatello, 1999] han descrito la eficacia de foto-Fenton para la mineralización de varios plaguicidas y han demostrado que las velocidades de

mineralización son bajas para plaguicidas formados por cadenas alifáticas. Por otro lado, Haag y Yao han descrito [Haag y Yao, 1992] las velocidades de reacción de los radicales hidroxilo con 44 contaminantes diferentes en agua, y han demostrado que los radicales  $\bullet\text{OH}$  son menos efectivos para el ataque de compuestos alifáticos que para los aromáticos. Fallmann *y col.* también han descrito un efecto similar en un estudio con diez plaguicidas diferentes [Fallmann *y col.*, 1999a]. De acuerdo con esos resultados, el metomilo era, de entre los cuatro plaguicidas, el candidato a mostrar menos reactividad (respecto a la degradación de TOC) en nuestro estudio fotocatalítico. Y así fue, tal y como se esperaba, metomilo ha sido el plaguicida menos reactivo en el tratamiento con foto-Fenton. Es más, la velocidad de reacción (ver  $k$  y  $r_0$  en tabla 6.3.3) de metomilo en los tratamientos con  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton han sido casi similares. Es bien sabido que en fotocatalisis con  $\text{TiO}_2$  el papel de los electrones fotogenerados es importante [Pelizzeti y Minero, 1999; Calza *y col.*, 2001]. Por lo tanto, la lenta reacción que tiene lugar entre los radicales hidroxilo y metomilo es compensada por la foto-reducción provocada por los electrones de la banda de conducción del  $\text{TiO}_2$ . Esto es congruente con los resultados similares que se han obtenido para este plaguicida durante ambos tratamientos.

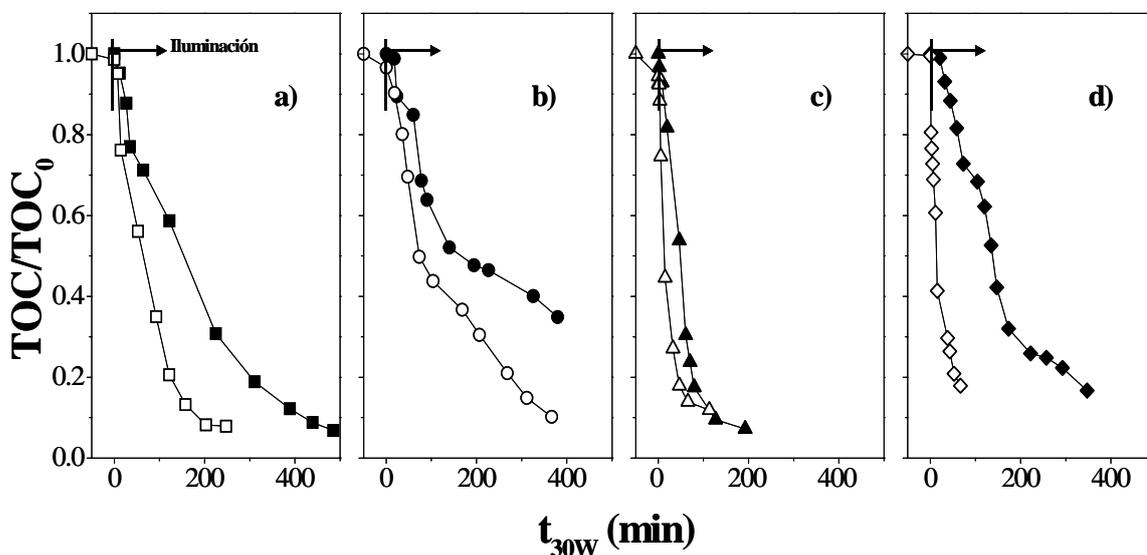


Figura 6.3.3. Mineralización de imidacloprid (a), metomilo (b), diurón (c) y formetanato (d) en función de  $t_{30w}$  (tiempo de iluminación).  $\text{TiO}_2$  (200 mg/L): Símbolos sólidos. Foto-Fenton (0.05 mM Fe): Símbolos abiertos.

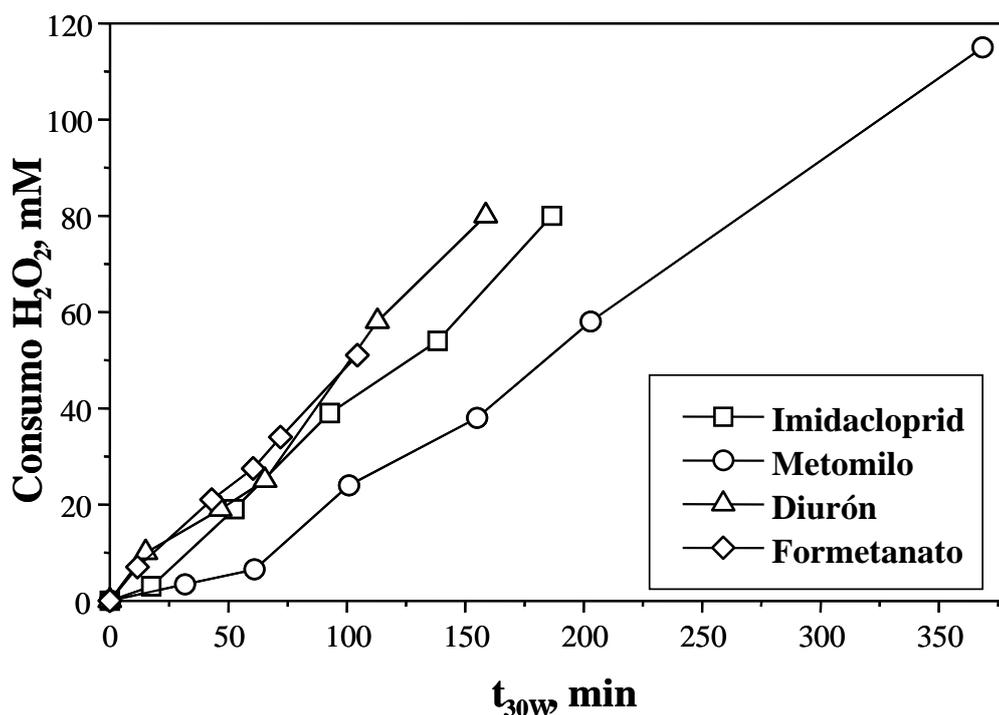


Figura 6.3.4. Consumo de peróxido de hidrogeno durante el tratamiento fotocatalítico con foto-Fenton de los cuatro plaguicidas. El ultimo punto para cada plaguicida corresponde al  $t_{30w, 90\%TOC}$  que se muestra en la tabla 6.3.3.

Otro aspecto importante de los dos tratamientos está relacionado con el consumo de productos químicos. Durante el tratamiento con  $TiO_2$  solo es necesario añadir el catalizador y este puede ser reutilizado [Blanco y col., 1999a; Watts y col., 1995; Xi y Geisen, 2001]. Como ya se ha comentado con anterioridad, la concentración de hierro utilizada durante el tratamiento foto-Fenton es tal que no necesita una separación previa del agua antes de su vertido, lo cual reduce los costes de operación. El peróxido de hidrógeno consumido durante el tratamiento con foto-Fenton tiene que ser evaluado para ver que tratamiento es el más económico. La figura 6.3.4 muestra el consumo de peróxido de hidrógeno durante los ensayos representados en las figuras 6.3.2 y 6.3.3. Hay que hacer hincapié en que el consumo de reactivo oxidante es directamente proporcional al tiempo de tratamiento y no a la concentración de plaguicida. Esto significa que la velocidad de degradación del peróxido de hidrógeno es solo una función de su concentración y de la concentración de hierro en el agua (ver ecuación 1.2.21). En todos los ensayos, la concentración de peróxido que queda en el reactor se determina mediante análisis frecuentes y se mantiene constante a una concentración de aproximadamente 15 mM, añadiendo pequeñas cantidades del mismo a medida que se iba consumiendo. El consumo

requerido en cada caso para alcanzar el 90 % de la mineralización del TOC ha sido de 80 mM, 115 mM, 80 mM y 51 mM para imidacloprid, metomilo, diurón y formetanato, respectivamente. A partir de las figuras 6.3.3 y 6.3.4 se puede estimar que el 50 % del peróxido de hidrógeno es consumido para degradar el 20 % final del TOC. Un consumo tan alto de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> puede ser un inconveniente en la elección del tratamiento con foto-Fenton para su utilización para reducir sustancialmente el TOC.

### 6.3.3. Pre-diseño de una Planta de Tratamiento Fotocatalítico de Aguas Contaminadas con Plaguicidas

Un parámetro importante para el diseño de una planta de tratamiento fotocatalítica solar, es el cálculo de la capacidad de tratamiento ( $C_T$ , m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>año) de la planta para depurar agua contaminada con plaguicidas mediante un determinado tratamiento, ya sea con TiO<sub>2</sub> o foto-Fenton. Este parámetro puede ser útil para la extrapolación de los resultados experimentales a otros volúmenes y condiciones medioambientales y para evaluar la viabilidad de estos tratamientos para llevar a cabo la descontaminación de esta agua. En esta sección se va a presentar el procedimiento de cálculo de  $C_T$  a partir de los resultados obtenidos con los cuatro plaguicidas objeto de estudio. Para ello, se va a considerar que el agua a tratar tiene la misma concentración de plaguicida que la concentración inicial utilizada en las experiencias de este capítulo. Para realizar dicho cálculo se ha utilizado la siguiente ecuación:

$$C_T = \frac{V_T}{A_r \times t_{30W}} \quad (6.3.5)$$

donde  $V_T$  es el volumen total de la planta,  $A_r$  es el área de colectores del fotorreactor utilizado y  $t_{30W}$  es el tiempo de iluminación. Esta capacidad de tratamiento se puede calcular teniendo en cuenta dos consideraciones diferentes: la capacidad de tratamiento para mineralizar el 90 % del TOC ( $C_{T, 90\%TOC}$ ) (ver tabla 6.3.4) y la capacidad de tratamiento para reducir la toxicidad hasta el EC<sub>50</sub> ( $C_{T, TOX}$ ) (ver tabla 6.3.5) en cada uno de los bioensayos empleados.

Para hacer más comprensible la explicación, a continuación se comenta un ejemplo: en el caso de imidacloprid, para mineralizar el 90 % del TOC con TiO<sub>2</sub> se necesitan 421 min de iluminación. La planta piloto (ver sección 2.1) tiene un volumen total de 35 L y 3 m<sup>2</sup> de colectores, y si la media anual de horas de sol diarias es de 12:

$$C_{T,90\% \text{ TOC}} = \frac{35 \text{ L}}{3 \text{ m}^2 \times 421 \text{ min}} \times \frac{60 \times 12 \times 365 \text{ min}}{1 \text{ año}} \times \frac{1 \text{ m}^3}{1000 \text{ L}} = 7.28 \frac{\text{m}^3}{\text{m}^2 \text{ año}}$$

Es necesario comentar que esta capacidad de tratamiento ha sido calculada utilizando una potencia media de la irradiación solar UV ( $30 \text{ W/m}^2$ ), pero  $C_T$  debe ser calculada considerando la media anual para cada emplazamiento determinado. Este dato ha sido calculado en la PSA [Malato *y col.*, 2001b] y es de  $18.6 \text{ W}_{UV} \text{ m}^{-2}$ . Por tanto:

$$C_{T,90\% \text{ TOC}} = 7.28 \frac{\text{m}^3}{\text{m}^2 \text{ año}} \times \frac{18.6 \text{ W}_{UV} \text{ m}^{-2}}{30 \text{ W}_{UV} \text{ m}^{-2}} = 4.51 \frac{\text{m}^3}{\text{m}^2 \text{ año}}$$

Luego se puede decir que la capacidad de tratamiento de  $\text{TiO}_2$  para mineralizar el 90% del TOC de imidacloprid es  $4.51 \text{ m}^3$  de agua por  $\text{m}^2$  de colectores al año.

Plaguicida	$t_{30W, 90\% \text{ TOC}}$		$C_{T, 90\% \text{ TOC}}$		Consumo 90% TOC $\text{H}_2\text{O}_2$ (Kg/ $\text{m}^3$ )
	$\text{TiO}_2$	foto-Fenton	$\text{TiO}_2$	foto-Fenton	
<b>Imidacloprid</b>	421	187	4.51	10.2	2.72
<b>Metomilo</b>	635	368	2.99	5.17	3.91
<b>Diurón</b>	124	159	15.3	12.0	2.72
<b>Formetanato</b>	399	105	4.76	18.1	1.73

Tabla 6.3.4. Capacidad de tratamiento ( $\text{m}^3/\text{m}^2$  año) de  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton para mineralizar el 90 % del TOC de un agua contaminada con plaguicidas. También se muestra, el consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en el tratamiento con foto-Fenton.

En la tabla 6.3.4 se presentan las  $C_{T,90\% \text{ TOC}}$  tanto para el tratamiento de los plaguicidas con  $\text{TiO}_2$  como con foto-Fenton. En todos los casos, excepto para diurón, la capacidad de tratamiento de foto-Fenton es mayor que la del tratamiento con  $\text{TiO}_2$  y con diferencias significativas para imidacloprid y formetanato. Por tanto se puede afirmar que, el tratamiento de foto-Fenton es más efectivo para mineralizar el 90 % del TOC de un agua contaminada con imidacloprid o formetanato. Sin embargo, para metomilo y diurón estas diferencias en las

capacidades de tratamiento no son tan grandes, entre los dos tratamientos fotocatalíticos. Si se tiene en cuenta solo este parámetro, se podría afirmar que el tratamiento con foto-Fenton es el más efectivo para degradar metomilo y que  $\text{TiO}_2$  es el más efectivo para mineralizar el 90 % del TOC de un agua contaminada con diurón. Pero sin embargo, este no es el único factor a tener en cuenta. Si observamos los consumos de peróxido de hidrógeno, se aprecia que en el caso de diurón el  $\text{TiO}_2$  puede ser más viable económicamente, ya que en dicho tratamiento no hay consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . En cambio, para metomilo no es tan clara la decisión. Al ser las diferencias en las capacidades de tratamiento tan pequeñas, y al haber un gran consumo de peróxido de hidrógeno en el tratamiento con foto-Fenton (a priori el más adecuado) no se puede afirmar que éste tratamiento es el más viable para tratar un agua contaminada con metomilo. Sería necesario un estudio más preciso en cada caso concreto y real para tomar esta decisión.

En la tabla 6.3.5 se presentan las  $C_{T, \text{TOX}}$  para el tratamiento tanto con  $\text{TiO}_2$  como con foto-Fenton para detoxificar aguas contaminadas con plaguicidas, es decir, eliminar la toxicidad de las aguas a valores inferiores al  $\text{EC}_{50}$ . En este punto se podría parar el tratamiento fotocatalítico y verter el agua a un tratamiento biológico convencional de depuración de aguas residuales. Evidentemente, siempre que se cumplan las normas de DBO (demanda biológica de oxígeno) y DQO (demanda química de oxígeno) que se exigen para estos tratamientos. Además, antes debe retirarse el catalizador, tal y como se comenta más adelante. Los datos de  $t_{30\text{W}, \text{TOX}}$  han sido calculados a partir de los resultados obtenidos en los capítulos 4 y 5 para metomilo y diurón, respectivamente.

Para evaluar cual es la capacidad de tratamiento  $C_{T, \text{TOX}}$  de  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton para cada plaguicida, se deben tomar los valores de respuesta para el organismo más sensible a dicho plaguicida, es decir, al que más difícil sea eliminar su toxicidad. En el caso de metomilo, *Vibrio Fishcheri* muestra para ambos tratamientos la mayor sensibilidad y por tanto la menor capacidad de tratamiento.  $C_{T, \text{TOX}}$  con foto-Fenton es más del doble que con  $\text{TiO}_2$  para tratar éste plaguicida, luego sería foto-Fenton el tratamiento seleccionado para detoxificar aguas contaminadas con metomilo, si se utiliza  $C_{T, \text{TOX}}$  como parámetro de diseño en vez de  $C_{T, 90\% \text{TOC}}$ . En el caso de diurón, el invertebrado *Daphnia Magna* muestra mayor sensibilidad en el tratamiento con  $\text{TiO}_2$  y la microalga *Selenastrum Capricornotum* para foto-Fenton. Es necesario remarcar que en este caso lo correcto para comparar ambos tratamientos es utilizar  $C_{T, \text{TOX}}$  más pequeña entre los bioensayos empleados. Por lo tanto, en el caso de diurón  $C_{T, \text{TOX}} = 37.2$

$\text{m}^3\text{m}^{-2}\text{año}^{-1}$  con foto-Fenton y  $C_{T, \text{TOX}} = 17.6 \text{ m}^3\text{m}^{-2}\text{año}^{-1}$  con  $\text{TiO}_2$ . También puede apreciarse que utilizando  $C_{T, \text{TOX}}$  el consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  es menor. Por tanto, en este caso el parámetro del consumo de peróxido de hidrógeno podría no ser tan relevante.

Plaguicida	Toxicidad	$t_{30W, \text{TOX}}$		$C_{T, \text{TOX}}$		$\text{Consumo}_{\text{TOX}}$
		$\text{TiO}_2$	foto-Fenton	$\text{TiO}_2$	foto-Fenton	$\text{H}_2\text{O}_2$ ( $\text{Kg}/\text{m}^3$ )
Metomilo	<i>Daphnia Magna</i>	296.6	132.7	6.41	14.3	1.12
	<i>Vibrio Fishcheri</i>	354.9	146.3	5.36	13.0	1.29
	<i>Selenastrum Capricornotum</i>	85.62	109.6	22.2	17.3	0.85
Diurón	<i>Daphnia Magna</i>	108.0	1.071	17.6	1775	0.034
	<i>Selenastrum Capricornotum</i>	51.48	51.06	36.9	37.2	0.68

Tabla 6.3.5. Capacidad de tratamiento ( $\text{m}^3/\text{m}^2$  año) de  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton para eliminar la toxicidad por del  $\text{EC}_{50}$  de un agua contaminada con plaguicidas. También se muestra, el consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en el tratamiento con foto-Fenton.

Para decidir cual es momento más adecuado para parar el tratamiento fotocatalítico y verter (el 90 % de la mineralización del TOC o la toxicidad inferior al  $\text{EC}_{50}$ ) se deben comparar las capacidades de tratamiento en ambas situaciones, es decir,  $C_{T, 90\% \text{ TOC}}$  y  $C_{T, \text{TOX}}$ . Foto-Fenton es utilizando ambos parámetros ( $C_{T, 90\% \text{ TOC}}$  y  $C_{T, \text{TOX}}$ ) más efectivo que  $\text{TiO}_2$  para metomilo. Además, con foto-Fenton,  $C_{T, 90\% \text{ TOC}} = 5.17$  y  $C_{T, \text{TOX}} = 13.0 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{año}$  para metomilo. Por tanto si se toma como punto final de la reacción la eliminación de la toxicidad, la capacidad de tratamiento es más del doble que si se toma como punto final la mineralización del 90 % del TOC. De esta manera, tomando como punto final del tratamiento la eliminación de la toxicidad se ahorran costes en la construcción de la planta de tratamiento de aguas. Se necesitaría una superficie de colectores solares menor para tratar el mismo volumen de agua contaminada. A esto habría que añadirle que, al ser necesario un tratamiento más corto, el consumo de  $\text{H}_2\text{O}_2$  es menor, luego también se abaratarían costes de reactivos.

En el caso de diurón, el tratamiento mas adecuado para mineralizar el 90 % del TOC parece ser con  $\text{TiO}_2$  y presenta una  $C_{T, 90\% \text{ TOC}} = 15.3$ . Para eliminar la toxicidad parece ser mejor foto-Fenton con una  $C_{T, \text{TOX}} = 37.2 \text{ m}^3/\text{m}^2\text{año}$ . Por tanto, si se toma como punto final de la reacción la eliminación de la toxicidad, la capacidad de tratamiento es más del doble con foto-Fenton que si se toma como punto final la mineralización del 90 % del TOC con  $\text{TiO}_2$ . De esta manera y al igual que con metomilo, tomando como punto final del tratamiento la eliminación de la toxicidad y vertiendo posteriormente esta agua a un tratamiento biológico convencional, se ahorran costes en la construcción de la planta de tratamiento de aguas contaminadas con diurón, por los mismos motivos.



*Figura 6.3.5.* Fotografía de una planta de tratamiento fotocatalítico solar de plaguicidas.

Todas las consideraciones anteriores demuestran una vez más la importancia de utilizar los bioensayos de toxicidad aguda para evaluar un proceso de oxidación avanzada. Teniendo en cuenta que son bastante caros, cualquier procedimiento que ayude a reducir el tamaño de las plantas de tratamiento y el consumo de reactivos es de suma importancia.

Otros parámetros a tener en cuenta en el diseño de una planta de tratamiento de plaguicidas es el consumo de reactivos. En el tratamiento con  $\text{TiO}_2$  (ver sección 2.1.4) se consumirían 200 g de catalizador por  $\text{m}^3$  de agua a tratar, con la ventaja de que éste puede reutilizarse como se explica posteriormente. En el tratamiento con foto-Fenton (ver sección 2.1.4) se consumen tres reactivos: 100 g de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado por  $\text{m}^3$  de agua a tratar para ajuste del pH del agua, 14.3 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  como catalizador por  $\text{m}^3$  de agua y que puede ser reutilizado como se verá posteriormente, y  $\text{H}_2\text{O}_2$  que varía en función de los compuestos a tratar (ver figura 6.3.4) y su concentración. Los costes de los mismos deben ser evaluados en cada caso para poder comparar correctamente ambos tratamientos, además de la capacidad de tratamiento ( $C_T$ ).

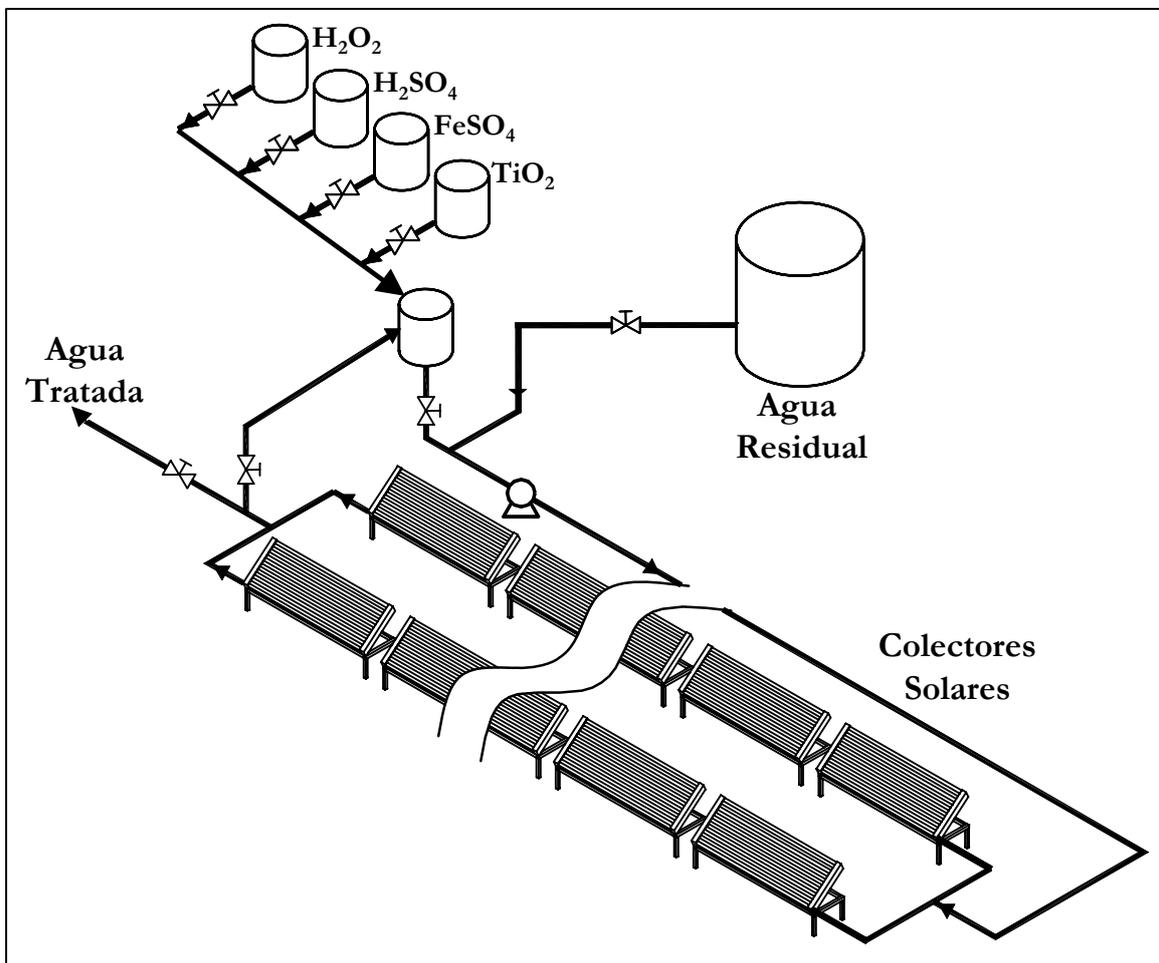


Figura 6.3.6. Diagrama de una planta de tratamiento fotocatalítica solar para tratar aguas contaminadas con plaguicidas.

En la figura 6.3.5 se muestra una fotografía y en la 6.3.6 un diagrama de una planta de tratamiento fotocatalítica solar que podría utilizarse tanto con foto-Fenton como con  $\text{TiO}_2$  para tratar agua contaminadas con plaguicidas. La superficie de colectores solares dependería de: el agua a tratar, es decir de la concentración de plaguicidas, qué plaguicidas se deben tratar, tratamiento fotocatalítico empleado, la ubicación geográfica de la planta (radiación solar media anual), etc.

Como ya se ha mencionado anteriormente, en ambos tratamientos fotocatalíticos, ya sea con  $\text{TiO}_2$  o foto-Fenton, el catalizador puede ser reusado. En la figura 6.3.7 se muestra un diagrama de la instalación para el reciclado del catalizador que puede acoplarse perfectamente a una planta de tratamiento fotocatalítica solar como la que se muestra en la figura 6.3.6. Este proceso de reciclado del dióxido de titanio en tratamientos fotocatalíticos está patentado [Blanco *y col.*, 1999a] y consiste en un proceso de sedimentación del mismo que es detallado a continuación [Fernández-Ibáñez *y col.*, 2000b]. El agua tratada fotocatalíticamente es almacenada en un tanque donde se somete dicha suspensión a agitación mediante agitadores convencionales. Una vez que el tanque está lleno y homogéneo, se toma una muestra de la suspensión coloidal y se le añade ácido o base hasta conseguir el punto isoeléctrico (punto de carga nula) de la suspensión, que suele estar alrededor de pH 7 [Fernández-Ibáñez *y col.*, 2000a]. Conseguido esto, se añade la cantidad de ácido o base utilizada en el alícuota al volumen total almacenado y se cesa la agitación. El tiempo que es necesario esperar para lograr la sedimentación del  $\text{TiO}_2$  varía en función del volumen del tanque de almacenamiento y de la concentración de catalizador. En todo caso no suele ser mayor de algunas horas. Una vez que está sedimentado, se retira el sobrenadante limpio, constituido por agua con muy baja concentración de catalizador (menor de 5 mg/L) a un tanque y el sedimento, que es una suspensión concentrada de catalizador, se conduce hacia un tanque a partir del cual el  $\text{TiO}_2$  es reusado en la planta de tratamiento. El sobrenadante se pasa a través de un sistema de microfiltración y el agua que sale de éste es agua limpia que puede ser vertida a un cauce o a una planta de tratamiento biológico, según el punto final que se le haya dado al tratamiento fotocatalítico. Este reuso no puede ser llevado a cabo indefinidamente, ya que el catalizador va perdiendo su eficiencia por adsorción en su superficie de sales y otras sustancias, y por tanto, periódicamente hay que ir adicionando pequeñas cantidades de catalizador nuevo. Se ha calculado [Malato *y col.*, 2000b] que el catalizador puede reusarse un mínimo de 10 veces con mezclas complejas de plaguicidas. En cualquier caso, esto dependerá del agua a tratar.

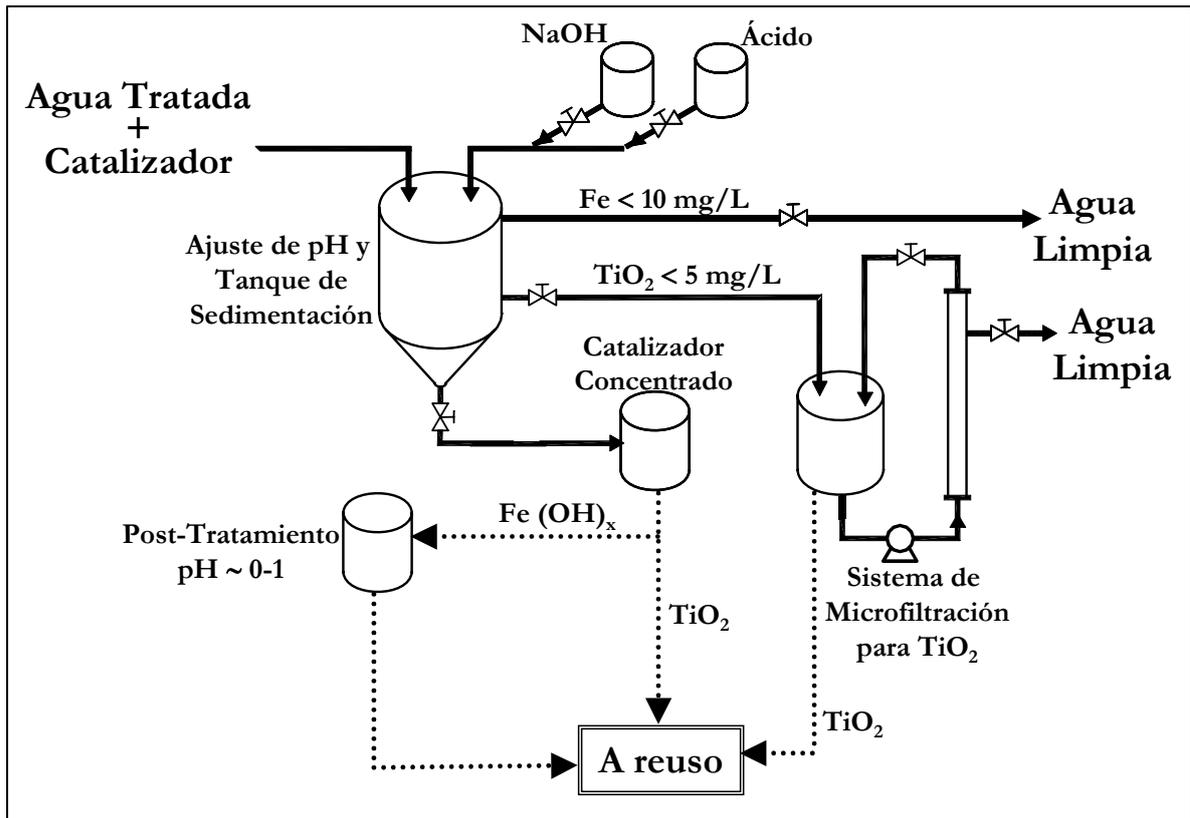


Figura 6.3.7. Diagrama de una instalación de reciclado del catalizador (tanto  $\text{TiO}_2$  como  $\text{Fe}$ ) procedente de un tratamiento fotocatalítico solar.

En cuanto al proceso de reciclado del hierro, consiste también en un proceso de sedimentación / floculación que es detallado a continuación. El agua tratada fotocatalíticamente es almacenada en un tanque que la somete a agitación mediante agitadores convencionales. Una vez que el tanque está lleno y homogéneo, se toma una muestra del agua y se le añade una base hasta conseguir un valor de pH alrededor de 7, que es el valor de pH al que flocculan los hidróxidos de hierro y que además el agua puede ser vertida sin problemas. Conseguido esto, se extrapola la cantidad de base utilizada en el alícuota para obtener dicho valor de pH en el volumen total almacenado y una vez el hierro ha flocculado se para la agitación procediendo al proceso de sedimentación de catalizador propiamente dicho. El tiempo que es necesario esperar para lograr la sedimentación del catalizador varía en función del volumen del tanque de almacenamiento y de la concentración de hierro. Una vez que está sedimentado, se retira el sobrenadante limpio, constituido por agua con muy baja concentración de catalizador que puede ser vertida a un cauce natural o a una planta de tratamiento biológico, según el punto final que se le haya dado al tratamiento fotocatalítico. El sedimento, que es una suspensión concentrada de hidróxidos de hierro, se conduce hacia un

tanque de almacenamiento, en el cual es tratado a pH 0-1 para la redisolución de los hidróxidos de hierro. Si se reusa el hierro después de este tratamiento, no es necesario acidificar el agua a tratar, ya que al añadir el hierro disuelto a pH 0-1 se añade también el ácido necesario para conseguir pH ~ 3 que es necesario para el tratamiento con foto-Fenton. Este reuso no puede ser llevado a cabo indefinidamente, ya que el catalizador va perdiendo su eficiencia, por tanto, periódicamente hay que ir adicionando pequeñas cantidades de catalizador nuevo. Es necesario recordar que, muy a menudo, la cantidad de hierro utilizada es tan pequeña que no sería necesario retirarla del agua, por ser inocua para el medioambiente. En este caso únicamente sería necesario neutralizar el agua para que su pH fuese compatible con la naturaleza.

#### **6.3.4. Aplicabilidad de los AOPs al tratamiento de Plaguicidas Comerciales.**

Los plaguicidas se comercializan formando parte de formulaciones en las que también intervienen otros productos (tensioactivos, emulsionantes, sales, disolventes, etc.). Estos aditivos tienen la misión de aumentar la efectividad al plaguicida ayudando a disolverlo en agua, favoreciendo su adsorción por las plantas, aumentando su estabilidad, facilitando su adsorción a través de la “piel” de los insectos dañinos, etc. En todo caso, la información sobre estos aditivos es muy restringida y a menudo es habitual que un mismo plaguicida sea el principio activo de varias formulaciones comerciales, diseñados en función de su aplicabilidad. Además, cuando los plaguicidas son vertidos al medio ambiente, el efecto de los otros componentes de la formulación se atenúa. En tal caso, se puede aventurar que, si un tratamiento es efectivo para descomponer un plaguicida, también lo será para el resto de componentes de la formulación.

Debido a todo lo anterior, la aplicación de los procesos fotocatalíticos con  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton a la degradación de plaguicidas comerciales no ha sido un objetivo fundamental en esta Tesis Doctoral. Para realizar el análisis de los PDs generados durante los tratamientos y poder establecer así las rutas de degradación de los plaguicidas ha sido necesario utilizar productos técnicos (principios activos utilizados para la preparación de formulaciones comerciales). Sin embargo, existen en la literatura trabajos de investigación en los que se han aplicado estos tratamientos a compuestos comerciales, e incluso se han hecho comparaciones entre los productos técnicos y comerciales. Se ha demostrado la viabilidad de estos procesos para tratar aguas contaminadas con plaguicidas comerciales, y no se han observado diferencias

significativas en el comportamiento de la degradación de los plaguicidas entre el producto técnico y el comercial.

Un trabajo de Herrmann y col. sobre degradación fotocatalítica con  $\text{TiO}_2$  de pirimifosmetil (PMM) [Herrmann *y col.*, 1999b] muestra una comparación muy completa entre el comportamiento del producto comercial y el producto técnico. Para ello, se ha llevado a cabo el seguimiento de la degradación del plaguicida mediante LC-UV, la mineralización mediante TOC, la toxicidad mediante el test Microtox<sup>®</sup> que esta basado en la emisión de luz de *Photobacterium Phosphoreum*, y la evaluación de los PDs mediante el uso combinado de GC-MS, tanto en modo CI y EI, y LC-API-MS, con las interfases de APCI y ES.

En él se muestra que el PMM puro se degrada prácticamente todo (> 98 %) en un corto periodo de tiempo (35 min. de irradiación en sus condiciones experimentales) mientras que la desaparición del TOC requiere 6 horas. Por otro lado, el producto comercial (Actellic 50E, 50 % de materia activa) fue también degradado, pero requiriendo un poco más de tiempo (45 min. para la degradación del producto comercial y 7 horas para la total desaparición del TOC). Esto puede ser debido a un efecto de estabilización provocado por los agentes de la formulación y/o una competencia de esos agentes orgánicos con el PMM durante la degradación. La formulación de este producto comercial es, por supuesto, confidencial, y solo se tiene constancia por las informaciones del distribuidor de la presencia de varios estabilizantes y tensioactivos. La constante de velocidad de degradación del PMM solo es un 28 % menor en el compuesto comercial que en el puro. En este sentido, es necesario remarcar que los ensayos mostrados en este artículo se han llevado a cabo añadiendo producto comercial o puro al fotorreactor. En este caso la influencia de los compuestos de la formulación es la mayor posible. No es lógico pensar que un vertido real la influencia del formulado sea tan relevante.

Con respecto a la comparación en la evaluación de la toxicidad, un efecto similar al del producto técnico es mostrado por el producto comercial. La toxicidad aumenta hasta valores superiores al  $\text{EC}_{50}$  en los primeros 15 minutos de tratamiento, debido a la formación de PDs más tóxicos que el propio PMM. A partir de ahí, la toxicidad disminuye hasta valores del porcentaje de inhibición inferiores al 20 %. Esta disminución es más lenta en el producto

comercial que en el compuesto puro, lo cual puede ser a consecuencia de la degradación más lenta de los compuestos tóxicos que aparecen en el primer periodo de tratamiento.

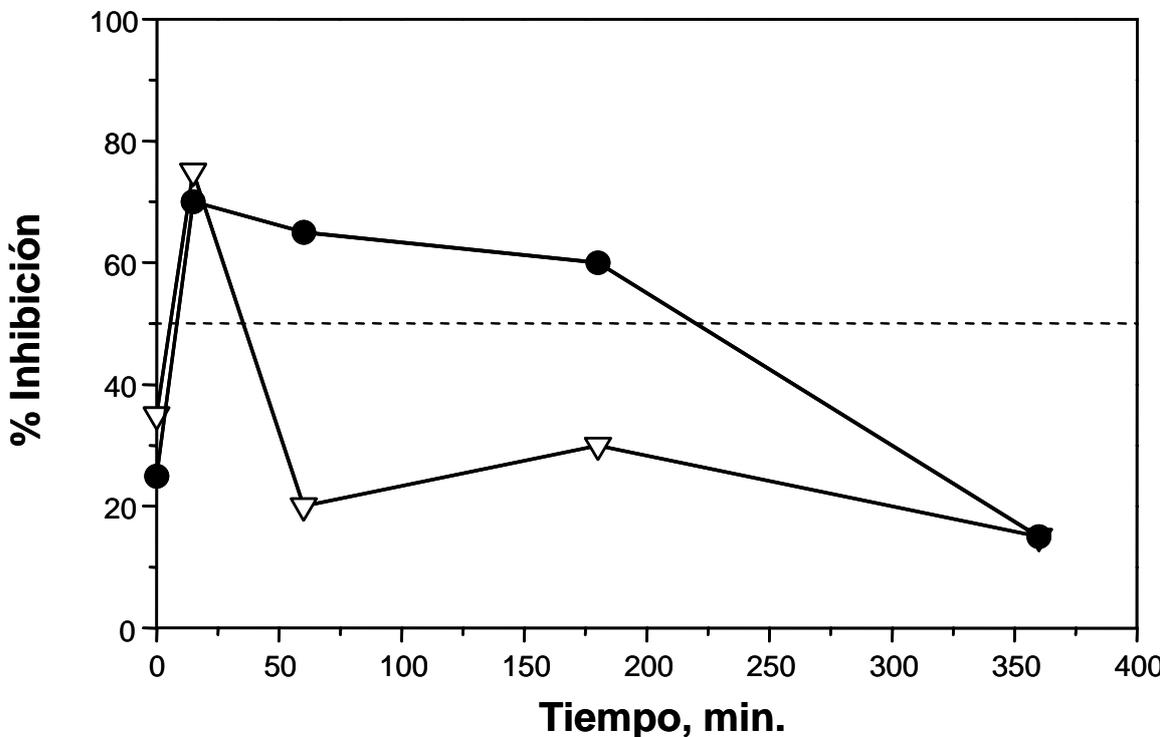


Figura 6.3.8. Evolución de la toxicidad con Microtox<sup>®</sup> durante el tratamiento fotocatalítico con TiO<sub>2</sub> de PMM: ▽ producto técnico y • producto comercial [Herrmann y col., 1999b].

La evaluación de los PDs fue llevada a cabo con las técnicas analíticas mencionadas anteriormente, previo análisis de un blanco. Este permite descubrir esos picos cromatográficos provenientes del tratamiento y manipulación de la muestra, del sistema cromatográfico y/o de los agentes formulantes cuando se emplea el producto comercial. Como resultado se identificaron 27 PDs, para los cuales se han propuesto dos posibles rutas de degradación. No se observaron diferencias importantes del comportamiento de generación de PDs entre el producto técnico y el comercial en los primeros 20 minutos. Después de este paso inicial, en el producto comercial el decrecimiento de la concentración de estos PDs y la aparición de nuevos PDs es mucho más lenta. Los resultados obtenidos después de 3 horas de tratamiento con producto comercial son muy similares a los obtenidas con el producto técnico después de 1 hora de tratamiento fotocatalítico. Este hecho es atribuido a la importante estabilización que

ejercen bajo irradiación UV los agentes formulantes. Una vez más, la influencia del formulado es relevante pero hay que tener en cuenta que se han realizado los ensayos a una concentración elevada (10 mg/L). Además, se está comparando un plaguicida puro con un formulado “puro”, y hay que tener en cuenta que en aguas residuales siempre habrá mezclas más complejas y los compuestos de la formulación estarán más diluidos. En todo caso, ha quedado demostrado que el comportamiento del producto comercial es el mismo, aunque más lento, siempre que este contenga otros compuestos orgánicos en su formulación.

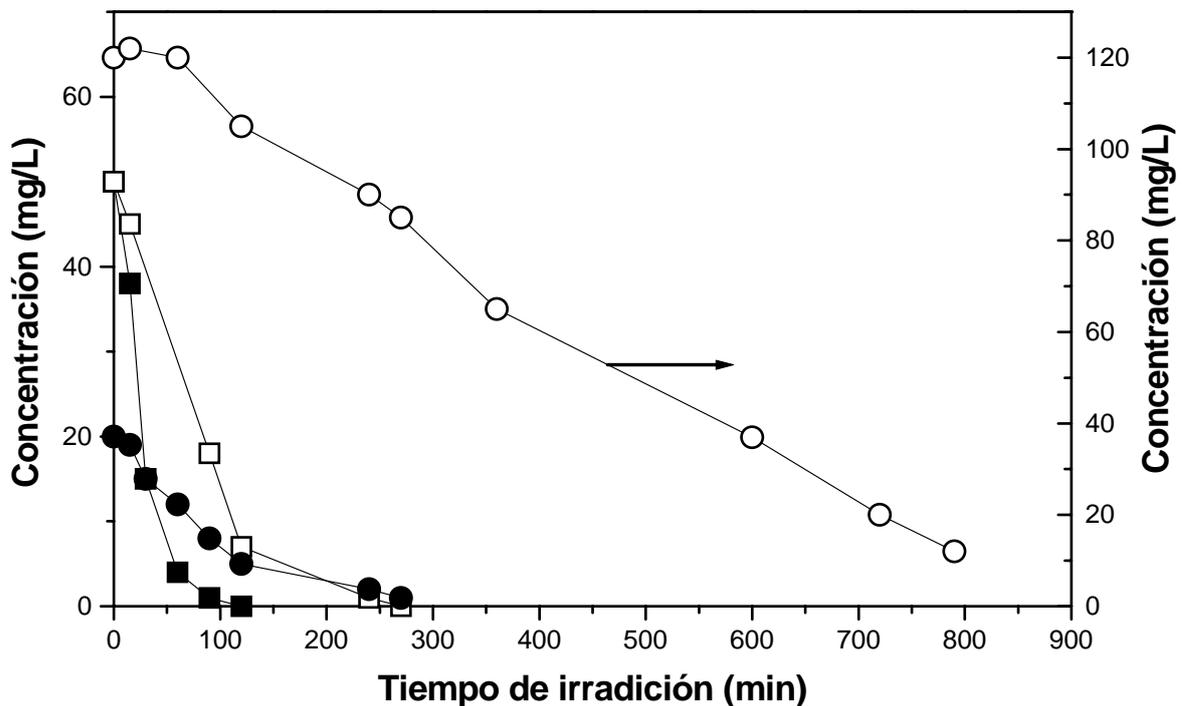


Figura 6.3.9. Evolución de la desaparición de imidacloprid (■ y □) y evolución de la mineralización a través del TOC (● y ○) en función del tiempo de iluminación para el producto técnico (símbolos sólidos) y el comercial (símbolos abiertos) [Agüera y col., 1998a].

En otro trabajo [Agüera y col., 1998a] en el que estudia la degradación fotocatalítica con  $\text{TiO}_2$  de imidacloprid (50 mg/L), se muestra una comparación de la evolución de la degradación y la mineralización entre el producto técnico y el comercial (Confidor LS, 20 % p/v de materia activa). En ambos casos (ver figura 6.3.9) se observa al principio una rápida degradación del plaguicida, pero en el producto técnico la velocidad de la reacción es mucho más rápida. Este hecho es probablemente debido a la competencia existente entre el plaguicida

y los agentes formulantes por los radicales  $\bullet\text{OH}$ . Los valores iniciales tan altos de TOC que presenta el producto comercial (en comparación con el que presenta a la misma concentración de componente activo el producto técnico), confirma la presencia de una alta concentración de ingredientes orgánicos adicionales correspondientes a los agentes formulantes.

La identificación de los PDs que se generan en el proceso ha sido realizada mediante el uso combinado de dos técnicas analíticas avanzadas como son GC-MS, tanto en modo CI como EI, y LC-APCI-MS. Tanto con el producto técnico como con el comercial, fueron identificados los mismos 5 PDs. Aunque en el análisis de las muestras provenientes del tratamiento fotocatalítico aplicado al producto comercial aparecen muchos más picos cromatográficos que con el producto técnico, pertenecientes sin duda a los agentes orgánicos formulantes.

Además de los anteriores trabajos realizados con el objetivo de comparar un producto técnico con su homólogo comercial, existen también trabajos realizados con mezclas de productos comerciales. Malato y col. muestra [Malato y col., 2000d] la viabilidad, a escala de planta piloto, del tratamiento fotocatalítico con  $\text{TiO}_2$  para la degradación de 10 plaguicidas comerciales a varias concentraciones iniciales. Los 10 productos comerciales fueron seleccionados porque son productos ampliamente usados en la agricultura intensiva de la provincia de Almería, pertenecen a las familias de plaguicidas más usuales y/o tienen estructuras químicas muy diferentes. Se trata de: acrinatrin, avermectina B<sub>1</sub>, endosulfan, formetanato, imidacloprid, lufenurón, metamidofos, oxamilo, pirimetanil y propamocarb. En todos los casos se ha usado la correspondiente formulación comercial. En este estudio se utiliza el TOC como parámetro de medida, ya que al ser mezclas complicadas de contaminantes, más los agentes formulantes, este parámetro es el más relevante. A todas las concentraciones probadas se ha logrado con éxito la mineralización total de los contaminantes a través de la desaparición del TOC. Los resultados de los experimentos reflejados en dicho trabajo de investigación han dado lugar al pre-diseño de una planta de tratamiento de aguas provenientes de una planta de reciclado de envases de plaguicidas. Un trabajo similar realizado con la misma mezcla de los 10 plaguicidas en agua [Fallmann y col., 1999], pero utilizando foto-Fenton como tratamiento fotocatalítico de depuración, muestra también la viabilidad de este tratamiento para degradar plaguicidas comerciales.

En los anteriores trabajos, se demuestra la posibilidad de mineralizar completamente una mezcla de contaminantes, mediante los dos AOPs objetivo de esta Tesis. Sin embargo, estos dos últimos trabajos mencionados podrían ser completados con un estudio de la evolución de la toxicidad durante los tratamientos, como complemento a las medidas de TOC. Para ello, es necesaria la aplicación de una batería de bioensayos de toxicidad que asegure la detoxificación de estas aguas contaminadas con plaguicidas comerciales. Existe la posibilidad de minimizar los costes de estos tratamientos evitando su uso cuando el agua tratada deje de ser tóxica, aunque los valores de TOC sean aún relevantes. En estos casos, se podría verter el agua tratada a una EDAR que complete el proceso de depuración.

Una vez más, se confirma el hecho de que la fotocatalisis es una técnica de tratamiento de agua que precisa de un estudio “caso por caso” para proponer la mejor solución. Además, esto exige la realización de ensayos a escala planta piloto, pero que sean evaluados con técnicas analíticas y toxicológicas adecuadas para poder minimizar los costes del tratamiento.

## 6.4. CONCLUSIONES

Los AOPs que utilizan energía solar parecen ser un método eficaz para la eliminación de plaguicidas en el agua. Se ha conseguido la mineralización completa de los compuestos iniciales, es decir de los cuatro plaguicidas probados. En este estudio, se ha demostrado la viabilidad de ambos procesos bajo irradiación solar y a escala de planta piloto.

Además, se ha demostrado que la comparación de los distintos AOPs no es trivial. La comparación de la velocidad de descomposición de un sustrato original podría llevar a conclusiones erróneas. Por lo tanto, un análisis detallado debería incluir no solo la velocidad de desaparición de los sustratos, si no también las velocidades de degradación de los compuestos intermedios, o por lo menos un parámetro integral como es el TOC.

También se ha demostrado que el tratamiento fotocatalítico con foto-Fenton es más eficaz que con  $\text{TiO}_2$ , no solo para la degradación de los compuestos originales, sino también para la mineralización del TOC. Los tratamientos con  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton solo tienen un rendimiento similar en el caso del diurón. Merece la pena mencionar que la concentración del fotocatalizador utilizado en foto-Fenton (hierro) es lo suficientemente baja como para que la solución tratada pueda ser vertida directamente.

Se ha demostrado que para diseñar una planta de tratamiento fotocatalítico es inexcusable la experimentación en planta piloto. Cada caso tiene un comportamiento diferente. Los costes de tratamiento no sólo son función de la velocidad de degradación. La cantidad y tipo de catalizador, el uso de oxidantes, el ajuste de pH antes del tratamiento y después, etc., tienen una importancia relevante en el cálculo de costes. Esto es una razón más para considerar a la fotocatálisis como un tratamiento de aguas que exige el estudio detallado de cada caso para diseñar la planta de tratamiento necesaria.

El uso de técnicas de evaluación de biotoxicidad puede ayudar a reducir los costes de tratamiento. No es necesario mineralizar por completo los contaminantes, si no reducir la toxicidad de los mismos hasta límites compatibles con el medioambiente o con otros tratamientos más sencillos (por ejemplo, biológico).

## **7. CONCLUSIONES**

Se ha demostrado que, tanto la fotocatalisis con  $\text{TiO}_2$  y como con foto-Fenton, son tratamientos viables para depurar y detoxificar aguas contaminadas con plaguicidas. En este estudio, se ha demostrado la viabilidad de ambos procesos bajo irradiación solar y a escala de planta piloto.

Así pues, los AOPs llevados a cabo con energía solar parecen ser un método eficaz para el tratamiento de plaguicidas en agua. En este estudio, se ha demostrado la viabilidad de tales procesos con radiación solar en un colector CPC. Es más, se ha tratado de demostrar que el correcto control de distintos AOPs no es un tema trivial. La adecuada evaluación de cualquier AOP, aplicado al tratamiento de aguas residuales, no debe incluir solamente un estudio de la desaparición del compuesto original. Siempre es necesario un estudio completo del grado de mineralización alcanzado de la sustancia en cuestión, y también de los PDs generados durante el proceso con un parámetro integral como el TOC. Además, es fundamental el conocimiento de la evolución de la toxicidad del agua residual, evaluada ésta a través de una serie de bioensayos diferentes. La aplicación de técnicas analíticas avanzadas, tales como la cromatografía, tanto líquida como gaseosa acoplada a espectrometría de masas, cromatografía gaseosa con detector de emisión atómica y los bioensayos de toxicidad aguda son decisivas para evaluar la efectividad global de los procesos de degradación y asegurar la inocuidad del vertido final.

El proceso de foto-Fenton se ha mostrado más eficiente que el de  $\text{TiO}_2$ , no solo para la degradación de los plaguicidas, sino también para la mineralización del TOC y la reducción de la toxicidad. Sin embargo, a concentraciones muy bajas del contaminante ( $< 1 \text{ mg/L}$ ), para lograr su mineralización,  $\text{TiO}_2$  puede ser más efectivo que foto-Fenton. Es necesario recordar que los procesos de adsorción involucrados en la fotocatalisis con  $\text{TiO}_2$ , hacen que cuando la concentración de contaminante es baja sea más efectivo que la fotocatalisis en fase homogénea. Los tratamientos con  $\text{TiO}_2$  y foto-Fenton se ha observado que tienen un rendimiento similar solo en el caso del diurón. Merece la pena mencionar que la concentración del fotocatalizador (hierro) utilizado en foto-Fenton es lo suficientemente baja como para que el agua tratada pueda ser vertida directamente, después de un ajuste de pH y de asegurar la ausencia de peróxido de hidrógeno.

Los productos de degradación identificados mediante GC-MS, GC-AED y LC-MS durante ambos tratamientos fotocatalíticos son similares, aunque se presentan en distinta

proporción, debido a que en ambos procesos los radicales  $\bullet\text{OH}$  son la principal vía de ataque a las moléculas orgánicas. La proporción en la que se detectan los PDs es diferente debido principalmente a la velocidad de reacción. De esta manera, al tener velocidades de reacción diferentes, los PDs se van generando y desapareciendo en distinta proporción a lo largo de ambos tratamientos.

Los métodos de extracción en fase sólida (SPE) aplicados han resultado muy útiles para la obtención de cromatogramas más “limpios” en GC-AED y GC-MS. Con ello no se ha perdido información de interés y al mismo tiempo, se ha evitado el uso de extracción líquido-líquido (LLE). Procedimiento de preparación de muestras que la mayoría de las veces resulta muy tedioso, caro y medioambientalmente dañino (uso de disolventes).

El uso combinado de la detección en GC de AED/MS ha demostrado ser una de las alternativas más poderosas para la identificación y cuantificación de compuestos desconocidos. En concreto, GC-AED ha demostrado ser una herramienta muy útil en la identificación y cuantificación de los PDs de tratamientos fotocatalíticos, gracias a la calibración mediante compuestos independientes.

Mediante el uso de LC-MS, con las interfases de ionización a presión atmosférica, API, se aporta información rápida y detallada sobre la aparición y la evolución de los PDs formados durante los tratamientos de aguas.

La utilización de LC-ES-MS en modo positivo ha permitido evidenciar la ruta de degradación de plaguicidas en procesos fotocatalíticos. El uso del analizador de trampa de iones (IT) ha resultado ser una buena herramienta en términos de número de PDs detectados y la capacidad de confirmación de estructuras utilizando los espectros de masas de los iones producto, gracias a su capacidad de trabajar en tandem, MS-MS. Además, LC-MS/MS genera espectros de masa no afectados por el ruido de fondo de la señal.

La evaluación de los PDs utilizando LC-ES-MS mediante inyección directa ha evitado procedimientos de preparación de muestras (como LLE y SPE). Esta inyección directa evita la pérdida de analitos de interés, siempre y cuando la concentración de los mismos permita su detección sin necesidad de pre-concentración.

Los PDs o las mezclas de éstos que se generan durante los procesos de degradación fotocatalíticos pueden ser más tóxicos que sus componentes originales.

No se ha observado una correlación clara entre los resultados obtenidos de los bioensayos de toxicidad y del TOC en los dos AOPs aplicados. Que el TOC sea un parámetro que no puede correlacionarse fácilmente con la toxicidad, es debido posiblemente a la diferente velocidad de formación de los PDs y, por tanto, a su concentración relativa en cada momento. Por lo tanto, demuestra claramente la necesidad de realizar baterías de bioensayos para poder obtener resultados concluyentes.

El uso de técnicas de evaluación de biotoxicidad puede ayudar a reducir los costes de tratamiento. No es necesario mineralizar por completo los contaminantes, es suficiente con reducir la toxicidad de los mismos hasta límites compatibles con el medioambiente o con otros tratamientos más sencillos (por ejemplo, biológico).

Se ha demostrado que el diseño de una planta de tratamiento fotocatalítico requiere inexcusable la experimentación en planta piloto y no solo a escala laboratorio, ya que éstos pueden dar lugar a resultados difícilmente extrapolables y con sus consiguientes problemas de escalado. Esto es debido también a que cada caso tiene un comportamiento diferente y esto hace más necesario, si cabe, el uso de plantas piloto para obtener parámetros de diseño. Los costes de tratamiento no sólo son función de la velocidad de degradación. La cantidad y tipo de catalizador, el uso de oxidantes, el ajuste de pH antes del tratamiento y después, etc., tienen una importancia relevante en el cálculo de costes. Esto es una razón más para considerar a la fotocatalisis como un tratamiento de aguas que exige el estudio detallado de cada caso para diseñar la planta de tratamiento necesaria.

## **8. REFERENCIAS**

- Abian J. **“The Coupling of Gas and Liquid Chromatography with Mass Spectrometry”**. *J. Mass Spectrom.*, **34** (3), 157-168, 1999.
- Acher A., Fischer E., Zellingher R., Manor Y. **“Photochemical Disinfection of Effluents. Pilot plant studies”**. *Wat. Res.* **24(7)**, 837-843, 1990.
- Addiscott, T.M., Wagenet, R.J. **“Concepts of Solut Leaching in Soils: a Review of Modelling Approaches”**. *J. of Soil Science*, **36**, 411-424, 1985.
- AEPLA: Asociación Empresarial para la Protección de las Plantas. *Memoria anual*, 2001.
- Aguado M.A., Giménez J., Cervera-March S. *Chem. Eng. Commun.*, **104**, 71-78, 1991.
- Agüera A., Almanza E., Tejedor A., Fernández-Alba A., Malato S., Maldonado I. **“Evaluation of Photocatalytic Degradation of Imidacloprid in Industrial water by GC-MS and LC-MS”**. *Analisis*, **26**, 245-251, 1998a.
- Agüera A., Fernandez-Alba, A.R. **“GC-MS and LC-MS Evaluation of Pesticide Degradation Products Generated Through Advanced Oxidation Processes: an Overview”** *Analisis*, **26** (6), 123-130, 1998b.
- Agüera A., Almanza E., Tejedor A., Fernández-Alba A., Malato S., Maldonado M.I. **“Photocatalytic Pilot Scale Degradation Study of Pyrimethanil and of its main Degradation Products in Water by Means of Solid-Phase Extraction Followed by Gas and Liquid Chromatography with Mass Spectrometry Detection”**. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 1563-1571, 2000a.
- Agüera A., Piedra L., Hernando M.D., Fernández-Alba A. Contreras, C. **“Splitless Large-volume GC-MS Injection for the Analysis of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides in Vegetables using a Miniaturised Ethyl acetate Extraction”**. *Analyst*, **814**, 133-150, 2000b.
- Agüera A., Piedra L., Hernando M.D., Fernandez-Alba A.R. **“Multiresidue Method for the Analysis of five Antifouling Agents in Marine and Coastal Waters by Gas Chromatography-Mass Spectrometry with Large-Volume Inyección”**. *J. Chromatog. A.*, **889**, 261-269, 2000c.
- Ajona J.A., Vidal A. **“The use of CPC Collectors for Detoxification of Contaminated Water: Design, Construction and Preliminary Results”**. *Solar Energy*, **68(1)**, 109-120, 2000.
- Alberdi J. L., Saenz M. E., Di Marzio W. D., Tortorelli M. C. **“Comparative Acute Toxicity of two Herbicide, Paraquat and Glyphosate to *Daphnia Magna* and *Daphnia spinulata*”**. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **57** (2), 229-235, 1996.
- Albert L.A. **“Los Plaguicidas Persistentes y sus Efectos a Largo Plazo”**. *II Simposio Internacional Sobre Agricultura Sostenible*. México D.F, 1998.
- Al-Ekabi H., Butters B., Delany D., Ireland J., Lewis N., Powell T., Story J. **“TiO<sub>2</sub> Advanced Photo-oxidation Technology: Effect of Electron Acceptors”**. *Photocatalytic Purification and Treatment of Water and Air*, D. Ollis and H. Al-Ekabi (eds.), Elsevier Science Publishers, 321-335, Amsterdam 1993.

- Alfano O.M., Bahnemann D., Cassano A.E., Dillert D., Goslich R. **“Photocatalysis in Water Environments using Artificial and Solar Light”**. *Catalysis Today*, **58**, 199-230, 2000.
- Alfano O.M., Cassano A.E., Brandi R.J., Rintoul G. **“Photocatalytic Reactors. Reaction Kinetics In A Flat Plate Solar Simulator”**. *Catalysis Today*, in press. 2002.
- Almanza G., Cruz L.E., Díaz Baez M.C. **“Rapid Toxicity of Water-soluble Chemicals using a Fed-batch Reactor Technique”**. *Environ. Toxicol. Water.Qual.*, **11(3)**, 273-276, 1996.
- Al-Sayyed, G., D'Oliveira J.C., Pichat P. **“Semiconductor-sensitized Photodegradation of 4-Chlorophenol in Water”**. *J. Photochem. Photobiol.*, **58**, 99-114, 1991.
- Amalric A., Guillard C., Pichat P. **“The GC-MS Identification of Some Aliphatic Intermediates from the TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Degradation of Dimethoxybenzenes in Water”** *Res. Chem. Intermed.* **21(1)**, 33-46, 1995.
- Anderson J.V., Link H., Bohn M., Gupta B. **“Development of U.S. Solar Detoxification Technology: An Introduction”**. *Solar En. Mat.*, **24**, 538-549, 1991.
- Andreozzi R., D'Apuzzo A., Marotta R. **“A Kinetic Model for the Degradation of Benzothiazole by Fe<sup>3+</sup> Photo-Assisted Fenton Process in a Completely mixed batch Reactor”**. *J. Hazard. Mat.*, **D80**, 241-257, 2000.
- Andreozzi R., Caprio V., Insola A., Marotta R. **“Advanced Oxidation Processes (AOP) for Water Purification and Recovery”**. *Catalysis Today*, **53**, 51-59, 1999.
- Arnold S.M., Talaat R.E., Hickey W.J., Harris R.F. **“Identification of Fenton's reagent-generated Atrazine degradation products by HPLC and megafLOW Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry”** *J. Mass Spectrom.* **30**, 452-460, 1995.
- Angelaski A.N., Marekos M.H.F., Bontoux L., Asano T. **“The Estatus of Wastewater reuse Practice in the Mediterranean basin: Need for Guidelines”**. *Wat. Res.*, **33 (10)**, 2201-2217, 1999.
- Arancibia-Bulnes C.A., Bandala E.R., Estrada C.A. **“Radiation Absorption And Rate Constants For Carbaryl Photocatalytic Degradation In A Solar Collector”**. *Catalysis Today*, in press. 2002.
- ASTM: American Society for Testing and Materials, **“Standard Tables for Terrestrial Direct Normal Solar Spectral Irradiance for Air Mass 1.5”**. Designation: E891-87. 1987a.
- ASTM: American Society for Testing and Materials, **“Standard Tables for Terrestrial Solar Spectral Irradiance at Air Mass 1.5 for a 37° Tilted Surface”**. Designation: E892-87. 1987b.
- AWWA. **“Standard Methods for the examination of water and wastewater”**. 16<sup>th</sup> Ed. Washington, 1985.
- Bahnemann D.W., Bockelmann D., Goslich R. **“Mechanism Studies of Water Detoxification in Illuminated TiO<sub>2</sub> Suspensions”**. *Solar En. Mat.*, **24**, 564-583, 1991a.

- Bahnemann D.W., Bockelmann D., Goslich R. **“Mechanism of Organic Transformations on Semiconductor Particles”**. *Photochemical Conversion and Storage of Solar Energy*. E. Pelizzetti and M. Schiavello (eds.), Kluwer Academic Publish. 251-276, 1991b.
- Bahnemann D.W., Bockelmann D., Goslich R., Hilgendorff M., Weichgrebe D. **“Photocatalytic Detoxification: Novel Catalyst, Mechanism and Solar Applications”**. *Photocatalytic Purification and Treatment of Water and Air*, D. Ollis and H. Al-Ekabi (eds.), Elsevier Science Publishers, 301-319, Amsterdam 1993.
- Bahnemann D.W., Cunningham J., Fox M.A., Pelizzetti E., Serpone N. **“Photocatalytic Detoxification of Polluted Aquifers: Novel Catalyst and Solar Applications”**. *Aquatic and Surface Photochemistry*. G.R. Helz, R.G. Zepp and D.G. Crosby (eds.). Lewis Publishers. 349-368, 1994a.
- Bahnemann D.W., Cunningham J., Fox M. A., Pelizzetti E., Serpone N. **“Photocatalytic Treatment of Water”**. *Aquatic and Surface Photochemistry*. G.R. Helz, R.G. Zepp and D.G. Crosby (eds.). Lewis Publishers, 261-316, 1994b.
- Balmer M.E., Sulzberger B. **“Atrazine Degradation in Irradiated Iron/Oxalate Systems: Effects of pH and Oxalate”**. *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 2418-2424, 1999.
- Balogh M.P. **“Commercialization of LC-MS 1987-1997 : A Successful Decade in Review “**. *LC GC Int.*, **10**, 728, 1997.
- Bandala E.R., Octaviano J.A., Albitzer V., Torres L.G. **“Designing and Applying Treatment Technologies”**. Wickramanayake G.B. y Hincee R.E. (Eds). Battelle Press. Columbus, Ohio, USA, 177-182. 1998.
- Bandara J., Morrison C., Kiwi J., Pulgarin C., Peringer P. **“Degradation / decoloration of concentrated solutions of Orange II. Kinetics and quantum yield for sunlight induced reactions via Fenton type reagents”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **99**, 57-66, 1996.
- Barbeni M., Minero C., Pelizzetti E., Borgarello E., Serpone N. **“Chemical Degradation of Chlorophenols with Fenton's Reagent (Fe<sup>2+</sup>+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)”**. *Chemosphere*, **16 (10-12)**, 2225-2237, 1987.
- Barceló D., Hennion M.C. **“Multidetermination of PCBs and Pesticides by use of a dual GC Column-Dual Detector Systems - Comments”**. *Chromatographia*, **35(3-4)**, 241-243, 1993a.
- Barceló D., Durand G., DeBertrand N. **“Photodegradation Of The Organophosphorus Pesticides Chlorpyrifos, Fenamiphos And Vamidothion In Water”**. *Toxicol. Environ. Chem.*, **38**, 183-199, 1993b.
- Barceló D., Chiron S., Fernández-Alba A., Valverde A., Alpendurada M.F. **“Herbicide Metabolites in surface water and groundwater”**. Eds. M.T. Meyer and E.M. Thurman, American Chemical Society, 237, 1996.
- Barceló D., Hennion M.C., Trace L. **“Determination of Pesticides and their Degradation Products in Water”**. Elsevier, 1997.

- Basheer S., Vasudev V., Venu R., Guruprasad K.P. and Harish S.K. **“Toxic Effects of a Recently Introduced Carbamate Pesticide, Dunet (Methomyl) on *Drosophila melanogaster*”**. *J. Environ. Biol.*, **20(2)**, 135-139, 1999.
- Bauer R. **“Applicability of Solar Irradiation for Photochemical Wastewater Treatment”**. *Chemosphere*, **29(6)**, 1225-1233, 1994.
- Bauer R., Fallmann H. **“The Photo-Fenton Oxidation – a Cheap and Efficient Wastewater Treatment Method”**. *Res. Chem. Intermed.*, **23(4)**, 341-354, 1997.
- Bauer R., Waldner G., Fallmann H., Hager S., Klare M., Krutzler T., Malato S., Maletzky P. **“The Photo-Fenton Reaction and the TiO<sub>2</sub>/UV Process for Waste Water Treatment – Novel Developments”**. *Catalysis Today*, **53**, 131-144, 1999.
- Baumann P., Baumann L., Bang S.S., Woolkalis M.J. **“Revaluation of the taxonomy of *Vibrio*, *Beneckeia* and *Photobacterium*: Abolition of the genus *Beneckeia*”**. *Current Microbiology*, **4**, 127-132, 1980.
- Benfenati E., Facchini P., Pierucci P., Fanelli R. **“Identification of organic contaminants in leachates from industrial waste landfills”**. *Trends Anal. Chem.* **15**, 305, 1996.
- Benoit-Guyod L., Crosby D.G., Bowers J.B. **“Degradation of MCPA by ozone and light”**. *Wat. Res.*, **20 (1)**, 67-72, 1986.
- Bernal J.L., Nozal M.J., Martín M.T., Jiménez J.J. **“Possibilities of Gas Chromatography-Atomic Emission Detection in Pesticide Multiresidue Analysis. Application to Herbicide Analysis in Soils”**. *J. Chromatography A*, **754**, 245-256, 1996.
- Bernal J.L., Nozal M.J., Atienza J., Jiménez J.J. *Chromatographia*, **35**, 243, 1993.
- Bernal J.L., Nozal M.J., Atienza J., Jiménez J.J. **“Multidetermination Of PCBs And Pesticides By Use Of A Dual GC Column-Dual Detector System”**. *Chromatographia*, **33**, 67-76, 1992.
- Bianco-Prevot A., Vicenti M., Banciotta A., Pramauro E. **“Photocatalytic and Photolytic Transformation of Chloramben in Aqueous Solutions”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **22(2)**, 149-158, 1999a.
- Bianco-Prevot A., Pramauro E. **“Analytical Monitoring of Photocatalytic Treatments. Degradation of 2,3,6-Trichlorobenzoic acid in Aqueous TiO<sub>2</sub> Dispersions”**. *Talanta*, **48**, 847-857, 1999b.
- Bjerggaard Pedersen S., Greibrokk T. **“N-, O- and P-Selective on-Column Atomic Emission Detection in Capillary Gas Chromatography”**. *J. Chromatography A*, **686**, 109, 1994.
- Blake D.M. (a) **“Bibliography of Work on the Photocatalytic Removal of Hazardous Compounds from Water and Air”**. (b) **“Update Number 1 To June 1995”**. (c) **“Update Number 2 To October 1997”**. (d) **“Update Number 3 To January 1999”**. (e) **“Update Number 4 to October 2001”**. National Technical Information Service, US Dep. of Commerce, Springfield, VA22161, USA, 1994, 1995, 1997, 1999 y 2001.

- Blake D.M., Magrini-Bair K., Wolfrum E. **“Material Issues in Solar Detoxification of Air and Water”**. *Optical Materials Tech. for Energy Efficiency and Solar Energy Conversion XV*. Lampert C.M., Granquist C.G., Gratzel M. and Deb S.K. (Eds.), The Intern. Soc. for Optical Eng., 154-162, 1997.
- Blake D., Webb J., Turchi C., Magrini K. **“Kinetic and Mechanistic Overview of TiO<sub>2</sub> Photocatalyzed Oxidation Reactions in Aqueous Solution”**. *Solar En. Mat.*, **24**, 584-593, 1991.
- Blanco J. **“Detoxification Project. Initial Parameters”**. Plataforma Solar de Almería. Report **5/90**, 1990a.
- Blanco J., Malato S. **“Initial configuration of the PSA solar detoxification loop”**. Plataforma Solar de Almería. Report **16/90**, 1990b.
- Blanco J., Malato S. **“Descripción de un Lazo de Destoxificación Solar para ser Implantado en la Plataforma Solar de Almería”**. *V Congreso Ibérico de Energías Renovables*. ISES. Madrid. Octubre 1990c.
- Blanco J., S. Malato. **“Tecnología de Fotocatálisis Solar”**. Cuadernos Monográficos 31. Instituto de Estudios Almerienses de la Diputación de Almería. Almería, España, 1996.
- Blanco J., Malato S., de las Nieves F.J., Fernández-Ibañez P. **“Sedimentation Method for Colloidal Semiconductor Particles”**. CIEMAT and University of Almería, Spain, *EU Patent P9902508*. 1999.
- Blanco J., Malato S., Maldonado M.I., Fallmann H., Krutzler T., Bauer R. **“Techno-economical Assessment of Solar Detoxification Systems with Compound Parabolic Collectors”**. *J. Phys.*, **IV (3)**, 259-264, 1999b.
- Blanco J., Malato S., Fernández P., Vidal A., Morales A., Trincado P., Oliveira J. C., Minero C., Musci M., Casalle C., Brunotte M., Tratzky S., Dischinger N., Funken K.-H., Sattler C., Vincent M., Collares-Pereira M., Mendes J. F., Rangel C.M. **“Compound Parabolic Concentrator Technology Development to Commercial Solar Detoxification Applications”**. *Solar Energy*, **67(4-6)**, 317-330, 2000.
- Blanco J., Malato S. **“Solar Detoxification”**. UNESCO, Natural Sciences, WORLD SOLAR PROGRAMME 1996-2005 (<http://www.unesco.org/science/wsp>), 300 páginas. 2001.
- Blanco J., Malato S. **“Solar Photocatalysis: Application to the Treatment of Pesticides in Water”**. *Water Recycling and Resource Recovery in Industry: Analysis, Technologies and Implementation*, P. Lens L. Hulshoff, P. Wildener and T. Asano (eds.), IWA Publish., London, Chapter 30, UK, 2002a.
- Blanco J. **“Desarrollo de Colectores Solares sin Concentración para Aplicaciones Fotoquímicas de Degradación de Contaminantes Persistentes en Agua”**. Tesis Doctoral, Universidad de Almería, 2002b.
- Blasco C, Picó Y., Mañes J., Font G. **“Determination of Fungicide Residues in Fruit and Vegetables by Liquid Chromatography- Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry”**. *J. Chromatography A*, **947**, 227-235, 2002.

- Blesa M.A. **“Introducción: Eliminación de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogénea”**. *Usos de ácidos semiconductores y materiales relacionados para aplicaciones medioambientales y ópticas.*, M.A. Blesa Eds., Digital Gráfico, xi-xiv, La Plata, Argentina, 2001.
- Bockelmann D., Weichgrebe D., Goslich R., Bahnemann D. **“Concentrating versus non-Concentrating Reactors for Solar Water Detoxification”**. *Sol. Energ. Mat. Sol. Cells.*, **38**, 441-451, 1995.
- Bonsen E.M., Schroeter S., Jacobs H., Broekaeet J. A. C. **“Photocatalytic Degradation of Ammonia with TiO<sub>2</sub> as Photocatalyst in the Laboratory and under the use of Solar Radiation”**. *Chemosphere*, **35(7)**, 1431-1445, 1997.
- Borello R., Minero C., Pramauro E., Pelizzetti E., Serpone N., Hidaka H. **“Photocatalytic Degradation of DDT Mediated in Aqueous Semiconductor Slurries by Simulated Sunlight”**. *Environ. Toxicol. Chem.*, **4**, 997-1002, 1989.
- Borthen J., Leviten D. **“Making Solar Detoxification of Contaminated Groundwater a Reality”**. *Solar Eng.*, **1**, 57-63. ASME, 1992.
- Bossi R., Vejrup KV, Mogensen BB. **“Analysis of Polar Pesticides in Rainwater in Denmark by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry”**. *J. Chromatography A*, **957 (1)**, 27-36, 2002.
- Botton H.J., Girvin D.C., Plymale A.E., Harvey S.D., Workman D.J. **“Degradation of Metalnitrioloacetate Complexes by Chelatobacter Heintzii.”** *Environ. Sci. Technol.*, **30(3)**, 931-938, 1996.
- Braslavsky S.E., Houk K.N. **“Glossary of Terms used in Photochemistry”**. *Pure Applied Chem.*, **60**, 1055, 1988.
- Brillas E., Sauleda E., Casado J. **“Degradation of 4-chlorophenol by Anodic Oxidation, Electro-Fenton, Photoelectro-Fenton and Peroxi-Coagulation Processes”**. *J. Electrochem. Soc.*, **145(3)**, 759-765, 1998.
- Buxton G.V., Greenstock C.L., Helman W.P., Ross A.B. **“Critical-Review Of Rate Constants For Reactions Of Hydrated Electrons, Hydrogen-Atoms And Hydroxyl Radicals (OH<sup>•</sup>/O<sup>•-</sup>) In Aqueous-Solution”**. *J. Phys. Chem. Data*, **17**, 513-886, 1988.
- Callahan M.A., Slimak M., Gbel N. **“Water Related Environmental Fate of 129 Priority Pollutants”**, Report EPA-44014-79-029a, b, NTIS, 1979.
- Calza P., Minero C., Hiskia A., Papaconstantinou E., Pelizzetti E. **“Photocatalytic transformation of CCl<sub>3</sub>Br, CBr<sub>3</sub>F, CHCl<sub>2</sub>Br and CH<sub>2</sub>BrCl in aerobic and anaerobic conditions”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **29**, 23-34, 2001.
- Carsel R.F. y col., **“The Pesticide Root Model (PRZM): a Procedure for Evaluating Pesticide Leaching Threats to Groundwater”**. *Ecological Modelling*, **30**, 49-69, 1985.
- Cassano A.E., Alfano O.M. **“Reactor Engineering of Suspended Solids Heterogeneous Photocatalytic Reactors”**. *Catal. Today*, **58**, 167-197, 2000.

- Castillo M., Domingues R., Alpendurada M.F., Barceló D. "Persistence of Selected Pesticides and their Phenolic Transformation Products in Natural Waters using off-line Liquid Solid Extraction Followed by Liquid Chromatographic Techniques". *Analytica Chimica Acta*, **353(1)**, 133-142, 1998.
- Castillo M, Puig D, Barcelo D. "Determination of Priority Phenolic Compounds in Water and Industrial Effluents by Polymeric Liquid-solid Extraction Cartridges using Automated Sample Preparation with Extraction Columns and Liquid Chromatography. Use of Liquid-solid Extraction Cartridges for Stabilization of Phenols". *Journal of Chromatography A.*, **778 (1-2)**, 301-311, 1997.
- Caux P., Menard L., Kent R.A. "Comparative Study of the Effects of MCPA, Butylate, Atrazine and Cyanazine on *Selenastrum Capricornotum*". *Environ. Pollut.*, **92(2)**, 219-225, 1996.
- Celebi S., Simsek G. "Testing for Heavy Metal Toxicity using Bacteria". *Fresenius Environ. Bull.*, **5(11/12)**, 712-717, 1996.
- Centi G., Perathoner S., Torre T., Verduna M.G. "Catalytic wet Oxidation with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> of Carboxylic acids on Homogeneous and Heterogeneous Fenton-type Catalysts". *Catalysis Today*, **55**, 61-69, 2000.
- Chang J.C., Taylor P.B., Leach F.R. "Use of the Microtox Assay System for Environmental Samples". *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **26**, 150-156, 1981.
- Chen T., Doong R., Lei W. "Photocatalytic Degradation of Paration in Aqueous TiO<sub>2</sub> Dispersion, The Effect of Hydrogen Peroxide and Light Intensity". *Wat. Sci. Technol.*, **37(8)**, 187-194, 1998.
- Cheremisinoff P.N. "Handbook of Water and Wastewater Treatment Technology". Marcel Dekker, Inc., 1995.
- Chiarenzelli J.R., Scudato R.J., Rafferty D.E., Wunderlich M.L., Roberts R.N., Pagano J.J., Yates M. "Photocatalytic Degradation of Simulated Pesticides Rinsates in Water and Water Soil Matrices". *Chemosphere*, **30(1)**, 173-185, 1995.
- Chiron S., Martínez E., Barceló D. "On-line and Off-line Sample Preparation of Acidic Herbicides and Bentazone Transformation Products in Estuarine Waters". *J. Chromatogr. A.* , **665**, 283-293, 1994.
- Chiron S., Valverde A., Fernandez-Alba A.R., Barceló D. "Automated Sample Preparation for Monitoring Groundwater Pollution by Carbamate Insecticide and Their Transformation Products." *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **78**, 1346-1360, 1995a.
- Chiron S., Abian J., Ferrer M., Sanchez-Baeza F., Messegueur A., Barceló D. "Comparative Photodegradation rates of Alachlor and Bentazone in Natural Water and Determination of Breakdown Products". *Environ. Toxicol. Chem.*, **14 (8)**, 1287-1298, 1995b.
- Chiron S., Torres J.A., Fernandez-Alba A.R., Alpendura M.F., Barceló D. "Identification of Carbofuran and Methiocarb and their Transformation Products in Estuarine Waters by on-line Solid Phase Extraction Liquid Chromatography-Mass Spectrometry". *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **65**, 1-16, 1996.

- Chiron S., Rodríguez A., Fernández-Alba A.R. **“Pesticide Chemical Oxidation Processes: an analytical Approach”**. *Trends Anal. Chem.*, **16 (9)**, 518, 1997.
- Chiron S., Rodríguez A., Fernández-Alba A.R. **“Application of Gas and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry to Evaluate Pirimiphos Methyl Degradation Products in Industrial Water under Ozone Treatment”**. *J. Chromatogr. A*, **823**, 97-107, 1998.
- Chiron S., Rodríguez A., Fernández-Alba A.R. **“Pesticide Chemical Oxidation: State-of-the-Art”**. *Water Research*, **34(2)**, 366-377, 2000.
- Chirón S., Rodríguez A., Fernández-Alba A.R. **“Ozonation of Formulated Acrinathrin in Water. Identification of By-Products by Gas Chromatography Ion Trap Mass Spectrometry”**. Pendiente de Publicar.
- Chukwudebe A., March R.B., Othman M., Fukuto T.R. **“Formation of Trialkyl Phosphorothioate Esters from OPs Insecticides after Exposure to either Ultraviolet Light or Sunlight”**. *J. Agric. Food Chem.*, **37**, 539-545, 1989.
- Ciemat. **“Tecnologías Energéticas e Impacto Ambiental”**. McGraw-Hill/Interamericana España S.A.D. 2001a.
- Ciemat. **“Solar Thermal Electricity Generation”**. Editorial CIEMAT, 2001b.
- Ciemat. **“Industrial Applications of Solar Chemistry”**. Editorial CIEMAT, 2001c.
- Comisión Europea: **“Work Programme for Environment and Sustainable Development”**. *Programme of Research for Technology Development and Demo*. V Framework Programme.
- Key Action 1: Sustainable Management and Quality of Water.
  - Key Action 2: Global Change, Climate and Biodiversity.
  - Key Action 3: Sustainable Marine Ecosystems.
- Comisión Europea: **“Working Paper on Risk Management”**. Directorate General III, Brussels, 1997.
- Comisión Europea. **“Freshwater. A Challenge for Research and Innovation. A Concerted European Response”**. DG XII, EUR 18098, 1998a.
- Comisión Europea. **“Europe’s Environment, the second Assessment: an Overview”**. European Environmental Agency, 1998b.
- Comisión Europea. **“EU Focus on Clean Water”**. 1999a.
- Comisión Europea: **“Guidelines to a Sustainable Agriculture”**. Communication to the Council 1999/C 173/02. *Official Journal of European Communities*. 19<sup>th</sup> June 1999b.
- Comisión Europea: **“Further Development of Community Environmental Policy and the Creation of a Ecological Union”**. Opinion of the Committee of the Regions. 1999/C 198/30. *Official Journal of European Communities*. 14<sup>th</sup> July 1999c.

Comisión Europea. **“Socio-Economic Impacts of the Identification of Priority Hazardous Substances under the Water Framework Directive”**. Directorate-General Environment, 2000a.

Comisión Europea. **“Pricing policies for Enhancing the Sustainability of Water Resources”**. *Communication from the Commission to the Council, the European Parliament and the Economic and Social Committee*. COM (2000) 477 final, Commission of the European Communities, Brussels, 26 July, 2000b.

Comisión Europea: **“Indicative List of Active Substances on the Market in Plant Protection Products on 25 July 1993 (Article 4 of Council Directive 91/414/EEC) and their Present Authorisations in the Member States”**. [http://europa.eu.int/comm/food/fs/ph\\_ps/pro/eva/existing/exis02\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/ph_ps/pro/eva/existing/exis02_en.pdf), Brussels, 2000c.

Comisión Europea: **“Modified Proposal for a Procedure for the Identification of Priority Hazardous Substances in Accordance to Article 16(3) of the Water Framework Directive”**. *Final Draft* (Working Document ENV/191000/01 of 19 October 2000), DG Environment, Unit E.1, Brussels, 2000d.

Comisión Europea. **“Establishing the List of Priority Pollutants in the Field of Water Policy and Amending Directive 2000/60/EC”**. *Official Journal of the European Communities*. Decision No 2455/2001/EC of the European Parliament and of the Council, L 331/1, 15.12.2001, 2001a.

Comisión Europea. **“Environment 2010: Our Future, Our Choice”**. Presented by Environment Commissioner, 24 January 2001b.

Comment [FPA1]: No está en el cadox

Congresos AOPs (más actuales):

- 2nd Int. Conf. on Oxidation Technologies of Water and Wastewater Treatment. **Cutec Institut GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Germany, 29-31 May 2000.**
- Workshop on Catalytic Processes for Clean Chemistry and Water and Air Depollution. **International Center for Science and High Technology of the United Nations Industrial development Organisation (ICS-UNIDO), Hammamet, Tunisia, 19-22 Nov. 2000.**
- The 2nd European Workshop on Water, Air and Soil Treatment by Advanced Oxidation Technologies: Innovative and Commercial Applications. **Ecole Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers (ESIP), Université de Poitiers, France. February 28 – March 2, 2001.**
- 2nd European Meeting on Solarchemistry and Photocatalysis: Environmental Applications. **Saint-Avold, France, 27 al 31 de Mayo del 2002.**
- The Eighth International Conference on: Advanced Oxidation Technologies for Water and Air Remediation. **Sheraton Centre Toronto Hotel, Toronto, Ontario, Canada, 17 al 21 de Noviembre del 2002.**
- 3rd Conference on Oxidation Technologies for Water and Wastewater Treatment. **Special Topic: AOPs for Recycling and Reuse, Goslar, Germany, 18 al 22 de Mayo del 2003.**

Connell W. **“Basic Concepts of Environmental Chemistry”**. Lewis Publishers, 1997.

- Cooke M., Leathard D.A., Webster C., Rogerson V. **“Element-Selective Detection Using Capillary Gas-Chromatography With Atomic-Emission Detection”**. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **16**, 660-662, 1993.
- Coombe V.T., Moore K.W., Hutchings M.J. **“The use of Toxicity Identification Evaluation on an Industrial Effluent Discharges”**. *Toxic Impact of Wastes on the Aquatic Environment*. Tapp J.F., Hunt S.M., Wharfe J.R. Eds., Loughborough, **Apr** 1996, 208-216, 1996.
- Cox K.A., Cleven C.D., Cooks R.G. **“Mass Shifts and Local Space Charge Effects Observed in the Quadrupole Ion Trap at Higher Resolution”**. *Int. J. Mass Spectrom.*, **144 (1-2)**, 47-65, 1995.
- Craig D. Adams, Randtke S. J. **“Ozonation by Products of Atrazine in Synthetic a Natural Waters”**. *Environ. Sci. Technol.*, **26 (11)**, 2218-2227, 1992.
- Cullington J.E., Watker A. **“Rapid Biodegradation of Diuron and other Phenylurea Herbicides by a Soil Bacterium”**. *Soil, Biol. Biochem.*, **31 (5)**, 677-686, 1999.
- Cunningham J., Al-Shayyed G., Sedlak P., Caffrey J. **“Aerobic and Anaerobic TiO<sub>2</sub>-Photocatalyze Purifications of Water Containing Organic Pollutants”**. *Catalysis Today*, **53**, 145-148, 1999.
- Curcó D., Malato S., Blanco J., Giménez J. **“Photocatalysis and Radiation Adsorcion in a Solar Plant”**. *Sol. En. Mat. Sol. Cell.*, **44**, 199-217, 1996a.
- Curco, D., Malato, S., Blanco, J., Gimenez, J., Marco, P. **“Photocatalytic Degradation of Phenol: Comparison between Pilot Plant Scale and Laboratory Results”**. *Solar Energy*, **56(5)**, 387-400, 1996b.
- Curcó D., Giménez J., Addardak A., Cervera-March S., Esplugas S. **“Effects Of Radiation Absorption And Catalyst Concentration On The Photocatalytic Degradation Of Pollutants”**. *Catalysis Today*, **In press**. 2002.
- Daoxin Y. **“Sunlight Photocatalytic Degradation of O-Chloroaniline”**. *Wat. Qual. Res. J. Canada*, **30(1)**, 61-67, 1995.
- Day M. L., Hogmire H. W., Brown M. W. **“Biology and Management of Rose Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) on Apple in West Virginia”**. *J. Econom Entomol.*, **88 (4)**, 1012, 1995.
- Deanovic L., Connor L.V.M., Knight A.W., Maier K.J. **“The use of Bioassays and Toxicity Identification Evaluation (TIE) Procedures to assess Recovery and Effectiveness of Remedial Activities in a Mine Drainage-Impacted Stream System”**. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **36(1)**, 21-27, 1999.
- DeCoursey D.G. **“Proceedings of the International Symposium on Water Quality Modeling of Agricultural Non-Point Sources”**. *U.S.D.A., Agricultural Research Service*, Part **1-2**, 1988.
- De Moraes S.G., Freire R.S., Duran N. **“Degradation and Toxicity Reduction of Textile Effluent by Combined Photocatalytic and Ozonation Proceses”**. *Chemosphere*, **40(4)**, 369-373, 1999.
- Dempsey Cl.R., Oppelt E.R. **“Incineration of Hazardous Waste: A Critical Review”**. *Air and Waste*, **43**, 25-73, 1993.

- Dewey J.E. J. *Agric. Food Chem.*, **6**, 274, 1958.
- Díaz-Baez M.C., Roldan F. **“Evaluation of the Agar Plate Method for Rapid Toxicity Assessment with some Heavy Metals and Environment Samples”**. *Environ. Toxicol. Water. Qual.*, **11 (3)**, 259-263, 1996.
- Dietrich R.F., Ryan D.L. **“Metabolism of Methomyl by Lactating Goats and Laying Hens 2. Isolation and Identification of Novel Metabolites”**. *213<sup>th</sup> National Meeting of the American Chemical Society*, San Francisco, CA., 1997
- Dillert R., Cassano A.E., Goslich R., Bahnemann D. **“Large Scale Studies in Solar Catalytic Wastewater Treatment”**. *Catalysis Today*, **54**, 267-282, 1999a.
- Dillert R., Cassano A.E., Goslich R., Bahnemann D. **“Light-Induced Degradation of Nitroaromatic Compounds in Aqueous Systems: Comparison between Titanium Dioxide Photocatalysis and Photo-Fenton Reactions”**. *J. Adv. Oxid. Technol.*, **4(1)**, 85- 90, 1999b.
- D'Oliveira J.C., Minero C., Pelizzetti E., Pichat P. **“Photodegradation of Dichlorophenols and Trichlorophenols in TiO<sub>2</sub> Aqueous Suspensions: Kinetic Effects of Positions of the Cl Atoms and Identification of the Intermediates”**, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **72**, 261-267, 1993a.
- D'Oliveira J.C., Guillard Ch., Maillard C., Pichat P. **“Photocatalytic Destruction of Hazardous Chlorine- or Nitrogen-Containing Aromatics in Water”**. *J. Environ. Sci. Health*, **A28 (4)**, 941-962, 1993b.
- Doong R., Chang W. **“Photoassisted Titanium Dioxide Mediated Degradation of Organophosphorus Pesticides by Hydrogen Peroxide”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **107**, 239-244, 1997.
- Doong R., Chang W. **“Photoassisted Iron Compound Catalytic Degradation of Organophosphorous Pesticides with Hydrogen Peroxide”**. *Chemosphere*, **37(13)**, 2563-2572, 1998.
- Draper WM. **“Electrospray Liquid Chromatography Quadrupole Ion Tramp Mass Spectrometry Determination of Phenyl-urea Herbicides in Water”**. *J. Agr. Food. Chem.*, **49 (6)**, 2746-2755, 2001.
- Durand G., Abad J.L., Sanchez Baeza F., Messeguer A., Barceló D. **“Unequivocal Identification of Compounds Formed in the Photodegradation of Fenitrothion in Water/Methanol and Proposal of Selected Transformation Pathways”**. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 814, 1994.
- Eckenfelder W.W. **“Industrial Water Pollution Control”**. McGraw-Hill. New York, 1989.
- EEC: List of Council Directives 76/4647, European Economic Community, Brussels, Belgium, 1992
- EEC: **“The Existing Substances Regulation”**. Council Regulation n° 793/93.
- Eismann F., Montuelle B. **“Microbial Methods for Assessing Contaminants Effects in Sediments”** *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, **159**, 41-93, 1999.
- Egerton T.A., King C.J. **“The Influence of Light Intensity on Photoactivity in TiO<sub>2</sub> Pigmented Systems”**. *J. Oil Chem. Assoc.*, **62**, 386-391, 1979.

- El-Dib M.A., Abou-Waly H.R., El-Naby A.M.H. **“Impact of Fuel Oil on the Freshwater Alga *Selenastrum Capricornotum*”**. *Environ. Contam. Toxicol.*, **59(3)**, 438-444, 1997.
- El-Zawahry A.M., El-Sawy N.A., Missalem A.A. **“Some Toxicological Interaction Studies of Aflatoxin (produced in groundnuts) and some Insecticides”**. *J. Drug Res. Egypt*, **22(1/2)**, 259-278, 1998.
- Engwall M.A., Pignatello J.J., Grasso D. **“Degradation and Detoxification of the Wood Preservatives Creosote and Pentachlorophenol in Water by the Photo-Fenton Reaction”**. *Wat. Res.*, **33(5)**, 1151-1158, 1999.
- Ernst W., Doe K., Jonah P., Young J., Julien G., Hennigar P. **“The Toxicity of Chlorothalonil to Aquatic Fauna and the Impact of its Operational use on a Pond Ecosystem.”** *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **21(1)**, 1-9, 1991.
- Escuriola M. J., Morales-Rubio A., De la Guardia M. **“A Clean Analytical Method for the Spectrophotometric Determination of Formetanate Incorporating an on-line Microwave Assisted Hydrolysis Step”**. *Anal. Chim. Acta*, **390 (1-3)**, 147-154, 1999.
- Esplugas S., Ibarz A., Vicente M. **“Influence of Lamp Position on the Performance of the Annular Photoreactor”**. *The Chem. J.*, **27 (2)**, 107-111, 1983.
- Fallmann H., Krutzler T., Bauer R., Malato S., Blanco J. **“Applicability of the Photo-Fenton Method for Treating Water Containing Pesticides”**. *Catalysis Today*, **54**, 309-319, 1999a.
- Fallmann H., Krutzler T., Bauer R., Malato S., Blanco J. **“Detoxification of Pesticide Containing Effluents by Solar Driven Fenton Process”**. *Z. Phys. Chemie.*, **213**, 67-74, 1999b.
- Farré M., Pasini O., Alonso M.C., Castillo M., Barceló D. **“Toxicity Assessment of Organic Pollution in Wastewater using a Bacterial Biosensor”**. *Analytica Chimica Acta*, **426(2)**, 155-165, 2001.
- Farré M., García M.J., Tirapu L., Ginebreda C.A., Barceló D. **“Wastewater Toxicity Screening of non-ionic Surfactants by Toxalert® and Microtox Bioluminescence Inhibition Assays”**. *Analytica Chimica Acta*, **427(2)**, 181-189, 2001.
- Farrell A.P., Stockner E., Kennedy C.J. **“A Study of the Lethal Toxicity of polyphase P-100, an Antisapstain Fungicide containing 3-iodo-2-propynyl butyl Carbamate (IPBC), on Fish and Aquatic Invertebrates.”** *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **35(3)**, 472-478, 1998.
- Faucon J.C., Bureau R., Faisant J., Briens F., Rault S. **“Prediction of the Daphnia Acute Toxicity from Heterogeneous Data”**. *Chemosphere*, **44**, 407-422, 2001.
- Faust M., Altenburger R., Boedeker W., Grimme L.H. **“Additive Effects of Herbicide Combinations on Aquatic non-target Organisms.”** *The Science of the Total Environment*, Supplement., 1993.
- Feitz A.J., Boyden B.H., Waite T.D. **“Evaluation of two pilot scale fixed-bed photocatalytic reactors”**. *Wat. Res.*, **34(16)**, 3927-3932, 2000.
- Fenton H.J.H. **“Oxidation of Tartaric acid in Presence of Iron”**. *J.Chem. Soc.*, **65**, 889-910, 1884.

- Fernández-Alba A. R., Agüera A., Contreras M., Ferrer I., Peñuela G., Barceló D. **“Comparison of Various Sample Handling and Analytical Procedures for the Monitoring of Pesticides and Metabolites in Ground Waters”**. *J. Chromatogr. A*, **823**, 35-47, 1998.
- Fernández-Alba A.R., Hernando L., Díaz G., Chisti Y. **“Toxicity of Pesticides in Wastewater: a Comparative Assessment of Rapid Bioassays”**. *Anal. Chim. Acta*, **426**, 289-301, 2001.
- Fernandez-Alba A.R., Hernando M.D., Díaz-Lopez G., Chisti Y. **“Comparative Evaluation of the Effects of Pesticide in Acute Toxicity Luminescence Bioassays”**. *Analytica Chimica Acta*, **451**, 195-202, 2002a.
- Fernandez-Alba A.R., Hernando M.D., Díaz-Lopez G., Chisti Y. **“Toxicity of Pesticides in Wastewater: a Comparative Assessment of Rapid Bioassays”**. *Analytica Chimica Acta*, **426**, 289-301, 2002b.
- Fernández-Alba A.R., Hernando M.D., Piedra L., Chisti Y. **“Toxicity Evaluation of Single and Mixed Antifouling Biocides Measured with Acute Toxicity Bioassays”**. *Anal. Chim. Acta* **456**, 303-312, 2002c.
- Fernández-Casalderrey A., Ferrando M.D., Andreu-Moliner E. **“Effect of Sublethal Concentrations of Pesticides on the Feeding Behavior of Daphnia Magna.”** *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **27 (1)**, 82-89, 1994.
- Fernández-Ibáñez P., Malato S., De Las Nieves F. J. **“Relationship between TiO<sub>2</sub> Particle Size and Reactor Diameter in Solar Photodegradation Efficiency”**. *Catalysis Today*, **54**, 195-204, 1999.
- Fernández-Ibáñez P., de las Nieves F.J., Malato S. **“Titanium Dioxide/Electrolyte Solution Interface: Electron Transfer Phenomena”**. *J. Colloid Interf. Sci.*, **227**, 510-516, 2000a.
- Fernández-Ibáñez P., Blanco J., Malato S., de las Nieves F.J. **“Pilot-plant Scale Separation and Reuse of TiO<sub>2</sub> Photocatalyst in Degrading Reactions”**. *Entropy*, **228**, 22-26, 2000b.
- Ferrando M.D., Andreu-Moliner E., Fernández-Casalderrey A. **“Relative Sensitivity of Daphnia Magna and Brachionun Calyciflorus to five Pesticides.”** *J. Environ. Sci. Health B*, **27(5)**, 511-522, 1992.
- Ferrari J. A., Morse J. G., Georghiou G. P., Sun Y. **“Elevated Esterase Activity and Acetylcholinesterase Insensitivity in Citrus Thrips (Thysanoptera: Thripidae) Populations from the San Joaquin Valley of California”**. *J. Econom Entomol.*, **86 (6)**, 164, 1993.
- Ferrer I., Barceló D. **“LC-MS Methods for Trace Determination of Pesticides in Environmental Samples”**. *Analyses*, **26**, 118, 1998.
- Ferrer I., **“Ion Trap LC/MS/MS as a Research Tool for the Identification of Environmental Unknowns”**. *Abst. Anal. Chem.*, **223**, 004-Environ Part 1, 2002.
- Flhien O., Jeckel M. **“Comparison of Sorbents Using Semipolar to Highly Hydrophilic Compounds for a Sequential Solid-Phase Extraction Procedure of Industrial Wastewaters”**. *Anal. Chem.*, **68**, 3083-3089, 1996.
- Figuls M., Castane C., Gabarra R. **“Residual Toxicity of some Insecticides on the Predatory Bugs Dicyphus Tamaninii and Macrolophus Caliginosus”**. *Biocontrol*, **44 (1)**, 89-98, 1999.

- Fillion J., Hindle R., Seewyn J.J. **"Multiresidue Determination of Pesticide in Fruit and Vegetables by Gas Chromatography-Mass Selective Detection"**. *Assoc. Off. Anal. Chem.*, **74**, 554-565, 1995.
- Foster S., Thomas M., Korth W., *Austral. J. Ecotox.*, **4**, 53, 1998.
- Franch M., Ayllón J.A., Peral J., Doménech X. **"Photocatalytic Degradation of Short-chain Organic Diacids"**. *Catalysis Today*, in press, 2002.
- Freundenhammer H., Bahnemann D., Bousselmi L., Geissen S.U., Ghrabi A., Saleh F., Si-Salah A., Siemon U., Vogelpohl A. **"Detoxification and Recycling of Wastewater by Solar-Catalytic Treatment"**. *Water Sci. Technol.*, **35**(4), 149-156, 1997.
- Funken K.H., Sattler C., Milow B., de Oliveira L., Blanco J., Fernández P., Malato S., Brunotte M., Dischinger N., Tratzky S., Musci M., D'Oliveira J.C. **"A Comparison of Prototype Compound Parabolic Collector-Reactors (CPC) on the Road to Solardetox-Technology"**. *Wat. Sci. Technol.*, **44** (5), 271-278, 2001.
- Gal E., Aires P., Chamarro E., Esplugas S. **"Photochemical Degradation of Parathion in Aqueous Solutions"**. *Water Res.*, **26**(7), 911-915, 1992.
- Galadi A., Bitar H., Chanon M., Julliard M. **"Photosensitized Reductive Dechlorination of Chloroaromatic Pesticides"**, *Chemosphere.*, **30** (9), 1655-1669, 1995.
- Galadi A., Julliard M. **"Photosensitized Oxidative Degradation of Pesticides"**. *Chemosphere*, **33**(1), 1-15, 1996.
- Galassi S., Benfenati E. **"Fractionation and Toxicity Evaluation of Waste Waters"**. *Journal of Chromatography A.*, **889**, 149-154, 2000.
- Geis S.W., Fleming K.L., Korthals E.T., Searle G., Reynolds L., Karner D.A. **"Modifications to the Algal Growth Inhibition Test for use as a Regulatory Assay"**. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19** (1), 36-41, 2000.
- Geissbuhler H., Voss G. **"Pesticide Terminal Residues"**. Ed. A.S. Tahori, Butterworth, New York, 305-322, 1972.
- Geissbuhler H., Martín H., Voss G. **"Herbicides, Chemistry, Degradation and Mode of Action"**. Kearney P. C.A. and Kaufman D.D. (Eds.), Marcel Dekker, New York, 2<sup>nd</sup> Edn., **1**, 209-291, 1975.
- Ghosh S.K., Doctor P.B., Bhatnagar V.K., Yadav S., Derasari A. **"Response of Three Microbial Test Systems to Pesticides."** *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **58**, 482-488, 1997.
- Giménez J., Cervera S., Aguado M., Borrell L. **"Aprovechamiento Fotocatalítico de la Energía Solar en el Tratamiento de la Contaminación y Producción de Combustibles"**. *Era Solar*, **50**, 6-12, 1992.
- Giménez J., Aguado M., Cervera S., Borrell L., Curcó D., Queral M.A. **"Photoreactor Design for Photocatalytical Detoxification: Kinetic and Radiation Studies"**. ASME Intern. Solar En. Conf. San Francisco, USA. March 1994.

- Giménez J., Curcó D., Marco P. **“Reactor Modelling in the Photocatalytic Oxidation of Wastewater”**. *Water Sci. Tech.*, **35(4)**, 207-213, 1997.
- Giménez J., Curcó D., Queral M.A. **“Photocatalytic Treatment of Phenol and 2,4-dichlorophenol in a Solar Plant in the Way to Scaling-up”**. *Catalysis Today*, **54**, 229-244, 1999.
- Gjessing E.T., Källqvist T. **“Algicidal and Chemical Effect Of UV-Radiation of Water Containing Humic Substances”**. *Water Res.*, **25**, 491-494, 1991.
- Glaze, W.H., Kang, J.W. **“Advanced Oxidation Processes. Test of a Kinetic Model for the Oxidation of Organic Compound with Ozone and Hydrogen Peroxide in a Semibatch Reactor”**. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **28**, 1580-1587, 1989.
- Glaze W.H., Kenneke J.K., Ferry, J.L. **“Chlorinated Byproducts from the TiO<sub>2</sub>-mediated Photodegradation of Trichloroethylene and Tetrachloroethylene in Water”**. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 177-184, 1993.
- Gómez de Barreda D. y col. **“Survey of Herbicide Residues in Soil and Wells in Three Citrus Orchards in Valencia, Spain.”** *Weed Research*, **31**, 143-145, 1991.
- Goslich R., Bahnemann D., Schumacher H.W., Benz V. **“Solar Thermal Concentrating Technologies”**. *Proceedings of 8<sup>th</sup> Int. Symp.* Müller M., Becker M., Böhmer M. (Eds.), Köln, Germany, October 1996, C.F. Müller Verlag, Heidelberg, 1337-1353, 1997a.
- Goslich R., Dillert R., Bahnemann D. **“Solar Water Treatment. Principles and Reactors”**. *Wat. Sci. Tech.*, **35(4)**, 137-148, 1997b.
- Goswami D.Y., Blake D.M. **“Cleaning up with Sunshine”**. *Mech. Engin.* August, 56-59, 1996.
- Goswami D.Y., Sharma S.K., Mathur G.D., Jotshi C.K. **“Techno-Economic Analysis of Solar Detoxification Systems”**. *J. Solar En. Eng.*, **119**, 108-113, 1997.
- Grätzel C.K., Jirousek M., Grätzel M. **“Decomposition of Organophosphorous Compounds on Photoactivated TiO<sub>2</sub> Surfaces”**. *J. Mol. Cat.*, **60**, 375-387, 1990.
- Grout T. G., Richards G. I., Stephen P. R. **“Further Non-target Effects of Citrus Pesticides on Euseius Addoensis and Euseius Citri (Acari: Phytoseiidae)”**. *Exp. Appl. Acarol.*, **21 (3)**, 171-178, 1997.
- Grover R., **“Environmental Chemistry of Herbicides”**. Volume I. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 1988.
- Guíttonneau S., Momege A., Schafmeier C, Viac P.O., Meallier P. **“Etude comparative de la Dégradation du Bromoxynil et du Bromoxynil Heptanoate par Photolyse UV et par Oxydation Chimique (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV, O<sub>3</sub>, Cl<sub>2</sub>)”**. *Revue des Sciences de L'eau*, **8**, 201-216, 1995.
- Guillard C., Huber G., Hoang-Van C., Pichat P. **“Use of the TiO<sub>2</sub>-UV System to Detoxify Water Contaminated by Lindane (1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,4 $\alpha$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -Hexachlorocyclohexane)”**. *Contaminated Soil 95*, W.I. van den Brink, R. Busman and F. Arenat (Eds.). Kluwer Acad. Press, 1233-1234, 1995.

- Guillard C., Pichat P., Huber G., Hoang-Van C. **“The GC-MS Analysis of Organic Intermediates from the TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Treatment of Water Contaminated by Lindane”**. *J. Adv. Oxid. Technol.*, **1(1)**, 53-60, 1996.
- Guillard C., Disdier J., Herrmann J.M., Lehaut C., Chopin T., Malato S., Blanco J. **“Comparison of Various Titania Samples of Industrial Origin in the Solar Photocatalytic Detoxification of Water Containing 4-Chlorophenol”**. *Catalysis Today*, **54**, 217-228, 1999.
- Gustafson D.I. **“New Advances in Predicting Pesticide Fate and Transport”**. *Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects*. A. Copin, G. Houins, L. Pussemier and J.F. Salembier (Eds.), European Study Service, Rixensart, Belgium. 453-458, 1994.
- Haag W.R., Yao C.C.D. **“Rate Constant for Reaction of Hydroxyl Radicals with Several Drinking Water Contaminants”**. *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1005-1013, 1992.
- Haglund K. **“The use of algae in aquatic toxicity assessment”**. *Prog. Phycol. Res.*, **12**, 181-212, 1997.
- Hankemeier T., Hooijschuur E., Vreuls R., Brinkman U.A. Th, Visser T. **“Online Solid-Phase Extraction Gas-Chromatography Cryotrapping Infrared Spectrometry for the Tracelevel Determination of Microcontaminants in Aqueous Samples.”** *J. High Resolut. Chromatogr.*, **21**, 341-346, 1998.
- Harris D.C. **“Análisis Químico Cuantitativo”**. México, *Iberoamérica*, 1992.
- Hartgers E. M., Aalderink G. H., Van den Brink P. J., Gylstra R., Wiegman J. W. F., Brock T. C. M. **“Toxicological Threshold Levels of a Mixture of Herbicides (atrazine, diuron and metolachlor) in Freshwater Microcosms”**. *Aquatic Ecol.*, **32 (2)**, 135-152, 1998.
- Hawkins D.R., Mayo B.C., Pollard A.D., Haynes L.M. **“The Metabolism of [1-<sup>14</sup>C] Methomyl in Male Cynomolgus Monkeys”**. *DuPont International Report AMR 1902-90*, 1991.
- Hayo M.G., Van der Werf M. **“Assessing the Impact of Pesticides on the Environment”**. *Agric. Ecosys. Environ.*, **60**, 81-96, 1996.
- Hennion M-C, Coquart V. **“Comparison of Reversed-Phase Extraction Sorbents for the On-Line Trace Enrichment of Polar Organic Compounds in Environmental Aqueous Samples”**. *J. Chromatogr. A.* , **642**, , 211-225, 1993.
- Henze M., Harremoës P., La Cour Jansen J., Arvin E **“Wastewater Treatment: Biological and Chemical Processes”**. 3<sup>rd</sup> ed. Berlin :Springer-Verlag, 2000.
- Herrmann J.M., Disdier J., Pichat P., Malato S., Blanco J. **“TiO<sub>2</sub>-based Solar Photocatalytic Detoxification of Water Containing Organic Pollutants. Case Studies of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and of Benzofuran”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **17**, 15-23, 1998.
- Herrmann J.M. **“Heterogeneous Photocatalysis: Fundamentals and Applications to the Removal of various Types of Aqueous Pollutants”**. *Catalysis Today*, **53**, 115-129, 1999a.

- Herrmann J.M., Guillard C., Arguello M., Agüera A., Tejedor A., López S., Fernández-Alba A.R., **“Photocatalytic Degradation of Pesticide Pirimiphos Methyl. Determination of the Reaction Pathway and Identification of Intermediate Products by Various Analytical Methods”**. *Catal. Today*, **54**, 353-367, 1999b.
- Herrmann J.M. **“Water Treatment by Heterogeneous Photocatalysis”**. *Catal. Sci. Ser.*, **1** (Environ. Catal.), 171-194, 1999c.
- Herrmann J.M., Matos J., Disdier J., Guillard C., Laine J., Malato S., Blanco J. **“Solar Photocatalytic Degradation of 4-Chlorophenol Using the Synergistic Effect between Titania and Activated Carbon in Aqueous Suspension”**. *Catalysis Today*, **54**, 255-265, 1999d.
- Hernandez F, Sancho J.V, Pozo O. **“Rapid Direct Determination of Pesticides and Metabolites in Environmental Water Samples at sub- $\mu$  g/l level by on-line Solid-phase Extraction-liquid Chromatography-Electrospray tandem Mass Spectrometry”**. *J. Chromatography A*, **939 (1-2)**, 1-11, 2001.
- Hidaka H., Nohara K., Zhao J., Serpone N., Pelizzetti E. **“Photooxidative Degradation of the Pesticide Permethrin Catalysed by Irradiated TiO<sub>2</sub> Semiconductor Slurries in Aqueous Media”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **64**, 247-254, 1992.
- Higarashi M.M., Jardim W.F. **“Photocatalytic Treatment of Pesticide-contaminated Soil using solar Light and Titanium Dioxide”**. *Am. Lab.*, May, 25-26, 2000.
- Hoffmann M.R., Martin S.T., Choi W., Bahnemann D. **“Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis”**. *Chem. Rev.*, **95**, 69-96, 1995.
- Hogenboom A.C., Hofman M.P., Kok S.I., Niessen W M.A., Brinkman V.A. **“Determination of pesticide in vegetables using Large-Volume Injection Column Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry”**. *J. Chromatography A*, **892**, 379-396, 2000.
- Hoigné J., Bader H. **“Role Of Hydroxyl Radical Reactions In Ozonation Processes In Aqueous-Solutions”**. *Wat. Res.*, **10(5)**, 377-386, 1976.
- Hu R., Petay V., Fournier J. **“Determination of Formetanate Hydrochloride in Strawberries”**. *J. Agric. Food Chem.*, **44 (1)**, 181-184, 1996.
- Hua Z., Manping Z., Zongfeng X., Low G.K.C. **“Titanium Dioxide Mediated Photocatalytic Degradation of Monocrotophos”**. *Wat. Res.*, **29 (12)**, 2681-2688, 1995.
- Huhtanen K., Dorough W. *Pest. Biochem. Physiol.*, **6**, 571-583, 1976.
- Hulstrom R., Bird R., Riordan C. **“Spectral Solar Irradiance Data Sets for Selected Terrestrial Conditions”**. Solar Energy Research Institute, **15**, 365-391, 1985.
- Hussein H.I., Al-Rajhy D., El-Shahawi F.I., Hashem S.M. **“Molluscicidal Activity of *Pergularia Tormentosa* (L.), Methomyl and Methiocarb, against Land Snails”**. *Int. J. Pest Manag.* **45(3)**, 211-213, 1999.

- Hustert K., Moza P.N. **"Photochemical Degradation of Dicarboximide Fungicides in the Presence of Soil Constituent"**, *Chemosphere*, **35 (1/2)**, 33-37, 1997.
- Huston P.L., Pignatello. **"Degradation of Selected Pesticide Active Ingredients and Commercial Formulations in Water by the Photo-assisted Fenton Reaction"**. *J. Wat. Res.*, **33(5)**, 147-193, 1999.
- Hwang H.M., McCullum D., Allaughter L. **"Phototransformation of 2,4-dichloroaniline in a Surface Freshwater Environment Effects Microbial Assemblages."** *Toxicol.*, **60 (1)**, 81-87, 1998.
- ISO 11348-2. – revised version **"Water quality- Determination of the Inhibitory Effect of Water Samples on the Light Emission of *Vibrio fischeri* (luminescent bacteria test)"**. Geneva, Switzerland. Sept. 1994.
- Jardim W.F., Morales S.G., Morales M., Takiyama K. **"Photocatalytic Degradation of Aromatic Chlorinated Compounds using TiO<sub>2</sub>: Toxicity of Intermediates"**. *Wat. Res.*, **31 (7)**, 1728-1732, 1997.
- Jirkovski J., Faure V., Boule P. **"Photolysis of Diuron"**. *Pest. Sci.*, **50**, 42-52, 1997.
- Jones H.A., Gersdorff W.A., Gooden E.L., *J. Econ. Entom.*, **26**, 451, 1933.
- Jorgensen G., Govindarajan R. **"Ultraviolet Reflector Materials for Solar Detoxification of Hazardous Waste"**. Report SERI/TP-257-4418. DE91 002196. Solar Energy Research Institute. July 1991.
- Juergensen L., Busnarda J., Caux P.Y., Kent R. A, **"Fate Behavior and Aquatic Toxicity of the Fungicide IPBC in the Canadian Environment"**. *Environ. Toxicol.*, **15 (3)**, 201-213, 2000.
- Kakko R., Christiansen V., Mikkola E., Kallonen R., Smith-Hansen L, Jorgensen K.H. **"Toxic Combustion Products of three Pesticides"**. *J. Loss Prev. Process Ind.*, **8(2)**, 127-132, 1995.
- Kearney P.C., Muldoon M.T., Somich C.G. **"UV - Ozonation of Eleven Major Pesticides as a Waste Disposal Pretreatment"**. *Chemosphere*, **16 (10-12)**, 2321- 2330, 1987.
- Kearney P.C., Muldoon M.T., Somich C.J., Ruth J.M., Voaden D.J. **"Biodegradation of Ozonated Atrazine as a Wastewater Disposal System"**. *J. Agric. Food Chem.* **36**, 1301-1306, 1988.
- Kerzhentsev M., Guillard C., Herrmann J.M., Pichat P. **"Photocatalytic Pollutant removal in Water at Room Temperature: Case Study of the Total Degradation of the Insecticide Fenitrothion"**. *Catalysis Today*, **27**, 215-220, 1996.
- Kiely Gerard. **"Ingeniería Ambiental : Fundamentos, Entornos, Tecnologías y Sistemas de Gestión"**. McGraw-Hill, Madrid, 2001.
- Kiwi J., Pulgarin C., Peringer P. **"Effect of Fenton and Photo-Fenton Reactions on the Degradation and Biodegradability of 2 and 4-nitrophenols in Water Treatment"**. *Appl. Catal. B.: Environ.*, **3**, 335-350, 1994.
- Klapes NA. **"Acute Toxicity of the Natural Algicide, Cyanobacterin, to *Daphnia Magna*"**. *Ecotoxicol. Environ., Saf.* **20(2)**, 167-174, 1990.

- Klare M., Scheen J., Volgesang K., Jacobs H., Brokaert J.A. **“Degradation of Short-chain alkyl- and alkanolamines by TiO<sub>2</sub>- and Pt/TiO<sub>2</sub>-assisted Photocatalysis”**. *Chemosphere*, **41(3)**, 353-362, 2000.
- Kochany J., Choudhry G., Webster G. **“Environmental Photochemistry of the Herbicide Bromoxynil in Aqueous Solution containing Soil Fulvic Acids”** *Inter. J. Environ. Anal. Chem.* **39**, 59-74, 1990.
- Koga M, Kadokami K., Shinohara R. **“Laboratory - Scale Ozonation of Water Contaminated with trace Pesticides”**. *Wat. Sci. Tech.*, **26 (9-II)**, 2257-2260, 1992.
- Konstantinou I.K., Sakkas V.A., Albanis T.A. **“Photocatalytic Degradation of the Herbicides Propanil and Molinate over aqueous TiO<sub>2</sub> Suspensions: Identification of Intermediates and the Reaction Pathway”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **34**, 227-239, 2001.
- Kopling, D.W., Thurman, E.M., Goosby, D.A. **“Occurrence of Selected Pesticides and their Metabolites in Near-Surface Aquifers of the Midwestern United States”**. *Env. Sci. Technol.*, **30**, 335-340, 1996.
- Kormann C., Bahnemann D.W., Hoffmann M.R. **“Photolysis of Chloroform and other Organic Molecules in Aqueous TiO<sub>2</sub> Suspensions”**. *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 494-500, 1991.
- Krysova H., Krysa J., Macounova K., Jirkovsky J. **“Photocatalytic Degradation of Diuron [3-(3,4-Dichlorophenyl)-1,1-Dimethylurea] on the Layer of TiO<sub>2</sub> Particles in the Batch Mode Plate Film Reactor”**. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **72(2)**, 169-175, 1998.
- Krol J, Romano J. **“Screening for Environmental Contamination using Liquid Chromatography with Mass Spectrometry Detection (LC/MS)”**. *Abstr. Pap. Am. Chem. S.*, **223**, 042-AGRO Part 1, APR 7, 2002.
- Kuo C.H., Shang-Lien L., Min-Tse C. **“Oxidation of Aqueous Chlorophenols with Photo-Fenton Process”**. *J. Environ. Sci. Health*, **B 33(6)**, 723-747, 1998.
- Krutzler T., Fallmann H., Maletzky P., Bauer R., Malato S., Blanco J. **“Solar Driven Degradation of 4-chlorophenol”**. *Catalysis Today*, **54**, 321-327, 1999.
- Lacorte S., Lattiges S.B., Carriges B., Barceló D. **“Degradation of Organophosphorus Pesticides and Their Transformation Products in Estuarine Waters”**. *Environ. Sci. Technol.*, **29(2)**, 431-438, 1995.
- La Farre M., Ferrer I., Ginebreda A. **“Determination of Drugs in Surface Water and Wastewater Samples by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Methods and Preliminary Results Including Toxicity Studies with *Vibrio Fischeri*”**. *J Chromatography A*, **938 (1-2)**, 187-197, 2001.
- Lai M. S., Jensen J.N., Weber A.S. **“Oxidation of Simazine: Ozone, Ultraviolet, and Combined Ozone/Ultraviolet Oxidation”**. *Wat. Environ. Res.*, **67**, 340-346, 1995.
- Lamoree M.H., Ghijzen R.T., Brinkman U.A.T. **“Environmental Analysis : Techniques, Applications and Quality Assurance”**. Barceló D. (Editor), Elsevier, Amsterdam, 521, 1993.
- Laplanche G. Martin F., Tonnard. **“Ozonation schemes of Organo Phosphorus Pesticides Application in Drinking Water Treatment”**. *Ozone Sci. & Engineering*, **6**, 207-219, 1984.

- Lee S.M., Wilie P.L. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 2192, 1991.
- Lee S.M., Paphatakis M.L., Feng H.C., Hunter G.F., Carr J.E., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **339**, 376, 1991.
- Legrini O., Oliveros E., Braun A.M. **"Photochemical Processes for Water Treatment"**. *Chem. Rev.*, **93**, 671-698, 1993.
- Légube S., Guyon M., Doré L. **"Ozonation of Aqueous Solutions of Nitrogen Heterocyclic Compounds: Benzotriazoles, Atrazine and Amitrole"**. *Ozone Sci. & Engineering*, **9**, 233-246, 1987.
- Lemaire J., Campbell I., Hulpke H., Guth J. A., Merz W., Philip J., Von Waldow C. **"An Assessment of Test Methods for Photodegradation of Chemicals in the Environment"**. *Chemosphere*, **11(2)**, 119-164, 1982.
- Leo L.P., Pim E., Leonards G., René J., Vreuls J., Udo A., Brinkman T. **"Identification of non-target compounds using gas chromatography with simultaneous atomic emission and mass spectrometric detection (GC-AED/MS): analysis of municipal wastewater"**. *Analyst*, **124 (11)**, 1547-1552, 1999.
- Letterman R.D. (ed). **"Calidad y Tratamiento del Agua : Manual de Suministros de Agua Aomunitaria"**. McGraw-Hill D.L., 5ª ed. Madrid, 2002.
- Liao W.U Cusick W.G. **"Multiresidue Screening Method for Fresh Fruits and Vegetables with Gas Chromatographic/Mass Spectrometric Detection"**. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **74**, 554-565, 1991.
- Liao C.H., Kang S.F., Hung H.P. **"Simultaneous Removal of Cod and Color from Dye Manufacturing Process Wastewater using Photo-Fenton Oxidation Process"**. *J. Environ. Sci. Health*, **A34(4)**, 989-1012, 1999.
- Low G.K.C., McEvoy S.R., Matthews R.W. **"Formation of Nitrate and Ammonium Ions in Titanium Dioxide Mediated Photocatalytic Degradation of Organic Compounds Containing Nitrogen Atoms"**. *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 460-467, 1991.
- Lu M.C., Chen J.N. **"Pretreatment of Pesticide Wastewater by Photocatalytic Oxidation"**. *Wat. Sci. Technol.*, **36 (2-3)**, 117-122, 1997.
- Lunak S., Muzart J., Brodivolá J. **"Photochemical Hydroxylation Of Salicylic-Acid Derivatives With Hydrogen-Peroxide, Catalyzed With Fe(III) And Sensitized With Methylene-Blue"**. *Collect. Czech. Chem. Común.*, **59(4)**, 905, 1994.
- Ma D.L., Gordh G., Zalucki P. **"Toxicity of Biorational Insecticides to *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) and Predators in Cotton Field"**. *Int. J. Pest Manag.* **46(3)**, 237-240, 2000.
- Malato S., Blanco J., Richter C., Vicent M. **"Photocatalytic Degradation of Industrial Residual Waters"**. *Solar Energy*, **56 (5)**, 401-410, 1996.

- Malato S., Giménez J., Richter C., Curcó S., Blanco J. **“Low Concentrating CPC Collectors for Photocatalytic Water Detoxification. Comparison with a Medium Concentrating Solar Collectors”**. *Water Sci.Technol.*, **35 (4)**, 157, 1997.
- Malato S., Blanco J., Richter C., Braun B., Maldonado M.I. **“Enhancement of the Rate of Solar Photocatalytic Mineralization of Organic Pollutants by Inorganic Species”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **17**, 347-356, 1998.
- Malato S., Blanco J., Herrmann J.M. (Eds.) **“Solar Catalysis for Water Decontamination”**. *Catalysis Today*, **54 (2-3)**, 1999a. 16 artículos.
- Malato S. **“Solar Photocatalytic Decomposition of Pentachlorophenol Dissolved in Water”**. Editorial CIEMAT, Madrid, Spain. 1999b.
- Malato S., Blanco J., Richter C., Fernández-Ibáñez P., Maldonado M.I. **“Solar Photocatalytic Mineralization of Commercial Pesticides: Oxamyl”**. *Solar Materials and Solar Cells*, **64**, 1-14, 2000a.
- Malato S., Blanco J., Maldonado M.I., Fernández-Ibáñez P., Campos A. **“Optimising Solar Photocatalytic Mineralization of Pesticides by Adding Inorganic Oxidising Species: Application to the Recycling of Pesticide Containers”**. *Appl. Catal. B: Environ.* **28**, 163-174, 2000b.
- Malato S., Blanco J., Fernandez-Alba A.R., Agüera A. **“Solar Photocatalytic Mineralization of Commercial Pesticides: Acrinathrin”**. *Chemosphere*, **40**, 403-409, 2000c.
- Malato S., Blanco J., Richter C., Maldonado M.I. **“Optimization of pre-Industrial Solar Photocatalytic Mineralization of Commercial Pesticide. Application to Pesticide Container Recycling”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **25**, 31-38, 2000d.
- Malato S., Blanco J., Estrada C.A., Bandala E.R. **“Degradación de Plaguicidas: Eliminación de Contaminates por Fotocatálisis Heterogénea”**. *Usos de óxidos semiconductores y materiales relacionados para aplicaciones medioambientales y ópticas*. M.A. Blesa (Ed.), Digital Grafic, 51-76, La Plata, Argentina, 2001a.
- Malato S., Maldonado M.I., Blanco J. **“Descontaminación de Aguas de Lavado de Plaguicidas Mediante Fotocatálisis Solar”**. Editorial CIEMAT, Madrid, Spain. 2001b.
- Malato S., Cáceres J., Agüera A., Mezcua M., Hernando D., Vial J., Fernandez-Alba A.R. **“Degradation of Imidacloprid in Water by Photo-Fenton and TiO<sub>2</sub> Photocatalysis at a Solar Pilot Plant: A Comparative Study”**. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 4359-4366, 2001c.
- Malato S., Blanco J., Vidal A., Fernández P., Cáceres J., Trincado P., Oliveira J.C., Vicent M. **“New large Solar Photocatalytic Plant: Set-up and Preliminary Results”**. *Chemosphere*, **47**, 235-240, 2002a.
- Malato S., Blanco J., Vidal A., Richter C. **“Photocatalysis with Solar Energy at a Pilot-plant Scale: an Overview”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **37**, 1-15, 2002b.
- Maldonado M.I. **“Descontaminación de Aguas de Lavado de Envases de Plaguicidas Mediante Fotocatálisis Solar”**. Tesis Doctoral. Universidad de Almería, 2001.

- Maletzky P., Bauer R. **“The Photo-Fenton Method – Degradation of Nitrogen Containing Organic Compounds”**. *Chemosphere*, **37(5)**, 899-909, 1998.
- Manahan S.E. **“Environmental Science and Technology”**. Boca Raton : Lewis Publishers, 1997.
- Manilal V.B., Haridas A., Alexander R., Surender G.D. **“Photocatalytic Treatment of Toxic Organics in Wastewater: Toxicity of Photodegradation Products”**. *Wat. Res.*, **26(8)**, 1035-1038, 1992.
- Mansour M., Feicht E., Meallier P. **“Improvement of the photostability to selected substances in aqueous medium”**. *Toxicol. Environ. Chem.*, **20-21**, 193-147, 1989.
- Mansour M., Feicht E.A., Behechti A., Scheunert I. **“Experimental approaches to studying the photostability of selected pesticides in water and soil”**. *Chemosphere*, **35**, 39-50, 1997.
- Marhaba T.F , Washington M.B. **“Drinking Water Disinfection and by-products: History and Current Practice”**. *Advanced Environ. Res.*, **2(1)**, 103-115, 1998.
- Marín Galvín R. **“Fisicoquímica del Agua”**. Madrid, Diaz de Santos, 1999.
- Marinas A., Guillard C., Marinas J.M., Fernandez-Alba A., Agüera A. , Herrmann J.M. **“Photocatalytic Degradation of Pesticide-Acaricide Formetanate in Aqueous Suspension of TiO<sub>2</sub>”**. *Applied Catalysis B: Environ.*, **34**, 241-252, 2001.
- Marques P.A., Rosa M.F., Mendes F., Collares Pereira M., Blanco J., Malato S. **“Wastewater Detoxification of Organic and Inorganic Toxic Compounds with Solar Collectors”**. *Desalination*, **108**, 213-220, 1996.
- Martínez L., Blanco J., Malato S., Richter C., Carmona F. **“Alachlor Persistence Under Spanish Field Conditions and Applicability of Simulation Models.”** *Soil Science*, **3**, 251-265, 1994.
- Martínez-Plaza D. **“Materials Treatment at Solar Furnaces”**. *Industrial Applications of Solar Chemistry*. Ciemat, 2001.
- Mas D., Pichat P., Guillard C. **“Intermediate products and reductive reaction pathways in the TiO<sub>2</sub> photocatalytic degradation of 1,1,1-trichloroethane in water”**. *Res. Chem. Intermed.*, **23 (3)**, 275-290, 1997.
- Mascolo G., Lopez A., James H., Fielding M. **“By-products Formation during Degradation of Isoproturon in Aqueous Solution I: Ozonation”**. *Wat. Res.*, **35(7)**, 1695-1704, 2001.
- Matsuda K., Buckingham S.D., Freeman J., Squire M.D., Baylis H.A., Satelle D.B., **“Effects of the  $\alpha$  subunit on imidacloprid sensitivity of recombinant nicotinic acetylcholine receptors”**. *Proc. 9th Int. Cong. Pest. Chem. (IUPAC)*, 1, porter 4B–012, London, UK, 1998.
- Maurino V., Minero C., Pelizzetti E , Vincenti M. **“Photocatalytic Transformation of Sulfonylurea Herbicides over Irradiated Titanium Dioxide Particles”**. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. and Engin. Aspects*, **151**, 329-338, 1999.

- Mazellier P., Jirkovsky J., Bolte M. **“Degradation of Diuron Photoinduced by Iron(III) in Aqueous Solution”**. *Pestic. Sci.*, **49**, 259-267, 1997.
- Mazellier P., Bolte M. **“Photodegradation of Diuron Induced by Iron(III) in the Aquatic Environment”**. *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, **70 (1-4)**, 163-176, 1998.
- Mazellier P., Sulzberger B. **“Diuron Degradation in Irradiated Heterogeneous Iron/Oxalate Systems: the Rate-Determining Step”**. *Env. Sci. Technol.*, **35**, 3314-3320, 2001.
- Mealier P., Mamouni A., Mansour M. **“Photodegradation of Pesticides VII. Photodegradation of Carbetamide Photoproducts”**. *Chemosphere*, **26(10)**, 1917-1923, 1993.
- Megharaj M., Boul H.L., Thiele J.H. **“Effects of DDT and its Metabolites on Soil Algae and Enzymatic Activity.”** *Biol.Fertil.Soils*, **29(2)**, 130-134, 1999.
- Mehos M.S., Turchi, C.; Pacheco, J.; Bogel, A.J.; Merrill T.; Stanley, R. **“Measurement and Analysis of Near Ultraviolet Solar Radiation”**. *Solar Energy*, **1**, 51-55, 1992.
- Mengyue Z., Shifu C., Yaowu T. **“Photocatalytic Degradation of Organophosphorous Pesticides using Thin Films of TiO<sub>2</sub>”**. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **64**, 339-344, 1995.
- Metcalf & Eddy. **“Ingeniería de Aguas Residuales”**. McGraw-Hill, 1998.
- Metcalf & Eddy. **“Ingeniería de Aguas Residuales : Tratamiento, Vertido y Reutilización”**. McGraw-Hill, 3ª ed. Madrid, 2000.
- Meyer, V. R., **“Practical High-Performance Liquid Chromatography”**. John Wiley & Son, 2<sup>nd</sup> ed. Chichester, 1996.
- Meyer M.T., Thurman E.M. (eds), **“Herbicide Metabolites in Surface Water and Ground Water”**. *ACS Symposium Series*, **630**, American Chemical Society, Washington DC., 1996.
- Mezcua M., Agüera A., Hernando M.D. , Fernandez-Alba A.R. **“Determination of Methyl Tert-Butyl Ether (MTBE) and Tert-Butyl Alcohol (TBA) in Seawater samples by using Purge-and-Trap Enrichment coupled to GC-AED and GC-MS Systems”**. Enviado a *Analyst*, 2002.
- Mills A., Davies R.H., Worsley D. **“Water Purification by Semiconductor Photocatalysis”**. *Chem., Soc. Rev.*, 417-425, 1993a.
- Mills G., Hoffmann R. **“Photocatalytic Degradation of Pentachlorophenol on TiO<sub>2</sub> Particles: Identification of Intermediates and Mechanism of Reaction”**. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 1681-1689, 1993.
- Mills C., Le Hunte. **“An Overview of Semiconductor Photocatalysis”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **108**, 1-35, 1997.
- Minero C., Pelizzetti E., Malato S., Blanco J. **“Large Solar Plant Photocatalytic Water Decontamination : Degradation of Pentachlorophenol”**. *Chemosphere*, **26(12)**, 2103-2119, 1993.

- Minero C., Pelizzetti E., Malato S., Blanco J. **“Large Solar Plant Photocatalytic Water Decontamination: Effect of Operational Parameters”**. *Solar Energy*, **56(5)**, 421-428, 1996a.
- Minero C., Pelizzetti E., Malato S., Blanco J. **“Large Solar Plant Photocatalytic Water Decontamination: Degradation of Atrazine”**. *Solar Energy*, **56(5)**, 411-420, 1996b.
- Minero C. **“Photocatalytic Transformation of Hydrocarbons at the Sea Water / Air Surface under Solar Irradiation”**. *Marine Chem.*, **58**, 361-372, 1997.
- Mogyoródi F., Vidal A., Romero M., Sánchez B. **“Photolytic and Photocatalytic Degradation of Thiocarbamate Pesticides in Water”**. ISES Solar World Cong. Budapest, Hungary. August, 1993.
- Moore M.T., Huggett D.B., Gillespie W.B., Rodgers J.H., Cooper C.M. **“Comparative Toxicity of Chlordane, Chlorpyrifos and Aldicarb to four Aquatic Testing Organisms”**. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **34(2)**, 152-157, 1998.
- Morrison R.J., Harrison N., Canggihya P.C. **“Organochlorine Contaminants in the Estuarine and Coastal Marine Environments of the Fiji Islands”**. *Environ. Poll.*, **93(2)**, 159-167, 1996.
- Moza P.N., Hustert K., Pal S., Sukul P. **“Photocatalytic Degradation of Pendimethanil and Alachlor”**. *Chemosphere*, **25(11)**, 1675-1682, 1992.
- Mukherje P.S., Ray A.K. **“Mayor Challenges in the Design of a Large-scale Photocatalytic Reactor for Water Treatment”**. *Chem. Eng. Technol.*, **22**, 253-260, 1999.
- Muneer M., Theurich J., Bahnemann D. **“Titanium Dioxide Mediated Photocatalytic Degradation of Two Major Organic Pollutants: 1,2-Diethyl Phthalate and Diuron”**. *Electrochemical Society Proceeding*, **98(5)**, 174-187, 1998.
- Muneer M., Theurich J., Bahnemann D. **“Formation of toxic intermediates upon the photocatalytic degradation of the pesticide Diuron”**. *Res. Chem. Internal.*, **25(7)**, 667-683, 1999.
- Murray P., Ge Y., Hendershot W.H. **“Evaluating three trace Metal Contaminated sites: a Field and Laboratory Investigation.”** *Environ.Pollut.*, **107(1)**, 127-135, 2000.
- Muszkat L., Bir L., Feigelson L. **“Solar Photodegradation of Xenobiotic Contaminants in Polluted Well Water”**. *J. Photochem. Photobiol. A. Chem.*, **65**, 409-417, 1992.
- Muszkat L., Bir L., Feigelson L. **“Solar Photocatalytic Mineralization of Pesticides in Polluted Waters”**. *J. Photochem. and Photobiol. A: Chem.*, **87**, 85-88, 1995.
- Naciones Unidas. **“Water Stress in Europe. Can the Challenge be Met?”**. European Environmental Agency, United Nations Environmental Program. 1997.
- Naciones Unidas. **“Inventory of Information Sources on Chemicals. Persistent Organic Pollutants”**. United Nations, Environment Programme, Noviembre, 1999.

- Naciones Unidas. **“Sustainable use of Europe’s Water? State, Prospects and Issues”**. S. C. Nixon, T.J. Lack, D.T.E. Hunt, A.F. Boschet. European Environmental Agency. Environmental assessment series N° 7. 2000.
- Nair A.R., Mandapati P., Dureja P., Pallai M. **“DDT and HCH load in mothers and their infants in Delhi India”**. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.*, **56(1)**, 58-64, 1996.
- Nelieu S., Kerhoas L., Einhorn J. **“Atrazine Degradation by Ozonation in the Presence of Methanol as Scavenger”**. *Intern. J. Anal. Chem.* **65**, 297, 1996.
- Niessen W.M.A. **“Advances in Instrumentation in Liquid Chromatography–Mass Spectrometry and related Liquid-Introduction Techniques”**. *J. Chromatography A.*, **794**, 407-435, 1998.
- Nines G.S., Alonso R.M., Ribeiro M.L., Barceló D. **“Determination of Aldicarb, Aldicarb Sulfoxide and Aldicarb Sulfone in some Fruits and Vegetables using High-Performance Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry”**. *J. Chromatography A*, **888**, 113-120, 2000.
- Obrador A., Lechon Y., Tadeo J. L. **“Simulation of Atrazine Persistence in Spanish Soils”**. *Pesticide Science*, **37 (3)**, 301-308, 1993.
- OECD. **“Daphnia sp., Acute Immobilisation Test”**. *Guidelines for the testing of chemicals, vol I*, 1995a.
- OECD. **“Alga, Growth Inhibition Test”**. *Guidelines for the testing of chemicals, vol I*, 1995b.
- Okamoto K., Yamamoto Y., Tanaka H., Tanaka M., Itaya A. **“Heterogeneous Photocatalytic Decomposition of Phenol over TiO<sub>2</sub> Powder”**. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **58**, 2015-2022, 1985.
- Okamura K. **“Photodegradation of the Antifouling Compounds Irgarol 1051 and Diuron released from a Commercial Antifouling Paint”**. *Chemosphere*, **48**, 43-50, 2002.
- Ollis D. F., Pelizzetti E., Serpone N. **“Destruction of Water Contaminants”**. *Environ. Sci. Technol.*, **25 (9)**, 1523-1528, 1991a.
- Ollis D.F. **“Solar-Assisted Photocatalysis for Water Purification: Issues, Data, Questions”**. *Photochemical Conversion and Storage of Solar Energy*, Kluwer Academic Publishers, 593-622, 1991b.
- Olson N.L., Carrell R., Cummings R.Q., Rieck R. **“Gas-Chromatography With Atomic-Emission Detection For Pesticide Screening And Confirmation”**. *LC-GC Int.*, **12(2)**, 142, 1994.
- OMS: Organización Mundial de la Salud. **“Investigación en Salud y Ambiente XXXIII”**. *Reunión del Comité Asesor de Investigaciones en Salud de la Organización Panamericana de la Salud OPS/CAIS/98.05*, Caracas, Venezuela, 1998.
- Ong K.C., Cash J.N., Zabik M.J., Siddiq M., Jones A.L. **“Chlorine and Ozone Washes for Pesticide Removal from Apples and Processed Apple Sauce”**. *Food Chem.*, **55 (2)**, 1523-160, 1996.

- Ormad P., Sarasa J., Roche P., Martin A., Ovelleiro J.L., Puig A. **“Ozonation of Wastewater Resulting from The Production of Organochlorine Plaguicides Derived from DDT and Trichlorobenzene”**. *Ozone Science & Engineering*, **16**, 487-503, 1994.
- O’Shea K.E., Garcia I., Aguilar M. **“TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Degradation of Dimethyl- and Diethyl-Methylphosphonate, Effects of Catalyst and Environmental Factors”**. *Res. Chem. Intermed.*, **23(4)**, 325-339, 1997.
- Pacheco J., Prairie M., Evans L., Yellowhorse L. **“Engineering-Scale Experiments of Solar Photocatalytic Oxidation of Trichloroethylene”**. *25th Intern. Society Energy Conversion Engineering Conference*. Reno, Nevada. August 1990.
- Pacheco K., Watt A.S., Turchi C.S. **“Solar Detoxification of Water: Outdoor Testing of Phototype Photoreactors”**. *J.Solar Eng. Conf.*, 43-49, 1993.
- Parent Y., Blake D., Magrini-Bair K, Lyons C., Turchi C., Watt A., Wolfrum E., Prairie M. **“Solar Photocatalytic Process for the Purification of Water: State of Development and Barriers to Commercialization”**. *Solar En.*, **56(5)**, 429-438 1996.
- Parra S., Sarria V., Pulgarín C., Malato S., Peringer P. **“Photochemical vs. Coupled Photochemical-Biological Flow System for the Treatment of Two Biorecalcitrant Herbicides: Metobromuron and Isoproturon”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **27(3)**, 153-168, 2000.
- Parra S., Sarria V., Pulgarín C., Malato S. **“Concentrating Vs. Non-concentrating Reactors for Solar Photocatalytic Degradation of *p*-nitrotoluene-*o*-sulfonic acid”**. *Wat. Sci. and Technol.*, **44 (5)**, 219-227, 2001.
- Parreño R., Morales A., De La Guardia M. **“On-line Catalytic Photodegradation of Aldicarb”**. *J. Flow Inj. Anal.* **11**, 79-93, 1994.
- Paterson S., MacKay D., Tam D., Shiu W.Y. **“Uptake of Organic Chemicals by Plants: a Review of Processes, Correlations and Model”**. *Chemosphere*, **21**, 297-331 1990.
- Paustenbach D.J. **“The Practice of Exposure Assessment: a State of the Art Review”**. *J. Toxicol. Environ. Health B.*, **3**, 179-291, 2000.
- Payne L.K., Weiben M.H.J. *J. Agric. Food. Chem.*, **14**, 356-362, 1966.
- Pedersen-Bjergaard S., Semb S.I., Brevik E.M., Greibrokk T. **“Capillary Gas Chromatography Combined with Atomic Emission Detection for the Analysis of Polychlorinated Biphenyls”**. *J. Chromatography A*, **723 (2)**, 337-347, 1996.
- Pelizzetti E., Barbeni M., Pramauro E., Serpone N., Borgarello E., Jamieson M.A., Hidaka H. **“Sunlight Photodegradation of Haloaromatic Pollutants Catalyzed by Semiconductor Particulate Materials”**. *La Chimica e L’Industria*, **67 (11)**, 623-625, 1985.

- Pelizzetti E., Maurino V., Minero C., Carlin V., Pramauro E., Zerbinati O., Tosalo M.L. **“Photocatalytic degradation of Atrazine and other s-Triazine herbicides”**, *Environ. Sci. Technol.*, **22**, 1559-1565, 1990.
- Pelizzetti E., Carlin V., Minero C., Grätzel M. **“Enhancement of the Rate of Photocatalytic Degradation on TiO<sub>2</sub> of 2-Chlorophenol, 2,7-Dichlorodibenzodioxin and Atrazine by Inorganic Oxidizing Species”**. *New J. Chem.*, **15(5)**, 351-359, 1991.
- Pelizzetti E. **“Identification of Photocatalytic Degradation Pathways of 2-Cl-s-Triazine Herbicides and Detection of their Decomposition Intermediates”**. *Chemosphere*, **24(7)**, 891-910, 1992.
- Pelizzetti E., Minero C., Carlin V., Vicenti M., Pramauro E., Dolci M. **“Concluding Remarks on Heterogeneous Solar Photocatalysis”**. *Solar En. Mat. Sol. Cells.*, **38**, 453-457, 1995.
- Pelizzetti E., Minero C. **“Role of Oxidative and Reductive Pathways in the Photocatalytic Degradation of Organic Compounds”**. *Colloids and Surface A: Physic. Eng. Aspects*, **151**, 321-327, 1999.
- Pennak R.W. **“Freshwater Invertebrates of the United States”**. John Wiley and Sons, 3<sup>a</sup> ed., New York, 1989.
- Peñuela G.A., Barceló D. **“Comparative Degradation Kinetics of Alachlor in Water by Photocatalysis with FeCl<sub>3</sub>, TiO<sub>2</sub> and Photolysis, Studied by Solid-phase Disk Extraction Followed by Gas Chromatographic Techniques”**, *Journal of Chromatography A*, **754**, 187-195, 1996.
- Peñuela G.A., Barceló D. **“Photosensitized Degradation of Organic Pollutant in Water: Processes and Analytical Applications”**. *Trends in Analytical Chemistry*, **17 (10)**, 605-612, 1998.
- Peñuela G.A., I. Ferrer, D. Barceló, **“Identification of New Photodegradation Byproducts of the Antifouling Agent Irgarol in Seawater Samples”**. *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **78 (1)**, 25-40, 2000.
- Percherancier J.P., Chapelon R., Pouyet B. **“Semiconductor-Sensitized Photodegradation of Pesticides in Water. The Case of Carbetamide”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* **87**, 261-266, 1995.
- Pichat P., D'Oliveira J.C., Maffre J.F., Mas D. **“Destruction of 2,4-dichlorophenoxyethanoic acid (2,4-D) in water by TiO<sub>2</sub>-UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-UV or Direct Photolysis”**, *Photocatalytic Purification and Treatment of Water and Air*, Ollis, D.F. and Al-Ekabi, H. (eds.). Elsevier Sci. Publish., 683-688, 1993a.
- Pichat P., Guillard C., Maillard C., Amalric L., D'Oliveira J.C. **“TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Destruction of Water Aromatic Pollutants: Intermediates, Properties-Degradability Correlation, Effects of Inorganic Ions and TiO<sub>2</sub> Surface Area, Comparison with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Processes”**. *Photocatalytic Purification and Treatment of Water and Air*, Ollis, D.F. and Al-Ekabi, H. (eds.). Elsevier Sci. Publish., 207-223, Amsterdam, 1993b.
- Picó Y., Font G., Moltó J.C., Mañes J. **“Pesticide Residue Determination in Fruit and Vegetables by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry”**. *J. Chromatography*, **882**, 153-173, 2000.
- Piedra L., Tejedor A., Hernando M.D., Agüera A., Barceló D., Fernandez-Alba A.R. **“Screening of Antifouling Pesticides in Sea Water Samples at Low ppt levels by GC-MS and LC-MS”**. *Chromatographia*, **52 (9/10)**, 631-638, 2000.

- Piera E., Calpe C., Brillas E., Domenech X., Peral J. **"2,4-dichlorophenoxyacetic Acid Degradation by Catalized Ozonation: TiO<sub>2</sub>/UVA/O<sub>3</sub> and Fe(II)/UVA/O<sub>3</sub> Systems"**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **27**, 169-177, 2000.
- Pignatello J.J. **"Dark and Photoassisted Fe<sup>3+</sup> - Catalyzed Degradation of Chlorophenoxy Herbicides by Hydrogen Peroxide"**. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 944-951, 1992.
- Pignatello J.J., Huang L.Q. **"Degradation of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxin and Dibenzofuran Contaminants in 2,4,5-T by Photoassisted Iron Catalyzed Hydrogen Peroxide"**. *Wat. Res.*, **27(12)**, 1731-1736, 1993.
- Pignatello J.J., Sun Y. **"Complete Oxidation of Metolachlor and Methyl Parathion in Water by the Photoassisted Fenton reaction"**. *Wat. Res.*, **29(8)**, . 1837-1844, 1995.
- Pocorull E., Callul M., Marc R., Borull F. *Chromatographia*, **388**, 589-594, 1994.
- Pollard A.D., Mayo B.C., Haynes L., Hawkins D.R., Hanagan M.A., Payne W.G., Reiser R.W., Ryan, D.L. *209<sup>th</sup> National Meeting of the American Chemical Society*, Anaheim, CA. 1995.
- Pollard A.D., Mayo B.C., Hawkins D.R., Ryan D.L. **"Degradability and Fate of [1-<sup>14</sup>C] Methomyl in Water/Sediment Systems"**. *6<sup>th</sup> International Workshop on Pesticides in Soil and Environment*, Strafford upon Avon, UK, **May** 1996.
- Poulios I., Kositzí M., Kouras A. **"Photocatalytic Decomposition of Triclopyr over Aqueous Semiconductor Suspensions"**. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **115**, 175-183, 1998.
- Pozo O., Pitarch E., Sancho J.V. **"Determination of the Herbicide 4-chloro-2-methylphenoxyacetic Acid and its main Metabolite, 4-chloro-2-methylphenol in Water and Soil by Liquid chromatography-Electrospray tandem Mass Spectrometry"**. *J Chromatogr A*, **923 (1-2)**, 75-85, 2001.
- Pozzo R.L., Baltanás M.A., Cassano A.E. **"Supported Titanium Oxide as Photocatalyst in Water Decontamination: State of the Art"**. *Catal. Today*, **39**, 219-231, 1997.
- Prairie E., Evans L.R., Martínez S.L. **"Destruction of Organics and Removal of Heavy Metals in Water via TiO<sub>2</sub> Photocatalysis"**. *Chem. Oxid.*, **2**, 428-41, 1994.
- Prairie M.R., Pacheco J.E., Evans L.R. **"Solar Detoxification of Water Containing Chlorinated Solvents and Heavy Metal Via TiO<sub>2</sub> Photocatalysis"**. *Solar Eng.*, **1**, 1-8, 1992.
- Pramauro E., Vincenti M., Augugliaro V., Palmisano L. **"Photocatalytic Degradation of Monuron in Aqueous TiO<sub>2</sub> Dispersions"**. *Environ. Sci. Technol.*, **27(9)**, 1790-1795, 1993.
- Pree D.J., Marshall D.B., Mcgarvey B.D. *Can. Entomol.*, **124**, 59, 1992.
- Pree D.J., Bittner L.A., Whitty K.J. *Can. Entomol.*, **132**, 69, 2000.
- Prousek J. **"Advanced Oxidation Processes for Water Treatment. Photochemical Processes"**. *Chem. Listy*, **90**, 307-315, 1996.

- PSD: *Pesticide Safety Directorate* (UK MAFF) Evaluation 73, 1993.
- Pulgarín C., Kiwi J. **“Overview on Photocatalytic and Electrocatalytic Pretreatment of Industrial Non-Biodegradable Pollutants and Pesticides”**. *Chimia*, **50**, 50-55, 1996.
- Pulgarín C., Invernizzi M., Parra S., Sarria V., Polania R., Péringer P. **“Strategy for the Coupling of Photochemical and Biological Flow Reactors useful in Mineralization of Biorecalcitrant Industrial Pollutants”**. *Catalysis Today*, **54**, 341–352, 1999.
- Puma G.L., Yue P.L. **“Photodegradation of Pentachlorophenol”**. *Photocatalytic Purification and Treatment of Water and Air*, Ollis, D.F. and Al-Ekabi, H. (eds.). Elsevier Sci. Publish. B.V., 689-694. (1993).
- Rajeshwar K. **“Photochemical Strategies for Abating Environmental Pollution”**. *Chem. Ind.* **June**, 454, 1996.
- Ramirez Zamora R.M., Seux R. **“Oxydation du Diuron et Identification de Quelques Sous-produits de la Reaction”**. *Rev. Sci. Eau*, **12/3**, 545-560, 1999.
- Rawash IA., Gaaboub IA., El-Gayar EM., El-Shazli AY. **“Standard Curves for Nuvacron, Malathion, Sevin, DDT and Kelthane tested against the Mosquito Culex Pipiens L. and the Microcrustacean Daphnia Magna Straus.”** *Toxicology*, **4(2)**, 133-144, 1975
- Reemtsma T. **“The use of Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Ionization-Mass Spectrometry in Water Analysis - Part II: Obstacles”**. *Trac. Trend. Anal. Chem.*, **20 (10)**, 533-542, 2001.
- Reeves M., Schafer K., Hallward K., Katten A. **“Campos Envenenados: Los Trabajadores Agrícolas y los Pesticidas en California”**. *Pesticide Action Network North America* [www.panna.org](http://www.panna.org), 2000.
- Reiser R.W., Dietrich R.F., Djanegara T.K.S., Fogiel A.J., Payne W.G., Ryan D.L., Zimmerman W.T. **“Identification of a Novel Animal Metabolite of Methomyl Insecticide”**. *J. Agric. Food. Chem.*, **46 (6)**, 2309-2313, 1997.
- Rejto M., Saltzman S., Archer A.J. **“Photodecomposition Of Propachlor”**. *J. of Agric. Food Chem.* **32(2)**, 226-230, 1984.
- Reus J., Leendertse P., Bockstaller C., Fomsgaard I., Gutsche V., Lewis K., Nilsson C., Pussemier L., Trevisan M., Van der Werf H., Alfarroba F., Blumel S., Isart J., McGrath D., Seppala T. **“Comparison and Evaluation of Eight Pesticide Environmental Risk Indicators Developed in Europe and Recommendations for Future Use”**. *Agric. Ecosyst. Environ.*, **90**, 177-187, 2002.
- Revitt D., Ellis J.B., Lewellyn N.R. **“Herbicide Behaviour in the Runoff from an Urban Catchment”**. *8<sup>th</sup> ICUSD*, Sydney, Australia, 96-104, 1999.
- Reynolds G., Graham N., Perry R., Rice R.G. **“Aqueous Ozonation of Pesticides: A Review”**. *Ozone Sci. Eng.*, **11**, 339-382, 1989.
- Ribo J.M., Rogers F. **“Toxicity of Mixtures of Aquatic Contaminants using the Luminiscence Bacteria Bioassay”**. *Toxicity Assessment: An International Journal*, **5**, 135-152, 1990.

- Richard A.L., Schlauch M.B., Marley K.A. **"Ferric Ion Promoted Photodecomposition of Triazines"**. *J. Agric. Food Chem.*, **39**, 2057-2062, 1991.
- Richard C. and Bengana S. **"pH Effect in the Photocatalytic Transformation of a Phenyl-Urea Herbicide"**. *Chemosphere*, **33**(4), 635-641, 1996.
- Richardson S., Thurston A., Collette T. **"Identification of TiO<sub>2</sub>/UV Disinfection Byproducts in Drinking Water"**. *Env. Sci. Technol.*, **30**, 3327-3334, 1996.
- Richter C., Malato S., Blanco J. **"Long Term Degradation rate Comparison of a Concentrating and a non-concentrating Photoreactor System for Solar Detoxification"**. *Proceedings of the 8th International Symposium on Solar Termal Concentrating Technologies*, M. Becker, M. Böhmer (Eds.), Koln, Germany, C.F. Müller Verlag, Heidelberg, 1521-1526, 1997.
- Riordan C.J., Hulstrom, R.L., Myers D.R. **"Influences of Atmospheric Conditions and Air Mass on the Ratio of Ultraviolet to Total Solar Irradiation"**. *Solar Energy Research Institute, (SERI)/TP-215-3895*, August 1990.
- Riis V., Stimming M., Mieth D., Babel W. **"Investigations into the Toxicity of Persistent Fractions of Mineral Oils."** *Chemosphere*, **32**(7), 1435-1443, 1996.
- Robert D., Malato S. **"Solar Photocatalysis: a Clean Process for Water Detoxification"**. *Sci. Total Environ.*, **291**, 85-97, 2002.
- Rojickova-Padrtova R., Marsalek B. **"Selection and Sentivity Comparisons of Algal Species for Toxicity Testing"**. *Chemosphere*, **38**(14), 3329-3338, 1999.
- Romer J. **"Análisis de Aguas"**. Eds. Omega S.A. Barcelona, 1989.
- Romero M.C., Gatti E.M., Bruno D.E. **"Effects of Heavy Metals on Microbial Activity of Water and sediment Communities."** *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **15**(2), 161-166, 1999.
- Romero M., Blanco J., Sánchez B., Vidal A., Malato S., Cardona A.I., García E. **"Solar Photocatalytic Degradation of Water and Air Pollutants: Challenges and Perspectives"**. *Solar Energy*, **66** (2), 169-182, 1999.
- Romero M., Zarza E., Blanco M. **"Centrales Eléctricas Termosolares"**. *Tecnologías Energéticas e Impacto Ambiental*. McGraw-Hill/Interamericana España S.A.D. 2001.
- Ruiz M.J., López-Jaramillo L., Redondo M.J., Font G. **"Toxicity Assessment of Pesticides using the Microtox Test: Application to Environmental Samples"**. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **59**, 619-625, 1997.
- Ruppert G., Bauer R. **"The Photo-Fenton Reaction: an Effective Photochemical Wastewater Treatment Process"**. *J. Photochem. Photobiol. A. Chem.*, **73**, 75-78, 1993.

- Ruppert G., Bauer R., Heisler G. **"UV-O<sub>3</sub>, UV-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, UV-TiO<sub>2</sub> and the Photo-Fenton Reaction. Comparison of Advanced Oxidation Processes for Waste Water Treatment"**. *Chemosphere*, **28**, 1447-1454, 1994.
- Sabin F., Turk T., Vogler A. **"Photo-Oxidation of Organic Compounds in the Presence of Titanium Dioxide: Determination of the Efficiency"**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **63**, 99-106, 1992.
- Sabourin P.J., Rayn, D.L. **"Metabolism of Methomyl by Lactating Goats and Laying Hens 1. Material Balance, Tissue Distribution and Metabolite Profiling"**. *213<sup>th</sup> National Meeting of the American Chemical Society*, San Francisco, CA. 1997.
- Safarzadeh-Amiri A., Bolton J.R., Cater S.R. **"The Use of Iron in Advanced Oxidation Processes"**. *J. Adv. Oxid. Technol.*, **1(1)**, 18-26, 1996.
- Sanchez L., Peral J. Domènech X. **"Photocatalyzed Destruction of Aniline in UV-Illuminated Aqueous TiO<sub>2</sub> Suspensions"**. *Electroch. Acta*, **42(12)**, 1877-1882, 1997.
- Sánchez-Brunete C., y col., **"Determination of Corn Herbicides by GC-MS and GC-NPD in Environmental Samples."** *J. of Agricultural and Food Chemistry*, **12**, 321-334, 1994.
- Sánchez-Camazano M., y col. **"Occurrence of Atrazine Residues in Surface and Groundwater in the province of Salamanca (Spain)."** *5<sup>th</sup> International Workshop on Environmental Behaviour of Pesticides and Regulatory Aspects*. Brussels, 1994.
- Sankaramanachi S. K., Qasim S. R. **"Metal toxicity evaluation using bioassay and Microtox"**. *Int. J. Environ. Stud.*, **56 (2)**, 187-200, 1999.
- Sakkas V.A., Lambropoulou D.A., Sakellarides T.M., Albanis T.A. **"Application of solid-phase microextraction for monitoring the photocatalytic decomposition of fenthion and parathion in aqueous TiO<sub>2</sub> suspensions"**. *Anal. Chim. Acta*, **467 (1-2)**, 233-243, 2002.
- Salvestrini S., Di Cerbo P., Capasso S. **"Kinetics of the Chemical Degradation of Diuron"**. *Chemosphere*, **48**, 69-73, 2002.
- Sauteda R., Brilla E. **"Mineralization of Aniline and 4-chlorophenol in Acidic Solution by Ozonation Catalyzed with Fe<sup>2+</sup> and UVA Light"**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **29**, 135-145, 2001.
- Schertenleib R., Gujer W. *EAWAG News*, **48**, 3-5, Septiembre 2000.
- Sehili T., Boule P. **"Photocatalysed Transformation of Chloroaromatic Derivatives on Zinc Oxide IV: 2,4-Dichlorophenol"**. *Chemosphere*, **22 (11)**, 1053-1062, 1991.
- Serpone N., Tercian R., Minero C., Pelizzetti E. **"Heterogeneous Photocatalyzed Oxidation of Phenol, Cresols, and Fluorophenols in TiO<sub>2</sub> Aqueous Suspension"**. *Adv. Chem. Ser.*, **238**, 281-314, 1993.
- Serpone N. **"Brief Introductory Remarks on Heterogeneous Photocatalysis"**. *Solar Energy Mat. and S. Cells*, **98**, 369-379, 1995.

- Serpone N., Sauvé G., Koch R., Tahiri H., Pichat P., Piccini P., Pelizzetti E. and Hidaka H. **“Standardization Protocol of Process Efficiencies and Activation Parameters in Heterogeneous Photocatalysis: Relative Photonic Efficiencies  $\zeta_r$ ”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **94**, 191-203, 1996.
- Serpone N., Calza P., Salinaro A., Cai L., Emeline A., Hidaka H., Horikoshi S., pelizzetti E. **“What Becomes of Nitrogen in the Photoelectrochemical and Photocatalyzed Mineralization of N-containing Substances at Titanic/Water Interfaces?”**. *Electrochem. Soc. Proceedings*, **97(20)**, 301-310, 1997.
- Serpone N., Emeline A.V. **“Suggested Terms and Definitions in Photocatalysis and Radiocatalysis”**. *Int. J. Photoenergy*, **4**, 91-131, 2002.
- Shosberg A., Bellaiche M., Hanji V. and Ershov E. **“New Treatment Regimens in Organophosphate (diazinon) and Carbamate (methomyl) Insecticide-induced Toxicosis in Fowl”**. *Vet. Human Toxicol.* **39(6)**, 347-350, 1997.
- Silgoner I., Rosenberg E., Grasserbauer M. **“Determination of Volatile Organic Compounds in Water by Purge-and-trap Gas Chromatography coupled to Atomic Emission Detection”**. *J. Chromatog. A.*, **768**, 259-270, 1997.
- Simon D., Helliwell S., Roberts K. **“Analytical Chemistry of Chloropyrifos and Diuron in Aquatic Ecosystems”**. *Anal. Chim. Acta*, **360**, 1-16, 1998.
- Sitarska E., Klucinski W., Faaandez R., Duszewka A., Winnicka A., Goralezzyk K. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **55(6)**, 858-869, 1993.
- Skoog D. A. **“Principios de Análisis Instrumental”**. McGraw-Hill D.L., 5ª ed. Madrid, 2000.
- Skoog D. A. **“Análisis Instrumental”**. McGraw-Hill, D.L., 4ª ed. Madrid, 1996.
- Slobodnik J., Van Baar B.L.M., Brinkman U.A.T. **“Column Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: Selected Techniques in Environmental Applications for Polar Pesticides and Related Compounds”**. *J. Chromatography A*; **703**, 81-121, 1995.
- Somich C.J., Kearney P.C., Muldoon M.T., Elsasser S. **“Enhanced Soil Degradation of Alachlor by Treatment with UV-light and Ozone”**. *J. Agric. Food. Chem.*, **36**, 1322-1326, 1988.
- Somich C.J., Muldoon M.T., Kearney P.C. **“On-Site Treatment of Pesticide Waste and Rinsate using Ozone and Biological Active Soil”**. *Environ. Sci. Technol.*, **24 (5)**, 745-749, 1990.
- Speir T.W., Kettles H.A., Parshotam A., Searle S.L., Vlaar L.N.C. **“Simple Kinetic Approach to Determine the Toxicity of As(V) to Soil Biological Properties.”** *Soil. Biol. Biochem.*, **31 (5)**, 705-713, 1999.
- Stan H.J., Heberer Th, **“Automated Recognition of Target Compounds at Low Levels in Environmental Samples by means of Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry with Dedi; II. Application to Pesticides in Groundwater Samples”**. *J. Chromatography A*, **653 (1-29)**, 55-62, 1993

- Steen R.J.C.A., Leonards P.E.G., Brinkman U.A.Th., Cofino W.P. **“Ultra-trace-level Determination of the Antifouling agent Irgarol 1051 by Gas Chromatography with Tandem Mass Spectrometric Detection.”** *J. Chromatogr. A.*, **766**, 153-158, 1997.
- Steverson E.M. **“Provoking a Firestorm: Waste Incineration”**. *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 1419-1427, 1991.
- Strada P. **“Manual de Control Analítico de la Potabilidad de las Aguas de Consumo Humano”**. Ed. Del autor, Toledo, 1983.
- Strathmann T.J., Stone A.T. **“Reduction of the Carbamate Pesticides Oxamyl and Methomyl by Dissolved Fe<sup>II</sup> and Cu<sup>I</sup>”**. *Environ. Sci. Technol.* **35(12)**, 2461-2469, 2001.
- Strathmann T.J., Stone A.T. **“Reduction of the Pesticides Oxamyl and Methomyl by Dissolved Fe<sup>II</sup>: Effect of pH and Inorganic Ligands.”** *Environ. Sci. Technol.*, **36(4)**, 653-661, 2002.
- Sullivan J.M., Grinstead J.H., Kiserow D.J., Pugh K.C., Gautney J. **“TiO<sub>2</sub> Catalyzed Photo-Oxidation of Atrazine in Dilute Aqueous Solutions Under Solar Irradiation: Process Development”**. *Intern. Solar En. Conf. San Francisco*, USA. March 1994.
- Sun Y., Pignatello J.J. **“Evidence for a Surface Dual Hole-radical Mechanism in the TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Oxidation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid”**. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2065-2072, 1995.
- Sun Y., Pignatello J.J. **“Photochemical Reactions Involved in the Total Mineralization of 2,4-D by Fe<sup>+3</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV”**. *Environ. Sci. Technol.*, **27(2)**, 304-310, 1993a.
- Sun Y., Pignatello J., **“Activation of Hydrogen Peroxide by Iron (III) Chelates for Abiotic Degradation of Herbicides and Insecticides in Water”**. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 308-312. 1993b.
- Sun Y., Pignatello J.J. **“Activation of Hydrogen Peroxide by Iron (III) Chelates for Abiotic Degradation of Herbicides and Insecticides in Water”**. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 308-312, 1993b.
- Suominen K.P., Wittman C., Liukkonen M., Kahkonen M.A., Salkinijja-Salonen M.S. **“Ecotoxicological Assessment of Recipient Lake Sediment of Bleached-Kraft Pulping Discharges.”** *Environ.Toxicol.Chem.*, **18(10)**, 2262-2267, 1999.
- Swanson M.B. **“Photodegradation of [1-<sup>14</sup>C] Methomyl in Soil”**. DuPont Internal Report, AMR 611-86, 1986.
- SZlewski M.J. **“Empirical Formula Determinations and Compound-Independent Calibration Using a GC-AED System”**. Hewlett-Packard, Application Note 228-382.
- Tadeo J. L. **“Herbicidas y Medio Ambiente”**. *Phytoma-España*, **63**, 131-134, 1994.
- Tahmassebi L.A., Nelieu S., Kerhoas L., Einhorn J. **“Ozonation of Chlorophenylurea Pesticides in Water: Reaction Monitoring and Degradation Pathways”**. *The Science of the Total Environment*, **291**, 33-44, 2002.
- Tanaka F.S., Hoffer B.L., Wein R.G. *Toxicol. Environ. Chem.*, **86**, 261-269, 1986.

- Tanaka K., Robledo S.M., Hisanaga T., Ali R., Ramli Z., Baka W.A. **"Photocatalytic degradation of 3,4-xylyl N-methylcarbamate (MPMC) and other Carbamates pesticides in aqueous TiO<sub>2</sub> suspensions"**. *J. Mol.Catal. A: Chem.*, **144**, 425-430, 1999.
- Thekaekara M.P. **"Solar energy outside the earth's atmosphere"**. *Solar Energy*, **14**, 109-127, 1973.
- Thomulka K.W., McGee D.J., Lange J.H. **"Use of the bioluminescent bacterium Photobacterium phosphoreum to detect potentially biohazardous materials in water."** *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **51**, 538-544, 1993.
- Thurman E.M., Ferrer I, Barcelo D. **"Choosing between atmospheric pressure chemical ionization and electrospray ionization interfaces for the HPLC/MS analysis of pesticides"**. *Anal. Chem.*, **73 (22)**, 5441-5449, 2001.
- Ting K.C. , Kho D.K. *J. AOAC*, **74**, 991, 1991.
- Tixier C. Bogaerts P., Sancelme M., Bonnemoy F., Twagilimana L., Cuer A., Bohatier J., Vaschambre H. *Pest. Manag. Sci.*, **56**, 455, 2000.
- Tomlin C.D.S. **"The Pesticide Manual, a World Compendium"**. 11th Edition. British Crop Protection Council. Croydon, UK, 1998.
- Topalov A., Molnar-Gabor D., Kosanic M., Abramovic B. **"Photomineralization of the Pesticide Mecoprop Dissolved in Water Sensitised by TiO<sub>2</sub>"**. *Wat. Res.*, **34(5)**, 1473-1478, 2000.
- Torimoto T., Ito S., Kuwabata S., Yoneyama H. **"Effects of Absorbents used as Supports for Titanium Dioxide loading on Photocatalytic Degradation of Propyzamide"**, *Environ. Sci. Technol.*, **30(4)**, 1275-1281, 1996.
- Tothill I.E., Turner A.P.F. **"Developments in Bioassay Methods for Toxicity Testing in Water Treatment."** *Trends in Analytical Chemistry*, **15(5)**, 1996.
- Trillas M., Peral J., Domenech X., Giménez J. **"Photocatalytic Oxidation of Phenol and 2,4-dichlorophenol over TiO<sub>2</sub>"**. *Intern. Solar En. Conf. San Francisco*, USA. March 1994.
- Tseng J.M., Huang C.P. **"Removal of Chlorophenols from Water by Photocatalytic Oxidation"**. *Wat. Sci. Tech.*, **23**, 377-387, 1991.
- Tuinstra L.G.M.T., Roos A.H., Master A.M., Traag W.A., van Rhijn J.A. **"Development of a Multi-Residue/Multi-matrix Method for Pesticide Residues in Agricultural Products"**. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **339**, 384-386, 1991.
- Tuinstra L.G.M.Th., Van de Spreng P., Gaikhorst P. **"Ion Trap Detection for Development of a Multiresidue/Multimatrix Method for Pesticide Residues in Agricultural Products."** *Int. J. Environ., Anal. Chem.*, **58**, 81-91. 1993.
- Turchi C.S., Ollis D.F. **"Photocatalytic Degradation of Organic Water Contaminants: Mechanisms Involving Hydroxyl Radical Attack"**. *J. Cat.*, **122**, 178-192, 1990.

- Turchi C.S., Mehos M.S., **“Solar Photocatalytic Detoxification of Groundwater: Developments of Reactor Design”**. *Chem. Oxid.*, **2**, 301, 1994.
- Van beelen P., Doelman P. **“Significance and Application of Microbial Toxicity Tests in Assessing Ecotoxicological Risks of Contaminants in Soil and Sediments.”** *Chemosphere*, **34 (3)**, 455-499, 1997.
- Van der Werf H.M.G. **“Assessing the Impact of Pesticides on the Environment”**. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, **60**, 81-96, 1996.
- Van Wijngaarden R. P. A., Van Den Brink P. J., Crum S. J. H., Oude Voshaar J. H., Brock T. C. M., Leeuwangh P. **“Effects of the Insecticide Dursban 4E (active ingredient chlorpyrifos) in outdoor Experimental Ditches: I. Comparison of Short-term Toxicity between the Laboratory and the Field”**. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15(4)**, 234-236, 1996.
- Van Zoonen P. (Ed.). **“Analytical Methods for Pesticide Residues in Foodstuffs”**. 6<sup>th</sup> Edition. The Inspectorate for Health Protection, Ministry of Public Health, Welfare Sport, Drukkerij T.O., Offset B.V., Maastricht, the Netherlands, 1996.
- Venkatadri R., Peters R. W. **“Chemical Oxidation Technologies: Ultraviolet Light/Hydrogen Peroxide, Fenton’s Reagent, and Titanium Dioxide-Assisted Photocatalysis”**. *Hazardous Waste & Hazardous Materials.*, **10(2)**, 1993.
- Vidal A. **“Degradación Fotocatalítica Contaminantes en Agua: Catalizadores Soportados Sobre Matrices IER-CIEMAT. Proy. M8H01. Diciembre, 1991.**
- Vidal A. **“Degradación Fotocatalítica de Lindano en Agua con Radiación Solar”**. *3º Congreso Intern. de Química de la ANQUE*. Tenerife, Diciembre 1994.
- Vidal A., Díaz A.I., El Hraiki A., Romero M., Muguruza I., Senhaji F., González J. **“Solar Photocatalysis for Detoxification and Disinfection of Contaminated Water: Pilot Plant Studies”**. *Cat. Today*, **54**, 183-290, 1999.
- Vidal A., Luengo M. **“Inactivation of Titanium Dioxide by Sulphur: Photocatalytic Degradation of Vapam®”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **32**, 1-9, 2001.
- Villarroel M. J., Sancho E., Ferrando M.D., Andreu-Moliner E. **“Effect of an Acaricide on the Reproduction and Survival of *Daphnia Magna*”**. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **63(2)**, 167-173, 1999.
- Vincent M. **“Solar Detox Market”**. *Proceedings of Training and Mobility of Researchers Summer School: Industrial Applications of Solar Chemistry*. CIEMAT. Almería, **Septiembre** 1998.
- Vulliet E., Emmelin C., Chovelon J.M., Guilard C., Herrmann J.M. **“Photocatalytic degradation of sulfonyleurea herbicides in aqueous TiO<sub>2</sub>”**. *Appl. Catal. B: Environ.*, **38**, 127-137, 2002.
- Wadhia K., Colley A., Thompson K.C. **“Application of Routine Ecotoxicological Screening Methods for Assessing Suitability of trade Effluents for Biological Treatment”**. *Toxic Impacts of Wastes on the Aquatic Environment*. Tapp, J.F., Hunt, S.M., Wharfe, J.R. (Eds.), 1996.

- Wagenet R. J., Rao P.S.C. **“Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling”**. H.H. Cheng (Ed.), Soil Science Society of America, 351-399, 1990.
- Waki K., Wang L., Nohara K., Hidaka H. **“Photocatalytic Mineralization of Nitrogen-Containing Compounds at TiO<sub>2</sub> / H<sub>2</sub>O Interfaces”**. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **95**, 53-59, 1995.
- Walker A. **“Evaluation of a Simulation Model of Herbicide Movement and Persistence in Soil”**. *Weed Research*, **27**, 143-152, 1987.
- Walton H. F. **“Análisis Químico e Instrumental Moderno”**. Reverte D. L., Barcelona, 1983.
- Wang T.H., Hong C.S. **“Comparison among Fenton-related Processes to Remove 2,4-dinitrophenol”**. *J. Environ. Sci. Health*, **A 34(6)**, 1267-1281, 1999.
- Watts R.J., Kong S., Lee W. **“Sedimentation and Reuse of Titanium Dioxide: Application to Suspended Photocatalyst Reactors”**. *J. Environ. Engin.*, **121(10)**, 730-735, 1995.
- Well M., Dillert R.H.G., Bahnemann D. W., Benz V.W., Mueller M.A. **“A Novel Nonconcentrating Reactor for Solar Water Detoxification”**. *J. Sol. En. Eng.*, **119**, 114-119, 1997.
- Wilderer P., Wuertz S. **“Modern Scientific Tools in Bioprocessing”**. Elsevier, Amsterdam : 2002.
- Wilkins F.W., Blake D.M. **“Use Solar Energy to Drive Chemical Process”**. *Chem. Eng. Process*, 451-465, 1994.
- Wolfe N. L., Zeep R. G., Gordon J.A., Baughman G.L., Cline D.M. **“Kinetics of Chemical Degradation of Malathion in water”**, *Env. Sci. Technol.*, **11(1)**, 88-93, 1997.
- Wolfrum E.I., Turchi S. **“Comments on Reactor Dynamics in the Evaluation of Photocatalytic Oxidation Kinetics”**. *J. Catal.*, **136**. 626-628, 1992.
- Woodburn K.B., Batzer F.R., White F.H., Schultz H.D. **“The Aqueous Photolysis Of Triclopyr”**. *Environ. Toxicol. Chem.* **12(1)**, 43-55, 1993.
- Wyness P., Klausner J.F., Goswami D.Y., Schanze K.S. **“Performance of Nonconcentrating Solar Photocatalytic Oxidation Reactors, Part I and II”**. *J. Solar Energy Engineering*, **116**, 2-13, 1994.
- Xi W., Geisen S.V. **“Separation of Titanium Dioxide from Photocatalytically Treated Water by Cross-Flow Filtration”**. *Wat. Res.* **35(5)**, 1256- 1262, 2001.
- Yarita T., Sugino K., Ihara T., Nomura A. **“Liquid Chromatography-Mass Spectrometric Analysis of Phenylurea Herbicides and their Degradation Products using an Atmospheric Pressure Ionization Interface”**. *Anal. Comm.*, **35 (3)**, 91-92, 1998.
- Yi-zhong W., Yuan F., Hong-xiao T. **“Comparative Study of Performance Efficiency for three Kinds of Photoreactors”**. *J. Env. Sci.*, **10(3)**, 291-295, 1998.
- Zaleska A., Hupta J., Wierowski M., Biziuk M. **“Photocatalytic Degradation of Lindane, pp-DDT and Methoxychlor in Aqueous Environment”**. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **135**, 213-220, 2000.

- Zepp R., Faust B., Houghé J. **“Hydroxyl Radical Formation in Aqueous Reactions (pH 3-8) of Iron (II) with Hydrogen Peroxide: the Photo-Fenton Reaction”**. *Environ. Sci. Technol.*, **26(2)**, 313-319, 1992.
- Zhang T., Oyama T., Horikoshi S., Zhao J., Hidaka H., Serpone N. **“Assessment and Influence of Operational Parameters on the TiO<sub>2</sub> Photocatalytic Degradation of Sodium Benzene Sulfonate under Highly Concentrated Solar Light Illumination”**. *Solar Energy*, **71(35)**, 305-313, 2001.
- Zinkus G.A., Byers W.D., Doerr W.W. **“Identify Appropriate Water Reclamation Technologies”** *Chem. Eng. Prog.*, **May**, 19-31, 1998.
- Zwick T.C., Malik N. **“Aerobic Metabolism of [1-<sup>14</sup>C] Methomyl in Madera California Soil”**. DuPont Internal Report, AMR 1543-89, 1990.
- Zwiener C., Weil L., Niesser R. **“Atrazine and Parathion-Methyl Removal by UV and UV/O<sub>3</sub> in Drinking Water Treatment”**. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **85**, 247-264, 1993.

## **9. NOMENCLATURA**

Las unidades que se incluyen son las que habitualmente se han utilizado en esta memoria de Tesis Doctoral. Éstas se han incluido con la intención de aclarar cada una de las abreviaturas y siglas definidas en esta nomenclatura.

$A_r$ :	Área de colectores solares iluminada.
ADI:	Acceptable Daily Intake; “ingestión diaria admisible” ( $\text{mg kg}^{-1}$ peso del cuerpo).
AED:	Atomic Emission Detector; “detector de emisión atómica”.
AOPs:	Advanced Oxidation Processes; “procesos de oxidación avanzada”.
APCI :	Atmospheric Pressure Chemical Ionisation; “ionización química a presión atmosférica”.
API:	Atmospheric Pressure Ionisation; “ionización a presión atmosférica”.
ASTM:	American Society for Testing and Materials.
$c$ :	Velocidad de la luz ( $2.99 \times 10^{17} \text{ nm s}^{-1}$ ).
$C_0$ :	Concentración inicial del contaminante ( $\text{mg L}^{-1}$ ).
$C_i$ :	Concentración de contaminante ( $\text{mg L}^{-1}$ ).
$C_T$ :	Capacidad de tratamiento ( $\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ ).
$C_{T,90\% \text{ TOC}}$ :	Capacidad de tratamiento para mineralizar el 90 % del TOC ( $\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ ).
$C_{T,\text{TOX}}$ :	Capacidad de tratamiento para reducir la toxicidad hasta el $\text{EC}_{50}$ ( $\text{m}^3 \text{ m}^{-2} \text{ año}^{-1}$ ).
CE:	European Commission; “Comisión Europea”.
CI:	Chemical Ionisation; “Ionización Química”.
CIC:	Calibration of independents Compounds; “Calibración de compuestos independientes”.
CPCs:	Colectores Parabólicos Compuestos
CV:	Coefficiente de Variación.
DBO:	Demanda Biológica de Oxígeno ( $\text{mg L}^{-1}$ ).
DCA:	Dispositivo de Carga Acoplada.
DQO:	Demanda Química de Oxígeno ( $\text{mg L}^{-1}$ ).
DS:	Desviación Estándar.
$\text{DT}_{50}$ :	Tiempo necesario para la desaparición del 50 % del contaminante;

	tiempo de vida media.
$e_{BC}$ :	Electrón de la banda de conducción.
$e_{BV}$ :	Electrón de la banda de valencia.
$E_G$ :	Energía del “ancho de banda” de un semiconductor. Es decir, diferencia de energía entre las banda de valencia y la banda de conducción.
$E_\lambda$ :	Energía de un fotón de longitud de onda $\lambda$ .
$EC_{50}$ :	Effective Concentration; “Concentración Efectiva” ( $\text{mg L}^{-1}$ ); Concentración de Contaminante a la cual disminuye en un 50 % el factor de respuesta del organismo bioensayado.
EDAR:	Estación Depuradora de Aguas Residuales.
EI:	Electronic Impact; “impacto electrónico”.
EPA:	Environmental Protection Agency (of USA); “agencia de protección medioambiental de los Estados Unidos”.
EPC:	Electronic Pneumatic Control; “control neumático electrónico.
ES:	Electrospray.
$f_{dil}$ :	Factor de Dilución.
FT-IR:	Fourier Transformed-Infrared Detector; “detector de infrarrojos con transformada de Fourier”.
GC-AED:	Gas Chromatography - Atomic Emission Detector; “cromatografía de gaseosa con detector de emisión atómica”.
GC-IT:	Gas Chromatography – Ion trap; “cromatografía gaseosa con analizador de trampa de iones
GC-EI-MS:	Gas Chromatography – Electronic Impact – Mass Spectrometry; “cromatografía de gaseosa acoplada a espectrometría de masas con modo de ionización por impacto electrónico”.
GC-PCI-MS:	Gas Chromatography – Positive Chemical Ionisation – Mass Spectrometry; “cromatografía de gaseosa acoplada a espectrometría de masas con modo de ionización química”.
GC-MS:	Gas Chromatography – Mass Spectrometry; “cromatografía de gaseosa acoplada a espectrometría de masas”.
GC-MS/MS:	Gas Chromatography – Mass Spectrometry / Mass Spectrometry; “Cromatografía de Gaseosa acoplada a Espectrometría de Masas en

	“Tándem”.
h:	Constante de Planck ( $6.63 \times 10^{-34}$ J s).
$h_{BV}^+$ :	Hueco de la banda de valencia.
HPLC:	High Performance Liquid Chromatography; “cromatografía líquida de alta resolución”.
HPLC-UV:	High Performance Liquid Chromatography – Ultraviolet Detector; “cromatografía líquida de alta resolución con un detector de espectrofotometría ultravioleta-visible”.
I:	Intensidad de la radiación ( $W m^2$ ).
$I_{Ai}$ :	Porcentaje de inhibición del crecimiento celular para cada concentración de muestra analizada (%).
$I_0$ :	Intensidad inicial de luz emitida por el microorganismo (unidades relativas de luz, URL).
$I_t$ :	Intensidad de luz emitida por el microorganismo (URL).
IC:	Ionic Chromatography; “cromatografía iónica”.
IC-CD:	Ionic Chromatography – Conductivity Detector; “cromatografía iónica con detector de conductividad.”
IR:	“Infrarrojo”.
IPPC:	Integrated Prevention Pollution Control; “Directiva de la Unión Europea de control y prevención integrada de la contaminación”.
ISO:	International Organization for Standardization.
ISP:	Ionspray.
IT:	Ion Trap; “analizador de trampa de iones”.
IUPAC:	International Union of Pure and Applied Chemistry.
k:	Constante de velocidad de reacción de primer orden ( $min^{-1}$ ).
$k_{ap}$ :	Constante de velocidad aparente de pseudo-primer orden ( $min^{-1}$ ).
K:	Constante de adsorción del compuesto sometido a estudio en la superficie del $TiO_2$ ( $M^{-1}$ ).
LC-APCI-MS:	Liquid Chromatography – Atmospheric Pressure Chemical Ionisation – Mass Spectrometry; “cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en el modo de ionización química a presión atmosférica”.
LC-API-MS:	Liquid Chromatography – Atmospheric Pressure Ionisation – Mass

	Spectrometry; “cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en el modo de ionización a presión atmosférica.
LC-IC	Liquid Chromatography – Ionic Chromatography; “cromatografía líquida con detector de conductividad iónica”.
LC-IT-MS:	Liquid Chromatography – Ion Trap – Mass Spectrometry; “cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de trampa de iones”.
LC-MS:	Liquid Chromatography – Mass Spectrometry; “cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas”.
LC-MS/MS:	Liquid Chromatography – Mass Spectrometry / Mass Spectrometry; “cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem”.
LC-Q-ES-MS:	Liquid Chromatography – Quadrupole - Electrospray – Mass Spectrometry; “cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas con analizador de cuadrupolo y con ionización con electrospray”.
LD <sub>50</sub> :	Lethal Dose; Dosis requerida para matar el 50 % de los organismos bioensayados (mg L <sup>-1</sup> ).
LLE:	Liquid-Liquid Extraction; “extracción líquido-líquido”.
LOEC:	Lowest Observed Effect Concentration; Concentración mínima que produce un efecto adverso observable (mg L <sup>-1</sup> ).
[M+H] <sup>+</sup> :	Ión molecular protonado.
m/z:	Relación masa carga de los iones.
N <sub>0</sub> :	Densidad celular inicial.
N <sub>n</sub> :	Densidad celular en cada instante.
NCI:	Negative Chemical Ionisation; “ionización química negativa”.
NOEC:	No Observed Effect Concentration; Concentración máxima a la cual no se observa ningún efecto adverso (mg L <sup>-1</sup> ).
NOEL:	No Observed Effect Level; Nivel máximo al cual no se observa ningún efecto adverso (mg kg <sup>-1</sup> de dieta diaria).
OD:	Optic Density; “Densidad óptica”.
OECD:	Organization for Economic Cooperation and Development; Organización para la cooperación económica y el desarrollo.

OMS:	Organización Mundial de la Salud.
PB:	Particle Beam, “haz de partículas”.
PCI:	Positive Chemical Ionisation; “ionización química positiva”.
PDs:	Productos de Degradación.
PHS:	Priority Hazardous Substance; “sustancias contaminantes prioritarias”.
Pm:	Peso molecular.
PMM:	Pririmiphos-methyl.
POPs:	Persistent Organic Pollutant; “contaminantes orgánicos persistentes”.
PSA:	Plataforma Solar de Almería.
PTCs:	Parabolic Trough Collectors; “Colectores Cilindro Parabólicos”.
$Q_{UV}$ :	Energía acumulada en el reactor por unidad de volumen, $\text{kJ L}^{-1}$ .
$Q_{UV,n}$ :	Energía acumulada en el reactor por unidad de volumen para cada muestra tomada, $\text{kJ L}^{-1}$ .
r:	Velocidad de reacción ( $\text{mg L}^{-1} \text{min}^{-1}$ ).
$r_0$ :	Velocidad inicial de reacción ( $\text{mg L}^{-1} \text{min}^{-1}$ ).
RC:	Factor de Concentración de la radiación.
RMN:	Resonancia Magnética Nuclear.
$R_i$ :	Factor de corrección para el cálculo del efecto inhibitorio.
SPE:	Solid Phase Extraction; “extracción en fase sólida”.
t:	Tiempo experimental (min).
$t_n$ :	Tiempo experimental de cada muestra, es decir, tiempo transcurrido desde que empieza el experimento hasta que se toma la muestra (min).
$t_R$ :	Tiempo de retención (min).
$t_{30W}$ :	Tiempo de iluminación normalizado a una radiación constante de $30 \text{ W}_{UV}\text{m}^{-2}$ (min).
$t_{30W, 90\% \text{ TOC}}$ :	Tiempo de iluminación necesario para mineralizar el 90 % del TOC, normalizado a una radiación constante de $30 \text{ W}_{UV}\text{m}^{-2}$ (min).
$t_{30W, \text{TOX}}$ :	Tiempo de Iluminación necesario para reducir la toxicidad hasta el $\text{EC}_{50}$ , normalizado a una radiación constante de $30 \text{ W}_{UV}\text{m}^{-2}$ (min).
TC:	Total Carbon; “Carbono Total” ( $\text{mg L}^{-1}$ ).

TIC:	Total Inorganic Carbon; “Carbono Inorgánico Total” (mg L <sup>-1</sup> ).
TIEs:	Toxicity Identification Techniques; “metodologías de evaluación por identificación de la toxicidad”.
TOC:	Total Organic Carbon; “Carbono Orgánico Total” (mg L <sup>-1</sup> ).
TSP:	Thermospray.
UE:	Unión Europea.
UN:	United Nations; “Naciones Unidas”.
UV <sub>D</sub> :	Radiación Ultravioleta Directa (W m <sup>-2</sup> ).
UV <sub>G</sub> :	Radiación Ultravioleta Global (W m <sup>-2</sup> ).
$\overline{UV}_{G,n}$ :	Promedio de la radiación incidente en la superficie del colector en (W m <sup>-2</sup> ).
V <sub>illu</sub> :	Volumen iluminado del reactor (L).
V <sub>t</sub> :	Volumen total del reactor (L).
WFD:	Water Framework Directive; Directiva Marco del agua de la UE.
φ:	Rendimiento Cuántico (%).
λ:	Longitud de onda (nm).
μ:	Relación de crecimiento medio de la microalgas en bioensayos de toxicidad aguda.
μ <sub>i</sub> :	Relación de crecimiento medio para cada concentración de muestra analizada.
μ <sub>c</sub> :	Relación de crecimiento medio para el control.
τ:	Efecto inhibitorio de la toxicidad expresado en términos de la relación entre la pérdida de emisión de luz natural y la emitida, durante un periodo de exposición, para una determinada concentración de sustancia tóxica.

**ANEXO II:**

**EU Priority Substances List**

## I

(Acts whose publication is obligatory)

**DECISION No 2455/2001/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL  
of 20 November 2001  
establishing the list of priority substances in the field of water policy and amending Directive  
2000/60/EC  
(Text with EEA relevance)**

THE EUROPEAN PARLIAMENT AND THE COUNCIL OF THE EUROPEAN UNION,

Having regard to the Treaty establishing the European Community, and in particular Article 175(1) thereof,

Having regard to the proposal from the Commission <sup>(1)</sup>,

Having regard to the Opinion of the Economic and Social Committee <sup>(2)</sup>,

Following consultation of the Committee of the Regions,

Acting in accordance with the procedure laid down in Article 251 of the Treaty <sup>(3)</sup>,

Whereas:

- (1) Council Directive 76/464/EEC of 4 May 1976 on pollution caused by certain dangerous substances discharged into the aquatic environment of the Community <sup>(4)</sup> and the Directives adopted within its framework currently represent the major Community instrument for the control of point and diffuse discharges of dangerous substances.
- (2) The Community controls under Council Directive 76/464/EEC have been replaced, harmonised and further developed by Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy <sup>(5)</sup>.
- (3) Under Directive 2000/60/EC specific measures must be adopted at Community level against pollution of water by individual pollutants or groups of pollutants presenting a significant risk to or via the aquatic environment, including such risks to waters used for the abstraction of drinking water. Such measures are aimed at the progressive reduction and, for priority hazardous substances, as defined in the second sentence of point 30 of Article 2 of Directive 2000/60/EC, at the cessation or phasing out of discharges, emissions and losses

within 20 years after their adoption at Community level, with the ultimate aim, as recognised in the context of achieving the objectives of relevant international agreements, of achieving concentrations in the marine environment approaching background values for naturally occurring substances and close to zero for man-made synthetic substances. With a view to the adoption of these measures, it is necessary to establish, as Annex X to Directive 2000/60/EC, the list of priority substances, including the priority hazardous substances. The list has been prepared taking into account the recommendations referred to in Article 16(5) of Directive 2000/60/EC.

- (4) For substances occurring naturally, or produced through natural processes, such as cadmium, mercury and poly-aromatic hydrocarbons (PAHs), complete phase-out of emissions, discharges and losses from all potential sources is impossible. When the relevant individual directives are drawn up, this situation must be properly taken into account and measures should aim at the cessation of emissions, discharges and losses into water of those priority hazardous substances which derive from human activities.
- (5) Directive 2000/60/EC introduces in Article 16(2) a scientifically based methodology for selecting priority substances on the basis of their significant risk to or via the aquatic environment.
- (6) The methodology set out in Directive 2000/60/EC enables, as a most practical option, the application of a simplified risk-based assessment procedure based on scientific principles taking particular account of:
  - evidence regarding the intrinsic hazard of the substance concerned, and, in particular, its aquatic ecotoxicity and human toxicity via aquatic exposure routes,
  - evidence from monitoring of widespread environmental contamination, and
  - other proven factors which may indicate the possibility of widespread environmental contamination, such as production, use volume and use pattern of the substance concerned.

<sup>(1)</sup> OJ C 177 E, 27.6.2000, p. 74 and OJ C 154 E, 29.5.2001, p. 117.

<sup>(2)</sup> OJ C 268, 19.9.2000, p. 11.

<sup>(3)</sup> Opinion of the European Parliament of 15 May 2001 (not yet published in the Official Journal) and Council Decision of 8 October 2001.

<sup>(4)</sup> OJ L 129, 18.5.1976, p. 23. Directive as last amended by Directive 2000/60/EC (OJ L 327, 22.12.2000, p. 1).

<sup>(5)</sup> OJ L 327, 22.12.2000, p. 1.

- (7) The Commission has, on this basis, developed a combined monitoring-based and modelling-based priority setting (COMMPS) scheme, in collaboration with experts of interested parties, involving the Scientific Committee for Toxicity, Ecotoxicity and the Environment, Member States, EFTA countries, the European Environment Agency, European business associations including those representing small and medium-sized enterprises and European environmental organisations.
- (8) The Commission should involve in the COMMPS procedure the countries which are candidates for membership of the European Union, assigning priority to those through whose territory watercourses pass which also pass through, or flow into, the territory of a Member State.
- (9) A first list of 33 priority substances or groups of substances has been selected on the basis of the COMMPS procedure, following a publicly open and transparent discussion with the interested parties.
- (10) The expeditious adoption of this list is desirable in order to enable the timely and continuing implementation of Community controls of dangerous and hazardous substances pursuant to the strategy set out in Article 16 of Directive 2000/60/EC, in particular the proposals for controls as set out in Article 16(6) and the proposals for quality standards as set out in Article 16(7) in order to achieve the objectives of the Directive.
- (11) The list of priority substances adopted under this Decision is to replace the list of substances in the Commission Communication to the Council of 22 June 1982 on dangerous substances which might be included in List I of Council Directive 76/464/EEC<sup>(1)</sup>.
- (12) Pursuant to Article 16(3) of Directive 2000/60/EC, the identification of the priority hazardous substances requires consideration of the selection of substances of concern in relevant Community legislation regarding hazardous substances or relevant international agreements. Hazardous substances are defined in that Directive as 'substances or groups of substances that are toxic, persistent and liable to bio-accumulate, and other substances or groups of substances which give rise to an equivalent level of concern'.
- (13) International agreements of relevance include *inter alia* the OSPAR Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic, the HELCOM Convention on the Protection of the Marine Environment of the Baltic Sea, the Barcelona Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution, the Conventions adopted within the International Maritime Organisation, the UNEP Convention on Persistent Organic Pollutants and the Protocol on Persistent Organic Pollutants of the UN-ECE Convention on Long-Range Transboundary Air Pollution.
- (14) The selection of priority substances and the identification of priority hazardous substances targeted to the establishment of controls of emissions, discharges and losses will contribute to the objectives and the Community commitments under international conventions for the protection of marine waters, in particular to the implementation of the Strategy with regard to hazardous substances adopted at the 1998 OSPAR Ministerial Meeting under the Convention for the protection of the marine environment of the North-East Atlantic pursuant to Council Decision 98/249/EC<sup>(2)</sup>.
- (15) The identification of the priority hazardous substances on the list of priority substances should be made with regard, *inter alia*, to hazardous substances agreed for phase-out or for cessation of discharges, emissions and losses in international agreements, such as hazardous substances which are agreed for phase-out in international fora including IMO, UNEP or UN-ECE; hazardous substances which are agreed for cessation of discharges, emissions and losses as a priority in the OSPAR Convention, including hazardous substances identified by the OSPAR DYNAMEC Selection I<sup>(3)</sup> or III<sup>(4)</sup>; hazardous substances which give rise to 'an equivalent level of concern' as substances that are persistent, toxic and liable to bioaccumulate (PTBs), such as endocrine disrupters identified under the OSPAR Strategy; and heavy metals included in the Protocol on Heavy Metals of the UN-ECE Convention on Long-Range Transboundary Air Pollution and selected for priority action under OSPAR 1998 and 2000, which give rise to 'an equivalent level of concern' as PTBs.
- (16) In order to render measures to combat water pollution effective, the Commission must promote the synchronisation of research and of the conclusions effected in the framework of the OSPAR Convention and the COMMPS procedure.
- (17) The COMMPS procedure is designed as a dynamic instrument for the prioritisation of dangerous and hazardous substances open to continuous improvement and development with a view to review and adaptation of the first list of priority substances at the latest four years after the entry into force of Directive 2000/60/EC and at least every four years thereafter. In order to ensure that all potential priority substances are taken into account by the next selection process, it is essential that no substances are systematically excluded, that best available knowledge is taken into account, and that all chemicals and all pesticides on the EU market and all substances identified as 'hazardous' by OSPAR are included in the selection process.

<sup>(2)</sup> OJ L 104, 3.4.1998, p. 1.

<sup>(3)</sup> Not inherently biodegradable and log Kow (octanol-water coefficient)  $\geq 5$  or BCF (bioconcentration factor)  $\geq 5\,000$  and acute aquatic toxicity  $\leq 0,1$  mg/l or mammalian CMR (cancerogenicity, mutagenicity and toxic for reproduction).

<sup>(4)</sup> Not inherently biodegradable and log Kow  $\geq 4$  or BCF  $\geq 500$  and acute aquatic toxicity  $\leq 1$  mg/l or mammalian CMR.

<sup>(1)</sup> OJ C 176, 14.7.1982, p. 3.

- (18) The effectiveness of COMMPS is largely determined by the availability of relevant data. Current Community legislation on chemical substances has been found to suffer from a major lack of data. The purpose of Directive 2000/60/EC can only be fully achieved if full data availability is ensured by revising the Community legislation on chemical substances.
- (19) The reference to the COMMPS procedure does not preclude the possibility that the Commission may use methods of assessing the harmfulness of certain substances which have already been developed or used in other anti-pollution measures.
- (20) In accordance with Article 1(c) of Directive 2000/60/EC, the future reviews of the list of priority substances under Article 16(4) of that Directive will contribute to the cessation of emissions, discharges and losses of all hazardous substances by 2020 by progressively adding further substances to the list.
- (21) During review and adaptation of the list of priority substances, in addition to the further developed COMMPS procedure, account should be taken as appropriate of the results of the reviews under Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market <sup>(1)</sup>, Council Regulation (EEC) No 793/93 of 23 March 1993 on the evaluation and control of the risks of existing substances <sup>(2)</sup>, European Parliament and Council Directive 98/8/EC of 16 February 1998 concerning the placing of biocidal products on the market <sup>(3)</sup> and possibly other scientific information from the review of existing or new directives, in particular within the framework of legislation on chemicals. Duplicate reviews of substances must be avoided in view of the costs involved. In adapting the lists it must be possible both to set a lower priority ranking and also to place a substance in a higher category,

HAVE ADOPTED THIS DECISION:

*Article 1*

The list of priority substances including substances identified as priority hazardous substances, provided for in Article 16(2) and (3) of Directive 2000/60/EC, is hereby adopted. This list, as it appears in the Annex to this Decision, shall be added to Directive 2000/60/EC as Annex X.

*Article 2*

The list of priority substances established by this Decision shall replace the list of substances in the Commission Communication of 22 June 1982.

*Article 3*

In order to ensure consideration of all potential priority substances, the Commission and the Member States shall ensure that the substance and exposure-related data needed for the implementation of the COMMPS procedure are made available.

*Article 4*

This Decision shall enter into force on the day after its publication in the *Official Journal of the European Communities*.

*Article 5*

This Decision is addressed to the Member States.

Done at Brussels, 20 November 2001.

*For the European Parliament*

*The President*

N. FONTAINE

*For the Council*

*The President*

A. NEYTS-UYTTEBROECK

<sup>(1)</sup> OJ L 230, 19.8.1991, p. 1. Directive as last amended by Directive 2001/49/EC (OJ L 176, 29.6.2001, p. 61).

<sup>(2)</sup> OJ L 84, 5.4.1993, p. 1.

<sup>(3)</sup> OJ L 123, 24.4.1998, p. 1.

## ANNEX

## 'ANNEX X

## LIST OF PRIORITY SUBSTANCES IN THE FIELD OF WATER POLICY (\*)

	CAS number (1)	EU number (2)	Name of priority substance	Identified as priority hazardous substance
(1)	15972-60-8	240-110-8	Alachlor	
(2)	120-12-7	204-371-1	Anthracene	(X) (***)
(3)	1912-24-9	217-617-8	Atrazine	(X) (***)
(4)	71-43-2	200-753-7	Benzene	
(5)	not applicable	not applicable	Brominated diphenylethers (**)	X (****)
(6)	7440-43-9	231-152-8	Cadmium and its compounds	X
(7)	85535-84-8	287-476-5	C <sub>10-13</sub> -chloroalkanes (**)	X
(8)	470-90-6	207-432-0	Chlorfenvinphos	
(9)	2921-88-2	220-864-4	Chlorpyrifos	(X) (***)
(10)	107-06-2	203-458-1	1,2-Dichloroethane	
(11)	75-09-2	200-838-9	Dichloromethane	
(12)	117-81-7	204-211-0	Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)	(X) (***)
(13)	330-54-1	206-354-4	Diuron	(X) (***)
(14)	115-29-7	204-079-4	Endosulfan	(X) (***)
	959-98-8	not applicable	(alpha-endosulfan)	
(15)	206-44-0	205-912-4	Fluoranthene (****)	
(16)	118-74-1	204-273-9	Hexachlorobenzene	X
(17)	87-68-3	201-765-5	Hexachlorobutadiene	X
(18)	608-73-1	210-158-9	Hexachlorocyclohexane	X
	58-89-9	200-401-2	(gamma-isomer, Lindane)	
(19)	34123-59-6	251-835-4	Isoproturon	(X) (***)
(20)	7439-92-1	231-100-4	Lead and its compounds	(X) (***)
(21)	7439-97-6	231-106-7	Mercury and its compounds	X
(22)	91-20-3	202-049-5	Naphthalene	(X) (***)
(23)	7440-02-0	231-111-4	Nickel and its compounds	

	CAS number <sup>(1)</sup>	EU number <sup>(2)</sup>	Name of priority substance	Identified as priority hazardous substance
(24)	25154-52-3	246-672-0	Nonylphenols	X
	104-40-5	203-199-4	(4-(para)-nonylphenol)	
(25)	1806-26-4	217-302-5	Octylphenols	(X) (***)
	140-66-9	not applicable	(para-tert-octylphenol)	
(26)	608-93-5	210-172-5	Pentachlorobenzene	X
(27)	87-86-5	201-778-6	Pentachlorophenol	(X) (***)
(28)	not applicable	not applicable	Polyaromatic hydrocarbons	X
	50-32-8	200-028-5	(Benzo(a)pyrene),	
	205-99-2	205-911-9	(Benzo(b)fluoranthene),	
	191-24-2	205-883-8	(Benzo(g,h,i)perylene),	
	207-08-9	205-916-6	(Benzo(k)fluoranthene),	
	193-39-5	205-893-2	(Indeno(1,2,3-cd)pyrene)	
(29)	122-34-9	204-535-2	Simazine	(X) (***)
(30)	688-73-3	211-704-4	Tributyltin compounds	X
	36643-28-4	not applicable	(Tributyltin-cation)	
(31)	12002-48-1	234-413-4	Trichlorobenzenes	(X) (***)
	120-82-1	204-428-0	(1,2,4-Trichlorobenzene)	
(32)	67-66-3	200-663-8	Trichloromethane (Chloroform)	
(33)	1582-09-8	216-428-8	Trifluralin	(X) (***)

(\*) Where groups of substances have been selected, typical individual representatives are listed as indicative parameters (in brackets and without number). The establishment of controls will be targeted to these individual substances, without prejudicing the inclusion of other individual representatives, where appropriate.

(\*\*) These groups of substances normally include a considerable number of individual compounds. At present, appropriate indicative parameters cannot be given.

(\*\*\*) This priority substance is subject to a review for identification as possible "priority hazardous substance". The Commission will make a proposal to the European Parliament and Council for its final classification not later than 12 months after adoption of this list. The timetable laid down in Article 16 of Directive 2000/60/EC for the Commission's proposals of controls is not affected by this review.

(\*\*\*\*) Only Pentabromobiphenylether (CAS-number 32534-81-9).

(\*\*\*\*\*) Fluoranthene is on the list as an indicator of other, more dangerous Polyaromatic Hydrocarbons.

(1) CAS: Chemical Abstract Services.

(2) EU-nummer: European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances (EINECS) or European List of Notified Chemical Substances (ELINCS).'