

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

“Profesor Fermín Capitán García”



PROGRAMA OFICIAL DE DOCTORADO EN QUÍMICA

**“COMPORTAMIENTO AMBIENTAL DE
CONTAMINANTES QUÍMICOS.
METODOLOGÍA ANALÍTICA Y ESTUDIOS DE
MODELIZACIÓN”**

TESIS DOCTORAL
BARTOLOMÉ OLIVER RODRÍGUEZ
GRANADA, 2013

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Bartolomé Oliver Rodríguez
D.L.: GR 2316-2014
ISBN: 978-84-9083-363-6

**COMPORTAMIENTO AMBIENTAL DE
CONTAMINANTES QUÍMICOS. METODOLOGÍA
ANALÍTICA Y ESTUDIOS DE MODELIZACIÓN**

por

BARTOLOMÉ OLIVER RODRÍGUEZ

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA
UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**MEMORIA presentada para aspirar
al Grado de Doctor en Química por
la Universidad de Granada**

**Fdo. Dr. José Luis Vílchez Quero
Catedrático del Departamento de
Química Analítica de la
Universidad de Granada**

**VISADA en Granada a 18 de Junio
de 2013**

**Fdo. Dr. Alberto Zafra Gómez
Profesor Titular del Departamento de
Química Analítica de la Universidad de
Granada**

**Bartolomé Oliver Rodríguez
Licenciado en Química**

**Fdo. Dr. Guillermo Crovetto Montoya
Profesor Titular del Departamento de
Química Física de la Universidad de
Granada**

El doctorando Bartolomé Oliver Rodríguez y los directores de la Tesis Doctoral José Luis Vílchez Quero, Alberto Zafra Gómez y Guillermo Crovetto Montoya, garantizamos, al firmar esta Tesis Doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la Tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, a 18 de Junio de 2013

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.: José Luis Vílchez Quero

Fdo.: Bartolomé Oliver Rodríguez

Director/es de la Tesis

Director/es de la Tesis

Fdo.: Alberto Zafra Gómez

Fdo.: Guillermo Crovetto Montoya

A mis padres
Miguel y Josefina

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar, en primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mis directores: el Dr. D. José Luis Vílchez Quero, el Dr. D. Alberto Zafra Gómez y el Dr. D. Guillermo Crovetto Montoya, por brindarme esta maravillosa oportunidad, acogióndome gratamente en su grupo de trabajo, ofreciéndome su confianza, dedicación y apoyo, así como su orientación y buenos consejos, que han permitido la realización de la presente Tesis Doctoral.

A los profesores que en todo momento también me han ofrecido su ayuda gratamente: Dr. D. Óscar Ballesteros García, Dr. D. Alberto Navalón Montón, Dr. D. Rafael García Delgado y Dr. D. Luis Cuadros Rodríguez, les muestro mi agradecimiento.

Agradezco al profesor Dr. D. Marco P. Seabra Dos Reis de la Universidad de Coimbra su trascendental ayuda en el tratamiento y modelización de datos.

Igualmente, quiero agradecer a mis compañeros de laboratorio Samuel, Noemí Dorival, Julio, Inma, Carolina, Esther, Fernando, Rocío, Antonio, Cristina, Javi, Jalila, Noemí Navea, Ana y Arno, por su gran ayuda así como sus muestras constantes de cariño y apoyo que para mí han sido tan importantes. A todos ellos, muchas gracias.

También, quiero agradecer a Inocencio su fundamental ayuda en las tareas de campo realizadas en la Huerta de Santa María.

Asimismo, quiero mostrar mi agradecimiento a Cepsa, y Air Liquide por su gran apoyo. Las discusiones en las sesiones científicas mantenidas en el tiempo con sus asesores científicos: Coral Verge y Juan Antonio de Ferrer han sido esenciales para los objetivos y desarrollo de este proyecto.

Por último, me complace expresar mi infinita gratitud a mi familia y a mis amigos, por estar siempre a mi lado, apoyándome y ofreciéndome sus mejores consejos.

RESUMEN

Los tensioactivos, debido principalmente a su gran producción y consumo por parte de la sociedad actual, son compuestos que pueden alcanzar con cierta facilidad el medio ambiente si las EDAR no funcionan de forma adecuada o si son vertidos de forma incontrolada. Este hecho los convierte en compuestos de interés desde un punto de vista científico para su estudio.

En la presente Tesis Doctoral se lleva a cabo un estudio de la presencia, distribución y comportamiento ambiental (biodegradación) de los homólogos y etoxímeros mayoritarios de las principales familias de tensioactivos comerciales -LAS, AS, AES y AEO-, en dos matrices que, por diferentes vías, pueden convertirse en el destino final para la acumulación de estos compuestos en el medio ambiente tras su uso por parte del ser humano en su actividad cotidiana como son los sedimentos acuáticos y los suelos agrícolas.

En primer lugar, se ha desarrollado y validado una nueva metodología analítica de buenas características, que permite el análisis conjunto de este amplio rango de compuestos en las matrices medioambientales seleccionadas, basada en la cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem LC-MS/MS (QqQ). Como técnica de extracción se ha seleccionado y optimizado la extracción mediante ultrasonidos (USE).

El método validado ha permitido realizar estudios en los cuales se ha confirmado la presencia de tensioactivos en sedimentos acuáticos tanto de río, como marinos recogidos en zonas próximas a emisarios de EDAR en diferentes áreas geográficas y se ha obtenido su distribución espacial.

Por otra parte, se han realizado estudios de comportamiento medioambiental en suelo agrícola de la Vega de Granada para las familias de LAS y AS, tanto a escala de laboratorio como en campo. Estos estudios han permitido por una parte, conocer los distintos fenómenos que rigen dicho comportamiento para cada uno de los homólogos de estas dos familias y por otra, obtener los modelos matemáticos predictivos correspondientes.

Se ha puesto a punto una metodología de trabajo para el estudio y predicción del impacto ambiental de un compuesto, contribuyendo a facilitar su biorremediación en el caso de suelos contaminados. La metodología propuesta incluye las siguientes etapas:

- 1) Caracterización de las matrices involucradas
- 2) Estudios de laboratorio
 - En discontinuo (cinéticas e isothermas)
 - En continuo (curvas de rotura para columnas)
- 3) Estudios de campo
 - Comportamiento en una parcela experimental

ÍNDICE

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	3
OBJETO DE LA TESIS	7
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	13
1. <i>AGENTES TENSIOACTIVOS</i>	15
1.1. <i>Desarrollo histórico de las sustancias con carácter tensioactivo..</i>	15
1.2. <i>Definición de surfactante o tensioactivo.....</i>	26
1.3. <i>Propiedades de los tensioactivos</i>	28
1.4. <i>Clasificación.....</i>	34
1.5. <i>Constitución de los detergentes: tensioactivos y componentes complementarios.....</i>	39
1.6. <i>Aplicaciones.....</i>	41
1.7. <i>Producción y consumo.....</i>	44
2. <i>FAMILIAS DE TENSIOACTIVOS OBJETO DE ESTUDIO</i>	46
2.1. <i>Sulfonato de alquilbenceno lineal</i>	46
2.1.1. <i>Descripción</i>	46
2.1.2. <i>Síntesis.....</i>	47
2.1.3. <i>Propiedades fisicoquímicas</i>	49
2.1.4. <i>Ventajas e inconvenientes.....</i>	52
2.2. <i>Alcoholes sulfato</i>	53
2.2.1. <i>Descripción</i>	53
2.2.2. <i>Síntesis.....</i>	54
2.2.3. <i>Propiedades fisicoquímicas</i>	57
2.2.4. <i>Ventajas e inconvenientes.....</i>	59
2.3. <i>Alcoholes etoxisulfato</i>	59

2.3.1. Descripción	59
2.3.2. Síntesis	60
2.3.3. Propiedades fisicoquímicas	62
2.3.4. Ventajas e inconvenientes	63
2.4. Alcoholes etoxilados	64
2.4.1. Descripción	64
2.4.2. Síntesis	64
2.4.3. Propiedades fisicoquímicas	65
2.4.4. Ventajas e inconvenientes	67
3. IMPACTO AMBIENTAL DE LOS TENSIOACTIVOS	68
3.1. Introducción a la problemática	68
3.2. Efectos perjudiciales de los tensioactivos en estudio	71
4. BIODEGRADACIÓN	73
4.1. Concepto de biodegradación	73
4.2. Concepto de biodisponibilidad	74
4.3. Evaluación de la degradación	76
4.4. Tipos de ecosistemas	77
4.5. Rutas de biodegradación	79
4.6. Relación entre estructura y biodegradabilidad	82
4.6.1. Sulfonato de alquilbenceno lineal	83
4.6.2. Alcoholes sulfato	84
4.6.3. Alcoholes etoxisulfato	84
4.6.4. Alcoholes etoxilados	85
5. LEGISLACIÓN	86

CAPÍTULO II. EXPERIMENTAL: MATERIALES Y MÉTODOS.....	91
1. PATRONES, REACTIVOS, DISOLVENTES, DISOLUCIONES Y GASES	93
1.1. Patrones.....	93
1.2. Reactivos	96
1.3. Disolventes	96
1.4. Disoluciones.....	97
1.5. Gases	98
2. MATERIAL DE LABORATORIO E INSTRUMENTACIÓN.....	99
2.1. Material de laboratorio	99
2.2. Instrumentación	100
2.2.1. Cromatógrafos de líquidos	100
2.2.2. Espectrómetro de masas	101
2.2.3. Sonda ultrasónica	102
2.2.4. Otros aparatos e instrumentos.....	102
3. PROGRAMAS INFORMÁTICOS	104
4. METODOLOGÍA DE TRATAMIENTO DE LOS DATOS ANALÍTICOS.....	105
4.1. Optimización de variables	105
4.1.1. Métodos univariantes.....	105
4.1.2. Métodos multivariantes	105
4.2. Calibración del método analítico.....	115
4.2.1. Establecimiento del modelo de calibración.....	117
4.2.2. Verificación del modelo de calibración.....	118
4.2.3. Rechazo de valores anómalos	119
4.2.4. Evaluación del efecto matriz y estimación de la recuperación	120

4.3. Parámetros de validación del método analítico.....	125
4.3.1. Linealidad	125
4.3.2. Límites de detección y cuantificación	126
4.3.3. Rango dinámico lineal	135
4.3.4. Sensibilidad o resolución analítica.....	135
4.3.5. Selectividad.....	136
4.3.6. Exactitud del método: precisión y veracidad.....	136
CAPÍTULO III. OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES	139
1. TENSIOACTIVOS OBJETO DE ESTUDIO.....	142
1.1. Sulfonato de alquilbenceno lineal	142
1.2. Alcoholes sulfato	142
1.3. Alcoholes etoxisulfato	143
1.4. Alcoholes etoxilados	143
2. CARACTERIZACIÓN DE LAS MEZCLAS COMERCIALES DE AEO	144
2.1. Desarrollo de metodología analítica para la caracterización de AEO. Optimización de variables	144
2.1.1. Reacción de derivación	144
2.1.2. Desarrollo del método cromatográfico	146
2.1.3. Identificación y establecimiento del orden de elución de los derivados obtenidos	151
2.1.4. Evaluación del factor de respuesta de los derivados obtenidos	153
2.2. Caracterización de las mezclas comerciales de AEO, Brij 56 y Brij 76.....	155
2.3. Selección de los etoxímeros de AEO objeto de estudio	158

3. DETERMINACIÓN MULTI-RESIDUO DE TENSIOACTIVOS POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS - ESPECTROMETRÍA DE MASAS. OPTIMIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	159
3.1. Contextualización	159
3.2. Optimización de las variables del espectrómetro de masas	160
3.2.1. Descripción de la interfase y el espectrómetro de masas utilizados.....	161
3.2.2. Optimización de los potenciales del espectrómetro (analitos).....	164
3.2.3. Optimización de los potenciales del espectrómetro (patrones internos).....	178
3.2.4. Optimización de la presión del gas de colisión.....	181
3.3. Optimización de las variables implicadas en el proceso cromatográfico.....	182
3.3.1. Selección de la fase estacionaria. Método de partida.....	182
3.3.2. Optimización de la composición del vial de inyección.....	185
3.3.3. Optimización del disolvente orgánico para la fase móvil..	186
3.3.4. Optimización del gradiente cromatográfico	188
3.3.5. Optimización del flujo de la fase móvil.....	191
3.3.6. Optimización de la temperatura de la columna.....	192
3.3.7. Estudio del pH.....	193
3.3.8. Estudio del comportamiento de los patrones internos	193
3.3.9. Resumen de las condiciones cromatográficas óptimas	195
3.4. Optimización de las variables de la fuente de ionización (Interfase ESI).....	196
3.5. Optimización del tiempo de barrido (dwell time).....	196
3.6. Cromatograma óptimo.....	197

CAPÍTULO IV. TRATAMIENTO DE MUESTRA	199
1. TRATAMIENTO DE MUESTRA PARA LA DETERMINACIÓN MULTI-RESIDUO DE TENSIOACTIVOS EN MATRICES SÓLIDAS.....	203
1.1. Antecedentes.....	203
1.2. Propuesta del nuevo tratamiento de muestra	204
1.3. Fundamentos de la técnica de ultrasonido	204
1.4. Optimización de las variables implicadas en el tratamiento de muestra	210
1.4.1. Optimización de las variables implicadas en la etapa de extracción con ultrasonidos.....	210
1.4.2. Estudio de la etapa de centrifugación	221
1.4.3. Resumen del tratamiento de muestra.....	222
CAPÍTULO V. CALIBRADO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO	223
1. PROPUESTA Y JUSTIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE CUANTIFICACIÓN.....	225
2. ESTABLECIMIENTO DE LAS DISTINTAS FUNCIONES DE CALIBRACIÓN..	226
2.1. Calibración externa	226
2.2. Calibración en matriz (Matrix Matched Calibration)	227
2.3. Calibración con adición de patrón post-extracción.....	227
3. EVALUACIÓN DEL EFECTO MATRIZ Y ESTIMACIÓN DE LA RECUPERACIÓN	234
3.1. Evaluación del efecto matriz	234

3.2. Estimación de la recuperación del proceso de extracción.....	237
3.3. Conclusiones	239
4. CÁLCULO DE PARÁMETROS ANALÍTICOS DE VALIDACIÓN	240
4.1. Verificación del modelo lineal, linealidad.....	240
4.2. Límites de detección y cuantificación.....	242
4.3. Rango dinámico lineal	244
4.4. Sensibilidad o resolución analítica	244
4.5. Selectividad.....	246
4.6. Exactitud del método: Precisión y Veracidad	247
CAPÍTULO VI. APLICACIÓN DEL MÉTODO A SEDIMENTOS	
ACUÁTICOS	257
1. DETERMINACIÓN DE TENSIOACTIVOS EN SEDIMENTOS MARINOS DE	
LA ISLA DE TENERIFE.....	260
1.1. Contextualización	260
1.2. Caracterización de las muestras.....	260
1.3. Toma y conservación de las muestras.....	263
1.4. Resultados	264
1.5. Discusión.....	270
2. DETERMINACIÓN DE TENSIOACTIVOS EN SEDIMENTOS MARINOS DE	
LA COSTA ANDALUZA	273
2.1. Contextualización	273
2.2. Caracterización de las muestras.....	274
2.3. Toma y conservación de las muestras.....	277

2.4. Resultados	277
2.5. Discusión.....	283
3. DETERMINACIÓN DE TENSIOACTIVOS EN SEDIMENTOS DE RÍO.....	287
3.1. Contextualización	287
3.2. Caracterización de las muestras.....	288
3.3. Toma y conservación de las muestras.....	289
3.4. Resultados	291
3.5. Discusión.....	299
4. CONCLUSIONES.....	302
CAPÍTULO VII. APLICACIÓN DEL MÉTODO A SUELOS AGRÍCOLAS. MODELIZACIÓN EN EL LABORATORIO.....	305
1. MODELIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE UN COMPUESTO EN EL SUELO. ASPECTOS TEÓRICOS.....	309
1.1. Adsorción.....	310
1.1.1. Propiedades del adsorbato.....	311
1.1.2. Propiedades del adsorbente	312
1.1.3. Condiciones del medio	314
1.2. Precipitación.....	316
1.3. Cinética de adsorción/desorción	317
1.4. Equilibrio de adsorción	320
1.4.1. Isoterma lineal.....	323
1.4.2. Isoterma de Langmuir	323
1.4.3. Isoterma de Freundlich	325
1.4.4. Isoterma Cuadrática	327
1.4.5. Isotermas multi-término.....	328

1.5. Transporte de compuestos en medio poroso	330
1.5.1. Modelo de equilibrio local	333
1.5.2. Modelo de no equilibrio (limitaciones difusionales).....	335
1.5.3. Modelo de no equilibrio (dos sitios)	336
1.6. Biodegradación.....	337
2. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO Y DEL AGUA EMPLEADOS EN EL ESTUDIO.....	339
2.1. Caracterización del suelo empleado.....	339
2.1.1. Localización	339
2.1.2. Propiedades físicas del suelo	340
2.1.3. Propiedades químicas del suelo.....	347
2.2. Caracterización del agua de pozo empleada	354
2.2.1. Localización	354
2.2.2. Propiedades químicas del agua de pozo	354
3. ESTUDIOS EN DISCONTINUO (BATCH).....	358
3.1. Relación suelo/disolución	359
3.2. Cinéticas de adsorción.....	363
3.3. Cinéticas de desorción	369
3.4. Control del pH.....	373
3.5. Isotermas de adsorción	374
3.6. Isotermas de desorción	381
4. ESTUDIOS EN CONTINUO (COLUMNA).....	388
4.1. Descripción de la instalación experimental.....	390
4.2. Validación de la metodología numérica para la resolución de los modelos de transporte	392

4.3. Columnas ensayadas	394
4.3.1. Columna para el trazador.....	394
4.3.2. Columna para LAS.....	397
4.3.3. Columnas para alcoholes sulfato	404
5. SIMULACIÓN DEL COMPORTAMIENTO EN CAMPO	410
CAPÍTULO VIII. APLICACIÓN DEL MÉTODO A SUELOS AGRÍCOLAS. MODELIZACIÓN EN CAMPO	413
1. LA VEGA DE GRANADA	415
1.1. Antecedentes históricos.....	415
1.2. Características físicas y socioeconómicas	416
1.3. Calidad de las aguas subterráneas.....	417
2. ESTUDIO DE MODELIZACIÓN EN CAMPO	419
2.1. Descripción de la parcela experimental	419
2.2. Descripción de la metodología experimental.....	423
2.2.1. Tratamiento o dopado.....	423
2.2.2. Toma de muestra y riego sucesivo	424
2.2.3. Pre-tratamiento de muestra.....	426
2.2.4. Análisis.....	427
2.3. Estudio estacional.....	427
2.3.1. Trazador.....	428
2.3.2. Alcoholes sulfato.....	434
2.3.3. LAS	441
2.4. Estudio comparado de los resultados	448

CONCLUSIONES..... 451

ANEXO I. Publicaciones Derivadas de la Tesis Doctoral 459

ANEXO II. Otras Publicaciones..... 463

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

a. de NE	antes de nuestra Era
AEO	Alcohol etoxilado
AES	Alcohol etoxisulfato
ANOVA	Análisis de la varianza
AP	Alquilfenol
APCI	Ionización química a presión atmosférica
APEO	Alquilfenol etoxilado
API	Ionización a presión atmosférica
AS	Alcohol sulfato
BAB	Alquilbenzeno ramificado
BABS	Sulfonato de alquilbenzeno ramificado
CCF	Diseño experimental central compuesto centrado en las caras
CE	Comunidad Europea (antigua CEE)
CEE	Comunidad Económica Europea
CMC	Concentración micelar crítica
col.	Colaboradores
DAD	Detector de diodos array
de NE	de nuestra Era
DER	Desviación estándar relativa
DMS	Sistema de coordenadas en grados, minutos y segundos
DoE	Diseño experimental
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético
EO	Óxido de etileno (unidades etoxiladas)
ESI	Ionización por electrospray
FFR	Reactores de película descendente
FLD	Detector de fluorescencia
HLAS	Ácido sulfónico de alquilbenzeno lineal

HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia
IS	Patrón interno
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LAB	Alquilbenzeno lineal
LAS	Sulfonato de alquilbenzeno lineal
LC	Cromatografía líquida
LIN	Linealidad
LLE	Extracción líquido-líquido
m/z	Relación masa/carga
MAE	Extracción asistida por microondas
Máx.	Máximo
Med.	Media
MeOH	Metanol
Mín.	Mínimo
MRM	Monitorización de múltiples reacciones por compuesto
MS	Espectrometría de masas
NP	Nonilfenol
NPEO	Nonilfenol etoxilado
NVP	Número de volúmenes de poro
OECD	Organización para la cooperación y el desarrollo económico
OP	Octilfenol
OPEO	Octilfenol etoxilado
PA	Para análisis (producto especialmente indicado para aplicaciones analíticas en general)
PLE	Extracción con líquidos presurizados
PNEC	Concentración máxima prevista sin efecto
PRS	Purísimo (producto de pureza apta como auxiliar en análisis químico)
pzc	Punto de carga cero o isoelectrico

RAE	Real Academia Española
RDL	Rango dinámico lineal
RSD	Diseño de superficie de respuesta
SIM	Monitorización de un único ion por compuesto
SPC	Ácido sulfofenilcarboxílico
SPE	Extracción en fase sólida
SRM	Monitorización de una reacción seleccionada por compuesto
TEA	Trietanolamina
THF	Tetrahidrofurano
TIC	Cuentas totales de iones por segundo
ToF	Analizador de tiempo de vuelo
USE	Extracción asistida por ultrasonidos
UTM	Sistema de coordenadas universal transversal de Mercator
UV-Vis	Ultravioleta-visible
X _{LD}	Límite de detección
X _{LQ}	Límite de cuantificación
ZNS	Zona no saturada
ZS	Zona saturada

OBJETO DE LA TESIS

Los tensioactivos debido a su volumen de fabricación y consumo, tanto a nivel doméstico como industrial, se han convertido en unos compuestos de interés medioambiental, siendo creciente la preocupación de la Unión Europea en materia de regulación de los mismos, ya que pueden alcanzar con cierta facilidad el medio ambiente si las EDAR receptoras no funcionan de forma adecuada o bien si son vertidos de forma incontrolada al medio ambiente. Por estas razones son compuestos de interés desde un punto de vista científico, justificando cualquier estudio de impacto ambiental que se realice sobre ellos.

En las últimas décadas se han desarrollado numerosísimos trabajos de investigación sobre los tensioactivos, existiendo en bibliografía multitud de publicaciones al respecto de tal forma que han llegado a ser unos de los compuestos más estudiados. A pesar de ello, se hace necesario seguir avanzando en el desarrollo de nuevos y mejores métodos que permitan el seguimiento y estudio medioambiental de dichos compuestos en lugares de especial interés como aconseja la Unión Europea.

El objeto de la presente Tesis Doctoral consiste en profundizar en el conocimiento del comportamiento ambiental de las principales familias de tensioactivos comerciales, sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS), alcoholes sulfato (AS), alcoholes etoxisulfato (AES) y alcoholes etoxilados (AEO).

Para alcanzar este objetivo general, en primer lugar, se han seleccionado como matrices ambientales los sedimentos acuáticos y un suelo agrícola ya que, por diferentes vías, puede convertirse en el destino final para la acumulación de estos compuestos en el medio ambiente. Como tensioactivos de interés, se han seleccionado los homólogos y etoxímeros mayoritarios de dichas familias principales de tensioactivos

comerciales LAS, AS, AES y AEO. A continuación, se han trazado una serie de objetivos operativos:

1. Desarrollo de metodología analítica de buenas características para la identificación y cuantificación de dichos tensioactivos en sedimentos acuáticos y suelos agrícolas.
2. Aplicación de la metodología desarrollada al estudio de la presencia, la distribución y el comportamiento ambiental de los tensioactivos seleccionados.

En el estudio realizado, se ha pretendido desarrollar o mejorar la metodología existente para la detección y determinación de los tensioactivos en las citadas matrices medioambientales. Atendiendo a las propiedades analíticas de los compuestos objeto de estudio, se ha seleccionado la técnica analítica separativa de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem LC-MS/MS (QqQ). En cuanto al tratamiento de muestra se seleccionó la técnica de extracción mediante ultrasonidos (USE).

Para el estudio de presencia y distribución de los analitos en el medio ambiente, se ha realizado sobre los sedimentos acuáticos situados en las cercanías de emisarios de EDAR, tomando muestras en distintas zonas: Costa de Andalucía, Río Monachil y Costa de Tenerife.

Para la realización del estudio del comportamiento ambiental se ha seleccionado un suelo agrícola de especial interés mundial como es el de la Vega de Granada, que además de poseer una gran relevancia agrícola reúne las condiciones idóneas para llevar a cabo la investigación propuesta, pues está regada con aguas residuales de procedencia urbana y, por tanto, con escasa o nula contaminación industrial con lo que no se introducen

agentes tóxicos que puedan alterar su microbiota. Con este estudio se ha pretendido profundizar en el conocimiento de los diferentes fenómenos (adsorción, precipitación, transporte, biodegradación...) que integran el comportamiento de estos compuestos en el suelo. El estudio del comportamiento ambiental ha consistido en la realización de la siguientes etapas:

1. Caracterización fisicoquímica de las matrices seleccionadas: suelo agrícola y agua de pozo.
2. Estudios de laboratorio. Se han desarrollado tanto experiencias en discontinuo (cinéticas e isotermas de adsorción/desorción) como experiencias en continuo (curvas de rotura para columnas de suelo) que han revelado los distintos fenómenos que constituyen el comportamiento de cada tensioactivo en el suelo agrícola y que han permitido la obtención de modelos predictivos de comportamiento.
3. Estudios de campo. Se han desarrollado estudios en los que el tensioactivo a estudiar se ha incorporado de forma externa a una parcela de suelo agrícola en la Vega de Granada. A partir de este punto, se ha realizado un seguimiento del mismo según la metodología analítica propuesta a tal fin. Al igual que en el caso de los estudios de laboratorio, mediante este estudio se podrán obtener los fenómenos que rigen el comportamiento, siendo esta vez en campo.

La comparación de los resultados obtenidos en el laboratorio con los obtenidos en campo, han posibilitado realizar las correspondientes interrelaciones, establecer los distintos modelos que rigen el comportamiento de los compuestos en el suelo de la Vega de Granada,

poder prevenir su impacto al facilitar su biodisponibilidad y contribuir a la bioremediación de suelos contaminados.

CAPÍTULO I

Introducción

1. AGENTES TENSIOACTIVOS

1.1. Desarrollo histórico de las sustancias con carácter tensioactivo

La limpieza, actividad común a todos los seres vivos y que constituye un ejercicio beneficioso para la vida, en el caso de la especie humana ha evolucionado en el tiempo de forma paralela a la evolución de las civilizaciones, influyendo notablemente en sus culturas. El agente de lavado más básico, conocido desde siempre, es el agua. Así, en el antiguo Egipto el símbolo que representaba la acción de lavar consistía en una figura humana con los pies sumergidos en agua. Pero el agua, por sí sola, tiene poco poder de limpieza. Se mejoró el rendimiento del lavado utilizando agua de lluvia, agua caliente o aditivos como el carbonato sódico. Probablemente, el primer aditivo usado, debido a su disponibilidad, utilizado también por muchos animales, fue la tierra. El barro tiene un alto poder abrasivo y una gran capacidad de adsorción de multitud de sustancias. Posteriormente, surgieron los tensioactivos siendo el primero de ellos el jabón. En la **figura 1.1** se muestra algunos útiles de lavado.



Figura 1.1. Pastillas de jabón, estropajo, arena y cepillo para el lavado

Las sales alcalinas de ácido graso (jabón), son probablemente los compuestos químicos más antiguos desarrollado por el hombre y ha sido el agente de lavado más usado por la humanidad, aunque fue empleado durante mucho tiempo únicamente como cosmético. El origen del jabón se remonta a varios milenios a. de NE. Las primeras referencias que se tienen son de los Sumerios¹, año 3000 a. de NE, donde se describía la fabricación y las propiedades curativas de un “azufre jabonoso”. En Tello, Mesopotamia, se ha encontrado una lasca de arcilla del año 2500 a. de NE en la que se relata la fabricación del jabón, utilizando para ello aceite y la cantidad precisa de hierba jabonosa.

Es de suponer que los egipcios fabricarían jabón, dado los enormes depósitos de sales que se recogían después de los famosos ciclos de inundaciones del Nilo, y utilizarían el jabón para el lavado, según se aprecia en grabados de la época. En un papiro egipcio, aproximadamente del año 1500 a. de NE, y que constituye todo un tratado médico, se indica que, mezclando aceites animales y vegetales con ciertas sales (que debían ser de tipo alcalino), se obtenía un producto de tipo jabonoso útil tanto para el lavado del algodón y del lino, como para combatir enfermedades de la piel.

Existen referencias bíblicas acerca de ciertos productos líquidos alcalinos que poseían propiedades limpiadoras. Algunos pasajes bíblicos permiten suponer que los israelitas sabían que mezclando cenizas con aceite se producía una especie de ungüento útil para el lavado, relacionando estrechamente la limpieza personal con la salud.

Durante la época del Imperio Romano (27 a. de NE - 476 de NE) cuando la fabricación de jabón constituyó una verdadera artesanía. Su uso se orientó tanto a la elaboración de ungüentos y pomadas como al lavado

¹ J.J. García Domínguez. *Tensioactivos y Detergencia*. Ed. Dossat S.A. p. 166. Madrid, 1986.

de textiles y superficies duras. En las ruinas de Pompeya, los arqueólogos desenterraron una fábrica de jabón. Al parecer, los romanos, la mayor parte la empleaban para mezclarla con aromatizantes para cabellos y cosméticos o era adicionado para los empastes utilizados en el tratamiento de quemaduras y heridas; eventualmente se empleaba con finalidades de limpieza al lavarse el cuerpo de personas homenajeadas.

El sabio romano Plinio el Viejo (23 - 79 de NE), autor de la célebre *Historia Natural*, menciona la preparación de jabón a partir del cocimiento del sebo de carnero con cenizas de madera. Según él, los fenicios ya conocían esta técnica desde el año 600 de NE.

El hecho indudable de que en la Antigüedad se obtenía jabón, induce a pensar en la posibilidad de un proceso, que por casualidad pudo llevar al hombre primitivo a la caustificación de las cenizas, ésta se realizaba en hornos contruidos con piedra caliza, que bajo la acción del calor produce cal viva. La lixiviación de la mezcla de cenizas y cal pudo producir una solución cáustica, la cual convenientemente decantada, posibilitó la formación de jabón con las grasas animales. Este es uno de los muchos conocimientos que el hombre ha ido obteniendo trabajosamente, y que por pura rutina ha repetido sin saber su fundamento.

El médico griego Galeno (130 - 200 de NE), en su obra *De simplicibus medicaminibus*, describe una técnica según la cual el jabón podía ser preparado con grasas y cenizas, enfatizando su utilidad como medicamento para la eliminación de suciedad corporal y de tejidos muertos en la piel. A consecuencia de la caída del Imperio Romano, al cerrar los baños públicos y crecer el desinterés por el aseo personal, la fabricación del jabón como artesanía en el mundo mediterráneo sufrió un ligero descenso que más tarde recuperaría.

El alquimista árabe Geber (Jabir Ibn Hayyan), en manuscritos del siglo VIII, también menciona el jabón como agente de limpieza. También a los árabes se les atribuye la sustitución de las cenizas por la cal viva, permitiendo la elaboración de jabones más eficientes. Las jabonerías en la España Musulmana ofrecen un gran interés, tanto por su valor de artesanía como por ser demostrativas de la posesión de un elevado conocimiento químico. Durante los siglos de convivencia de musulmanes, judíos y cristianos, adquirieron en Andalucía mucha importancia las almonas o fábricas de jabón. Todavía se conservan en Sevilla, los restos de las edificaciones de la Almona de Triana.

La fabricación de jabón llegó a ser muy importante en Francia, país que aportó un cambio trascendental a la industria del jabón. En ciudades costeras del Mediterráneo como Marsella, Génova, Venecia y otras, se desarrolló una importante industria jabonera gracias a la abundancia del aceite de oliva. Marsella, a partir del siglo IX, fue el centro del negocio de la jabonería, hasta el siglo XIV en que pasó a Venecia. Esta industria se trasladó a Inglaterra en el siglo XVII, siendo regida, como en otros países, por un sistema de monopolios mediante concesiones reales.

Como se ha indicado, la manufactura del jabón es una de las síntesis químicas más antiguas, pero el origen de la palabra *jabón* es muy posterior al origen del producto en sí. La palabra jabón² procede del latín tardío *sapo-ōnis* y este del germánico *saipôn*. Existe otra costumbre que afirma que el origen del nombre procede de la ciudad de Savona, situada cerca de Génova en Italia, donde se elaboró el primer jabón sólido. Destaca el parecido etimológico entre el nombre de la ciudad y la denominación francesa de jabón *savon*, e italiana *sapone*.

² Real Academia Española. Diccionario de la Lengua Española, vigésima segunda edición. URL: <http://lema.rae.es/drae/?val=jab%C3%B3n> (Visitada el 1/06/2012).

Al aumentar la demanda de jabón, el suministro de álcali resultó un proceso caro y de escasa producción. Esto derivó en la necesidad de obtenerlo industrialmente a partir de un producto barato. A partir de ahí hubo dos grandes avances químicos que marcaron una revolución en la producción de jabón:

- l) En 1791, Nicolás Leblanc³, concluyó el desarrollo de un método de obtención de carbonato sódico a partir de cloruro sódico (sal común), brindando a la humanidad la oportunidad de fabricar jabón a escala industrial, hecho por el cual Leblanc es considerado por la comunidad científica como el fundador de la Química Industrial. En la **figura 1.2** se muestra el proceso propuesto por LeBlanc.

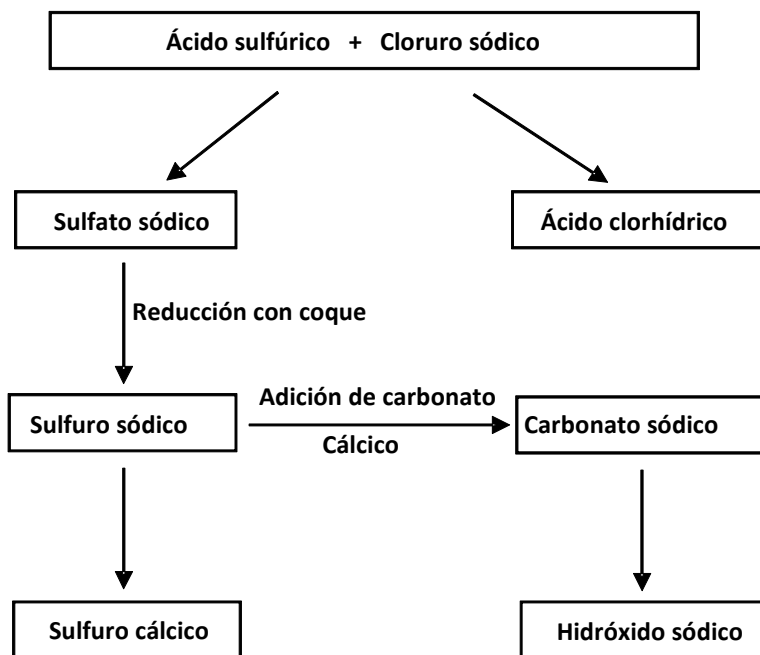


Figura 1.2. Método LeBlanc para la preparación de carbonato sódico

³ D. Altmajer Vaz. *Formulaciones Detergentes Biodegradables: Ensayos de lavado*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 2006.

- II) Entre 1813 y 1823, el químico francés Michel-Eugène Chevreul, profundizó sobre la composición química de los aceites y las grasas naturales y demostró que la formación del jabón era debida a una reacción química, de modo que los fabricantes del siglo XIX pudieron tener una idea del proceso químico involucrado y disponer de la materia prima necesaria para su fabricación.

Más adelante el método Leblanc fue sustituido por el método de Ernest Solvay, un químico industrial belga, adquiriendo su primera patente para la producción de carbonato sódico en 1861. En ella se utilizaban como materias primas el cloruro sódico (sal común), el amoníaco y el carbonato cálcico (piedra caliza), consiguiendo abaratar aún más el proceso y eliminar algunos de los problemas que presentaba el método Leblanc.

Con estos avances, el jabón pasó de ser un artículo de lujo muy caro a convertirse en un producto barato y de utilización generalizada en todas las clases sociales, hubo una mayor producción y consumo de estos productos, ocasionando una mejora en la higiene, contribuyendo al crecimiento exponencial de la población europea por disminución de las causas de mortalidad. Durante el siglo XIX la esperanza de vida del hombre pasó en Europa de los 30 a los 50 años, lo que evidentemente no sólo se debió a una mayor higiene personal, sino también a los enormes progresos médicos. De este modo, empezaron a desaparecer enfermedades de la piel y, sobre todo, su contagio, que constituían verdaderas plagas y que, de modo particular, afectaban a la población infantil. Al jabón se debe la introducción entre la población humana, de un espontáneo cuidado del aseo personal, que después se convierte en hábito social⁴.

⁴ P.J. Varó Galván. *Contribución al estudio sobre el comportamiento ambiental y degradación de jabones*. Tesis Doctoral, Universidad de Alicante, 1996.

Con el incremento de la importancia de las fibras sintéticas (celulosa, acetatos, etc.) la demanda de detergentes fue más exigente, solicitándose detergentes con propiedades especiales y que fueran menos sensibles a la dureza del agua, de tal forma que, durante los siglos XVIII y XIX, la industria de los jabones sufrió un extraordinario desarrollo, ampliando la oferta a productos con distintas formas y variedades como: jabones duros, blandos, perfumados, en barra, en polvo, etc.

En 1878, en Alemania, fue elaborado un producto que además de contener jabón como uno de sus componentes, se complementaba con una innovación: la adición de silicato sódico (como recurso para reducir la dureza del agua, que disminuía el poder de detergencia de los jabones). Así, este producto denominado *Henkel's "Bleichsoda"*, puede ser considerado como la primera formulación comercial de jabón. Este "ablandamiento" del agua se obtenía gracias a la precipitación de las sales de calcio y magnesio así como las de hierro, responsables de la tendencia a amarillar la ropa. También, *Henkel* en 1907 introdujo en el mercado, el primer detergente en polvo para lavadoras automáticas⁵, *Persil*.

Durante la Primera Guerra Mundial (1914-1918), como la obtención de las grasas era difícil en Alemania, ya que se utilizaban con fines nutritivos, los científicos empezaron a estudiar la posibilidad de desarrollar tensioactivos sintéticos para sustituir al jabón y así el químico Fritz Günther de BASF al conseguir con éxito la alquilación y la sulfonación del naftaleno logró sintetizar el primer jabón artificial en el año 1916. Se trataba del compuesto diisopropilnaftaleno sulfonato sódico, que presentaba mejores características que los jabones naturales, con alto poder espumante y con buenas propiedades de mojado, sin embargo, las cadenas cortas del alquilnaftaleno sulfonato no conseguían el suficiente carácter tensioactivo.

⁵ L. Spitz. *Soaps, Detergents, Oleochemicals, and Personal Care Products*. AOCs Press, 2004.

Dos investigadores norteamericanos, Harkins y Langmuir, descubrían casi simultáneamente en 1917 que existía una clase de sustancias sintéticas equiparables al jabón y dotadas asimismo de la propiedad de acumularse preferentemente en las superficies de las disoluciones y a mayor concentración que en el seno de éstas. Se explicó el comportamiento de estas sustancias por su especial estructura molecular, compuesta por un grupo polar, con afinidad por el agua, y por otro grupo apolar con afinidad por las grasas. A estas sustancias se les dio el nombre de *agentes de superficie* y más tarde el de *tensioactivos*.

En 1928, H. Bertsch y colaboradores, utilizando un alcohol graso como materia prima, y mediante sulfatación, consiguieron la primera sustancia detergente sintética, los sulfatos de alcoholes grasos. El paso siguiente fue encontrar materias primas o realizar el proceso para que el proceso fuera viable desde el punto de vista económico. Se asociaron diferentes compañías y desarrollaron un procedimiento para obtener alcoholes grasos de materias primas renovables. El procedimiento fue la reducción catalítica con hidrógeno bajo alta presión de ésteres de ácidos grasos a alcoholes grasos.

El primer detergente formulado con sulfatos de alcoholes grasos fue introducido en el mercado en 1932 por *Henkel* en Alemania. En ese mismo año, la empresa *Henkel* comercializó alcoholes grasos como el oleico (C_{18:1}) y el esteárico (C_{18:0}) procedentes del aceite de ballena, extendiendo esta comercialización a los alcoholes grasos como el laúrico y mirístico (C_{12:0} y C_{14:0}) respectivamente, por presentar mejores propiedades. También en 1932, se comercializó el primer detergente para uso doméstico en los Estados Unidos de América, que fue desarrollado como respuesta a la necesidad de obtener un sustituto de los jabones en las zonas del país que presentaban alta dureza en el agua y por las noticias que llegaban de Alemania anunciando el descubrimiento de un tensioactivo artificial. Estos

dos factores estimularon el desarrollo de la industria estadounidense de detergentes. El primer detergente formulado con sulfatos de alcoholes grasos fue introducido por *Procter & Gamble* en 1933.

Un paso importante fue la introducción de máquinas automáticas de lavado. El cambio de costumbres domésticas hizo necesario sustituir de forma gradual el jabón, muy sensible a la dureza del agua, por otros tensioactivos, de origen sintético, con mejores características. En el año 1940 se sintetizó por primera vez un grupo importante de tensioactivos no iónicos, los alquilfenoles etoxilados (APEO). En los años 50, se desarrollaron una serie de productos sintéticos con propiedades deterativas basados en el alquilbenceno ramificado (BAB, del inglés **B**ranch**e**d **A**lky**l**b**e**nz**e**n**e**). El alquilbenceno ramificado una vez sulfonado, originaba el sulfonato de alquilbenceno ramificado (BABS, del inglés **B**ranch**e**d **A**lky**l**b**e**nz**e**n**e** **S**ulph**o**n**a**t**e**). Este producto ya satisfacía la demanda del 60% del mercado mundial en 1950, pues presentaba unas propiedades deterativas muy buenas, aunque no era biodegradable y por ello, es considerado como un "alquilato duro". Este problema propició el desarrollo del alquilbenceno lineal (LAB, del inglés **L**inear **A**lky**l**b**e**nz**e**n**e**) a principios de los 60. El nuevo producto, tras ser sometido a un proceso de sulfonación, mantenía las excelentes propiedades deterativas del anterior, presentando una mayor y rápida biodegradación⁶. De esta forma nació el sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS, del inglés **L**inear **A**lky**l**b**e**nz**e**n**e** **S**ulph**o**n**a**t**e**) que fue introducido en el mercado en el año 1964, siendo uno de los principales tensioactivos aniónicos usados en el mercado⁷.

⁶ G. Kreienfeld, G. Stoll. *Surfactants in consumer products and raw material situation-A brief survey*. Chapter 14. Alkyl Polyglycosides: Technology, Properties and Applications. Ed. VCH Verlagsgesellschaft mbH. Edit. K. Hill, W. von Rybinski, G. Stoll. Weinheim, 1997.

⁷ Human & Environmental Risk Assessment on Ingredients of European Household Cleaning Products (HERA). Linear Alkylbenzene Sulphonate (LAS), Version 4.0, 2009. URL: <http://www.heraproject.com/RiskAssessment.cfm> (Visitada el 12/6/2012).

En la **figura 1.3** se muestra la evolución del mercado en Estados Unidos hasta los años 80, tanto de jabón como de tensioactivos sintéticos y que corresponde aproximadamente con el 20 % de la producción mundial⁸.

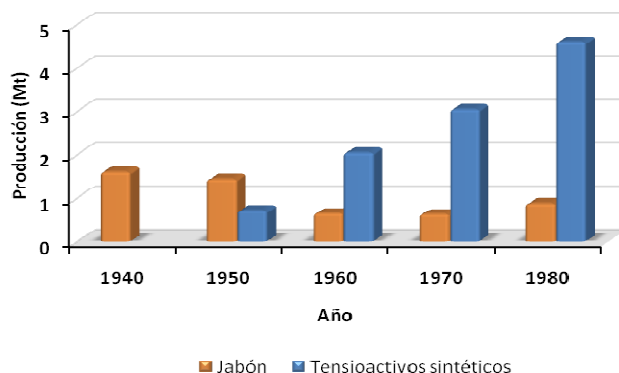


Figura 1.3. Evolución de la producción de jabón y tensioactivos sintéticos en los Estados Unidos de América

Los tensioactivos actuales proceden de fuentes petroquímicas o fuentes renovables como aceites animales y vegetales o microorganismos. Sin embargo, en los últimos años, se están introduciendo biotensioactivos producidos por microorganismos y se están desarrollando tensioactivos basados en fuentes renovables tales como los alquilpoliglucósidos⁹. Se espera un incremento importante en la producción de estos tensioactivos en la próximas décadas, pues presentan ventajas como ser biodegradables, no tóxicos y poseer propiedades especiales respecto a otros tipos de tensioactivos. En la **tabla 1.1** se resume el desarrollo histórico¹⁰.

⁸ J.L. Salager, A. Fernández. *Surfactantes, I Generalidades, II Materias primas*. Cuaderno FIRP N° 301PP, 2004.

⁹ M. Deleu, M. Paquot. *From renewable vegetables resources to microorganisms: New trends in surfactants*. C. R. Chimie 7; 641-646, 2004.

¹⁰ M. Lechuga Villena. *Biodegradación y toxicidad de tensioactivos comerciales*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 2005.

Tabla 1.1. Evolución histórica de los tensioactivos

ACONTECIMIENTO		OBSERVACIONES
a. de NE		
	Año 3000, en Sumeria	Tablilla Sumeria “azufre jabonoso”
	Año 2500, en Tello (Mesopotamia)	Lasca de arcilla (aceite + hierba jabonosa)
	Año 1500, en Egipto	Papiros (Aceites animales + vegetales + sales)
	Año 600	Introducción en Europa por los fenicios
de NE		
1ª Generación de Detergentes	Imperio Romano	Extractos de cenizas + grasas para ungüentos
	Año 800, Almonas, Andalucía	Aceite de oliva + ceniza de combustión de los almarjos del Guadalquivir
	Año 1000, Marsella y Venecia	Fabricación de jabón
	Año 1300, Gremios Europeos	Desarrollo importante de la fabricación de jabón
	Año 1791, Descubrimiento de Leblanc	Preparación del Carbonato sódico Inicio de la Industria Química
	Año 1799, Aportación de Tennant	Cloruro de cal, Cloro para blanquear el algodón
	Año 1823, Trabajos de Chevreul	Reacción de fabricación del jabón, nuevas industrias, aumento de la población en Europa
	Año 1878, Henkel	1ª formulación comercial de jabón “Henkel’s Bleichsoda”
2ª Generación de tensioactivos	Año 1916, Günther	Primer jabón artificial, diisopropilnaftaleno sulfonato sódico. Poco carácter tensioactivo.
	Año 1917, Harkins y Langmuir	Estudios sobre los tensioactivos
	Año 1928, Bertsch et col.	Primeros tensioactivos sintéticos, Sulfatos de alcoholes grasos
	Año 1930, Condensación de ácidos grasos	Desarrollo de tensioactivos no iónicos
3ª Generación de tensioactivos	Año 1950, Síntesis del BABS	Propiedades deterativas buenas pero tiene un mal comportamiento ambiental
	Año 1960, Síntesis del LAS	Propiedades deterativas buenas y con un buen comportamiento ambiental
	Año 1960 – Actualidad	Desarrollo de detergentes biodegradables, biotensioactivos producidos por microorganismos y tensioactivos renovables

1.2. Definición de surfactante o tensioactivo

El término surfactante, es un neologismo o un anglicismo que a partir de 1950 se empezó a desarrollar, proveniente del término anglosajón *surfactant* que a su vez es el acrónimo de “*surface active agent*” y que ha sido universalmente aceptado para describir sustancias orgánicas con ciertas características en su estructura capaces de modificar las propiedades físicas (mecánicas, eléctricas, etc.) de una superficie o de una interfase, reduciendo la tensión superficial. Según la RAE, se denomina *surfactante*¹¹ a “*sustancia que reduce la tensión superficial de un líquido, y que sirve como agente humectante o detergente*”. Del mismo modo, se define *tensión superficial*¹² como “*acción de las fuerzas moleculares en virtud de la cual la capa exterior de los líquidos tiende a contener el volumen de estos dentro de la mínima superficie*”.

A pesar de que el término *tensioactivo* no se encuentra recogido por la RAE es, sin embargo, la palabra más frecuentemente utilizada como traducción del término *surfactant* en todas las normativas europeas adoptadas desde su principio hasta la actualidad, razón por la cual en esta memoria se utilizará este término. Con mucha frecuencia se ha utilizado la palabra detergente en lugar de tensioactivo, sin embargo, siguiendo su definición de sustancia capaz de lavar, el detergente puede contener además sustancias inorgánicas que favorecen su acción detergente.

El tensioactivo típico es una molécula compuesta por dos partes estructurales o grupos bien diferenciados, un grupo anfifílico o anfipático (responsable del carácter tensioactivo) y en el caso de que ese grupo tenga carga, su correspondiente contraión. A su vez, el grupo anfifílico en su

¹¹ Real Academia Española. Diccionario de la Lengua Española. Vigésima segunda edición. URL: <http://lema.rae.es/drae/?val=surfactante> (Visitada el 8/8/2012).

¹² Real Academia Española. Diccionario de la Lengua Española. Vigésima segunda edición. URL: <http://lema.rae.es/drae/?val=tensi%C3%B3n> (Visitada el 8/8/2012).

composición también tiene dos partes diferentes, un extremo hidrofílico y otro lipofílico¹³. El extremo hidrofílico (polar) se solubiliza preferentemente en medios acuosos, polares, o de fuerza iónica relativamente elevada, mientras que el extremo lipofílico (apolar) tiende a solubilizarse en medios no acuosos, apolares o de baja fuerza iónica. Estos extremos son la cabeza hidrófila y la cola hidrófoba respectivamente.

En la **figura 1.4** se muestra una imagen idealizada de la estructura de un tensioactivo.

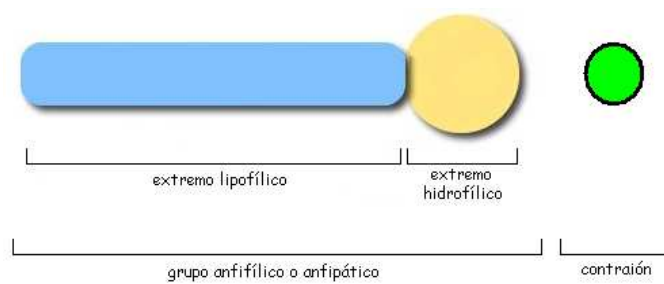


Figura 1.4. Estructura de un surfactante o tensioactivo

En disolución acuosa, el extremo hidrofílico se orienta hacia el interior de la solución, mientras que el lipofílico lo hace hacia la superficie. Las moléculas de tensioactivo así orientadas se acumulan en la interfase agua/aire con lo que reducen la tensión superficial del agua. Los extremos hidrofílicos, pueden diferir bastante en su naturaleza química, pudiendo ser no iónicos, iónicos (catiónicos o aniónicos) o anfóteros. El extremo apolar (lipofílico) normalmente está constituido por una cadena carbonada de 12 - 20 átomos de carbono, pudiendo ser hidrogenada o fluorada, lineal o ramificada, conteniendo o no doble enlace.

¹³ R. Bailón Moreno. *Ingeniería del Conocimiento y Vigilancia Tecnológica Aplicada a la Investigación en el Campo de los Tensioactivos. Desarrollo de un Modelo Científico Unificado*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 2003.

1.3. Propiedades de los tensioactivos

Los tensioactivos son compuestos anfipáticos, pero no todos los compuestos anfipáticos se pueden considerar tensioactivos. Para que un compuesto de este tipo pueda ser considerado tensioactivo es necesario que posea una longitud de cadena hidrófoba de al menos ocho átomos de carbono (hidrofobicidad mínima) y además debe presentar una polaridad mínima (relación hidrófila/hidrófoba adecuada) dependiendo de las características del grupo o grupos polares presentes. Por otro lado, estos compuestos deben presentar la posibilidad de formar micelas para ser considerados compuestos tensioactivos^{4,14-16}. Respecto a las propiedades generales de los tensioactivos, son importantes las siguientes:

- 1) Compuestos **anfifílicos**. Los tensioactivos contienen en su molécula a la vez uno o varios grupos polares y uno o varios grupos no polares, generalmente una cadena hidrocarbonada soluble en disolventes orgánicos y un grupo iónico soluble en agua. Debido a su estructura, cuando se pone en contacto una cantidad muy pequeña de tensioactivo con el agua, aparecen dos tendencias opuestas, por una parte el grupo hidrofílico del tensioactivo tiende a situarse en el interior del medio acuoso, y por otra las moléculas de agua tienden a expulsar del medio acuoso la cadena hidrófoba del tensioactivo. El estado de equilibrio se alcanza cuando las moléculas o iones de tensioactivo se distribuyen entre el interior de la disolución y la interfase con el aire. En esta, se adsorberán las moléculas o iones de tensioactivo, de forma que los grupos hidrófilos puedan estar

¹⁴ D. Edwards, Z. Liu, R. Luthy. *Surfactant solubilization of organic compounds in soil/aqueous systems*. J. Environ. Eng. 120; 5-22, 1994.

¹⁵ S. Verma, V. Kumar. *Relationship between oil-water interfacial tension and oily soil removal in mixed surfactants systems*. J. Colloid Interface Sci. 207; 1-10, 1998.

¹⁶ J.C. Klisch, K.Y. Lai, C.R. Robbins. U.S. Patent 4554098 to Colgate Palmolive Co., 1985.

convenientemente hidratados y las cadenas hidrófobas estén libres del contacto del medio acuoso, ver **figura 1.5**.

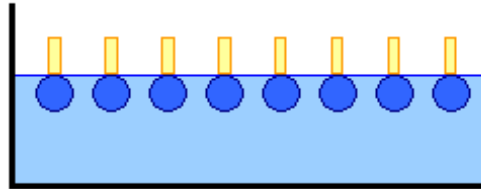


Figura 1.5. Monocapa de tensioactivo

- 2) **Humectabilidad.** El mojado constituye un mecanismo fundamental que interviene en la mayor parte de las aplicaciones de los agentes tensioactivos. Es una característica que depende esencialmente de las propiedades superficiales.
- 3) **Poder emulsionante.** Cuando dos líquidos inmiscibles se encuentran en presencia de tensioactivos, uno de ellos, por efecto de la disminución de la tensión interfacial, puede dividirse, mediante acción mecánica, en partículas de pequeño tamaño (del orden de micras). Este sistema de dos fases (pequeñas gotitas o *fase dispersa* inmersas en una *fase continua*) se denomina emulsión. Las emulsiones son de gran aplicación en tecnología de los alimentos, cosmética, farmacia, etc.
- 4) **Solubilización.** Si la cantidad de tensioactivo es suficientemente elevada, se pueden solubilizar sustancias normalmente inmiscibles entre sí. Esta propiedad es muy usada en perfumería para hacer que los perfumes (aceites) puedan estabilizarse en multitud de productos comerciales (cosméticos, detergentes, plásticos, etc).

- 5) **Capacidad detergiva.** La capacidad detergiva de un tensioactivo radica en su poder de humectación, emulsificación y dispersión. Muchas de las manchas aceitosas o grasientas son líquidas a temperaturas inferiores a 40 °C. Estas sustancias humedecen los sustratos textiles muy eficazmente, y tienen tendencia a difundirse sobre la superficie formando láminas más o menos tupidas. Por esta razón las siguientes observaciones pueden considerarse aplicables a residuos tanto sólidos como líquidos.

La suciedad que se encuentra en la ropa está formada principalmente por partículas de grasa incrustadas en las fibras de tejido, esta sustancia grasa no puede ser eliminada simplemente con agua debido a su insolubilidad. Sin embargo, los agentes tensioactivos disminuyen la tensión superficial del medio incrustándose el extremo apolar lipofílico de la molécula de tensioactivo en la suciedad, y quedando expuesto el extremo polar soluble en agua de manera que solubiliza la sustancia a eliminar del tejido.

El poder de humectación del tensioactivo es un aspecto muy a tener en cuenta en el proceso de lavado ya que para que este proceso sea eficaz, la fibra textil debe entrar en contacto íntimo con la disolución de lavado. Este proceso depende de la temperatura, concentración de tensioactivo y del sustrato. El mecanismo de “*rolling-up*” explica la eliminación de la mancha aceitosa o sólida del tejido¹⁷. Se produce como consecuencia de la disminución de la tensión superficial provocada por el tensioactivo. Se puede considerar que este mecanismo, representado en la **figura 1.6**, consta de cuatro fases:

¹⁷ P. Berth, P. Jeschke. *Consumption and fields of application of LAS*. Tenside Surf. Det. 26; 75-79, 1989.

- A.** En la primera fase el tensioactivo es adsorbido por la película de grasa y por el sustrato.
- B.** En la segunda, la película de grasa se reduce hasta adquirir forma de gotas bajo la influencia del tensioactivo, manteniéndose su adsorción tanto en la superficie del tejido como sobre las gotas así formadas.
- C.** En la tercera fase, las fuerzas de repulsión entre las gotas de grasa y el sustrato, ambas cargadas con tensioactivo, comienzan a ser tan intensas que se produce la eliminación de la mancha del tejido.
- D.** Por último, las propiedades emulsionantes del tensioactivo comienzan a actuar para que las gotas de suciedad cargadas de tensioactivo sean emulsionadas y puedan así ser arrastradas por la disolución de lavado, sin riesgo de que sean depositadas de nuevo sobre el tejido.

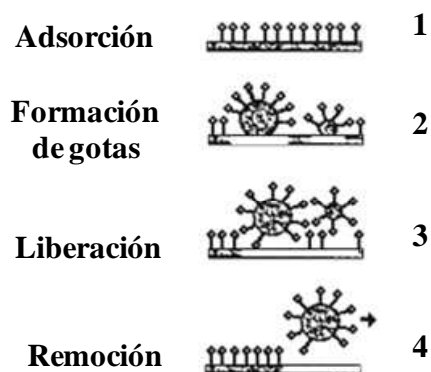


Figura 1.6. Diferentes fases del fenómeno “rolling-up” de eliminación de un residuo aceitoso depositado sobre una fibra textil

El proceso de eliminación de partículas sólidas es similar al ya descrito. Sin embargo en este caso, el proceso de limpieza comienza con la acumulación de carga negativa sobre las partículas sólidas y sobre el tejido o superficie sólida (vidrio, porcelana, metal, etc.) a limpiar. Esto sucede gracias a distintas adsorciones del tensioactivo sobre las diferentes superficies. Como consecuencia de este proceso de carga y adsorción, los potenciales interfaciales (potenciales- ζ) son alterados de manera que se permite la eliminación de la partícula sólida del sustrato gracias al arrastre realizado por la disolución de lavado. Este proceso se representa de manera esquematizada en la **figura 1.7**.

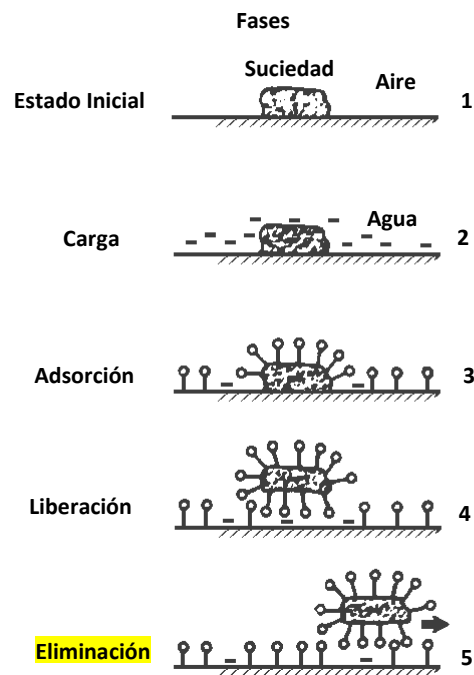


Figura 1.7. Eliminación de una partícula sólida

- 6) **Poder espumante:** la espuma se puede definir como un conjunto de celdas gaseosas, separadas por láminas delgadas de líquido, formado por la superposición de burbujas originadas por una dispersión de un gas o un líquido. La formación de espuma es igualmente otro de los

efectos que depende de las propiedades superficiales de las disoluciones de los agentes tensioactivos.

- 7) **Formación de micelas:** cuando un compuesto anfifílico está en disolución acuosa, para evitar el contacto desfavorable entre la parte hidrófoba y el disolvente, además de adsorberse en la interfaz con el grupo hidrófilo localizado en la disolución y el resto hidrófobo alejado de ella, existe otra alternativa: la de asociarse moléculas anfifílicas formando agregados moleculares, iónicos o mixtos, llamados micelas, **figura 1.8**, que se forman por encima de una cierta concentración, concentración micelar crítica (CMC).

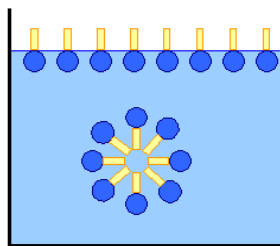


Figura 1.8. Estructura típica de una micela

Estas micelas pueden tener formato esférico (a bajas concentraciones) o elipsoidal (a altas concentraciones de tensioactivo o en presencia de electrolitos). Gracias a las propiedades espaciales de las micelas, los tensioactivos tienen un alto poder solubilizante de sustancias insolubles en fase acuosa, además de su capacidad de solubilización selectiva de diferentes especies químicas.

- 8) **Transferencia de oxígeno y otros gases:** Los tensioactivos son capaces de modificar la transferencia de oxígeno, y cualquier gas en general, a través de membranas.

1.4. Clasificación

La clasificación más aceptada por la comunidad científica se basa en la naturaleza de su grupo hidrófilo^{18,19}, según se muestra en la **figura 1.9**.



Figura 1.9. Clasificación de los tensioactivos

⇒ **Tensioactivos aniónicos.** Tensioactivos que se disocian en un grupo anfifílico aniónico y un contraión catiónico, que suele ser un metal alcalino (sodio o potasio) o un amonio cuaternario. Este tipo de tensioactivos son los más ampliamente utilizados a escala mundial. El contraión ejerce una escasa influencia sobre las propiedades superficiales de estas sustancias. Hoy en día este grupo polar negativo suele ser un grupo sulfato o sulfonato, como en el caso del LAS; aunque, tradicionalmente consistían en grupos carboxilato presentes en los jabones que se sintetizaban a partir de sebo de animales. Otros ejemplos de tensioactivos aniónicos son los alcoholes sulfatos (AS) de cadena larga, obtenidos a partir de alcoholes grasos. Estos tensioactivos son muy usados en productos de higiene personal como pastas de dientes, champús, aunque también en detergentes en polvo, compactos y tabletas. El rango de cadena alquílica es de 12 a 18 carbonos. También hay otros grupos que corresponden a los alcoholes etoxisulfato (AES), sulfonatos de olefinas, sulfonatos de

¹⁸ E.J.M. Filipe. *Quando as moléculas se auto-organizam: Micelas e outras estruturas supramoleculares*. Colóquio/Ciências nº18, Fundação Calouste Gulbenkian, 25-38, 1996.

¹⁹ L. Sánchez Molina. *Influencia del contraión en las propiedades biológicas de tensioactivos aniónicos derivados de la N^α,N^ε-dioctanoil lisina: citotoxicidad y ecotoxicidad in vitro*. Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona, 2006.

alfa olefinas, éteres sulfonatos, sulfosuccinatos, alcanos sulfonatos, ésteres fosfatos y alquil isotionatos. En la **figura 1.10** se recogen algunos ejemplos de tensioactivos aniónicos.

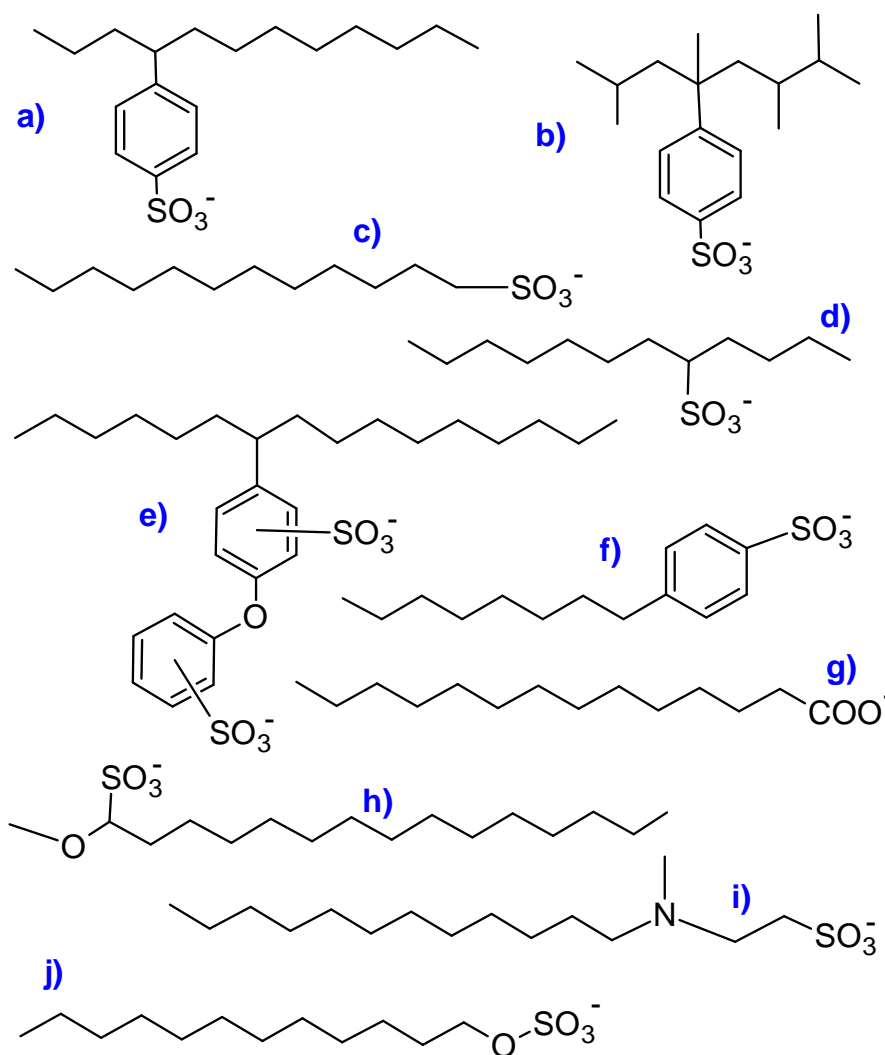


Figura 1.10. Ejemplos de tensioactivos aniónicos:

a) Sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS); b) Sulfonato de alquilbenceno ramificado; c) Sulfonato de 1-n-alkilo; d) Sulfonato de alquilo secundario; e) Difeniléterdisulfonato de hexadecano lineal; f) Sulfonato de 4-(1-n-octil)benceno; g) Carboxilato de alquilo (jabón); h) Sulfonato de metiléster; i) Taurato de alquilmetil; j) Sulfato de n-alkilo

⇒ **Tensioactivos catiónicos.** Formados por una parte polar hidrófila cargada *positivamente*, normalmente una sal de amonio cuaternaria, amina o sal de fosfonio, unida a una zona hidrófoba que puede tener distinta naturaleza. En disoluciones ácidas, tensioactivos no iónicos pueden adoptar carácter catiónico debido a la protonación del heteroátomo, sin embargo estrictamente hablando, tensioactivos catiónicos son aquellos que para poseer carga positiva no requieren de protonación. Su uso es menos extendido, siendo utilizado principalmente en la industria textil como ablandadores de fibras, de aquí su utilización en formulaciones de productos suavizantes (principal aplicación). A este tipo de compuestos también se le atribuyen propiedades antibacterianas. También se usan como inhibidores de la corrosión, inhibidores de procesos de oxidación, dispersantes y son muy utilizados en procesos de síntesis como agentes transferentes entre fases. En la **figura 1.11** se muestran dos ejemplos de este tipo de sustancias.

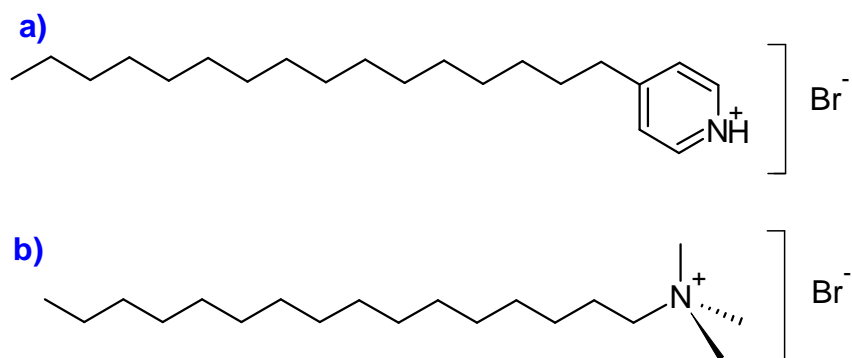


Figura 1.11. Ejemplos de tensioactivos catiónicos:
a) Bromuro de cetilpiridinio; b) Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (BHTA)

⇒ **Tensioactivos anfóteros.** Poseen grupos funcionales que pueden ionizarse con carga negativa o positiva dependiendo de las condiciones del medio, actuando como tensioactivos aniónicos o catiónicos. Pueden ser clasificados como: *anfólitos* o *betainas*. Anfólitos son compuestos que poseen al menos un protón activo. El ejemplo mejor conocido es el ácido amino carboxílico, que actúa como tensioactivo catiónico a bajos valores de pH, y como tensioactivo aniónico a altos valores de pH. Su uso en la industria es restringido. Las betainas, **figura 1.12**, no poseen protones hidrolizables, adquieren naturaleza catiónica en medios fuertemente ácidos. No son sensibles a la dureza del agua al valor de pH a que comúnmente se trabaja en la industria, son sólo débilmente tóxicas, compatibles con piel y mucosas además de poseer propiedades antibacterianas. Son compatibles con otros tipos de tensioactivos y presentan buenas propiedades espumantes y detergentes.

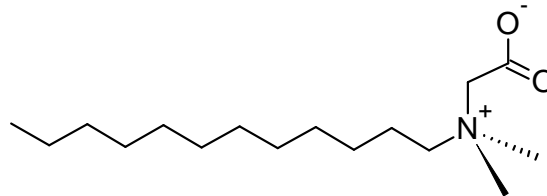


Figura 1.12. Tensioactivo anfótero (*N*-dodeciltrimetilaminobetaina)

⇒ **Tensioactivos no iónicos.** Sustancias no ionizadas en disolución. La polaridad del átomo de oxígeno, le confiere a estos tensioactivos no iónicos su solubilidad en agua como resultado de la hidratación de estos grupos por moléculas de agua. El grado de hidratación decrece con el aumento de la temperatura, disminuyendo por tanto la solubilidad en agua. La parte lipofílica debe tener una longitud que esté en consonancia con el número de grupos polares que posea el tensioactivo en cuestión, para evitar que aparezcan problemas de

insolubilidad de la molécula. Los tensioactivos de este tipo más ampliamente utilizados son los alcoholes etoxilados (AEO). En función del grado de etoxilación se obtienen productos con un balance hidrófilo-lipófilo distinto con múltiples aplicaciones. Los productos con menor peso molecular se encuentran en estado líquido, a medida que se incrementa su peso molecular tienden a ser más pastosos hasta llegar a un estado sólido céreo. Forman micelas con mayor facilidad que los tensioactivos iónicos debido a las menores repulsiones electrostáticas en la superficie. Este tipo de compuestos son menos sensibles a la dureza del agua que los tensioactivos aniónicos. También poseen menor poder espumante, por ello pueden ser utilizados como reguladores de esta característica. En la **figura 1.13** se muestran dos ejemplos de tensioactivos no iónicos.

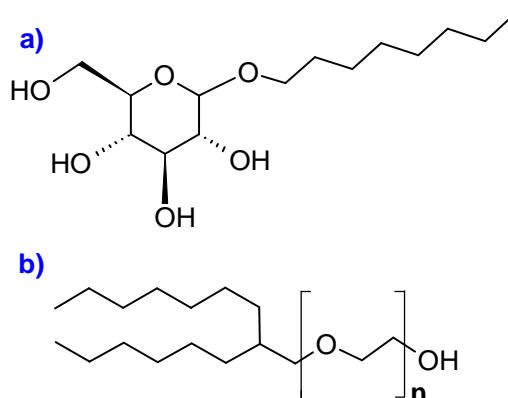


Figura 1.13. Ejemplos de tensioactivos no iónicos: a) Octilglucósido; b) Alcohol etoxilado secundario

1.5. Constitución de los detergentes: tensioactivos y componentes complementarios

Las actuales formulaciones comerciales de productos de limpieza, tanto líquidas como sólidas, están constituidas generalmente por una mezcla de uno o varios tensioactivos, que actúan mejorando la acción detergente, junto con una serie de componentes complementarios como son los aditivos, los coadyuvantes y los auxiliares de presentación (como los blanqueantes, enzimas, etc.), que conforman un producto no sólo con mejores características de limpieza, sino con mayor seguridad tanto para el consumidor, como para los equipos y el medio ambiente. En estas formulaciones complejas donde coexisten dos o más agentes tensioactivos, incluso pertenecientes a distintos grupos (aniónicos y/o no iónicos), lo cual suele proporcionar un efecto sinérgico aumentando su poder detergente. Los detergentes modernos, tanto líquido como en polvo, contienen entre un 5 - 20 % en peso de tensioactivos. El resto son aditivos, de naturaleza orgánica o inorgánica, que desempeñan una función muy importante sobre la mejora de las propiedades detergentes de estos preparados comerciales.

En la **figura 1.14** se muestra esquema sobre los componentes de las formulaciones actuales de tensioactivos según Domínguez¹:

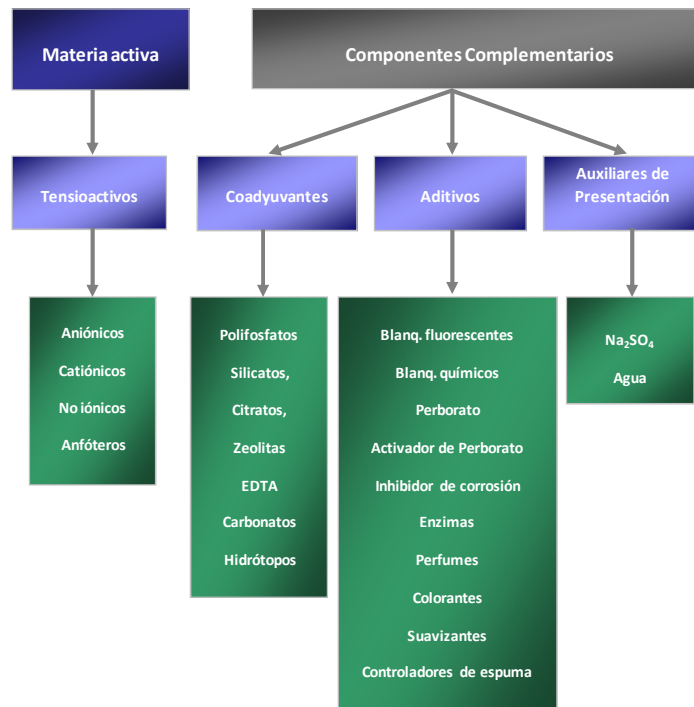


Figura 1.14. Componentes de formulaciones de tensioactivos

Las sustancias más habitualmente empleadas como aditivos en este tipo de formulaciones son:

- ⇒ *Silicato sódico.*
- ⇒ *Sulfato sódico.*
- ⇒ *Desendurecedores del agua.*
- ⇒ *Fijadores de pH, como carbonato sódico.*
- ⇒ *Agentes fluorescentes blanqueantes.*
- ⇒ *Blanqueantes químicos.*
- ⇒ *Enzimas.*
- ⇒ *Agentes espumantes.*
- ⇒ *Productos suavizantes.*
- ⇒ *Conservantes.*
- ⇒ *Otros aditivos: carboximetilcelulosa sódica, aceites esenciales, etc.*

1.6. Aplicaciones

Las propiedades anteriormente señaladas confieren una gran versatilidad a los tensioactivos siendo su campo de aplicación uno de los más interdisciplinarios de la ciencia y la tecnología moderna. En la **tabla 1.2** se muestran los tensioactivos más usados en diversas industrias y su aplicación. Los detergentes son (al menos en cuanto a tonelaje) junto a la cosmética, la aplicación principal de los tensioactivos. Por otra parte, en la **tabla 1.3** se muestran las composiciones orientativas de formulaciones detergentes utilizadas en textiles y superficies duras¹³ (cristales, azulejos, metales, etc).

Tabla 1.2. Principales tensioactivos y sus aplicaciones

TIPO DE INDUSTRIA	TENSIOACTIVOS	CAMPOS DE APLICACIÓN
ALIMENTARIA	Acilgliceroles, Ésteres de sorbitano, Copolímeros de óxido de etileno-propileno, Alquilsulfatos, Ésteres de poliglicol	Emulsiones Humectantes Antiespumantes Limpieza de instalaciones
CURTIDOS	Nonilfenoles etoxilados, Alkoholes etoxilados, Monoésteres de ácidos grasos sulfatos, Alquilsulfatos, Alquilnaftalensulfonatos, Lignin-sulfatos, Aceites saturados	Humectación Desengrase Tintura Engrase Pastas de pigmento
PINTURAS, LACAS Y TINTES	Condensados de naftalensulfonato y formaldehído, Alquilsulfatos, Dialquilsulfosuccionato sódico, Alkoholes etoxilados, Aminas etoxiladas	Dispersión de pigmentos Modificadores de fluidez Emulsionantes de resinas
AGRICULTURA	Sulfonatos de alquilbenceno, Nonilfenoles etoxilados, Ésteres fosfatados, Poliglicoles, Aceites sulfatados	Emulsionantes de plaguicidas y herbicidas Humectantes y dispersantes Emulsiones oleosas

Tabla 1.2. Principales tensioactivos y sus aplicaciones (cont.)

TIPO DE INDUSTRIA	TENSIOACTIVOS	CAMPOS DE APLICACIÓN
PAPELERA	Ésteres de poliglicoles, Alcoholes etoxilados, Polipropilén-glicoles, Aminas etoxiladas, Nonilfenoles etoxilados	Agentes humectantes y desespumantes de la pulpa Emulsionantes de ceras Reutilización del papel
PETRÓLEO Y DERIVADOS	Alquilpoliéter sulfatos, Alcanolamidas, Imidazolinás, Poliglicoles, Alquilpoliéter sulfatos, Lign-sulfonatos, Poliglicoles, Ésteres sulfonados, Sulfonatos de alquilbenceno	Ruptura de emulsiones Dispersantes Recuperación de petróleo Eliminación de mareas negras
PLÁSTICOS Y GOMAS	Sulfonatos de alquilbenceno, Alcoholes etoxilados, Alquilsulfatos, Copolímeros de óxido de etileno-propileno, Amidas etoxiladas, Dialquilsulfosuccinato, Sales de amonio cuaternaria	Emulsionantes Agentes electrostáticos Modificadores de viscosidad Controladores del olor Polimerización en emulsión
TEXTILES	Sulfonato de alquilbenceno, Nonilfenoles etoxilados, Sales de amonio cuaternaria, Aceites naturales etoxilados, Alcoholes etoxilados, Ésteres de poliglicol, Ésteres sulfonados, Sulfonatos de petróleo	Detergentes y auxiliares de humectación Agentes antielectrostáticos Suavizantes y lubricantes Aceites autoemulsionables Jabones para limpieza en seco
COSMÉTICA	Ésteres de poliglicol, Óxidos de amina, Alcoholes etoxilados, Alquilpoliéter sulfatos, Alcanolamidas, Alquilbetaínas, Dialquilsulfosuccinatos	Emulsiones de cremas cosméticas Champúes Geles Jabones de tocador Solubilizantes de perfumes Emulsionantes para aceites esenciales
DETERGENTES	Sulfonatos de alquilbenceno, Olefin-sulfonatos, Parafin-sulfonatos, Alcoholes etoxisulfatos, Alquil poliéter sulfatos, Óxidos de amina, alquilfenoles etoxilados, alcanolamidas, sulfonatos de ácidos grasos, Sales de amonio cuaternario	Detergentes en polvo Detergentes líquidos Estabilizadores de espuma Productos limpieza de superficies duras Lavavajillas Limpiadores textiles

Tabla 1.3. Composiciones orientativas de formulaciones detergentes

PRODUCTO	COMPOSICIÓN
Detergente textil lavadora	Tensioactivos aniónicos, jabones, álcalis, secuestrantes, dispersantes, activadores, blanqueantes ópticos, enzimas, colorantes, perfume
Suavizante textil	Tensioactivos catiónicos, perfume, colorante
Lavavajillas manual	Tensioactivos aniónicos, tensioactivos no iónicos, conservante, perfume, colorantes
Lavavajillas de máquina	Tensioactivos no iónicos, álcalis, secuestrantes, dispersantes, oxidantes, colorantes
Limpia hogar	Tensioactivos no iónicos, tensioactivos aniónicos, glicoles, secuestrantes, perfume, colorantes
Limpiacristales	Alcoholes, tensioactivos aniónicos, perfume

1.7. Producción y consumo

Los tensioactivos no iónicos y los aniónicos son, por este orden, los que se producen en mayor cantidad ya que tienen el mayor rango de aplicaciones. Las **figura 1.15** muestra cómo ha evolucionado la producción de tensioactivos en Europa²⁰ entre los años 1994 y 2009. En el año 2009 la producción de tensioactivos alcanzó los 2.77 millones de toneladas en Europa Occidental. Se estima que la producción mundial de tensioactivos alcanzará los 17.8 millones de toneladas para el año 2015²¹.

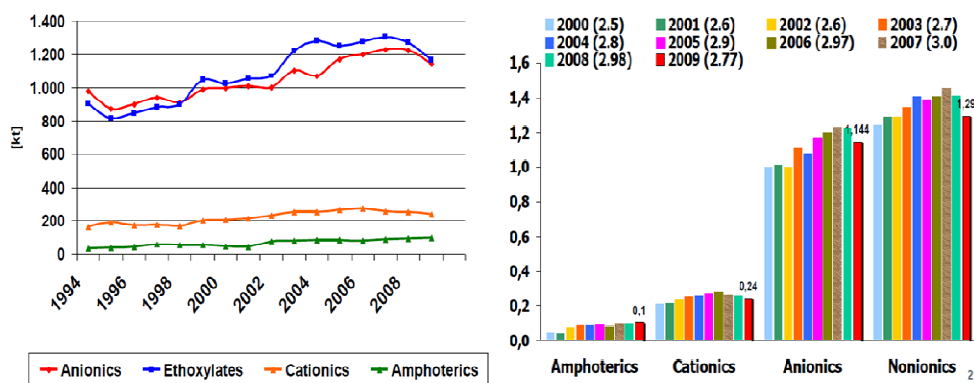


Figura 1.15. A la izquierda, producción de tensioactivos en Europa Occidental (expresada en kilotoneladas); a la derecha, producción de tensioactivos en Europa Occidental (expresada en millones de toneladas)

Actualmente, la demanda de tensioactivos está cubierta por menos de diez tipos, siendo los sulfonatos de alquilbenceno lineal (LAS), sulfatos de alcoholes grasos (AS), los sulfatos éteres de alcoholes grasos (AES), alcoholes grasos etoxilados (AEO) y los jabones, los que ocupan las principales posiciones. En la **figura 1.16** se puede observar la distribución del consumo mundial total de tensioactivos en los diferentes continentes²²

²⁰ Comité European des Agents de Surface et de Leurs Intermediaires Organiques (CESIO). *Cesio surfactants statistics for Western Europe*. 2011.

²¹ Global Industry Analysts, Inc. (GIA). *Surface Active Agents: a Global Strategic Business Report*. October 2010.

²² European Council of Studies on LAB/LAS (ECOSOL). *Statistics*. Brussels, Belgium, 2001.

y la distribución de tensioactivos consumidos en Europa Occidental²³, respectivamente.

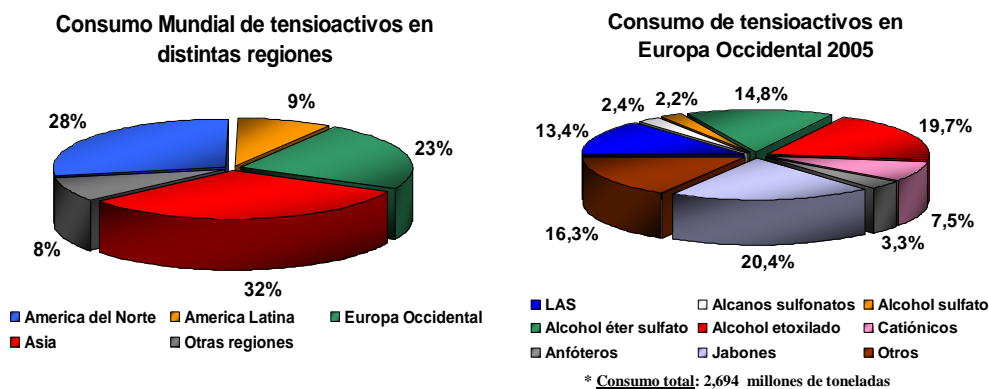


Figura 1.16. A la izquierda, consumo mundial de tensioactivos por regiones (excluyendo los jabones). A la derecha, distribución del consumo de tensioactivos en el mercado Europeo

En la **figura 1.17** se puede apreciar el consumo²⁴ *per cápita* de detergentes en los diferentes países de Europa Occidental.

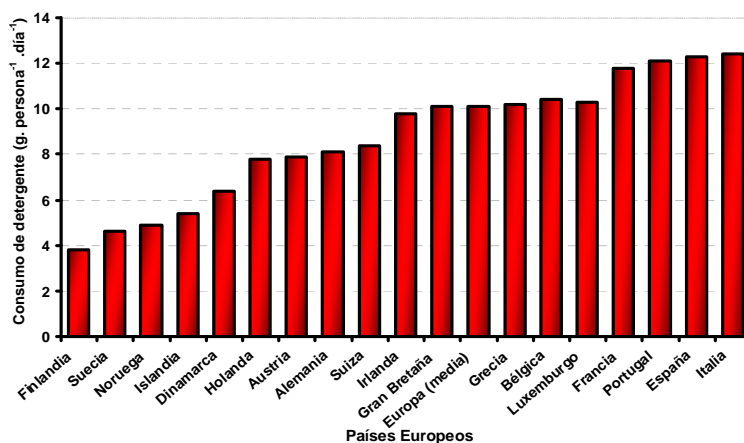


Figura 1.17. Consumo *per cápita* de detergente en los países europeos

²³ CESIO. General Assembly, Santiago de Compostela, Spain, September, 2006.

²⁴ J.L. Berna. *European Environmental Safety Legislation*, Handbook of Detergents. Marcel Dekker Inc., p. 318, C. 12. New York, USA, 2003.

2. FAMILIAS DE TENSOACTIVOS OBJETO DE ESTUDIO

En la presente tesis doctoral se han elegido como sustancias de interés, los Sulfonatos de Alquilbenceno Lineal (LAS), los Alcoholes Sulfato (AS), los Alcoholes Etoxisulfato (AES) y los Alcoholes Etoxilados (AEO).

2.1. Sulfonato de alquilbenceno lineal

2.1.1. Descripción

El LAS es uno de los tensioactivos aniónicos más ampliamente utilizados en el mundo. La molécula consta de una parte hidrófila que consiste en un grupo sulfónico ($-\text{SO}_3^-$) unido al benceno en posición *-para*; respecto a la parte hidrófoba, que es una cadena alquílica lineal de longitud variable y a la que se une el anillo bencénico en distintas posiciones. La mezcla comercial de LAS contiene una serie de homólogos que difieren en la longitud de la cadena alquílica, siendo los más habituales los comprendidos entre 10 y 13 átomos de carbono y a su vez, cada uno de ellos, es una mezcla de isómeros resultantes de la posición en la que el anillo bencénico está unido a esta cadena lineal. En la **figura 1.18** se muestra un ejemplo:

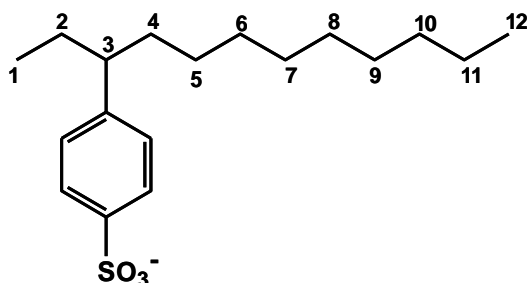


Figura 1.18. Ejemplo de isómero de LAS.
Normalmente se abrevia como LAS 3 OC_{12}

2.1.2. Síntesis

Las materias primas para la fabricación de tensioactivos se clasifican según su origen en dos grandes grupos:

- A) De origen petroquímico, donde se encuentran el petróleo bruto, el carbón o el gas natural.
- B) De origen oleoquímico, donde se encuentran la palma, el coco, frutas, grasas animales, trigo o maíz.

El LAS se obtiene industrialmente a partir de tecnologías petroquímicas ampliamente establecidas. Su síntesis comprende tres pasos: la obtención de parafina, la síntesis del alquilbenceno lineal (LAB) y la sulfonación posterior de éste para originar el LAS.

- A) **Obtención de parafina.** La materia prima para la síntesis del LAB, la n-parafina, proviene habitualmente de la destilación del crudo de petróleo, donde la fracción de queroseno es tratada a través de tamices moleculares u otros dispositivos que separan estas cadenas lineales de las ramificadas. El procedimiento más utilizado se basa en el proceso Molex²⁵ de *Universal Oil Products (UOP)*. Todas las n-parafinas obtenidas por este procedimiento son de alta pureza (alrededor del 96 - 99 %).
- B) **Síntesis del alquilbenceno lineal (LAB).** El primer proceso empleado para sintetizar el alquilbenceno lineal (LAB), se basaba en la alquilación del benceno con cloroparafinas lineales, utilizando cloruro de aluminio como catalizador. Posteriormente, *Universal Oil Products*

²⁵ D.B. Broughton. *Molex: case history of a process*. Chem. Eng. Prog. 64 (8); 60-65, 1968.

(UOP) desarrolló un método en el que se empleaba ácido fluorhídrico como catalizador²⁶. El proceso se puede representar como se indica en la **figura 1.19**.

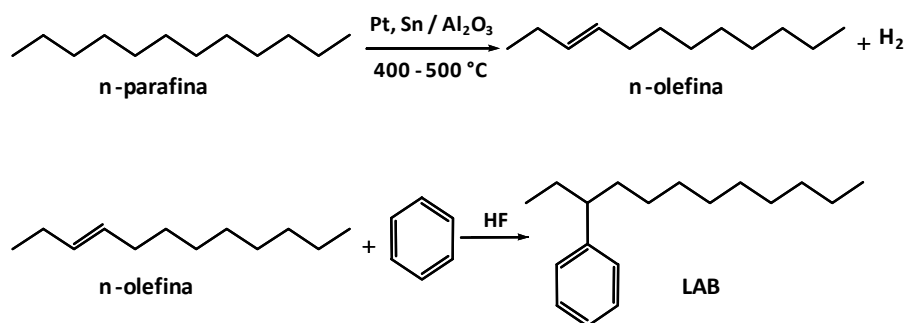


Figura 1.19. Reacciones de síntesis del LAB

En la década de los años 90 se desarrolla un método entre la empresa CEPESA QUÍMICA y UOP que utiliza un catalizador sólido en lecho fijo para la alquilación del benceno con olefinas lineales²⁷.

- C) Síntesis del sulfonato de alquilbenceno lineal (LAS).** El LAS se obtiene por sulfonación del LAB. Inicialmente se empleaba óleum (ácido sulfúrico fumante) así como ácido sulfúrico como agentes sulfonantes tanto en reactores en discontinuo como en el llamado “sistema de cascada”. Desde la década de los años 60 la tecnología de la sulfonación ha mejorado considerablemente con el empleo de reactores de película descendente (FFR, del inglés *Falling Film Reactors*) más eficaces y con sulfonación en estado gaseoso. Mediante la sulfonación del LAB se obtiene el ácido sulfónico (HLAS) que posteriormente es neutralizado obteniendo, finalmente, el LAS, según la reacción que se muestra en la **figura 1.20**.

²⁶ L. Cavalli, R. Clerici, P. Radici, L. Valtorta. *Update on LAB/LAS*. Tenside Surf. Det. 36; 254-258, 1999.

²⁷ L.C. Erickson, A. Banerji, T.R. Fritsh, J.L. Berna. *New solid-bed alkylation technology for LAB*; 4th Cesio World Surf. Congress, Barcelona, Spain, V.1, p. 177, 1996.

Tabla 1.4. Propiedades fisicoquímicas del LAS

Propiedades	Valor
Masa molecular ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	342.4 ($\text{C}_{11,6}\text{H}_{24,2}$) $\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$
Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$)	277 (para C_{12})
Punto de ebullición ($^{\circ}\text{C}$)	637 (para C_{12})
Presión de vapor a 25 $^{\circ}\text{C}$ (Pa)	$(3 - 7)\cdot 10^{-13}$ (para C_{12})
Coefficiente de partición en octanol-agua K_{ow} ($\log K_{ow}$)	3.32 (para $\text{C}_{11,6}$)
Solubilidad en agua ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	250

La mezcla comercial posee una gran solubilidad en agua, aunque esta propiedad varía dependiendo de la longitud de la cadena alquílica y del proceso de fabricación. Sin embargo, los productos comerciales formados por mezclas de homólogos de varias longitudes de cadena alquílica son sustancialmente más solubles en agua que los compuestos puros, esto se debe a que los homólogos con cadenas más cortas al ser más solubles ejercen un efecto solubilizador en los homólogos de cadena más larga. Además, dentro de una misma familia de homólogos, los isómeros que poseen el anillo bencénico unido a la cadena alquílica en las posiciones más internas tienen un carácter más hidrofílico, ya que la longitud efectiva de la cadena de carbonos es menor.

El proceso de fabricación donde se utiliza ácido fluorhídrico produce alquilatos con bajo contenido en 2-fenilalcanos (16 - 18 %), mientras que el catalizador de lecho fijo proporciona alquilatos con alto contenido en 2-fenilalcanos (27 - 30 %). Esta variable tiene una repercusión directa en las propiedades físicas de las pastas, especialmente sobre la solubilidad. Así, los de alto contenido producen pastas más solubles, una vez sulfonados y neutralizados, que los de bajo contenido, para un mismo peso molecular.

La baja presión de vapor hace que las pérdidas por evaporación sean mínimas para todos los homólogos. Otra propiedad fisicoquímica a tener en cuenta es que el valor de la concentración micelar crítica (CMC) depende de factores como la temperatura, la longitud de la cadena alquílica, la posición del anillo, la naturaleza del catión, el medio donde se han disuelto, la existencia de sales en el medio y la concentración. En la **tabla 1.5** se recogen los valores de CMC para los diferentes homólogos de LAS²⁸. Normalmente, interesan valores bajos, para que se formen micelas con el mínimo gasto de tensioactivo.

Tabla 1.5. Valores de CMC para los diferentes homólogos del LAS

Medio	LAS	CMC (mM)
Agua desionizada Tª 25 °C Cation Na ⁺	C ₁₀	6.9
	C ₁₁	4.0
	C ₁₂	1.2
	C ₁₃	0.44
Agua dura (300 mg·L⁻¹ CaCO₃) Tª 25 °C Cation Ca ²⁺	C ₁₀	0.67
	C ₁₁	0.29
	C ₁₂	0.08
	C ₁₃	0.03

Comparando los dos medios se observa que los valores de CMC en agua dura son mucho más pequeños que en agua desionizada. La formación de las micelas se facilita en agua dura ya que el catión Ca²⁺ tiene más afinidad por el extremo polar del surfactante que el catión Na²⁺.

²⁸ M.T. García, E. Campos, M. Dalmau, I. Ribosa, J. Sánchez-Leal. *Structure-activity relationships for association of linear alkylbenzene sulfonates with activated sludge*. Chemosphere 49; 279-286, 2002.

2.1.4. Ventajas e inconvenientes

Algunas de las ventajas que presenta el LAS y que justifican que sea uno de los tensioactivos más utilizados en la fabricación de detergentes son:

- 1)** Posee características generales de buen tensioactivo (poder dispersante y poder emulsionante, reducción de la tensión superficial, capacidad de mojado).
- 2)** Buen comportamiento ambiental, pues tanto su biodegradabilidad primaria y final son altas, es decir, tanto el LAS como sus metabolitos presentan muy alta biodegradabilidad y muy baja toxicidad.
- 3)** Versatilidad y compatibilidad con todo tipo de ingredientes para constitución de sistemas activos mixtos. Puede ser usado en la formulación de polvos concentrados y líquidos para lavado de ropa, lavavajillas, empleando concomitantemente cualesquiera enzimas, blanqueadores y agentes complejantes.
- 4)** Sinergismo con otros ingredientes habituales de las formulaciones.
- 5)** Su comportamiento en agua es bueno siendo similar al jabón en aguas con bajos niveles de dureza y mejor que éste en aguas duras.
- 6)** Muy baja relación coste/rendimiento. Las materias primas requeridas para su síntesis no son caras.
- 7)** Facilidad de procesado, tanto en la sulfonación con cualquier equipo o agente sulfonante, como en la elaboración del producto final en torres de atomización o en procesos de aglomeración.

- 8) Estabilidad del producto sulfonado y neutralizado sin alteración del pH con el tiempo (no hidrolizable).
- 9) Fácilmente transportable, manipulable y almacenable, ya que su forma ácida (HLAS) es químicamente estable, lo que no ocurre con otros tensioactivos como los AS o AES.

Como inconvenientes se debe resaltar que presentan valores de detergencia inferiores que los alquilpoliglucósidos y los nonilfenoles etoxilados para superficies grasas²⁹ y son derivados del petróleo.

2.2. Alcoholes sulfato

2.2.1. Descripción

Los alcoholes sulfatos³⁰ (AS) después de los jabones, son los tensioactivos aniónicos de uso más antiguo. Los AS cuya cadena alquílica está comprendida entre 12 y 18 átomos de carbono, son los más importantes para la fabricación de tensioactivos. La molécula consta de una parte hidrofílica que consiste en un grupo sulfato terminal ($-\text{SO}_4^-$) unido a una parte hidrofóbica, formada por una cadena alquílica lineal de longitud variable. La estructura básica es $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{SO}_4\text{M}$, donde $n = 12 - 18$ y M = sodio, amonio o trietanolamina (TEA).

²⁹ D. Altmajer. *Formulaciones detergentes biodegradables: Ensayos de Lavado*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 2004.

³⁰ Human & Environmental Risk Assessment on ingredients of European household cleaning products (HERA). Alkyl Sulphates (AS). Environmental Risk Assessment, march, 2002. URL: <http://www.heraproject.com/RiskAssessment.cfm> (Visitada el 12/6/2012).

Principalmente se utiliza en forma de sales sódicas y ocasionalmente como sales amónicas o de trietanolaminas. En la **Figura 1.21** se representa la estructura molecular del dodecilsulfato.

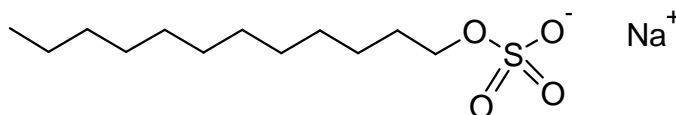


Figura 1.21. Ejemplo de AS, dodecilsulfato sódico (SDS)

2.2.2. Síntesis

Los alcoholes lineales superiores³¹ (cuya longitud de cadena alquílica está comprendida entre 12 y 18 átomos de carbono) obtenidos a partir de materias primas naturales, tales como aceites y grasas, son denominados “alcoholes grasos”.

Tanto los alcoholes grasos naturales como los sintéticos obtenidos por vía petroquímica y sus derivados, constituyen una importante materia prima tensioactiva y tienen una amplia variedad de aplicaciones en el campo de la detergencia. Aunque los alcoholes de origen petroquímico han desplazado en gran medida a los alcoholes naturales, para determinadas aplicaciones tales como cosmética, detergencia, etc, que requieren alcoholes de elevada calidad, se prefiriere el uso de productos provenientes de materias primas naturales.

1) Síntesis de alcoholes naturales o de origen oleoquímico.

Todos los alcoholes naturales son lineales, saturados y con un contenido par de átomos de carbono. En general, se agrupan en:

³¹ J.L. Berna Tejero. *Curso sobre petroquímica aplicada “Detergentes”*. CEPISA QUÍMICA S.A., Madrid, 1981.

⇒ **Alcoholes C₁₂- C₁₄** (*rango aceite de coco*).

⇒ **Alcoholes C₁₆- C₁₈** (*rango sebo*).

Los componentes más importantes de la mayor parte de las grasas y aceites naturales, suelen ser ésteres triglicéridos de los ácidos grasos, que contienen alrededor de un 95 % de ácidos grasos y un 3 % de glicerina combinado como ésteres. Los aceites y grasas más empleados como materia prima para la obtención de alcoholes grasos cuya cadena alquílica está comprendida entre 12 y 18 átomos de carbono, son los aceites de coco, de esperma de ballena y el sebo. Esta última es la materia prima más barata para la fabricación de alcoholes naturales.

2) Síntesis de alcoholes sintéticos primarios o de origen petroquímico.

Los alcoholes se pueden fabricar por hidrogenación moderada de los ácidos grasos naturales, pero la producción no es suficiente y además es costosa. Por tanto se recurre a métodos de síntesis orgánica. Los alcoholes obtenidos por vía petroquímica atendiendo a su estructura química se pueden dividir en alcoholes primarios y secundarios. En función del proceso empleado en la síntesis del alcohol, se obtienen distintos tipos de alcoholes, denominados Alcoholes Ziegler, Alcoholes Oxo, Alcoholes Alfol, Alcoholes Lineales Secundarios, Alcoholes Grasos Ramificados, Alcoholes Guerbet y Alcoholes Ramificados Insaturados. Este tipo de alcoholes se produce a escala industrial por dos procedimientos fundamentalmente; el proceso de polimerización Ziegler a partir de etileno y por hidroformilación de olefinas (Proceso Oxo).

⇒ **Proceso Ziegler:** consiste en oxidar el complejo trialquil aluminio de Ziegler e hidrolizar el éter formado. Se obtienen unos alcoholes con una estructura química idéntica a la de los alcoholes naturales derivados del aceite de coco o sebo.

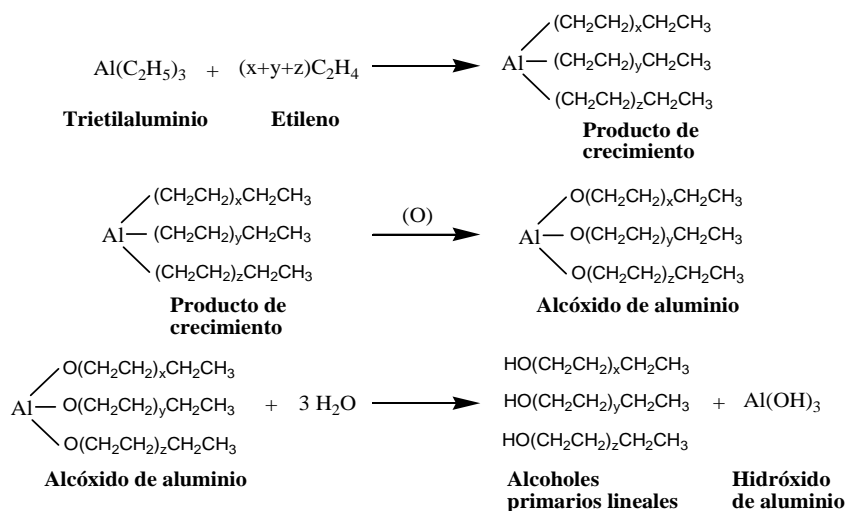


Figura 1.22. Proceso Ziegler

⇒ **Proceso Oxo:** consiste en la hidroformilación de una olefina. Es el proceso más importante a nivel industrial. Se produce una mezcla de alcoholes primarios y secundarios.

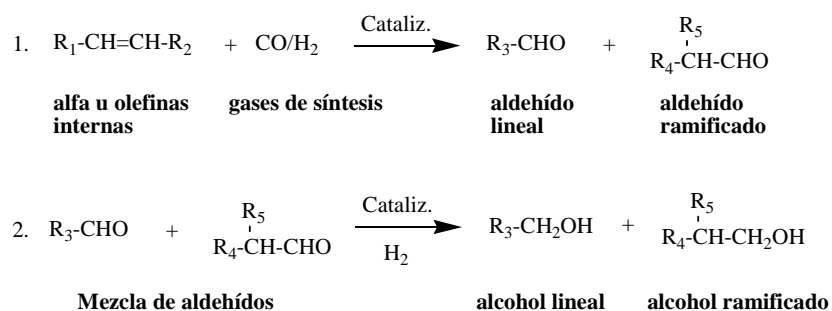


Figura 1.23. Proceso Oxo

3) Síntesis del alcohol sulfato

Todos los alcoholes salvo los secundarios, pueden sulfatarse usando diferentes tipos de reactivos, siendo los más empleados el trióxido de azufre (SO₃) o el ácido clorosulfónico, seguido a continuación de una neutralización con una base para producir una sal. Normalmente suele usarse como reactivo el SO₃, ya que el ácido clorosulfónico es más caro y además produce en la sulfatación desprendimiento de ácido clorhídrico. Para llevar a cabo la reacción de neutralización, la base más empleada es el hidróxido sódico, aunque también se utiliza amonio o alcanolaminas como por ejemplo: la trietanolamina (TEA). En la **figura 1.24** se muestra la síntesis de un alcohol sulfato sódico.

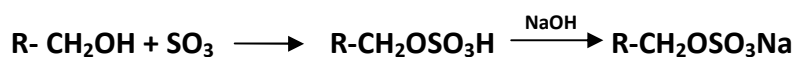


Figura 1.24. Síntesis de un alcohol sulfato sódico

Los AS comerciales se diferencian en el tipo de alcohol graso usado como materia prima, la concentración de materia activa en agua y la forma en la que se comercializa (solución, pasta o sólido). En cuanto a su composición en materia activa, el alcohol sulfato sódico presenta aproximadamente 2 - 4 % de alcohol sin sulfatar, 1 - 2 % de sulfato sódico (o cloruro sódico si es producido vía clorosulfatación), y cantidades trazas de agentes inorgánicos reguladores de pH. Los alcoholes secundarios no son muy adecuados para sulfatar debido a que los sulfatos generados son poco estables térmicamente y plantean problemas de almacenamiento.

2.2.3. Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas³⁰ varían para los diferentes homólogos de AS tal y como se muestra en la **tabla 1.6**.

Tabla 1.6. Propiedades fisicoquímicas para los distintos homólogos de AS

Propiedades	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
Masa molecular (g·mol ⁻¹)	288.4	316.4	344.49	372.54
Punto de fusión (°C)	205.5	264.8	275.63	212
Punto de ebullición (°C)	588.52	611.7	634.94	658.15
Presión de vapor a 25 °C (Pa)	6.27·10 ⁻¹¹	1.14·10 ⁻¹¹	2.05·10 ⁻¹²	3.67·10 ⁻¹³
Coefficiente de partición en octanol-agua K _{ow} (log K _{ow})	1.6	2.67	3.66	4.64
Solubilidad en agua (mg·L ⁻¹)	618.6 - 460	5.13	0.08	0.49/insol.

Se observa que al aumentar la longitud de la cadena alquílica, se incrementa el punto de fusión (excepto para el C₁₈ cuyo valor es inferior al de los homólogos C₁₄ y C₁₆) y el punto de ebullición. La baja presión de vapor hace que las pérdidas por evaporación sean mínimas para todos los homólogos. Respecto a la solubilidad, se observa que conforme aumenta la longitud de la cadena de carbono disminuye la solubilidad.

En la **tabla 1.7** se recogen los valores de CMC³² para los diferentes homólogos de AS:

Tabla 1.7. Valores de CMC para los diferentes homólogos de AS

Propiedades	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
Catión	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺
CMC (mM) (T ^a 50 °C)	8.10	2.10	0.62	0.20

Se observa que al aumentar la hidrofobicidad de la cadena alquílica, la CMC disminuye y formándose antes la micela.

³² H.W. Stache. *Anionic Surfactants: organic chemistry*. Surf. Sci. 56; 1995.

2.2.4. Ventajas e inconvenientes

Debido a su estructura molecular presentan numerosas ventajas³¹:

- 1) Son buenos agentes espumantes, normalmente se emplean en champús y formulaciones especiales.
- 2) Suelen presentar sinergismo con algunos ingredientes habituales en las formulaciones.
- 3) Poseen un alto grado de biodegradabilidad así como la rapidez con que este fenómeno transcurre (eliminación de AS > 99 % en plantas de lodos activados)³³.

Sin embargo, son bastante sensibles al agua dura, por lo que pierden efectividad en formulaciones sin fosfatos; su solubilidad en agua es relativamente baja y su precio depende de las fluctuaciones en el precio de los alcoholes grasos naturales (materia prima para la fabricación de los AS) debidas a causas políticas y climáticas.

2.3. Alcoholes etoxisulfato

2.3.1. Descripción

Los alcoholes etoxisulfatos³⁴ o éter sulfatos (AES), constituyen el segundo grupo de tensioactivos aniónicos más utilizado. La estructura

³³ E. Matthijs, M.S. Holts, A. Kiewiet, G.B.J. Rijs. *Environmental monitoring for linear alkylbenzene sulfonate, alcohol ethoxylate, alcohol ethoxy sulfate, alcohol sulfate and soap*. Environ. Toxicol. Chem. 18; 2634-2644, 1999.

³⁴ Human & Environmental Risk Assessment on ingredients of European household cleaning products (HERA). Alcohol Ethoxysulphates (AES). Environmental Risk Assessment, 2004. URL: <http://www.heraproject.com/RiskAssessment.cfm> (Visitada el 12/6/2012).

química de los AES está formada por una cadena alquílica de longitud variable, un número de unidades de óxido de etileno y un grupo sulfato. La estructura básica es $C_nH_{2n+1}(OC_2H_4)_mSO_4M$, donde $n = 12 - 18$, $m = 1 - 10$ y $M =$ sodio, amonio o trietanolamina (TEA).

Los AES empleados en formulaciones de detergentes están formados por una mezcla de homólogos en proporción variable conteniendo una cadena alquílica comprendida entre 12 y 18 átomos de carbono unida mediante enlace éter a una cadena polietoxilada, la cual no suele superar las 10 unidades etoxiladas y un grupo sulfato terminal. Normalmente se usa en forma de sal sódica.

Cabe destacar su amplio uso en productos de higiene personal tales como champús y pastas dentífricas, detergentes domésticos e industrial y como emulsionantes y aditivos durante la fabricación de pinturas, plásticos y polímeros. Principalmente se utilizan en forma de sales sódicas y ocasionalmente como sales amónicas o de trietanolaminas. En la **figura 1.25** se muestra la estructura molecular de un alcohol etoxisulfato.

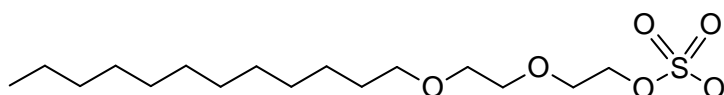


Figura 1.25. Estructura molecular de un alcohol etoxisulfato, monoetilenglicol monotridecileter sulfato (AES $C_{12}EO_2$)

2.3.2. Síntesis

Los AES se obtienen³¹ por sulfatación de los alcoholes etoxilados (AEO). El tipo de AEO empleado para la síntesis de los AES puede ser de **origen oleoquímico**, provenientes de aceites vegetales y animales, las cadenas alquílicas son lineales y solamente contiene un número par de átomos de carbono; y de **origen petroquímico**, proceden de parafinas y la

cadena alquílica contienen un número par e impar de átomos de carbono, algunas cadenas alquílicas presentan normalmente como ramificación un grupo metilo en el carbono 2.

Los métodos de fabricación de alcoholes primarios más importantes a nivel industrial son el proceso **Ziegler** y el proceso **OXO**, al igual que para los alcoholes sulfatos. Como agente de sulfatación suele emplearse el SO_3 o el ácido clorosulfónico. A continuación, en la **figura 1.26** se muestran las reacciones que tienen lugar para la síntesis de un alcohol etoxisulfato.

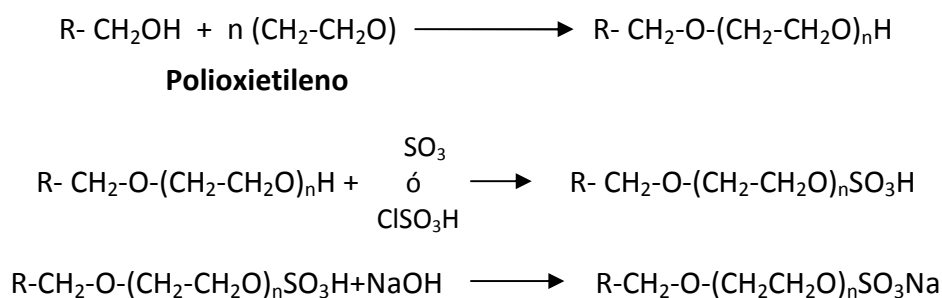


Figura 1.26. Síntesis de un alcohol etoxisulfato sódico

La distribución de los oligómeros, sigue una distribución de Poisson y afecta a las propiedades fisicoquímicas, biodegradabilidad en el medio y a uso final. Los AES comercializados, se diferencian en el tipo de alcohol usado como materia prima, el número de unidades etoxiladas, la concentración de materia activa en agua y la forma en la que se comercializa (solución, pasta o sólido). En cuanto a su composición en materia activa, normalmente contiene aproximadamente 2 - 4 % de alcohol etoxilado sin sulfatar, 1 - 2 % de alcohol sin reaccionar y 15 - 45 % de alcohol sulfato. Pueden contener cantidades trazas de agentes inorgánicos reguladores de pH, dependiendo del contenido en materia activa y del grado de etoxilación. Todos los tipos de alcoholes, salvo los secundarios, pueden etoxisulfatarse dando productos de buena calidad.

2.3.3. Propiedades fisicoquímicas

En la **tabla 1.8** se muestran las propiedades fisicoquímicas para los distintos AES y un valor medio de 2.7 unidades etoxiladas (obtenidas por interpolación de los valores para 2 y 3 unidades etoxiladas)³⁴

Tabla 1.8. Propiedades fisicoquímicas (AES, media de 2.7 unidades etoxiladas)

Propiedades	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
Masa molecular (g·mol ⁻¹)	407	436	464	492
Punto de fusión (°C)	298	309	321	330
Punto de ebullición (°C)	684	707	730	754
Presión de vapor a 25 °C (Pa)	1.2·10 ⁻¹³	2.1·10 ⁻¹⁴	3.8·10 ⁻¹⁵	6.2·10 ⁻¹⁶
Coefficiente de partición en octanol-agua K _{ow} (log K _{ow})	0.95	1.9	2.9	3.9
Solubilidad en agua (mg·L ⁻¹)	425	41	4.0	0.38

Según los datos mostrados, al aumentar la longitud de la cadena alquílica, se incrementa el punto de fusión, pero sin embargo, disminuye la presión de vapor así como la solubilidad. La baja presión de vapor para todos los homólogos, hace que las pérdidas por evaporación sean mínimas. Estos compuestos son relativamente solubles y como presentan valores del K_{ow} considerables, esto les permite ser transportados en disolución o estar asociados al material particulado³⁵.

El valor de la CMC depende de los factores vistos anteriormente y del número de unidades etoxiladas. En la **tabla 1.9** se resumen los valores de CMC³² para los diferentes AES con 2 unidades etoxiladas.

³⁵ Guang-Guo Ying. *Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment*. Environ. Int. 32; 417-431, 2006.

Tabla 1.9. Valores de CMC para los diferentes AES

Propiedades	C ₁₂	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₈
n (EO)	2	2	2	2
Catión	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺	Na ⁺
CMC (mM) (Tª 25 °C)	2.80	0.86	0.22	0.08

El valor de la concentración crítica micelar disminuye al aumentar la longitud de la cadena alquílica. La introducción de unidades etoxiladas disminuye el valor de CMC de los AES, pero este descenso no es proporcional al aumentar la longitud de la cadena etoxilada.

2.3.4. Ventajas e inconvenientes

Los AES presentan las siguientes ventajas:

- 1) Son muy buenos agentes espumantes, humectantes y emulsionantes.
- 2) Son buenos agentes de limpieza, aptos para formulaciones líquidas y detergentes en polvo.
- 3) Son mucho menos sensible a la dureza del agua que los AS.
- 4) Presentan un excelente comportamiento medioambiental.

Un gran inconveniente de estos compuestos, es que pueden contener 1,4 dioxano (compuesto altamente tóxico) como consecuencia de su presencia como impureza en los alcoholes etoxilados de partida ó porque que se forme durante la reacción de sulfatación.

2.4. Alcoholes etoxilados

2.4.1. Descripción

Los alcoholes etoxilados (AEO) son tensioactivos no iónicos, derivados etoxilados de los alcoholes grasos³⁶. Su estructura química está formada por una cadena alquílica de longitud variable, un número de unidades de óxido de etileno y un grupo alcohol terminal. La estructura básica es $C_nH_{2n+1}(OC_2H_4)_m OH$, donde $n = 12 - 18$, $m = 1 - 20$. En la **figura 1.27** se muestra la estructura molecular de un alcohol etoxilado.

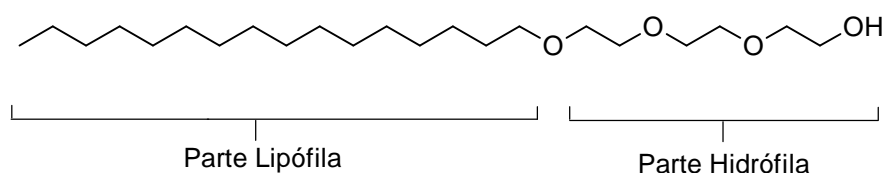


Figura 1.27. Estructura molecular de un alcohol etoxilado, trietilenglicol monohexadeciléter, normalmente se abrevia como AEO $C_{16}EO_3$

La parte lipófila, aunque suele ser lineal, puede ser ramificada presentando como ramificación un grupo metilo en el carbono 2. Una gran cantidad de AEO se convierte en AES, mientras el AEO restante se utiliza en la fabricación de detergentes domésticos e industriales, cosméticos, en las industrias de proceso textil y en la obtención de papel aceite.

2.4.2. Síntesis

La mayoría de los alcoholes grasos carecen de propiedades tensioactivas debido a su insolubilidad en agua, por lo que se hacen

³⁶ Human & Environmental Risk Assessment on ingredients of European household cleaning products (HERA). Alcohol Ethoxylates (AEO). Version 2.0, September 2009. URL: <http://www.heraproject.com/RiskAssessment.cfm> (Visitada el 12/6/2012).

reaccionar con polioxietileno para conferirles el carácter hidrofílico deseado. En la **figura 1.28** se representa la reacción de síntesis.

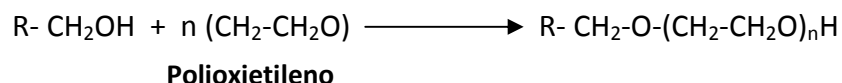


Figura 1.28. Reacción de síntesis de un alcohol etoxilado

Los AEO se obtienen a partir de alcoholes grasos de aceite de coco principalmente, de sebo o sintéticos de cadena lineal, a los que se le une un número dado de moles de óxido de etileno (EO). Como resultado del proceso de síntesis, la familia de AEO está formada por una mezcla compleja de compuestos que difieren en la longitud de la cadena hidrocarbonada y el número de unidades etoxiladas, pudiendo estar ésta comprendida entre 1 y 20 unidades etoxiladas.

2.4.3. Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas de los AEO abarcan un amplio rango. Aunque se dispone de poca información específica para los distintos homólogos y etoxímeros, sí está disponible un extenso conjunto de datos para los alcoholes (EO = 0), que en muchos casos permite establecer el límite inferior y superior de la propiedad fisicoquímica específica para los AEO, y así evaluar su comportamiento químico y fisicoquímico. En la **tabla 1.10** se muestran las propiedades fisicoquímicas³⁶ para los alcoholes de 16 y 18 átomos de carbono y los AEO C₁₆ EO₂₋₄.

Tabla 1.10. Propiedades fisicoquímicas para los alcoholes etoxilados

Propiedades	AEO C ₁₆ EO ₀ (Alcohol)	AEO C ₁₆ EO ₂	AEO C ₁₆ EO ₃	AEO C ₁₆ EO ₄	AEO C ₁₈ EO ₀ (Alcohol)
Masa molecular (g·mol ⁻¹)	242.4	330.6	374.6	418.6	270.5
Punto de fusión (°C)	50	36.8 - 37.2	33.8 - 34.2	36.7 - 37.0	58
Punto de ebullición (°C) (P mmHg)	334 - 344 (760)	172 - 178 (0.5 - 10.6)	203 - 206 (0.35)	215 - 220 (0.3)	210 (15)
Presión de vapor a 25 °C (hPa)	1.4·10 ⁻⁵	-	-	-	3.3·10 ⁻⁶
Coefficiente de partición en octanol-agua K _{ow} (logK _{ow})	7.35	7.29	7.19	7.09	8.43
Solubilidad en agua (mg·L ⁻¹)	0.013	-	-	-	0.0011

En la tabla, se observa que al aumentar la longitud de la cadena alquílica, se incrementa el punto de fusión, pero la introducción de unidades etoxiladas hace disminuir el punto de fusión del homólogo en cuestión. La presión de vapor disminuye al aumentar la longitud de la cadena alquílica, así como la solubilidad. La baja presión de vapor hace que las pérdidas por evaporación sean mínimas. Estos compuestos son poco solubles y como presentan valores del K_{ow} considerables, esto les permite estar asociados al material particulado. En la **tabla 1.11** se muestran los valores de CMC³⁶ para diferentes AEO.

Tabla 1.11. Valores de CMC para diferentes AEO

CMC (mg·L ⁻¹)	C ₁₀	C ₁₂	C ₁₄
EO ₅	-	26.4	-
EO ₆	-	30.6	-
EO ₇	-	34.1	-
EO ₈	510	38.2	5.1

El valor de la concentración micelar crítica disminuye al aumentar la longitud de la cadena alquílica. En cambio, ese valor aumenta al hacerlo el número de unidades etoxiladas para un mismo homólogo de AEO.

2.4.4. Ventajas e inconvenientes

Algunas ventajas que presentan los AEO son:

- 1) Variando el número de moles de unidades etoxiladas se consiguen propiedades muy diversas.
- 2) Su comportamiento en agua es bueno, incluso en aguas duras.
- 3) Buena limpieza de fibras sintéticas³⁶.
- 4) Rápida biodegradación, pudiendo ser eliminados de las aguas mediante los procesos biológicos de tratamiento tradicionales, o por tratamientos avanzados como la ozonización o la adsorción en carbón activo^{37,38}.

Como inconveniente se puede decir que tienen una baja o moderada capacidad para la formación de espuma y que al igual que los AES, pueden contener 1,4 dioxano (compuesto tóxico).

³⁷ A. Szymanski, B. Wyras, S. Zbigniew, T. Jaroszynski, Z. Lukaszewski. *Biodegradation of fatty alcohol ethoxylates in the continuous flow activated sludge test*. Water Research 34; 4101-4109, 2000.

³⁸ N.S. Battersby, A.J. Sherren, R.N. Bumpus, R. Eagle, I.K. Molade. *The fate of linear alcohol ethoxylates during activated sludge sewage treatment*. Chemosphere 45; 109-121, 2001.

3. IMPACTO AMBIENTAL DE LOS TENSIOACTIVOS

3.1. Introducción a la problemática

En las últimas décadas, el comportamiento de los contaminantes químicos en el medio ambiente se ha convertido en un tema de gran importancia. Por ello se han desarrollado numerosos métodos para la investigación y vigilancia de un elevado número de compuestos, entre ellos los tensioactivos³⁹.

Los tensioactivos debido a su volumen de fabricación y consumo, tanto a nivel doméstico como industrial, se han convertido en unos compuestos de interés medioambiental, siendo creciente la preocupación de la Unión Europea en materia de regulación de los mismos, ya que pueden alcanzar de una forma sencilla el medio ambiente, encontrándose de forma ubicua en él y causando diferentes impactos,... Por lo tanto se hace indispensable su seguimiento, por medio de estudios científicos, para conocer su impacto medioambiental.

En general, el destino de un compuesto químico y su concentración en el medio ambiente va a depender de los varios factores⁴:

- Las vías de distribución y el vertido en el medio ambiente.
- La producción y por tanto el volumen vertido.
- La velocidad de eliminación del entorno ambiental.
- La dilución y dispersión del compuesto en el medio⁴⁰.

³⁹ N.S. Battersby. *A review of biodegradation kinetics in the aquatic environment*. Chemosphere 21; 1243-1284, 1990.

⁴⁰ N.J. Fendinger, W.M. Begley, D.C. McAvoy, W.S. Eckhoff. *Determination of Alkyl Sulfate surfactants in Natural waters*. Environ. Sci. Technol. 26; 2493 - 2498, 1992.

La concentración mínima del compuesto químico capaz de provocar efectos adversos, va a depender de:

- Efectos del compuesto químico sobre las operaciones de los sistemas de tratamientos de aguas residuales^{41,42}.
- Toxicidad del compuesto químico respecto a los organismos existentes en el medio acuático: peces⁴³, invertebrados⁴⁴ y algas⁴⁵.
- Toxicidad del compuesto químico respecto a los organismos existentes en el medio terrestre⁴⁶⁻⁴⁹.
- Efectos debidos a la naturaleza del compuesto químico.

La mayor fuente aceptadora y difusora de los surfactantes es el agua residual. El amplio uso de tensioactivos, ya sea a nivel doméstico o industrial, genera una gran cantidad de aportes a las aguas residuales que deben ser tratadas en las plantas depuradoras (EDAR) previamente a su vertido a diversos ecosistemas (afluentes, mares, ríos, lagos, etc) o a su utilización como agua de riego. Los lodos generados, ricos en materia orgánica, pueden ser adecuadamente tratados y desecados para obtener el

⁴¹ D.C. McAvoy, S.D. Dyer, N.J. Fendinger, W.S. Eckhoff, D.L. Lawrence, W.M. Begley. *Removal of alcohol ethoxylates, alkyl ethoxylate sulfates and linear alkylbenzene sulfonates in wastewater treatment*. Environ. Toxicol. Chem. 17; 1705-1711, 1998.

⁴² F.R. Schröder, M. Schmitt, U. Reichensperger. *Effect of wastewater treatment technology on the elimination of anionic surfactants*. Waste Manage. 19; 125-131, 1999.

⁴³ R.E. Jr. Lizotte, P.B. Dorn, R.W. Jr. Steinriede, D.C.L. Wong, J.H. Jr. Rodgers. *Ecological effects of an anionic C12-15 AE-3S Alkylethoxysulfate surfactant in outdoor stream mesocosms*. Environ. Toxicol. Chem. 21; 2472-2751, 2002.

⁴⁴ A.W. Maki. *Correlations between Daphnia magna and fathead minnow (Pimephales promelas) chronic toxicity values for several classes of test substances*. J. Fish Res. Board Can. 36; 411-421, 1979.

⁴⁵ M.A. Sibila, M.C. Garrido, J.A. Perales, J.M. Quiroga. *Ecotoxicity and biodegradability of an alkyl ethoxysulphate surfactant in coastal waters*. Sci. Total Environ. 394; 265-274, 2008.

⁴⁶ E.F. King, I.N.D. Liu, B.J. Dutka. *Toxicity Screening Procedures Using Bacterial Systems*. Marcel Dekker, New York, 175-194, 1984.

⁴⁷ R.A. Goodnow, A.P. Harrison. *Bacterial degradation of detergency compounds*. Appl. Microbiol. 24; 555-560, 1972.

⁴⁸ G. Stora. *Contribution a l'étude de la notion de concentration lethale limite moyenne (CL 50) appliqué a des invertébrés marins, 1*, Étude méthodologique Tethys 4; 597-644, 1972.

⁴⁹ C. Verge, A. Moreno. *Toxicity of anionic surfactants to the bacterial population of a wastewater treatment plant*. Tens. Surf. Det. 33; 323-327, 1996.

compost, y de esta manera, ser utilizados como abono en las tierras de cultivo. A veces, los lodos se aplican directamente como enmendantes en campo y por esta razón se pueden encontrar cantidades relativamente altas de tensioactivos en el medio ambiente.

En la **figura 1.29** se muestran diferentes vías de distribución de los tensioactivos en el medio ambiente⁵⁰. En el caso de los detergentes, acompañando a los tensioactivos en el agua residual, se pueden encontrar además, coadyuvantes y blanqueantes. El resto de los componentes del detergente se encuentran en muy bajas concentraciones ya que presentan buena biodegradabilidad e inocuidad en el medio ambiente.

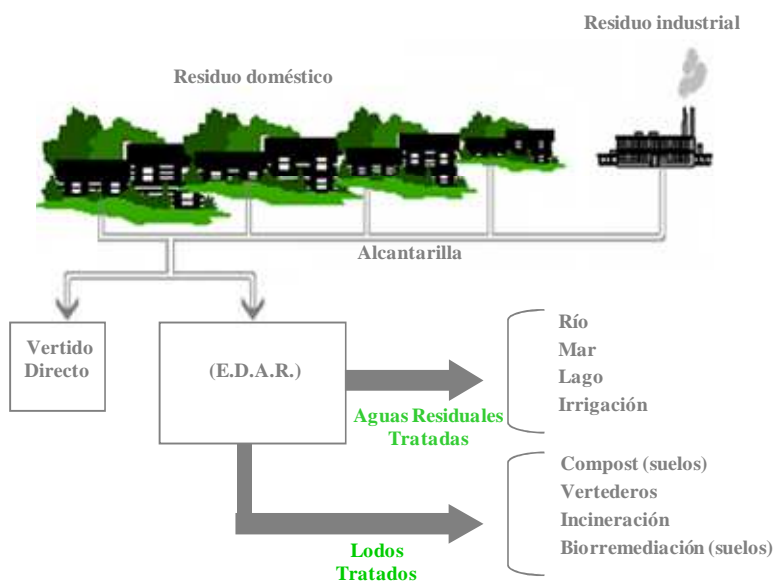


Figura 1.29. Destinos de los tensioactivos en el medio ambiente

En la bibliografía consultada se han encontrado diferentes métodos analíticos para la determinación de tensioactivos en casi todos los

⁵⁰ T.C.J. Feijtel, E.J. Van der Plassche. *Environmental risk characterization of 4 major surfactants used in the Netherlands*. National Institute of Public Health and Environmental Protection, Report nº 679101 025, Bilthoven, Netherlands, 1995.

compartimentos medioambientales. Se han estudiado matrices de diversa naturaleza como aguas residuales, sedimentos o lodos.

En la **tabla 1.12** se muestra la concentración encontrada de algunos de estos compuestos en dichas matrices.

Tabla 1.12. Concentración de LAS, AS, AES y AEO en el medioambiente

Tipo de Muestra	Concentración					Ref.
	LAS	AS	AES	AS + AES	AEO	
Entrada EDAR (mg·L ⁻¹)	-	0.6	3.2	-	-	33
Salida EDAR (µg·L ⁻¹)	-	5.7	6.5	-	-	33
Agua de río (µg·L ⁻¹)	-	-	-	11.9	-	51
Sedimento de río (ng·g ⁻¹)	-	-	-	536	-	51
Agua de mar (µg·L ⁻¹)	38.7	3.0	2.9	-	1.2	52
Sedimento marino (mg·kg ⁻¹)	12.8	0.24	0.59	-	3.64	52
Lodos (mg·kg ⁻¹)	-	50	69.3	-	-	53

3.2. Efectos perjudiciales de los tensioactivos en estudio

Aunque su toxicidad no haya sido determinada con precisión, los tensioactivos estudiados a lo largo de esta memoria presentan, en general, cierta toxicidad, ya que su presencia en el medio ambiente puede ocasionar:

⁵¹ P.A. Lara-Martín, A. Gómez-Parra, E. González-Mazo. *Simultaneous extraction and determination of anionic surfactants in waters and sediments*. J. Chromatogr. A 1114; 205-210, 2006.

⁵² P.A. Lara-Martín, A. Gómez-Parra, E. González-Mazo. *Development of a method for the simultaneous analysis of anionic and non ionic surfactants and their carboxylated metabolites in environmental samples by mixed-mode liquid chromatography-mass spectrometry*. J. Chromatogr. A 1137; 188-197, 2006.

⁵³ F. Bruno, R. Curini, A. Di Corcia, I. Fochi. *Determination of Surfactants and some of their metabolites in untreated and anaerobically digested sewage sludge by subcritical water extraction followed by LC-MS*. Environ. Sci. Technol. 36; 4156-4161, 2002.

- La modificación del comportamiento de otros contaminantes⁵⁴.
- Cambios en los procesos de nitrificación del suelo⁵⁵.
- Concentración de agentes contaminantes en las espumas.
- Cambios en la solubilidad del oxígeno en el agua.
- Disminución de la transmisión de la luz en el agua, inhibiendo la proliferación del plancton y, por tanto, el poder autodepurador del medio marino⁵⁶.
- Cambios en la microbiota⁵⁷. Se han descrito diversos efectos que los tensioactivos pueden causar sobre las membranas celulares y proteínas debido a la actividad superficial que presentan⁵⁸. Pudiendo actuar como inhibidores de bacterias⁵⁹, hongos y otros habitantes del ecosistema del suelo⁶⁰. Por esta razón la exposición del suelo de cultivo a estos compuestos puede alterar su actividad biológica, acción que es muy importante para la calidad del suelo y del ciclo nutricional⁶¹, además pueden inhibir notablemente bacterias reductoras de hierro y afectar tanto a bacterias Gram-negativo como Gram-positivo⁶².

⁵⁴ G. Crovetto, A. Navalón, O. Ballesteros, J. L. Vílchez, F. García-Herruzo, J. M. Rodríguez-Maroto. *Mobility and fate of carbetamide in an agricultural soil*. Journal of Environmental Science and Health Part B 44; 764–771, 2009.

⁵⁵ M. V. Vandoni, L. Goldberg-Federico. *Riv. Ital. Sostanze Grosse*. 50; 185, 1973.

⁵⁶ M. Anbent, J. Anbent. *Océanographie médicale*. Gauthier Villars. Paris, 1969.

⁵⁷ J.N. Duperray. *Chim. Phys. Appl. Prat. Ag. Surface*. C. R. Congr. Int. Deterg. 3; 243, 1969.

⁵⁸ M.J. Schwuger, F.G. Bartnik, *Interaction of anionic surfactants with proteins, enzymes and membranes*. Anionic Surfactants-Biochemistry, Toxicology, Dermatology. Ed. Gloxhuber C. pp 1-49. Marcel Dekker, New York, USA, 1980.

⁵⁹ L. Hartmann, *Effect of surfactants on soil bacteria*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1; 219-224, 1996.

⁶⁰ J. Jensen, *Fate and effects of LAS in the terrestrial environment*. Sci. Tot. Environ. 226; 93-111, 1999.

⁶¹ R.F. Turco, A.C. Kennedy, M.D. Jawson. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Soil Society of America (Special Edition 35) p. 73-90. Madison, USA, 1994.

⁶² L. Elsgaard, S.O. Petersen, K. Deboz, I.B. Kristiansen. *Effects of LAS on soil microbiology*. Tenside Surf. Det. 38 (2); 94-97, 2001.

4. BIODEGRADACIÓN

4.1. Concepto de biodegradación

Se entiende por biodegradación la ruptura molecular de un sustrato orgánico, resultante de la acción enzimática de microorganismos vivos que utilizan este sustrato como alimento. La problemática surgida en la biodegradación de moléculas complejas, determina la importancia de la distinción de diferentes tipos de biodegradabilidad, cuyo concepto está incorporado en la legislación vigente. Así, se distingue entre:

- a) **Biodegradación primaria.** Ocurre en el sustrato y permite la pérdida de las propiedades características de la molécula intacta. En el caso de los tensioactivos está relacionada con la pérdida de su capacidad para formar espuma o con la reducción de la tensión superficial.
- b) **Biodegradación avanzada.** Se alcanza cuando la molécula de sustrato se divide en segmentos más pequeños.
- c) **Biodegradación final, última o mineralización.** A través de una secuencia de ataques enzimáticos, reduce el sustrato a la estructura más simple posible. Bajo este término se engloban todos aquellos procesos microbiológicos que convierten la materia orgánica compleja en compuestos más simples que pueden ser utilizados como nutrientes y generar energía, además de ser transformados en material inorgánico después de sufrir diferentes procesos químicos.

Estos tres tipos de biodegradabilidad se pueden llevar a cabo bajo diferentes niveles ambientales de oxígeno:

- **Condiciones aerobias:** el flujo de oxígeno excede a la demanda que la actividad bacteriológica pueda requerir.
- **Condiciones anaerobias:** se pueden distinguir a su vez dos tipos de situaciones. *Condiciones anóxicas*, cuando la velocidad de consumo de oxígeno excede a la velocidad de difusión; y *condiciones estrictamente anaerobias*, cuando hay ausencia total de oxígeno.

4.2. Concepto de biodisponibilidad

La degradación de un compuesto orgánico en el medio ambiente puede llevarse a cabo por vía química a través de diversos procesos como fotólisis, hidrólisis etc. o por vía microbiológica (Biodegradación). La conversión total de la materia orgánica en productos inorgánicos (CO_2 y H_2O) es debida generalmente a procesos de biodegradación microbiana⁶³ y para que ello ocurra se tienen que dar dos circunstancias: la existencia de una microbiota adecuada, capaz de biodegradar al compuesto en cuestión, y en segundo lugar que este esté *biodisponible*, es decir, que sea accesible a la microbiota y así ella pueda llevar a cabo su biodegradación. Se puede definir, por tanto, la *biodisponibilidad* de un compuesto como la accesibilidad que presenta para ser biodegradado por una determinada microbiota.

⁶³ R. D. Swisher. *Surfactant biodegradation*. (2ª edición), Ed. Marcel-Dekker, Inc. New York, EEUU, 1987.

La biodisponibilidad de un compuesto en un determinado sistema, a su vez, viene determinada por los distintos fenómenos (retención-solubilización, formación de coloides, transporte, transformación...) que pueda sufrir dicho compuesto en el sistema. Esta serie de fenómenos vienen determinados por las propiedades fisicoquímicas del compuesto y del sistema, y de ellas dependerá el que prepondere uno de ellos sobre los demás.

Los fenómenos de formación de coloides y de transformación (hidrólisis, reacciones redox, reacciones ácido/base) pueden aumentar o disminuir la biodisponibilidad por medio de la conversión del compuesto en una forma que sea más o menos accesible a la acción del microorganismo.

Los fenómenos de transporte (advección, dispersión hidrodinámica) pueden aumentar la biodisponibilidad mediante un aumento de la cantidad de compuesto que llega al microorganismo, pero también pueden disminuirla mediante el transporte del compuesto a zonas donde la densidad de microorganismos sea inferior o incluso nula.

La retención (adsorción, absorción, precipitación) igualmente, puede aumentar o disminuir la biodisponibilidad de un compuesto hacia un microorganismo, puesto que la forma retenida puede ser más o menos accesible a la acción de dicho microorganismo.

Por lo tanto la biodisponibilidad es el resultado de una serie de fenómenos muy complejos y está determinada por las propiedades fisicoquímicas del compuesto y del sistema, quienes van a determinar la relación entre todos ellos.

En el caso de los tensioactivos estudiados, en un suelo agrícola, su biodisponibilidad está determinada principalmente por la relación entre los fenómenos de transporte y retención, siendo despreciables los fenómenos de transformación o formación de coloides. En el caso deseable, para este sistema (suelo/tensioactivo), dichos fenómenos se modulan de forma que el tiempo de residencia en la capa arable (zona de mayor densidad de microbiota) es adecuado a la cinética de biodegradación, dando lugar así a la mayor accesibilidad del tensioactivo para ser biodegrado por los microorganismos (mayor biodisponibilidad).

4.3. Evaluación de la degradación

Actualmente, existe una buena base de datos referente a la biodegradación de los tensioactivos en diferentes condiciones ambientales. Buena parte de estos datos son ensayos de laboratorio estandarizados por la OECD⁶⁴, usados de modo rutinario en Europa y América del Norte, con la finalidad de determinar el potencial de biodegradación de las sustancias orgánicas. Para verificar la mineralización de estas sustancias, existen algunos parámetros no específicos como el consumo de O₂, la eliminación del carbono orgánico y la formación de CO₂⁶⁵⁻⁶⁸.

⁶⁴ Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). *Revised guidelines for testing chemical*. OECD. París, 1993.

⁶⁵ W.K. Fischer, P. Gerike, W. Holtmann. *Biodegradation determinations via unspecific analyses (COD DOC) in coupled units of the OECD confirmatory test*. Water Res. 9; 1131-1135, 1975.

⁶⁶ P. Gerike, W.K. Fischer. *A correlation study of biodegradability determinations with various chemicals in various tests*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 3; 157-173, 1979.

⁶⁷ P. Gerike, W.K. Fischer, W. Holtmann. *Biodegradation determinations in trickling filter units compared with the OECD confirmatory test*. Water Res. 14; 753-758, 1980.

⁶⁸ R.J. Larson. *Evaluation of biodegradation potencial of xenobiotic organic chemicals*. Appl. Environ. Microbiol. 38; 1153-1161, 1979.

4.4. Tipos de ecosistemas

Un ecosistema es el conjunto de organismos que conviven en una determinada comunidad, el medio físico en el que se desarrollan y en el que se establecen sus relaciones, constituyendo una unidad de funcionamiento adaptado a las condiciones medioambientales⁴. Los ecosistemas según los niveles ambientales de oxígeno pueden ser:

- **Ecosistemas aerobios.** La biodegradación de los tensioactivos en estos medios^{69,70}, es llevada a cabo por microorganismos de acuerdo con la reacción que se muestra en la **figura 1.30**.

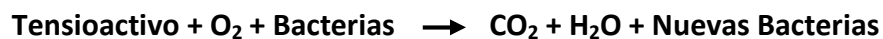


Figura 1.30. Reacción de biodegradación general para tensioactivos

- **Ecosistemas anaerobios:** desde el punto de vista del comportamiento ambiental de los tensioactivos, los que más influencia tienen son:
 - **Sedimentos de río y lagos:** estos pueden ser totalmente aerobios en la superficie o totalmente anaerobios en la parte baja de su espesor total.
 - **Suelos agrícolas:** aunque son medios normalmente aerobios, ocasionalmente, son medios anóxicos, en donde la oxidación microbiana de amoníaco a nitratos (nitrificación), y la reducción microbiana de nitratos a nitrógeno gas (desnitrificación), pueden

⁶⁹ S.A. Klein, McGuahey. *Fate of detergents in septic tank system and oxidation pond. Sanitary Engineering Research Laboratory.* Report 64. Universidad de California, Berkeley, 1964.

⁷⁰ M. Rizet, J. Mallevalle, J.L. Cournaire. *Pilot plant investigation of the evolution of various pollutants during artificial recharge of an aquifer by a basin.* Progress in Water Technology 9; 203-215, 1977.

estar teniendo lugar de manera simultánea, lo cual depende de las prácticas agrícolas empleadas, y de los cambios estacionales en la temperatura y en la saturación de agua.

- **Sedimentos marinos:** como en el caso de los sedimentos de las aguas superficiales, el agua sobrenadante y la capa superior de los sedimentos suele ser aeróbica, sin embargo, a medida que aumenta la profundidad las condiciones van siendo cada vez más anóxicas.

En cuanto a los sistemas anaerobios producidos por el hombre, el que tiene mayor relevancia para los tensioactivos es la **digestión anaerobia de lodos de las aguas residuales**. Este método es ampliamente usado en las plantas EDAR para desodorizar, desinfectar, y estabilizar los lodos orgánicos pútridos, aumentando la purificación de las aguas residuales. En la **figura 1.31** se muestra el proceso de depuración de las aguas residuales.

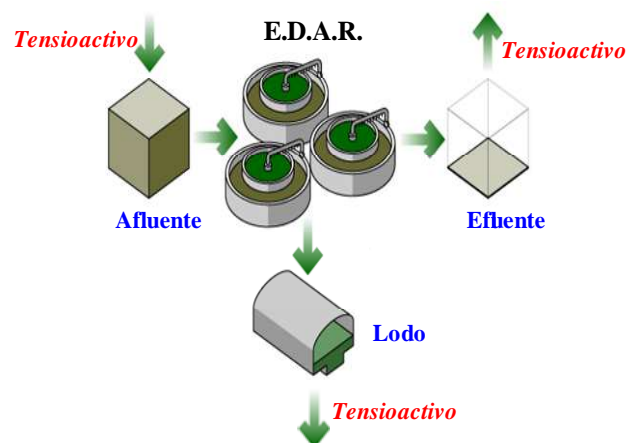


Figura 1.31. Esquema de tratamiento de tensioactivos en una planta EDAR

4.5. Rutas de biodegradación

Los mecanismos aceptados como principales responsables de la ruptura de una molécula orgánica, son tres: ω -oxidación, β -oxidación y oxidación aromática. El mecanismo de ω -oxidación es el que interviene en la biodegradación de las moléculas de hidrocarburos de alto peso molecular, y como producto final da lugar a una molécula de ácido graso. La β -oxidación consiste en un acortamiento de la cadena hidrocarbonada en dos unidades, con liberación de un radical acetato. Sucesivas etapas de β -oxidación provocan la total conversión de la molécula original en CO_2 , agua y biomasa. En un sistema aerobio, el hidrógeno termina por desprenderse en forma de agua y, en un sistema anaerobio, en forma de metano o de ácido sulfhídrico. En el mecanismo de oxidación aromática el resultado es la producción de un compuesto del tipo ácido-cetoadípico, que se ve sometido posteriormente al mecanismo de β -oxidación hasta su total biodegradación, generando grupos acetato y succinato. En moléculas de tensioactivo con grupos especiales, paralelamente o posteriormente a los mecanismos mencionados, también tienen lugar procesos de hidrólisis, desulfonación, desulfatación.

Rutas de biodegradación para LAS. Desde su introducción en el mercado, hace más de 40 años, hay una extensiva base de datos referente a la biodegradación del LAS en condiciones aeróbicas. Una descripción detallada de la degradación aeróbica del LAS fue realizada por Swisher⁴³ y Schöberl⁷¹. La mayoría de los estudios realizados en laboratorio indican que el proceso de biodegradación se inicia con la oxigenación de un grupo metilo terminal de la cadena alquílica, y la conversión del alcohol a un grupo carboxílico (ω -oxidación), originando los ácidos sulfofenilcarboxílicos (SPCs, del inglés *Sulfo Phenyl Carboxylic Acids*) como intermediarios de

⁷¹ P. Schöberl. *Basic principles of LAS biodegradation*. Tenside Surf. Det. 26; 86-94, 1989.

biodegradación. Subsecuentemente a la ω -oxidación, ocurren sucesivas etapas de β -oxidación que van promoviendo la fragmentación de la cadena alquílica eliminando 2 carbonos a la vez, resultando un SPC de cadena más corta^{72,73}. Después puede ocurrir la ruptura del anillo bencénico.

Aunque la β -oxidación es la principal vía de destrucción de la cadena alquílica del LAS, también puede ocurrir la eliminación de carbonos a través de la α -oxidación, pero esto ocurre en menor grado.

La biodegradación completa del LAS concluye con la desulfonación de la molécula con total mineralización del compuesto en CO₂, H₂O, Na₂SO₄, y la incorporación de estas sustancias a la biomasa del ecosistema^{74,75}.

Rutas de biodegradación para AS. Los AS se encuentran entre los tensioactivos que más rápidamente se biodegradan³⁵. Sufren una rápida biodegradación primaria^{63,76,77} en condiciones aerobias, inducida por microorganismos. El proceso de biodegradación comienza mediante una rotura hidrolítica del enlace éster sulfato catalizada por alquilsulfatasas⁷⁸. Esta rotura produce sulfato inorgánico y alcohol graso. El siguiente paso es la oxidación enzimática del alcohol graso por las deshidrogenasas dando lugar a un aldehído y posteriormente a un ácido graso. Este ácido graso sufre diversas β -oxidaciones hasta ser finalmente mineralizado o

⁷² R.L. Huddleston, R.C. Allred. *Microbial oxidation of sulfonated alkylbenzenes*. Dev. Ind. Microbiol. 4; 24-38, 1963.

⁷³ R.D. Swisher. *Transient intermediates in the biodegradation of LAS*. J. Water Poll. Control Fed. 35; 1557-1564, 1963.

⁷⁴ J.E. Heinze, L.N. Britton. *Anaerobic Degradation: Environmental Relevance*. 3^o World Conference on Detergent. A. Cahn, AOCS, pp. 235-239. Champaign, USA, 1994.

⁷⁵ D.M. Karsaand, M.R. Porter. *Biodegradability of surfactants*, Blackie Academic & Professional, Chapman & Hall, London, UK, 1995.

⁷⁶ M.J. Scott, M.N. Jones. *The biodegradation of surfactants in the environment*. Biochim. Biophys. Acta 1508; 235-251, 2000.

⁷⁷ C. Lee, N.L. Rusell, G.F. White. *Development and validation of laboratory microcosms for anionic surfactant biodegradation by riverine biofilms*. Water Res. 32; 2291-2298, 1998.

⁷⁸ G.F. White. *Multiple interactions in riverine biofilms-surfactant adsorption, bacterial attachment and biodegradation*. Water Sci. Technol. 31; 61-70, 1995.

incorporado a la biomasa^{79,80}. El proceso de biodegradación que sufren los AS secundarios difiere del que siguen los AS primarios en que se formaría una cetona en vez de un aldehído. La cetona mediante una ruptura oxidativa pasa a dar un aldehído y un ácido carboxílico, los cuales son degradados mediante una posterior β -oxidación.

Rutas de biodegradación para AES. Steber y Berger⁸¹ establecieron varios posibles mecanismos de biodegradación de estos compuestos, que parecen tener lugar simultáneamente. La primera de estas posibles rutas de biodegradación consiste en una ω -oxidación de la cadena alquílica de los AES seguida de β -oxidaciones que provocan un sucesivo acortamiento de la cadena alquílica, dando lugar a AES carboxilados (*mecanismo a*). Un segundo mecanismo de biodegradación consiste en la ruptura enzimática del grupo sulfato (desulfatación) dando lugar a la formación de un alcohol graso etoxilado (*mecanismo b*). Posteriormente, el alcohol etoxilado generado es degradado mediante la ruptura del enlace central o bien mediante ω - y β -oxidación de cualquiera de los extremos de la molécula. Otro posible mecanismo consiste en la hidrólisis del enlace central éter (enlace entre la cadena alquílica y etoxilada) dando lugar a un alcohol y un polietilenglicol sulfato (*mecanismo c*). El alcohol generado es oxidado dando lugar a un ácido graso, mientras que el polietilenglicol sulfato es transformado a etilenglicol mediante desulfatación y sucesivas hidrólisis. Finalmente, un último mecanismo posible consiste en la hidrólisis de un enlace éter no central dando lugar a la formación de un alcohol etoxilado y etilenglicol sulfato (*mecanismo d*). Posteriormente, el alcohol etoxilado es degradado bien mediante la hidrólisis del enlace central éter o bien por ω -

⁷⁹ O.R.T. Thomas. G.F. White. *Metabolic pathway for the biodegradation of sodium dodecyl sulfate by pseudomonas sp C₁₂B*. Biotechnol. Appl. Biochem. 11; 318-327, 1989.

⁸⁰ A.L. George. *Seasonal factors affecting surfactant biodegradation in Antarctic coastal waters: comparison of a polluted and pristine site*. Mar Environ. Res. 53; 403-415, 2002.

⁸¹ J. Steber, H. Berger. *Biodegradability of anionic surfactants*. Ed. Karsa D.R., Porter M.R. *Biodegradability of Surfactants*. Blackie Academic & Professional. p. 134-182. Glasgow, United Kingdom (review), 1995.

y β -oxidación de cualquiera de los extremos de la molécula, mientras que el polietilenglicol es eliminado mediante desulfatación y sucesivas hidrólisis dando lugar a etilenglicol.

Rutas de biodegradación para AEO. La influencia de parámetros tales como la longitud de la cadena etoxilada y la posición del enlace con la cadena hidrofóbica, han sido estudiados en numerosas ocasiones. Patterson y col.⁸² propusieron dos posibles mecanismos que ocurrirían simultáneamente durante la degradación de los alcoholes etoxilados: una fisión de la molécula en dos entidades, una hidrófoba y otra hidrófila, y una oxidación rápida del grupo hidrofóbico. Otros autores, como Marcomini y col.⁸³ propusieron tres mecanismos distintos para la biodegradación aerobia de alcoholes etoxilados: una escisión central de la molécula, un ataque microbiano al carbono terminal de la cadena alquílica a través de una ω,β -oxidación, y un ataque primario al carbono terminal de la cadena polietoxilada mediante un proceso hidrolítico.

4.6. Relación entre estructura y biodegradabilidad

Debido a la enorme importancia económica de los tensioactivos y a su contribución al deterioro ambiental si éstos persisten en el medio, se han desarrollado numerosos estudios encaminados a establecer las características estructurales que gobiernan la susceptibilidad de estos compuestos a ser biodegradados. De forma general, se pueden establecer las siguientes conclusiones en cuanto a la relación entre estructura química y biodegradabilidad para tensioactivos:

⁸² S.J. Patterson, C.C. Scout, B.E. Tucker. *Nonionic detergent degradation: III. Initial mechanism of degradation*. J. Am. Oil Chem. Soc 47; 37-41, 1970.

⁸³ A. Marcomini, M. Zanette, G. Lojana, M.J. Suter. *Behaviour of aliphatic alcohol polyethoxylates and their metabolites under standardized aerobic biodegradation conditions*. Environmental Toxicology and Chemistry 19; 549-554, 2000.

- La naturaleza del grupo hidrófilo no tiene excesiva importancia en el proceso. En igualdad de condiciones, los más biodegradables son los que poseen grupo carboxílico, seguidos de los del grupo sulfato y por último los del grupo sulfonato.
- Cuanto mayor sea la distancia entre el grupo hidrófilo y el extremo final de la cadena, mayor es la biodegradabilidad (*principio de distancia*)⁸⁴.
- El principal factor que determina la biodegradabilidad es la estructura del grupo hidrófobo, disminuyendo a medida que aumenta el grado de ramificación. Sin embargo, si la ramificación de la cadena esta próxima al grupo hidrófilo, el tensioactivo es degradado a pesar de ser ramificado. Esto es debido a que las bacterias atacan al tensioactivo empezando por el extremo opuesto al grupo hidrófilo, paralizándose el ataque cuando llegan a un carbono terciario.

Tras numerosos estudios, Hammerton^{85,86} sugirió que el factor principal, no sólo en la velocidad de biodegradación, sino también en la extensión de la misma, era la linealidad del grupo hidrófobo, y su naturaleza química, además del modo de ataque a este grupo.

4.6.1. Sulfonato de alquilbenceno lineal

La biodegradación primaria de los diferentes homólogos del LAS, en general, aumenta a medida que lo hace la longitud de la cadena alquílica⁶³. De la misma forma, para distintos isómeros, la degradación es más rápida a medida que aumenta la distancia entre el grupo sulfofenil y el extremo

⁸⁴ R.D. Swisher. *The Chemistry of surfactant biodegradation*. J. Am. Oil Chem. Soc. 40; 648-656, 1963.

⁸⁵ C. Hammerton. *The decay of synthetic anionic detergents in natural waters*. J. Appl. Chem. 5; 517-524, 1955.

⁸⁶ C. Hammerton. *Synthetic detergents and water supplies. Part II. The chemical constitution of anionic surface active compounds and their susceptibility biochemical oxidation*. Proceedings of the Society for Water Treatment and Examination 5; 145-174, 1956.

metilo terminal de la cadena. Este efecto se conoce como *principio de la distancia*⁸⁴. Sin embargo, hay excepciones a estas reglas generales, y parece ser que los factores determinantes de las velocidades relativas de degradación son complejos⁸⁷. Entre ellos están:

- La concentración de los isómeros y homólogos del LAS.
- Los posibles efectos inhibitorios del LAS.
- La presencia de otros homólogos e isómeros.
- La concentración de sólidos en suspensión.
- El grado de aclimatación del inóculo.

4.4.2. Alcoholes sulfato

Los AS primarios y secundarios generalmente experimentan una biodegradación primaria completa en unos pocos días, seguida por una última etapa de biodegradación rápida. Los AS ramificados también se degradan rápidamente, solamente cuando poseen múltiples ramificaciones en la cadena alquílica se reduce considerablemente el grado de biodegradación primaria.

4.6.3. Alcoholes etoxisulfato

A diferencia de otros tensioactivos, estudios realizados por Painter⁸⁸ demuestran que el porcentaje de biodegradabilidad de estos compuestos no se ve afectado por la longitud de la cadena alquílica; si bien su grado de

⁸⁷ J.A. Perales. *Variabilidad de la biodegradación y toxicidad de compuestos xenobióticos en el medio marino. Aplicación a Lineal Alquilbenceno Sulfonatos en aguas del golfo de Cádiz*. Tesis Doctoral, Universidad de Cádiz, 2001.

⁸⁸ H.A. Painter. *Anionic surfactants*. Ed. Oude, N.T., Huntzinger, O. *Anthropogenic Compounds, Detergents*. Springer. p. 1-88. Germany, 1992.

ramificación puede dificultar la biodegradación primaria de estos tensioactivos, encontrando porcentajes de eliminación de MBAS del 97 % para un AES lineal, un 90 % para un Oxo-AES lineal, y 50 % para un AES de cadena ramificada, al cabo de 3 días.

4.6.4. Alcoholes etoxilados

El factor que afecta de forma más importante a la biodegradabilidad de alcoholes etoxilados es la estructura hidrófoba, y en particular, la linealidad del esqueleto carbonado, que tiene una influencia mayor que otros factores tales como la longitud de la cadena alquílica, el tipo de enlace a la cadena etoxilada y su longitud. Los alcoholes etoxilados lineales son *fácilmente biodegradables*. La biodegradación primaria es rápida y completa. La biodegradación final, suele ser bastante extensa⁶³. El efecto de la ramificación de la cadena alquílica sobre la biodegradación se ha demostrado claramente por la comparación de un AEO lineal C₁₂-C₁₅ de 9 EO con un alcohol altamente ramificado C₁₃ con 7 EO. El alcohol graso etoxilado lineal alcanza valores superiores al 80 % de biodegradación en 28 días, en cambio, el alcohol etoxilado ramificado alcanza únicamente un 40 % de biodegradación⁸⁹. Además, algunos estudios han demostrado que la facilidad de biodegradación de los alcoholes etoxilados ramificados aumenta con el número de unidades etoxiladas en la molécula⁹⁰. Bajo condiciones anaerobias, la biodegradación de los alcoholes etoxilados presenta comportamientos diferenciados en función del tamaño de cadena carbonada y del número de unidades etoxiladas⁹¹.

⁸⁹ L. Kravetz, J.P. Salanitro, P.B. Dorn, K.F. Guin. *Influence of hydrophobe type and extent of branching on environmental response factors of nonionic surfactants*. J. Am. Oil Chem. Soc. 68; 610-618, 1991.

⁹⁰ M. Siegfried, W. Baumann. *Biological degradability of alcohol ethoxylates*. Parfuemerie und Kosmetik 74; 692-698, 1993.

⁹¹ V. Mezzanotte, E. Bolzacchini, M. Orland, A. Rozzi, S. Rullo. *Anaerobic removal of linear alcohol ethoxylates*. Bioresource Technology 82; 151-156, 2002.

5. LEGISLACIÓN

Los cambios legislativos en relación a los tensioactivos están ligados a la problemática que surge como consecuencia de su consumo y, entre otros, está muy influenciada por dos hechos ambientales fundamentales: la aparición tanto de espumas persistentes como de metabolitos de elevada toxicidad. El uso creciente de estos compuestos en formulaciones comerciales determinó que en la década de los 50 comenzaran a surgir problemas ambientales de contaminación por la aparición de espumas en ríos, depuradoras y en aguas subterráneas. Pronto se comprobaría, mediante la realización de diferentes estudios, que la causa era la utilización creciente de los tensioactivos “duros” (BABS) y, posteriormente, se solucionaría este problema con su sustitución por el LAS. Sin embargo, pronto se puso de manifiesto que el uso de otros compuestos de carácter detergente entre los que figuraban los tensioactivos no iónicos nonilfenol etoxilado (NPEO, del inglés *Nonylphenol Ethoxylate*) y octilfenol etoxilado (OPEO, del inglés *Octylphenol Ethoxylate*), en su proceso de biodegradación producían metabolitos como el nonilfenol (NP, del inglés *Nonylphenol*) y octilfenol (OP, del inglés *Octylphenol*) que aunque no eran formadores de espuma, poseían carácter estrogénico y, por tanto, de mayor toxicidad que los compuestos originales⁹². Se estima que los alquilfenoles (AP) pueden llegar a ser hasta 10 veces más tóxicos que los alquilfenoles etoxilados (APEO) de partida⁷⁶. Este hecho determinó que se fuese más exigente con el concepto de biodegradabilidad, y se tuviese que distinguir entre biodegradabilidad primaria y biodegradabilidad final o mineralización.

⁹² K. Yoshimura. *Biodegradation and fish toxicity of non-ionic surfactants*. J. Am. Oil Chem. Soc. 63; 1590-1596, 1986.

La preocupación ante este problema determinó que comenzaran a aparecer legislaciones para limitar el uso de estos tensioactivos duros. La primera regulación se promulgó en Alemania en 1961, y exigía que la biodegradación de los tensioactivos aniónicos fuese del 80 % (biodegradación primaria). Con la creación de la Comunidad Económica Europea y, posteriormente, de la Unión Europea, se intentó armonizar las diferentes legislaciones, y así, aparecieron de manera sucesiva distintas directivas, regulaciones y decisiones de obligado cumplimiento para todos los estados miembros. Estas normativas han ido resolviendo los problemas ambientales conforme se ponían de manifiesto, y regulaban el uso de los detergentes en todos los estados miembros. Así, hasta 2004, se promulgaron un gran número de leyes:

- **Directiva 2003/53/CE**⁹³, por la que se modifica la Directiva 76/769/CEE respecto a la limitación de la comercialización y el uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos como los surfactantes nonilfenol etoxilados y su metabolito nonilfenol.
- **Directiva 73/404/CEE**, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de detergentes.
- **Directiva 73/405/CEE**, referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos.

⁹³ CE. *Directiva 2003/53/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de junio de 2003, por la que se modifica por vigesimosexta vez la Directiva 76/769/CEE del Consejo respecto a la limitación de la comercialización y el uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos (nonilfenol, etoxilados de nonilfenol y cemento)*. Bruselas, 2003.

- **Directiva 82/242/CEE**, referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos no iónicos.
- **Directiva 82/243/CEE**, que modifica la Directiva 73/405/CEE referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de control de la biodegradabilidad de los tensioactivos aniónicos.
- **Directiva 86/94/CEE**, por la que se modifica la Directiva 73/404/CEE referente a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de detergentes.
- **Recomendación 89/542** de la Comisión relativa al etiquetado de detergentes.

En el año 2004, por motivos de claridad y racionalidad, las Directivas 73/404/CEE, 73/405/CEE, 82/242/CEE, 82/243/CEE, 86/94/CEE y la Recomendación 89/542, fueron actualizadas y refundidas en un sólo texto: Reglamento (CE) N° 648/2004⁹⁴, de 31 de marzo de 2004, sobre detergentes y actualmente en vigor. Este Reglamento establece normas destinadas a lograr la libre circulación de detergentes y tensioactivos para detergentes en el mercado europeo, garantizando al mismo tiempo una elevada protección del medio ambiente y de la salud humana. A estos efectos, dicho Reglamento armoniza algunas normas de comercialización de estas sustancias en lo referente a la biodegradabilidad; a las restricciones o prohibiciones por motivos de biodegradabilidad; al etiquetado adicional de los detergentes; a la información que los fabricantes deben tener a disposición de las autoridades competentes y del

⁹⁴ CEE. *Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea 648/2004/CE, sobre detergentes* (DO L 104 de 08/04/2004). Bruselas, 2004.

personal médico de los Estados miembros. Además, establece una nueva definición de detergente que se amplía, y una serie de condiciones, características y límites que estas sustancias deben presentar para su correcta comercialización. La principal novedad es el requerimiento de biodegradación final como necesaria para estipular la limitación de su comercialización. Otra de las novedades es que establece los métodos de ensayos y analíticos para evaluar la biodegradabilidad final de todos los tensioactivos: aniónicos, no iónicos, catiónicos y anfotéricos (estos dos últimos contemplándose por primera vez).

El **Reglamento (CE) Nº 648/2004**, se ha modificado en dos ocasiones:

- **Reglamento (CE) Nº 1336/2008** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008 , que modifica el Reglamento (CE) nº 648/2004 para adaptarlo al Reglamento (CE) nº 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.
- **Reglamento (CE) Nº 219/2009** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 11 de marzo de 2009, por el que se adaptan a la Decisión 1999/468/CE del Consejo determinados actos sujetos al procedimiento establecido en el artículo 251 del Tratado, en lo que se refiere al procedimiento de reglamentación con control — Adaptación al procedimiento de reglamentación con control.

Al Reglamento (CE) Nº 648/2004 también se le han realizado cuatro modificaciones de los Anexos:

- **Reglamento (CE) Nº 907/2006⁹⁵**. Modificación del Anexo III: Métodos de ensayos de biodegradabilidad.
- **Reglamento (CE) Nº 551/2009⁹⁶**. Modificación del Anexo V: Lista de tensioactivos de objeto de excepción.
- **Reglamento (CE) Nº 551/2009⁹⁶**. Modificación del Anexo VI: Lista de tensioactivos de detergentes prohibidos o limitados.
- **Reglamento (CE) Nº 907/2006⁹⁵**. Modificación del Anexo VII: Etiquetado y hoja informativa de ingredientes.

En el ámbito de la Unión Europea, la política de prevención y control de los productos químicos está coordinada mediante el Reglamento (CE) Nº 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas (Reglamento Nº 1272/2008), posteriormente modificado por el Reglamento (CE) Nº 790/2009 de la comisión de 10 de agosto de 2009 (Reglamento Nº 790/2009).

⁹⁵ CEE. Reglamento nº 907/2006 de la Comisión, de 20 de junio de 2006, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 648/2004, sobre detergentes, con el fin de adaptar sus anexos III y VII. Bruselas, 2006.

⁹⁶ CEE. Reglamento nº 551/2009 de la Comisión, de 25 de junio de 2009, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 648/2004, sobre detergentes, con el fin de adaptar sus anexos V y VI(excepción sobre un tensioactivo). Bruselas, 2009.

CAPÍTULO II

Experimental. Materiales y Métodos

En el presente capítulo se muestran los patrones, reactivos, disoluciones, disolventes y gases, así como el material de laboratorio, instrumentación y software que ha sido necesario para la realización de la parte experimental de la presente Tesis Doctoral. A continuación, se resumen las diferentes metodologías empleadas para el tratamiento de los datos analíticos. Esta parte se divide en tres bloques: por una parte las metodologías que se aplican a los datos procedentes de la optimización, por otra las metodologías para el estudio de la etapa de calibración y por otra los procedimientos de validación aplicados al método.

1. PATRONES, REACTIVOS, DISOLVENTES, DISOLUCIONES Y GASES

1.1. Patrones

- **Mezcla comercial de LAS (Cepsa).** El *índice activo* de la mezcla es del 53.79 %. La distribución porcentual de los diferentes componentes del LAS se indica en la **tabla 2.1**.

Tabla 2.1. Distribución de isómeros y homólogos de la mezcla comercial de LAS

Homólogo (%)	Isómero	% (p/p)	Homólogo (%)	Isómero	% (p/p)
C ₁₀ (13.98)	5 ϕ C ₁₀	4.91	C ₁₂ (30.80)	5 + 6 ϕ C ₁₂	15.67
	4 ϕ C ₁₀	3.57		4 ϕ C ₁₂	5.99
	3 ϕ C ₁₀	2.84		3 ϕ C ₁₂	4.85
	2 ϕ C ₁₀	2.66		2 ϕ C ₁₂	4.29
C ₁₁ (32.22)	5 + 6 ϕ C ₁₁	14.58	C ₁₃ (23.00)	5 + 6 +	13.08
	4 ϕ C ₁₁	7.13		4 ϕ C ₁₃	4.06
	3 ϕ C ₁₁	5.47		3 ϕ C ₁₃	3.09
	2 ϕ C ₁₁	5.04		2 ϕ C ₁₃	2.77

- **Mezcla comercial de AES (Cepsa).** El *índice activo* de la mezcla es del 27 %. La distribución porcentual de los diferentes componentes de la mezcla de AES se indica en la **tabla 2.2**.

Tabla 2.2. Distribución de homólogos y oligómeros de la mezcla comercial

Homólogos (%)	Oligómeros	% (p/p)	Homólogos (%)	Oligómeros	% (p/p)
C ₁₂ (38.22)	EO ₀	17.69	C ₁₆ (13.44)	EO ₀	6.78
	EO ₁	7.52		EO ₁	2.66
	EO ₂	5.34		EO ₂	1.89
	EO ₃	2.83		EO ₃	0.89
	EO ₄	1.83		EO ₄	0.43
	EO ₅	1.23		EO ₅	0.36
	EO ₆	0.68		EO ₆	0.16
	EO ₇	0.36		EO ₇	0.08
	EO ₈	0.25		EO ₈	0.10
	EO ₉	0.33		EO ₉	0.06
	EO ₁₀	0.16		EO ₁₀	0.03
C ₁₄ (26.99)	EO ₁	6.66	C ₁₈ (21.35)	EO ₁	4.54
	EO ₂	4.02		EO ₂	2.41
	EO ₃	1.90		EO ₃	1.40
	EO ₄	0.84		EO ₄	0.91
	EO ₅	0.59		EO ₅	0.65
	EO ₆	0.38		EO ₆	0.36
	EO ₇	0.30		EO ₇	0.29
	EO ₈	0.18		EO ₈	0.12
	EO ₉	0.14		EO ₉	0.09
	EO ₁₀	0.07		EO ₁₀	0.05

- **Patrones de AS aislados (Sigma-Aldrich)**

Tabla 2.3. Homólogos aislados de AS

Homólogo	Pureza (%)	Homólogo	Pureza (%)
AS C ₁₂	99	AS C ₁₆	94
AS C ₁₄	95	AS C ₁₈	93

- **Mezclas comerciales de AS (Cepsa).**

Tabla 2.4. Características de las mezclas comerciales de AS

Mezcla comercial	Homólogo	Proporción (%)
AS Coco (60 % materia activa)	AS C ₁₂	68.48
	AS C ₁₄	17.36
	AS C ₁₆	7.26
	AS C ₁₈	6.90
AS EMPICOL (46.5 % materia activa)	AS C ₁₂	7.12
	AS C ₁₄	4.53
	AS C ₁₆	31.25
	AS C ₁₈	57.10

- **Mezcla comercial de AEO, Brij 56.** Pureza 100 %, (Sigma Aldrich).
- **Mezcla comercial de AEO, Brij 76.** Pureza 100 %, (Sigma Aldrich).
- **Patrones de oligómeros de AEO aislados** (Fluka y Sigma Aldrich). En la **tabla 2.5** se muestran cada uno de los patrones aislados de AEO que se han utilizado junto con su pureza.

Tabla 2.5. Etoxímeros aislados para AEO

Homólogo	Oligómero	Pureza (%)	Homólogo	Oligómero	Pureza (%)
C ₁₆	EO ₀	99	C ₁₈	EO ₀	99
	EO ₂	≥ 99		EO ₃	≥ 99
	EO ₆	≥ 99		EO ₆	≥ 99
	EO ₈	≥ 98		EO ₈	≥ 98

- **Patrón de isómero de LAS 2øC₈.** Pureza 81 %, (Cepsa).
- **Patrón de isómero de LAS 2øC₁₆.** Pureza 99 %, (Cepsa).
- **N,N-dimetiltetradecilamina.** Pureza ≥ 95 %, (Sigma Aldrich).

- **N,N-dimetilhexadecilamina.** Pureza ≥ 95 %, (Sigma Aldrich).

1.2. Reactivos

A continuación, se muestran los reactivos que se han empleado.

- Nitrato sódico 99 % (Panreac).
- Sulfato de plata 99% (Panreac).
- Ácido acético glacial para LC-MS (Scharlau).
- Sulfato sódico anhidro 99 % (J.T. Baker).
- Dicromato potásico ≥ 99.8 % (Sigma-Aldrich).
- Ácido sulfúrico ≥ 95 % (Sigma-Aldrich).
- Bromuro potásico 98 - 100.5 % (Panreac)
- Urea 99 % (Sigma-Aldrich).
- Anhídrido ftálico 99 % (Sigma-Aldrich).
- Amoniaco, calidad PRS, 30 % (Panreac).
- Sulfato amónico 97 % (Gruppo Montedison Carlo Erba)
- Trietilamina 99.7 % (Scharlau).
- Ácido acético glacial, calidad LC-MS, (Sigma Aldrich).
- Formaldehído PA, 37 % (J.T. Baker). Para inactivar la acción bacteriana en la toma de muestra.

1.3. Disolventes

- **Agua Milli-Q**, obtenida en el equipo de ósmosis inversa Milli RO 12 Plus (MILLIPORE) acoplado con un equipo de purificación Milli Q Plus 185 (MILLIPORE). La conductividad fue controlada diariamente, no llegando a superar el valor de $18 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.
- **Agua** calidad LC-MS (Prolabo).
- **Acetona** calidad HPLC (Merck).

- **Acetato de etilo** calidad PRS (Panreac).
- **2-propanol** calidad HPLC (Baker).
- **Metanol** calidad LC-MS, 99.9 % (Scharlau).
- **Metanol** puro (Prolabo).
- **Acetonitrilo** calidad LC-MS 99.9 % (Scharlau).
- **Tetrahidrofurano** 98 % (Panreac).
- **Etanol** calidad LC-MS (Merck).
- **1,4-dioxano** + 99 % (Alfa Aesar).

1.4. Disoluciones

En esta sección se muestran las disoluciones empleadas a lo largo del trabajo experimental. Las disoluciones patrón se prepararon por pesada exacta de las cantidades de sustancia patrón correspondiente y posterior disolución en metanol. Las disoluciones se conservaron en frigorífico, en botes de cristal ámbar para evitar la acción de la luz y a una temperatura de 4 °C. Todos estos compuestos son altamente solubles y estables en metanol. Además, su miscibilidad con agua permite la preparación de disoluciones patrón de concentraciones inferiores en medio acuoso; por tanto, éste fue el disolvente seleccionado. Para comprobar la estabilidad de las disoluciones, se hizo un seguimiento periódico del valor de la señal analítica correspondiente y se comprobó que no existían diferencias superiores al 5 % en la señal obtenida para las distintas disoluciones, durante un periodo de al menos seis meses.

- **Disolución patrón de LAS** de 2000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución patrón de AES** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución patrón de Brij 56 (AEO C₁₆)** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución patrón de Brij 76 (AEO C₁₈)** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).

- **Disolución patrón conjunta de LAS, AES, Brij 56 (AEO C₁₆) y Brij 76 (AEO C₁₈)** de 500 mg·L⁻¹, 100 mg·L⁻¹, 100 mg·L⁻¹ y 100 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de LAS 2ØC₈** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de LAS 2ØC₁₆** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de N,N-dimetiltetradecilamina** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de N,N-dimetilhexadecilamina** de 1000 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de LAS 2ØC₈** de 100 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de LAS 2ØC₁₆** de 100 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de N,N-dimetiltetradecilamina** de 100 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de N,N-dimetilhexadecilamina** de 100 mg·L⁻¹ (metanol).
- **Disolución de LAS 2ØC₁₆ y N,N-dimetiltetradecilamina** preparada en metanol/agua (70:30) (v/v) y a una concentración de 2 mg·L⁻¹ de cada compuesto. Esta disolución se ha empleado como disolución de reconstitución a la hora de pinchar las muestras en el cromatógrafo.
- **Disolución de AEO C₁₆ EO₀₊₂₊₆₊₈** de 1000 mg·L⁻¹ (1,4-dioxano).
- **Disolución de AEO C₁₈ EO₀₊₃₊₆₊₈** de 1000 mg·L⁻¹ (1,4-dioxano).
- **Disolución de AEO C₁₆ EO₀₊₂₊₆₊₈** de 250 mg·L⁻¹ (1,4-dioxano).
- **Disolución de AEO C₁₈ EO₀₊₃₊₆₊₈** de 250 mg·L⁻¹ (1,4-dioxano).
- **Disolución de 5 mM de ácido acético y 5 mM de trietilamina** (agua).
Para la fase móvil, canal A.

1.5. Gases

- Helio calidad ALFA Gaz 99.999% de pureza (Air Liquide).
- Nitrógeno calidad ALFA Gaz 99.999% de pureza (Air Liquide).
- Aire comprimido.

2. MATERIAL DE LABORATORIO E INSTRUMENTACIÓN

En este apartado se mencionan los materiales de laboratorio y la instrumentación utilizada para la realización del trabajo experimental de la presente Memoria.

2.1. Material de laboratorio

Para el desarrollo de todo el trabajo experimental, se utilizó el siguiente material:

- **Matraces aforados** clase A, de diferentes capacidades.
- **Pipetas graduadas y aforadas** clase A de diferentes capacidades.
- **Micropipetas automáticas** de diferentes capacidades (0.5-10 μ L, 10-50 μ L, 10-100 μ L, 50-200 μ L y 200-1000 μ L).
- **Viales cromatográficos de vidrio** de 2.0 y 1.5 mL.
- **Tapones de rosca y de cápsula** para viales cromatográficos.
- **Encapsulador** para viales cromatográficos.
- **Descapsulador** para viales cromatográficos.
- **Viales eppendorf** de 1.5 y 2.0 mL.
- **Tubos de centrifuga** de distintas capacidades.
- **Botellas de vidrio ámbar** de distintas capacidades (50 a 1000 mL).
- **Frascos de plástico** (polipropileno), de diferente volumen.
- **Membranas de filtración 0,45 μ m de nylon Millipore**, empleadas para la filtración de disolventes cromatográficos.
- **Equipo de filtración Millipore** provisto de:
 - Portafiltros analíticos de soporte de vidrio sinterizado.
 - Matraz kitasato para vacío de 500 mL.
- **Jeringas** de 2 y 10 mL.

- **Agujas** de 0.8 x 40 mm.
- **Micro-reactores** de vidrio de 10 mL de capacidad con tapón de rosca.
- **Barras, pinzas, soportes metálicos.**
- **Goteros, vasos de precipitado, tubos de ensayo, pesasustancias, pipetas Pasteur**, así como otro tipo de material elemental de vidrio que podemos encontrar en cualquier laboratorio analítico.

La limpieza del material de vidrio empleado a lo largo del trabajo experimental se realizó con mezcla crómica y enjuagando posteriormente con abundante agua desionizada antes de su utilización.

2.2. Instrumentación

Los instrumentos empleados fueron:

2.2.1. Cromatógrafos de líquidos

A) Cromatógrafo de líquidos *Agilent Technologies*, modelo 1200 Series, equipado con:

- Desgasificador por membrana de vacío.
- Bomba binaria.
- Inyector automático de volumen variable (0.01-40 μ L).
- Compartimento de columna termostatzado.

B) Cromatógrafo de líquidos *Agilent Technologies*, modelo 1100 Series, equipado con:

- Desgasificador por membrana de vacío.
- Bomba cuaternaria.

- Inyector automático de volumen variable (0.01-100 μL).
- Compartimento de columna termostatzado.
- Detector de Diodos Array UV-Vis.
- Detector de fluorescencia:
 - Lámpara de descarga modulada de Xenón de 20 W en modo normal y de 5 W en modo económico.
 - Célula de flujo de 8 μL .
 - Monocromadores con intervalos de longitudes de onda de:
 - ✧ Excitación: 200 a 700 nm en orden cero.
 - ✧ Emisión: 280 a 900 nm en orden cero.
 - Rendijas:
 - ✧ Excitación: 20 nm.
 - ✧ Emisión: 20 nm.

2.2.2. Espectrómetro de masas

Espectrómetro de masas API 2000 (*Applied Biosystems*), provisto de:

- Bomba de jeringa integrada para realizar perfusiones individuales.
- Bomba turbomolecular.
- Interfases de Ionización a Presión Atmosférica (API):
 - Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI).
 - Ionización por Electrospray (ESI).
- Interfase de vacío.
- Analizador de masas triple cuadrupolo.

2.2.3. Sonda ultrasónica

Sonda ultrasónica digital Sonifier S450D (BRANSON) equipada con:

- Convertidor tipo 102.
- Resonador estándar de 12.7 mm de diámetro.
- Punta enroscable de 12.7 mm de diámetro.
- Sonda de temperatura.
- Micropunta enroscable de diámetro final de 3 mm.
- Frasco metálico de forma cilíndrico-cónica (acero inoxidable) usado para el baño de ultrasonido con altura de 13.5 cm, base inferior de 12.0 cm de diámetro interno, base superior de 15.0 cm de diámetro interno y con capacidad volumétrica para 1750 mL.
- Frascos metálicos de 125 mL con forma cilíndrica (acero inoxidable).

2.2.4. Otros aparatos e instrumentos

- Balanzas Analíticas *METTLER PJ360 Delta Range* y *METTLER AE 163*.
- pH-metro digital *CRISON*, modelo Micro-pH 2000, provisto de electrodo combinado de vidrio y cloruro de plata.
- Estufa de secado de 50 - 300 °C, *HEAREUS*.
- Sonda multi-paramétrica portátil *EUTECH INSTRUMENTS PCD 650*.
- Picnómetro de 50 cm³.
- Centrífuga *Orto Alresa* modelo Digicen 21.
- Centrífuga *Hettich* modelo Universal 32.
- Baño de ultrasonido *SELECTA* de 1000 mL de capacidad.
- Placa agitadora-calefactora *HEILDOPH*, modelo 2002.
- Bomba de vacío *SCHOTT IBERICA MZ 2C*, con capacidad de succión de 1.7 m³·h⁻¹.

- Bomba peristáltica *ISMATEC*, tipo ISM597A V2.10, con capacidad para 4 canales.
- Arcón congelador y frigorífico *COMERSA*.
- Termostato *B. BRAUN*, modelo Frigomix U plus Thermomix 1441.
- Colector de fracciones *AMERSHAM BIOSCIENCES*, modelo Frac-200, con capacidad para 95 tubos.
- Colector de fracciones *Foxy 200 ISCO* con capacidad para 288 tubos.
- Agitador giratorio *J.P. SELECTA* con capacidad para hasta 8 frascos.
- Agitador giratorio *SBS* modelo AN-2 con capacidad para 10 frascos.
- Agitador de tubos *IKA*, modelo Yellow line TTS 2.
- Bloque calefactor *SBH 200D/3* y Concentrador de muestra *SBHCONC/1*, Stuart®.
- Tamices metálicos de distintas mallas *MECÁNICA CIENTÍFICA*, con mallas nº 5; nº 14; nº 30 - *ASTM*.
- Barrena toma muestras de suelos, *EDELMAN*, con diámetro de 7 cm y longitud del bastón de 125 cm.
- Sonda *AquaCheck™ II probe* y su registrador de datos inalámbrico portátil *AquaCheck™ Hand-held RF Logger*, equipo utilizado para la medida de la temperatura y la humedad en los estudios en campo, pertenece a la casa comercial Aquacheck.

3. PROGRAMAS INFORMÁTICOS

- *CHEMSTATION HPLC/HPLC-MS* Agilent Technologies.
- *ANALYST* version 1.4.2, Applied Biosystems 2000.
- *ACD/ChemSketch*, freeware versión 11.01, Advanced Chemistry Development, Inc. 2007. Software con el que se han dibujado las estructuras químicas.
- *Microsoft Office Word 2003* Microsoft Corporation 2003.
- *CropGraph* versión 3.5.5, software de visualización de los datos registrados por la sonda AquaCheck™ II probe.
- **Los programas de cálculo** utilizados han sido:
 - *Statgraphics Centurion XVI* versión 16.0.07, StatPoint Technologies, Inc. 2009.
 - *Microsoft Office Excel 2003* Microsoft Corporation 2003.
 - *Microcal Origin 5.0* Microcal Software, Inc. 1997.
 - *Matlab 7.12.0.635* Math Works, Inc. R2011a.

4. METODOLOGÍA DE TRATAMIENTO DE LOS DATOS ANALÍTICOS

4.1. Optimización de Variables

A la hora de optimizar las variables se ha hecho uso tanto de la metodología univariante y como de la multivariante.

4.1.1. Métodos univariantes

Consiste en modificar sólo una variable en cada experimento. Una vez terminada la optimización para esa variable, se procede a repetir el procedimiento con la siguiente.

4.1.2. Métodos multivariantes

El empleo de la metodología multivariante se ha extendido bastante en las últimas décadas, por diferentes motivos:

- Proporciona una mayor información del dominio experimental.
- Reduce el número de experiencias.
- Contempla la posible interacción entre variables.

La reducción del número de experiencias para la optimización de variables conlleva a la vez un menor coste, menor tiempo de análisis, mayor durabilidad de los instrumentos, etc. Además, el uso de métodos multivariantes de optimización permite un conocimiento más profundo

sobre el sistema analítico objeto de estudio, detectando dependencia de variables y variables significativas. La optimización de variables, implica la realización de uno o varios diseños experimentales (DoE).

A. DISEÑOS EXPERIMENTALES

El objetivo de los diseños es obtener la mayor información posible del dominio experimental usando el menor número de experiencias posible. Los diseños se basan en los principios de aleatorización, replicación y homogeneidad de las unidades experimentales.

En cada experiencia (punto experimental) se tiene cada variable (factor) en un valor determinado (nivel) y se genera un valor de señal (respuesta). La disposición de los factores en sus correspondientes niveles a lo largo de las experiencias genera el diseño experimental. Una vez realizado el diseño y obtenidos los datos correspondientes, se aplica el modelo matemático. Los modelos matemáticos usados son funciones polinómicas de distintos órdenes. El soporte matemático empleado consiste en el establecimiento de un análisis de la varianza (ANOVA), que en resumen, descompone la variabilidad total de los datos obtenidos en fuentes de variabilidad asociadas en este caso a los distintos factores e interacciones. En función del objetivo buscado, se utilizará un modelo de coeficientes para optimizar o un modelo de efectos para ver la influencia de los distintos factores.

La realización de cada diseño en concreto responde a un fin determinado, que genera los tres tipos de diseños existentes:

- A.1. Diseños de diagnóstico o cribado (*Screening Design*).
- A.2. Diseños de superficie de respuesta (*Response Surface Design, RSD*).
- A.3. Diseños mezcla (*Mixture Design*).

A.1. Diseños de diagnóstico o cribado

Se emplean para seleccionar los factores más influyentes en un sistema analítico cuando se tiene un número elevado de éstos. Como su nombre indica, diagnostican los factores a tener en cuenta para realizar una optimización. A veces, ocurre que hay un gran número de factores a considerar, que generaría un elevado número de experiencias, cuando además puede ocurrir que varios de esos factores no afecten de forma significativa. Pues bien, en este caso se puede aplicar un diseño de diagnóstico para quedar sólo con aquellos factores que ejerzan una influencia significativa en el sistema analítico.

Los diseños de diagnóstico más empleados son los factoriales completos n^2 . Este tipo de diseños factoriales se expresan mediante una potencia de exponente 2, donde la base (n) indica el número de factores a considerar, el exponente da el número de niveles y, donde el desarrollo de la potencia, da el número de experiencias a realizar. La tabla de experiencias resultante para este tipo de diseños consiste en ir modificando paulatinamente los niveles para cada factor. Ahora, sólo queda obtener las señales correspondientes a cada experiencia.

Una vez realizado el diseño, se procede a su análisis. Lo que se busca, es ver por una parte, la posible dependencia de factores, y por otra, qué factores del total deben ser considerados para un posterior proceso de optimización. Mediante la realización de un ANOVA, se puede observar si hay dependencia entre los factores considerados. Para ello, se debe calcular los efectos producidos por los distintos factores, y hacer una representación gráfica de estos efectos. Por ejemplo, se puede representar los efectos frente a los factores, obteniendo líneas que representan la variación de la señal producida al modificar un factor para cada uno de los niveles del otro, de manera que si son paralelas se puede decir que no

existe interacción. También se puede obtener una única línea que representa la variación del factor considerado, concluyendo que hay efecto si la línea no es horizontal. Además, observando los valores de P en la tabla ANOVA para las interacciones también se puede verificar si se debe tener en cuenta. Por otra parte, aquellos factores que generen un valor $P < 5\%$ (Nivel de confianza del 95 %) para el estadístico de la *F de Snedecor* no serán relevantes en el sistema analítico, y se podrán desechar a la hora de optimizar.

A.2. Diseños de superficie de respuesta (RSD)

Este tipo de diseños (RSD) se emplean para seleccionar valores óptimos de factores en un sistema analítico concreto. Son diseños más grandes que los de diagnóstico, y que por tanto dan una mayor información del dominio experimental a estudiar. Está claro, que sólo con dos niveles para cada factor no se obtiene la información suficiente para establecer un valor óptimo determinado. Por ello, se emplean estos diseños de superficie de respuesta. Son bastante empleados cuando se analizan y modelan problemas en los cuales la respuesta de interés está influenciada por varias variables, siendo el objetivo final el desarrollo, la mejora y optimización de productos y procesos (López⁹⁷ y col., 2002; Pérez⁹⁸, 2001; Montgomery⁹⁹, 2002; Box¹⁰⁰ y col., 1978). También se utiliza ampliamente la metodología de superficies de respuesta como una técnica de optimización basada en la utilización de diseños factoriales, introducida por G.E.P. Box en la década de 1950, y viene siendo aplicada con gran éxito

⁹⁷ E.A. López, J.M.B. Sendra, L.C. Rodríguez, L.G. García, A.M.G. Campaña, A.M. Casado. *Quimiometría: Optimización de un método de análisis químico (9ª edición)*. Curso ofrecido por el Centro de Formación Continua de la Universidad de Granada, 2002.

⁹⁸ C. Pérez. *Estadística práctica con Statgraphics*. Ed. Prentice Hall, p. 691, Madrid, España, 2001.

⁹⁹ D.C. Montgomery. *Diseño y análisis de experimentos*. Ed. Limusa Wiley, p. 686, México, México, 2002.

¹⁰⁰ G.E.P. Box, W.G. Hunter, J.S. Hunter. *Statistics for experiments. An introduction to design, data analysis, and model building*. John Wiley & Sons, p-652, New York, USA, 1978.

al modelado de diversos procesos¹⁰¹⁻¹⁰⁷. Los diseños más empleados son los factoriales completos con réplicas del punto central, los cúbicos centrados en las caras, en estrella, Doehlert, etc. La elección de un tipo de diseño u otro dependerá mucho del sistema analítico concreto y del conocimiento previo que se tenga sobre el sistema y los diseños existentes. La metodología a seguir sería la siguiente:

- 1) Estimar los coeficientes del modelo.
- 2) Comprobar el modelo.
 - Ajustar el modelo teórico a los datos experimentales.
 - Estimar el error.
- 3) Estudiar la superficie de respuesta estimada.
- 4) Obtener los valores óptimos.

A.3. Diseños mezcla

La forma de trabajar en los diseños mezcla es distinta a los tipos anteriores, debido a una serie de restricciones que poseen estos diseños. La primera es que el intervalo de variación de los factores (que ahora siempre será composiciones en tanto por uno) es de 0 a 1, y la segunda que

¹⁰¹ S.C. Murphy, D. Gilroy, J.F. Kerry, D.S. Buckley, J.P. Kerry. *Evaluation of surimi, fat and water content in a low/no added pork sausage formulation using response surface methodology*. Meat Sci. 66; 689-701, 2004.

¹⁰² E.L. Soo, A.B. Salleh, M. Basri, R.N.Z.A. Ralman, K. Kamaruddin. *Response surface methodological study on lipase-catalysed synthesis of amino acid surfactants*. Process Biochem. 39; 1511-1518, 2004.

¹⁰³ M. Elibor, D. Ozer. *Response surface analysis of lipase production by freely suspended *Rhizopus arrhizus**. Process Biochem. 38; 367-372, 2002.

¹⁰⁴ K.R. Kiran, B. Manohar, S. Divakar. *A central composite rotatable design analysis of lipase catalysed synthesis of lauryl lactic acid at bench-scale level*. Enzyme Microb. Technol. 29; 122-128, 2001.

¹⁰⁵ A. Lindgren, M. Sjöström, S. Wold. *PLS modeling of detergency performance for some technical nonionic surfactants*. Chemom. Intel. Lab. Syst. 32; 11-124, 1996.

¹⁰⁶ G.K.K. Poon. *Sequential experimental study and optimisation of an acid copper pattern plating process*. Circ. World 22; 7-13, 1995.

¹⁰⁷ T.A. Zaid, L. Bensari, K. Benmaza, C.E. Chitour, J.P. Canselier. *Response surface methodology as an approach to optimization of a dishwashing detergent*. Comunicación presentada en las 33 Jornadas del Comité Español de Detergencia, Valencia, España, 2003.

la suma de todas las composiciones debe dar uno. Es decir, que hay relaciones de ligadura entre esas composiciones. Esto hace que los valores que pueden tomar los factores sean menores que en los otros tipos de diseños. De nuevo, los modelos matemáticos son funciones poli nómicas de grado 1, 2 o 3. Pero, debido a las restricciones anteriormente comentadas, las funciones poli nómicas no poseen los términos puros. Así que, para obtener el máximo, en vez de aplicar el criterio de *Lagrange*, se emplea la regla de la palanca sobre un mapa de contorno de la superficie.

B. DETECCIÓN DE VALORES ANÓMALOS EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL

Antes de emplear cualquier dato experimental, la idoneidad de éste debe ser verificada, puesto que puede haber algún valor anómalo. Se debe indicar que la detección de valores anómalos es diferente a como se hace por ejemplo en la comparación de dos medias. Aquí, no hay valores repetitivos con los factores en los mismos niveles (excepto para el punto central), por lo que no se puede rechazar un valor anómalo sin más, sino que se tiene que repetir esa experiencia. Es necesario señalar que ante un dato claramente erróneo o aberrante, producto de un error craso o salvaje, no es necesario ninguna prueba estadística para eliminarlo¹⁰⁸. Para detectar anómalos, hay varias posibilidades:

B.1. Representación de Daniel

Consiste en representar gráficamente la probabilidad normal de los efectos, de manera que si hay valores anómalos, aparecerán dos ramas que no pasan por el centro, obteniendo una discontinuidad. La ausencia de anómalos viene determinada por la obtención de una recta sin ramas.

¹⁰⁸ R. Serrano Gallego. *Introducción al análisis de datos experimentales: tratamiento de datos en bioensayos*. Ed. Publicaciones de la Universidad Jaume I, 2003.

B.2. Análisis de residuos:

- **Inspección visual:** La presencia de un posible valor anómalo viene determinada por la aparición de un residuo más grande que el resto. Al representar los residuales de cada una de las experiencias frente por ejemplo al orden de experiencia, se pueden observar puntos que se aleja de la distribución normal. en cualquier caso, para poder desecharlos, lo mejor es utilizar un test estadístico.
- **Test estadísticos de rechazo de valores anómalos.** La *Q de Dixon*, la *R de Grubbs* o el *criterio T*. En estos test los valores anómalos son por definición el valor superior y el inferior del total de valores.

La Q de Dixon consiste en obtener un valor calculado del estadístico *Q* mediante la **ecuación 2.1**^{108,109}:

$$Q_{cal} = \frac{|X_{sospchoso} - X_{más\ cercano}|}{X_{mayor} - X_{menor}} \quad (2.1)$$

Donde Q_{cal} es la *Q* calculada, $S_{sospchoso}$ es el valor sospechoso, $M_{ás\ cercano}$ es el valor más cercano al sospechoso, M_{ayor} es el mayor valor (incluido el sospechoso) y M_{enor} es el menor de los valores (incluido el sospechoso). A continuación se compara el valor Q_{cal} con una *Q* tabulada, Q_{tab} , para un nivel de significación (α) y para n grados de libertad, siendo n el número total de valores. Las hipótesis consideradas en este test son:

$Q_{cal} < Q_{tab} \Rightarrow$ Hipótesis nula (H_0) se incluye el valor sospechoso.

$Q_{cal} \geq Q_{tab} \Rightarrow$ Hipótesis alternativa (H_1) se rechaza el valor sospechoso.

¹⁰⁹ R.B. Dean, W.J. Dixon. *Simplified statistics for small numbers of observations*. Anal. Chem. 23; 636-638, 1951.

En caso de concluir por H_0 se puede decir con un nivel de confianza determinado que el valor sospechoso pertenece a la misma población que el resto y tiene que ser considerado junto con los demás para realizar los cálculos estadísticos sucesivos. En el caso de concluir por H_1 el valor sospechoso no pertenece a la misma población de datos, con un nivel de confianza determinado, siendo un dato anómalo que debe ser rechazado para realizar los cálculos estadísticos sucesivos. Al rechazar un valor se vuelve a aplicar el criterio para el grupo de valores restantes.

La *R* de Grubbs es una prueba más adecuada para cuando tenemos un número de valores mayor de 10 ($n > 10$). Consiste en obtener un valor calculado del estadístico *R* a partir de los datos que queremos analizar mediante la **ecuación 2.2**¹⁰⁸:

$$R_{cal} = \frac{|X_{sosp} - \bar{X}|}{s} \quad (2.2)$$

donde R_{cal} es la *R* calculada, X_{sosp} es el valor sospechoso, \bar{X} es la media de los valores (excluyendo el sospechoso) y s es la desviación estándar de los valores (excluyendo el sospechoso). A continuación se compara el valor R_{cal} con una *R* tabulada, R_{tab} , para un nivel de significación determinado y para n grados de libertad, siendo n el número total de valores. De forma análoga a la anterior, las hipótesis consideradas en este test son:

$R_{cal} < R_{tab} \Rightarrow$ Hipótesis nula (H_0) se incluye el valor sospechoso.

$R_{cal} \geq R_{tab} \Rightarrow$ Hipótesis alternativa (H_1) se rechaza el valor sospechoso.

El criterio *t-student* es una prueba similar a la *R* de Grubbs. Consiste en obtener un valor calculado del estadístico *t* a partir de los datos que queremos analizar mediante la **ecuación 2.3**:

$$t_{cal} = \frac{|X_{sospedioso} - \bar{X}|}{s} \quad (2.3)$$

donde t_{cal} es la t calculada, $X_{sospedioso}$ es el valor sospechoso, \bar{X} es la media de los valores (incluyendo el sospechoso) y s es la desviación estándar de los valores (incluyendo el sospechoso). A continuación, se compara el valor T_{cal} con una T tabulada, T_{tab} , para un nivel de significación (α) determinado y para n grados de libertad, siendo n el número total de valores. De forma análoga a las anteriores, las hipótesis consideradas en este test son:

$T_{cal} < T_{tab} \Rightarrow$ Hipótesis nula (H_0) se incluye el valor sospechoso.

$T_{cal} \geq T_{tab} \Rightarrow$ Hipótesis alternativa (H_1) se rechaza el valor sospechoso.

B.3. Reconstrucción del diseño

Existe otra posibilidad a la hora de la detección de valores anómalos, consistente en efectuar una reconstrucción del diseño, para obtener réplicas para cada experiencia (generalmente tres).

C. IDONEIDAD DEL MODELO

Se puede verificar la idoneidad del modelo comprobando si los datos se ajustan al modelo matemático elegido y en qué grado lo hacen. Esto se puede comprobar por medio de:

- El valor P del *Test de fallo de ajuste*: Considerando un error " $\alpha = 0.5$ ", un valor de P mayor del 5 %, da un modelo idóneo para los datos.
- El coeficiente de determinación ajustado a los grados de libertad R^2 (variable explicada) y el coeficiente Q^2 (variable predicha). Ambos

coeficientes deben estar cerca de la unidad y no deben estar separados por más de 0.2 o 0.3 unidades¹¹⁰. En la **tabla 2.6**, se representa los valores aceptables para cada uno de estos coeficientes en función de la naturaleza de los datos experimentales¹¹¹.

Tabla 2.6. Guía general para evaluar los coeficientes R^2 y Q^2

Naturaleza de los datos	R^2	Q^2
Química	Aceptable: ≥ 0.80	Aceptable: ≥ 0.50 Excelente: > 0.80
Biológica	Aceptable: > 0.70	Aceptable: > 0.40

Para cada factor y cada interacción se puede calcular un test estadístico de la *F de Snedecor* basado en la distribución *F de Fischer*, calculado como cociente de la varianza de cada factor o interacción dividido por la varianza del error. Por comparación con la distribución estadística asociada a los grados de libertad correspondientes, se puede indicar si la variabilidad introducida por cada factor es significativa. Es decir, se puede verificar qué factores hay que tener en cuenta ya que alteran en mayor medida la señal e incluso, qué factor o factores no se debe considerar porque aportan una fuente de variabilidad al sistema pequeña.

¹¹⁰ L. Eriksson, E. Johansson, C. Wikström. *Mixture design-design generation, PLS analysis, and model usage*. Chemom. Intel. Lab. Syst. 43; 1-24, 1998.

¹¹¹ T. Lundstedt, E. Seifert, L. Abramo, B. Thelin, A. Nyström, J. Pettersen, R. Bergaman. *Experimental design and optimization*. Chemom. Intel. Lab. Syst. 42; 3-40, 1998.

4.2. Calibración del método analítico

Los métodos instrumentales de análisis son métodos comparativos o relativos. Por tanto, para obtener la concentración de analito presente en una muestra, es necesario realizar la comparación de la medida física con la de un conjunto de patrones de composición conocida a través de lo que llamamos *proceso de calibración química*. Es por ello que la calibración, como etapa integrante del proceso analítico, es de gran importancia y sólo se puede obtener una buena exactitud en los resultados si se aplican buenos métodos de calibración. El proceso de calibración consta de dos etapas:

⇒ **Etapa de calibración.** En ella se establece el modelo que relaciona la variable dependiente (señal analítica) con la variable independiente (concentración).

$$\text{Señal analítica} = f(\text{concentración}) \quad (2.4)$$

⇒ **Etapa de predicción.** Consiste en obtener las variables independientes, es decir, las concentraciones, de una o más muestras problema a partir del valor obtenido para la variable dependiente. El valor de la variable independiente correspondiente a muestras patrón junto con las sensibilidades, permiten predecir los valores de estas variables en las muestras problema.

Dentro del campo de la Química Analítica los modelos de calibración más utilizados son de regresión lineal univariante. Estos modelos se caracterizan por la existencia de una variable independiente (concentración) que se relaciona con la respuesta (señal instrumental)

mediante una relación lineal. La relación funcional que se establece entre ambas variables, se ajusta a un modelo matemático:

$$Y = a + b \cdot X \quad (2.5)$$

donde Y es la variable dependiente, X la independiente, y a y b dos parámetros estimados a partir de los datos experimentales.

De todos los modelos de regresión, el que ajusta los valores experimentales por medio del algoritmo gaussiano de hacer mínimo el cuadrado de los residuales, es el más frecuentemente usado para el establecimiento de la ecuación de la recta de calibrado. La aplicación de este algoritmo implica el cumplimiento de determinadas condiciones que puedan garantizar la validez del modelo de regresión univariante, siendo estas condiciones las siguientes:

- 1) La existencia de la aleatoriedad de las muestras.
- 2) La relación entre la variable independiente y la variable dependiente, concentración y señal analítica, respectivamente, será lineal en todo el rango de aplicabilidad (linealidad).
- 3) Los errores se tienen que producir únicamente en la medida de la señal instrumental. Esto significa que la variable concentración no debe ser aleatoria, es decir que esté medida sin error o su error aleatorio sea despreciable frente a la respuesta. En la práctica este error se minimiza con el empleo de sustancias patrón.
- 4) Los errores en la respuesta deben presentar una distribución normal (normalidad), es decir, deben ser independientes entre sí, estar distribuidos por igual y su media sea cero, lo que implica que, para

cada concentración de analito, la dispersión de las medidas de la señal analítica debe ser la misma e independiente de dicha concentración. De esta forma, se establece una única desviación estándar, $S_{y/x}$ como representativa de la dispersión de la señal analítica para todo el rango dinámico lineal de concentración de analito, condición esta a la que se denomina homogeneidad de varianza o homocedasticidad. En la **figura 2.1** se muestra un modelo de regresión lineal univariante.

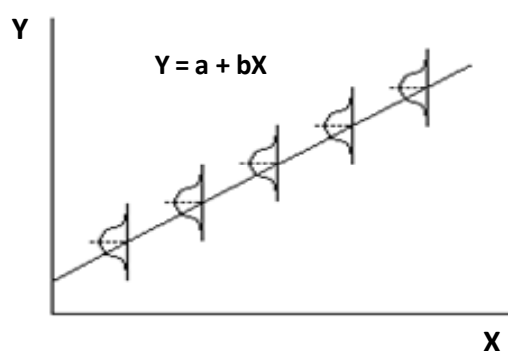


Figura 2.1. Modelo de regresión lineal

4.2.1. Establecimiento del modelo de calibración

El modelo de calibración seleccionado en el presente trabajo fue el de regresión lineal univariante por mínimos cuadrados. Las curvas de calibración se construyen empleando como señal analítica el cociente entre el área de pico del analito y el área de pico del patrón interno correspondiente, y representando dicha señal frente a la concentración del analito que se pretende analizar. Si se supone el cumplimiento de la condición de homocedasticidad, el método de mínimos cuadrados proporciona las estimaciones de los parámetros a y b más precisas entre las veraces. Los intervalos de confianza de la pendiente (b) y la ordenada en el origen (a) se calculan a partir de las siguientes ecuaciones:

Ordenada en el origen	$a \pm t_{\alpha, n-2} \cdot S_a$
Pendiente	$b \pm t_{\alpha, n-2} \cdot S_b$

donde $t_{\alpha, n-2}$ es el valor del estadístico *t-Student* para un nivel de significación α determinado y $n-2$ grados de libertad, y S_b y S_a son las desviaciones estándar correspondientes a la pendiente y ordenada en el origen, respectivamente. A lo largo de esta tesis, se utiliza un nivel de significación del 5 %.

4.2.2. Verificación del modelo de calibración

La verificación de las hipótesis del modelo en un problema particular es clave para establecer la validez de dicho modelo y, para lograrla, hay que asumir, evidentemente, la aleatoriedad de las muestras, parámetro controlado por una planificación correcta de la experiencia de calibrado, como también, la normalidad de los datos.

Para comprobar la tendencia lineal de los datos, en esta tesis se ha optado por la evaluación tanto del coeficiente de determinación R^2 como del valor P del test de *fallo de ajuste* de los datos homocedásticos al modelo. Si R^2 es próximo a 1 y/o el valor P_{lof} es mayor o igual al 5% se concluirá por la existencia de linealidad.

También se debe estudiar homogeneidad de varianzas, es decir, la condición de homocedasticidad. Para comprobar esta hipótesis, se ha empleado el *análisis gráfico de los residuos*, según propone Boqué & Rius¹¹², definiendo como residuo la distancia vertical desde cada punto experimental al valor que le correspondería mediante la recta de regresión

¹¹² R. Boqué, F.X. Rius. *Avances en Quimiometría Práctica*. Servicio de Publicaciones e Intercambio científico de la Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, España, 1994.

estimada por mínimos cuadrados. Se realizan representaciones gráficas de los residuos frente a las respuestas calculadas por el modelo o frente a la variable independiente (concentración). En esta Memoria se ha hecho uso de esta segunda opción, es decir, la representación gráfica de los residuos frente a los valores de concentración. De la observación de estas gráficas, puede evaluarse el cumplimiento de la condición de homocedasticidad de los datos y detectarse la presencia de valores anómalos, para ello se debe cumplir que sea igual el número de residuos positivos y negativos encontrado, que haya aleatoriedad en la distribución y se obtengan valores similares entre los residuales. La **figura 2.2** representa una distribución ideal del tipo de los residuales (que son la diferencia entre los valores predichos y los experimentales) frente a la concentración.

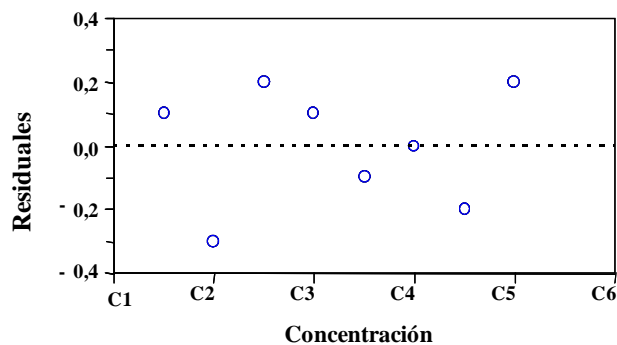


Figura 2.2. Distribución de los residuales frente a la concentración (condición de homocedasticidad)

4.2.3. Rechazo de valores anómalos

Si el gráfico de residuos nos da idea (inspección visual) de que hay varianza no uniforme (heterocedasticidad) a lo largo de la función de calibrado, lo que se suele hacer es llevar a cabo un número de réplicas alto para ver si el fenómeno de heterocedasticidad está ocurriendo en un punto en concreto o a lo largo de todo el rango de concentraciones.

Para comprobarlo de forma rigurosa habría que llevar a cabo la aplicación de algún test estadístico de forma análoga a la comentada anteriormente. Se aplica algún test estadístico para ver la existencia de valores anómalos, como la *Q de Dixon*, la *R de Grubbs* o el *criterio T* al residuo más grande. Viendo si el residuo pertenece a la distribución normal formada por el resto de datos, se puede concluir si hay o no anómalo.

4.2.4. Evaluación del efecto matriz y estimación de la recuperación

El *efecto matriz* consiste en una disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes. El efecto matriz provoca un error sistemático proporcional, dependiente de la concentración de analito en la muestra.

La mejor alternativa para eliminarlo es utilizar la técnica de las *adiciones estándar*¹¹³, que consiste en la adición de cantidades conocidas y crecientes del analito a la propia muestra problema. A continuación, se realiza la lectura de las correspondientes respuestas instrumentales y la construcción de la recta de adiciones estándar. La posterior cuantificación del analito se realiza por extrapolación de la recta de calibrado al punto del eje de abscisas donde la respuesta es cero. El mayor inconveniente de esta técnica es que necesitamos construir una recta de adiciones estándar para cada muestra que queramos analizar, lo cual supone un incremento sustancial en el volumen de trabajo del laboratorio.

Una posibilidad para evitar el efecto matriz sin necesidad de realizar tanto trabajo sería construir siempre la recta de calibrado tomando una muestra parecida a la muestra problema pero libre del analito a determinar (un blanco de muestra), y añadirle cantidades conocidas del

¹¹³ N.M. Miller, J.C. Miller. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 4ª ed. Prentice Hall, Madrid, 2000.

analito para formar soluciones patrón. Hay que tener en cuenta que esta última posibilidad resulta, en numerosos casos, impracticable, pues el efecto matriz puede variar de una muestra a otra y además, puede que no podamos disponer de una muestra sin el analito en cuestión. La evaluación de la existencia o no de efecto matriz junto con la estimación de la recuperación en el proceso de extracción implica la realización de tres experiencias de calibrado:

- Un calibrado externo (en disolvente).
- Un calibrado en matriz (Matrix Matched Calibration).
- Un calibrado en extracto de matriz.

Se realiza un ajuste por mínimos cuadrados de los tres calibrados. De todos los parámetros estadísticos derivados de este ajuste se selecciona n (número de parejas de datos), a (ordenada en el origen), b (pendiente) y $S_{y/x}$ (desviación estándar del ajuste).

A. Evaluación de los datos (efecto matriz).

Para realizar la evaluación del efecto matriz, se comparan estadísticamente las diferentes funciones de calibrado obtenidas. Para ello, se realiza un test de evaluación de la igualdad de pendientes y ordenadas en el origen. El estadístico a calcular en cada caso dependerá de la existencia o no de diferencia significativa entre la varianza estimada de los residuos de ambas rectas.

En primer lugar, se comparan mediante un test de *F de Snedecor* las varianzas ambos calibrados. Las hipótesis consideradas en este test son:

Varianzas iguales: $S_{y/x}^2(1) = S_{y/x}^2(2)$ $F_{cal} < F_{tab} \Rightarrow$ hipótesis nula (H_0)

Varianzas distintas: $S_{y/x}^2(1) \neq S_{y/x}^2(2)$ $F_{cal} \geq F_{tab} \Rightarrow$ hipótesis alternativa (H_1)

Este test compara un valor del estadístico $F_{calculado}$ con un valor tabulado para $(n_1 - 2)$ y $(n_2 - 2)$ grados de libertad, con un nivel de significación (α) del 5%, siendo n_1 y n_2 el número de puntos experimentales de cada una de las dos funciones de calibrado.

$$F_{cal} = \frac{S_{y/x}^2(1)}{S_{y/x}^2(2)}; (s_1 > s_2) \quad (2.6)$$

donde $S_{y/x}^2(1)$ y $S_{y/x}^2(2)$ representan las varianzas de los residuos (varianza de los ajustes) para ambas rectas de calibrado.

VARIANZAS IGUALES. En el caso de concluir por la hipótesis nula (no existe diferencia significativa entre las varianzas) se calcula la desviación estándar ponderada de la regresión (S_p) a partir de las correspondientes desviaciones estándar de los dos calibrados según la **ecuación 2.7**.

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 2)S_{y/x}^2(1) + (n_2 - 2)S_{y/x}^2(2)}{n_1 + n_2 - 4}} \quad (2.7)$$

donde n_1 y n_2 son el número de datos experimentales de cada uno de los dos calibrados.

A continuación, se realiza el test de comparación de pendientes para comprobar si la presencia de matriz provoca un error sistemático constante, o sea que la recta en extracto de matriz está desplazada paralelamente respecto a la recta del calibrado externo. Para lo cual se

realiza el test de la *t-Student*. Se calcula el estadístico *t* calculado (t_{cal}) según la **ecuación 2.8**.

$$t_{cal} = \frac{|b_1 - b_2|}{S_p \sqrt{\frac{1}{\sum (c_{i,1} - \bar{c}_1)^2} + \frac{1}{\sum (c_{i,2} - \bar{c}_2)^2}}} \quad (2.8)$$

donde c_1 y c_2 son los distintos valores de concentración para cada calibrado. El valor de t_{cal} se compara con el estadístico *t* tabulado (t_{tab}) para $(n_1 + n_2 - 4)$ grados de libertad y un nivel de significación del 5 %. Las hipótesis a tener en cuenta son las siguientes:

Pendientes iguales $b_1 = b_2$ $t_{cal} < t_{tab} \Rightarrow$ hipótesis nula (H_0)

Pendientes distintas $b_1 \neq b_2$ $t_{cal} \geq t_{tab} \Rightarrow$ hipótesis alternativa (H_1)

A continuación, se realiza el test de comparación de las ordenadas en el origen de ambos calibrados. Para lo cual se realiza el test de la *t-Student*. Se calcula el estadístico t_{cal} según la **ecuación 2.9**.

$$t_{cal} = \frac{|a_1 - a_2|}{\sqrt{S_p^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) + \frac{(\bar{c}_1 - \bar{c}_2)^2}{\sum (c_{i,1} - \bar{c}_1)^2 + \sum (c_{i,2} - \bar{c}_2)^2}}} \quad (2.9)$$

El valor de t_{cal} se compara con un t_{tab} para $(n_1 + n_2 - 3)$ grados de libertad y un nivel de significación del 5 %. Las hipótesis a tener en cuenta son las siguientes:

Ordenadas iguales $a_1 = a_2$ $t_{cal} < t_{tab} \Rightarrow$ hipótesis nula (H_0)

Ordenadas distintas $a_1 \neq a_2$ $t_{cal} \geq t_{tab} \Rightarrow$ hipótesis alternativa (H_1)

VARIANZAS DIFERENTES. En el caso de concluir por la hipótesis alternativa (sí existe diferencia significativa entre las varianzas de ambos calibrados) no se calcula S_p sino que se trabaja con cada una de las varianzas. El test de comparación de pendientes se realiza por medio del cálculo del estadístico t_{cal} según la **ecuación 2.10**.

$$t_{cal} = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{\frac{S_{y/x}^2(1)}{\sum (c_{i,1} - \bar{c}_1)^2} + \frac{S_{y/x}^2(2)}{\sum (c_{i,2} - \bar{c}_2)^2}}} \quad (2.10)$$

El valor de t_{cal} se compara con el t_{tab} para un nivel de significación del 5 % y f grados de libertad calculados según la **ecuación 2.11**.

$$f = \frac{\frac{S_{y/x}^2(1)}{\sum (c_{i,1} - \bar{c}_1)^2} + \frac{S_{y/x}^2(2)}{\sum (c_{i,2} - \bar{c}_2)^2}}{\frac{S_{y/x}^2(1)}{\sum (c_{i,1} - \bar{c}_1)^2} + \frac{S_{y/x}^2(2)}{\sum (c_{i,2} - \bar{c}_2)^2}} \quad (2.11)$$

$$\frac{n_1 - 2}{n_1 - 2} + \frac{n_2 - 2}{n_2 - 2}$$

Las hipótesis a tener en cuenta son las siguientes:

Pendientes iguales $b_1 = b_2$ $t_{cal} < t_{tab} \Rightarrow$ hipótesis nula (H_0)

Pendientes distintas $b_1 \neq b_2$ $t_{cal} \geq t_{tab} \Rightarrow$ hipótesis alternativa (H_1)

A continuación, se realiza el test de comparación de las ordenadas en el origen de ambos calibrados. Para ello, en este caso se realiza el test de la z . Se calcula el estadístico z_{cal} según la **ecuación 2.12**.

$$z_{cal} = \frac{|a_1 - a_2|}{\sqrt{\frac{S_{y/x}^2(1)}{n_1} + \frac{S_{y/x}^2(2)}{n_2} + \frac{(\bar{c}_1 - \bar{c}_2)^2}{\frac{\sum (c_{i,1} - \bar{c}_1)^2}{S_{y/x}^2(1)} + \frac{\sum (c_{i,2} - \bar{c}_2)^2}{S_{y/x}^2(2)}}}} \quad (2.12)$$

El valor de z_{cal} se compara con el estadístico z_{tab} para un nivel de significación del 5 %. Las hipótesis a tener en cuenta son las siguientes:

Ordenadas iguales $a_1 = a_2$ $z_{cal} < z_{tab} \Rightarrow$ hipótesis nula (H_0)

Ordenadas distintas $a_1 \neq a_2$ $z_{cal} \geq z_{tab} \Rightarrow$ hipótesis alternativa (H_1)

Para que no exista efecto matriz las dos funciones de calibrado deben tener pendientes iguales y ordenadas iguales.

B. Estimación de la recuperación

Por otra parte, mediante el cociente entre la pendiente de la función de calibración en matriz y la pendiente de la función de calibración en extracto de matriz, se estima la recuperación del proceso de extracción.

4.3. Parámetros de validación del método analítico

Los parámetros de calidad establecidos para la validación a lo largo de la presente Tesis Doctoral fueron la linealidad, los límites de detección y cuantificación, el rango dinámico lineal, la sensibilidad o resolución analítica, la selectividad y la exactitud en términos de precisión y veracidad.

4.3.1. Linealidad

Indica el grado de ajuste de los valores de la señal medidos sobre la recta de calibrado¹¹⁴. Se pueden distinguir dos tipos de linealidad:

- La linealidad “en línea” (*in-line*) se corresponde con el valor P_{lof} .

¹¹⁴ Analytical Methods Committee. *Is My Calibration Linear?*. Analyst 119; 2363-2366, 1994.

- La linealidad “sobre la línea”(on-line), que se define como el propio coeficiente de correlación (r), o como el coeficiente de determinación (R^2), sin embargo valores de (r) muy próximos a la unidad no indican necesariamente una alta calidad de los datos analíticos. También se puede emplear la desviación estándar relativa de la pendiente, $DER_{(b)}$, que se calcula haciendo el cociente del valor de la desviación estándar de la pendiente (S_b) entre la pendiente (b), como medida matemática de la linealidad. De esa forma la linealidad viene dada por la **ecuación 2.13**.

$$\text{LIN (\%)} = [1 - \text{DER}_{(b)}] \cdot 100 \quad \text{(2.13)}$$

El valor máximo de linealidad será del 100 %, de forma que cuanto más próximo esté el valor calculado para este parámetro a dicho valor, mayor será el ajuste de los datos experimentales al modelo lineal.

4.3.2. Límites de detección y cuantificación

Se puede definir el límite de detección (X_{LD}) de un método analítico como la menor concentración o cantidad del compuesto que puede ser detectada con un nivel de confianza determinado. Son varias las metodologías empleadas para la determinación de los límites de detección y cuantificación del método analítico. A continuación, se describen algunas de estas metodologías.

A. Metodología basada en el tratamiento de la señal del blanco¹¹⁵.

Según esta metodología, también llamada *análisis de réplicas del blanco*, al X_{LD} , le corresponde una señal analítica, Y_{LD} , que viene definida por la **ecuación 2.14**.

$$Y_{LD} = Y_B + k \cdot S_B \quad (2.14)$$

Donde Y_B es el valor medio de la señal analítica del blanco; S_B la desviación estándar de dicha señal y k un factor numérico seleccionado de acuerdo con el nivel de confianza deseado.

Sustituyendo el valor de la señal analítica para el blanco, Y_{LD} , en la ecuación de la función de calibrado, normalmente la ecuación de una recta, se obtiene el valor del límite de detección, X_{LD} , según se muestra en las siguientes **ecuaciones 2.15 - 2.16**.

$$Y = a + b \cdot X \quad (2.15)$$

$$Y_B + k \cdot S_B = a + b \cdot X_{LD} \quad (2.16)$$

donde a es la ordenada en el origen de la recta de calibrado y b es la pendiente de la recta de calibrado. Teniendo en cuenta que Y_B equivale a la ordenada en el origen del calibrado realizado, nos quedaría la **ecuación 2.17** para el valor del límite de detección.

$$X_{LD} = \frac{k \cdot S_B}{b} \quad (2.17)$$

¹¹⁵ IUPAC, *Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis - II data interpretation. Analytical chemistry division. Spectrochim. Acta B 33; 241-245, 1978.*

El valor de X_{LD} será un fiel reflejo del límite de detección del método, siempre que b esté bien definida. Como regla general, se suele usar el valor $k = 3$ que proporciona un nivel de confianza del 99.86 %, asegurándose así que las señales analíticas obtenidas superiores a $Y_B + 3 \cdot S_B$ son debidas a la presencia de analito en la muestra problema y no a las fluctuaciones del blanco.

Para calcular la desviación estándar correspondiente al blanco, se obtiene la señal analítica correspondiente a un número determinado de réplicas del blanco, normalmente diez disoluciones blanco ($n = 10$), empleando las condiciones instrumentales establecidas en el método.

Por otra parte, se define el límite de cuantificación (X_{LQ}) de un método analítico como la menor concentración o cantidad del compuesto que puede ser determinada con un nivel de confianza determinado. Al límite de cuantificación le corresponde a una señal analítica Y_{LQ} , definida por la **ecuación 2.18**.

$$Y_{LQ} = Y_B + k \cdot S_B \quad (2.18)$$

Por tanto, y siguiendo un razonamiento similar al anterior, la concentración correspondiente al límite de cuantificación vendrá dada por la **ecuación 2.19**.

$$X_{LQ} = \frac{k \cdot S_B}{b} \quad (2.19)$$

Recomendándose en este caso el valor mínimo de 10 para la constante k . Una aproximación que se realiza cuando no se dispone de blancos reales de muestra, al igual que la ordenada en el origen es una

estimación de la señal del blanco, la desviación estándar de dicha ordenada se puede considerar una estimación de la del blanco.

B. Metodología basada en la recta de calibrado¹¹⁶:

Esta metodología se basa en una estimación por extrapolación de la recta de calibrado. En primer lugar, se determina la desviación estándar de la regresión a partir de la **ecuación 2.20**.

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (2.20)$$

donde $S_{y/x}$ es la desviación estándar de la regresión, y_i es la señal analítica experimental obtenida para cada valor de concentración, \hat{y}_i es el valor de la señal calculada en la recta de regresión correspondiente a la concentración c , y n es el número total de pares de puntos usados para el cálculo de la recta de calibrado.

A partir del valor de la desviación estándar de la regresión se puede determinar la desviación estándar de la ordenada en el origen, S_a , y la desviación estándar de la pendiente, S_b . Las expresiones para este cálculo vienen dadas por las **ecuaciones 2.21 - 2.22**.

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum c_i^2}{n \sum (c_i - \bar{c})^2}} \quad (2.21)$$

$$S_b = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum (c_i - \bar{c})^2}} \quad (2.22)$$

¹¹⁶ L. Cuadros, A. García, C. Jiménez, M. Román. *Estimation of performance characteristics of an analytical method using the data set of the calibration experiment*. Anal. Letter 26; 1243-1258 1993.

donde c_i es cada una de los valores de concentración del análisis; \bar{c} es la media aritmética de todos los valores de concentración usados para la calibración. La desviación estándar de la estimación de la concentración, S_c , se puede determinar a partir de la **expresión 2.23**.

$$S_c = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y - \bar{y})^2}{b^2 \sum (c_i - \bar{c})^2}} \quad (2.23)$$

donde m es el número de repeticiones del análisis; n es el número total de valores utilizados en la regresión lineal; y es la media aritmética de los valores obtenidos para m análisis e \bar{y} es la media aritmética de todos los valores usados en la regresión lineal. El valor de S_c depende del número de puntos de la calibración y del número de réplicas, y podría minimizarse haciendo m igual a n .

Basándose en la **ecuación 2.23**, la desviación estándar del blanco, S_o , vendrá dado por la siguiente ecuación:

$$S_o = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 \sum (c_i - \bar{c})^2}} \quad (2.24)$$

donde y_o es la señal correspondiente al blanco.

Teniendo en cuenta las **ecuaciones 2.33 y 2.22**, la **ecuación 2.24** se puede simplificar para obtener:

$$S_o = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right) + DER_{(b)} \cdot d_o^2} \quad (2.25)$$

donde d_o viene dado por la expresión $(y_o - \bar{y})$.

Una vez obtenida S_o , se calcularían los límites de detección y cuantificación aplicando las siguientes ecuaciones:

$$X_{LD} = 3 \cdot S_o \quad (2.26)$$

$$X_{LQ} = 10 \cdot S_o \quad (2.27)$$

Como aproximación o en el caso de no tener señales de blanco, y_o , se puede determinar el límite de detección solamente llevando en consideración la desviación estándar de los residuales, $S_{y/x}$, la pendiente b , y estimando por extrapolación la desviación estándar del blanco, S_o :

$$S_o = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{n-2}{n-1}} \quad (2.28)$$

donde n es el número total de valores utilizados en la regresión lineal. Una vez obtenida por aproximación, S_o , se calcularían los límites de detección y cuantificación aplicando las **ecuaciones 2.26 y 2.27**, respectivamente.

También, existe otra alternativa cuando no es posible tener señales para el blanco. Esta propuesta desarrollada por Vílchez y col.¹¹⁷ consiste en obtener la señal del “blanco cromatográfico” por integración directa del ruido de fondo. Según estos autores, el calibrado correspondiente a un método cromatográfico se caracteriza por la ausencia de señal analítica correspondiente al blanco, lo cual imposibilita el cálculo del límite de detección de forma similar a la empleada para métodos espectroscópicos de análisis, y por ello se ha recurrido a lo largo del tiempo a otros procedimientos como son el estudio de la mínima cantidad

¹¹⁷ A. González, L. Cuadros, E. Alonso, J.L. Vílchez. *Estimate of gas Chromatographic blanks application to detection limits evaluation as recommended by IUPAC*. J. Chrom. A, 726; 133-139, 1996.

detectable^{118,119}, uso del término independiente de la ecuación de calibrado¹²⁰, cálculo de propagación de errores¹²¹ o estimación aproximada por extrapolación de la recta de calibrado¹¹⁶. Métodos que presentan numerosos problemas de tipo práctico y determinan una gran arbitrariedad en la estimación del límite de detección en cromatografía.

La propuesta realizada con objeto de evitar estos inconvenientes consiste en obtener la señal del "blanco cromatográfico" por integración directa del ruido de fondo al tiempo de retención del analito, utilizando como límites de integración el valor de anchura de pico (W_b) extrapolado a concentración "cero". Se necesita, por tanto, conocer la variación de la anchura de pico con respecto a la concentración de analito. Para determinar esta anchura, se propone la medida de un parámetro libre de la aleatoriedad del ruido de fondo como es la anchura a la mitad de la altura del pico $W_{0.5h}$, y a partir de este valor calcular W_b , considerando que el pico cromatográfico tiene un perfil Gaussiano¹²². Se parte para ello de la expresión de una gaussiana, **ecuación 2.29**.

$$f(x) = \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2} \frac{(x-\mu)^2}{s^2}} \quad (2.29)$$

Adaptando la **ecuación 2.29** al caso de los parámetros cromatográficos (**figura 2.3**), la altura del pico h , a su tiempo de retención viene dada por la **ecuación 2.30**.

¹¹⁸ L.R. Snyder. *Practical HPLC methods development*, Ed. Wiley, Chichester, UK, 1988.

¹¹⁹ H.M. Merken, G.R. Beecher. *Liquid chromatographic method for the separation and quantification of prominent flavonoid aglycones*. J. Chrom. A, 897; 177-184; 2000.

¹²⁰ J.M. Miller. *Basic statistical methods for Analytical Chemistry. Part 2. Calibration and regression methods. A review*. Analyst 116; 3-149, 1991.

¹²¹ G.L. Long, J.D. Winefordner. *Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition*. Anal. Chem. 55; 712-724, 1983.

¹²² A. Klinkenberg, F. Sjenitzer. *Holdng-time distributions of the gaussian type*. Chem. Engin. Sci. 5; 258-270, 1956.

$$h = \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2} \frac{(t-t_R)^2}{s^2}} \quad (2.30)$$

donde t_R es el tiempo de retención y s^2 es la varianza del pico.

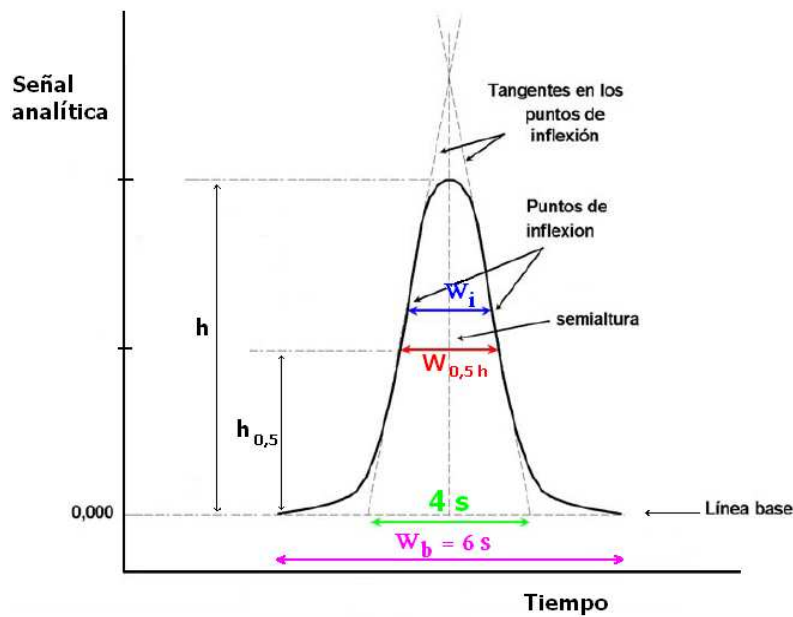


Figura 2.3. Parámetros característicos de un pico Gaussiano

Aplicando la **ecuación 2.30** a los parámetros de pico correspondientes se demuestra que la desviación estándar de pico viene dada por la **ecuación 2.31**.

$$s = \frac{W_{0,5h}}{2} \sqrt{\frac{1}{2 \ln \frac{1}{\sqrt{2\pi} h_{0,5}}}}} \quad (2.31)$$

donde $W_{0,5h}$ es la anchura del pico a la mitad de la altura y $h_{0,5}$ es la mitad de la altura del pico Gaussiano. El valor de la anchura del pico W_b para un

99.73 % del área de pico¹²³, en función de $W_{0.5h}$, vendrá dado por la **ecuación 2.32**.

$$W_b = 6 \cdot s = 2.5476 \cdot W_{0.5h} \quad (2.32)$$

Para calcular la anchura de base a concentración "cero" (W_{b0}), dado que las dimensiones del pico cromatográfico, altura y anchura, dependen de la concentración del compuesto, se extrapola la curva resultante de representar gráficamente los valores medidos de $W_{0.5h}$ frente a la concentración correspondiente. En la **figura 2.4** se muestra de forma gráfica el comportamiento típico de esta variable.

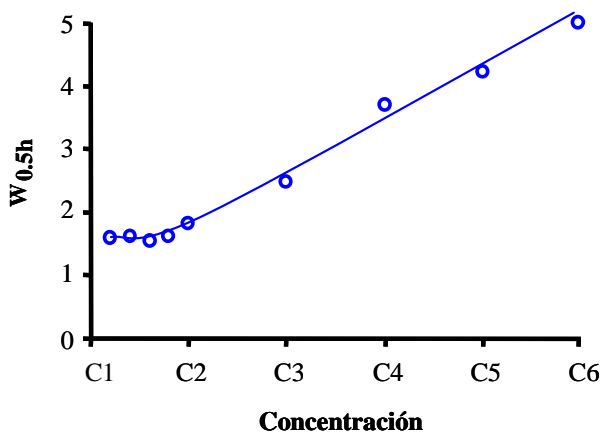


Figura 2.4. Variación de la anchura de pico con la concentración

En primer lugar, se determina el valor de la anchura a mitad de pico ($W_{0.5h}$) correspondiente a concentración "cero", extrapolarlo la curva resultante de representar gráficamente los valores medidos de $W_{0.5h}$ de pico frente a las correspondientes concentraciones de analito, **figura 2.4**. A continuación, se calcula el valor de W_{b0} aplicando la **ecuación 2.32** y finalmente, se mide la señal del blanco para cada compuesto por

¹²³ N. Dyson. *Chromatographic Integration Methods*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1990.

integración sobre la línea del cromatograma del blanco en el intervalo $t_R \pm 0.5 W_{b0}$, donde t_R es el tiempo de retención correspondiente a cada compuesto considerado. Para realizar réplicas se requiere una nueva inyección y el establecimiento de un nuevo cromatograma.

Debido a la metodología seguida, los valores de señal y desviación estándar obtenidos para el blanco, corresponden al ruido de fondo y no a la propia señal analítica. Por lo tanto, dichos valores sólo se pueden aplicar en el cálculo del límite de detección y cuantificación según la metodología basada en la recta de calibrado, **ecuaciones 2.26 y 2.27**.

4.3.3. Rango dinámico lineal

El rango dinámico lineal (RDL) viene definido por el límite superior del intervalo de concentraciones en el que se ha aplicado el método analítico y por el límite de cuantificación de dicho método.

4.3.4. Sensibilidad o resolución analítica

La sensibilidad de un método analítico se puede definir como la derivada de la magnitud analítica dependiente de la concentración del analito, respecto de dicha concentración. Así, se acepta como valor de la sensibilidad el de la pendiente de la función de calibrado, denominada según la *IUPAC*, sensibilidad del calibrado.

Sin embargo, la medida de la sensibilidad no debe limitarse únicamente al cálculo de la pendiente de la función de calibrado, ya que las

dispersiones originadas en el proceso de calibración, influirán sobre la misma. Así, Mandel y Stiehler¹²⁴ proponen que la sensibilidad analítica vendrá definida por el cociente entre la desviación estándar de la regresión ($S_{y/x}$) y la pendiente del calibrado (b), según se muestra en la **ecuación 2.33**.

$$S_{\text{analítica}} = \left(\frac{S_{y/x}}{b} \right) \quad (2.33)$$

4.3.5. Selectividad

Selectividad se define como la capacidad de un método para determinar analitos específicos en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento análogo. Se puede establecer una clasificación de la selectividad. La utilización del término especificidad para el mismo concepto se debe evitar porque puede crear confusión.

La determinación de la selectividad de un método cromatográfico se puede realizar mediante la comparación de los cromatogramas del blanco con el correspondiente a una muestra contaminada con los analitos. La ausencia de interferencias correspondientes a sustancias endógenas, a los tiempos de retención de los analitos nos indicará que el método es selectivo.

4.3.6. Exactitud del método: precisión y veracidad

Para establecer la exactitud del método, se ha estudiado la veracidad del mismo en términos de recuperación con muestras dopadas y su precisión en términos de desviación estándar relativa. Uno de los mayores problemas que se encuentran a la hora de estudiar la exactitud de un

¹²⁴ J. Mandel, R.D. Stiehler. *Sensitivity - A criterion for the comparison of methods of test*. J. Res. Natl. Bur. Std. 53; 155-159, 1954.

método analítico, en términos de veracidad, en matrices de de tipo ambiental, es la ausencia de materiales certificados. Por este motivo se han llevado a cabo los estudios de recuperación con muestras dopadas.

El estudio consiste en realizar diferentes ensayos de recuperación, tanto intradiarios como interdiarios, en los que se calcula el porcentaje de recuperación, R (%), obtenido de muestras reales en las que se ha adicionado una determinada cantidad del compuesto en estudio (muestra fortificada). Es necesario también analizar muestras sin dopar (muestra no fortificada). Tras aplicar el método analítico, se relacionan las concentraciones encontradas en las muestras-blanco fortificadas, con la concentración añadida. El cálculo se realiza según la **ecuación 2.34**.

$$R (\%) = \frac{C_{\text{muestra fortificada}} - C_{\text{muestra no fortificada}}}{C_{\text{adicionada}}} \cdot 100 \quad (2.34)$$

Por su parte, para evaluar la exactitud del método en términos de precisión, se estudia la repetibilidad (precisión intra-día) y la reproducibilidad (precisión inter-día). Para ello, se realizan diversas réplicas de los análisis llevados a cabo en el estudio de veracidad, durante un mismo día (precisión intra-día) y durante varios días (precisión inter-día). La precisión se expresa como desviación estándar relativa (DER).

Los valores de recuperación aceptables deben estar próximos al 100 %. En cuanto a los valores de precisión la guía de validación establece los límites aceptables para cumplir los requisitos establecidos en valores iguales o inferiores al 15 % en general al 20 % en la zona próxima al límite de detección del método¹¹⁴. Cuando se cumplan los requisitos de veracidad y de precisión se dirá que el método propuesto es un método exacto.

CAPÍTULO III

Optimización de Variables

En este capítulo se presenta la optimización de las variables tanto cromatográficas como espectrométricas del método analítico propuesto en la presente Tesis Doctoral. En primer lugar, se muestra la selección de los analitos objeto de estudio, incluyendo los homólogos y los etoxímeros a estudiar para cada una de las familias.

Dado que la única familia de tensioactivos que no se tenía completamente caracterizada era la de AEO, fue necesaria la optimización de un método cromatográfico con detección por absorbancia que nos permitiera conocer la distribución de los etoxímeros. La ausencia, por parte del analito, de la propiedad física de absorber, hizo necesaria la realización de una reacción de derivación.

Una vez seleccionados los tensioactivos objeto de estudio se procedió a la optimización de las variables relativas al espectrómetro de masas. A continuación, se optimizaron los parámetros instrumentales propios de la cromatografía de líquidos, tratando de obtener una buena resolución cromatográfica de cada uno de los compuestos objeto de estudio. Por último se optimizaron las variables relativas a la interfase ESI.

1. TENSIOACTIVOS OBJETO DE ESTUDIO

1.1. Sulfonato de alquilbenceno lineal

Dentro de la familia del LAS se seleccionaron los 4 homólogos principales. En la **tabla 3.1** se muestra el porcentaje de cada uno de ellos en la mezcla comercial utilizada.

Tabla 3.1. Homólogos del LAS seleccionados

Homólogos	Composición (%)
LAS C ₁₀	13.98
LAS C ₁₁	32.22
LAS C ₁₂	30.80
LAS C ₁₃	23.00
Total	100.0

1.2. Alcoholes Sulfato

Para el caso de los AS, se seleccionaron los 4 homólogos habituales, los cuales se muestran en la **tabla 3.2** junto con sus porcentajes en la mezcla comercial de alcoholes etoxisulfato utilizada.

Tabla 3.2. Homólogos de AS seleccionados

Homólogos	Composición (%)
AS C ₁₂	17.69
AS C ₁₄	11.91
AS C ₁₆	6.78
AS C ₁₈	10.53
Total	46.91

1.3. Alcoholes etoxisulfato

Para la familia de los AES, debido a la baja proporción en que se encuentran los compuestos con mayor número de unidades etoxiladas en la mezcla comercial, los ensayos cuantitativos se han llevado a cabo considerando los 5 primeros etoxímeros para cada uno de los 4 homólogos principales, **tabla 3.3**.

Tabla 3.3. Etoxímeros de AES seleccionados para cada homólogo

Homólogo	Etoxímero	(%)	Homólogo	Etoxímero	(%)
AES C₁₂	EO ₁	7.52	AES C₁₆	EO ₁	2.66
	EO ₂	5.34		EO ₂	1.89
	EO ₃	2.83		EO ₃	0.89
	EO ₄	1.83		EO ₄	0.43
	EO ₅	1.23		EO ₅	0.36
AES C₁₄	EO ₁	6.66	AES C₁₈	EO ₁	4.54
	EO ₂	4.02		EO ₂	2.41
	EO ₃	1.90		EO ₃	1.40
	EO ₄	0.84		EO ₄	0.91
	EO ₅	0.59		EO ₅	0.65
Total			48.90		

1.4. Alcoholes etoxilados

Los patrones de AEO utilizados consistieron en las mezclas comerciales *Brij 56* (AEO C₁₆) y *Brij 76* (AEO C₁₈), de las cuales no se conocía su composición en etoxímeros, la cual hubo de ser determinada.

2. CARACTERIZACIÓN DE LAS MEZCLAS COMERCIALES DE AEO

2.1. Desarrollo de metodología analítica para la caracterización de AEO. Optimización de las variables

Para caracterizar las mezclas comerciales de AEO *Brij 56* y *Brij 76* se propuso desarrollar un método cromatográfico con detección por absorción UV-Vis (LC-DAD), en la **figura 3.1** se muestra el equipo utilizado.

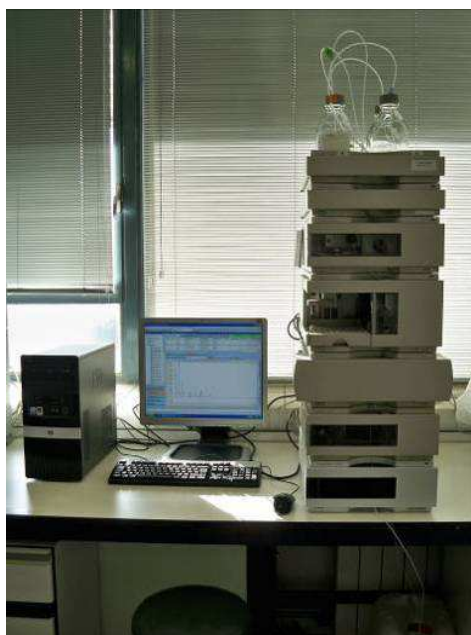


Figura 3.1. Fotografía del equipo empleado

2.1.1. Reacción de derivación

En primer lugar, dado que los alcoholes etoxilados no absorben la radiación UV-Vis, se propuso una reacción de derivación para dotar a la

molécula de algún grupo cromóforo que le confiriera esta propiedad. Se llevó a cabo una reacción de esterificación, **figura 3.2**, con anhídrido ftálico para formar un hemiéster capaz de absorber radiación electromagnética con un máximo a 230 nm.

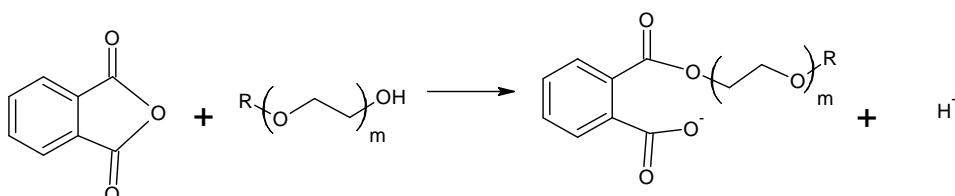


Figura 3.2. Reacción de derivación. Esterificación

El protocolo de derivación¹²⁵ seguido fue el siguiente:

- A. Se pesaron 250 mg de la mezcla de alcohol etoxilado a derivar y se disolvieron en 50 mL de 1,4-dioxano.
- B. De la disolución preparada se tomó una alícuota de 4 mL y se introdujo en un micro-reactor de vidrio.
- C. Se adicionaron 1.5 g de anhídrido ftálico y 0.5 g de urea finamente molida.
- D. Tras cerrar el micro-reactor, se mezcló con un agitador vórtex y se calentó a 110 °C durante 60 min.
- E. Transcurridos 60 min se dejó enfriar y se adicionó una mezcla de metanol/agua 2:1 (v/v) conteniendo 0.1 M de NH_3 , hasta alcanzar un volumen de 10 mL en el micro-reactor.

¹²⁵ A. Micó-Tormos, E.F. Simó-Alonso, G. Ramis-Ramos. *Determination of fatty alcohol ethoxylates by derivatization with phthalic anhydride followed by liquid chromatography with UV-vis detection.* J. Chromatogr. A. 1203; 47-53, 2008.

- F. Finalmente, la disolución obtenida se inyectó en el cromatógrafo de líquidos con detección UV-Vis a 230 nm.

Siguiendo dicho protocolo, se derivaron las dos mezclas comerciales, Brij 56 y Brij 76, y un blanco. En la **figura 3.3** se muestra el proceso.



Figura 3.3. Micro-reactores a 110 °C durante 60 min

2.1.2. Desarrollo del método cromatográfico

En primer lugar se ensayó un método cromatográfico isocrático. En la **tabla 3.4** se muestran los parámetros cromatográficos del mismo.

Tabla 3.4. Parámetros cromatográficos de partida

Parámetro	Valor
Columna cromatográfica	Kinetex C18, 100 x 2.10 mm 2.6 μ m
Fase móvil	Disolvente A: Agua Disolvente B: THF
Gradiente	Isocrático 65 % A, 35 % B (80 min)
Flujo	0.150 mL·min ⁻¹
Temperatura de columna	30 °C
Volumen de inyección	100 μ L (máximo)
Detección	DAD λ = 230 nm

En la **figura 3.4** se muestra el cromatograma correspondiente a una disolución de la mezcla comercial *Brij 56* derivada (AEO C₁₆).

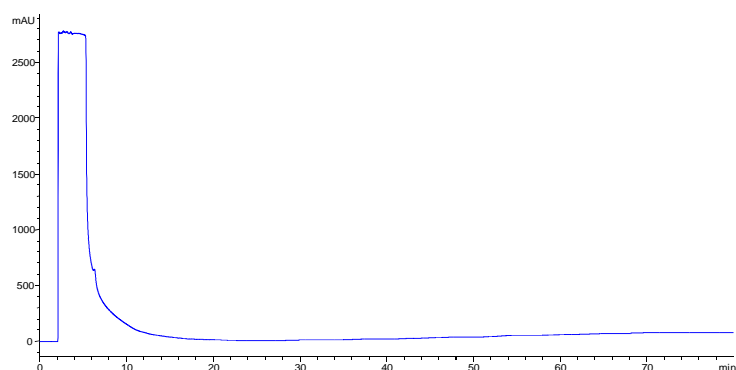


Figura 3.4. Cromatograma de partida para los derivados de AEO C₁₆

En el cromatograma obtenido (80 min), únicamente se observó una gran banda al comienzo del mismo. Se pensó que los compuestos de interés estaban siendo retenidos por la columna y no conseguían eluir. Para tratar de que eluyeran se bajó la polaridad de la fase móvil a partir de los 80 minutos, aumentando el porcentaje de THF hasta un 45 %. En la **figura 3.5** se muestra cromatograma registrado.

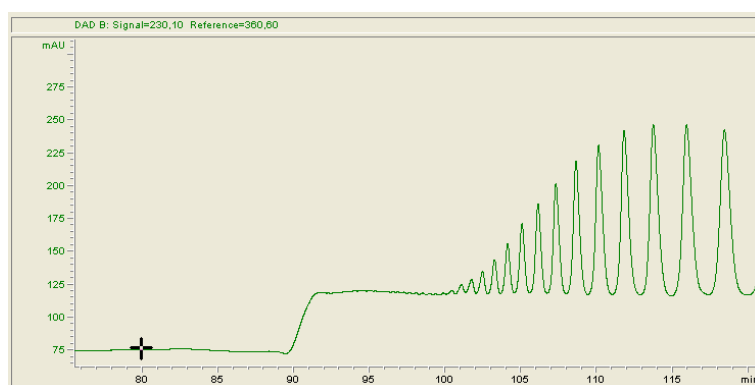


Figura 3.5. Cromatograma obtenido al aumentar el % de THF

Se observó un aumento de la línea base debido al cambio de composición de la fase móvil y a continuación la elución de los compuestos

de interés a partir de los 100 min aproximadamente. Una vez conseguida la elución de los compuestos retenidos en la columna se optó por realizar un método cromatográfico con elución en gradiente, para ello, se propusieron 2 gradientes diferentes, **tabla 3.5**.

Tabla 3.5. Gradientes cromatográficos propuestos

Gradiente	Tiempo (min)	Agua (%)	THF (%)	Gradiente	Tiempo (min)	Agua (%)	THF (%)
1	0.0	65	35	2	0.0	65	35
	10.0	65	35		20.0	65	35
	10.5	55	45		20.5	55	45
	120.0	55	45		120.0	55	45

En las **figura 3.6** se muestran los cromatogramas obtenidos.

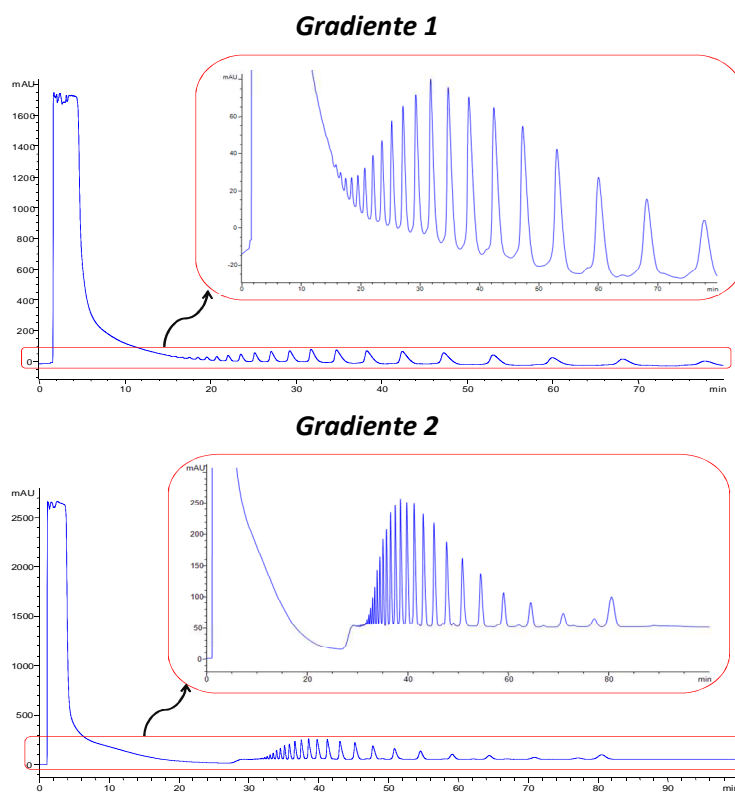


Figura 3.6. Cromatogramas obtenidos

Se seleccionó el gradiente 2 para posteriores análisis, ya que el gradiente 1 presenta solapamiento de los picos de los derivados con la primera banda cromatográfica. Esta banda cromatográfica, como más adelante se pudo demostrar al inyectar el blanco preparado, **figura 3.9**, es debida al resto de compuestos presentes en la disolución.

En la **tabla 3.6** se resumen las condiciones cromatográficas finalmente seleccionadas para el análisis de los productos de la derivación (hemiésteres).

Tabla 3.6. Parámetros cromatográficos finales para los derivados de AEO

Parámetro	Valor	
Columna cromatográfica	Kinetex C18, 100 x 2.10 mm 2.6 μ m	
Fase móvil	Disolvente A: Agua Disolvente B: THF	
Gradiente	<u>Tiempo (min)</u>	<u>Disolvente B (%)</u>
	0.0	35
	20.0	35
	20.5	45
	120.0	45
Flujo	0.150 mL·min ⁻¹	
Temperatura de columna	30 °C	
Volumen de inyección	100 μ L (máximo)	
Detección	DAD λ = 230 nm	

Las **figuras 3.7 - 3.9** muestran los cromatogramas obtenidos para las muestras y el blanco derivados.

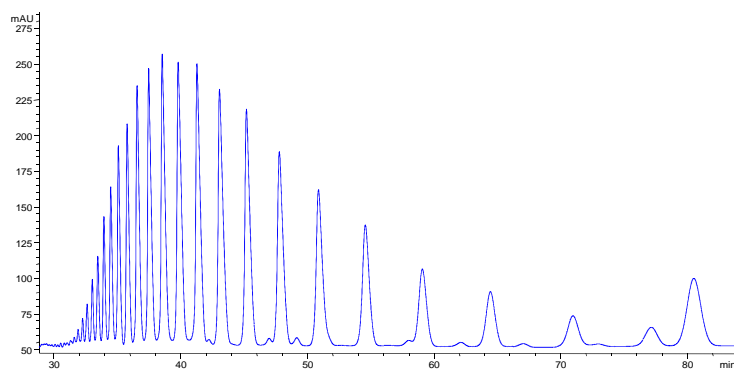


Figura 3.7. Cromatograma obtenido para la mezcla Brij 56

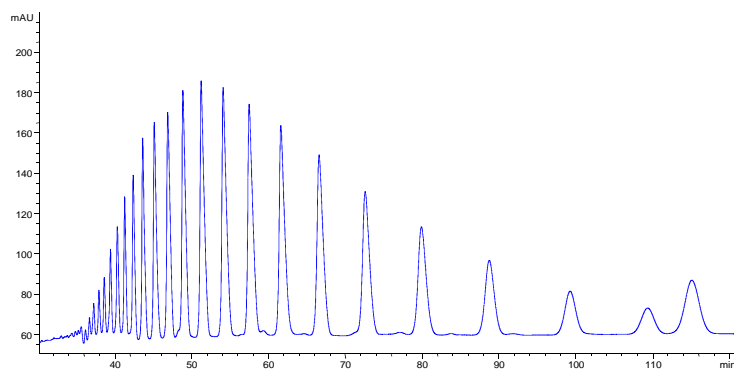


Figura 3.8. Cromatograma obtenido para la mezcla Brij 76

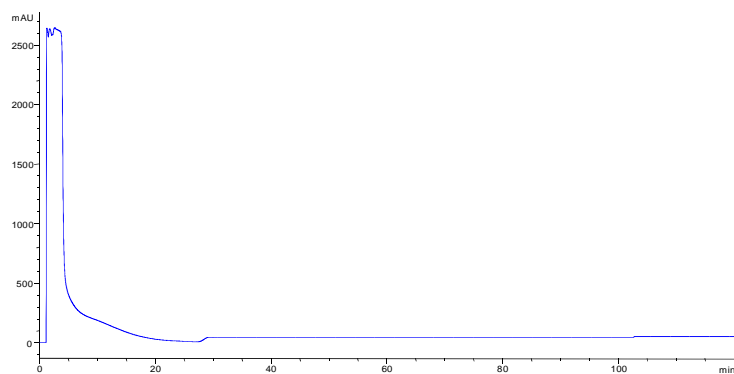


Figura 3.9. Cromatograma obtenido para el blanco

2.1.3. Identificación y establecimiento del orden de elución de los derivados obtenidos

Una vez establecido el método cromatográfico, se procedió a la identificación de cada uno de los picos cromatográficos de los derivados obtenidos para así poder asignarlos al AEO correspondiente y fijar el orden de elución. Esto se realizó uniendo la salida del cromatógrafo de líquidos a un espectrómetro de masas (API 2000, Applied Biosystems) de triple cuadrupolo trabajando en *modo positivo y Full Scan*. En las **figuras 3.10 - 3.11**, se muestran, a modo de ejemplo, 2 espectros de masas para cada cromatograma realizado. Las masas registradas correspondían al aducto formado entre el hemiéster y un átomo de sodio, $[M+Na]^+$.

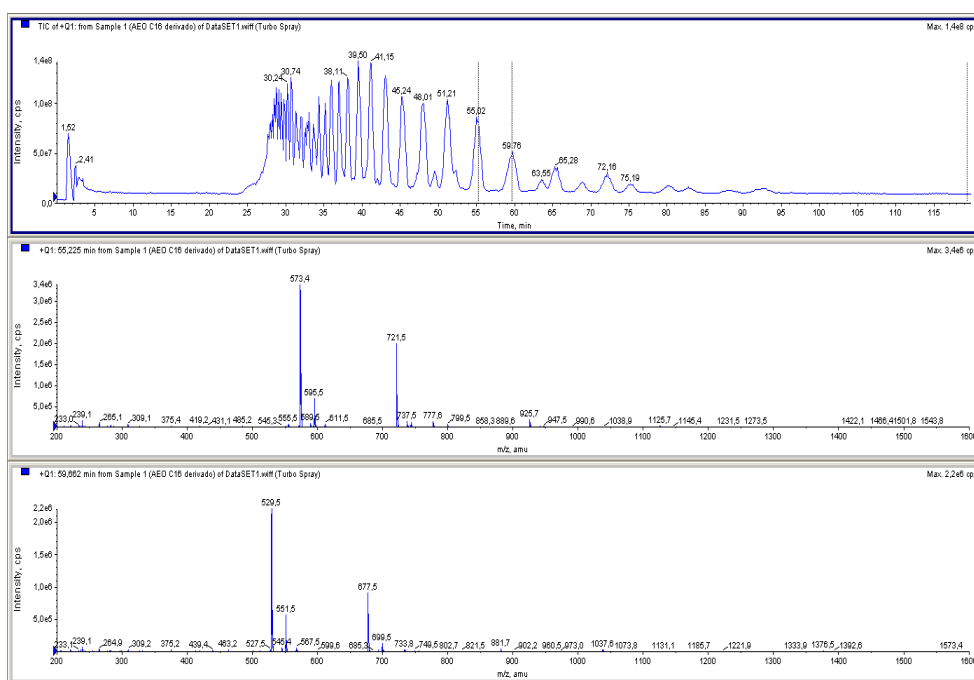


Figura 3.10. Cromatograma y espectros de masas (derivados de Brij 56)

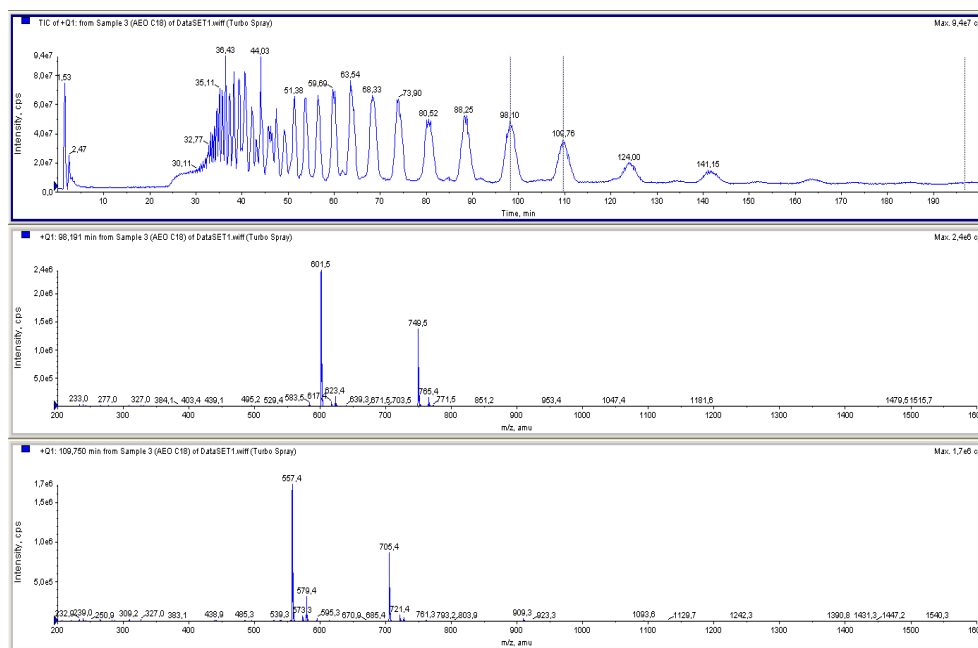


Figura 3.11. Cromatograma y espectros de masas (derivados de Brij 76)

Los resultados demostraron que los compuestos eluían siguiendo un orden decreciente según su peso molecular, **ilustraciones 3.12 - 3.13**. Cabe resaltar que para los oligómeros EO_1 y EO_0 , tanto para Brij 56 como Brij 76, se observó una coelución en un mismo pico cromatográfico.

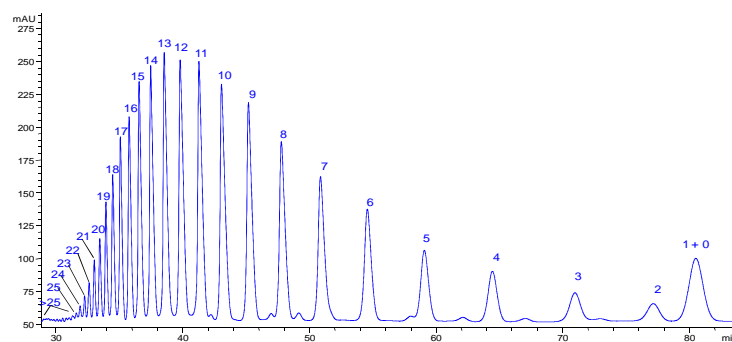


Figura 3.12. Identificación de los derivados obtenidos para la mezcla de AEO C_{16} : (1+0) EO_1+EO_0 ; (2) EO_2 ; (3) EO_3 ; (4) EO_4 ; (5) EO_5 ; (6) EO_6 ; (7) EO_7 ; (8) EO_8 ; (9) EO_9 ; (10) EO_{10} ; (11) EO_{11} ; (12) EO_{12} ; (13) EO_{13} ; (14) EO_{14} ; (15) EO_{15} ; (16) EO_{16} ; (17) EO_{17} ; (18) EO_{18} ; (19) EO_{19} ; (20) EO_{20} ; (21) EO_{21} ; (22) EO_{22} ; (23) EO_{23} ; (24) EO_{24} ; (25) EO_{25} ; (>25) $EO_{>25}$.

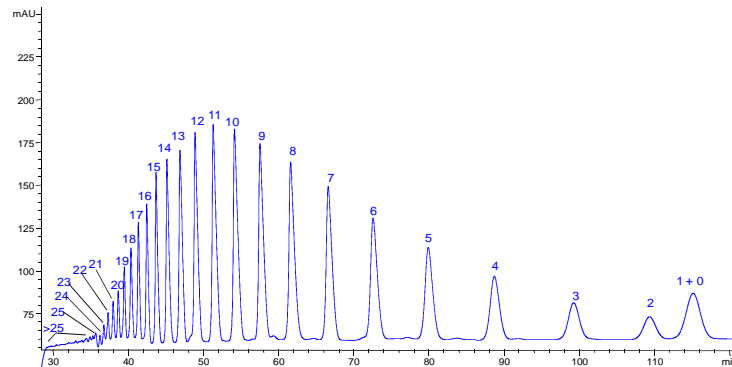


Figura 3.13. Identificación de los derivados obtenidos para la mezcla de AEO C₁₈: (1+0) EO₁+EO₀; (2) EO₂; (3) EO₃; (4) EO₄; (5) EO₅; (6) EO₆; (7) EO₇; (8) EO₈; (9) EO₉; (10) EO₁₀; (11) EO₁₁; (12) EO₁₂; (13) EO₁₃; (14) EO₁₄; (15) EO₁₅; (16) EO₁₆; (17) EO₁₇; (18) EO₁₈; (19) EO₁₉; (20) EO₂₀; (21) EO₂₁; (22) EO₂₂; (23) EO₂₃; (24) EO₂₄; (25) EO₂₅; (>25) EO_{>25}

2.1.4. Evaluación del factor de respuesta de los derivados obtenidos

El factor de respuesta, surge del hecho de que un detector no suele presentar la misma respuesta ante diferentes compuestos a una misma concentración. Para un compuesto dado, el factor de respuesta es un parámetro que nos compara la respuesta que da el detector para ese compuesto frente a la de otro que se encuentra a la misma concentración y se utiliza de referencia. La **ecuación 3.1** permite calcularlo.

$$F_r(a) = \frac{R(a)_c}{R(\text{ref})_c} \quad (3.1)$$

Donde, $F_r(a)$ es el factor de respuesta del compuesto a , $R(a)_c$ es la respuesta del detector para una concentración c el compuesto a y $R(\text{ref})_c$ es la respuesta del detector para una misma concentración c del compuesto de referencia.

Para evaluar el factor de respuesta de los distintos derivados obtenidos, se utilizaron 4 patrones de etoxímeros aislados para cada uno

de los homólogos. Para el homólogo AEO C₁₆ los etoxímeros fueron: EO₀, EO₂, EO₆, y EO₈; para el homólogo AEO C₁₈ los etoxímeros fueron: EO₀, EO₃, EO₆, y EO₈. Con estos patrones se preparó una disolución para cada homólogo en 1,4-dioxano donde se pusieron sus 4 oligómeros a la misma concentración, 250 mg·L⁻¹. Las 2 disoluciones así preparadas se derivaron y analizaron según la metodología propuesta. Los cromatogramas obtenidos se muestran en las **figuras 3.14 - 3.15**.

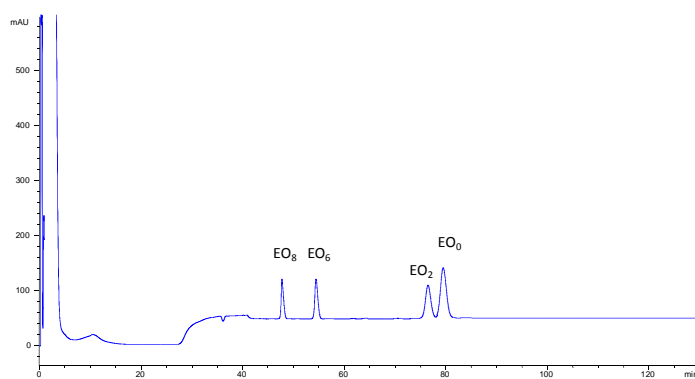


Figura 3.14. Cromatograma obtenido para los derivados de los etoxímeros de AEO C₁₆

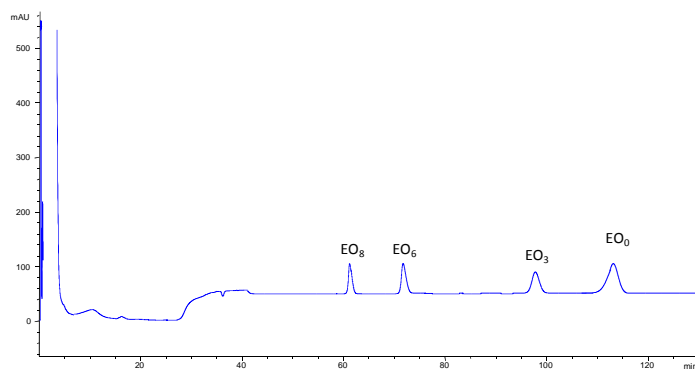


Figura 3.15. Cromatograma obtenido para los derivados de los etoxímeros de AEO C₁₈

Para cada homólogo, se seleccionó como compuesto de referencia el etoxímero EO_0 (el alcohol) y se calculó el factor de respuesta para el resto de etoxímeros por comparación frente a él, **ecuación 3.1**.

Los factores de respuesta obtenidos para todos los derivados producidos fueron similares, con un valor de 0,6. Este resultado está en concordancia con el obtenido por A. Micó-Tormos y col.¹²⁵. Por lo tanto, al etoxímero EO_0 se le asignó un factor de respuesta de 1 y para el resto de etoxímeros de 0.6.

2.2. Caracterización de las mezclas comerciales de AEO, Brij 56 y Brij 76

Para establecer la composición de las mezclas comerciales de AEO, Brij 56 y Brij 76, se procedió según las condiciones de derivación y cromatográficas establecidas en los apartados anteriores, realizándose 3 réplicas experimentales de cada mezcla comercial, que se inyectaron por triplicado en el cromatógrafo de líquidos (3 réplicas instrumentales).

Una vez obtenidos los cromatogramas, se integró el área de cada pico. Para establecer la proporción de cada componente en la mezcla se usaron los valores de área corregidos por los factores de respuesta obtenidos. Para el pico en el que coelúan los dos etoxímeros ($EO_1 + EO_0$), el área correspondiente a cada etoxímero se calculó por extrapolación el área debida al etoxímero EO_1 , según se muestra en la **figura 3.16**. Ya que los etoxímeros tenían el mismo factor de respuesta, se pudo realizar un ajuste cuadrático de los valores de área y por extrapolación obtener los valores de área para el caso de 1 unidad etoxilada.

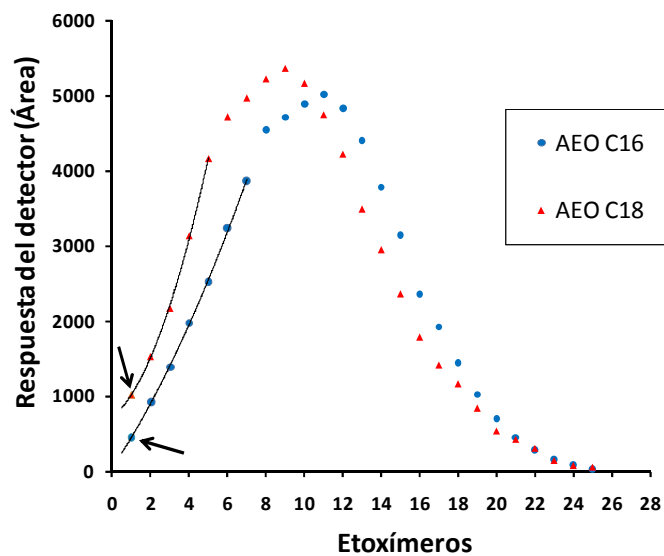


Figura 3.16. Distribución de áreas para los etoxímeros. Extrapolación del ajuste cuadrático para los etoxímeros EO_1 de cada homólogo

Los resultados medios obtenidos, se muestran en la **tabla 3.7**.

Tabla 3.7. Caracterización de las mezclas comerciales Brij 56 y Brij 76

Brij 56			Brij 76		
Homólogo	Etoxímero	Proporción (%)	Homólogo	Etoxímero	Proporción (%)
AEO C ₁₆	EO ₀	3.37	AEO C ₁₈	EO ₀	2.61
AEO C ₁₆	EO ₁	0.79	AEO C ₁₈	EO ₁	1.78
AEO C ₁₆	EO ₂	1.62	AEO C ₁₈	EO ₂	2.54
AEO C ₁₆	EO ₃	2.33	AEO C ₁₈	EO ₃	3.44
AEO C ₁₆	EO ₄	3.25	AEO C ₁₈	EO ₄	4.90
AEO C ₁₆	EO ₅	4.16	AEO C ₁₈	EO ₅	6.50
AEO C ₁₆	EO ₆	5.34	AEO C ₁₈	EO ₆	7.37
AEO C ₁₆	EO ₇	6.38	AEO C ₁₈	EO ₇	7.76
AEO C ₁₆	EO ₈	7.51	AEO C ₁₈	EO ₈	8.16
AEO C ₁₆	EO ₉	7.79	AEO C ₁₈	EO ₉	8.38
AEO C ₁₆	EO ₁₀	8.08	AEO C ₁₈	EO ₁₀	8.07
AEO C ₁₆	EO ₁₁	8.30	AEO C ₁₈	EO ₁₁	7.41
AEO C ₁₆	EO ₁₂	7.99	AEO C ₁₈	EO ₁₂	6.59
AEO C ₁₆	EO ₁₃	7.28	AEO C ₁₈	EO ₁₃	5.45
AEO C ₁₆	EO ₁₄	6.25	AEO C ₁₈	EO ₁₄	4.61
AEO C ₁₆	EO ₁₅	5.20	AEO C ₁₈	EO ₁₅	3.69
AEO C ₁₆	EO ₁₆	3.91	AEO C ₁₈	EO ₁₆	2.79
AEO C ₁₆	EO ₁₇	3.19	AEO C ₁₈	EO ₁₇	2.20
AEO C ₁₆	EO ₁₈	2.39	AEO C ₁₈	EO ₁₈	1.81
AEO C ₁₆	EO ₁₉	1.71	AEO C ₁₈	EO ₁₉	1.31
AEO C ₁₆	EO ₂₀	1.18	AEO C ₁₈	EO ₂₀	0.83
AEO C ₁₆	EO ₂₁	0.75	AEO C ₁₈	EO ₂₁	0.66
AEO C ₁₆	EO ₂₂	0.48	AEO C ₁₈	EO ₂₂	0.47
AEO C ₁₆	EO ₂₃	0.27	AEO C ₁₈	EO ₂₃	0.20
AEO C ₁₆	EO ₂₄	0.16	AEO C ₁₈	EO ₂₄	0.11
AEO C ₁₆	EO ₂₅	0.06	AEO C ₁₈	EO ₂₅	0.08
AEO C ₁₆	EO _{>25}	0.26	AEO C ₁₈	EO _{>25}	0.28
Total		100.0	Total		100.0

2.3. Selección de los etoxímeros de AEO objeto de estudio

Para cada mezcla comercial de AEO, se seleccionaron los 11 etoxímeros consecutivos que se encontraban a una mayor proporción, **tabla 3.8.**

Tabla 3.8. Etoxímeros de AEO objeto de estudio

Brij 56			Brij 76		
Homólogo	Etoxímero	Proporción (%)	Homólogo	Etoxímero	Proporción (%)
AEO C ₁₆	EO ₅	4.16	AEO C ₁₈	EO ₄	4.90
AEO C ₁₆	EO ₆	5.34	AEO C ₁₈	EO ₅	6.50
AEO C ₁₆	EO ₇	6.38	AEO C ₁₈	EO ₆	7.37
AEO C ₁₆	EO ₈	7.51	AEO C ₁₈	EO ₇	7.76
AEO C ₁₆	EO ₉	7.79	AEO C ₁₈	EO ₈	8.16
AEO C ₁₆	EO ₁₀	8.08	AEO C ₁₈	EO ₉	8.38
AEO C ₁₆	EO ₁₁	8.30	AEO C ₁₈	EO ₁₀	8.07
AEO C ₁₆	EO ₁₂	7.99	AEO C ₁₈	EO ₁₁	7.41
AEO C ₁₆	EO ₁₃	7.28	AEO C ₁₈	EO ₁₂	6.59
AEO C ₁₆	EO ₁₄	6.25	AEO C ₁₈	EO ₁₃	5.45
AEO C ₁₆	EO ₁₅	5.20	AEO C ₁₈	EO ₁₄	4.61
Total		74.28	Total		75.20

El total de analitos seleccionados entre homólogos y etoxímeros fue de 50 tensioactivos, concretamente 4 homólogos del LAS, 4 homólogos para AS, 20 etoxímeros para AES y 22 etoxímeros para AEO.

3. DETERMINACIÓN MULTI-RESIDUO DE TENSIOSACTIVOS POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS-ESPECTROMETRÍA DE MASAS. OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES

3.1. Contextualización

El objetivo de este trabajo fue establecer un método con unas buenas características analíticas adecuado a las necesidades de nuestra investigación, permitiéndonos analizar los 50 tensioactivos seleccionados en una sola inyección. Como ya se ha indicado anteriormente, se seleccionó la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem, **figura 3.17**.

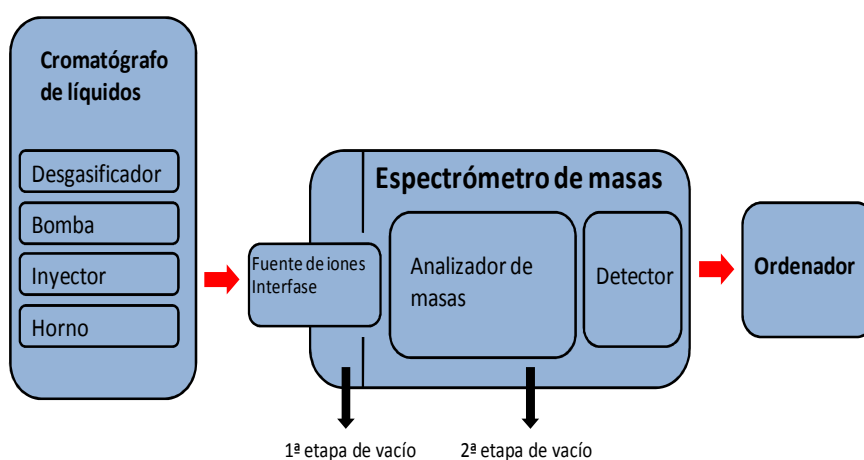


Figura 3.17. Esquema de un equipo de cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas

El trabajo experimental se desarrolló empleando un cromatógrafo de líquidos *Agilent Technologies 1200* acoplado a un espectrómetro de masas *API 2000 Applied Biosystems*. En la **figura 3.18** se muestra una fotografía del mismo.



Figura 3.18. Fotografía del equipo de LC-MS/MS utilizado

Hoy en día, la espectrometría de masas es una técnica que ocupa un lugar destacado entre las técnicas de detección debido a sus excelentes características, como son su elevada sensibilidad, la posibilidad de alcanzar límites de detección y cuantificación muy bajos, su especificidad y sobre todo, a la enorme diversidad de aplicaciones. Además, la aparición de las nuevas fuentes de ionización ha supuesto una auténtica revolución en cuanto a las aplicaciones de esta técnica. En el caso de la investigación propuesta en la presente Tesis Doctoral, la espectrometría de masas nos permite analizar un gran número de tensioactivos de diferente naturaleza en un mismo método, sin necesidad de llevar a cabo complicados procesos de derivación.

3.2. Optimización de las variables del espectrómetro de masas

En primer lugar, se optimizaron las variables relativas al espectrómetro de masas para cada uno de los tensioactivos seleccionados.

3.2.1. Descripción de la interfase y el espectrómetro de masas utilizados

El acoplamiento LC-MS se llevó a cabo mediante una interfase ESI, **figuras 3.19 – 3.20**. Esta fuente de ionización permite a los analitos disueltos en la fase móvil pasar al espectrómetro de masas a través de un capilar de acero inoxidable sometido a un alto voltaje (IS). La fase móvil, al fluir a través del capilar, con la ayuda de un gas nebulizador (GS1), se dispersa y las moléculas de los analitos y del disolvente forman un spray de pequeñas gotas cargadas en un proceso de nebulización. La mayor parte de las moléculas de disolvente se evaporan (desolvatación) al atravesar la región de la fuente del espectrómetro de masas a presión atmosférica y sometida a una determinada temperatura (ihe). Dicha desolvatación es asistida además por una corriente de un gas de secado (GS2) a una determinada temperatura (TEM). A medida que se evapora el disolvente, las gotas se hacen cada vez más pequeñas hasta que las fuerzas repulsivas entre cargas en la superficie son capaces de superar las fuerzas cohesivas de tensión superficial (límite Rayleigh) y se produce la ruptura final de la gota originando iones en fase gaseosa (explosiones de Coulomb). Dichos iones se transfieren al interior del espectrómetro de masas por medio de lentes focalizadoras. Por último, el gas cortina (CUR) que fluye de la placa de cortina hacia afuera, evita la entrada de contaminación al interior del espectrómetro de masas.

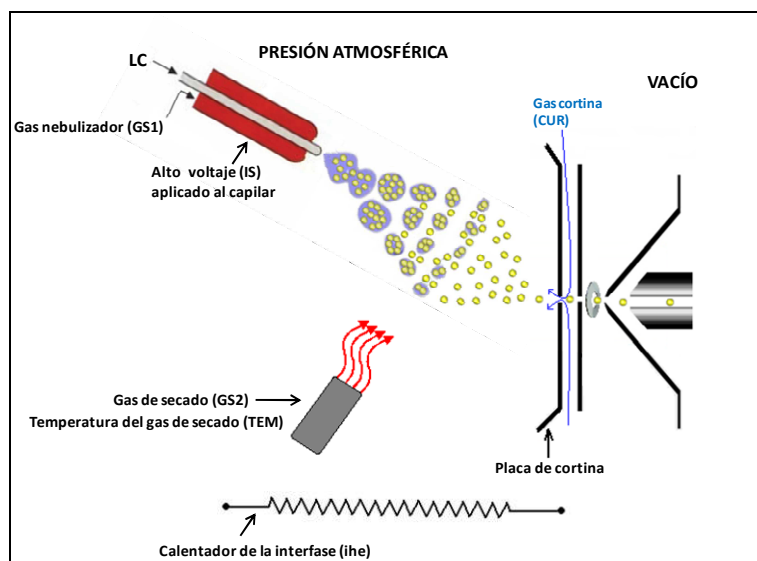


Figura 3.19. Representación de la fuente de ionización ESI con los distintos parámetros característicos



Figura 3.20. Detalle del interior de la interfase ESI utilizada, formación del spray

La espectrometría de masas en tándem (MS/MS) implica el acoplamiento de dos analizadores cuadrupolares separados entre sí por un cuadrupolo o hexapolo que actúa como celda de colisión (QqQ ó QhQ), lugar donde se puede producir la fragmentación del ión seleccionado (ión precursor/padre) al chocar sus moléculas con las de un gas de colisión. Este

proceso se conoce como disociación inducida por colisión (*Collision Induced Dissociation (CID)*) o disociación activada por colisión (*Collision Activated Dissociation (CAD)*) y está basado en la conversión de la energía translacional del ión padre en energía interna al colisionar con las moléculas del gas, utilizándose dicha energía para fragmentarlo en varios iones (ión producto/hijo).

El espectrómetro de masas utilizado en la realización del trabajo experimental dispone de un triple cuadrupolo (QqQ) como analizador de masas. En la **figura 3.21** se muestra un esquema del sistema de triple cuadrupolo del API 2000 *Applied Biosystems* donde aparecen cada uno de los parámetros característicos.

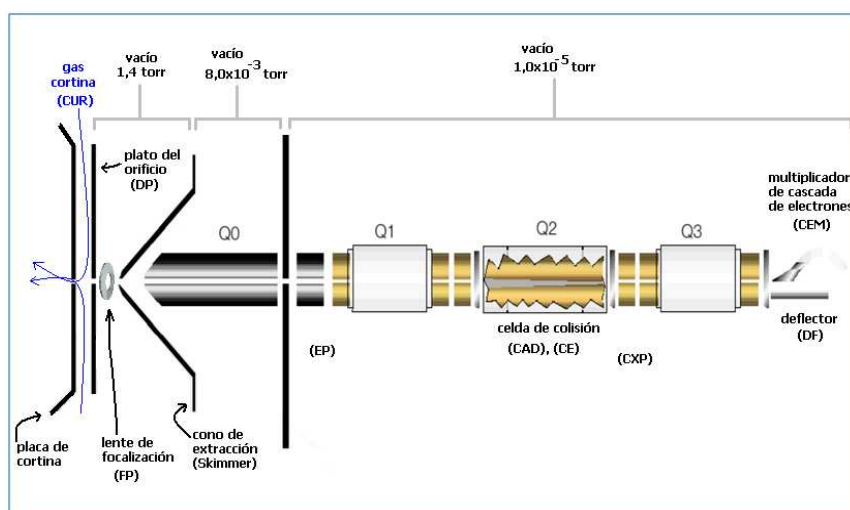


Figura 3.21. Esquema del sistema QqQ del API 2000 (*Applied Biosystems*)

A continuación se describen cada uno de los parámetros.

- **DP (Declustering Potential):** Es el voltaje aplicado a la placa del orificio. Se usa para romper agrupaciones o fragmentar iones en la

región del orificio y el cono de extracción, además de reducir el ruido químico (aumenta la sensibilidad).

- **FP (Focusing Potential):** Es el voltaje que se le aplica a la lente de focalización y que ayuda a focalizar los iones a través del cono de extracción. También ejerce efecto sobre la agrupación/fragmentación de los iones en la región del orificio y el cono de extracción.
- **EP (Entrance Potential):** Es el voltaje aplicado entre el cono de extracción y el Q0. Este voltaje acelera el torrente de iones a través de la región de alta presión (Q0) haciendo que éstos lleguen hasta la zona de baja presión, con el fin de que entren en el primer cuadrupolo (Q1).
- **CAD (Collision Activated Dissociation):** Es la presión del gas de colisión.
- **CE (Collision Energy):** Es la diferencia de potencial entre Q0 y Q2. Determina el grado de fragmentación en Q2. Afecta a la sensibilidad.
- **CXP (Collision Cell Exit Potential):** Es la diferencia de potencial aplicada entre Q2 y Q3. Este potencial provoca la aceleración y salida de los iones hijos de la celda de colisión (Q2) hasta llegar al tercer cuadrupolo (Q3). Este parámetro no es excesivamente influyente en la señal obtenida aunque se aconseja su optimización.

3.2.2. Optimización de los potenciales del espectrómetro (analitos)

La optimización de los parámetros DP, FP, EP, CXP y CE se realizó mediante perfusión de las disoluciones de las mezclas comerciales en metanol ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) por medio de una bomba de jeringa integrada en el

equipo (**figura 3.22**) a un flujo de $15 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Para ello, se fijaron los valores de partida que aparecen en la **tabla 3.9** para los parámetros relativos a la interfase ESI.



Figura 3.22. Fotografía de la realización de las perfusiones

Tabla 3.9. Valores iniciales fijados en la fuente de ionización

Parámetro	Valor
Voltaje del capilar (IS)	- 4000 V (polaridad negativa) 4000 V (polaridad positiva)
Gas nebulizador (GS1)	40 psi
Gas de secado (GS2)	-
Temperatura del gas de secado (TEM)	-
Calentador de la interfase (ihe)	On
Gas cortina (CUR)	20 psi
Posición horizontal	3 mm
Posición vertical	3 mm

La metodología de trabajo seguida fue la siguiente: en primer lugar, se realizó un barrido en modo full-scan utilizando únicamente el Q1 para buscar el ión padre correspondiente a cada patrón. En este punto se seleccionó la polaridad de trabajo más adecuada, positiva o negativa, en función de la naturaleza de los analitos. Seguidamente se optimizaron los potenciales DP, FP y EP para cada ión padre, seleccionándolo por separado en Q1 (*Single Ion Recording: SIR*). A continuación, se hizo llegar a la celda de colisión (Q2) el haz de iones correspondientes al ion padre. En la celda de colisión, el ión se fragmenta al chocar contra las moléculas del gas de colisión en función de su estructura química. Se utilizó aire como gas de colisión (*Collisionally Activated and Dissociation: CAD*). En Q3 se realizó un barrido completo en un rango de masas inferior al del ión padre para determinar los iones hijos generados. Finalmente, para cada ión hijo, por separado, se hicieron barridos de los parámetros CE y CXP para optimizar su respuesta y seleccionar aquellos iones hijos que proporcionen una mayor selectividad y sensibilidad. En la **tabla 3.9** se resumen los valores óptimos encontrados para cada tensioactivo estudiado.

Tabla 3.10. Valores óptimos de los parámetros del espectrómetro de masas

Compuesto		Q1 ión m/z (uma)	Q3 ión m/z (uma)	DP (V)	FP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
LAS	C ₁₀	297.2	183.0	-50	-350	-10	-50	-23
	C ₁₁	311.1	183.0	-50	-330	-9	-50	-30
	C ₁₂	325.5	183.0	-50	-320	-10	-50	-25
	C ₁₃	339.5	183.0	-50	-340	-10	-50	-25
AS	C ₁₂	265.2	97.0	-40	-350	-10	-35	-15
	C ₁₄	293.1	97.0	-30	-350	-10	-40	-15
	C ₁₆	321.2	97.0	-50	-350	-10	-40	-15
	C ₁₈	349.3	97.0	-40	-350	-10	-45	-15
AES C ₁₂	EO ₁	309.3	97.0	-40	-350	-10	-40	-15
	EO ₂	353.1	97.0	-40	-350	-10	-50	-15
	EO ₃	397.2	97.0	-40	-350	-10	-55	-15
	EO ₄	441.3	97.0	-40	-350	-10	-60	-15
	EO ₅	485.3	97.0	-60	-350	-10	-60	-15
AES C ₁₄	EO ₁	337.1	97.0	-40	-350	-10	-45	-15
	EO ₂	381.1	97.0	-40	-350	-10	-50	-15
	EO ₃	425.2	97.0	-85	-350	-10	-60	-15
	EO ₄	469.2	97.0	-90	-350	-10	-70	-15
	EO ₅	513.2	97.0	-90	-350	-10	-90	-15
AES C ₁₆	EO ₁	365.2	97.0	-60	-350	-10	-50	-15
	EO ₂	409.2	97.0	-60	-350	-10	-55	-15
	EO ₃	453.3	97.0	-60	-350	-10	-60	-15
	EO ₄	497.2	97.0	-60	-350	-10	-60	-15
	EO ₅	541.4	97.0	-60	-350	-10	-90	-15
AES C ₁₈	EO ₁	393.2	97.0	-40	-350	-10	-55	-15
	EO ₂	437.2	97.0	-40	-350	-10	-55	-15
	EO ₃	481.3	97.0	-40	-350	-10	-90	-15
	EO ₄	525.3	97.0	-60	-350	-10	-90	-15
	EO ₅	569.5	97.0	-100	-350	-10	-90	-15
AEO C ₁₆	EO ₅	485.4	-	80	350	10	-	-
	EO ₆	529.4	-	80	350	10	-	-
	EO ₇	573.4	-	80	350	10	-	-
	EO ₈	617.5	-	100	350	10	-	-
	EO ₉	661.4	-	100	350	10	-	-
	EO ₁₀	705.5	-	100	350	10	-	-
	EO ₁₁	749.4	-	120	350	10	-	-
	EO ₁₂	793.5	-	120	350	10	-	-
	EO ₁₃	837.5	-	140	350	10	-	-
	EO ₁₄	881.4	-	140	350	10	-	-
AEO C ₁₈	EO ₄	469.7	-	70	350	10	-	-
	EO ₅	513.4	-	80	350	10	-	-
	EO ₆	557.4	-	90	350	10	-	-
	EO ₇	601.3	-	100	350	10	-	-
	EO ₈	645.5	-	110	350	10	-	-
	EO ₉	689.5	-	120	350	10	-	-
	EO ₁₀	733.5	-	120	350	10	-	-
	EO ₁₁	777.5	-	120	350	10	-	-
	EO ₁₂	822.1	-	130	350	10	-	-
	EO ₁₃	866.1	-	140	350	10	-	-
EO ₁₄	910.2	-	150	350	10	-	-	

Los resultados mostraron que para los tensioactivos LAS, AS y AES la polaridad de trabajo debía ser negativa, registrándose el ión cuasi-molecular $[M-H]^-$ en el Q1. Para cada homólogo del LAS el fragmento seleccionado en el Q3 fue el de m/z 183, en el caso de AS y AES fue el de m/z 97. Para la familia de AEO la polaridad de trabajo seleccionada fue positiva, registrándose el ión aducto con sodio $[M+Na]^+$ en el Q1, sin embargo, para estos compuestos no se observó fragmentación alguna.

En las **figuras 3.23 - 3.36** se muestran los espectros de masas obtenidos por perfusión.

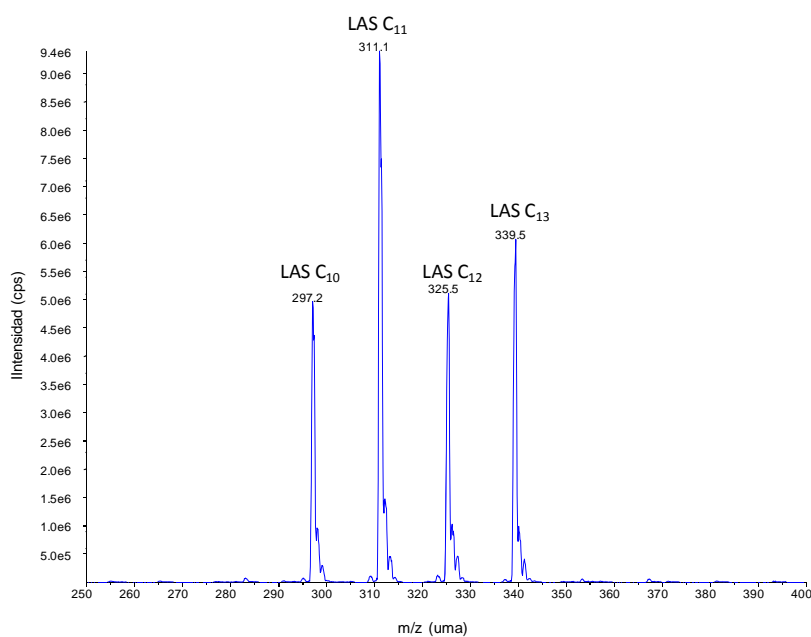


Figura 3.23. Espectro de masas Q1 para la perfusión de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS en metanol

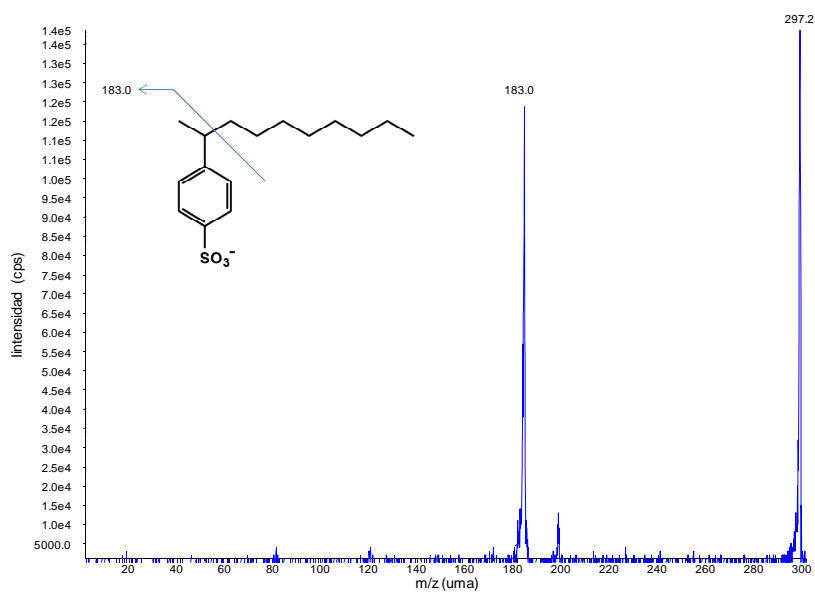


Figura 3.24. Espectro de masas Q3 para el LAS C₁₀, fragmentación

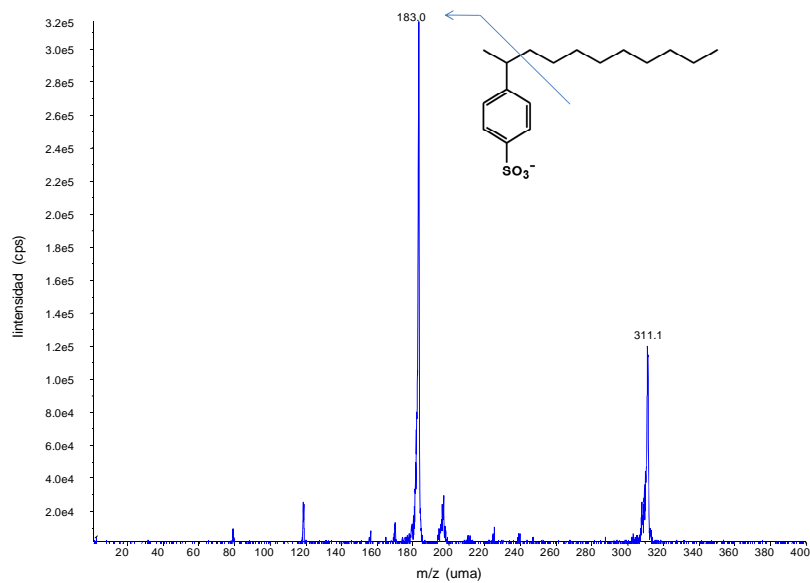


Figura 3.25. Espectro de masas Q3 para el LAS C₁₁, fragmentación

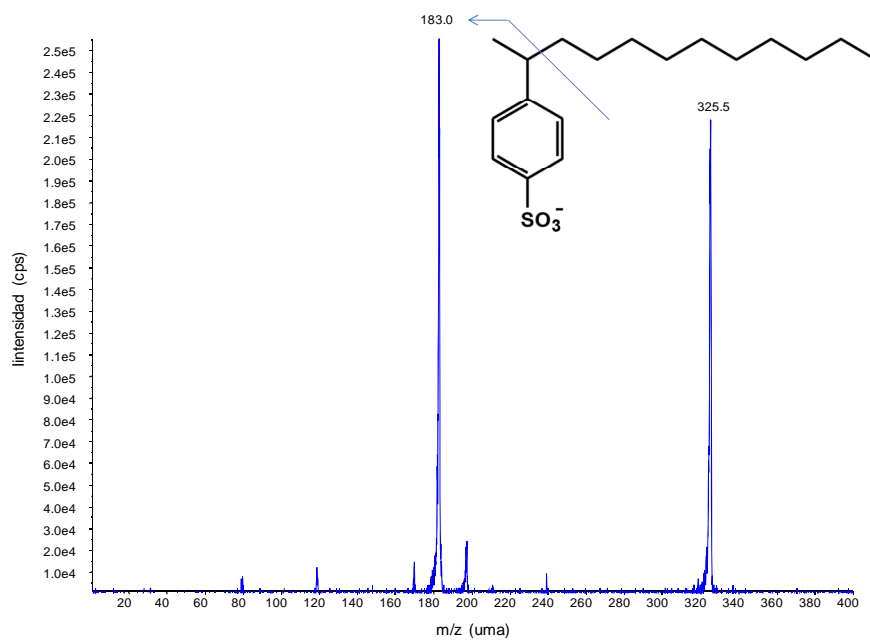


Figura 3.26. Espectro de masas Q3 para el LAS C₁₂, fragmentación

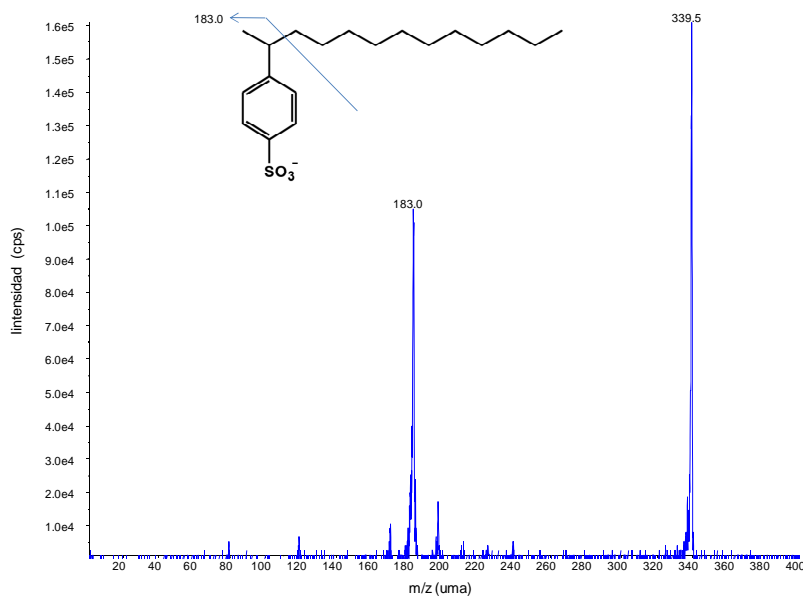


Figura 3.27. Espectro de masas Q3 para el LAS C₁₃, fragmentación

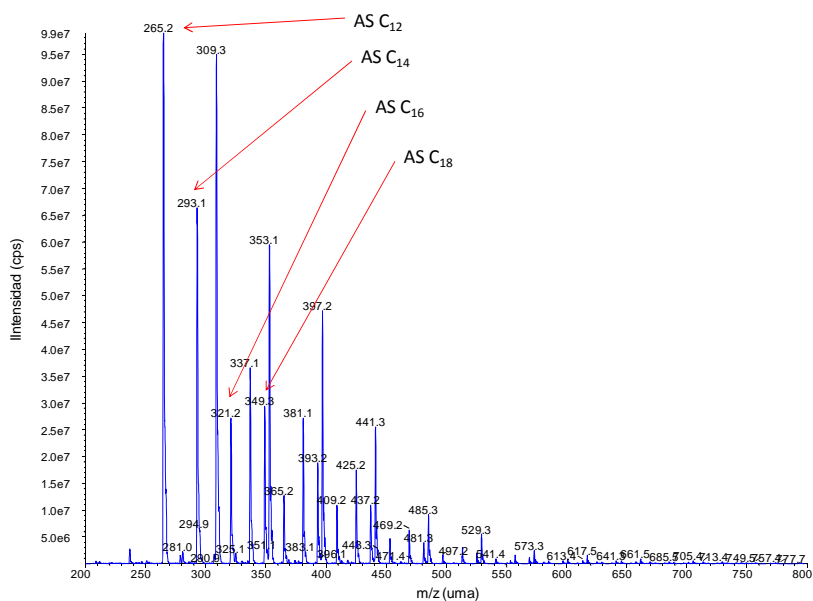


Figura 3.28. Espectro de masas Q1 para la perfusión de $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AES en metanol

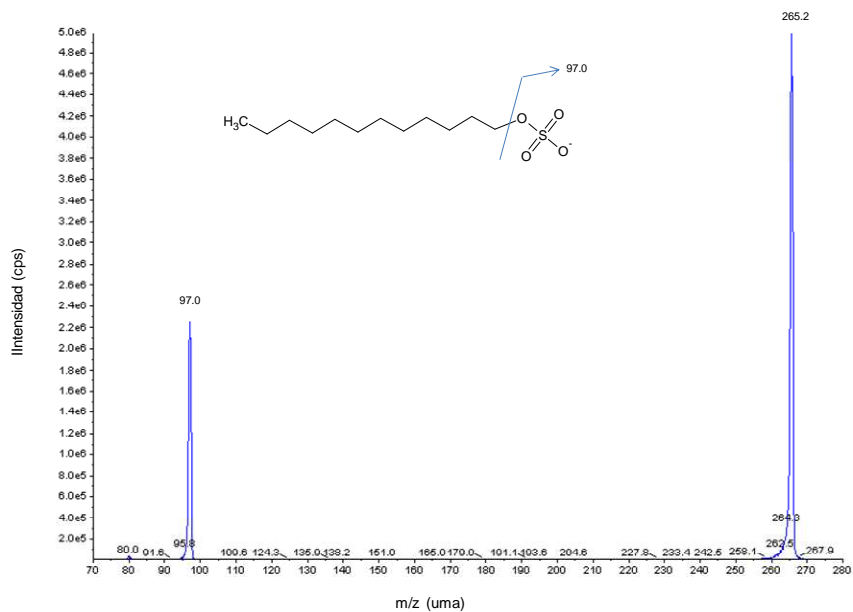


Figura 3.29. Espectro de masas Q3 para el AS C_{12} , fragmentación

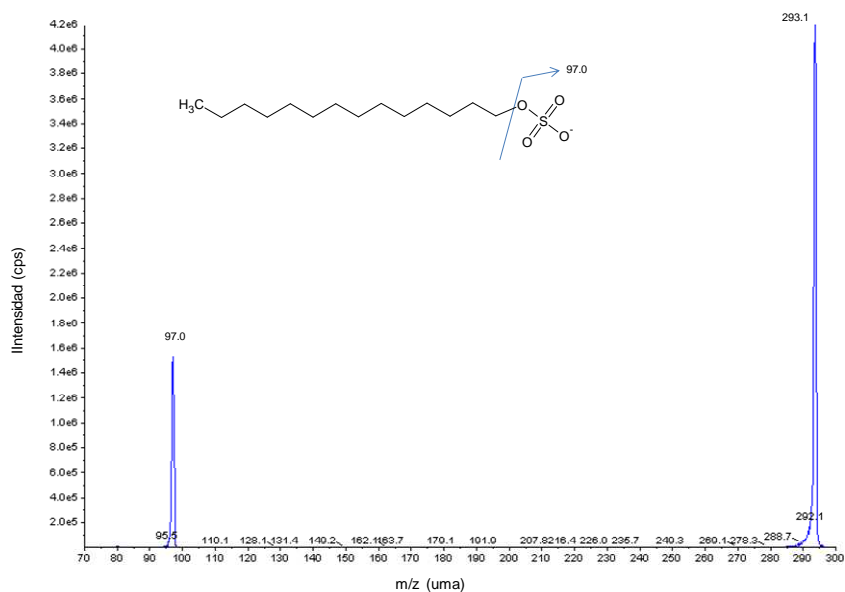


Figura 3.30. Espectro de masas Q3 para el AS C₁₄ fragmentación

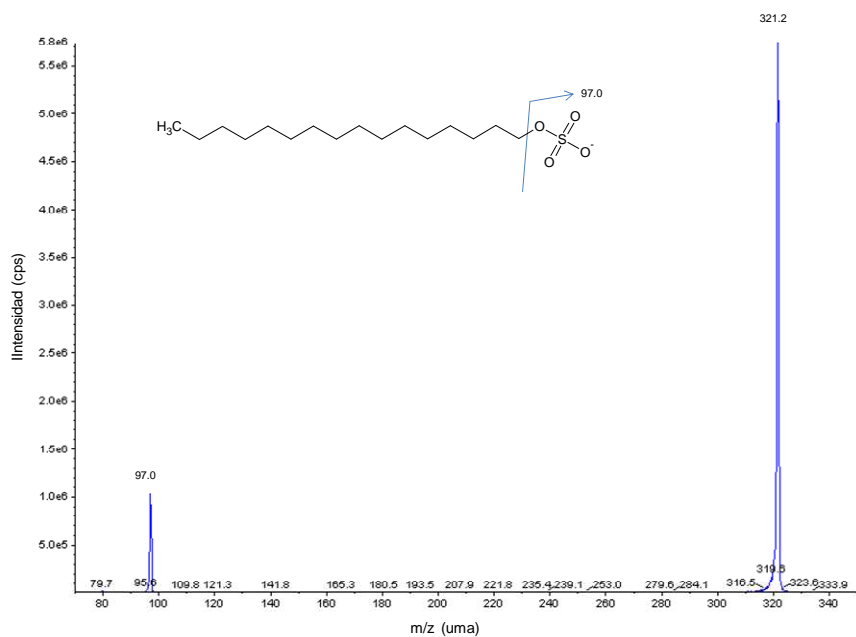


Figura 3.31. Espectro de masas Q3 para el AS C₁₆ fragmentación

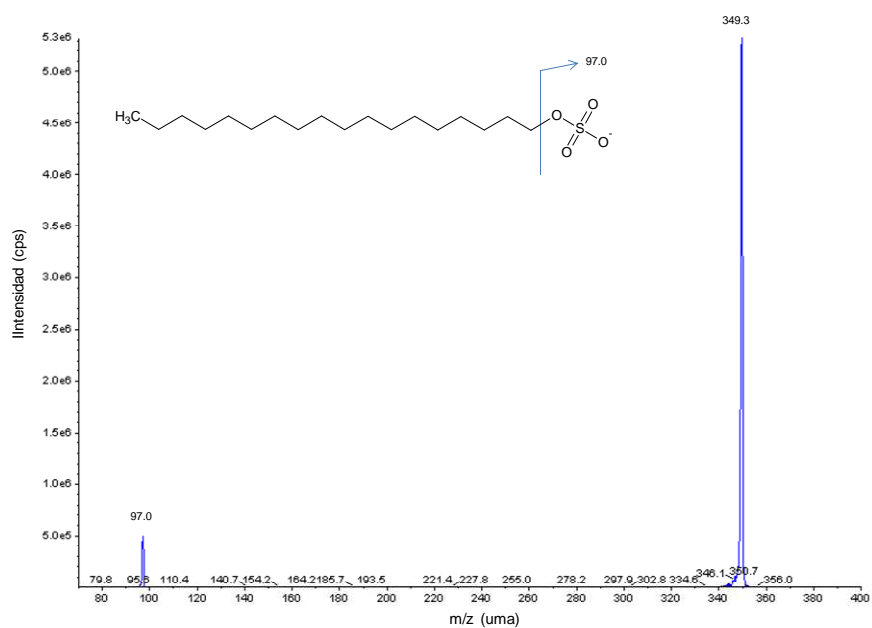


Figura 3.32. Espectro de masas Q3 para el AS C₁₈, fragmentación

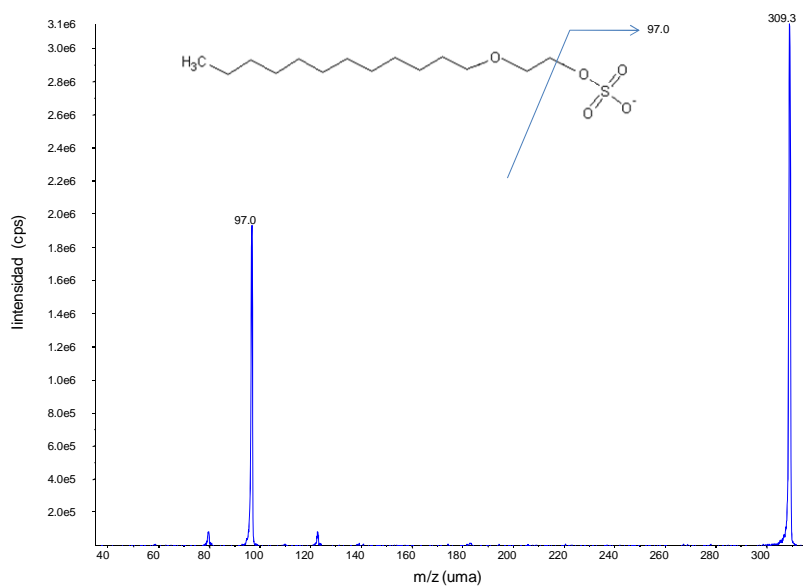


Figura 3.33. Espectro de masas Q3 para el AES C₁₂ EO₁, fragmentación

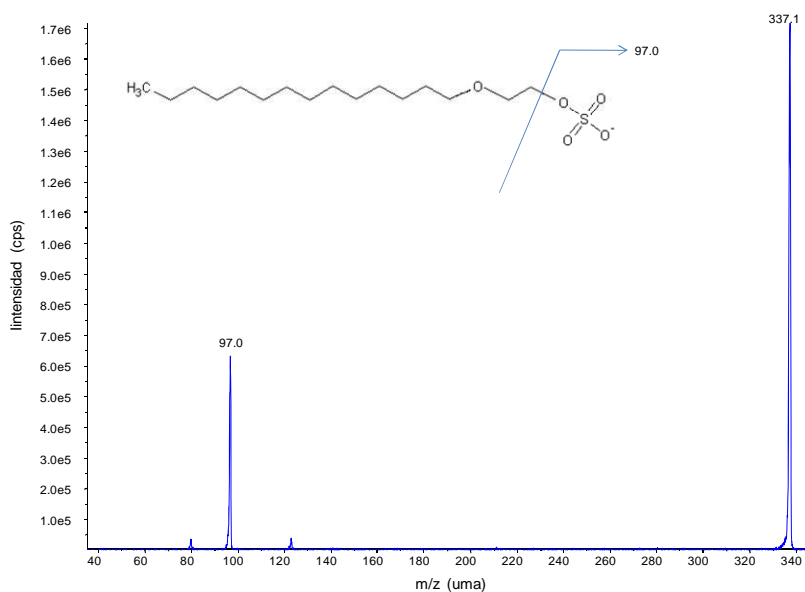


Figura 3.34. Espectro de masas Q3 para el AES C₁₄ EO₁, fragmentación

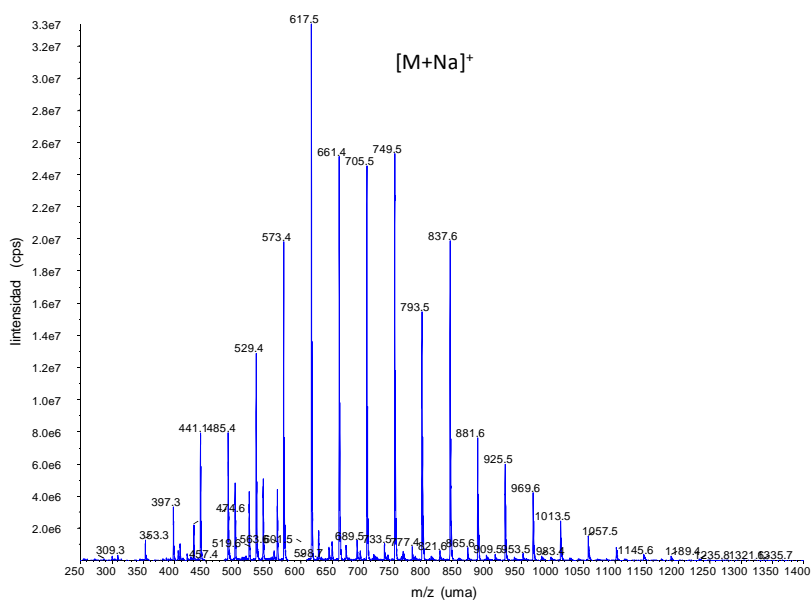


Figura 3.35. Espectro de masas Q1 para la perfusión de 100 mg·L⁻¹ de la mezcla comercial Brij 56 en metanol

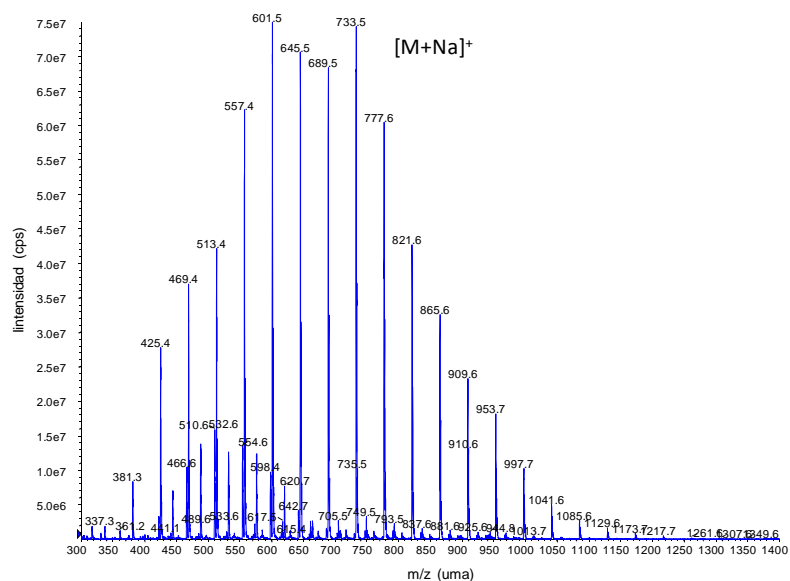


Figura 3.36. Espectro de masas Q1 para la perfusión de 100 mg·L⁻¹ de la mezcla comercial Brij 76 en metanol

A modo de ejemplo, en las **figuras 3.37 – 3.41** se muestran las gráficas obtenidas para cada uno de los parámetros optimizados en el caso del LAS C₁₀. En ellas se pueden ver los barridos de potenciales realizados para cada parámetro frente a las intensidades registradas. Se seleccionó como óptimo el potencial que dio la máxima intensidad. Para el resto de compuestos se obtuvieron gráficas análogas.

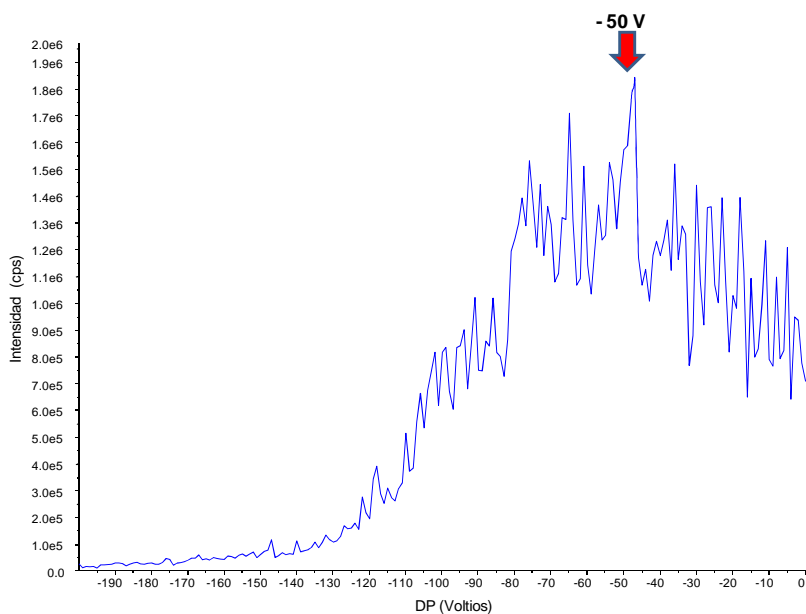


Figura 3.37. Optimización del DP para el LAS C₁₀

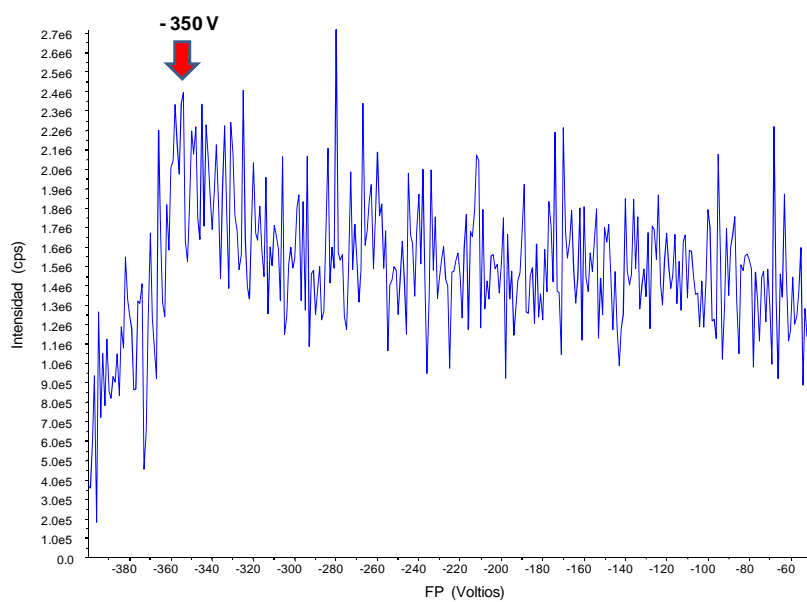


Figura 3.38. Optimización del FP para el LAS C₁₀

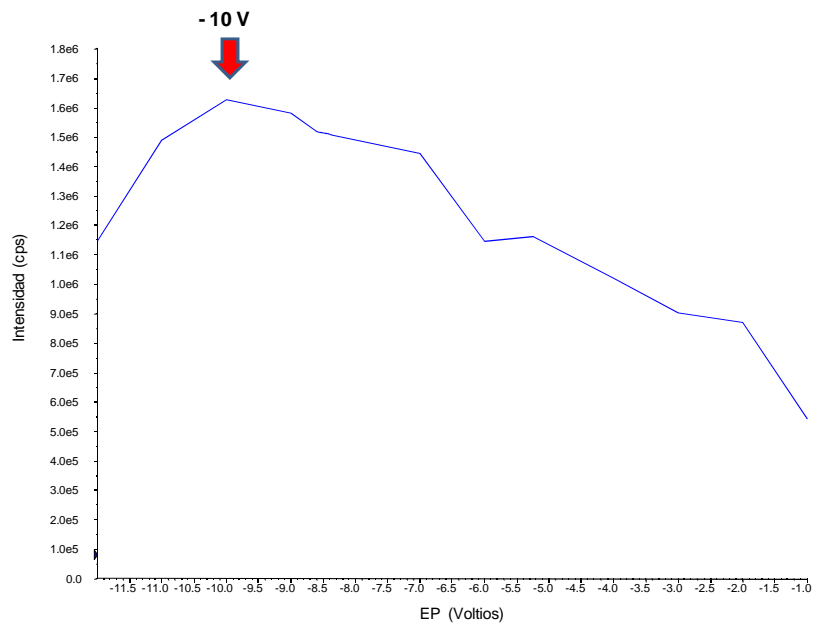


Figura 3.39. Optimización del EP para el LAS C₁₀

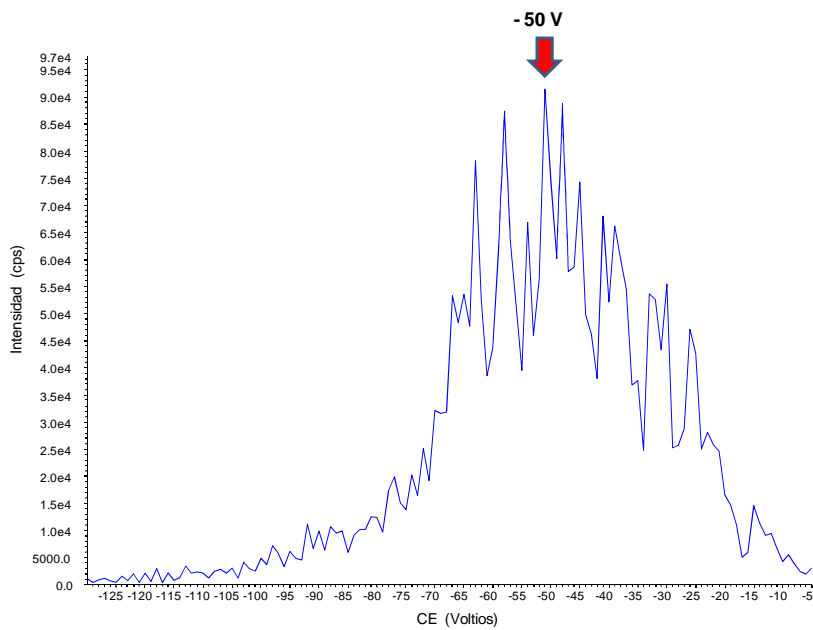


Figura 3.40. Optimización del CE para el LAS C₁₀

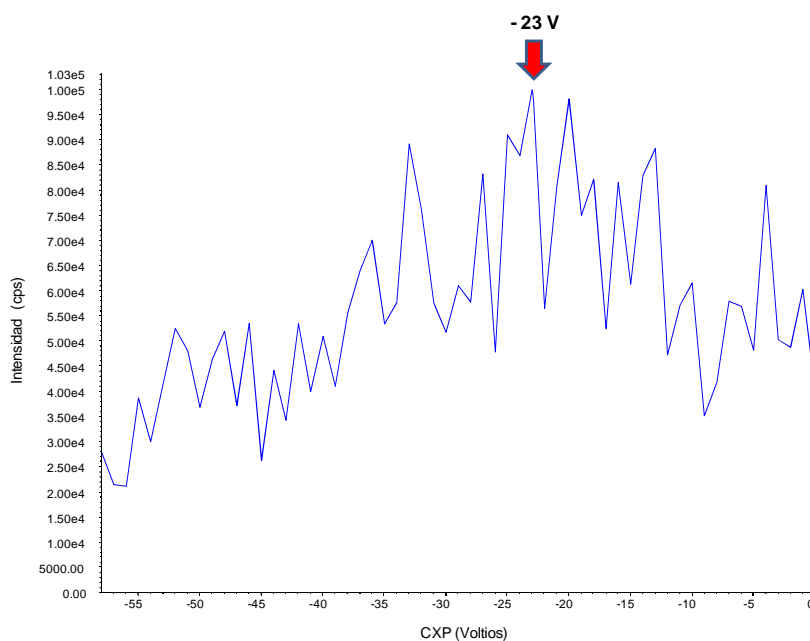


Figura 3.41. Optimización del CXP para el LAS C₁₀

3.2.3. Optimización de los potenciales del espectrómetro (patrones internos)

Para corregir las fluctuaciones en la respuesta del equipo se trabajó con la metodología de patrón interno. En este punto, se procedió a la elección de los patrones internos. Para ello, se valoraron tres aspectos: su similitud estructural y en propiedades físico-químicas con los analitos, su resolución cromatográfica con el método propuesto, y su ausencia en el medio ambiente.

Se propusieron 4 patrones internos, 2 para la polaridad negativa y 2 para la positiva. Los dos patrones internos propuestos para polaridad negativa fueron el LAS 2 ϕ C₈ y el LAS 2 ϕ C₁₆. Ambos compuestos, al igual que el resto de tensioactivos de la zona de polaridad negativa, son tensioactivos aniónicos y, al no ser comerciales, no se encontrarán en las

muestras medioambientales. Para los compuestos de polaridad positiva se propusieron 2 aminas terciarias con una cadena hidrocarbonada larga, simulando a un tensioactivo. Fueron la N,N-dimetiltetradecilamina y la N,N-dimetilhexadecilamina. Ambas aminas, al igual que los AEO, se ionizan trabajando en polaridad positiva y no sufrían fragmentación destacable.

La optimización de los parámetros DP, FP, EP, CXP y CE para los patrones internos se realizó de forma análoga a la de los analitos, mediante perfusión de las disoluciones de cada uno de los compuestos por separado ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en metanol) a un flujo de $15 \text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Los resultados se muestran en las **figuras 3.42 – 3.45** y en la **tabla 3.11**.

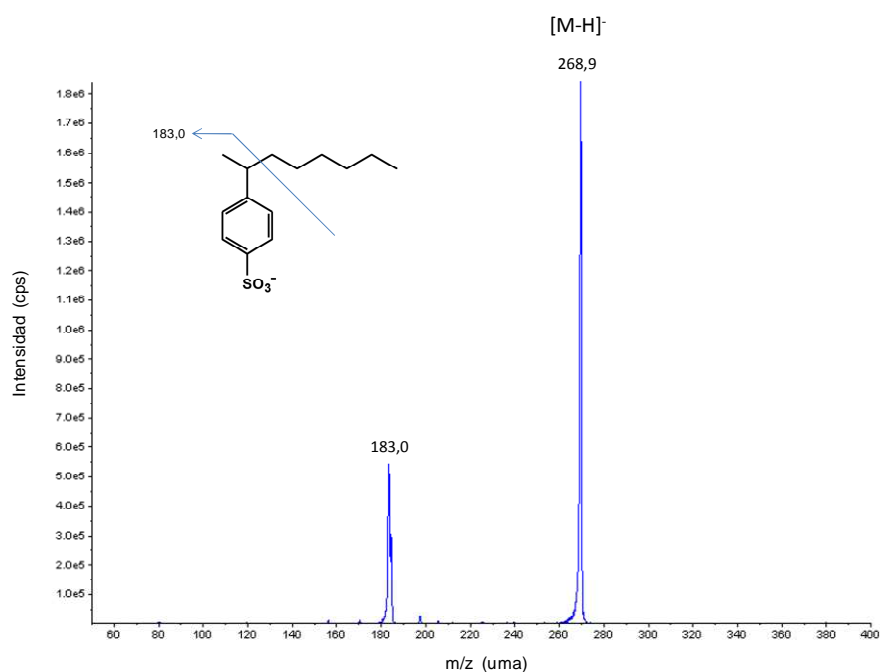


Figura 3.42. Espectro de masas para el LAS 2φ₈

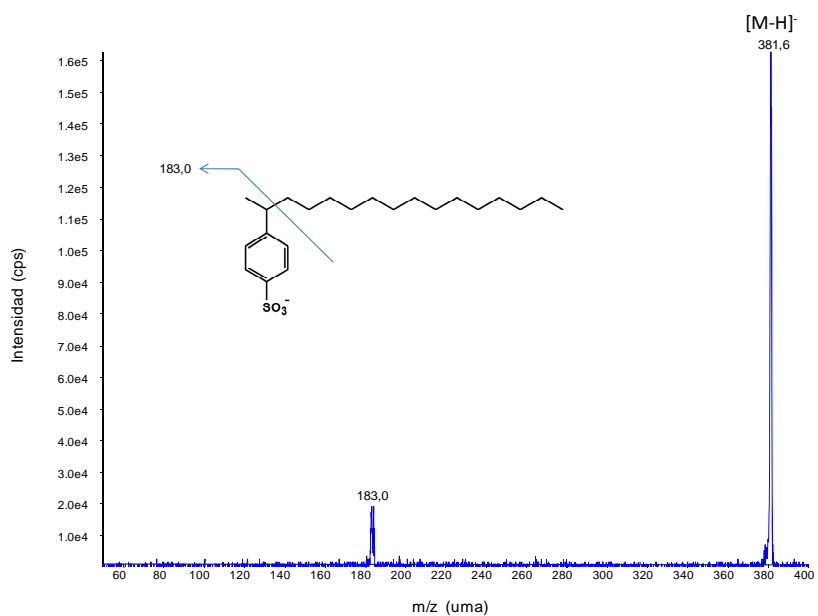


Figura 3.43. Espectro de masas para el LAS 20C₁₆

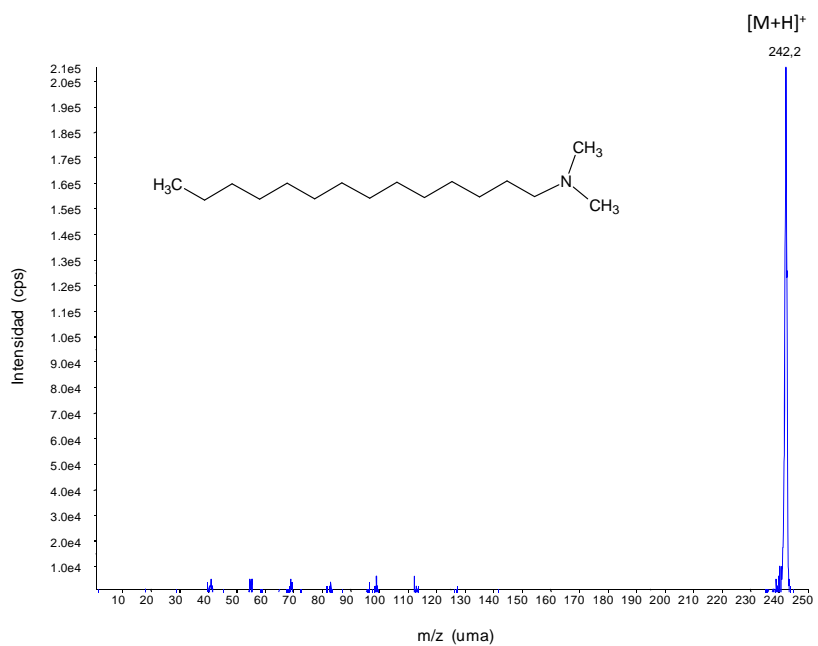


Figura 3.44. Espectro de masas para la N,N-dimetiltetradecilamina

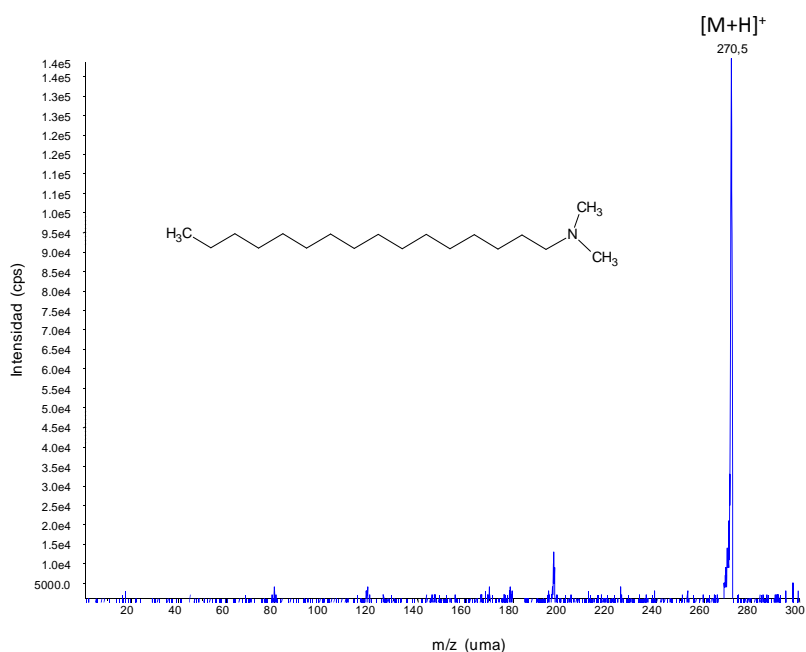


Figura 3.45. Espectro de masas para la N,N-dimetilhexadecilamina

Tabla 3.11. Valores óptimos de los parámetros del espectrómetro de masas para los patrones internos

Compuesto	Q1 ión m/z (uma)	Q3 ión m/z (uma)	DP (V)	FP (V)	EP (V)	CE (V)	CXP (V)
LAS 2φC ₈	268.9	183.0	-40	-350	-10	-50	-15
LAS 2φC ₁₆	381.6	183.0	-50	-350	-10	-65	-25
N,N-dimetiltetradecilamina	242.2	-	60	200	10	-	-
N,N-dimetilhexadecilamina	270.5	-	60	200	10	-	-

3.2.4. Optimización de la presión del gas de colisión

En último lugar, se optimizó la presión del gas de colisión, que se realizó mediante perfusión y de una forma global para todos los compuestos de polaridad de medida negativa, ya que con los compuestos en polaridad positiva se trabajaría sólo con el ión padre. La optimización se realizó llegando a una relación de compromiso para todos los compuestos

en polaridad negativa debido a que el equipo no era capaz de cambiar el valor de presión del gas de colisión a la hora de monitorizar cada compuesto. La presión óptima obtenida para el gas de colisión fue de 4 psi.

3.3. Optimización de las variables implicadas en el proceso cromatográfico

Para la determinación de los compuestos, se ha trabajado en modo monitorización de una reacción seleccionada por compuesto (*Selected Reaction Monitoring, SRM*) en todos los casos, a excepción de la familia de los AEO, donde se ha trabajado únicamente con el ión filtrado en el primer cuadrupolo para cada etoxímero (*Single Ion Monitoring, SIM*) puesto que estos compuestos no presentan fragmentación suficiente como para poder monitorizar alguna transición.

3.3.1. Selección de la fase estacionaria. Método de partida

Para la separación de los tensioactivos objeto estudio en esta Tesis Doctoral, la modalidad cromatográfica más adecuada es la cromatografía en fase reversa. El objetivo final era conseguir un método de elevada sensibilidad, con una buena separación cromatográfica. Basándose en estas premisas, para la optimización de las variables cromatográficas se seleccionó como método de partida el propuesto por *Lara-Martín y col.*⁵² cuyas condiciones se resumen en la **tabla 3.12**. En el espectrómetro de masas se fijó un tiempo de barrido por compuesto (*dwell time*) de 200 ms y los cuadrupolos Q1 y Q3 se ajustaron a un valor de resolución unitaria.

Tabla 3.12. Parámetros cromatográficos de partida

Parámetro	Valor			
Fase móvil	Disolvente A: Agua (5 mM ácido acético + 5 mM trietilamina) / Disolvente B: Metanol			
Gradiente	t (min)	% B	t (min)	% B
	0	0	35	100
	5	0	120	100
	20	70	125	0
Flujo	150 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$			
Temperatura de columna	30 °C			
Volumen de inyección	40 μL (máximo del equipo)			
Composición vial de inyección	Metanol/agua (80:20)			

En la **tabla 3.13** se muestran los valores de partida que se fijaron para la interfase ESI. La única diferencia con los fijados a la hora de realizar las perfusiones en metanol, fue que en este caso se activó el gas de secado (GS2) puesto que se iba a trabajar con fases móviles acuosas.

Tabla 3.13. Parámetros de partida para la interfase ESI

Parámetro	Valor
Voltaje del capilar (IS)	- 4000 V (polaridad negativa) 4000 V (polaridad positiva)
Gas nebulizador (GS1)	40 psi
Gas de secado (GS2)	40 psi
Temperatura del gas de secado (TEM)	400 °C
Calentador de la interfase (ihe)	On
Gas cortina (CUR)	20 psi
Posición horizontal	3 mm
Posición vertical	3 mm

Inicialmente, se realizaron dos inyecciones cromatográficas, una en polaridad negativa para LAS, AS y AES, y otra en polaridad positiva para AEO. Así, durante el proceso de optimización siempre se tendría ubicado cada analito en el cromatograma, incluso en caso de solapamiento. Una

vez establecida y separada la zona de elución de los compuestos en polaridad negativa de la zona de los compuestos en polaridad positiva, se fijó un tiempo al cual el equipo realizaría el cambio de polaridad automático, permitiendo tener las dos polaridades en un mismo cromatograma.

Se ensayaron 2 columnas cromatográficas de diferente longitud obteniéndose los cromatogramas de las **figuras 3.46 - 3.47**.

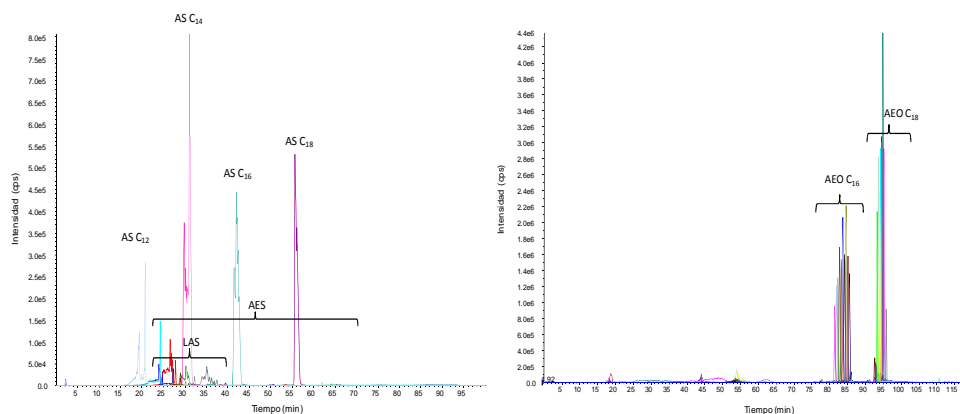


Figura 3.46. Cromatograma obtenido para la columna Phenomenex 150 x 2.10 mm 2.6 μm C₁₈ Kinetex. A la izquierda, polaridad negativa; a la derecha, polaridad positiva

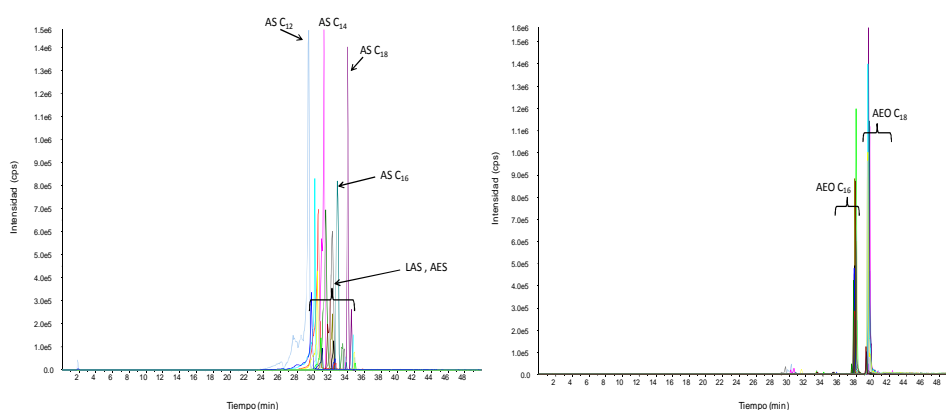


Figura 3.47. Cromatograma obtenido para la columna Phenomenex 100 x 2.10 mm 2.6 μm C₁₈ Kinetex. Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

Los cromatogramas obtenidos demostraron que la columna *Phenomenex 100 x 2.10 mm 2.6 μ m C₁₈ Kinetex*, es la que presentó una mejor relación entre tiempo de análisis y resolución de los analitos, por lo que se seleccionó como columna de trabajo.

3.3.2. Optimización de la composición del vial de inyección

Con el objetivo de mejorar la morfología de los picos, se ensayaron diferentes composiciones finales en el vial de inyección. Se prepararon 2 viales con los patrones, uno donde la proporción de metanol se aumentó hasta el 100 % y otro donde se bajó hasta el 70 %. Las **figuras 3.48 y 3.49** muestran los resultados obtenidos.

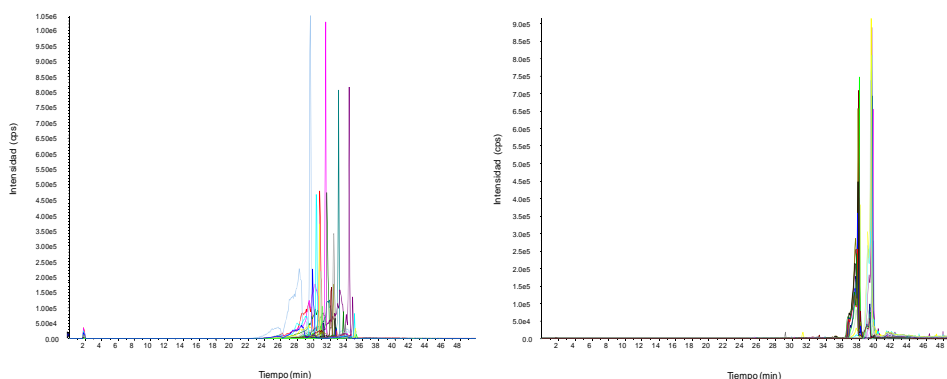


Figura 3.48. Cromatograma para el 100 % de metanol.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

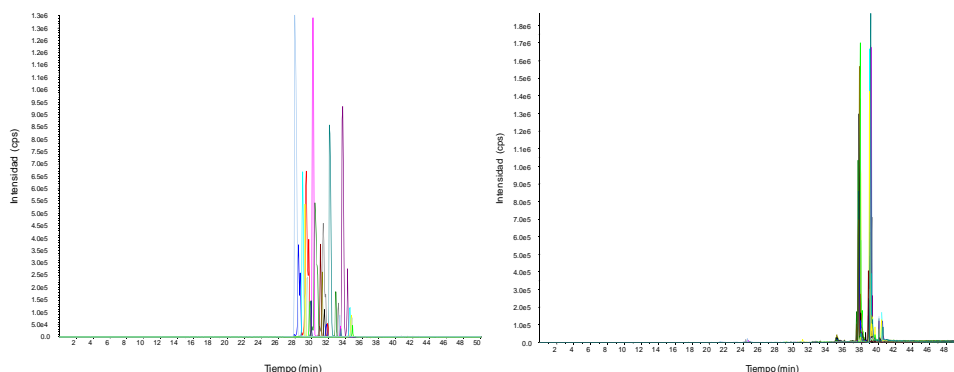


Figura 3.49. Cromatograma para el 70 % de metanol.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

Los cromatogramas obtenidos con una proporción de 30 % agua y 70 % metanol, generaban picos cromatográficos de mejores características.

3.3.3. Optimización del disolvente orgánico para la fase móvil

Para de disminuir el tiempo de análisis y aumentar la resolución cromatográfica, se propusieron diferentes disolventes orgánicos para la fase móvil (canal B). Se ensayó el tetrahidrofurano, el acetonitrilo y el etanol. Las **figuras 3.50 a 3.52** muestran los cromatogramas obtenidos.

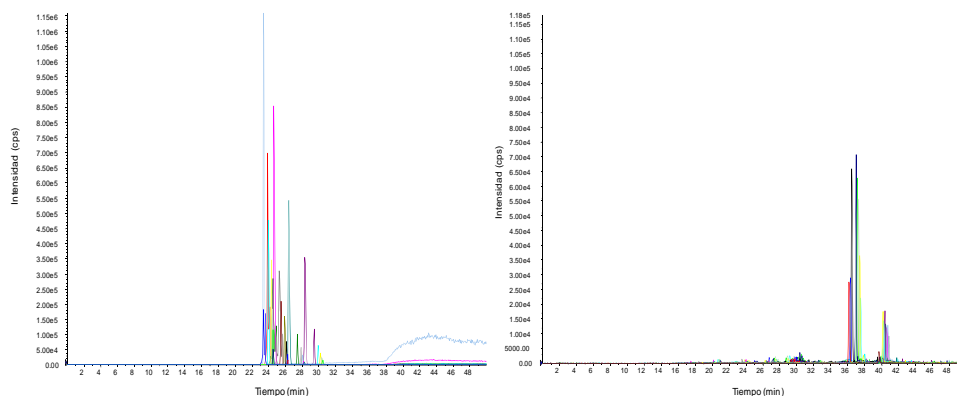


Figura 3.50. Cromatograma con acetonitrilo.
Polaridad negativa (izquierda) y negativa (derecha)

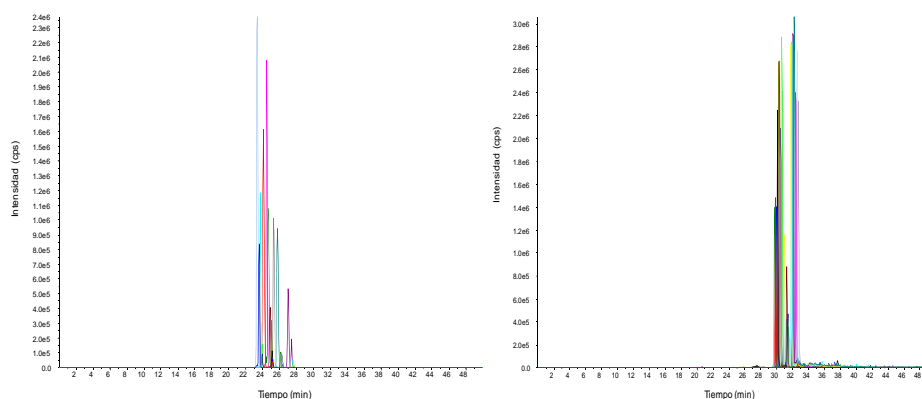


Figura 3.51. Cromatograma con etanol.
Polaridad negativa (izquierda) y negativa (derecha)

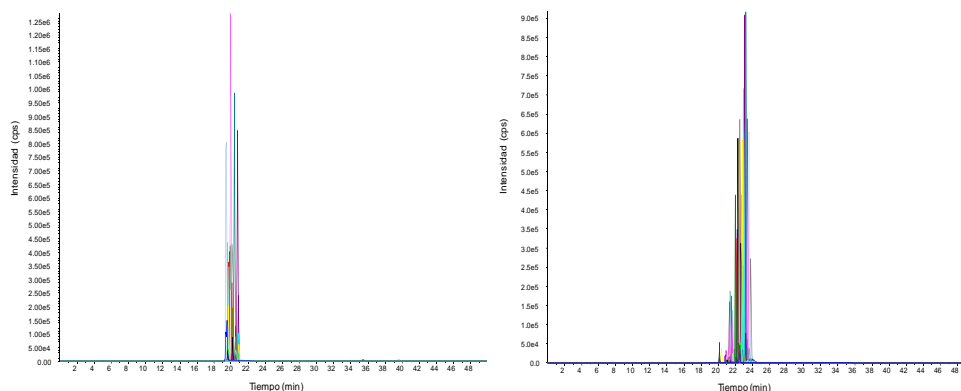


Figura 3.52. Cromatograma con tetrahidrofurano.
Polaridad negativa (izquierda) y negativa (derecha)

El uso de etanol como modificador orgánico, proporcionaba la mejor solución de compromiso entre resolución cromatográfica y tiempo de análisis. Aunque el etanol producía un ligero aumento de la presión de trabajo hasta 5000 psi, el equipo de alta presión del que se disponía era capaz de soportar hasta 8700 psi. Además, con etanol se obtenía la respuesta analítica de mayor intensidad. Otro dato a su favor es que el etanol es un disolvente menos tóxico que el metanol y el acetonitrilo. Con tetrahidrofurano, aunque se obtenía una menor presión de trabajo y tiempos de análisis, la resolución fue notablemente inferior. Por lo tanto, se seleccionó el etanol como modificador orgánico.

3.3.4. Optimización del gradiente cromatográfico

A continuación, con la finalidad de reducir el tiempo del análisis cromatográfico, se ensayaron los diferentes gradientes de composición de la fase móvil mostrados en la **figura 3.53**.

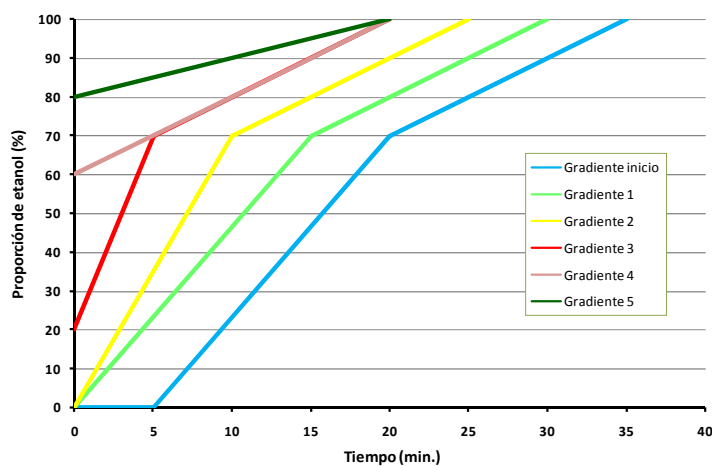


Figura 3.53. Representación gráfica de los diferentes gradientes

- Gradiente 1: T_0 0 %B; T_{15} 70 %B; T_{30} 100 %B.
- Gradiente 2: T_0 0 %B; T_{10} 70 %B; T_{25} 100 %B.
- Gradiente 3: T_0 20 %B; T_5 70 %B; T_{20} 100 %B.
- Gradiente 4: T_0 60 %B; T_{20} 100 %B.
- Gradiente 5: T_0 80 %B; T_{20} 100 %B.

En las **figuras 3.54 – 3.58** se muestran los cromatogramas obtenidos.

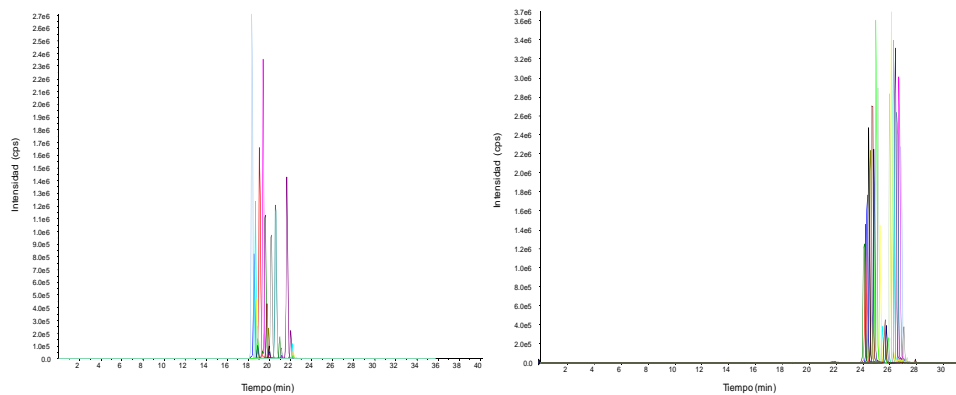


Figura 3.54. Cromatograma gradiente 1.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

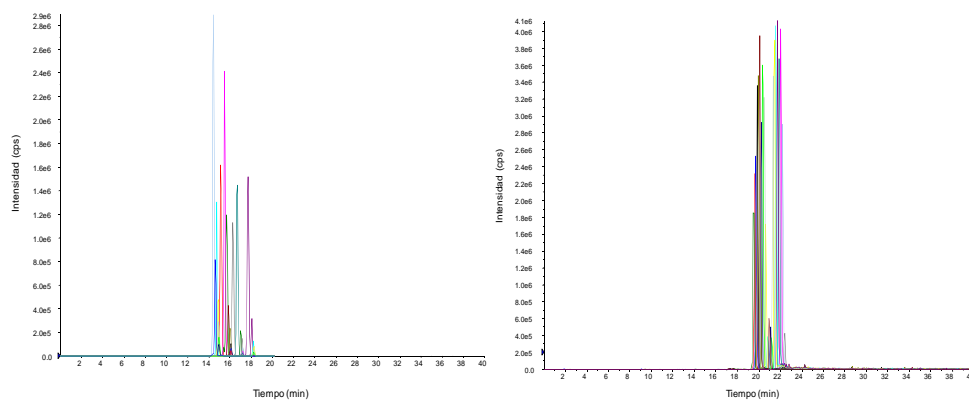


Figura 3.55. Cromatograma gradiente 2.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

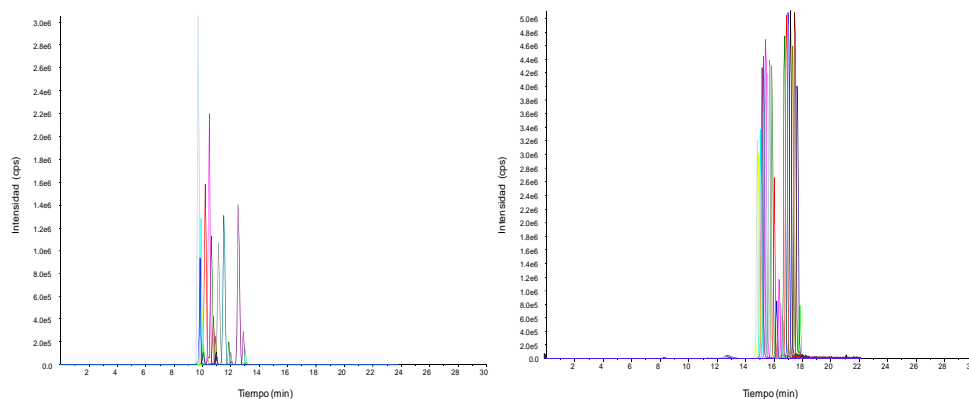


Figura 3.56. Cromatograma gradiente 3.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

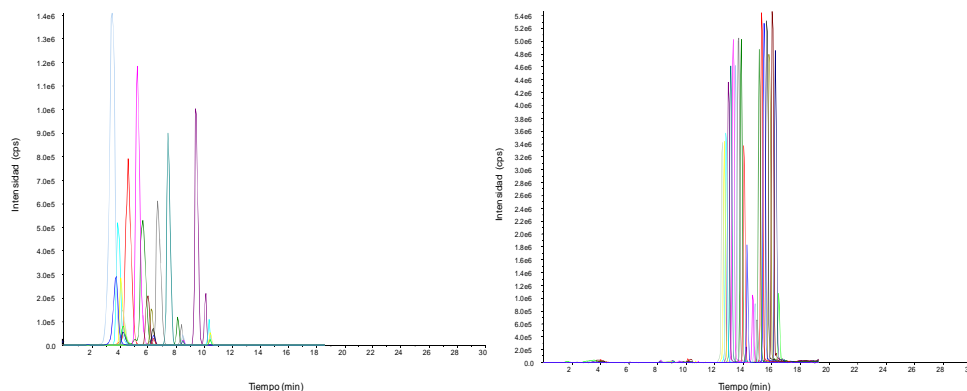


Figura 3.57. Cromatograma gradiente 4.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

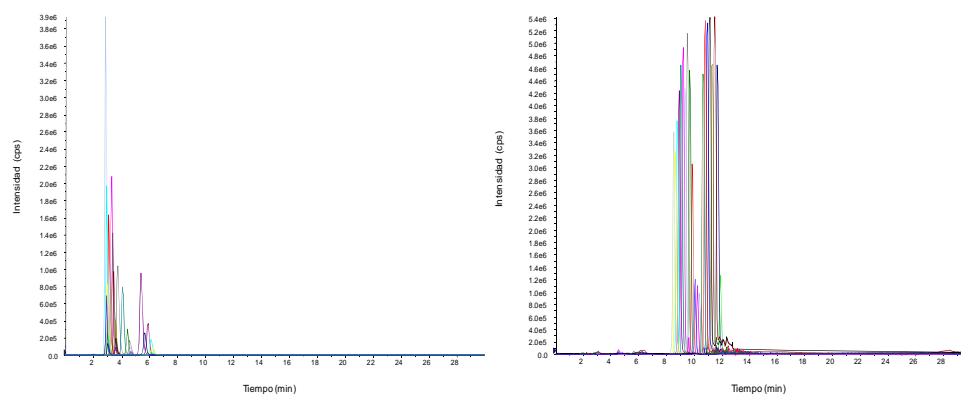


Figura 3.58. Cromatograma gradiente 5.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

El aumento en la proporción de etanol provocaba una disminución en los tiempos de retención. Se seleccionó como óptimo el gradiente número 5.

3.3.5. Optimización del flujo de la fase móvil

Para optimizar el flujo de fase móvil, se ensayaron diferentes flujos superiores al flujo de partida puesto que se quería reducir el tiempo de análisis. Los resultados se muestran en las **figuras 3.59 – 3.60**.

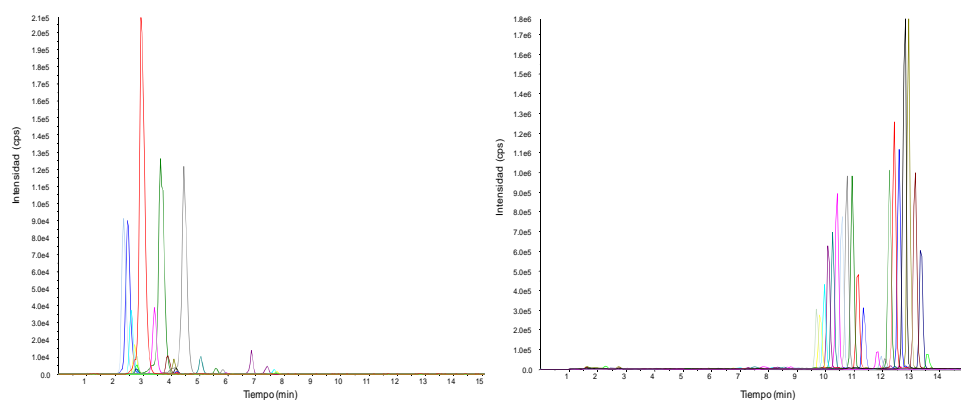


Figura 3.59. Cromatograma para flujo $200 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

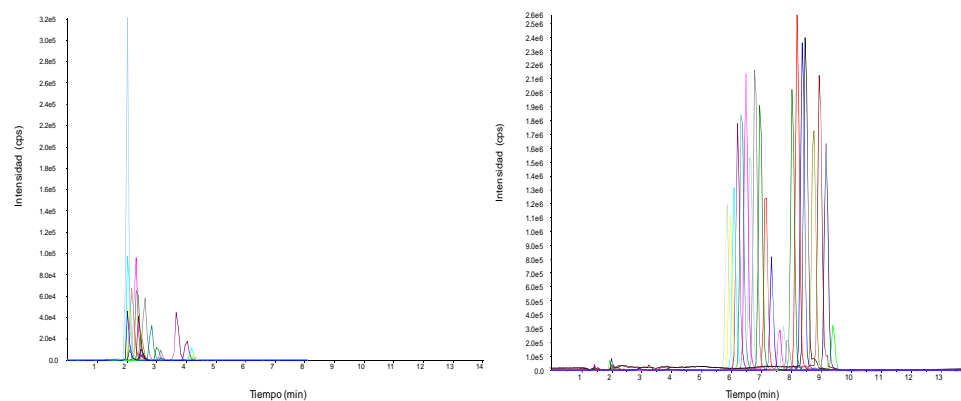


Figura 3.60. Cromatograma para flujo $250 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

Se eligió $200 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ como flujo de trabajo, ya que, aunque a flujos superiores se obtenían menores tiempos de cromatograma, se empeoraba notablemente la resolución entre las bandas de cada compuesto.

3.3.6. Optimización de la temperatura de la columna

La temperatura de la columna es un parámetro muy influyente sobre la reproducibilidad del método, ya que tanto la viscosidad de la fase móvil como la interacción de los analitos con la fase estacionaria son fenómenos que se ven afectados en gran medida por este factor. Un aumento en la temperatura origina una disminución en la viscosidad de la fase móvil y una disminución, por tanto, de la presión del sistema, mejorando la eficiencia de la separación, pero a su vez puede implicar una disminución en la interacción de los analitos con la fase estacionaria. A temperaturas elevadas se puede producir la hidrólisis de la fase estacionaria y pérdida de eficacia y resolución en la separación. Se estudió un aumento en la temperatura en el horno de la columna, de los 30 °C iniciales a 35 °C. Los cromatogramas obtenidos se muestran en la **figura 3.61**.

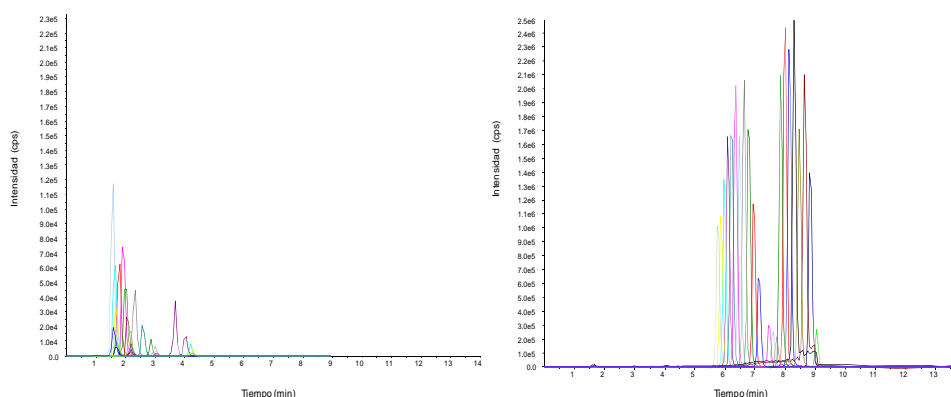


Figura 3.61. Cromatograma a 35 °C.
Polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

El aumento de temperatura, origina una disminución en los tiempos de retención, pero a su vez, se produce una pérdida de resolución. Se mantuvo la temperatura inicial de 30 °C como solución de compromiso.

3.3.7. Control del pH

La tolerancia al pH de las columnas empleadas está comprendida entre 2.5 y 8.0. La modificación del pH tiene mucha importancia, ya que la carga de los grupos silanoles enlazados a la fase estacionaria depende en gran medida de la concentración de iones hidronio del medio, pudiendo en muchos casos modificar la separación de manera sustancial. En este estudio, puesto que se estaba trabajando con una disolución acuosa de ácido acético y trietilamina en el canal A, se midió el pH obteniendo un valor de 6. Esto nos aseguraba el correcto uso de la columna cromatográfica.

3.3.8. Estudio del comportamiento de los patrones internos

Se estudió el comportamiento de los patrones internos seleccionados con el método cromatográfico desarrollado. Se prepararon disoluciones de los compuestos de concentración $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en una mezcla metanol/agua (70:30, v/v) y se inyectaron en el cromatógrafo. En la **figura 3.62** se muestran los cromatogramas obtenidos.

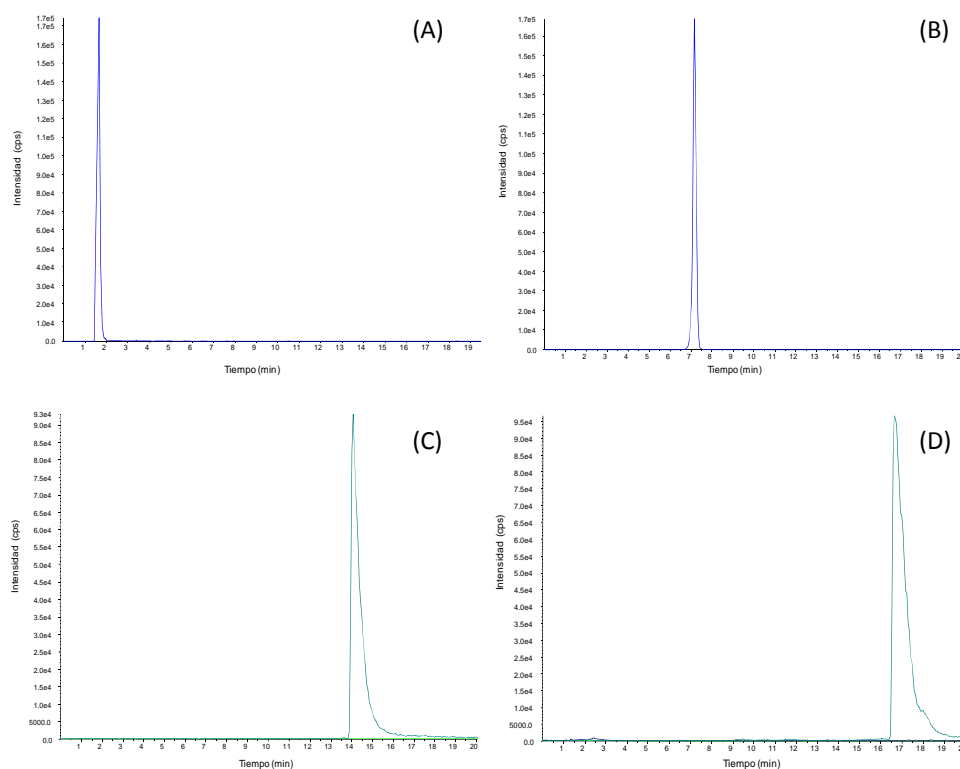


Figura 3.62. Cromatogramas de (A) LAS $2\text{Ø}C_8$, (B) LAS $2\text{Ø}C_{16}$, (C) *N,N*-dimetiltetradecilamina y (D) *N,N*-dimetilhexadecilamina

Se seleccionó como patrón interno para polaridad negativa el LAS $2\text{Ø}C_{16}$, debido a que presentaba un mejor comportamiento cromatográfico que el LAS $2\text{Ø}C_8$ que apenas interactuaba con la fase estacionaria saliendo con el frente del disolvente. Para polaridad positiva se seleccionó el patrón interno *N,N*-dimetiltetradecilamina. Ambos patrones internos se fijaron a una concentración de $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ preparados en metanol/agua (70:30, v/v).

3.3.9. Resumen de las condiciones cromatográficas óptimas

En la **Tabla 3.14** se resumen las condiciones cromatográficas óptimas seleccionadas. Nótese que en el gradiente a partir del minuto 14 se ha insertado la etapa de reequilibrado de la columna a las condiciones iniciales, durando todo el proceso un total de 20 minutos.

Tabla 3.14. Condiciones cromatográficas óptimas

Parámetro	Valor	
Columna cromatográfica	Phenomenex Kinetex 100 x 2.10 mm 2.6 μ m C18	
Fase móvil	Disolvente A: Agua (5 mM ácido acético + 5 mM trietilamina) / Disolvente B: Etanol	
Gradiente	<u>t (min)</u>	<u>% B</u>
	0.0	60
	14.0	88
	14.5	60
	20.0	60
Flujo	200 μ L \cdot min ⁻¹	
Temperatura de columna	30 °C	
Volumen de inyección	40 μ L (máximo del equipo)	
Composición del vial de inyección	2 mg \cdot L ⁻¹ LAS 2 ϕ C ₁₆ + 2 mg \cdot L ⁻¹ N,N-dimetiltetradecilamina, Metanol/Agua (70:30, v/v)	

3.4. Optimización de las variables de la fuente de ionización (Interfase ESI)

En este apartado se muestra la optimización de los parámetros relativos a la interfase del cromatógrafo de líquidos-espectrómetro de masas. La optimización se realizó de forma univariante, registrando los cromatogramas para cada uno de valores ensayados para cada parámetro y para las dos polaridades por separado. La **tabla 3.15** muestra los resultados obtenidos.

Tabla 3.15. Valores óptimos para los parámetros de la interfase ESI

Parámetro	Valor Óptimo	
	Polaridad negativa	Polaridad positiva
Voltaje del capilar (IS)	- 4200 V	4300 V
Gas nebulizador (GS1)	50 psi	50 psi
Gas de secado (GS2)	55 psi	50 psi
Temperatura del gas de secado (TEM)	450 °C	450 °C
Calentador de la interfase (ihe)	On	On
Gas cortina (CUR)	45 psi	40 psi
Posición horizontal	3 mm	3 mm
Posición vertical	3 mm	3 mm

3.5. Optimización del tiempo de barrido (dwell time)

Partiendo de un tiempo de barrido de 200 ms para todos los compuestos, una vez optimizada la separación cromatográfica, se optimizó dicho parámetro con el objetivo de obtener al menos 10 puntos de registro para cada pico cromatográfico, asegurando así una correcta integración del pico cromatográfico, **figura 3.63**.

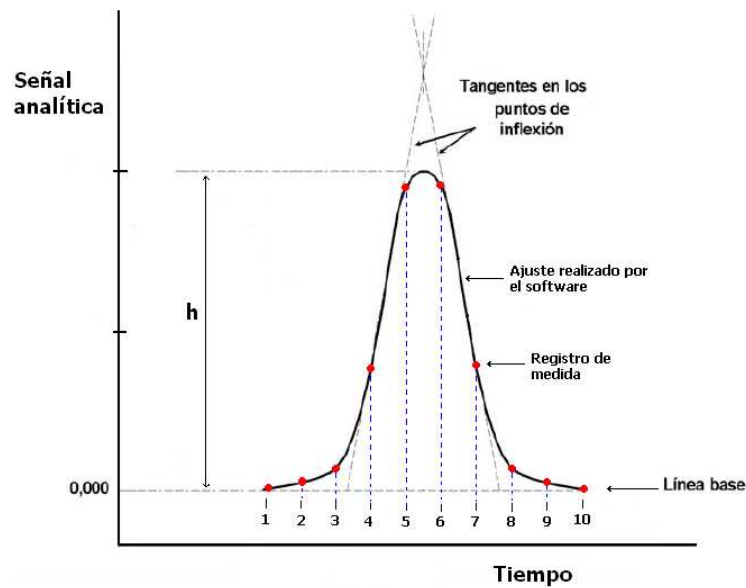


Figura 3.63. Representación de 10 puntos de registro en un pico cromatográfico

Se seleccionó el pico más estrecho y se calculó su anchura de banda. Seguidamente, teniendo en cuenta que se deseaban 10 registros por pico, se calculó el tiempo que debía durar un ciclo (barrido completo de analitos), dividiendo la anchura de banda entre 10. Una vez conocido el tiempo total de un ciclo, se repartió entre el número total de analitos. De esta forma se calculó el tiempo de barrido máximo que el equipo debía invertir por compuesto para que el pico más estrecho tuviera al menos 10 registros de medida. Los resultados obtenidos fueron, para polaridad negativa un tiempo de 82 ms y para polaridad positiva 130 ms.

3.6. Cromatograma óptimo

En la **figura 3.64** se muestran los cromatogramas obtenidos bajo las condiciones óptimas alcanzadas en todos los apartados anteriores para una disolución que contenía $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS; $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de la mezcla comercial de AES; $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Brij 56 y $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Brij 76.

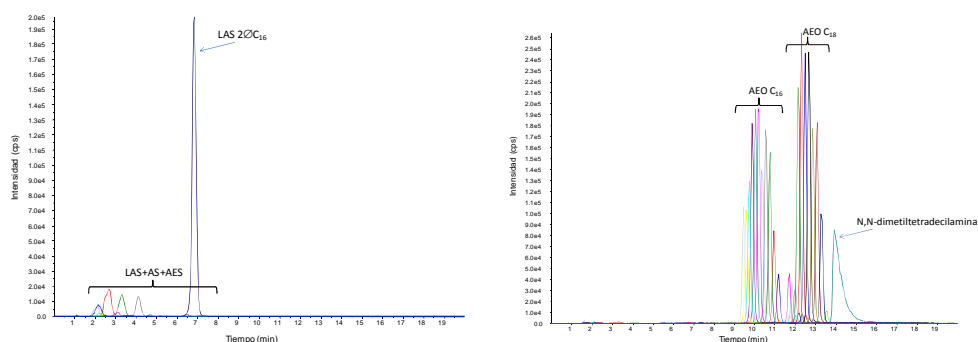


Figura 3.64. Cromatograma en polaridad negativa (izquierda) y positiva (derecha)

El cambio automático de polaridad del espectrómetro de masas se fijó a un tiempo de 8.5 minutos. Durante los primeros 8.5 minutos el equipo trabajaría en polaridad negativa y a partir de este tiempo en positiva, de forma que en un solo cromatograma quedarían registrados todos los tensioactivos seleccionados. La **figura 3.65** muestra el cromatograma obtenido, donde se representan las cuentas totales por segundo de los iones (TIC) frente al tiempo.

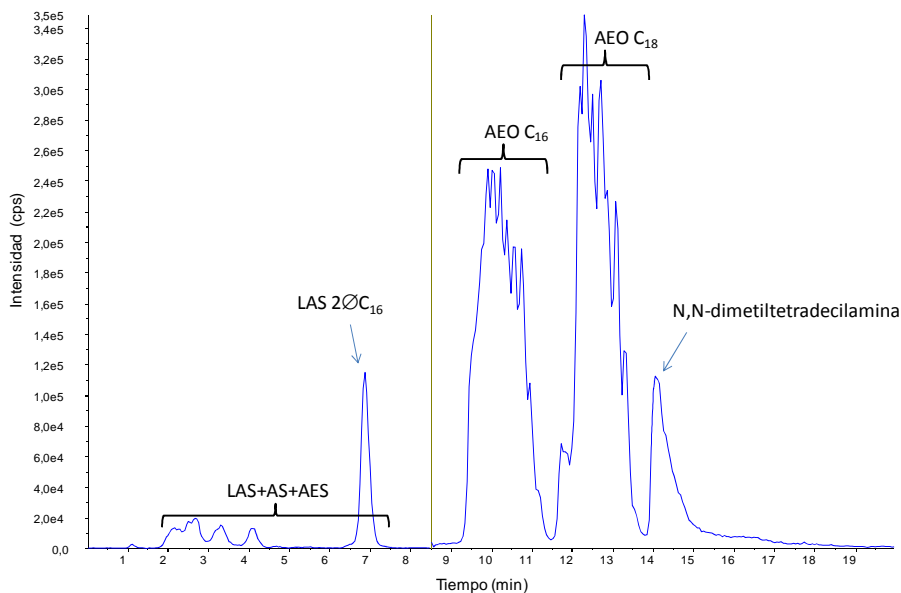


Figura 3.65. Cromatograma con las dos polaridades en modo TIC

CAPÍTULO IV

Tratamiento de Muestra

De las etapas que componen el proceso analítico, una de las más críticas es, sin duda, el tratamiento de la muestra. En el caso de muestras sólidas, el proceso se puede generalizar de la siguiente manera. En primer lugar, la muestra debe ser secada y a continuación triturada y homogeneizada para permitir una toma de muestra representativa a la hora de pesar, y aumentar el área superficial, lo que facilita la extracción de los analitos. A continuación, los analitos son extraídos de la matriz con un disolvente adecuado, que puede variar en función de las características de los analitos, de la matriz y del proceso elegido para ello. Con esta finalidad pueden ser empleadas diversas técnicas, como extracción asistida con ultrasonidos (*USE*), con disolventes presurizados (*PLE*), mediante soxhlet, asistida por microondas (*MAE*), fluidos supercríticos, agitación, etc. En la **figura 4.1** se muestra un diagrama de las distintas técnicas.



Figura 4.1. Diagrama de las técnicas de extracción para matrices sólidas

De forma habitual, una vez que los compuestos de interés se encuentran en disolución, se realiza un proceso de limpieza y/o concentración para eliminar posibles interferencias y/o aumentar la sensibilidad. Para ello se pueden emplear técnicas, como la extracción líquido-líquido (*LLE*) o la extracción en fase sólida (*SPE*). Finalmente, puede hacerse necesario un cambio del disolvente para adecuar la disolución a inyectar al sistema de análisis que se pretende utilizar.

En este capítulo se presenta la metodología de tratamiento de muestra y la optimización de las variables implicadas en cada una de las etapas que la conforman. En primer lugar, se realiza una revisión bibliográfica donde se presentan los trabajos más relevantes relacionados, resaltando las principales características de cada uno de ellos. A continuación, a tenor de los trabajos previos realizados, se propone la metodología de tratamiento de muestra a utilizar en el presente trabajo. En la tercera parte, se procede a la optimización de las variables implicadas en las distintas etapas del tratamiento de muestra propuesto. Para finalizar, se muestra un resumen del procedimiento optimizado.

1. TRATAMIENTO DE MUESTRA PARA LA DETERMINACIÓN MULTI-RESIDUO DE TENSIOACTIVOS EN MATRICES SÓLIDAS

1.1. Antecedentes

En la bibliografía científica se pueden encontrar algunos ejemplos de métodos para la determinación multi-residuo de tensioactivos en muestras sólidas^{51,52,126-130}. Dichos métodos normalmente emplean extracción con ultrasonidos (USE), con disolventes presurizados (PLE) o soxhlet y metanol como disolvente. Dado que la investigación actual presenta como principales tendencias, en el campo del tratamiento de muestra, la simplificación de los procesos, la minimización del volumen de los disolventes usados como agentes extractantes, la reducción del tiempo de extracción y el aumento de la eficacia, se procedió a la optimización de un método que tuviera en cuenta estas cuatro premisas de partida para la extracción de las distintas familias de tensioactivos seleccionadas en las muestras medioambientales.

¹²⁶ P.A. Lara-Martín, E. González-Mazo, B.J. Broownawell. *Multi-residue method for the analysis of synthetic surfactants and their degradation metabolites in aquatic systems by liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry*. J. Chromatogr. A. 1218; 4799-4807, 2011.

¹²⁷ P.A. Lara-Martín, A. Gómez-Parra, E. González-Mazo. *Pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography-mass spectrometry for the determination of major surfactants in marine sediments*. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 85; 293-303, 2005.

¹²⁸ V.M. León, E. González-Mazo, A. Gómez-Parra. *Handling of marine and estuarine samples for the determination of linear alkylbenzene sulfonates and sulfophenylcarboxylic acids*. J. Chromatogr. A. 889; 211-219, 2000.

¹²⁹ K.A. Krogh, Betty Bügel Mogensen, Bent Halling-Sorensen, Amparo Cortés, Karl V. Vejrup, Damià Barceló. *Analysis of alcohol ethoxylates and alkylamine ethoxylates in agricultural soils using pressurized liquid extraction and liquid chromatography-mass spectrometry*. Anal. Bioanal. Chem. 376; 1089-1097, 2003.

¹³⁰ Vicente Andreu, Yolanda Picó. *Determination of linear alkylbenzenesulfonates and their degradation products in soils by liquid chromatography-electrospray-ion trap multiple-stage mass spectrometry*. Anal. Chem. 76; 2878-2885, 2004.

1.2. Propuesta del nuevo tratamiento de muestra

Tras revisar los antecedentes bibliográficos, se descartó la técnica de soxhlet por presentar tiempos de extracción excesivamente largos. Se seleccionó USE frente a PLE, en base a que aunque presenta mayor tiempo de extracción, es notablemente más económica que PLE. Este hecho se debe principalmente a que el equipo de USE es más simple que el de PLE, no necesitando apenas consumibles.

Por otro lado, dentro de las etapas de tratamiento de la muestra, la extracción en fase sólida (SPE) ha sido ampliamente utilizada para la determinación de tensioactivos en matrices ambientales, principalmente con el objetivo de preconcentrar las muestras y de eliminar interferentes. Sin embargo, trabajos recientes proponen metodologías sin el uso de esta etapa^{131,132}, para evitar las importantes desventajas que presenta, como el aumento del tiempo y el coste del análisis y el aumento de la incertidumbre del resultado final, debido a que se establece una nueva etapa con una incertidumbre asociada a la misma.

1.3. Fundamentos de la técnica de ultrasonido

A continuación se presenta un breve resumen de los fundamentos de la técnica de ultrasonido.

¹³¹ M. Villar, M. Callejón, J.C. Jiménez, E. Alonso, A. Guiráum. *Optimización and validation of new method for análisis of linear alkylbenzene sulfonates in sewage sludge by liquid chromatography alter microwave-assisted extraction*. Analytica Chimica Acta. 599; 92-97, 2007.

¹³² J.L. Santos, I. Aparicio, E. Alonso. *A new method for the rutine análisis of LAS and PAH in sewage sludge by simultaneous sonicated-assisted extraction prior lo liquid chromatographic determination*. Analytica Chimica Acta. 605; 102-109, 2007.

El sonido puede ser definido como una vibración mecánica transmitida por un medio elástico, pudiendo caracterizarse, como cualquier onda, por su frecuencia y su intensidad. En la especie humana el margen medio de audición es de 10 – 16000 Hz. Las frecuencias superiores a 20000 Hz se denominan ultrasonidos. Como es sabido, las frecuencias de 1 a 10 MHz corresponden a la región de alta frecuencia, en la **figura 4.2** se representa gráficamente el espectro de frecuencias del sonido¹³³. El símbolo internacional del ultrasonido es)))).

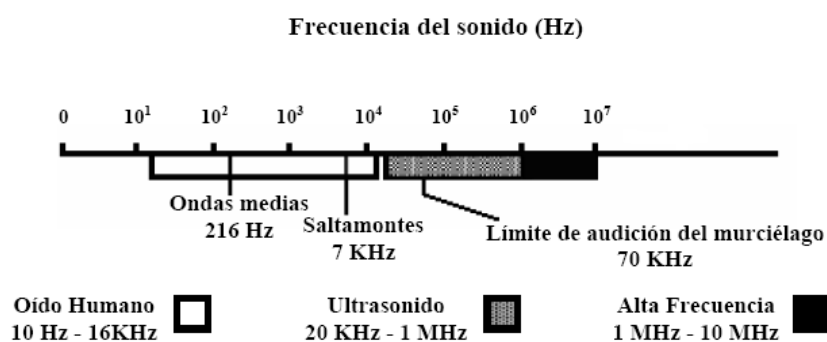


Figura 4.2. Región de frecuencia del sonido

La propagación del ultrasonido puede ser ilustrada a través del movimiento de un diapasón, **figura 4.3**. Cuando el diapasón entra en movimiento expandiéndose, **figura 4.3a**, comprime las moléculas más cercanas, constituyendo el primer nodo de la onda. Cuando entra en equilibrio, no hay compresión ni expansión cerca del diapasón, **figura 4.3b**. Cuando se comprime el diapasón, ocurre la descompresión del sistema, **figura 4.3c**. Así, el movimiento del diapasón causa un movimiento periódico de compresión y expansión de las moléculas cercanas, **figura 4.3d**, resultando en la propagación de las ondas ultrasónicas¹³⁴.

¹³³ T.J. Mason. *Sonochemistry: the uses of ultrasound in chemistry*. Ed. Mason T. S. The Royal Society of Chemistry. Cap. 1, p. 1. Cambridge, UK, 1990.

¹³⁴ J.P. Lorimer. *Sonochemistry: the uses of ultrasound in chemistry*. Ed. Mason T. S. The Royal Society of Chemistry. Cap. 2, p. 9. Cambridge, UK, 1990.

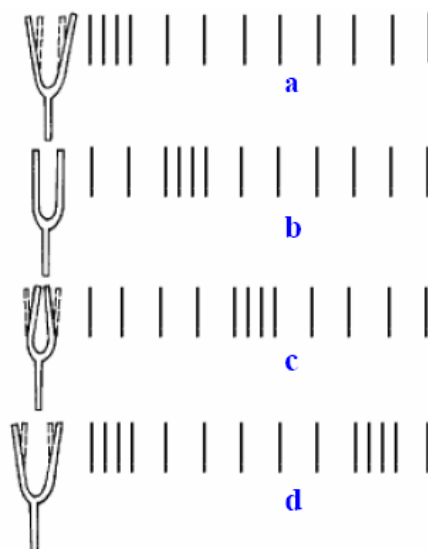


Figura 4.3. Ondas de presión en el aire producidas por un diapasón

Para que haya propagación de las ondas ultrasónicas es necesario que el medio de propagación tenga propiedades elásticas. De este modo, el movimiento de un cuerpo vibrando es transmitido a las moléculas vecinas, las cuales, antes de regresar a la posición de equilibrio, transmiten este movimiento a las moléculas que están a su alrededor. Este movimiento periódico genera ciclos de compresión y expansión.

La cavitación¹³⁵ es un fenómeno físico que se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a ultrasonidos de alta energía, es decir, presiones rápidamente alternativas de alta amplitud. En un líquido con partículas sólidas dispersas, los gases son adsorbidos en los poros de las partículas como se ilustra en la **figura 4.4**. En la etapa de compresión, los gases o vapores en el interior de la cavidad, son comprimidos hacia el interior de los poros de la partícula, **figura 4.4a**; y en la etapa de expansión, los gases o vapores son dirigidos hacia el exterior de

¹³⁵ K.S. Suslick. *Modern Synthetic Methods*. Ed. Schelfold R. Springer Verlag. V. 4, p. 1. Berlin, Germany, 1986.

la partícula, **figura 4.4b**. La cavidad aumenta de tamaño en dirección al interior del líquido, **figura 4.4c**, mientras que los gases se separan de la partícula permaneciendo un núcleo en la cavidad, **figura 4.4d**.

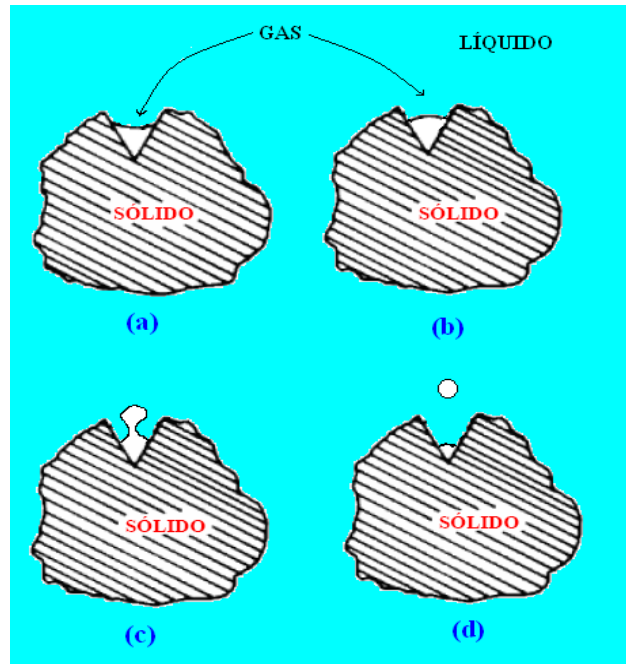


Figura 4.4. Efecto de la presión en el gas existente en el poro de una partícula:
 (a) presión positiva; (b) presión negativa; (c) expulsión hacia el líquido,
 (d) nucleación de la cavidad

El origen de la cavitación se debe al hecho de que, durante la expansión, los gases adsorbidos en el líquido alrededor de la cavidad o en la interfase, son evaporados originando la expansión de la cavidad. Durante la etapa de compresión, estos gases o vapores no regresan completamente a la cavidad, originando un aumento efectivo de la cavidad. Ciclos periódicos de compresión y expansión ocasionan el aumento del tamaño de la cavidad. Llega un momento en que esta cavidad alcanza un tamaño crítico y sufre una implosión, liberando una alta cantidad de calor y presión en un período de tiempo muy corto y en determinados puntos del líquido. Estas etapas están representadas en las **figuras 4.4-4.5**.

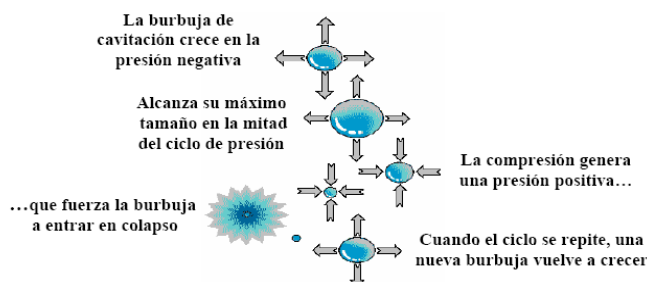


Figura 4.5. Esquema de implosión de una burbuja

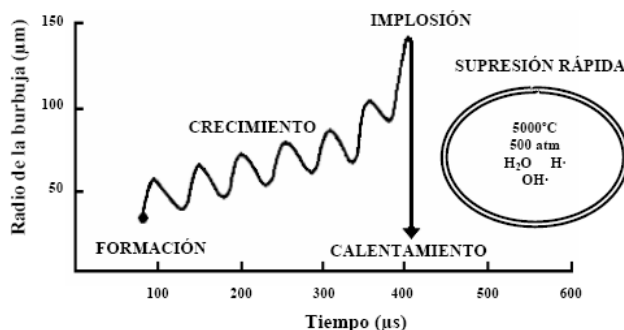


Figura 4.6. Proceso de formación, crecimiento e implosión de una burbuja en un líquido irradiado con ultrasonido

Los ultrasonidos presentan múltiples aplicaciones en el campo de la química. Su actuación se basa en la capacidad de la energía ultrasónica para proporcionar altas temperaturas (que produce un aumento de la solubilidad y de la difusión) y altas presiones (que favorece la penetración y transporte) en la interfase entre el disolvente y la matriz sólida. Algunas de las aplicaciones más importantes son¹³⁶ la aceleración de reacciones tanto químicas como físicas, la mejora de procesos en minería, la dispersión de partículas finas, la homogenización, la emulsificación, la disolución, la desgasificación, la limpieza de superficies y materiales porosos y la sonoquímica.

¹³⁶ S. Berliner, III Web (Applications, 1999). URL: <http://berliner-ultrasonics.org/uson-3.html>. (Visitada el 01/07/2012).

En general, son dos los dispositivos de los que se dispone para la generación de ultrasonidos: el baño y la sonda ultrasónica. A pesar de que los baños ultrasónicos son los más ampliamente utilizados, presentan dos inconvenientes que contribuyen a disminuir la repetibilidad y reproducibilidad experimental. Por un lado, la energía del ultrasonido no es dispensada uniformemente, por lo que sólo una fracción del volumen total del líquido próximo a la fuente de ultrasonido sufre cavitación. Por otro lado, hay una reducción de la potencia de ultrasonido con el tiempo de forma que la energía suministrada al baño no es constante.

Así, en el caso de la utilización del ultrasonido a través del baño, se debe tener en cuenta que la cavitación producida dependerá de la disposición (vertical y horizontal) del frasco de reacción dentro del baño, de la temperatura del líquido, del volumen de líquido utilizado dentro del baño, del número de frascos utilizados simultáneamente, de la presencia de gas disuelto, entre otros factores. En el empleo de las sondas ultrasónicas hay una clara ventaja: mayor capacidad de focalizar la energía, proporcionando una cavitación más eficiente en el líquido. En la **figura 4.7** se representa estos dos tipos de dispositivos capaces de producir ultrasonido.

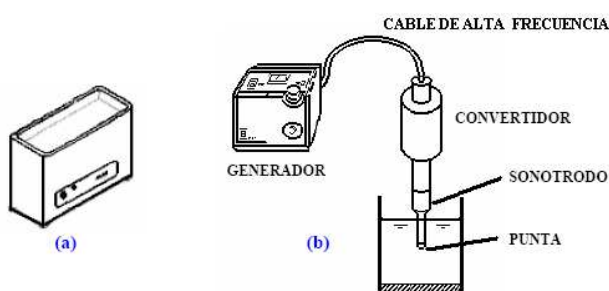


Figura 4.7. Dispositivos de producción de ultrasonido:
(a) Baño de ultrasonido; (b) Sonda ultrasónica

En la sonda ultrasónica, el generador es la parte del aparato responsable de la transformación de la energía eléctrica (110 - 220 V con una frecuencia de 50 - 60 Hz) en una energía de alta frecuencia aplicada al convertidor, éste a su vez, está encargado de transformar esta energía en energía ultrasónica, que es un tipo de energía mecánica. El sonotrodo y su punta son las partes responsables de la dispensación de la radiación en un determinado medio. La eficiencia de esta transformación depende también de las condiciones relacionadas con la aplicación del ultrasonido. El efecto de la alta intensidad del ultrasonido depende de muchas variables, entre las que destacan: las características del medio de reacción (viscosidad, tensión superficial, presión de vapor, naturaleza y concentración de gas disuelto, presencia de partículas sólidas, etc.); parámetros del tratamiento (presión y temperatura); características del generador de ultrasonido (frecuencia, potencia); tamaño, naturaleza y geometría del recipiente.

1.4. Optimización de las variables implicadas en el tratamiento de muestra

Se optimizaron las variables implicadas en la etapa de extracción y las relativas a la etapa de centrifugación.

1.4.1. Optimización de las variables implicadas en la etapa de extracción con ultrasonidos

En este trabajo se utilizó la sonda ultrasónica digital, modelo Sonifier S-450D, BRANSON, de la cual se muestran dos fotografías en la **figura 4.8**.

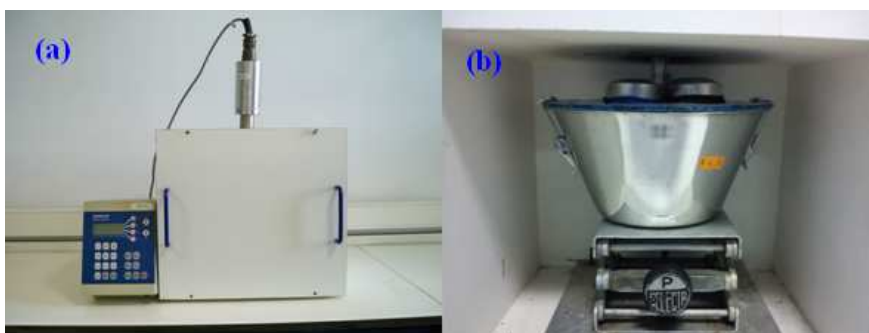


Figura 4.8. Sonda ultrasónica usada: (a) vista general; (b) detalle del interior

Cuando se trabaja con sonda de ultrasonido existen dos modos de operar, con la sonda introducida directamente en la muestra o con la sonda introducida en un baño con líquido en el cual se encuentran las celdas que contienen a la muestra. Está documentado en la literatura científica que cuando se utiliza el ultrasonido de forma directa¹³⁷, se favorece el proceso de cavitación, contribuyendo a una mejor acción extractora, sin embargo, de esta forma el riesgo de daño de la punta de la sonda es mayor. Por lo que se eligió la modalidad de baño.

En la **figura 4.9**, se muestra la sonda ultrasónica colocada de forma que la punta queda sumergida en un baño de agua (1 L) en el cual se encuentran las cuatro celdas de extracción metálicas, de 125 mL, situadas a una distancia de 1 cm de la sonda. El baño de agua se debe renovar después de cada extracción para tratar de mantener una temperatura constante de 25 °C. Tanto el recipiente del baño como las celdas de extracción son de acero inoxidable. Este modo operatorio presenta ventajas respecto al baño de ultrasonido convencional, como son la uniformidad en la dispensación de las ondas y mayor potencia.

¹³⁷ J.L. Luque-García, M.D. Luque de Castro. *Ultrasound: a powerful tool for leaching*. Trends Anal. Chem. 22; 41-47, 2003.

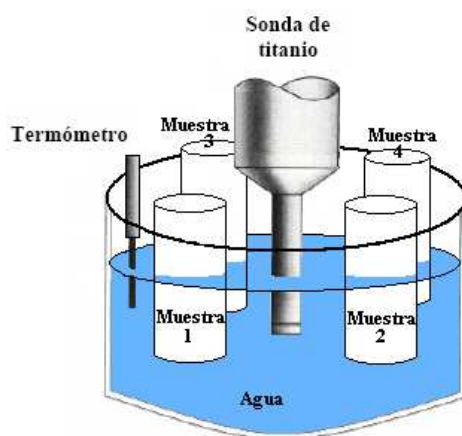


Figura 4.9. Esquema de la disposición de la sonda y las celdas metálicas en el baño

Teniendo en cuenta las características del equipo, las variables susceptibles de ser optimizadas son la cantidad de muestra, el tipo y volumen de disolvente, la amplitud de radiación y el tiempo de extracción.

A. Cantidad de muestra

La cantidad de muestra seleccionada, fue de 5.0 g, debido a que cantidades inferiores a esta podrían implicar la pérdida de sensibilidad en la metodología y cantidades superiores repercutía en un consumo de muestra demasiado elevado, teniendo en cuenta que la cantidad disponible de muestra era limitada.

B. Tipo y volumen de disolvente

Para optimizar el volumen de disolvente, se relacionó con la capacidad de la celda de extracción metálica (125 mL) y la cantidad de muestra (5.0 g). El volumen se calculó de acuerdo con el menor volumen posible capaz de formar una suspensión homogénea con la muestra. Se

comprobó que el volumen mínimo para formar una mezcla líquida con la matriz fue de 20 mL para los cuatro disolventes propuestos.

En cuanto al tipo de disolvente se estudió el comportamiento de cuatro disolventes de diferente polaridad, metanol, acetonitrilo, etanol y acetato de etilo. Para ello, se prepararon 8 muestras de forma individual en 8 celdas de extracción metálicas, cada una de ellas con 5.0 g de muestra libre de los analitos y fortificada con 1 mL de una disolución metanólica que contenía las $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS, $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AES, $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Brij 56 y $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Brij 76. A cada una de las muestras se les añadió 0.5 mL de metanol y se agitó durante 1 minuto mediante el uso de un agitador vortex, con el objetivo de homogeneizar la muestra. Posteriormente, las muestras se dejaron reposar durante un tiempo aproximado de 24 horas, para que se produjera la interacción de los tensioactivos con la matriz.

La extracción se realizó por duplicado para cada disolvente (20 mL), con un ciclo de extracción empleando una amplitud de radiación del 75 % durante 15 minutos y usando cuatro celdas de muestra en cada extracción. Tras la extracción, el extracto fue centrifugado y el sobrenadante recogido con una pipeta Pasteur. El residuo sedimentado fue lavado con 5 mL del extractante correspondiente. Se unieron los extractos y se evaporó a sequedad con la ayuda de una corriente de nitrógeno y calor ($50 \text{ }^\circ\text{C}$). El residuo se redisolvió en 1 mL de la mezcla anteriormente propuesta para su inyección en el cromatógrafo (metanol/agua, 70:30, $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ LAS 2ØC₁₆, $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ N,N-dimetiltetradecilamina). A continuación, la disolución resultante se centrifugó a 15000 rpm durante 20 minutos. Por último, el sobrenadante de cada muestra se inyectó en el cromatógrafo según el método cromatográfico previamente desarrollado.

Se evaluó la recuperación de cada disolvente comparando los resultados obtenidos para las 8 muestras, con los obtenidos para otras 8 muestras preparadas de forma similar, con la salvedad de realizar el dopado después de la extracción, y a las cuales se les dio el valor de 100 % de recuperación. Para cada familia se sumaron las áreas relativas de los homólogos y oligómeros correspondientes, obteniendo los resultados que se muestran en la **figura 4.10**.

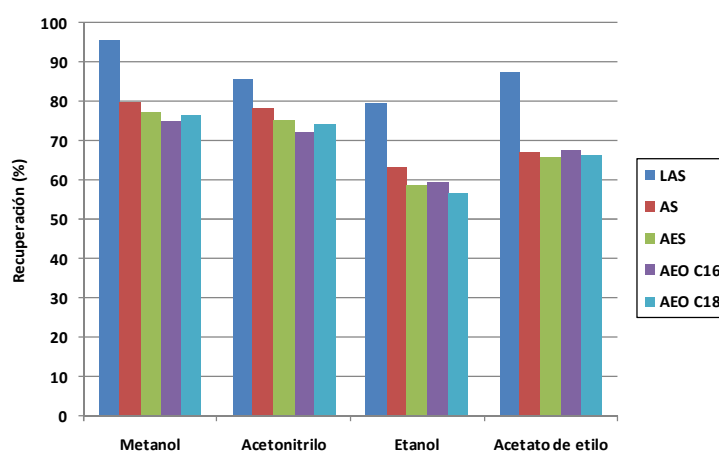


Figura 4.10. Optimización del disolvente de extracción

A la vista de los resultados, el metanol presentó una mayor recuperación para todos los compuestos, por lo que se seleccionó como disolvente de extracción.

C. Amplitud de radiación y tiempo de extracción

A continuación, se optimizaron la amplitud y el tiempo de extracción. Dado que estas dos variables están estrechamente relacionadas, se llevó a cabo un estudio conjunto de ambas mediante la metodología de superficie de respuesta. Se optó por un diseño central compuesto centrado en las

caras (CCF), previamente propuesto en bibliografía para el LAS¹³⁸, **figura 4.11**.

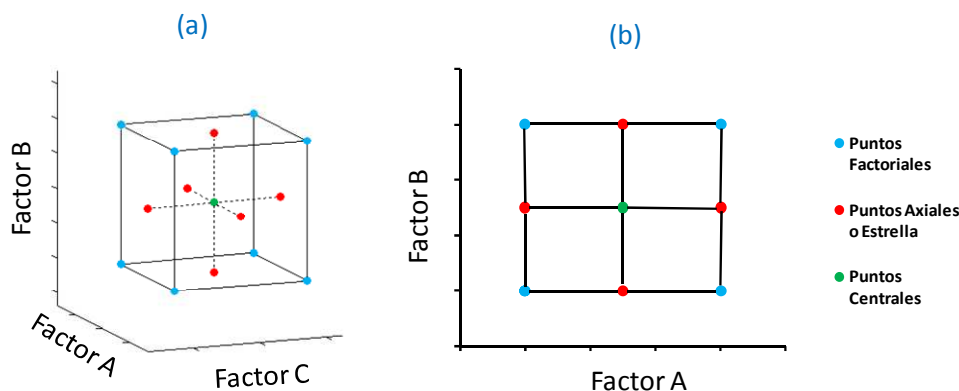


Figura 4.11. Diseño experimental central compuesto centrado en las caras (a) para 3 factores experimentales, (b) para 2 factores experimentales

La matriz experimental expresada en términos de factores experimentales codificados y factores experimentales decodificados (valores ensayados) fue obtenida con el programa **Statgraphics** y se muestra en la **tabla 4.1**. La razón de la codificación es asegurar la ortogonalidad del diseño que es una propiedad estadística deseada en cualquier diseño experimental. Se realizaron 3 réplicas del punto central para tener suficientes grados de libertad para la estimación del error. Además, se seleccionó la opción de ubicación aleatoria de los experimentos para evitar errores sistemáticos.

¹³⁸ M. Nimer, O. Ballesteros, A. Navalón, G. Crovetto, C. Vergé, I. López, J.L. Berna and J.L. Vílchez. *New simple treatment for the determination of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in agricultural soils by liquid chromatography with fluorescence detection*. Anal. Bioanal. Chem. 387; 2175-2184, 2007.

Tabla 4.1. Matriz de experimentos

Experimento	Factores codificados		Factores decodificados	
	Factor A	Factor B	Tiempo (min)	Amplitud (%)
1	0	0	12.5	50
2	1	0	20	50
3	-1	-1	5	25
4	-1	1	5	75
5	1	1	20	75
6	0	1	12.5	75
7	0	-1	12.5	25
8	0	0	12.5	50
9	-1	0	5	50
10	1	-1	20	25
11	0	0	12.5	50
12	0	0	12.5	50

Los valores máximos y mínimos de los factores experimentales, se seleccionaron de acuerdo con las posibilidades del sistema experimental. Para la amplitud se estableció como máximo un valor de 75 % ya que valores superiores al mismo podrían acortar la vida de la sonda. La amplitud está directamente relacionada con la potencia de la sonda, pudiéndose controlar en tanto por ciento, es decir, un 75 % de amplitud correspondía a usar el 75 % de la potencia total del equipo. Como mínimo se estableció un 25 % de amplitud. Del mismo modo, se fijó el tiempo máximo en 20 minutos, ya que tiempos de extracción superiores a 20 minutos no son recomendables, debido a un posible sobrecalentamiento del sistema. Como mínimo, se probó un tiempo de 5 min.

El procedimiento operatorio seguido fue el que se describe a continuación. Se prepararon 12 celdas de extracción metálicas en las que se pesaron 5.0 g de muestra libre de los analitos y se adicionó 1 mL de una disolución metanólica que contenía 10 mg·L⁻¹ de LAS, 2 mg·L⁻¹ de AES, 2 mg·L⁻¹ de Brij 56 y 2 mg·L⁻¹ de Brij 76. A cada una de las muestras se les

añadió 0.5 mL de metanol y se agitó durante 1 minuto mediante el uso de un agitador vortex para homogeneizar la muestra. Posteriormente, las muestras se dejaron durante un tiempo aproximado de 24 horas, para que se produjera la interacción de los tensioactivos con la matriz.

Pasadas 24 h se llevó a cabo la extracción de cada una de las celdas con 20 mL de metanol según el modelo experimental establecido por el diseño. Después de la extracción, se recogió el sobrenadante con ayuda de una pipeta pasteur y el residuo sedimentado fue lavado con 5 mL de metanol. Después de unir ambos extractos, se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno a 50 °C. El residuo seco se redisolvió en 1 mL de la mezcla metanol/agua 70:30 (v/v), conteniendo 2 mg·L⁻¹ LAS 2ØC₁₆ y 2 mg·L⁻¹ N,N-dimetiltetradecilamina. Se centrifugó a 15000 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante se inyectó en el cromatógrafo según el método cromatográfico previamente desarrollado.

Se evaluó la recuperación de cada experimento comparando los resultados obtenidos para los 12 experimentos, con los obtenidos para otros 12 experimentos preparados de forma similar, con la salvedad de realizar el dopado después de la extracción, y a los cuales se les dio el valor de 100 % de recuperación. Para cada familia se sumaron las áreas relativas de los homólogos y oligómeros correspondientes, obteniendo los resultados que se muestran en la **tabla 4.2**.

Tabla 4.2. Recuperaciones para los experimentos del diseño experimental

Experimento	Recuperación (%)				
	LAS	AS	AES	AEO C ₁₆	AEO C ₁₈
1	74.4	76.1	75.4	60.4	67.4
2	80.9	76.7	77.8	66.4	72.4
3	72.6	66.0	66.3	54.4	62.3
4	75.0	72.2	71.8	59.2	67.3
5	90.6	79.8	77.9	72.5	74.2
6	86.4	76.1	77.4	62.5	70.7
7	73.1	74.5	69.4	55.1	63.9
8	75.4	75.5	74.9	61.0	67.3
9	71.7	71.9	74.5	57.9	66.4
10	72.6	74.3	73.9	65.9	72.1
11	74.3	76.3	75.3	60.0	67.3
12	75.6	75.3	74.9	62.2	65.2

La evaluación de los resultados se basó en el estudio de parámetros como el gráfico de Pareto, el análisis de la varianza, el gráfico de la superficie de respuesta y el óptimo calculado.

El primer parámetro a estudiar fue el gráfico de Pareto, el cual indicó qué variables tenían un nivel de significancia lo suficientemente alto como para ser representativas en el sistema propuesto, **figura 4.12**. En segundo lugar, en la **figura 4.13** se muestran la representación de las superficies de respuesta obtenidas. Por último en la **tabla 4.3** se muestran los valores de R^2 del ajuste al modelo y los valores óptimos calculados.

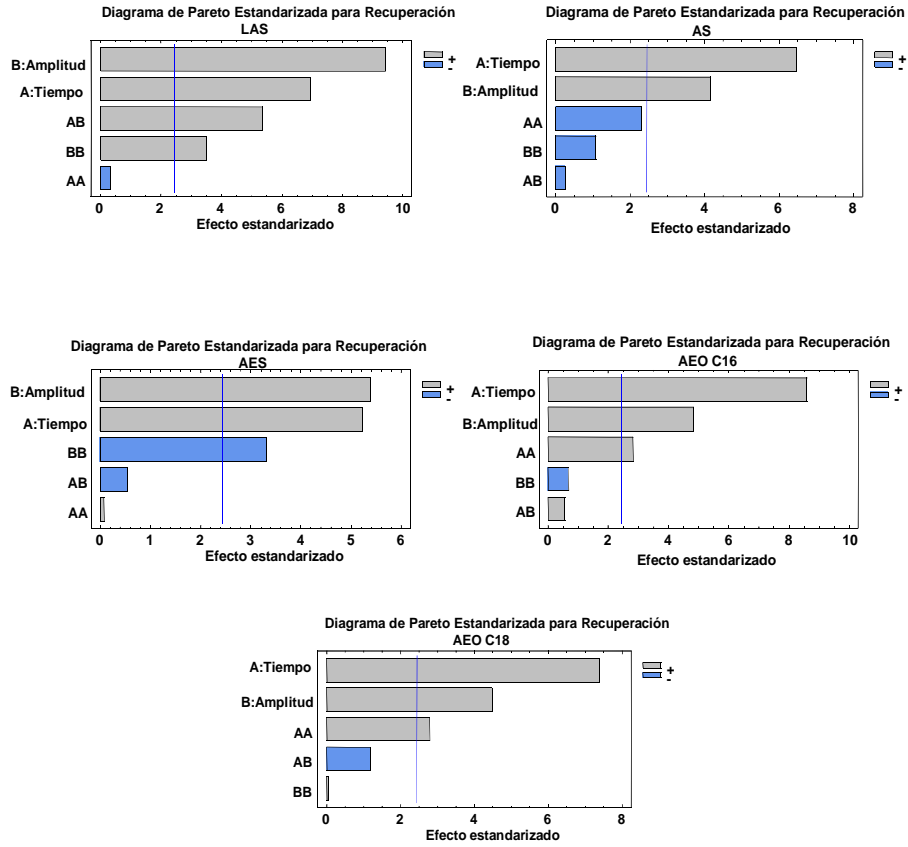


Figura 4.12. Gráficas de Pareto de los tensioactivos

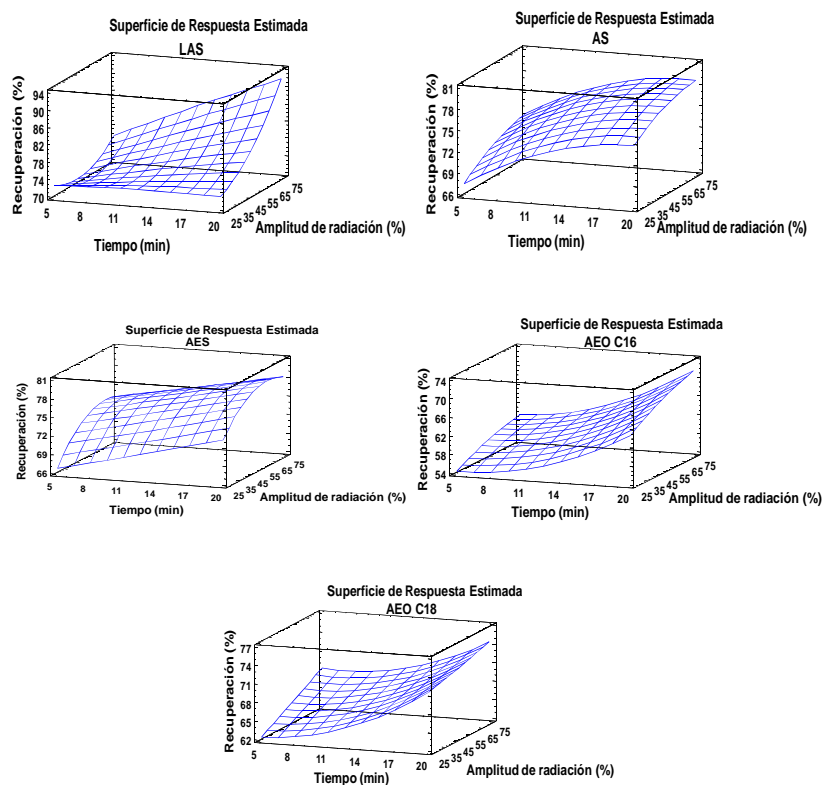


Figura 4.13. Superficies de respuesta de los tensioactivos

Tabla 4.3. Resultados óptimos obtenidos

Compuesto	R ² (%)	Tiempo óptimo (min)	Amplitud óptima (%)	Recuperación (%)
LAS	96.7	20.0	75.0	91.9
AS	91.9	19.2	75.0	78.7
AES	92.0	20.0	61.9	78.9
AEO C ₁₆	94.6	20.0	75.0	71.6
AEO C ₁₈	93.4	20.0	75.0	74.5

El valor de % R² calculado demuestra la idoneidad del modelo seleccionado. Evaluando las gráficas de Pareto obtenidas, desde el punto de vista estadístico, se puede concluir que las dos variables estudiadas son factores significativos, influyendo positivamente en la recuperación de los

tensioactivos de la muestra. Los valores óptimos calculados según el diseño serían los extremos superiores de los intervalos, excepto para los AS donde el tiempo óptimo es 19.2 min y los AES donde la amplitud óptima es 61.9 %. Como solución de compromiso, se estableció una amplitud de radiación del 75 % y un tiempo de extracción de 20 min.

1.4.2. Estudio de la etapa de centrifugación

Tras la optimización de la etapa de extracción con ultrasonidos, se observó que no era necesario incorporar un ciclo de centrifugación de las muestras extraídas, ya que el extracto obtenido después de cada extracción no presentaba partículas que pudieran impedir su correcta evaporación y redisolución. Sin embargo, también se observó que, una vez redisuelta la muestra, sí era necesaria esta etapa de centrifugación antes de inyectarla en el cromatógrafo.

Para optimizar el proceso de centrifugación, se realizó un ensayo con eppendorfs a diferentes tiempos y revoluciones en una centrífuga *Orto Alresa Digicen 21*, **figura 4.14**. Se ensayaron cuatro tiempos diferentes (5, 10, 15 y 20 min) y dos valores de velocidad (10 000 rpm y 15 000 rpm). La separación óptima entre el sólido y el líquido fue a 10 minutos y 15 000 rpm, siendo, por tanto, los valores usados para los análisis posteriores.



Figura 4.14. Centrífuga Orto Alresa Digicen 21

1.4.3. Resumen del tratamiento de muestra

A continuación, se muestra un resumen de los óptimos obtenidos para cada variable implicada en el proceso de extracción de los analitos a partir de las muestras sólidas.

A. Extracción mediante ultrasonidos

- 5.0 g de muestra seca.
- 20 mL de metanol.
- 75 % de amplitud de radiación.
- 20 minutos de extracción.

B. Lavado del residuo de extracción. 5 mL de metanol y unión de los extractos.

C. Evaporación del extracto a sequedad. Bajo corriente de N₂ a 50 °C.

D. Redisolución del residuo seco. Mezcla de redisolución: 1 mL de metanol/agua, 70:30, (v/v) con 2 mg·L⁻¹ de LAS 2ØC₁₆ y 2 mg·L⁻¹ de N,N-dimetiltetradecilamina.

E. Centrifugación de la disolución. 10000 rpm durante 10 min.

F. Inyección en el cromatógrafo.

Capítulo V

Calibrado y Validación del Método

En el presente capítulo, se establece la metodología analítica para la cuantificación de los tensioactivos objeto de estudio (*LAS*, *AS*, *AES* y *AEO*) en muestras de sedimentos y suelo agrícola. Se comienza, para ello, exponiendo de manera breve la problemática asociada al establecimiento de un método de cuantificación de tensioactivos en matrices sólidas. Seguidamente, se describen los tres tipos de calibración realizada, presentando los parámetros analíticos obtenidos en cada uno de ellos. A continuación, se realiza la evaluación del efecto matriz en el proceso de medida y la estimación de la recuperación en la etapa de extracción. Por último, se presentan los resultados obtenidos en el proceso de validación.

1. PROPUESTA Y JUSTIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE CUANTIFICACIÓN

Debido al gran consumo y a sus propiedades físicas, los tensioactivos pueden llegar al medio ambiente, por lo que su presencia en las matrices objeto de estudio, sedimentos y suelo agrícola, es bastante probable. Sin embargo, dadas las características tanto de las matrices como de los compuestos en sí, las concentraciones suelen ser bajas, dificultando, su cuantificación por cualquiera de los métodos habituales.

Dentro de la metodología de cuantificación, como se indicó en el capítulo 2 de la presente Memoria, se seleccionó el modelo de calibración de regresión lineal univariante por mínimos cuadrados. Para la obtención de la función de calibración se empleó como variable dependiente la relación de áreas entre cada patrón y el área del patrón interno correspondiente. Los patrones internos se añadieron después de la etapa de extracción.

2. ESTABLECIMIENTO DE LAS DISTINTAS FUNCIONES DE CALIBRACIÓN

A continuación, se detalla el procedimiento seguido para la construcción de cada una de las funciones de calibración; calibración externa, calibración en matriz (Matrix Matched Calibration) y calibración con adición de patrón post-extracción (calibrado en extracto de matriz). Las funciones de calibración en matriz y calibración con adición de patrón post-extracción se realizaron tanto en sedimento como en suelo.

2.1. Calibración externa

- Se preparó una disolución madre de $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS, $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AES, $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AEO C₁₆ y $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AEO C₁₈ en metanol.
- Se prepararon 8 niveles de concentración añadiendo volúmenes crecientes (0.01 mL; 0.05 mL; 0.15 mL; 0.25 mL; 0.50 mL; 1.00 mL; 2.50 mL y 5.00 mL) de la disolución madre en matraces de 50 mL que se enrasaron con metanol. Por cada uno de los 8 niveles de concentración se prepararon 3 réplicas experimentales, obteniendo un total de 24 disoluciones patrón.
- De cada una de las 24 disoluciones patrón preparadas, se evaporó 1 mL, para después reconstituir con 1 mL de la disolución de patrones internos propuesta en la metodología analítica.
- Por último, cada patrón reconstituido se traspasó a un vial de cromatografía para su posterior análisis por LC-MS/MS.

2.2. Calibración en matriz (Matrix Matched Calibration)

- En 24 recipientes de extracción (vasos de metal para ultrasonidos) se pusieron 5.0 g de la muestra sólida correspondiente, limpia de los compuestos en estudio.
- A continuación, se dopó la muestra de cada recipiente de extracción con 1 mL de la disolución de dopado correspondiente. Además, en cada recipiente de extracción se añadieron 0.5 mL de metanol para facilitar la posterior homogeneización que se realizó mediante agitación con un agitador orbital durante 30 s.
- Se dejó transcurrir un tiempo de 24 horas para favorecer el contacto entre analito y muestra.
- Pasadas estas 24 horas, por último, cada muestra se sometió a las etapas de extracción y análisis mediante LC-MS/MS, previamente desarrolladas a lo largo del trabajo experimental.

2.3. Calibración con adición de patrón post-extracción

- En 24 recipientes de extracción (vasos de metal para ultrasonidos) se introdujeron 5.0 g de la muestra sólida correspondiente, limpia de los compuestos en estudio.
- A continuación, se realizó el proceso de extracción propuesto.
- Una vez extraída la muestra, el extracto correspondiente se dopó (post-extracción) con 1 mL de la disolución patrón correspondiente.

- Los extractos dopados se evaporaron hasta sequedad, para después reconstituir con 1 mL de la disolución de patrones internos propuesta en la metodología analítica.
- Por último, cada muestra reconstituida se traspasó a un vial de cromatografía para su posterior análisis por LC-MS/MS.

Se prepararon un total de 8 niveles de concentración para, según la linealidad de cada tensioactivo, seleccionar 6 niveles de concentración en cada función de calibración. En las **tablas 5.1 - 5.5** se muestran los parámetros estadísticos asociados a cada tipo de calibrado para cada matriz.

Tabla 5.1. Calibrado externo

Compuesto	n	b (kg·mg ⁻¹)	a	R ² (%)	S _{y/x}	P _{lof} (%)
LAS C ₁₀	18	4.126	6.51·10 ⁻⁰²	99.9	3.96·10 ⁻⁰²	13.6
LAS C ₁₁	18	4.412	2.04·10 ⁻⁰¹	99.9	8.86·10 ⁻⁰²	26.3
LAS C ₁₂	18	3.368	1.21·10 ⁻⁰¹	99.9	5.12·10 ⁻⁰²	20.1
LAS C ₁₃	18	3.987	8.32·10 ⁻⁰²	99.9	6.08·10 ⁻⁰²	71.3
AS C ₁₂	18	10.77	6.03·10 ⁻⁰²	99.8	5.75·10 ⁻⁰²	35.4
AS C ₁₄	18	6.252	2.31·10 ⁻⁰²	99.9	2.10·10 ⁻⁰²	11.2
AS C ₁₆	18	4.207	4.70·10 ⁻⁰³	99.9	4.90·10 ⁻⁰³	35.9
AS C ₁₈	18	3.613	6.52·10 ⁻⁰³	99.9	5.77·10 ⁻⁰³	13.1
AES C ₁₂ EO ₁	18	9.980	3.38·10 ⁻⁰²	99.8	2.47·10 ⁻⁰²	21.4
AES C ₁₂ EO ₂	18	7.327	1.62·10 ⁻⁰²	99.9	7.01·10 ⁻⁰³	8.8
AES C ₁₂ EO ₃	18	8.467	8.26·10 ⁻⁰³	99.9	5.96·10 ⁻⁰³	37.0
AES C ₁₂ EO ₄	18	6.547	3.71·10 ⁻⁰³	99.8	3.50·10 ⁻⁰³	47.0
AES C ₁₂ EO ₅	18	6.298	3.16·10 ⁻⁰³	99.9	2.13·10 ⁻⁰³	20.9
AES C ₁₄ EO ₁	18	3.720	7.77·10 ⁻⁰³	99.9	4.83·10 ⁻⁰³	19.1
AES C ₁₄ EO ₂	18	4.161	6.39·10 ⁻⁰³	99.9	4.35·10 ⁻⁰³	15.2
AES C ₁₄ EO ₃	18	4.689	3.93·10 ⁻⁰³	99.8	2.91·10 ⁻⁰³	24.6
AES C ₁₄ EO ₄	18	5.760	1.97·10 ⁻⁰³	99.8	1.62·10 ⁻⁰³	28.8
AES C ₁₄ EO ₅	18	5.121	9.60·10 ⁻⁰⁴	99.9	7.40·10 ⁻⁰⁴	42.5
AES C ₁₆ EO ₁	18	4.661	3.75·10 ⁻⁰³	99.8	4.16·10 ⁻⁰³	29.7
AES C ₁₆ EO ₂	18	4.079	2.24·10 ⁻⁰³	99.8	2.41·10 ⁻⁰³	12.7
AES C ₁₆ EO ₃	18	4.725	3.90·10 ⁻⁰⁴	99.9	7.40·10 ⁻⁰⁴	34.7
AES C ₁₆ EO ₄	18	4.870	6.10·10 ⁻⁰⁴	99.8	7.50·10 ⁻⁰⁴	12.8
AES C ₁₆ EO ₅	18	3.692	4.00·10 ⁻⁰⁴	99.5	6.70·10 ⁻⁰⁴	25.6
AES C ₁₈ EO ₁	18	3.528	2.47·10 ⁻⁰³	99.9	3.44·10 ⁻⁰³	45.2
AES C ₁₈ EO ₂	18	3.579	1.45·10 ⁻⁰³	99.9	1.93·10 ⁻⁰³	26.6
AES C ₁₈ EO ₃	18	3.308	7.80·10 ⁻⁰⁴	99.9	7.20·10 ⁻⁰⁴	15.7
AES C ₁₈ EO ₄	18	3.876	6.50·10 ⁻⁰⁴	99.9	6.70·10 ⁻⁰⁴	9.5
AES C ₁₈ EO ₅	18	3.189	6.50·10 ⁻⁰⁴	99.8	6.30·10 ⁻⁰⁴	8.7
AEO C ₁₆ EO ₅	18	51.31	3.18·10 ⁻⁰²	99.8	1.28·10 ⁻⁰²	42.1
AEO C ₁₆ EO ₆	18	116.4	2.79·10 ⁻⁰¹	99.8	3.99·10 ⁻⁰²	43.8
AEO C ₁₆ EO ₇	18	160.5	5.63·10 ⁻⁰¹	99.3	1.21·10 ⁻⁰¹	31.9
AEO C ₁₆ EO ₈	18	142.8	5.77·10 ⁻⁰¹	99.8	6.16·10 ⁻⁰²	36.6
AEO C ₁₆ EO ₉	18	108.6	3.50·10 ⁻⁰¹	99.9	4.34·10 ⁻⁰²	10.1
AEO C ₁₆ EO ₁₀	18	156.8	3.04·10 ⁻⁰¹	99.9	5.74·10 ⁻⁰²	19.2
AEO C ₁₆ EO ₁₁	18	112.4	4.11·10 ⁻⁰¹	99.5	9.90·10 ⁻⁰²	12.5
AEO C ₁₆ EO ₁₂	18	101.0	4.41·10 ⁻⁰¹	99.7	6.66·10 ⁻⁰²	9.8
AEO C ₁₆ EO ₁₃	18	79.79	3.27·10 ⁻⁰¹	99.4	6.45·10 ⁻⁰²	10.3
AEO C ₁₆ EO ₁₄	18	64.88	3.47·10 ⁻⁰¹	99.5	4.28·10 ⁻⁰²	8.6
AEO C ₁₆ EO ₁₅	18	79.36	2.93·10 ⁻⁰¹	99.7	3.07·10 ⁻⁰²	9.0
AEO C ₁₈ EO ₄	18	23.62	1.79·10 ⁻⁰²	99.6	1.12·10 ⁻⁰²	9.9
AEO C ₁₈ EO ₅	18	103.5	3.75·10 ⁻⁰¹	99.5	6.59·10 ⁻⁰²	15.2
AEO C ₁₈ EO ₆	18	151.8	6.37·10 ⁻⁰¹	99.8	6.93·10 ⁻⁰²	56.0
AEO C ₁₈ EO ₇	18	138.3	5.70·10 ⁻⁰¹	99.5	1.09·10 ⁻⁰¹	25.3
AEO C ₁₈ EO ₈	18	153.0	8.44·10 ⁻⁰¹	99.8	8.79·10 ⁻⁰²	10.5
AEO C ₁₈ EO ₉	18	127.4	7.79·10 ⁻⁰¹	99.8	7.70·10 ⁻⁰²	16.3
AEO C ₁₈ EO ₁₀	18	148.8	6.51·10 ⁻⁰¹	99.6	1.14·10 ⁻⁰¹	24.7
AEO C ₁₈ EO ₁₁	18	129.3	7.67·10 ⁻⁰¹	99.7	7.50·10 ⁻⁰²	37.0
AEO C ₁₈ EO ₁₂	18	17.77	1.08·10 ⁻⁰¹	99.8	7.12·10 ⁻⁰³	9.8
AEO C ₁₈ EO ₁₃	18	24.83	1.17·10 ⁻⁰¹	99.9	7.15·10 ⁻⁰³	32.2
AEO C ₁₈ EO ₁₄	18	33.83	1.58·10 ⁻⁰¹	99.6	1.37·10 ⁻⁰¹	17.5

Tabla 5.2. Calibrado en matriz, sedimentos

Compuesto	n	b (kg·mg ⁻¹)	a	R ² (%)	S _{y/x}	P _{lof} (%)
LAS C ₁₀	18	3.087	9.04·10 ⁻²	99.8	3.84·10 ⁻²	32.6
LAS C ₁₁	18	3.467	3.60·10 ⁻¹	99.8	9.48·10 ⁻²	19.7
LAS C ₁₂	18	2.624	2.56·10 ⁻¹	99.9	4.70·10 ⁻²	43.4
LAS C ₁₃	18	2.993	2.33·10 ⁻¹	99.9	4.24·10 ⁻²	58.3
AS C ₁₂	18	8.423	3.85·10 ⁻¹	99.8	4.63·10 ⁻²	52.3
AS C ₁₄	18	5.395	1.43·10 ⁻¹	99.8	2.16·10 ⁻²	33.3
AS C ₁₆	18	3.753	3.24·10 ⁻²	99.8	9.30·10 ⁻³	51.4
AS C ₁₈	18	2.792	1.27·10 ⁻²	99.9	5.04·10 ⁻³	28.8
AES C ₁₂ EO ₁	18	9.138	1.29·10 ⁻¹	99.7	2.70·10 ⁻²	19.8
AES C ₁₂ EO ₂	18	6.371	6.99·10 ⁻²	99.8	1.14·10 ⁻²	27.0
AES C ₁₂ EO ₃	18	7.098	3.93·10 ⁻²	99.9	5.64·10 ⁻³	14.2
AES C ₁₂ EO ₄	18	5.214	2.18·10 ⁻²	99.6	4.61·10 ⁻³	19.4
AES C ₁₂ EO ₅	18	5.585	1.39·10 ⁻²	99.8	1.96·10 ⁻³	52.3
AES C ₁₄ EO ₁	18	3.650	4.46·10 ⁻²	99.8	7.90·10 ⁻³	13.1
AES C ₁₄ EO ₂	18	3.771	3.40·10 ⁻²	99.8	5.49·10 ⁻³	9.1
AES C ₁₄ EO ₃	18	4.580	1.65·10 ⁻²	99.8	2.71·10 ⁻³	10.9
AES C ₁₄ EO ₄	18	5.205	9.60·10 ⁻³	99.5	2.22·10 ⁻³	21.6
AES C ₁₄ EO ₅	18	5.063	6.15·10 ⁻³	99.9	8.10·10 ⁻⁴	10.4
AES C ₁₆ EO ₁	18	4.507	6.66·10 ⁻³	99.9	2.75·10 ⁻³	66.2
AES C ₁₆ EO ₂	18	3.981	4.37·10 ⁻³	99.9	1.70·10 ⁻³	38.0
AES C ₁₆ EO ₃	18	4.265	2.78·10 ⁻³	99.8	1.11·10 ⁻³	20.1
AES C ₁₆ EO ₄	18	4.930	1.63·10 ⁻³	99.6	9.60·10 ⁻⁴	16.2
AES C ₁₆ EO ₅	18	3.909	9.30·10 ⁻⁴	99.8	4.20·10 ⁻⁴	85.4
AES C ₁₈ EO ₁	18	2.677	3.52·10 ⁻³	99.8	3.73·10 ⁻³	16.9
AES C ₁₈ EO ₂	18	2.694	2.05·10 ⁻³	99.8	2.04·10 ⁻³	38.9
AES C ₁₈ EO ₃	18	2.670	1.04·10 ⁻³	99.8	1.33·10 ⁻³	9.6
AES C ₁₈ EO ₄	18	2.960	9.30·10 ⁻⁴	99.7	1.06·10 ⁻³	15.4
AES C ₁₈ EO ₅	18	2.712	6.40·10 ⁻⁴	99.8	5.50·10 ⁻⁴	8.4
AEO C ₁₆ EO ₅	18	52.30	1.40·10 ⁻¹	99.2	2.79·10 ⁻²	61.5
AEO C ₁₆ EO ₆	18	72.86	1.88·10 ⁻¹	99.6	3.60·10 ⁻²	26.2
AEO C ₁₆ EO ₇	18	84.66	3.15·10 ⁻¹	98.9	8.30·10 ⁻²	14.6
AEO C ₁₆ EO ₈	18	82.62	3.05·10 ⁻¹	99.7	5.16·10 ⁻²	37.8
AEO C ₁₆ EO ₉	18	60.78	3.39·10 ⁻¹	99.2	5.98·10 ⁻²	38.9
AEO C ₁₆ EO ₁₀	18	55.96	4.99·10 ⁻¹	98.2	8.78·10 ⁻²	8.0
AEO C ₁₆ EO ₁₁	18	51.78	3.83·10 ⁻¹	99.5	4.47·10 ⁻²	59.2
AEO C ₁₆ EO ₁₂	18	32.32	3.69·10 ⁻¹	99.1	3.47·10 ⁻²	18.1
AEO C ₁₆ EO ₁₃	18	25.05	2.63·10 ⁻¹	99.5	1.88·10 ⁻²	23.6
AEO C ₁₆ EO ₁₄	18	26.07	1.65·10 ⁻¹	99.3	2.01·10 ⁻²	50.9
AEO C ₁₆ EO ₁₅	18	40.26	1.95·10 ⁻¹	99.2	2.79·10 ⁻²	43.3
AEO C ₁₈ EO ₄	18	16.98	8.60·10 ⁻²	98.4	1.54·10 ⁻²	33.7
AEO C ₁₈ EO ₅	18	54.46	3.37·10 ⁻¹	99.6	3.30·10 ⁻²	34.5
AEO C ₁₈ EO ₆	18	70.52	4.83·10 ⁻¹	99.4	5.78·10 ⁻²	15.7
AEO C ₁₈ EO ₇	18	107.0	6.46·10 ⁻¹	99.5	8.35·10 ⁻²	27.2
AEO C ₁₈ EO ₈	18	164.7	9.17·10 ⁻¹	99.6	1.26·10 ⁻¹	10.8
AEO C ₁₈ EO ₉	18	69.23	5.22·10 ⁻¹	99.5	5.59·10 ⁻²	12.7
AEO C ₁₈ EO ₁₀	18	60.49	6.65·10 ⁻¹	99.5	5.14·10 ⁻²	23.5
AEO C ₁₈ EO ₁₁	18	49.14	5.57·10 ⁻¹	98.6	6.38·10 ⁻²	13.6
AEO C ₁₈ EO ₁₂	18	5.880	7.30·10 ⁻²	98.8	6.27·10 ⁻³	24.4
AEO C ₁₈ EO ₁₃	18	10.38	8.73·10 ⁻²	98.3	1.08·10 ⁻²	38.3
AEO C ₁₈ EO ₁₄	18	19.80	2.08·10 ⁻¹	99.5	9.67·10 ⁻³	11.6

Tabla 5.3. Calibrado en matriz, suelo

Compuesto	n	b (kg·mg ⁻¹)	a	R ² (%)	S _{y/x}	P _{lof} (%)
LAS C ₁₀	18	1.652	1.89·10 ⁻²	99.9	1.02·10 ⁻²	8.5
LAS C ₁₁	18	2.178	1.09·10 ⁻¹	99.8	4.97·10 ⁻²	56.6
LAS C ₁₂	18	2.528	1.72·10 ⁻¹	99.8	6.31·10 ⁻²	51.9
LAS C ₁₃	18	2.892	1.43·10 ⁻¹	99.7	6.13·10 ⁻²	25.3
AS C ₁₂	18	3.649	1.70·10 ⁻¹	99.8	2.26·10 ⁻²	60.6
AS C ₁₄	18	2.663	1.01·10 ⁻¹	99.9	8.79·10 ⁻³	18.6
AS C ₁₆	18	2.181	1.80·10 ⁻²	99.8	4.46·10 ⁻³	9.3
AS C ₁₈	18	1.604	2.18·10 ⁻³	99.9	2.48·10 ⁻³	82.1
AES C ₁₂ EO ₁	18	4.131	5.55·10 ⁻²	99.7	1.29·10 ⁻²	7.3
AES C ₁₂ EO ₂	18	3.582	3.36·10 ⁻²	99.9	4.95·10 ⁻³	19.6
AES C ₁₂ EO ₃	18	3.035	1.34·10 ⁻²	99.9	2.09·10 ⁻³	10.5
AES C ₁₂ EO ₄	18	2.073	5.52·10 ⁻³	99.9	9.13·10 ⁻⁴	5.9
AES C ₁₂ EO ₅	18	2.128	3.21·10 ⁻³	99.9	5.83·10 ⁻⁴	30.9
AES C ₁₄ EO ₁	18	2.752	2.82·10 ⁻²	99.9	4.26·10 ⁻³	20.2
AES C ₁₄ EO ₂	18	2.553	1.03·10 ⁻²	99.9	1.69·10 ⁻³	42.2
AES C ₁₄ EO ₃	18	1.839	3.89·10 ⁻³	99.8	1.05·10 ⁻³	8.7
AES C ₁₄ EO ₄	18	2.182	1.37·10 ⁻³	99.9	3.70·10 ⁻⁴	15.1
AES C ₁₄ EO ₅	18	1.912	1.88·10 ⁻³	99.7	4.57·10 ⁻⁴	10.4
AES C ₁₆ EO ₁	18	2.665	2.36·10 ⁻³	99.9	7.69·10 ⁻⁴	42.6
AES C ₁₆ EO ₂	18	1.455	9.03·10 ⁻⁴	99.9	3.52·10 ⁻⁴	17.8
AES C ₁₆ EO ₃	18	1.556	7.95·10 ⁻⁴	99.9	2.74·10 ⁻⁴	10.4
AES C ₁₆ EO ₄	18	1.711	2.07·10 ⁻⁴	99.9	1.51·10 ⁻⁴	15.1
AES C ₁₆ EO ₅	18	1.934	2.37·10 ⁻⁴	99.9	8.64·10 ⁻⁵	6.3
AES C ₁₈ EO ₁	18	1.182	-1.59·10 ⁻⁴	99.9	6.91·10 ⁻⁴	5.7
AES C ₁₈ EO ₂	18	1.196	-2.13·10 ⁻⁴	99.9	3.00·10 ⁻⁴	62.6
AES C ₁₈ EO ₃	18	1.385	1.16·10 ⁻⁴	99.9	5.18·10 ⁻⁴	6.6
AES C ₁₈ EO ₄	18	1.376	8.74·10 ⁻⁷	99.9	1.78·10 ⁻⁴	43.6
AES C ₁₈ EO ₅	18	1.749	9.39·10 ⁻⁵	99.9	2.04·10 ⁻⁴	19.8
AEO C ₁₆ EO ₅	18	19.84	3.40·10 ⁻¹	99.8	4.60·10 ⁻³	38.8
AEO C ₁₆ EO ₆	18	22.80	4.31·10 ⁻¹	99.9	4.55·10 ⁻³	28.4
AEO C ₁₆ EO ₇	18	22.85	5.51·10 ⁻¹	99.8	8.08·10 ⁻³	30.1
AEO C ₁₆ EO ₈	18	14.91	4.63·10 ⁻¹	99.8	7.97·10 ⁻³	35.9
AEO C ₁₆ EO ₉	18	26.09	5.82·10 ⁻¹	99.9	1.07·10 ⁻²	7.4
AEO C ₁₆ EO ₁₀	18	16.68	3.39·10 ⁻¹	99.8	9.34·10 ⁻³	14.2
AEO C ₁₆ EO ₁₁	18	8.877	1.87·10 ⁻¹	99.7	6.03·10 ⁻³	9.4
AEO C ₁₆ EO ₁₂	18	5.191	1.02·10 ⁻¹	99.0	5.99·10 ⁻³	32.6
AEO C ₁₆ EO ₁₃	18	3.065	4.49·10 ⁻²	99.7	1.74·10 ⁻³	8.1
AEO C ₁₆ EO ₁₄	18	0.530	7.63·10 ⁻³	99.6	2.87·10 ⁻⁴	19.2
AEO C ₁₆ EO ₁₅	18	0.259	5.58·10 ⁻³	99.8	9.32·10 ⁻⁵	17.0
AEO C ₁₈ EO ₄	18	10.96	5.24·10 ⁻²	99.6	5.16·10 ⁻³	7.3
AEO C ₁₈ EO ₅	18	28.05	1.06·10 ⁻¹	99.7	1.33·10 ⁻²	6.8
AEO C ₁₈ EO ₆	18	42.16	1.85·10 ⁻¹	99.8	2.21·10 ⁻²	12.4
AEO C ₁₈ EO ₇	18	44.42	1.46·10 ⁻¹	99.8	1.95·10 ⁻²	11.4
AEO C ₁₈ EO ₈	18	44.12	1.20·10 ⁻¹	99.8	1.16·10 ⁻²	10.8
AEO C ₁₈ EO ₉	18	43.15	1.07·10 ⁻¹	99.8	9.93·10 ⁻³	30.2
AEO C ₁₈ EO ₁₀	18	37.34	8.85·10 ⁻²	99.9	1.12·10 ⁻²	23.7
AEO C ₁₈ EO ₁₁	18	15.29	4.20·10 ⁻²	99.7	8.48·10 ⁻³	21.8
AEO C ₁₈ EO ₁₂	18	5.461	1.97·10 ⁻²	99.7	2.70·10 ⁻³	18.4
AEO C ₁₈ EO ₁₃	18	2.958	1.03·10 ⁻²	99.7	1.21·10 ⁻³	11.1
AEO C ₁₈ EO ₁₄	18	1.023	6.77·10 ⁻³	99.8	3.29·10 ⁻⁴	14.7

Tabla 5.4. Calibrado con adición de patrón post-extracción, sedimento

Compuesto	n	b (kg·mg ⁻¹)	a	R ² (%)	S _{y/x}	P _{lof} (%)
LAS C ₁₀	18	3.803	8.22·10 ⁻²	99.9	2.76·10 ⁻²	11.7
LAS C ₁₁	18	3.787	3.08·10 ⁻¹	99.8	8.68·10 ⁻²	19.4
LAS C ₁₂	18	2.960	2.30·10 ⁻¹	99.8	6.78·10 ⁻²	13.8
LAS C ₁₃	18	3.442	1.67·10 ⁻¹	99.9	3.76·10 ⁻²	8.7
AS C ₁₂	18	9.360	1.77·10 ⁻¹	99.9	4.26·10 ⁻²	30.4
AS C ₁₄	18	5.642	8.32·10 ⁻²	99.9	1.36·10 ⁻²	9.6
AS C ₁₆	18	4.578	1.89·10 ⁻²	99.9	5.66·10 ⁻³	14.7
AS C ₁₈	18	3.275	4.91·10 ⁻³	99.9	5.92·10 ⁻³	50.5
AES C ₁₂ EO ₁	18	10.78	6.73·10 ⁻²	99.9	1.28·10 ⁻²	21.8
AES C ₁₂ EO ₂	18	7.018	4.15·10 ⁻²	99.9	7.90·10 ⁻³	13.2
AES C ₁₂ EO ₃	18	8.061	2.43·10 ⁻²	99.9	5.05·10 ⁻³	22.9
AES C ₁₂ EO ₄	18	6.266	1.31·10 ⁻²	99.8	3.55·10 ⁻³	17.4
AES C ₁₂ EO ₅	18	6.853	8.44·10 ⁻³	99.9	1.47·10 ⁻³	15.6
AES C ₁₄ EO ₁	18	4.089	2.71·10 ⁻²	99.9	6.22·10 ⁻³	25.7
AES C ₁₄ EO ₂	18	4.337	1.91·10 ⁻²	99.8	5.09·10 ⁻³	33.5
AES C ₁₄ EO ₃	18	5.216	1.04·10 ⁻²	99.9	2.13·10 ⁻³	8.6
AES C ₁₄ EO ₄	18	6.294	5.93·10 ⁻³	99.9	9.30·10 ⁻⁴	14.9
AES C ₁₄ EO ₅	18	5.839	4.49·10 ⁻³	99.9	8.80·10 ⁻⁴	12.4
AES C ₁₆ EO ₁	18	5.282	4.98·10 ⁻³	99.9	2.97·10 ⁻³	10.4
AES C ₁₆ EO ₂	18	4.861	3.31·10 ⁻³	99.8	2.63·10 ⁻³	32.9
AES C ₁₆ EO ₃	18	4.994	1.53·10 ⁻³	99.9	8.60·10 ⁻⁴	36.4
AES C ₁₆ EO ₄	18	5.914	3.70·10 ⁻⁴	99.9	3.80·10 ⁻⁴	14.5
AES C ₁₆ EO ₅	18	4.531	5.40·10 ⁻⁴	99.8	4.70·10 ⁻⁴	35.0
AES C ₁₈ EO ₁	18	3.399	3.28·10 ⁻³	99.9	4.18·10 ⁻³	23.6
AES C ₁₈ EO ₂	18	3.760	1.19·10 ⁻³	99.9	1.97·10 ⁻³	31.2
AES C ₁₈ EO ₃	18	3.565	7.20·10 ⁻⁴	99.9	1.21·10 ⁻³	47.6
AES C ₁₈ EO ₄	18	4.081	5.40·10 ⁻⁴	99.9	9.00·10 ⁻⁴	21.1
AES C ₁₈ EO ₅	18	3.409	3.20·10 ⁻⁴	99.9	5.00·10 ⁻⁴	20.5
AEO C ₁₆ EO ₅	18	54.29	9.91·10 ⁻²	99.8	1.48·10 ⁻²	9.1
AEO C ₁₆ EO ₆	18	88.24	2.08·10 ⁻¹	99.6	4.40·10 ⁻²	12.8
AEO C ₁₆ EO ₇	18	102.9	3.66·10 ⁻¹	99.6	5.70·10 ⁻²	7.4
AEO C ₁₆ EO ₈	18	91.23	5.97·10 ⁻¹	99.5	7.28·10 ⁻²	44.8
AEO C ₁₆ EO ₉	18	63.29	4.71·10 ⁻¹	99.7	3.84·10 ⁻²	22.2
AEO C ₁₆ EO ₁₀	18	60.20	6.59·10 ⁻¹	99.6	4.57·10 ⁻²	13.8
AEO C ₁₆ EO ₁₁	18	62.03	6.43·10 ⁻¹	99.6	4.45·10 ⁻²	6.2
AEO C ₁₆ EO ₁₂	18	44.49	6.59·10 ⁻¹	99.4	3.81·10 ⁻²	9.7
AEO C ₁₆ EO ₁₃	18	34.12	5.35·10 ⁻¹	99.3	2.96·10 ⁻²	21.1
AEO C ₁₆ EO ₁₄	18	38.51	6.10·10 ⁻¹	99.3	2.90·10 ⁻²	26.7
AEO C ₁₆ EO ₁₅	18	60.40	7.78·10 ⁻¹	99.1	4.26·10 ⁻²	13.1
AEO C ₁₈ EO ₄	18	17.18	7.05·10 ⁻²	99.8	5.46·10 ⁻³	56.0
AEO C ₁₈ EO ₅	18	63.42	4.41·10 ⁻¹	99.7	3.33·10 ⁻²	23.7
AEO C ₁₈ EO ₆	18	85.76	8.38·10 ⁻¹	99.9	2.98·10 ⁻²	39.0
AEO C ₁₈ EO ₇	18	113.9	1.26·10 ⁻¹	99.5	8.69·10 ⁻²	21.2
AEO C ₁₈ EO ₈	18	185.5	1.74·10 ⁻¹	99.6	1.43·10 ⁻¹	17.1
AEO C ₁₈ EO ₉	18	86.54	1.17·10 ⁻¹	99.8	4.37·10 ⁻²	17.7
AEO C ₁₈ EO ₁₀	18	75.85	1.05·10 ⁻¹	99.8	3.68·10 ⁻²	46.3
AEO C ₁₈ EO ₁₁	18	59.14	9.82·10 ⁻¹	99.4	4.95·10 ⁻²	12.9
AEO C ₁₈ EO ₁₂	18	8.039	1.62·10 ⁻¹	99.6	4.53·10 ⁻³	10.3
AEO C ₁₈ EO ₁₃	18	16.54	3.05·10 ⁻¹	99.7	7.13·10 ⁻³	41.8
AEO C ₁₈ EO ₁₄	18	31.96	4.80·10 ⁻¹	99.5	1.45·10 ⁻²	9.2

Tabla 5.5. Calibrado con adición de patrón post-extracción, suelo

Compuesto	n	b (kg·mg ⁻¹)	a	R ² (%)	S _{y/x}	P _{lof} (%)
LAS C ₁₀	18	2.291	3.92·10 ⁻²	99.9	2.16·10 ⁻²	33.0
LAS C ₁₁	18	2.945	1.56·10 ⁻¹	99.9	3.23·10 ⁻²	13.8
LAS C ₁₂	18	3.520	1.69·10 ⁻¹	99.9	2.87·10 ⁻²	32.2
LAS C ₁₃	18	3.918	1.37·10 ⁻¹	99.8	6.51·10 ⁻²	38.7
AS C ₁₂	18	4.759	1.80·10 ⁻¹	99.8	2.74·10 ⁻²	25.4
AS C ₁₄	18	3.006	1.08·10 ⁻¹	99.9	1.01·10 ⁻²	16.8
AS C ₁₆	18	2.532	1.41·10 ⁻²	99.9	3.71·10 ⁻³	21.9
AS C ₁₈	18	1.875	3.12·10 ⁻³	99.9	2.94·10 ⁻³	8.6
AES C ₁₂ EO ₁	18	5.664	6.17·10 ⁻²	99.9	9.38·10 ⁻³	9.5
AES C ₁₂ EO ₂	18	4.837	3.81·10 ⁻²	99.8	7.71·10 ⁻³	21.5
AES C ₁₂ EO ₃	18	3.955	1.31·10 ⁻²	99.9	2.69·10 ⁻³	26.0
AES C ₁₂ EO ₄	18	2.601	7.78·10 ⁻³	99.8	1.60·10 ⁻³	15.4
AES C ₁₂ EO ₅	18	2.266	3.87·10 ⁻³	99.8	8.75·10 ⁻⁴	17.9
AES C ₁₄ EO ₁	18	3.093	2.94·10 ⁻²	99.9	5.43·10 ⁻³	21.0
AES C ₁₄ EO ₂	18	2.655	1.19·10 ⁻²	99.8	3.22·10 ⁻³	6.8
AES C ₁₄ EO ₃	18	2.063	4.61·10 ⁻³	99.9	1.10·10 ⁻³	21.1
AES C ₁₄ EO ₄	18	2.349	2.25·10 ⁻³	99.9	4.69·10 ⁻⁴	35.3
AES C ₁₄ EO ₅	18	2.417	1.82·10 ⁻³	99.8	4.20·10 ⁻⁴	23.5
AES C ₁₆ EO ₁	18	3.035	2.86·10 ⁻³	99.9	1.13·10 ⁻³	19.1
AES C ₁₆ EO ₂	18	1.759	7.52·10 ⁻⁴	99.9	7.02·10 ⁻⁴	25.7
AES C ₁₆ EO ₃	18	1.900	5.48·10 ⁻⁴	99.8	4.94·10 ⁻⁴	12.3
AES C ₁₆ EO ₄	18	1.913	7.53·10 ⁻⁴	99.2	5.46·10 ⁻⁴	56.3
AES C ₁₆ EO ₅	18	2.426	1.68·10 ⁻⁴	99.6	3.90·10 ⁻⁴	48.3
AES C ₁₈ EO ₁	18	1.426	-4.41·10 ⁻⁴	99.9	1.48·10 ⁻⁵	37.8
AES C ₁₈ EO ₂	18	1.411	8.92·10 ⁻⁵	99.9	5.78·10 ⁻⁴	41.3
AES C ₁₈ EO ₃	18	1.799	5.30·10 ⁻⁵	99.9	5.15·10 ⁻⁴	40.8
AES C ₁₈ EO ₄	18	1.620	4.38·10 ⁻⁴	99.9	4.15·10 ⁻⁴	8.2
AES C ₁₈ EO ₅	18	2.096	5.03·10 ⁻⁵	99.6	6.46·10 ⁻⁴	51.7
AEO C ₁₆ EO ₅	18	26.12	5.19·10 ⁻¹	99.4	1.27·10 ⁻²	44.4
AEO C ₁₆ EO ₆	18	25.48	5.21·10 ⁻¹	99.3	1.63·10 ⁻²	15.5
AEO C ₁₆ EO ₇	18	35.17	6.72·10 ⁻¹	99.7	1.88·10 ⁻²	15.7
AEO C ₁₆ EO ₈	18	19.19	6.02·10 ⁻¹	99.6	1.33·10 ⁻²	12.0
AEO C ₁₆ EO ₉	18	34.40	6.77·10 ⁻¹	99.5	2.63·10 ⁻²	8.2
AEO C ₁₆ EO ₁₀	18	21.05	5.58·10 ⁻¹	99.4	1.91·10 ⁻²	12.9
AEO C ₁₆ EO ₁₁	18	12.50	5.66·10 ⁻¹	99.4	1.14·10 ⁻²	30.5
AEO C ₁₆ EO ₁₂	18	7.656	4.75·10 ⁻¹	99.6	5.43·10 ⁻³	30.8
AEO C ₁₆ EO ₁₃	18	4.631	6.29·10 ⁻¹	99.2	4.48·10 ⁻³	33.8
AEO C ₁₆ EO ₁₄	18	0.829	4.33·10 ⁻¹	99.6	4.53·10 ⁻⁴	9.1
AEO C ₁₆ EO ₁₅	18	0.418	4.75·10 ⁻¹	99.4	2.41·10 ⁻⁴	21.5
AEO C ₁₈ EO ₄	18	11.71	6.05·10 ⁻²	99.6	5.14·10 ⁻³	19.2
AEO C ₁₈ EO ₅	18	29.53	1.85·10 ⁻¹	99.8	1.35·10 ⁻²	8.4
AEO C ₁₈ EO ₆	18	46.23	3.25·10 ⁻¹	99.8	2.35·10 ⁻²	5.1
AEO C ₁₈ EO ₇	18	53.85	3.57·10 ⁻¹	99.7	3.07·10 ⁻²	11.9
AEO C ₁₈ EO ₈	18	55.65	2.50·10 ⁻¹	99.6	4.00·10 ⁻²	21.2
AEO C ₁₈ EO ₉	18	55.87	3.39·10 ⁻¹	99.8	3.40·10 ⁻²	15.8
AEO C ₁₈ EO ₁₀	18	54.20	3.39·10 ⁻¹	99.6	3.94·10 ⁻²	9.6
AEO C ₁₈ EO ₁₁	18	23.82	2.48·10 ⁻¹	99.6	1.53·10 ⁻²	11.4
AEO C ₁₈ EO ₁₂	18	8.569	8.96·10 ⁻²	99.8	3.56·10 ⁻³	26.2
AEO C ₁₈ EO ₁₃	18	4.778	2.63·10 ⁻¹	99.4	2.82·10 ⁻³	12.2
AEO C ₁₈ EO ₁₄	18	1.663	1.31·10 ⁻¹	99.9	3.86·10 ⁻⁴	18.1

3. EVALUACIÓN DEL EFECTO MATRIZ Y ESTIMACIÓN DE LA RECUPERACIÓN

3.1. Evaluación del efecto matriz

La siguiente etapa consistió en realizar una evaluación de la posible existencia de efecto matriz. Para ello, se compararon las funciones de calibración externa y post-extracción, observando si existía diferencia significativa entre las pendientes y las ordenadas en el origen, para cada compuesto.

La comparación se realizó de acuerdo a lo descrito en el capítulo 2 de la presente Memoria. Los resultados obtenidos para el sedimento se muestran en la **tabla 5.6**, y los obtenidos para el suelo en la **tabla 5.7**.

Tabla 5.6. Comparación de pendientes y ordenadas en sedimento

Compuesto	F _{cal}	Homog. Varianza	S _p	t _{b cal}	t _{a cal}	Z _{a cal}	b iguales	a iguales	Efecto matriz
LAS C ₁₀	2.06	SI	0.0341	6.70	1.50		NO	SI	SI
LAS C ₁₁	1.04	SI	0.0877	11.6	3.57		NO	NO	SI
LAS C ₁₂	1.75	SI	0.0601	10.6	5.48		NO	NO	SI
LAS C ₁₃	2.62	NO		12.6		4.98	NO	NO	SI
AS C ₁₂	1.83	SI	0.0506	10.4	6.92		NO	NO	SI
AS C ₁₄	2.37	NO		8.63		10.2	NO	NO	SI
AS C ₁₆	1.33	SI	0.0053	9.98	8.04		NO	NO	SI
AS C ₁₈	1.05	SI	0.0059	12.8	0.83		NO	SI	SI
AES C ₁₂ EO ₁	3.76	NO		6.43		5.11	NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₂	1.27	SI	0.0075	4.64	10.2		NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₃	1.39	SI	0.0055	4.38	8.69		NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₄	1.03	SI	0.0035	3.07	8.02		NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₅	2.10	SI	0.0018	7.85	8.65		NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₁	1.66	SI	0.0056	9.28	10.4		NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₂	1.37	SI	0.0047	3.13	8.08		NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₃	1.86	SI	0.0026	8.24	7.55		NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₄	3.04	NO		7.14		8.98	NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₅	1.42	SI	0.0008	11.0	13.1		NO	NO	SI
AES C ₁₆ EO ₁	1.96	SI	0.0036	9.63	1.02		NO	SI	SI
AES C ₁₆ EO ₂	1.19	SI	0.0025	12.3	1.28		NO	SI	SI
AES C ₁₆ EO ₃	1.36	SI	0.0008	6.31	4.28		NO	NO	SI
AES C ₁₆ EO ₄	3.93	NO		15.9		1.19	NO	NO	SI
AES C ₁₆ EO ₅	2.05	SI	0.0006	11.0	0.71		NO	SI	SI
AES C ₁₈ EO ₁	1.48	SI	0.0038	3.19	0.64		NO	SI	SI
AES C ₁₈ EO ₂	1.04	SI	0.0019	4.69	0.40		NO	SI	SI
AES C ₁₈ EO ₃	2.80	NO		7.60		0.16	NO	NO	SI
AES C ₁₈ EO ₄	1.79	SI	0.0008	4.95	0.42		NO	SI	SI
AES C ₁₈ EO ₅	1.59	SI	0.0006	5.29	1.76		NO	SI	SI
AEO C ₁₆ EO ₅	1.33	SI	0.0138	3.67	14.6		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₆	1.21	SI	0.0420	14.6	5.02		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₇	4.53	NO		15.9		6.25	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₈	1.40	SI	0.0674	23.5	0.87		NO	SI	SI
AEO C ₁₆ EO ₉	1.27	SI	0.0410	35.3	8.80		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₀	1.58	SI	0.0519	61.6	20.5		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₁	4.94	NO		22.3		9.06	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₂	3.05	NO		34.0		12.0	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₃	4.74	NO		27.1		12.5	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₄	2.17	SI	0.0366	18.4	21.6		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₅	1.92	SI	0.0371	10.9	39.1		NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₄	4.20	NO		14.7		17.9	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₅	3.92	NO		20.4		3.79	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₆	5.43	NO		37.3		11.3	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₇	1.57	SI	0.0984	7.84	21.0		NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₈	2.64	NO		9.15		22.7	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₉	3.10	NO		22.4		18.8	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₀	9.64	NO		28.4		14.0	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₁	2.30	SI	0.0636	33.4	10.2		NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₂	2.46	NO		44.0		27.1	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₃	1.01	SI	0.0071	25.9	78.8		NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₄	1.12	SI	0.0141	2.49	68.3		NO	NO	SI

Tabla 5.7. Comparación de pendientes y ordenadas en suelo agrícola

Compuesto	F _{cal}	Homog. Varianza	s _p	t _{b cal}	t _{a cal}	z _{a cal}	b iguales	a iguales	Efecto matriz
LAS C ₁₀	3.37	NO		40.8		2.44	NO	NO	SI
LAS C ₁₁	7.50	NO		36.0		2.13	NO	NO	SI
LAS C ₁₂	3.19	NO		5.74		3.48	NO	NO	SI
LAS C ₁₃	1.15	SI	0.0630	1.28	2.56		SI	NO	SI
AS C ₁₂	4.41	NO		49.6		8.01	NO	NO	SI
AS C ₁₄	4.28	NO		49.3		15.4	NO	NO	SI
AS C ₁₆	1.74	SI	0.0044	54.9	6.49		NO	NO	SI
AS C ₁₈	3.85	NO		84.0		2.23	NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₁	6.94	NO		36.5		4.48	NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₂	1.21	SI	0.0074	37.9	8.92		NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₃	4.90	NO		58.1		3.15	NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₄	4.77	NO		55.8		4.49	NO	NO	SI
AES C ₁₂ EO ₅	5.93	NO		64.0		1.30	NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₁	1.27	SI	0.0051	17.1	12.6		NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₂	1.83	SI	0.0038	33.3	4.31		NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₃	7.07	NO		47.7		0.92	NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₄	11.94	NO		50.5		0.68	NO	NO	SI
AES C ₁₄ EO ₅	3.09	NO		55.9		4.31	NO	NO	SI
AES C ₁₆ EO ₁	13.47	NO		29.9		0.87	NO	NO	SI
AES C ₁₆ EO ₂	11.76	NO		52.0		2.51	NO	NO	SI
AES C ₁₆ EO ₃	2.22	SI	0.0006	84.4	0.75		NO	SI	SI
AES C ₁₆ EO ₄	1.89	SI	0.0007	40.7	0.67		NO	SI	SI
AES C ₁₆ EO ₅	2.96	NO		17.5		1.27	NO	NO	SI
AES C ₁₈ EO ₁	5.45	NO		75.7		3.30	NO	NO	SI
AES C ₁₈ EO ₂	11.16	NO		77.1		2.87	NO	NO	SI
AES C ₁₈ EO ₃	1.96	NO		70.8		3.46	NO	NO	SI
AES C ₁₈ EO ₄	2.61	NO		77.4		1.16	NO	NO	SI
AES C ₁₈ EO ₅	1.05	SI	0.0006	23.4	2.84		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₅	1.01	SI	0.0128	33.6	114.5		NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₆	5.99	NO		65.2		23.9	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₇	41.39	NO		37.7		3.75	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₈	21.45	NO		85.3		1.67	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₉	2.71	NO		65.9		27.3	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₀	9.00	NO		104.9		17.8	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₁	75.23	NO		48.2		6.61	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₂	150.53	NO		64.5		2.15	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₃	207.28	NO		49.0		19.9	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₄	8915.90	NO		54.1		8.57	NO	NO	SI
AEO C ₁₆ EO ₁₅	16252.59	NO		77.3		25.1	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₄	4.74	NO		27.4		14.7	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₅	23.84	NO		41.4		12.0	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₆	8.68	NO		61.5		18.1	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₇	12.56	NO		33.5		7.98	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₈	4.84	NO		47.6		26.1	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₉	5.13	NO		41.2		22.2	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₀	8.44	NO		36.5		10.9	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₁	24.05	NO		59.0		28.8	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₂	4.00	NO		44.1		10.0	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₃	6.45	NO		82.2		80.4	NO	NO	SI
AEO C ₁₈ EO ₁₄	1265.54	NO		62.4		8.35	NO	NO	SI

$$F_{\text{tab}(g.l.; 16, 16; P=0.95)} = 2.33$$

Con homogeneidad de varianzas: $t_{b \text{ tab } (g.l.= 32; P=0.95)} = 2.04$

$$t_{a \text{ tab } (g.l.= 33; P=0.95)} = 2.03$$

Sin homogeneidad de varianzas: $t_{b \text{ tab } (f=16; P=0.95)} = 2.12$

$$z_{a \text{ tab } (0.95)} = 0.06$$

Como se puede observar, en todos los casos se obtienen diferencias significativas entre las pendientes y/o las ordenadas en el origen, no siendo, en ningún caso las 2 funciones de calibración estadísticamente iguales. Por tanto, se concluye que existe efecto matriz en el proceso de medida, tanto para el caso del sedimento como del suelo.

3.2. Estimación de la recuperación del proceso de extracción

Por otra parte, mediante la comparación de la función de calibración en matriz frente a la función de calibración con adición de patrón post-extracción se estima la recuperación del proceso de extracción para las dos matrices estudiadas. En la **tabla 5.8** se muestran los resultados obtenidos.

Tabla 5.8. Recuperación del proceso de extracción

Compuesto	b_{matriz} sedimento ($\text{kg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	$b_{\text{post-extracción}}$ sedimento ($\text{kg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	b_{matriz} suelo ($\text{kg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	$b_{\text{post-extracción}}$ suelo ($\text{kg}\cdot\text{mg}^{-1}$)	R sedimento (%)	R suelo (%)
LAS C ₁₀	3.087	3.803	1.652	2.291	81.2	72.1
LAS C ₁₁	3.467	3.787	2.178	2.945	91.6	73.9
LAS C ₁₂	2.624	2.960	2.528	3.520	88.6	71.8
LAS C ₁₃	2.993	3.442	2.892	3.918	86.9	73.8
AS C ₁₂	8.423	9.360	3.649	4.759	90.0	76.7
AS C ₁₄	5.395	5.642	2.663	3.006	95.6	88.6
AS C ₁₆	3.753	4.578	2.181	2.532	82.2	86.1
AS C ₁₈	2.792	3.275	1.604	1.875	85.2	85.5
AES C ₁₂ EO ₁	9.138	10.78	4.131	5.664	84.8	72.9
AES C ₁₂ EO ₂	6.371	7.018	3.582	4.837	90.8	74.1
AES C ₁₂ EO ₃	7.098	8.061	3.035	3.955	88.0	76.7
AES C ₁₂ EO ₄	5.214	6.266	2.073	2.601	83.2	79.7
AES C ₁₂ EO ₅	5.585	6.853	2.128	2.266	81.5	93.9
AES C ₁₄ EO ₁	3.650	4.089	2.752	3.093	89.3	89.0
AES C ₁₄ EO ₂	3.771	4.337	2.553	2.655	87.0	96.2
AES C ₁₄ EO ₃	4.580	5.216	1.839	2.063	87.8	89.1
AES C ₁₄ EO ₄	5.205	6.294	2.182	2.349	82.7	92.9
AES C ₁₄ EO ₅	5.063	5.839	1.912	2.417	86.7	79.1
AES C ₁₆ EO ₁	4.507	5.282	2.665	3.035	85.3	87.8
AES C ₁₆ EO ₂	3.981	4.861	1.455	1.759	81.9	82.7
AES C ₁₆ EO ₃	4.265	4.994	1.556	1.900	85.4	81.9
AES C ₁₆ EO ₄	4.930	5.914	1.711	1.913	83.3	89.4
AES C ₁₆ EO ₅	3.909	4.531	1.934	2.426	86.3	79.7
AES C ₁₈ EO ₁	2.677	3.399	1.182	1.426	78.8	82.9
AES C ₁₈ EO ₂	2.694	3.760	1.196	1.411	71.6	84.8
AES C ₁₈ EO ₃	2.670	3.565	1.385	1.799	74.9	77.0
AES C ₁₈ EO ₄	2.960	4.081	1.376	1.620	72.5	84.9
AES C ₁₈ EO ₅	2.712	3.409	1.749	2.096	79.5	83.4
AEO C ₁₆ EO ₅	52.30	54.29	19.84	26.12	96.3	76.0
AEO C ₁₆ EO ₆	72.86	88.24	22.80	25.48	82.6	89.5
AEO C ₁₆ EO ₇	84.66	102.9	22.85	35.17	82.3	65.0
AEO C ₁₆ EO ₈	82.62	91.23	14.91	19.19	90.6	77.7
AEO C ₁₆ EO ₉	60.78	63.29	26.09	34.40	96.0	75.8
AEO C ₁₆ EO ₁₀	55.96	60.20	16.68	21.05	93.0	79.2
AEO C ₁₆ EO ₁₁	51.78	62.03	8.877	12.50	83.5	71.0
AEO C ₁₆ EO ₁₂	32.32	44.49	5.191	7.656	72.6	67.8
AEO C ₁₆ EO ₁₃	25.05	34.12	3.065	4.631	73.4	66.2
AEO C ₁₆ EO ₁₄	26.07	38.51	0.530	0.829	67.7	63.9
AEO C ₁₆ EO ₁₅	40.26	60.40	0.259	0.418	66.6	61.9
AEO C ₁₈ EO ₄	16.98	17.18	10.96	11.71	98.8	93.6
AEO C ₁₈ EO ₅	54.46	63.42	28.05	29.53	85.9	95.0
AEO C ₁₈ EO ₆	70.52	85.76	42.16	46.23	82.2	91.2
AEO C ₁₈ EO ₇	107.0	113.9	44.42	53.85	93.9	82.5
AEO C ₁₈ EO ₈	164.7	185.5	44.12	55.65	88.8	79.3
AEO C ₁₈ EO ₉	69.23	86.54	43.15	55.87	80.0	77.2
AEO C ₁₈ EO ₁₀	60.49	75.85	37.34	54.20	79.7	68.9
AEO C ₁₈ EO ₁₁	49.14	59.14	15.29	23.82	83.1	64.2
AEO C ₁₈ EO ₁₂	5.880	8.039	5.461	8.569	73.2	63.7
AEO C ₁₈ EO ₁₃	10.38	16.54	2.958	4.778	62.8	61.9
AEO C ₁₈ EO ₁₄	19.80	31.96	1.023	1.663	62.0	61.5

3.3. Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos, se pudieron establecer las siguientes conclusiones:

- 1) Existía efecto matriz en las dos matrices estudiadas. Por lo tanto, a la hora de cuantificar se debe hacer con la función de calibración en muestra.

- 2) Las recuperaciones obtenidas durante los procesos de extracción fueron altas en todos los casos, observándose que para el caso de los tensioactivos más pesados la recuperación era menor. Por tanto, los procedimientos de extracción son eficientes.

4. CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS ANALÍTICOS DE VALIDACIÓN

4.1. Verificación del modelo lineal, linealidad

Para la verificación del modelo lineal, se realizaron los siguientes estudios:

- 1) Linealidad “en línea” (in-line). Evaluación del *fallo de ajuste* (P_{lof}), para determinar la tendencia lineal de los datos. Como se observa en las **tablas 5.1 - 5.5**, en todos los casos el valor de P_{lof} fue mayor del 5 %, por tanto, se concluyó que no existe curvatura, es decir, los datos se ajustaban al modelo lineal propuesto.
- 2) Linealidad “sobre la línea” (on-line). La evaluación del propio coeficiente de correlación (r) o como el coeficiente de determinación (R^2) con valores próximos a la unidad en las **tablas 5.1 - 5.5** pone de manifiesto el alto grado de ajuste lineal de los datos. También se puede calcular la linealidad en porcentaje con la **ecuación 2.13**. Los resultados para el calibrado en matriz se muestran en la **tabla 5.9**.

Tabla 5.9. Linealidad (%)

Compuesto	DER(b) sedimento	DER(b) suelo	LIN (%) sedimento	LIN (%) suelo
LAS C ₁₀	$1.24 \cdot 10^{-2}$	$6.14 \cdot 10^{-2}$	98.8	99.4
LAS C ₁₁	$1.18 \cdot 10^{-2}$	$9.87 \cdot 10^{-3}$	98.8	99.0
LAS C ₁₂	$8.10 \cdot 10^{-3}$	$1.13 \cdot 10^{-2}$	99.2	98.9
LAS C ₁₃	$8.59 \cdot 10^{-3}$	$1.29 \cdot 10^{-2}$	99.1	98.7
AS C ₁₂	$1.05 \cdot 10^{-2}$	$1.18 \cdot 10^{-2}$	99.0	98.8
AS C ₁₄	$1.13 \cdot 10^{-2}$	$9.32 \cdot 10^{-3}$	98.9	99.1
AS C ₁₆	$1.23 \cdot 10^{-2}$	$1.01 \cdot 10^{-2}$	98.8	99.0
AS C ₁₈	$5.77 \cdot 10^{-3}$	$4.95 \cdot 10^{-3}$	99.4	99.5
AES C ₁₂ EO ₁	$1.32 \cdot 10^{-2}$	$1.39 \cdot 10^{-2}$	98.7	98.6
AES C ₁₂ EO ₂	$1.12 \cdot 10^{-2}$	$8.71 \cdot 10^{-3}$	98.9	99.1
AES C ₁₂ EO ₃	$9.44 \cdot 10^{-3}$	$8.19 \cdot 10^{-3}$	99.1	99.2
AES C ₁₂ EO ₄	$1.62 \cdot 10^{-2}$	$8.09 \cdot 10^{-3}$	98.4	99.2
AES C ₁₂ EO ₅	$9.61 \cdot 10^{-3}$	$7.49 \cdot 10^{-3}$	99.0	99.3
AES C ₁₄ EO ₁	$1.09 \cdot 10^{-2}$	$7.82 \cdot 10^{-3}$	98.9	99.2
AES C ₁₄ EO ₂	$1.22 \cdot 10^{-2}$	$5.53 \cdot 10^{-3}$	98.8	99.4
AES C ₁₄ EO ₃	$1.05 \cdot 10^{-2}$	$1.01 \cdot 10^{-2}$	99.0	99.0
AES C ₁₄ EO ₄	$1.71 \cdot 10^{-2}$	$6.79 \cdot 10^{-3}$	98.3	99.3
AES C ₁₄ EO ₅	$9.07 \cdot 10^{-3}$	$1.36 \cdot 10^{-2}$	99.1	98.6
AES C ₁₆ EO ₁	$7.72 \cdot 10^{-3}$	$3.65 \cdot 10^{-3}$	99.2	99.6
AES C ₁₆ EO ₂	$7.58 \cdot 10^{-3}$	$4.30 \cdot 10^{-3}$	99.2	99.6
AES C ₁₆ EO ₃	$9.86 \cdot 10^{-3}$	$6.65 \cdot 10^{-3}$	99.0	99.3
AES C ₁₆ EO ₄	$1.52 \cdot 10^{-2}$	$6.94 \cdot 10^{-3}$	98.5	99.3
AES C ₁₆ EO ₅	$1.00 \cdot 10^{-2}$	$4.17 \cdot 10^{-3}$	99.0	99.6
AES C ₁₈ EO ₁	$1.03 \cdot 10^{-2}$	$4.33 \cdot 10^{-3}$	99.0	99.6
AES C ₁₈ EO ₂	$1.06 \cdot 10^{-2}$	$3.50 \cdot 10^{-3}$	98.9	99.7
AES C ₁₈ EO ₃	$1.19 \cdot 10^{-2}$	$8.98 \cdot 10^{-3}$	98.8	99.1
AES C ₁₈ EO ₄	$1.33 \cdot 10^{-2}$	$4.79 \cdot 10^{-3}$	98.7	99.5
AES C ₁₈ EO ₅	$1.05 \cdot 10^{-2}$	$6.03 \cdot 10^{-3}$	98.9	99.4
AEO C ₁₆ EO ₅	$2.21 \cdot 10^{-2}$	$9.64 \cdot 10^{-3}$	97.8	99.0
AEO C ₁₆ EO ₆	$1.60 \cdot 10^{-2}$	$6.46 \cdot 10^{-3}$	98.4	99.4
AEO C ₁₆ EO ₇	$2.66 \cdot 10^{-2}$	$9.58 \cdot 10^{-3}$	97.3	99.0
AEO C ₁₆ EO ₈	$1.44 \cdot 10^{-2}$	0.01230	98.6	98.8
AEO C ₁₆ EO ₉	$2.18 \cdot 10^{-2}$	$9.14 \cdot 10^{-3}$	97.8	99.1
AEO C ₁₆ EO ₁₀	$3.36 \cdot 10^{-2}$	$1.20 \cdot 10^{-2}$	96.6	98.8
AEO C ₁₆ EO ₁₁	$1.80 \cdot 10^{-2}$	$1.42 \cdot 10^{-2}$	98.2	98.6
AEO C ₁₆ EO ₁₂	$2.32 \cdot 10^{-2}$	$2.50 \cdot 10^{-2}$	97.7	97.5
AEO C ₁₆ EO ₁₃	$1.78 \cdot 10^{-2}$	$1.35 \cdot 10^{-2}$	98.2	98.6
AEO C ₁₆ EO ₁₄	$2.14 \cdot 10^{-2}$	$1.50 \cdot 10^{-2}$	97.9	98.5
AEO C ₁₆ EO ₁₅	$2.30 \cdot 10^{-2}$	$1.20 \cdot 10^{-2}$	97.7	98.8
AEO C ₁₈ EO ₄	$3.19 \cdot 10^{-2}$	$1.66 \cdot 10^{-2}$	96.8	98.3
AEO C ₁₈ EO ₅	$1.61 \cdot 10^{-2}$	$1.26 \cdot 10^{-2}$	98.4	98.7
AEO C ₁₈ EO ₆	$1.92 \cdot 10^{-2}$	$1.23 \cdot 10^{-2}$	98.1	98.8
AEO C ₁₈ EO ₇	$1.74 \cdot 10^{-2}$	$9.78 \cdot 10^{-3}$	98.3	99.0
AEO C ₁₈ EO ₈	$1.62 \cdot 10^{-2}$	$5.58 \cdot 10^{-3}$	98.4	99.4
AEO C ₁₈ EO ₉	$1.67 \cdot 10^{-2}$	$4.75 \cdot 10^{-3}$	98.3	99.5
AEO C ₁₈ EO ₁₀	$1.82 \cdot 10^{-2}$	$6.42 \cdot 10^{-3}$	98.2	99.4
AEO C ₁₈ EO ₁₁	$3.03 \cdot 10^{-2}$	$1.29 \cdot 10^{-2}$	97.0	98.7
AEO C ₁₈ EO ₁₂	$2.80 \cdot 10^{-2}$	$1.30 \cdot 10^{-2}$	97.2	98.7
AEO C ₁₈ EO ₁₃	$3.31 \cdot 10^{-2}$	$1.30 \cdot 10^{-2}$	96.7	98.7
AEO C ₁₈ EO ₁₄	$1.18 \cdot 10^{-2}$	$1.21 \cdot 10^{-2}$	98.2	98.8

Para todos los compuestos la linealidad es superior al 95 %. Por tanto, se puede afirmar que los datos experimentales se ajustaban al modelo lineal propuesto.

- 3) Evaluación de la homogeneidad de varianzas, condición de *homocedasticidad*. Para este propósito se empleó el análisis de los gráficos de residuos. Se observó que en todos los casos se cumplían las premisas fijadas. Por tanto, se pudo afirmar que los datos eran homocedásticos. En la **figura 5.1**, a modo de ejemplo, se puede observar el cumplimiento de esta condición para el tensioactivo AEO C₁₈ EO₁₀ en sedimento.

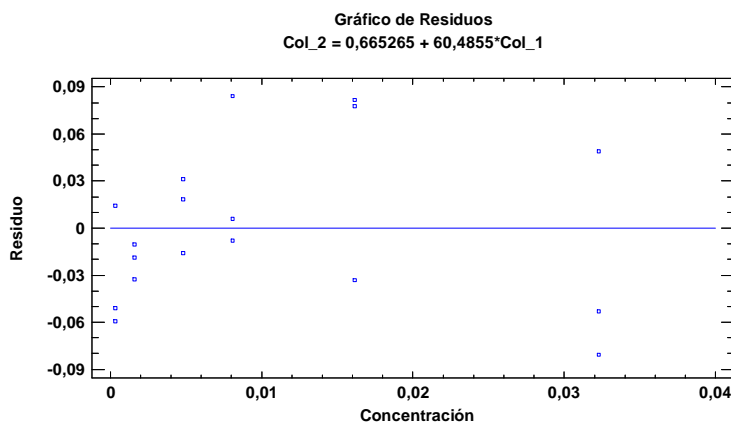


Figura 5.1. Distribución de residuales frente a la concentración.
Condición de homocedasticidad

4.2. Límites de detección y cuantificación

El límite de detección se calculó a partir de la señal del blanco. Para ello se prepararon 10 blancos para cada matriz que se extrajeron según los procedimientos operatorios previamente descritos. Se inyectaron en el

cromatógrafo de líquidos, fijando las condiciones instrumentales previamente optimizadas.

Los resultados obtenidos son los mostrados en la **tabla 5.10**.

Tabla 5.10. Límites de detección y cuantificación de los métodos

Compuesto	S ₀ sedimento	S ₀ suelo	X _{LD} sedimento (µg·kg ⁻¹)	X _{LD} suelo (µg·kg ⁻¹)	X _{LQ} suelo y sedimento (µg·kg ⁻¹)
LAS C ₁₀	1.1025	1.7386	3	5	14
LAS C ₁₁	2.2959	2.8176	7	8	32
LAS C ₁₂	2.0256	2.8044	6	8	31
LAS C ₁₃	1.7258	2.2439	5	7	23
AS C ₁₂	0.1827	0.2086	0.5	0.6	3.5
AS C ₁₄	0.1570	0.1852	0.5	0.6	2.4
AS C ₁₆	0.0958	0.0718	0.3	0.2	1.4
AS C ₁₈	0.1025	0.1129	0.3	0.3	2.1
AES C ₁₂ EO ₁	0.1154	0.1746	0.35	0.52	1.50
AES C ₁₂ EO ₂	0.0768	0.1877	0.23	0.56	1.07
AES C ₁₂ EO ₃	0.0416	0.0510	0.12	0.15	0.57
AES C ₁₂ EO ₄	0.0216	0.0310	0.06	0.09	0.37
AES C ₁₂ EO ₅	0.0215	0.0122	0.06	0.04	0.25
AES C ₁₄ EO ₁	0.1221	0.1427	0.37	0.43	1.33
AES C ₁₄ EO ₂	0.0741	0.0604	0.22	0.18	0.80
AES C ₁₄ EO ₃	0.0355	0.0309	0.11	0.09	0.38
AES C ₁₄ EO ₄	0.0128	0.0107	0.04	0.03	0.17
AES C ₁₄ EO ₅	0.0091	0.0081	0.03	0.02	0.12
AES C ₁₆ EO ₁	0.0499	0.0476	0.15	0.14	0.53
AES C ₁₆ EO ₂	0.0346	0.0346	0.10	0.10	0.38
AES C ₁₆ EO ₃	0.0168	0.0142	0.05	0.04	0.18
AES C ₁₆ EO ₄	0.0070	0.0119	0.02	0.04	0.09
AES C ₁₆ EO ₅	0.0069	0.0108	0.02	0.03	0.07
AES C ₁₈ EO ₁	0.0873	0.0886	0.26	0.27	0.91
AES C ₁₈ EO ₂	0.0451	0.0412	0.14	0.12	0.48
AES C ₁₈ EO ₃	0.0279	0.0240	0.08	0.07	0.28
AES C ₁₈ EO ₄	0.0181	0.0179	0.05	0.05	0.18
AES C ₁₈ EO ₅	0.0117	0.0121	0.03	0.04	0.13
AEO C ₁₆ EO ₅	0.0155	0.0141	0.05	0.04	0.17
AEO C ₁₆ EO ₆	0.0191	0.0177	0.06	0.05	0.21
AEO C ₁₆ EO ₇	0.0225	0.0315	0.07	0.09	0.26
AEO C ₁₆ EO ₈	0.0290	0.0375	0.09	0.11	0.30
AEO C ₁₆ EO ₉	0.0285	0.0421	0.09	0.13	0.31
AEO C ₁₆ EO ₁₀	0.0282	0.0298	0.08	0.09	0.32
AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.0295	0.0453	0.09	0.14	0.33
AEO C ₁₆ EO ₁₂	0.0302	0.0341	0.09	0.10	0.32
AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.0285	0.0469	0.09	0.14	0.29
AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.0224	0.0285	0.07	0.09	0.25
AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.0185	0.0280	0.06	0.08	0.21
AEO C ₁₈ EO ₄	0.0185	0.0208	0.06	0.06	0.20
AEO C ₁₈ EO ₅	0.0232	0.0174	0.07	0.05	0.26
AEO C ₁₈ EO ₆	0.0279	0.0271	0.08	0.08	0.29
AEO C ₁₈ EO ₇	0.0289	0.0395	0.09	0.12	0.31
AEO C ₁₈ EO ₈	0.0296	0.0418	0.09	0.13	0.33
AEO C ₁₈ EO ₉	0.0313	0.0353	0.09	0.11	0.34
AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.0288	0.0386	0.09	0.12	0.32
AEO C ₁₈ EO ₁₁	0.0286	0.0412	0.09	0.12	0.30
AEO C ₁₈ EO ₁₂	0.0255	0.0312	0.08	0.09	0.26
AEO C ₁₈ EO ₁₃	0.0198	0.0252	0.06	0.08	0.22
AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.0166	0.0238	0.05	0.07	0.18

4.3. Rango dinámico lineal

En la **tabla 5.11** se presenta el rango dinámico lineal (RDL) para cada compuesto. En las dos matrices estudiadas, sedimento y suelo agrícola, se estableció el mismo RDL para todos los tensioactivos. Como nivel más bajo del calibrado se estableció el límite de cuantificación.

Tabla 5.11. Rango dinámico lineal

Compuesto	RDL ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Compuesto	RDL ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Compuesto	RDL ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
LAS C ₁₀	14 - 699	AES C ₁₄ EO ₅	0.12 - 11.8	AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.33 - 33.2
LAS C ₁₁	32 - 1611	AES C ₁₆ EO ₁	0.53 - 53.2	AEO C ₁₆ EO ₁₂	0.32 - 32.0
LAS C ₁₂	31 - 1540	AES C ₁₆ EO ₂	0.38 - 37.8	AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.29 - 29.1
LAS C ₁₃	23 - 1150	AES C ₁₆ EO ₃	0.18 - 17.8	AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.25 - 25.0
AS C ₁₂	3.5 - 354	AES C ₁₆ EO ₄	0.09 - 8.60	AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.21 - 20.8
AS C ₁₄	2.4 - 238	AES C ₁₆ EO ₅	0.07 - 7.20	AEO C ₁₈ EO ₄	0.20 - 19.6
AS C ₁₆	1.4 - 136	AES C ₁₈ EO ₁	0.91 - 90.8	AEO C ₁₈ EO ₅	0.26 - 26.0
AS C ₁₈	2.1 - 211	AES C ₁₈ EO ₂	0.48 - 48.2	AEO C ₁₈ EO ₆	0.29 - 29.5
AES C ₁₂ EO ₁	1.50 - 150	AES C ₁₈ EO ₃	0.28 - 28.0	AEO C ₁₈ EO ₇	0.31 - 31.0
AES C ₁₂ EO ₂	1.07 - 107	AES C ₁₈ EO ₄	0.18 - 18.2	AEO C ₁₈ EO ₈	0.33 - 32.6
AES C ₁₂ EO ₃	0.57 - 56.6	AES C ₁₈ EO ₅	0.13 - 13.0	AEO C ₁₈ EO ₉	0.34 - 33.5
AES C ₁₂ EO ₄	0.37 - 36.6	AEO C ₁₆ EO ₅	0.17 - 16.6	AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.32 - 32.3
AES C ₁₂ EO ₅	0.25 - 24.6	AEO C ₁₆ EO ₆	0.21 - 21.4	AEO C ₁₈ EO ₁₁	0.30 - 29.6
AES C ₁₄ EO ₁	1.33 - 133	AEO C ₁₆ EO ₇	0.26 - 25.5	AEO C ₁₈ EO ₁₂	0.26 - 26.4
AES C ₁₄ EO ₂	0.80 - 80.4	AEO C ₁₆ EO ₈	0.30 - 30.0	AEO C ₁₈ EO ₁₃	0.22 - 21.8
AES C ₁₄ EO ₃	0.38 - 38.0	AEO C ₁₆ EO ₉	0.31 - 31.2	AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.18 - 18.4
AES C ₁₄ EO ₄	0.17 - 16.8	AEO C ₁₆ EO ₁₀	0.32 - 32.3		

4.4. Sensibilidad o resolución analítica

La sensibilidad o resolución de un método analítico o sensibilidad de la calibración, recomendada por la IUPAC viene dada por la pendiente de la

recta de calibración (b), la cual puede observarse en la **tabla 5.2** para sedimento y en la **tabla 5.3** para suelo agrícola.

Por otro lado, para eliminar las dispersiones originadas por el proceso de calibración, según se describió en el capítulo 2 de la presente Memoria de Doctorado, la sensibilidad analítica ($S_{analítica}$) se puede definir como el cociente entre la desviación estándar de la regresión ($S_{y/x}$) y la pendiente de la función de calibrado (b) **ecuación 2.33**. En la **tabla 5.12** se presentan los valores calculados para cada compuesto.

Tabla 5.12. Sensibilidad analítica

Compuesto	$S_{analítica}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) sedimento	$S_{analítica}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) suelo	Compuesto	$S_{analítica}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) sedimento	$S_{analítica}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) suelo
LAS C ₁₀	12.4	6.16	AES C ₁₈ EO ₃	0.50	0.37
LAS C ₁₁	27.4	22.8	AES C ₁₈ EO ₄	0.36	0.13
LAS C ₁₂	17.9	24.9	AES C ₁₈ EO ₅	0.20	0.12
LAS C ₁₃	14.2	21.2	AEO C ₁₆ EO ₅	0.53	0.23
AS C ₁₂	5.49	6.20	AEO C ₁₆ EO ₆	0.49	0.20
AS C ₁₄	4.00	3.30	AEO C ₁₆ EO ₇	0.98	0.35
AS C ₁₆	2.48	2.04	AEO C ₁₆ EO ₈	0.62	0.53
AS C ₁₈	1.81	1.55	AEO C ₁₆ EO ₉	0.98	0.41
AES C ₁₂ EO ₁	2.95	3.12	AEO C ₁₆ EO ₁₀	1.57	0.56
AES C ₁₂ EO ₂	1.78	1.38	AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.86	0.68
AES C ₁₂ EO ₃	0.79	0.69	AEO C ₁₆ EO ₁₂	1.07	1.15
AES C ₁₂ EO ₄	0.88	0.44	AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.75	0.57
AES C ₁₂ EO ₅	0.35	0.27	AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.77	0.54
AES C ₁₄ EO ₁	2.16	1.55	AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.69	0.36
AES C ₁₄ EO ₂	1.46	0.66	AEO C ₁₈ EO ₄	0.91	0.47
AES C ₁₄ EO ₃	0.59	0.57	AEO C ₁₈ EO ₅	0.61	0.47
AES C ₁₄ EO ₄	0.43	0.17	AEO C ₁₈ EO ₆	0.82	0.52
AES C ₁₄ EO ₅	0.16	0.24	AEO C ₁₈ EO ₇	0.78	0.44
AES C ₁₆ EO ₁	0.61	0.29	AEO C ₁₈ EO ₈	0.76	0.26
AES C ₁₆ EO ₂	0.43	0.24	AEO C ₁₈ EO ₉	0.81	0.23
AES C ₁₆ EO ₃	0.26	0.18	AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.85	0.30
AES C ₁₆ EO ₄	0.19	0.09	AEO C ₁₈ EO ₁₁	1.30	0.55
AES C ₁₆ EO ₅	0.11	0.04	AEO C ₁₈ EO ₁₂	1.07	0.49
AES C ₁₈ EO ₁	1.39	0.58	AEO C ₁₈ EO ₁₃	1.04	0.41
AES C ₁₈ EO ₂	0.76	0.25	AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.49	0.32

4.5. Selectividad

Para la determinación de la especificidad del método se compararon el cromatograma del blanco con el correspondiente a la matriz dopada. En las **figuras 5.2 - 5.3** se muestran dichos cromatogramas.

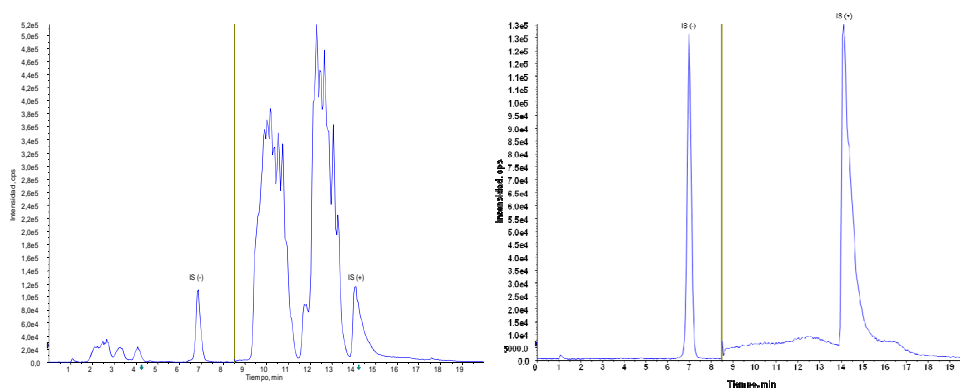


Figura 5.2. Selectividad del método en sedimento

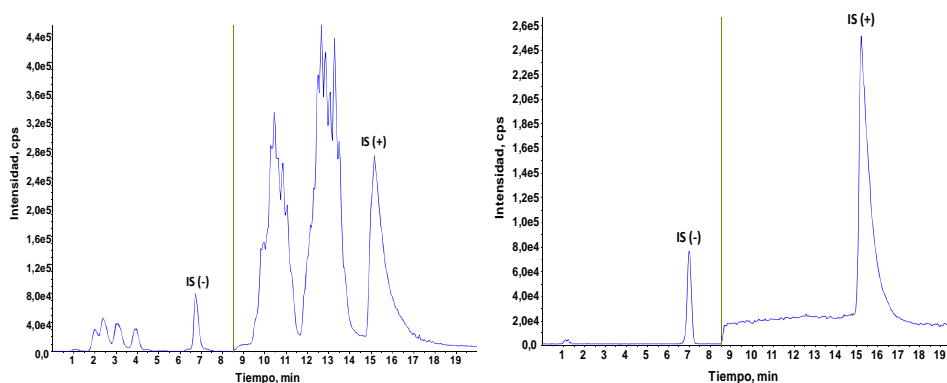


Figura 5.3. Selectividad del método en suelo agrícola

En los cromatogramas se puede observar que no existe interferencia alguna correspondiente a sustancias endógenas, a los tiempos de retención de los tensioactivos. Por tanto, se puede concluir que los métodos propuestos son selectivos.

4.6. Exactitud del método: precisión y veracidad

Uno de los mayores problemas que se encuentran a la hora de estudiar la exactitud de un método analítico, en términos de veracidad, en matrices ambientales, es la ausencia de materiales certificados. Por este motivo, para establecer la exactitud del método, se estudió la veracidad del mismo en términos de recuperación con muestras dopadas y su precisión en términos de variabilidad intra e inter-diaria. Se emplearon muestras libres de los compuestos o cuyas concentraciones estaban por debajo de los límites de detección del método. Los niveles estudiados fueron:

- **Nivel bajo.** Punto de menor concentración del calibrado (X_{LQ}). Se obtuvo por medio de una disolución de $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS total, $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AES y $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AEO.
- **Nivel intermedio.** Punto de concentración intermedio entre el nivel bajo y el nivel alto. Se preparó a partir de una disolución de $3.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS total, $1.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AES y $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AEO.
- **Nivel alto.** Punto de mayor concentración del calibrado. Se preparó a partir de una disolución de $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS total, $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AES y $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de AEO.

Se realizaron 3 réplicas experimentales y por cada una de ellas 3 réplicas instrumentales, para cada nivel de concentración. Los valores de recuperación se obtuvieron por comparación de las concentraciones obtenidas con las de analito añadidas previamente a las muestras.

Para evaluar la exactitud del método en términos de precisión, se estudió la repetibilidad (precisión intra-día) y la reproducibilidad (precisión

inter-día). Para ello, se realizaron 7 réplicas de los análisis llevados a cabo en el estudio de veracidad, durante 7 días. Las réplicas diarias de cada nivel de concentración se realizaron para evaluar la variabilidad “intra-día” y el análisis se repitió durante 7 días para evaluar la repetibilidad “inter-día”. Las **tablas 5.13 - 5.16** muestran los valores para la veracidad, en términos de recuperación y los valores para la precisión, expresada como desviación estándar relativa (DER) para los ensayos intra e inter-diarios.

Tabla 5.13. Ensayo intra-diario en sedimento. Repetibilidad (n=9)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
LAS C ₁₀	14	102.5	4.1	AES C ₁₆ EO ₁	0.53	103.8	7.4
	92	97.2	3.4		6.92	97.1	4.5
	699	100.8	2.7		53.2	98.4	7.2
LAS C ₁₁	32	97.2	5.2	AES C ₁₆ EO ₂	0.38	97.4	3.7
	213	100.0	4.3		4.91	101.4	5.6
	1611	100.4	2.0		37.8	97.9	4.7
LAS C ₁₂	31	107.1	6.7	AES C ₁₆ EO ₃	0.18	105.6	4.6
	203	99.5	3.1		2.31	100.9	5.9
	1540	100.7	3.3		17.8	100.6	5.6
LAS C ₁₃	23	100.0	8.0	AES C ₁₆ EO ₄	0.09	111.1	7.9
	152	102.1	3.2		1.12	97.3	6.0
	1150	98.8	3.6		8.60	95.3	7.0
AS C ₁₂	3.5	98.9	2.8	AES C ₁₆ EO ₅	0.07	100.0	8.2
	46.0	102.2	2.1		0.94	97.9	5.1
	354	97.8	4.0		7.20	102.8	5.1
AS C ₁₄	2.4	99.4	4.9	AES C ₁₈ EO ₁	0.91	107.7	4.5
	31.0	101.7	5.3		11.8	98.1	4.7
	238	99.5	2.6		90.8	100.6	5.9
AS C ₁₆	1.4	100.0	7.1	AES C ₁₈ EO ₂	0.48	95.8	4.9
	17.6	98.9	6.8		6.27	100.8	6.0
	136	98.6	3.5		48.2	97.9	5.1
AS C ₁₈	2.1	100.0	7.1	AES C ₁₈ EO ₃	0.28	103.6	3.6
	27.4	98.5	4.6		3.64	100.0	4.6
	211	98.0	2.3		28.0	102.1	5.3
AES C ₁₂ EO ₁	1.50	106.7	3.3	AES C ₁₈ EO ₄	0.18	111.1	7.0
	19.6	100.0	3.2		3.27	96.6	4.5
	150	99.1	5.3		18.2	103.7	3.7
AES C ₁₂ EO ₂	1.07	100.0	2.3	AES C ₁₈ EO ₅	0.13	107.7	6.5
	13.9	97.8	5.6		1.69	95.9	4.6
	107	99.7	4.8		13.0	107.7	7.9
AES C ₁₂ EO ₃	0.57	98.2	3.3	AEO C ₁₆ EO ₅	0.17	100.0	4.1
	7.36	97.8	4.6		2.50	99.2	5.8
	56.6	97.2	5.3		16.6	99.4	6.9
AES C ₁₂ EO ₄	0.37	105.4	4.1	AEO C ₁₆ EO ₆	0.21	95.2	4.3
	4.76	96.6	4.9		3.20	103.4	5.3
	36.6	101.1	4.8		21.4	99.6	4.6
AES C ₁₂ EO ₅	0.25	96.0	3.1	AEO C ₁₆ EO ₇	0.26	96.2	3.5
	3.20	96.9	3.5		3.83	101.8	4.3
	24.6	99.6	5.8		25.5	99.4	5.1
AES C ₁₄ EO ₁	1.33	107.7	6.5	AEO C ₁₆ EO ₈	0.30	106.7	5.6
	17.3	98.3	5.5		4.51	101.1	5.4
	133	100.7	6.9		30.0	98.1	5.5
AES C ₁₄ EO ₂	0.80	95.0	4.6	AEO C ₁₆ EO ₉	0.31	106.5	5.9
	10.5	95.7	5.0		4.67	97.6	5.7
	80.4	102.0	4.3		31.2	96.5	5.1
AES C ₁₄ EO ₃	0.38	97.4	5.4	AEO C ₁₆ EO ₁₀	0.32	100.0	3.8
	4.94	99.0	3.5		4.85	100.0	4.6
	38.0	102.6	4.2		32.3	99.5	7.0
AES C ₁₄ EO ₄	0.17	105.9	5.4	AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.33	97.0	4.7
	2.18	96.8	4.0		4.98	98.4	5.3
	16.8	98.2	7.6		33.2	97.8	7.0
AES C ₁₄ EO ₅	0.12	100.0	4.0	AEO C ₁₆ EO ₁₂	0.32	96.9	5.0
	1.53	96.7	6.9		4.79	104.0	7.4
	11.8	97.5	4.6		32.0	100.1	4.3

Tabla 5.13 cont. *Ensayo intra-diario en sedimento. Repetibilidad (n=9)*

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.29	106.9	7.0	AEO C ₁₈ EO ₈	0.33	109.1	6.4
	4.37	96.6	5.5		4.90	95.7	5.7
	29.1	100.6	3.6		32.6	95.7	7.0
AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.25	100.0	3.9	AEO C ₁₈ EO ₉	0.34	97.1	4.6
	3.75	97.3	4.8		5.03	99.4	3.6
	25.0	98.2	3.5		33.5	99.2	4.1
AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.21	104.8	5.6	AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.32	112.5	6.5
	3.12	96.8	5.2		4.84	99.0	5.2
	20.8	98.4	4.6		32.3	97.8	4.4
AEO C ₁₈ EO ₄	0.20	110.0	7.8	AEO C ₁₈ EO ₁₁	0.30	96.7	5.6
	2.94	101.4	2.7		4.45	100.0	3.9
	19.6	95.8	3.7		29.6	96.7	5.6
AEO C ₁₈ EO ₅	0.26	100.0	4.0	AEO C ₁₈ EO ₁₂	0.26	107.7	5.7
	3.90	97.2	4.2		3.95	98.5	4.6
	26.0	104.7	5.1		26.4	99.0	3.3
AEO C ₁₈ EO ₆	0.29	103.4	4.2	AEO C ₁₈ EO ₁₃	0.22	95.5	5.7
	4.42	95.7	4.6		3.27	96.0	4.9
	29.5	98.2	3.9		21.8	96.2	5.9
AEO C ₁₈ EO ₇	0.31	106.5	4.8	AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.18	111.1	7.8
	4.66	98.3	4.6		2.77	107.6	5.2
	31.0	103.0	6.3		18.4	100.7	4.3

Tabla 5.14. Ensayo inter-diario en sedimento. Reproducibilidad (n=63)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
LAS C ₁₀	14	107.1	3.2	AES C ₁₆ EO ₁	0.53	98.1	6.5
	92	96.7	4.4		6.92	99.6	4.7
	699	99.9	3.7		53.2	98.6	5.6
LAS C ₁₁	32	100.0	5.5	AES C ₁₆ EO ₂	0.38	94.7	3.9
	213	99.1	5.2		4.91	97.4	4.1
	1611	100.2	4.9		37.8	94.9	4.2
LAS C ₁₂	31	106.5	4.3	AES C ₁₆ EO ₃	0.18	94.4	5.9
	203	101.0	2.4		2.31	100.0	5.7
	1540	99.9	4.7		17.8	100.4	5.4
LAS C ₁₃	23	95.7	7.1	AES C ₁₆ EO ₄	0.09	100.0	5.4
	152	99.3	4.0		1.12	111.6	5.3
	1150	100.2	3.3		8.60	100.5	5.5
AS C ₁₂	3.5	97.1	3.1	AES C ₁₆ EO ₅	0.07	100.0	4.3
	46.0	104.3	2.0		0.94	94.7	4.7
	354	95.0	4.1		7.20	100.1	5.1
AS C ₁₄	2.4	100.0	5.0	AES C ₁₈ EO ₁	0.91	104.4	4.1
	31.0	100.6	4.7		11.8	98.0	5.0
	238	100.8	3.5		90.8	99.7	5.8
AS C ₁₆	1.4	107.1	6.8	AES C ₁₈ EO ₂	0.48	97.9	4.3
	17.6	98.3	6.8		6.27	99.8	5.5
	136	99.4	4.3		48.2	99.0	4.5
AS C ₁₈	2.1	95.2	6.7	AES C ₁₈ EO ₃	0.28	107.1	5.7
	27.4	98.9	4.2		3.64	100.3	3.6
	211	100.4	3.8		28.0	97.9	4.3
AES C ₁₂ EO ₁	1.50	113.3	4.7	AES C ₁₈ EO ₄	0.18	105.6	6.5
	19.6	99.5	2.5		3.27	101.8	4.5
	150	99.5	3.2		18.2	104.0	6.6
AES C ₁₂ EO ₂	1.07	109.1	7.5	AES C ₁₈ EO ₅	0.13	107.7	6.3
	13.9	100.0	5.0		1.69	97.0	5.5
	107	99.9	4.7		13.0	103.8	5.2
AES C ₁₂ EO ₃	0.57	100.0	3.2	AEO C ₁₆ EO ₅	0.17	105.9	3.9
	7.36	98.9	5.6		2.50	99.6	4.3
	56.6	101.4	4.3		16.6	98.7	5.4
AES C ₁₂ EO ₄	0.37	102.7	3.5	AEO C ₁₆ EO ₆	0.21	104.8	4.7
	4.76	98.7	4.6		3.20	97.8	4.9
	36.6	101.4	4.9		21.4	97.8	5.7
AES C ₁₂ EO ₅	0.25	104.0	4.3	AEO C ₁₆ EO ₇	0.26	103.8	4.6
	3.20	97.8	4.8		3.83	97.9	5.0
	24.6	101.5	5.7		25.5	95.0	4.3
AES C ₁₄ EO ₁	1.33	100.0	4.5	AEO C ₁₆ EO ₈	0.30	110.0	6.5
	17.3	94.8	7.1		4.51	102.4	3.4
	133	98.7	4.3		30.0	100.7	5.1
AES C ₁₄ EO ₂	0.80	102.5	3.6	AEO C ₁₆ EO ₉	0.31	96.8	4.6
	10.5	98.6	5.4		4.67	97.9	5.7
	80.4	97.7	4.4		31.2	101.4	5.1
AES C ₁₄ EO ₃	0.38	94.7	5.2	AEO C ₁₆ EO ₁₀	0.32	96.9	6.3
	4.94	96.8	3.9		4.85	97.3	6.4
	38.0	98.7	5.8		32.3	99.4	7.0
AES C ₁₄ EO ₄	0.17	111.8	5.2	AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.33	106.1	5.7
	2.18	107.8	4.8		4.98	94.8	5.5
	16.8	95.1	3.6		33.2	99.7	6.8
AES C ₁₄ EO ₅	0.12	108.3	4.0	AEO C ₁₆ EO ₁₂	0.32	100.0	4.0
	1.53	96.1	5.8		4.79	96.7	6.3
	11.8	99.2	4.4		32.0	96.6	5.1

Tabla 5.14 cont. Ensayo inter-diario en sedimento. Reproducibilidad (n=63)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.29	96.6	7.1	AEO C ₁₈ EO ₈	0.33	103.0	5.5
	4.37	97.9	5.6		4.90	101.0	5.5
	29.1	101.1	5.2		32.6	98.7	6.3
AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.25	96.0	5.8	AEO C ₁₈ EO ₉	0.34	94.1	5.6
	3.75	106.4	5.4		5.03	101.2	7.6
	25.0	97.1	4.9		33.5	99.1	5.3
AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.21	95.2	4.6	AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.32	96.9	6.6
	3.12	99.7	6.4		4.84	100.2	4.4
	20.8	96.6	4.5		32.3	94.2	5.0
AEO C ₁₈ EO ₄	0.20	95.0	6.6	AEO C ₁₈ EO ₁₁	0.30	100.0	5.8
	2.94	98.6	3.8		4.45	104.5	4.4
	19.6	101.1	3.6		29.6	101.6	5.6
AEO C ₁₈ EO ₅	0.26	103.8	4.2	AEO C ₁₈ EO ₁₂	0.26	107.7	5.8
	3.90	99.5	4.7		3.95	96.2	6.0
	26.0	96.7	5.7		26.4	100.5	3.5
AEO C ₁₈ EO ₆	0.29	96.6	3.9	AEO C ₁₈ EO ₁₃	0.22	95.5	4.4
	4.42	98.0	5.8		3.27	105.5	5.6
	29.5	99.0	5.5		21.8	101.6	6.4
AEO C ₁₈ EO ₇	0.31	103.2	4.3	AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.18	94.4	7.9
	4.66	98.7	3.4		2.77	97.5	5.5
	31.0	100.5	5.3		18.4	98.4	6.4

Tabla 5.15. Ensayo intra-diarario en suelo. Repetibilidad (n=9)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
LAS C ₁₀	14	99.3	5.1	AES C ₁₆ EO ₁	0.53	109.2	7.2
	92	96.1	5.1		6.92	98.3	6.4
	699	98.1	4.3		53.2	95.4	7.3
LAS C ₁₁	32	99.2	6.3	AES C ₁₆ EO ₂	0.38	100.2	5.6
	213	98.3	5.6		4.91	105.4	5.1
	1611	98.2	5.2		37.8	99.7	6.6
LAS C ₁₂	31	100.0	5.3	AES C ₁₆ EO ₃	0.18	103.5	5.9
	203	99.0	6.2		2.31	106.4	7.5
	1540	98.7	3.7		17.8	106.2	7.8
LAS C ₁₃	23	99.3	3.9	AES C ₁₆ EO ₄	0.09	108.5	7.0
	152	98.3	3.0		1.12	101.6	6.4
	1150	102.3	5.2		8.60	102.5	7.6
AS C ₁₂	3.5	105.4	5.0	AES C ₁₆ EO ₅	0.07	99.2	6.6
	46.0	98.2	3.4		0.94	98.6	5.6
	354	98.5	6.7		7.20	100.5	5.4
AS C ₁₄	2.4	102.6	7.4	AES C ₁₈ EO ₁	0.91	95.7	5.6
	31.0	100.3	5.4		11.8	98.6	6.4
	238	98.3	4.4		90.8	100.6	8.7
AS C ₁₆	1.4	101.1	6.2	AES C ₁₈ EO ₂	0.48	98.6	6.4
	17.6	99.0	6.0		6.27	99.4	6.0
	136	97.2	5.7		48.2	97.7	4.4
AS C ₁₈	2.1	99.0	6.2	AES C ₁₈ EO ₃	0.28	100.6	3.4
	27.4	100.6	4.3		3.64	99.5	5.6
	211	99.3	3.5		28.0	96.4	4.4
AES C ₁₂ EO ₁	1.50	102.7	5.1	AES C ₁₈ EO ₄	0.18	94.7	5.5
	19.6	98.4	4.5		3.27	97.6	5.8
	150	97.0	7.4		18.2	107.2	4.6
AES C ₁₂ EO ₂	1.07	100.9	5.7	AES C ₁₈ EO ₅	0.13	100.6	7.7
	13.9	99.6	6.4		1.69	101.7	7.5
	107	98.7	8.1		13.0	98.5	6.5
AES C ₁₂ EO ₃	0.57	95.4	5.4	AEO C ₁₆ EO ₅	0.17	96.2	5.6
	7.36	97.7	6.2		2.50	95.2	7.3
	56.6	97.3	6.7		16.6	95.0	7.2
AES C ₁₂ EO ₄	0.37	99.7	4.5	AEO C ₁₆ EO ₆	0.21	94.5	5.6
	4.76	96.2	5.3		3.20	101.6	6.5
	36.6	102.4	7.3		21.4	98.5	5.3
AES C ₁₂ EO ₅	0.25	97.4	4.2	AEO C ₁₆ EO ₇	0.26	95.6	5.6
	3.20	97.3	5.7		3.83	94.2	6.6
	24.6	98.7	5.9		25.5	95.4	6.2
AES C ₁₄ EO ₁	1.33	101.4	5.0	AEO C ₁₆ EO ₈	0.30	109.2	5.9
	17.3	97.7	4.7		4.51	103.1	4.3
	133	110.5	6.8		30.0	99.6	4.6
AES C ₁₄ EO ₂	0.80	96.7	4.5	AEO C ₁₆ EO ₉	0.31	101.1	8.4
	10.5	95.4	4.8		4.67	98.4	7.6
	80.4	97.3	5.2		31.2	97.5	7.8
AES C ₁₄ EO ₃	0.38	97.2	5.1	AEO C ₁₆ EO ₁₀	0.32	98.6	6.6
	4.94	99.6	3.8		4.85	96.2	6.1
	38.0	100.5	6.6		32.3	98.5	7.2
AES C ₁₄ EO ₄	0.17	97.2	6.1	AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.33	97.1	5.5
	2.18	96.3	3.3		4.98	98.5	4.8
	16.8	99.7	5.3		33.2	97.6	3.5
AES C ₁₄ EO ₅	0.12	102.4	6.4	AEO C ₁₆ EO ₁₂	0.32	95.6	5.6
	1.53	98.6	5.5		4.79	95.2	6.5
	11.8	98.0	8.4		32.0	97.5	4.8

Tabla 5.15 cont. Ensayo intra-diario en suelo. Repetibilidad (n=9)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.29	98.4	6.5	AEO C ₁₈ EO ₈	0.33	102.5	8.2
	4.37	111.5	5.5		4.90	96.6	6.6
	29.1	112.8	6.2		32.6	96.4	4.6
AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.25	100.8	5.2	AEO C ₁₈ EO ₉	0.34	96.6	5.3
	3.75	99.5	4.7		5.03	96.4	4.6
	25.0	97.6	4.7		33.5	97.4	8.3
AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.21	108.6	6.8	AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.32	104.9	7.6
	3.12	103.5	6.2		4.84	99.5	6.2
	20.8	97.6	6.3		32.3	98.2	8.1
AEO C ₁₈ EO ₄	0.20	109.2	8.1	AEO C ₁₈ EO ₁₁	0.30	96.4	6.5
	2.94	104.5	8.4		4.45	98.5	5.2
	19.6	101.9	6.5		29.6	94.2	4.6
AEO C ₁₈ EO ₅	0.26	96.2	5.3	AEO C ₁₈ EO ₁₂	0.26	106.7	7.4
	3.90	97.5	4.4		3.95	95.5	5.4
	26.0	105.7	5.9		26.4	101.4	4.6
AEO C ₁₈ EO ₆	0.29	98.5	4.6	AEO C ₁₈ EO ₁₃	0.22	96.2	4.8
	4.42	99.2	4.9		3.27	94.0	5.6
	29.5	97.6	6.4		21.8	95.5	6.8
AEO C ₁₈ EO ₇	0.31	95.7	8.5	AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.18	106.3	7.8
	4.66	97.7	6.1		2.77	104.6	6.5
	31.0	101.2	7.5		18.4	100.2	6.5

Tabla 5.16. Ensayo inter-diarario en suelo. Reproducibilidad (n=63)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
LAS C ₁₀	14	108.5	5.4	AES C ₁₆ EO ₁	0.53	99.2	6.5
	92	98.3	6.4		6.92	100.2	4.3
	699	99.7	4.6		53.2	97.2	6.6
LAS C ₁₁	32	101.4	7.7	AES C ₁₆ EO ₂	0.38	96.2	5.4
	213	96.1	5.4		4.91	98.0	5.6
	1611	101.2	6.3		37.8	94.6	5.1
LAS C ₁₂	31	102.3	7.4	AES C ₁₆ EO ₃	0.18	100.7	8.3
	203	97.1	3.7		2.31	102.8	6.4
	1540	98.2	5.4		17.8	105.3	7.2
LAS C ₁₃	23	94.4	6.6	AES C ₁₆ EO ₄	0.09	109.9	5.6
	152	101.6	5.3		1.12	103.7	5.1
	1150	103.5	7.6		8.60	103.1	6.4
AS C ₁₂	3.5	97.6	4.6	AES C ₁₆ EO ₅	0.07	100.2	4.5
	46.0	96.7	5.3		0.94	98.4	6.5
	354	102.4	8.4		7.20	101.5	7.4
AS C ₁₄	2.4	100.0	6.3	AES C ₁₈ EO ₁	0.91	103.4	4.4
	31.0	104.4	3.3		11.8	99.7	5.4
	238	100.3	3.3		90.8	99.4	6.4
AS C ₁₆	1.4	108.6	4.9	AES C ₁₈ EO ₂	0.48	100.0	4.4
	17.6	98.4	4.4		6.27	102.9	6.4
	136	97.5	5.6		48.2	100.8	6.4
AS C ₁₈	2.1	96.3	5.4	AES C ₁₈ EO ₃	0.28	111.2	6.7
	27.4	104.3	4.6		3.64	99.6	7.3
	211	98.3	6.4		28.0	96.4	6.4
AES C ₁₂ EO ₁	1.50	105.5	5.3	AES C ₁₈ EO ₄	0.18	108.4	4.2
	19.6	98.4	5.6		3.27	107.2	5.3
	150	97.4	7.6		18.2	100.4	5.9
AES C ₁₂ EO ₂	1.07	99.3	6.5	AES C ₁₈ EO ₅	0.13	95.3	5.3
	13.9	103.4	4.7		1.69	96.1	6.3
	107	97.4	5.8		13.0	98.3	7.6
AES C ₁₂ EO ₃	0.57	97.3	4.4	AEO C ₁₆ EO ₅	0.17	106.7	7.4
	7.36	95.3	6.6		2.50	101.3	6.4
	56.6	102.4	5.8		16.6	99.5	4.4
AES C ₁₂ EO ₄	0.37	101.3	6.3	AEO C ₁₆ EO ₆	0.21	103.9	5.9
	4.76	98.8	5.0		3.20	98.3	5.4
	36.6	105.3	5.6		21.4	99.8	4.4
AES C ₁₂ EO ₅	0.25	101.5	4.4	AEO C ₁₆ EO ₇	0.26	104.7	5.8
	3.20	98.4	5.3		3.83	96.3	6.5
	24.6	101.4	6.4		25.5	97.4	4.4
AES C ₁₄ EO ₁	1.33	100.3	3.7	AEO C ₁₆ EO ₈	0.30	105.4	6.4
	17.3	94.5	8.6		4.51	104.2	4.9
	133	98.4	6.4		30.0	99.4	5.3
AES C ₁₄ EO ₂	0.80	98.3	3.4	AEO C ₁₆ EO ₉	0.31	97.7	4.6
	10.5	99.1	4.4		4.67	98.7	5.2
	80.4	99.6	6.6		31.2	95.5	5.4
AES C ₁₄ EO ₃	0.38	104.1	7.6	AEO C ₁₆ EO ₁₀	0.32	96.2	6.3
	4.94	103.3	3.8		4.85	102.9	6.3
	38.0	99.3	6.3		32.3	103.9	8.4
AES C ₁₄ EO ₄	0.17	110.5	4.6	AEO C ₁₆ EO ₁₁	0.33	101.5	6.4
	2.18	104.4	5.5		4.98	94.3	3.2
	16.8	100.0	4.3		33.2	96.4	6.6
AES C ₁₄ EO ₅	0.12	99.3	3.3	AEO C ₁₆ EO ₁₂	0.32	98.6	7.0
	1.53	98.2	4.8		4.79	99.7	6.5
	11.8	99.5	4.3		32.0	96.3	4.4

Tabla 5.16 cont. Ensayo inter-diario en suelo. Reproducibilidad (n=63)

Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)	Compuesto	Dopado ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	R (%)	DER (%)
AEO C ₁₆ EO ₁₃	0.29	98.7	8.4	AEO C ₁₈ EO ₈	0.33	102.8	6.6
	4.37	99.7	6.4		4.90	99.6	6.5
	29.1	100.6	7.4		32.6	97.7	7.3
AEO C ₁₆ EO ₁₄	0.25	108.2	6.7	AEO C ₁₈ EO ₉	0.34	96.8	5.2
	3.75	95.8	5.6		5.03	102.5	7.2
	25.0	105.2	6.8		33.5	99.5	6.9
AEO C ₁₆ EO ₁₅	0.21	96.8	5.6	AEO C ₁₈ EO ₁₀	0.32	100.8	6.4
	3.12	100.9	7.9		4.84	101.4	5.6
	20.8	98.5	5.3		32.3	96.7	4.5
AEO C ₁₈ EO ₄	0.20	98.6	6.1	AEO C ₁₈ EO ₁₁	0.30	98.5	5.6
	2.94	99.2	4.7		4.45	102.4	6.3
	19.6	102.2	5.6		29.6	102.6	7.4
AEO C ₁₈ EO ₅	0.26	107.6	5.4	AEO C ₁₈ EO ₁₂	0.26	105.8	5.8
	3.90	99.3	4.4		3.95	96.5	6.9
	26.0	96.4	4.7		26.4	98.5	4.3
AEO C ₁₈ EO ₆	0.29	97.3	5.8	AEO C ₁₈ EO ₁₃	0.22	95.4	6.6
	4.42	95.4	6.7		3.27	104.1	6.5
	29.5	105.5	6.8		21.8	107.5	7.6
AEO C ₁₈ EO ₇	0.31	107.8	5.1	AEO C ₁₈ EO ₁₄	0.18	96.5	8.6
	4.66	98.7	4.6		2.77	99.2	5.5
	31.0	101.8	5.3		18.4	97.5	5.2

En todos los casos, los porcentajes de recuperación son próximos al 100 % (94.0 - 113.3 %) y por tanto, se puede concluir que los métodos propuestos para sedimento y suelo son veraces. Por otro lado, los valores obtenidos para la DER oscilaron entre el 2.0 y el 8.7 %. Estos límites están dentro de límites aceptables para cumplir los requisitos establecidos en la guía de validación empleada, según la cual se consideran aceptables valores iguales o inferiores al 15 % en general al 20 % en la zona próxima al límite de detección del método. Los datos obtenidos para la precisión y la veracidad indican que los dos métodos propuestos son métodos exactos.

CAPÍTULO VI

Aplicación del Método a Sedimentos Acuáticos

En el presente capítulo se muestran los resultados obtenidos al aplicar la metodología desarrollada a muestras de sedimentos marinos de diferente procedencia. En primer lugar, se analizaron muestras de sedimentos marinos colectadas en diferentes puntos del litoral de la Isla de Tenerife, España, dando como resultado un mapa geográfico de distribución de las concentraciones. En segundo lugar, la metodología propuesta se aplicó a la determinación de tensioactivos en muestras de sedimentos marinos recogidas en distintos puntos de la Costa de Andalucía. Por último, se aplicó al estudio de los sedimentos del Río Monachil, Granada.

En el desarrollo de este capítulo, en cada uno de los casos anteriormente expuestos se sigue el mismo esquema de trabajo. En primer lugar, se realiza una contextualización del problema. A continuación, se realiza una caracterización de las muestras a analizar. Después se desarrolla el modo en el que se realizó la toma y conservación de dichas muestras. Por último, se muestran los resultados obtenidos y se realiza una breve discusión de dichos resultados, presentando una serie de conclusiones.

Finalmente, y en función de los resultados obtenidos en el análisis de las diferentes muestras de sedimento, se desarrolla una comparativa entre los analitos, proponiendo unas conclusiones generales acerca del comportamiento de los tensioactivos estudiados en los sedimentos tanto marinos como fluviales. El uso de la relación entre homólogos largos y cortos y/o el número de unidades etoxiladas de estos surfactantes es una herramienta útil para el estudio de su proceso de degradación, así como su comportamiento y distribución.

1. DETERMINACIÓN DE TENSIOACTIVOS EN SEDIMENTOS MARINOS DE LA ISLA DE TENERIFE

1.1. Contextualización

La Isla de Tenerife, está situada en el Archipiélago Canario, en el Océano Atlántico y a unos 300 Km de la costa de África, siendo la isla más grande del archipiélago (superficie de 2032 Km², costa que de 342 Km y población de 898680 habitantes)¹³⁹. Sus principales recursos económicos son la agricultura y el turismo. Debido a su ubicación geográfica, las condiciones climáticas y la limitada actividad industrial, se espera que los niveles de contaminación sean bajos. Además, casi el 50 % de la superficie de Tenerife es una zona que cuenta con protección medioambiental.

El objeto del estudio que se propone fue obtener una visión global de la concentración de tensioactivos en los sedimentos marinos próximos a los distintos emisarios situados alrededor de la isla, siendo un estudio de interés medioambiental.

1.2. Caracterización de las muestras

Las muestras de sedimentos marinos de la Isla de Tenerife se recogieron en 9 puntos diferentes a lo largo de su costa, donde se encontraban emisarios submarinos: Punta Brava, Los Silos, Punta Blanca, Playa de las Américas, Punta Larga, Playa de San Juan, Santa Cruz de Tenerife, Las Caletillas y Polígono Industrial de Güimar. Todos los emisarios

¹³⁹ Instituto Nacional de Estadística (INE), Población por Islas y sexo a 1 de enero de 2012. Isla de Tenerife. URL: <http://www.ine.es> (Visitada el 15/01/2013).

son de tipo urbano, excepto el del Polígono Industrial de Güimar que es un emisario de tipo industrial. En la **figura 6.1** se muestra un mapa de la Isla de Tenerife con la localización de cada uno de estos puntos.



Figura 6.1. Localización de los nueve puntos de muestreo y códigos, en la Isla de Tenerife

En la **tabla 6.1** se detallan las características relativas a las muestras.

Tabla 6.1. Muestras de sedimentos marinos de la Isla de Tenerife

Muestras de Tenerife						
Código	Localización	Coordenadas UTM 28	Tipo de emisario	Descripción	Profundidad (m)	Fecha del Muestreo
PBR	Punta Brava (Puerto de la Cruz)	345970 3144718	Urbano	Lineal con difusores y boca final	40	11/09/2009
LS	Los Silos	322360 3141336	Urbano	Lineal con difusores y boca final	32	16/08/2009
PBL	Punta Blanca (Guía de Isora)	319180 3122534	Urbano	Lineal con difusores y boca final	25	23/10/2009
LAM	Playa de Las Américas	328883 3105599	Urbano	Lineal con difusores y boca final	26	08/01/2010
PLR	Punta Larga	366757 3138455	Urbano	Lineal con difusores y boca final	19	24/08/2009
PSJ	Playa de San Juan	321436 3117924	Urbano	Lineal con difusores y boca final	46	21/10/2009
SCR	Santa Cruz de Tenerife	376703 3147755	Urbano	Con dos ramales, difusores y bocas finales	38	09/01/2010
CLT	Las Caletillas	366983 3139268	Urbano	Lineal sin difusores y un solo punto de vertido	29	23/08/2009
PIG	Polígono Industrial de Güimar	366635 3135395	Industrial	Con tres ramales, difusores y bocas finales	30	28/10/2009

Durante la toma de muestra la dirección de la corriente marina fue de noreste a suroeste-sur, como aparece reflejado en la **figura 6.2**. En cada punto de muestreo se tomaron 4 muestras. La muestra número 1 se tomó a unos 50 cm en frente de la boca del emisario, las muestras 2,3 y 4 se tomaron a una distancia entre 8 y 10 m del emisario. En la **figura 6.2** se muestra la distribución de estas cuatro muestras alrededor del emisario según cada uno de los tres litorales principales de la isla.

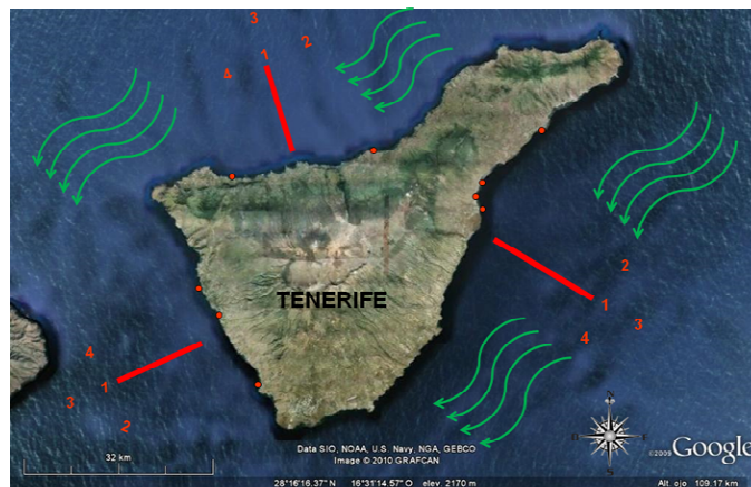


Figura 6.2. Dirección de la corriente marina (verde) y distribución de las cuatro muestras alrededor del emisario (rojo)

1.3. Toma y conservación de las muestras

La etapa de toma de muestra de sedimentos marinos fue llevada a cabo por submarinistas tal y como se muestra en la **figura 6.3**.



Figura 6.3. Submarinistas durante la etapa de toma de muestra

Una vez tomadas las muestras, se colocaron en recipientes de vidrio y se conservaron a 4 °C durante el transporte hasta el laboratorio, dónde se siguió el siguiente procedimiento operatorio:

- 1) Adición inmediata de formaldehido al 3 % (v/v), para detener la actividad biológica y evitar su alteración.
- 2) Secado de las muestras en un horno hasta pesada constante.
- 3) Tamizado de las muestras (2 mm de luz de malla).
- 4) Colocación de las muestras en recipientes de plástico debidamente etiquetados, y conservación en un frigorífico a 4 °C hasta su análisis según la metodología anteriormente propuesta.

1.4. Resultados

En las **tablas 6.2 a 6.9** se muestran las concentraciones de tensioactivos encontradas en los sedimentos marinos de la Isla de Tenerife analizados. Para calcular la concentración media de cada analito, se realizaron dos réplicas experimentales y tres instrumentales por muestra, obteniendo un total de seis datos por muestra. En dichas tablas, “*nd*” indica que el tensioactivo no se ha detectado y “*d*” que el tensioactivo sí se ha detectado, pero a una concentración inferior al límite de cuantificación.

Tabla 6.2. Concentraciones encontradas en las muestras para LAS

Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			
	LASC ₁₀	LASC ₁₁	LASC ₁₂	LASC ₁₃		LASC ₁₀	LASC ₁₁	LASC ₁₂	LASC ₁₃
PBR 01	nd	d	d	d	PLR 03	83	766	1131	859
PBR 02	nd	nd	d	d	PLR 04	24	43	33	47
PBR 03	nd	d	d	d	PSJ 01	d	79	218	348
PBR 04	d	d	31	31	PSJ 02	17	179	497	680
LS 01	201	1012	958	616	PSJ 03	d	133	102	133
LS 02	d	36	48	53	PSJ 04	15	106	321	520
LS 03	d	78	160	218	SCR 01	94	641	1020	1136
LS 04	d	33	37	25	SCR 02	84	606	1094	1028
PBL 01	22	52	31	d	SCR 03	39	267	722	936
PBL 02	14	41	d	d	SCR 04	45	247	544	1031
PBL 03	15	35	d	d	CLT 01	d	54	123	197
PBL 04	17	38	d	d	CLT 02	d	87	221	346
LAM 01	43	349	948	711	CLT 03	d	d	56	86
LAM 02	48	378	939	753	CLT 04	d	63	155	252
LAM 03	23	191	600	1048	PIG 01	nd	d	d	d
LAM 04	35	264	645	1098	PIG 02	nd	d	d	d
PLR 01	18	125	353	633	PIG 03	nd	d	d	d
PLR 02	18	89	200	394	PIG 04	d	d	d	34

Tabla 6.3. Concentraciones encontradas en las muestras para los AS

Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			
	AS C ₁₂	AS C ₁₄	AS C ₁₆	AS C ₁₈		AS C ₁₂	AS C ₁₄	AS C ₁₆	AS C ₁₈
PBR 01	4.4	5.2	6.5	2.7	PLR 03	58.9	124	130	85.6
PBR 02	5.1	4.8	1.8	d	PLR 04	54.2	9.7	3.7	d
PBR 03	4.3	4.3	1.7	d	PSJ 01	25.8	19.9	23.3	8.0
PBR 04	16.7	16.3	9.4	3.2	PSJ 02	28.9	38.7	38.6	18.5
LS 01	33.5	27.0	27.0	40.9	PSJ 03	10.9	8.8	7.2	3.6
LS 02	22.9	4.4	d	nd	PSJ 04	12.2	11.9	16.7	6.8
LS 03	34.2	10.1	2.7	3.7	SCR 01	77.9	78.3	128	44.5
LS 04	19.1	6.2	1.8	d	SCR 02	82.5	66.8	107	42.4
PBL 01	31.9	10.3	5.9	d	SCR 03	107	36.3	101	34.1
PBL 02	46.6	15.2	3.3	d	SCR 04	91.3	68.4	57.1	26.9
PBL 03	62.8	9.4	2.8	d	CLT 01	6.5	7.2	8.6	5.1
PBL 04	45.9	10.2	3.1	d	CLT 02	5.5	9.4	19.6	8.3
LAM 01	20.9	31.7	73.7	33.3	CLT 03	5.1	5.2	4.9	2.4
LAM 02	13.1	17.6	36.0	22.3	CLT 04	13.0	14.6	17.7	6.3
LAM 03	8.1	13.0	24.1	14.8	PIG 01	6.2	5.0	1.8	d
LAM 04	14.4	19.1	28.0	19.5	PIG 02	4.3	3.7	2.2	d
PLR 01	33.8	17.7	15.9	8.4	PIG 03	4.8	4.2	4.1	d
PLR 02	32.8	37.2	27.2	9.8	PIG 04	7.3	5.5	7.6	3.0

Tabla 6.4. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₂

Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₂ (μg·kg ⁻¹)					Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₂ (μg·kg ⁻¹)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
PBR 01	d	d	d	nd	d	PLR 03	22.5	18.8	8.99	6.08	4.49
PBR 02	d	d	d	d	0.26	PLR 04	11.2	8.42	3.96	2.70	1.58
PBR 03	d	d	d	d	d	PSJ 01	3.50	2.53	1.09	0.68	0.42
PBR 04	3.87	2.27	1.43	1.00	0.71	PSJ 02	4.64	3.52	1.79	1.35	0.85
LS 01	9.43	7.23	3.88	2.54	2.07	PSJ 03	1.86	1.17	d	d	0.29
LS 02	4.80	3.60	1.74	1.21	0.66	PSJ 04	1.94	1.40	0.68	0.37	d
LS 03	6.72	5.33	3.08	2.07	1.40	SCR 01	18.2	21.7	10.5	12.5	14.3
LS 04	5.23	3.95	1.79	1.12	0.71	SCR 02	31.1	31.7	16.1	14.6	14.7
PBL 01	10.8	8.88	4.36	2.78	2.09	SCR 03	10.4	11.1	5.17	5.18	6.08
PBL 02	17.3	15.1	8.03	5.15	3.15	SCR 04	31.6	30.5	14.6	11.4	8.44
PBL 03	10.1	7.37	3.72	2.19	1.34	CLT 01	1.69	1.39	d	0.53	0.34
PBL 04	8.44	6.97	3.30	2.11	1.29	CLT 02	d	d	d	0.43	0.51
LAM 01	5.59	4.51	2.78	2.33	2.09	CLT 03	d	d	d	d	d
LAM 02	3.11	2.69	1.53	1.73	1.93	CLT 04	3.95	2.71	1.30	0.92	0.67
LAM 03	2.26	2.03	1.52	1.58	1.98	PIG 01	1.65	d	d	d	d
LAM 04	4.10	3.12	1.89	1.63	1.70	PIG 02	d	d	d	d	nd
PLR 01	8.32	6.44	3.21	2.04	1.40	PIG 03	d	d	d	d	nd
PLR 02	10.8	8.41	4.14	3.05	1.88	PIG 04	1.81	1.22	0.59	d	d

Tabla 6.5. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₄

Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₄ (μg·kg ⁻¹)					Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₄ (μg·kg ⁻¹)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
PBR 01	2.76	1.30	0.42	d	nd	PLR 03	60.7	34.20	16.21	10.11	6.77
PBR 02	2.28	1.46	0.69	0.22	0.23	PLR 04	2.29	1.17	0.44	0.28	0.29
PBR 03	1.66	0.90	d	d	nd	PSJ 01	4.11	3.97	0.88	0.49	0.47
PBR 04	7.98	4.81	2.49	0.96	0.91	PSJ 02	10.6	8.39	3.23	1.53	1.29
LS 01	17.9	6.99	2.60	1.17	1.28	PSJ 03	2.12	1.76	0.45	0.26	nd
LS 02	1.80	1.19	0.59	d	nd	PSJ 04	2.40	3.18	0.46	0.32	0.37
LS 03	3.47	2.66	1.20	0.54	0.32	SCR 01	29.9	47.19	25.55	14.05	10.89
LS 04	2.10	1.61	d	nd	nd	SCR 02	27.7	36.36	21.55	15.57	8.85
PBL 01	2.65	1.85	0.53	0.23	nd	SCR 03	16.3	28.36	10.79	12.34	11.69
PBL 02	4.31	2.96	1.34	0.44	0.22	SCR 04	28.3	30.03	13.57	10.60	10.42
PBL 03	2.46	1.91	0.72	d	d	CLT 01	1.81	3.83	0.87	0.37	0.50
PBL 04	2.66	1.65	0.66	d	0.14	CLT 02	1.77	3.91	0.73	0.56	0.67
LAM 01	12.0	15.6	3.50	2.21	2.55	CLT 03	1.40	2.01	0.70	0.26	0.32
LAM 02	7.70	9.73	3.07	2.01	2.27	CLT 04	4.45	5.57	1.28	0.59	0.67
LAM 03	6.60	7.33	2.54	2.05	2.28	PIG 01	1.76	1.01	d	d	d
LAM 04	7.96	8.39	2.85	1.85	2.15	PIG 02	d	d	d	d	d
PLR 01	7.39	5.77	3.00	1.59	1.42	PIG 03	d	0.96	d	d	d
PLR 02	13.2	6.00	2.41	1.38	1.17	PIG 04	1.73	1.15	d	d	d

Tabla 6.6. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₆

Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₆ (µg·kg ⁻¹)					Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₆ (µg·kg ⁻¹)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
PBR 01	1.20	d	d	d	nd	PLR 03	16.4	14.0	10.6	6.45	5.46
PBR 02	d	nd	nd	nd	nd	PLR 04	d	nd	nd	nd	nd
PBR 03	nd	nd	nd	nd	nd	PSJ 01	d	2.23	d	nd	nd
PBR 04	1.58	d	0.19	nd	0.09	PSJ 02	1.36	2.91	0.60	0.49	0.38
LS 01	5.59	1.97	0.74	0.37	0.10	PSJ 03	d	1.13	nd	nd	nd
LS 02	nd	nd	nd	nd	nd	PSJ 04	nd	nd	nd	nd	nd
LS 03	d	d	d	nd	nd	SCR 01	6.59	27.8	13.8	7.78	6.99
LS 04	nd	nd	nd	nd	nd	SCR 02	7.12	25.8	10.7	5.12	4.47
PBL 01	nd	nd	nd	nd	nd	SCR 03	3.30	25.8	6.39	7.07	6.28
PBL 02	nd	d	nd	nd	nd	SCR 04	4.08	13.3	5.59	5.09	7.15
PBL 03	nd	nd	nd	nd	0.14	CLT 01	d	3.15	nd	nd	nd
PBL 04	nd	nd	nd	d	nd	CLT 02	d	3.90	nd	nd	nd
LAM 01	2.28	15.2	1.52	1.22	1.14	CLT 03	nd	1.74	nd	nd	nd
LAM 02	2.05	7.99	1.51	1.25	1.18	CLT 04	d	4.18	0.32	nd	nd
LAM 03	1.59	6.21	1.08	1.13	0.93	PIG 01	nd	nd	nd	nd	nd
LAM 04	1.92	7.09	1.30	1.25	0.73	PIG 02	nd	nd	nd	nd	nd
PLR 01	1.94	2.02	1.00	0.60	0.47	PIG 03	nd	nd	nd	nd	nd
PLR 02	2.72	1.70	0.98	0.62	0.47	PIG 04	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla 6.7. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₈

Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₈ (µg·kg ⁻¹)					Código	Concentración de los etoxímeros de AES C ₁₈ (µg·kg ⁻¹)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
PBR 01	nd	nd	nd	nd	nd	PLR 03	1.00	1.50	1.23	1.24	0.76
PBR 02	nd	nd	nd	nd	nd	PLR 04	nd	nd	nd	nd	nd
PBR 03	nd	nd	nd	nd	nd	PSJ 01	nd	nd	nd	nd	nd
PBR 04	nd	nd	nd	nd	nd	PSJ 02	nd	nd	nd	nd	nd
LS 01	d	nd	nd	nd	nd	PSJ 03	nd	nd	nd	nd	nd
LS 02	nd	nd	nd	nd	nd	PSJ 04	nd	nd	nd	nd	nd
LS 03	nd	nd	nd	nd	nd	SCR 01	2.06	3.91	3.18	4.60	5.30
LS 04	nd	nd	nd	nd	nd	SCR 02	1.04	2.89	nd	3.42	4.50
PBL 01	nd	nd	nd	nd	nd	SCR 03	1.66	2.68	1.80	2.85	3.42
PBL 02	nd	nd	nd	nd	nd	SCR 04	0.95	1.48	1.51	2.13	2.42
PBL 03	nd	nd	nd	nd	nd	CLT 01	nd	nd	4.80	nd	nd
PBL 04	nd	nd	nd	nd	nd	CLT 02	nd	nd	nd	nd	nd
LAM 01	d	1.90	nd	nd	nd	CLT 03	nd	nd	nd	nd	nd
LAM 02	nd	nd	nd	nd	nd	CLT 04	nd	d	nd	nd	nd
LAM 03	nd	d	nd	nd	nd	PIG 01	nd	nd	nd	nd	nd
LAM 04	d	0.90	d	nd	nd	PIG 02	nd	nd	nd	nd	nd
PLR 01	d	nd	nd	nd	nd	PIG 03	nd	nd	nd	nd	nd
PLR 02	nd	d	nd	nd	nd	PIG 04	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla 6.8. Concentraciones encontradas en las muestras para los AEO C₁₆

Código	Concentración de los etoxímeros de AEO C ₁₆ (µg·kg ⁻¹)										
	EO ₅	EO ₆	EO ₇	EO ₈	EO ₉	EO ₁₀	EO ₁₁	EO ₁₂	EO ₁₃	EO ₁₄	EO ₁₅
PBR 01	0.26	0.53	0.71	1.06	1.31	2.37	2.49	3.79	4.01	4.21	4.49
PBR 02	0.18	0.42	0.65	0.98	1.27	2.43	2.57	4.13	4.62	4.87	5.38
PBR 03	d	0.26	0.39	0.54	0.70	1.28	1.29	2.08	2.18	2.24	2.66
PBR 04	d	d	0.26	0.33	0.48	0.87	0.92	1.51	1.59	1.59	1.67
LS 01	d	nd	0.28	0.32	0.52	0.72	0.57	0.86	0.94	0.91	0.81
LS 02	nd	nd	d	d	d	0.43	0.48	0.83	0.84	0.76	0.77
LS 03	nd	nd	d	d	d	0.40	0.44	0.78	0.85	0.83	0.82
LS 04	nd	nd	d	d	d	0.44	0.51	0.93	1.02	0.94	0.93
PBL 01	nd	d	nd	d	0.33	0.49	0.65	1.25	1.39	1.28	1.24
PBL 02	d	d	nd	0.36	0.68	0.86	1.08	2.04	1.77	2.34	2.48
PBL 03	nd	d	nd	0.37	0.66	0.95	1.13	2.28	1.90	2.24	2.22
PBL 04	d	d	nd	d	0.47	0.61	0.80	1.68	1.46	1.73	1.73
LAM 01	nd	0.22	0.40	0.49	0.75	0.79	0.76	1.15	1.34	1.06	0.86
LAM 02	nd	0.24	0.47	0.60	0.95	0.85	0.84	1.53	1.84	1.57	1.24
LAM 03	nd	d	0.39	0.49	0.80	0.69	0.77	1.45	1.64	1.49	1.15
LAM 04	nd	0.22	0.44	0.55	0.82	0.69	0.75	1.13	1.35	1.03	0.82
PLR 01	d	d	0.29	0.39	0.77	0.82	1.17	2.36	2.25	2.20	2.21
PLR 02	d	d	0.31	0.48	0.76	0.98	1.22	2.02	2.08	1.62	1.34
PLR 03	d	0.37	0.48	0.77	0.91	1.56	1.48	2.50	2.62	2.27	1.57
PLR 04	nd	d	nd	nd	nd	nd	nd	nd	d	d	nd
PSJ 01	nd	d	d	d	0.43	0.49	0.50	0.88	0.93	0.70	0.59
PSJ 02	d	d	d	d	0.48	0.68	0.73	1.47	1.50	1.35	0.91
PSJ 03	nd	d	d	d	d	0.41	0.46	0.86	1.12	1.11	0.76
PSJ 04	nd	d	d	d	0.35	0.59	0.64	1.25	1.57	1.46	0.99
SCR 01	0.38	0.89	1.46	1.32	1.48	1.33	0.69	0.60	0.37	0.19	nd
SCR 02	0.43	1.13	1.62	1.50	1.41	1.46	0.77	0.70	0.46	0.23	0.26
SCR 03	0.29	0.96	1.37	1.28	1.21	1.11	0.44	d	d	nd	d
SCR 04	0.27	0.77	1.12	1.05	1.05	0.99	0.53	0.44	d	d	d
CLT 01	nd	d	d	d	d	0.44	0.43	0.70	0.81	0.66	0.36
CLT 02	nd	nd	d	nd	0.35	0.51	0.45	0.74	0.81	0.74	0.42
CLT 03	nd	nd	d	nd	0.35	0.53	0.55	0.97	1.11	0.95	0.55
CLT 04	nd	nd	d	d	d	0.42	0.47	0.89	1.04	0.86	0.54
PIG 01	d	d	nd	d	0.43	0.78	0.97	1.91	2.42	2.19	1.66
PIG 02	d	d	nd	d	0.47	0.88	1.09	2.07	2.69	2.92	2.50
PIG 03	d	d	d	d	0.37	0.72	0.96	1.90	2.47	2.61	2.05
PIG 04	d	d	d	nd	0.39	0.74	0.95	1.90	2.48	2.68	2.13

Tabla 6.9. Concentraciones encontradas en las muestras para los AEO C₁₈

Código	Concentración de los etoxímeros de AEO C ₁₈ (µg·kg ⁻¹)										
	EO ₄	EO ₅	EO ₆	EO ₇	EO ₈	EO ₉	EO ₁₀	EO ₁₁	EO ₁₂	EO ₁₃	EO ₁₄
PBR 01	0.63	0.95	1.19	1.28	1.67	3.11	3.34	3.72	5.99	6.50	7.35
PBR 02	0.58	1.12	1.33	1.50	2.04	3.61	4.08	4.20	6.80	7.98	9.39
PBR 03	0.36	0.84	0.91	0.86	1.19	2.20	2.58	2.67	3.94	4.56	5.84
PBR 04	0.26	0.60	0.64	0.58	0.79	1.41	1.60	1.75	2.46	2.84	3.32
LS 01	nd	0.59	0.77	0.44	0.51	1.14	1.34	1.35	1.76	1.79	1.79
LS 02	nd	0.26	0.34	d	0.42	0.72	0.86	1.07	1.58	1.71	1.51
LS 03	nd	0.30	0.34	nd	0.37	0.66	0.85	1.03	1.52	1.62	1.49
LS 04	nd	nd	0.32	nd	0.41	0.74	1.02	1.32	1.98	2.01	1.78
PBL 01	d	nd	0.29	nd	0.35	0.80	1.54	1.59	1.82	1.96	1.92
PBL 02	nd	0.38	0.53	0.44	0.93	0.98	1.53	1.97	3.06	3.29	2.93
PBL 03	nd	0.36	0.50	0.41	0.90	0.85	1.34	1.87	2.88	3.77	3.35
PBL 04	nd	0.33	0.46	0.38	0.79	0.70	1.22	1.69	2.44	2.59	2.53
LAM 01	nd	0.41	0.57	0.39	0.58	0.98	1.68	1.77	2.74	2.74	2.41
LAM 02	0.23	0.40	0.53	0.40	0.63	1.12	2.00	2.13	3.51	3.41	2.89
LAM 03	nd	0.30	0.41	0.31	0.48	0.78	1.37	1.59	2.61	2.62	2.41
LAM 04	nd	0.32	0.45	0.34	0.53	0.83	1.55	1.76	2.99	2.97	2.66
PLR 01	nd	0.43	0.62	0.45	0.90	0.82	1.77	1.85	2.97	3.04	2.55
PLR 02	nd	0.46	0.63	0.52	0.92	1.06	1.95	2.33	3.43	3.41	2.99
PLR 03	0.39	0.87	0.94	0.82	0.99	2.21	2.76	2.89	4.05	4.44	3.08
PLR 04	nd	d	nd	nd	nd	nd	d	nd	nd	nd	nd
PSJ 01	nd	nd	nd	d	nd	0.41	0.73	1.05	1.48	1.72	1.46
PSJ 02	nd	0.27	0.35	nd	0.47	0.66	1.02	1.28	1.84	2.05	1.67
PSJ 03	nd	nd	nd	nd	nd	0.56	0.91	1.16	1.67	1.72	1.38
PSJ 04	nd	nd	0.38	nd	nd	0.73	1.10	1.39	2.11	2.39	1.61
SCR 01	nd	0.56	0.70	0.53	0.67	1.45	1.77	1.18	0.88	0.48	0.23
SCR 02	nd	0.66	1.02	0.71	0.87	2.08	2.17	1.45	1.29	0.73	0.29
SCR 03	0.20	0.63	0.86	0.52	0.66	1.53	1.50	0.81	0.61	0.23	nd
SCR 04	nd	0.47	0.65	0.44	0.60	1.38	1.38	0.90	0.67	0.38	d
CLT 01	nd	d	0.37	nd	nd	0.56	0.88	0.96	1.33	1.46	0.99
CLT 02	nd	nd	0.35	nd	nd	0.46	0.74	0.87	1.29	1.36	0.95
CLT 03	nd	nd	0.38	nd	nd	0.58	0.98	1.13	1.68	1.72	1.40
CLT 04	nd	nd	0.40	nd	nd	0.50	0.84	0.97	1.41	1.51	1.26
PIG 01	d	0.39	0.45	0.39	0.46	0.86	1.32	1.52	2.10	2.38	2.20
PIG 02	nd	0.44	0.53	0.51	0.59	1.08	1.66	2.00	2.84	3.24	4.00
PIG 03	nd	0.37	0.46	0.40	0.46	0.93	1.45	1.70	2.47	2.83	3.30
PIG 04	nd	0.51	0.59	0.46	0.51	1.07	1.58	1.80	2.57	2.88	3.37

A continuación, a modo ilustrativo, en la **figura 6.4** se muestra uno de los cromatogramas obtenidos para la muestra PBR 01.

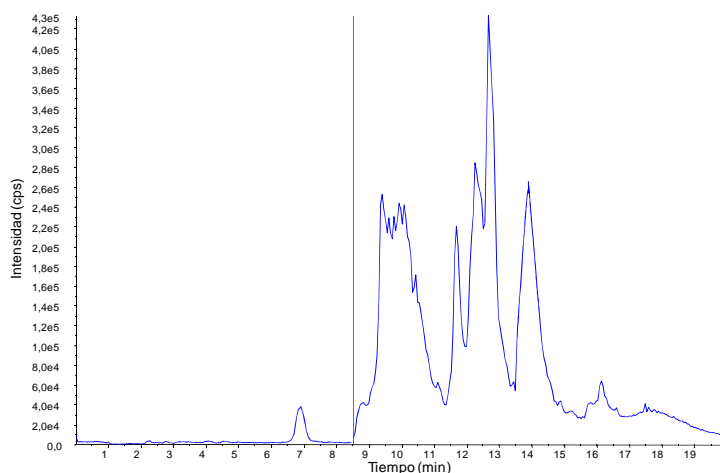


Figura 6.4. Cromatograma TIC obtenido para el análisis multi-residuo de surfactantes en la muestra de sedimento marino PBR 01

1.5. Discusión

Como conclusión a los resultados observados en las tablas, se puede afirmar que:

- Se demuestra la presencia de tensioactivos en los sedimentos marinos estudiados. Aunque, las concentraciones encontradas fueron bastante bajas, oscilando en el rango de 0.09 a 1136 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, todas las muestras se encontraron contaminadas con alguno de los surfactantes estudiados. Esto puede ser debido a que todas las muestras se tomaron en las cercanías de los emisarios de EDAR. Por tanto, las concentraciones encontradas corresponden prácticamente, con el primer punto de la cinética de degradación de estos compuestos, una vez que son aportados a los sedimentos.

- Las concentraciones encontradas para los homólogos del LAS oscilaron entre 14 y 1136 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Los homólogos de cadena más larga, C₁₂ y C₁₃ se encontraron a mayor concentración que los de cadena más corta, C₁₀ y C₁₁.
- En todas las muestras estudiadas de la Isla de Tenerife, se detectó la presencia de todos los homólogos de AS, salvo el AS C₁₈ en la muestra LS 02. Las concentraciones encontradas para los homólogos fluctuaron entre 1.7 y 130.1 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, registrándose los valores más pequeños para el homólogo más pesado, AS C₁₈.
- Se encontraron AES de las cuatro series homólogas estudiadas, C₁₂; C₁₄; C₁₆ y C₁₈; en el rango de concentraciones para sus etoxímeros de 0.09 a 60.7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, aunque los homólogos más habituales fueron los de cadena corta, C₁₂ y C₁₄. Al seguir aumentando en la serie homóloga, disminuía tanto el número de muestras contaminadas, como su concentración. Respecto a los etoxímeros correspondientes a cada homólogo, en general, se observó que al aumentar el número de unidades etoxiladas disminuía la concentración, encontrándose a mayor concentración los etoxímeros más pequeños. La muestra dónde se encontró una mayor contaminación de AES fue la de Santa Cruz de Tenerife, SCR, para los 4 homólogos.
- Se encontraron AEO de las dos series homólogas estudiadas, C₁₆ y C₁₈, en el rango para sus etoxímeros de 0.18 a 9.39 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Los etoxímeros del homólogo C₁₈ se encontraron en mayor concentración que los de C₁₆. En general, para las dos series homólogas, se observó que la concentración aumentaba al aumentar el número de unidades etoxiladas del alcohol. La mayor concentración de etoxímeros se

encontró en la muestra de Punta Brava, PBR, para ambas series homólogas.

- No se pudo establecer relación entre la posición de la muestra alrededor del emisario, la dirección de la corriente marina, el litoral de la isla y la concentración encontrada, debido a que la cantidad de compuesto dependía de variables no controladas. En la **tabla 6.10** se muestran las concentraciones medias de cada familia para los 4 puntos muestreados alrededor del emisario. Se observa que la muestra más contaminada, con un total de casi 3 mg de surfactantes por kilo de sedimento, fue la tomada en el emisario urbano de la capital de la isla, Santa Cruz, SCR, que es el municipio más poblado¹⁴⁰.

Tabla 6.10. Concentraciones medias para el total de cada familia

Código	Concentración media de surfactante ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				
	LAS	AS	AES	AEO	Total
PBR	15	22	10	49	96
LS	869	58	31	14	972
PBL	66	62	37	24	189
LAM	2018	97	54	23	2193
PLR	1204	162	96	24	1486
PSJ	837	70	21	14	942
SCR	2383	287	245	16	2932
CLT	410	35	16	11	472
PIG	9	15	3	26	52

- Se observó una disminución en las concentraciones de surfactantes encontradas cuando se analizó la muestra procedente del emisario del Polígono Industrial de Güimar, PIG, frente a las muestras procedentes de emisarios urbanos, ver **tabla 6.10**.

¹⁴⁰ Instituto Nacional de Estadística (INE), Población por municipios y sexo. Padrón municipal a 1 de enero de 2012. Santa Cruz de Tenerife. URL: <http://www.ine.es> (Visitada el 15/01/2013).

2. DETERMINACIÓN DE TENSIOACTIVOS EN SEDIMENTOS MARINOS DE LA COSTA ANDALUZA

2.1. Contextualización

En este caso, la zona a estudiar fue la Costa de Andalucía. Andalucía, con una superficie de 87,597 Km², representa el 17.3 % de España, siendo la segunda Comunidad Autónoma más extensa de España y la más poblada con 8,371,270 habitantes¹⁴¹. Andalucía cuenta con 150 espacios naturales protegidos, prácticamente el 20 % de su superficie total.

Para Andalucía, su litoral de 917 Km, se presenta como el activo más importante desde el punto de vista turístico. Además, las principales zonas industriales se concentran en la costa y en el Valle del Guadalquivir, siendo clara también la concentración de grandes ciudades. Estas situaciones provocan un gran impacto ambiental a lo largo del litoral andaluz.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente mencionado, el objeto del estudio fue obtener una visión global de la concentración de tensioactivos en los sedimentos marinos próximos a los distintos emisarios situados a lo largo de la Costa Andaluza, siendo un estudio de interés medioambiental.

¹⁴¹ Instituto Nacional de Estadística (INE), Censo de Población y Viviendas 2011. Andalucía. URL: <http://www.ine.es> (Visitada el 15/01/2013).

2.2. Caracterización de las muestras

La toma de muestra de sedimentos marinos en la Costa de Andalucía se llevó a cabo en 35 puntos diferentes donde se encuentran emisarios submarinos, distribuidos entre las provincias de: Huelva, Málaga, Granada y Almería. Los emisarios son de tipo urbano, agropecuario e industrial. En la **figura 6.5** se muestra un mapa de Andalucía con la ubicación de cada uno de estos puntos.



Figura 6.5. Localización de los puntos de muestreo

En las **figuras 6.6 y 6.7** se muestra la localización e identificación de los puntos de muestreo en cada una de las provincias.

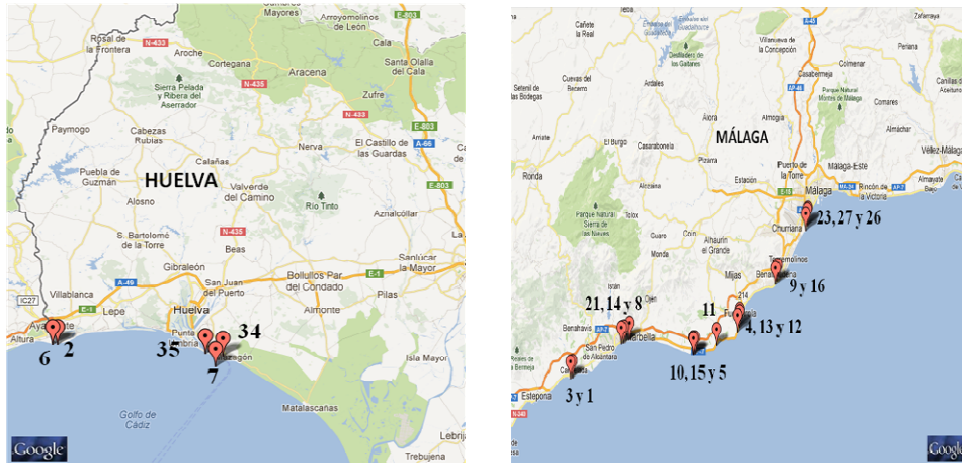


Figura 6.6 - Localización de los puntos de muestreo en las provincias de Huelva (muestras 2, 6, 7, 34 y 35) y Málaga (muestras 1, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 21, 23, 26 y 27)

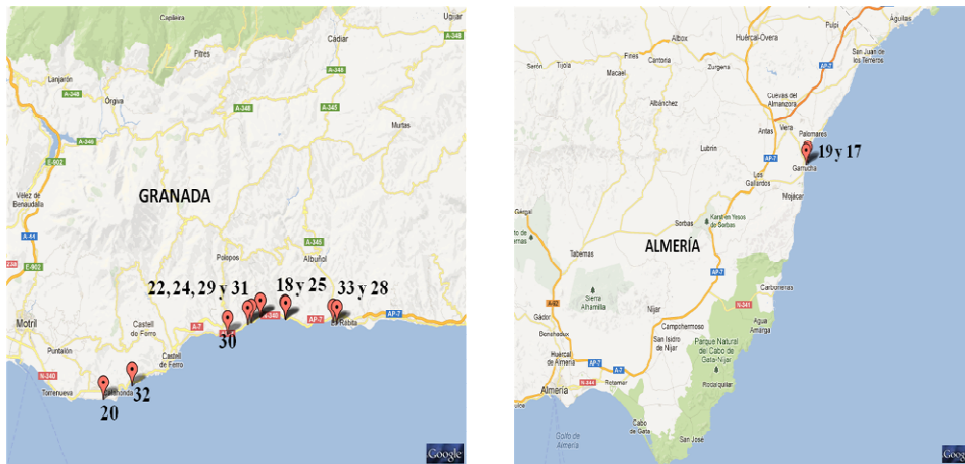


Figura 6.7. Localización de los puntos de muestreo en las provincias de Granada (muestras 18, 20, 22, 24, 25, 28, 29, 30, 31, 32 y 33) y Almería (muestras 17 y 19)

En la **tabla 6.11** se detallan las características relativas a las muestras.

Tabla 6.11. Muestras de sedimentos marinos de la Costa de Andalucía

Código	Localización	Coordenadas UTM 30	Tipo de emisario
(1) 15691	Estepona (Málaga)	315860 / 4035260	Urbano
(2) 10258	Ayamonte (Huelva)	108957/ 4125793	Urbano
(3) 15690	Estepona (Málaga)	315866 / 4035260	Urbano
(4) 15711	Mijas (Málaga)	354750 / 4043450	Urbano
(5) 15708	Las Víboras (Málaga)	341879 / 4038980	Urbano
(6) 10257	Ayamonte (Huelva)	108947 / 4125793	Urbano
(7) 17882	Huelva	682267 / 4114731	Urbano
(8) 17973	Manilva (Málaga)	327764 / 4040836	Urbano
(9) 15675	Arroyo de la miel (Málaga)	363660 / 4050120	Urbano
(10) 17974	Las Víboras (Málaga)	341330 / 4038722	Urbano
(11) 15710	Mijas (Málaga)	349825 / 4040600	Urbano
(12) 15705	Fuengirola (Málaga)	354750 / 4043450	Urbano
(13) 15704	Fuengirola (Málaga)	355080 / 4043280	Urbano
(14) 15706	Manilva (Málaga)	327754 / 4040830	Urbano
(15) 15709	Las Víboras (Málaga)	341330 / 4038722	Urbano
(16) 15674	Arroyo de la miel (Málaga)	363663 / 4050118	Urbano
(17) 17217	Vera (Almería)	605685 / 4118200	Urbano
(18) 11549	Melicena (Granada)	478834 / 4067245	Urbano
(19) 17218	Vera (Almería)	605653 / 4118199	Urbano
(20) 4015	Carchuna (Granada)	461267 / 4061472	Agropecuario
(21) 17975	Manilva (Málaga)	327764 / 4040836	Urbano
(22) 13579	La Mamola (Granada)	475850 / 4066611	Urbano
(23) 10767	Málaga	370185 / 4056658	Industrial
(24) 13580	La Mamola (Granada)	475800 / 4067000	Urbano
(25) 11550	Melicena (Granada)	478828 / 4067249	Urbano
(26) 10765	Málaga	372156 / 4058705	Industrial
(27) 10766	Málaga	371811 / 4057954	Industrial
(28) 13653	La Rabita (Granada)	483390 / 4066327	Urbano
(29) 17273	Los Yesos (Granada)	476631 / 4067433	Urbano
(30) 17275	Castillo de baños (Granada)	473452 / 4065694	Urbano
(31) 17274	Los Yesos (Granada)	476631 / 4067433	Urbano
(32) 17276	Calahonda (Granada)	464297 / 4061761	Urbano
(33) 13654	La Rabita (Granada)	483410 / 4066332	Urbano
(34) 7599	Huelva	687362 / 4116058	Industrial
(35) 7597	Huelva	679761 / 4117835	Industrial

2.3. Toma y conservación de las muestras

La etapa de toma de muestra de sedimentos marinos se realizó durante 2008 y 2009, y al igual que en el caso de Tenerife, fue llevada a cabo por submarinistas. Una vez tomadas las muestras, se colocaron en recipientes de vidrio y se conservaron a 4 °C durante el transporte hasta el laboratorio, dónde se siguió el siguiente procedimiento operatorio:

- 1) Adición inmediata de formaldehído al 3 % (v/v), para detener la actividad biológica y evitar su alteración.
- 2) Secado de las muestras en un horno hasta pesada constante.
- 3) Tamizado de las muestras (2 mm de luz de malla).
- 4) Colocación de las muestras en recipientes de plástico debidamente etiquetados, y conservación en un frigorífico a 4 °C hasta su análisis según la metodología anteriormente propuesta.

2.4. Resultados

En las **tablas 6.12 - 6.19** se muestran las concentraciones de tensioactivos encontradas en los sedimentos marinos de la Costa de Andalucía. Para calcular la concentración media de cada analito, se realizaron dos réplicas experimentales y tres instrumentales por cada muestra, obteniendo un total de seis datos por muestra. En dichas tablas, al igual que en el caso anterior, “*nd*” indica que el tensioactivo no se ha detectado y “*d*” que el tensioactivo sí se ha detectado pero a una concentración inferior al límite de cuantificación.

Tabla 6.12. Concentraciones encontradas en las muestras para LAS

Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			
	LAS C ₁₀	LAS C ₁₁	LAS C ₁₂	LAS C ₁₃		LAS C ₁₀	LAS C ₁₁	LAS C ₁₂	LAS C ₁₃
(1) 15691	d	d	d	d	(19) 17218	36	268	486	505
(2) 10258	42	167	156	69	(20) 4015	22	148	296	306
(3) 15690	d	d	d	d	(21) 17975	23	164	310	313
(4) 15711	d	38	41	23	(22) 13579	d	41	40	24
(5) 15708	d	d	d	d	(23) 10767	d	39	50	43
(6) 10257	d	d	37	d	(24) 13580	nd	d	d	d
(7) 17882	37	287	505	620	(25) 11550	nd	d	45	d
(8) 17973	d	d	d	d	(26) 10765	d	65	88	89
(9) 15675	nd	d	d	24	(27) 10766	28	145	210	273
(10) 17974	d	d	d	d	(28) 13653	d	33	63	83
(11) 15710	d	d	d	d	(29) 17273	d	40	36	d
(12) 15705	nd	d	d	d	(30) 17275	nd	nd	d	d
(13) 15704	nd	d	d	d	(31) 17274	nd	d	d	d
(14) 15706	d	d	40	33	(32) 17276	nd	d	d	d
(15) 15709	d	56	77	59	(33) 13654	d	d	50	64
(16) 15674	31	139	123	64	(34) 7599	d	37	54	44
(17) 17217	d	41	123	165	(35) 7597	d	57	60	39
(18) 11549	d	49	75	71					

Tabla 6.13. Concentraciones encontradas en las muestras para los AS

Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			
	AS C ₁₂	AS C ₁₄	AS C ₁₆	AS C ₁₈		AS C ₁₂	AS C ₁₄	AS C ₁₆	AS C ₁₈
(1) 15691	8.7	6.6	1.8	d	(19) 17218	10.1	6.1	2.4	2.7
(2) 10258	162.3	69.0	15.0	d	(20) 4015	8.4	9.3	18.3	58.5
(3) 15690	8.0	6.4	1.6	d	(21) 17975	8.1	8.4	12.1	6.1
(4) 15711	13.9	22.9	15.2	6.6	(22) 13579	12.1	11.9	4.1	d
(5) 15708	24.5	23.8	11.4	9.4	(23) 10767	13.4	11.5	5.1	3.7
(6) 10257	8.1	7.3	2.0	d	(24) 13580	9.7	15.4	8.8	12.6
(7) 17882	28.4	41.0	19.9	14.1	(25) 11550	4.0	3.5	d	d
(8) 17973	17.3	15.7	12.9	3.1	(26) 10765	18.6	20.7	15.7	12.9
(9) 15675	5.0	3.3	d	d	(27) 10766	28.8	24.1	10.1	7.8
(10) 17974	d	d	d	nd	(28) 13653	7.2	5.8	2.5	d
(11) 15710	4.8	3.3	d	d	(29) 17273	20.1	15.2	4.4	d
(12) 15705	d	d	nd	d	(30) 17275	6.2	3.6	1.7	nd
(13) 15704	4.5	4.2	1.8	d	(31) 17274	11.5	8.6	3.6	d
(14) 15706	8.9	6.0	4.6	3.6	(32) 17276	5.9	6.5	3.2	d
(15) 15709	23.8	20.4	5.4	2.7	(33) 13654	7.9	8.6	2.8	d
(16) 15674	68.2	45.5	20.8	6.7	(34) 7599	26.8	39.1	68.5	30.1
(17) 17217	9.0	5.1	2.9	d	(35) 7597	52.1	69.7	130	33.3
(18) 11549	15.2	11.5	3.0	d					

Tabla 6.14. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₂

Código	Concentración AES C ₁₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
(1) 15691	2.39	1.53	0.70	0.51	d	(19) 17218	2.03	1.33	0.67	nd	nd
(2) 10258	23.7	16.6	10.3	6.68	3.58	(20) 4015	1.67	1.24	d	nd	nd
(3) 15690	2.45	1.44	1.02	0.48	0.34	(21) 17975	1.94	nd	0.70	0.39	nd
(4) 15711	4.75	3.97	2.33	1.53	0.89	(22) 13579	3.42	3.19	1.81	0.99	0.80
(5) 15708	7.15	6.39	3.93	2.64	1.20	(23) 10767	3.49	2.81	1.69	1.00	0.64
(6) 10257	1.94	1.31	d	nd	nd	(24) 13580	3.03	2.27	1.23	0.86	0.61
(7) 17882	8.89	4.86	2.35	1.24	0.93	(25) 11550	d	d	nd	nd	nd
(8) 17973	3.43	2.70	1.54	1.39	0.79	(26) 10765	5.02	3.72	2.28	1.52	0.76
(9) 15675	d	d	d	d	nd	(27) 10766	7.70	5.55	2.45	1.71	0.88
(10) 17974	d	d	d	d	nd	(28) 13653	1.54	d	0.60	d	d
(11) 15710	d	d	d	d	nd	(29) 17273	8.92	7.90	4.61	3.34	1.77
(12) 15705	d	nd	nd	d	nd	(30) 17275	d	d	d	nd	nd
(13) 15704	d	d	d	d	nd	(31) 17274	2.72	2.06	1.15	0.70	0.39
(14) 15706	1.93	d	d	d	d	(32) 17276	1.71	1.14	0.74	0.58	nd
(15) 15709	5.91	3.49	1.37	0.50	0.28	(33) 13654	1.70	d	d	nd	nd
(16) 15674	12.9	10.3	7.20	4.67	2.16	(34) 7599	5.84	4.04	2.52	1.23	0.29
(17) 17217	1.52	d	d	d	nd	(35) 7597	10.2	10.6	3.23	1.82	1.09
(18) 11549	3.68	2.13	1.26	nd	nd						

Tabla 6.15. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₄

Código	Concentración AES C ₁₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
(1) 15691	2.07	1.17	0.45	nd	nd	(19) 17218	2.76	1.72	nd	nd	nd
(2) 10258	15.9	9.66	4.19	1.31	0.77	(20) 4015	1.72	2.79	d	nd	nd
(3) 15690	1.83	1.15	0.39	0.17	nd	(21) 17975	3.30	3.42	0.82	nd	nd
(4) 15711	11.6	6.76	2.59	0.94	0.54	(22) 13579	4.48	3.36	1.24	0.28	0.31
(5) 15708	10.7	5.86	2.59	0.93	0.40	(23) 10767	4.92	3.63	1.22	0.18	nd
(6) 10257	2.47	1.35	0.39	0.25	nd	(24) 13580	7.72	4.98	2.09	0.81	0.52
(7) 17882	22.1	6.81	2.00	0.99	0.61	(25) 11550	d	0.91	nd	nd	nd
(8) 17973	7.11	4.00	1.84	0.50	0.54	(26) 10765	11.1	7.91	2.71	1.34	0.86
(9) 15675	d	d	nd	nd	nd	(27) 10766	8.73	6.43	1.25	nd	nd
(10) 17974	d	d	d	nd	nd	(28) 13653	1.97	1.52	d	d	0.21
(11) 15710	d	d	d	nd	d	(29) 17273	6.38	4.20	1.61	0.37	0.14
(12) 15705	d	d	d	d	nd	(30) 17275	nd	d	nd	nd	nd
(13) 15704	1.37	d	d	d	nd	(31) 17274	3.47	1.96	0.99	nd	nd
(14) 15706	1.59	1.03	d	nd	nd	(32) 17276	2.47	3.09	0.77	0.28	nd
(15) 15709	7.34	3.26	1.01	0.24	0.23	(33) 13654	2.68	2.12	0.89	0.25	nd
(16) 15674	13.2	8.00	4.17	1.20	0.87	(34) 7599	5.40	13.4	3.08	0.39	nd
(17) 17217	d	1.23	nd	nd	nd	(35) 7597	10.6	17.9	2.62	0.68	0.60
(18) 11549	3.53	1.77	0.91	d	0.13						

Tabla 6.16. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₆

Código	Concentración AES C ₁₆ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₆ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
(1) 15691	nd	nd	nd	nd	nd	(19) 17218	d	3.80	nd	nd	nd
(2) 10258	1.41	1.31	0.49	0.12	nd	(20) 4015	nd	2.78	nd	nd	nd
(3) 15690	d	d	nd	nd	nd	(21) 17975	nd	1.26	nd	nd	nd
(4) 15711	3.95	2.73	1.52	0.39	nd	(22) 13579	0.67	0.61	nd	nd	nd
(5) 15708	2.46	2.22	1.00	0.36	0.24	(23) 10767	d	nd	nd	nd	nd
(6) 10257	d	nd	nd	nd	nd	(24) 13580	1.85	1.28	0.45	0.36	0.19
(7) 17882	3.35	1.04	nd	0.25	0.14	(25) 11550	nd	nd	nd	nd	nd
(8) 17973	4.38	3.32	1.67	0.66	0.65	(26) 10765	3.19	3.38	1.47	0.63	0.58
(9) 15675	nd	nd	nd	nd	nd	(27) 10766	nd	nd	nd	nd	nd
(10) 17974	nd	nd	nd	nd	nd	(28) 13653	d	nd	nd	nd	nd
(11) 15710	nd	d	nd	nd	nd	(29) 17273	d	nd	nd	nd	nd
(12) 15705	nd	nd	nd	nd	nd	(30) 17275	nd	nd	nd	nd	nd
(13) 15704	d	0.42	d	nd	nd	(31) 17274	nd	nd	nd	nd	nd
(14) 15706	d	d	d	nd	nd	(32) 17276	d	nd	nd	nd	nd
(15) 15709	0.59	d	d	nd	nd	(33) 13654	nd	nd	nd	nd	nd
(16) 15674	3.92	3.34	1.36	0.65	0.34	(34) 7599	nd	11.0	nd	nd	nd
(17) 17217	nd	5.03	nd	nd	nd	(35) 7597	1.01	3.72	nd	nd	nd
(18) 11549	nd	nd	nd	0.48	nd						

Tabla 6.17. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₈

Código	Concentración AES C ₁₈ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₈ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅
(1) 15691	nd	nd	nd	nd	nd	(19) 17218	nd	nd	nd	nd	nd
(2) 10258	nd	nd	nd	nd	nd	(20) 4015	nd	nd	nd	nd	nd
(3) 15690	nd	nd	nd	nd	nd	(21) 17975	nd	nd	nd	nd	nd
(4) 15711	nd	1.77	nd	nd	nd	(22) 13579	nd	nd	nd	nd	nd
(5) 15708	nd	nd	nd	nd	nd	(23) 10767	nd	nd	nd	nd	nd
(6) 10257	nd	nd	nd	nd	nd	(24) 13580	nd	nd	nd	nd	nd
(7) 17882	nd	nd	nd	nd	nd	(25) 11550	nd	nd	nd	nd	nd
(8) 17973	nd	nd	nd	nd	nd	(26) 10765	nd	nd	nd	nd	nd
(9) 15675	nd	nd	nd	nd	nd	(27) 10766	nd	nd	nd	1.19	d
(10) 17974	nd	nd	nd	nd	d	(28) 13653	nd	d	0.98	nd	nd
(11) 15710	nd	nd	nd	nd	nd	(29) 17273	nd	nd	nd	nd	nd
(12) 15705	nd	nd	nd	nd	nd	(30) 17275	nd	nd	nd	nd	nd
(13) 15704	nd	nd	nd	nd	nd	(31) 17274	nd	nd	nd	nd	nd
(14) 15706	nd	nd	nd	nd	nd	(32) 17276	nd	nd	nd	nd	nd
(15) 15709	nd	nd	nd	nd	nd	(33) 13654	nd	nd	nd	nd	nd
(16) 15674	nd	nd	d	nd	nd	(34) 7599	nd	nd	nd	nd	1.03
(17) 17217	nd	nd	nd	nd	nd	(35) 7597	d	nd	nd	nd	nd
(18) 11549	nd	nd	nd	nd	nd						

Tabla 6.18. Concentraciones encontradas en las muestras para los AEO C₁₆

Código	Concentración de los etoxímeros de AEO C ₁₆ (µg·kg ⁻¹)										
	EO ₅	EO ₆	EO ₇	EO ₈	EO ₉	EO ₁₀	EO ₁₁	EO ₁₂	EO ₁₃	EO ₁₄	EO ₁₅
(1) 15691	2.48	2.95	4.62	4.42	7.29	8.73	9.88	14.8	15.2	11.9	8.82
(2) 10258	0.38	0.45	0.72	0.73	1.21	1.48	2.13	4.28	5.41	7.34	9.33
(3) 15690	0.65	1.04	1.36	1.27	2.12	2.29	2.56	4.60	4.60	5.47	3.84
(4) 15711	0.57	0.78	1.25	1.18	1.79	2.16	2.80	4.82	5.10	6.30	7.33
(5) 15708	0.59	0.72	1.18	1.25	1.91	2.16	2.50	4.18	4.24	4.76	4.75
(6) 10257	0.29	0.37	0.62	0.57	1.00	1.26	1.61	3.69	4.90	5.55	5.07
(7) 17882	0.62	1.10	1.58	1.45	1.73	2.39	2.22	3.86	2.45	2.72	2.21
(8) 17973	1.05	2.01	2.66	2.75	3.32	4.53	4.28	7.05	8.18	12.5	13.2
(9) 15675	0.83	1.19	1.58	1.73	2.14	3.06	3.51	5.43	6.54	10.2	11.4
(10) 17974	0.40	0.41	0.85	1.00	1.37	2.00	2.45	4.91	6.33	7.62	8.83
(11) 15710	0.50	0.53	0.94	1.05	1.69	2.27	2.63	4.88	5.24	4.68	4.04
(12) 15705	0.37	0.34	0.73	0.73	1.22	1.71	1.96	3.85	4.36	3.72	3.15
(13) 15704	0.52	0.37	0.80	1.02	1.48	1.96	2.47	4.58	5.17	4.99	3.94
(14) 15706	0.22	0.24	0.45	0.55	0.96	1.33	1.56	3.04	3.68	3.31	2.01
(15) 15709	0.49	nd	0.57	0.53	0.83	0.92	0.75	0.95	0.67	nd	nd
(16) 15674	0.33	0.55	0.82	0.85	1.22	1.58	1.70	3.00	3.27	2.15	1.29
(17) 17217	d	0.22	0.44	0.42	0.73	1.08	1.35	2.68	3.42	2.97	1.85
(18) 11549	0.18	0.21	0.44	0.41	0.60	0.85	0.81	1.53	2.24	3.05	2.23
(19) 17218	d	d	0.32	0.32	0.55	0.96	1.56	3.87	4.47	3.20	1.85
(20) 4015	0.30	0.59	0.87	0.83	1.29	1.76	1.31	1.81	1.52	0.64	d
(21) 17975	0.22	0.36	0.53	0.56	1.00	1.29	1.07	1.57	1.66	1.32	0.57
(22) 13579	d	d	0.37	0.40	0.66	1.08	1.31	2.37	3.43	3.24	2.23
(23) 10767	0.44	1.06	1.22	0.80	0.97	0.88	0.45	nd	nd	nd	nd
(24) 13580	0.30	d	0.50	0.48	0.79	1.17	1.50	2.88	4.01	3.57	2.70
(25) 11550	0.19	nd	0.42	0.39	0.67	0.97	1.02	1.89	2.65	3.36	2.55
(26) 10765	0.49	0.85	1.22	1.05	1.36	1.36	0.76	0.48	d	d	nd
(27) 10766	0.29	1.62	1.62	0.94	1.22	1.21	0.63	nd	nd	nd	nd
(28) 13653	0.22	nd	0.53	0.53	0.72	1.09	1.04	2.00	2.94	3.79	3.00
(29) 17273	0.19	d	0.40	0.41	0.60	0.83	0.86	1.52	2.04	2.55	2.10
(30) 17275	0.20	d	0.44	0.44	0.65	0.91	0.92	2.06	2.88	3.79	2.98
(31) 17274	0.23	d	0.37	0.39	0.59	0.84	1.06	2.51	3.58	3.00	1.82
(32) 17276	0.18	d	0.37	0.36	0.57	0.77	0.84	2.01	2.91	2.82	1.96
(33) 13654	d	0.23	0.38	0.34	0.60	0.82	1.02	1.86	2.63	3.48	2.42
(34) 7599	d	0.27	0.47	0.44	0.55	0.75	0.44	4.04	0.50	nd	d
(35) 7597	d	d	0.37	0.38	0.45	0.84	0.91	0.82	0.67	0.59	0.32

Tabla 6.19. Concentraciones encontradas en las muestras para los AEO C₁₈

Código	Concentración de los etoxímeros de AEO C ₁₈ (µg·kg ⁻¹)										
	EO ₄	EO ₅	EO ₆	EO ₇	EO ₈	EO ₉	EO ₁₀	EO ₁₁	EO ₁₂	EO ₁₃	EO ₁₄
(1) 15691	7.31	7.84	8.59	8.40	8.01	14.0	16.8	16.5	20.7	16.6	14.6
(2) 10258	1.23	1.85	2.43	2.24	2.60	4.03	4.91	4.65	6.90	6.32	8.91
(3) 15690	3.60	4.03	4.02	2.93	3.12	5.60	7.15	5.95	6.24	5.17	5.85
(4) 15711	2.94	3.61	3.74	2.43	2.62	4.75	6.61	6.30	8.35	7.54	8.68
(5) 15708	2.44	2.98	3.18	2.39	2.76	5.44	6.60	5.77	6.92	5.98	6.61
(6) 10257	0.62	1.59	1.96	2.53	3.15	4.63	5.30	4.49	5.65	5.52	4.48
(7) 17882	1.10	2.75	4.56	2.60	2.42	5.66	7.62	7.28	7.22	4.94	4.70
(8) 17973	4.63	5.32	5.67	4.56	4.92	8.67	10.0	9.70	11.9	12.7	18.0
(9) 15675	4.53	5.08	3.49	2.81	3.38	5.81	7.85	6.10	7.38	8.06	11.1
(10) 17974	2.76	2.88	2.45	2.44	2.90	4.61	5.04	4.09	5.41	6.00	6.75
(11) 15710	2.50	3.09	2.76	2.10	2.88	4.99	5.60	4.61	7.07	7.07	5.43
(12) 15705	2.35	2.70	2.31	1.69	2.24	4.27	5.33	4.24	5.06	5.51	4.49
(13) 15704	2.55	3.30	2.73	1.97	2.53	4.53	6.06	4.76	6.29	6.67	4.30
(14) 15706	1.13	1.48	1.25	1.10	1.50	2.62	2.51	2.07	3.15	3.46	2.13
(15) 15709	2.26	2.66	2.09	1.53	1.93	3.16	2.48	1.09	1.00	0.59	nd
(16) 15674	1.26	1.88	1.77	0.98	1.19	2.87	4.28	3.93	4.99	3.84	1.66
(17) 17217	0.29	0.68	1.01	0.93	1.14	2.07	2.14	1.80	2.89	2.32	1.46
(18) 11549	0.40	1.02	1.24	1.29	1.71	2.56	2.28	2.06	2.76	2.66	1.70
(19) 17218	0.40	0.53	0.68	0.65	0.82	1.68	1.63	1.52	2.08	1.86	1.12
(20) 4015	0.89	1.37	1.78	0.93	1.18	3.74	4.34	3.65	3.59	2.04	0.62
(21) 17975	0.71	1.11	1.42	0.81	0.93	2.50	2.81	2.36	2.88	2.04	0.79
(22) 13579	0.36	0.83	1.19	1.22	1.51	2.52	2.49	2.23	3.04	2.74	1.59
(23) 10767	0.66	1.51	2.24	1.33	1.40	3.04	2.61	1.36	1.03	0.44	nd
(24) 13580	0.43	0.95	1.32	1.50	1.89	3.25	3.27	2.85	4.17	3.90	2.99
(25) 11550	0.48	0.93	1.40	1.40	1.71	3.16	3.28	3.00	4.10	3.68	2.65
(26) 10765	0.66	1.76	2.94	1.59	1.51	4.01	4.49	3.12	2.51	0.98	0.30
(27) 10766	0.55	1.46	2.49	1.30	1.34	3.87	4.54	2.71	2.68	0.74	nd
(28) 13653	1.02	1.63	2.26	2.10	2.50	4.43	4.12	3.46	4.77	4.82	4.66
(29) 17273	0.38	0.80	1.43	1.14	1.46	3.17	3.60	3.13	3.70	3.97	3.18
(30) 17275	nd	0.95	1.67	1.43	2.04	3.47	3.78	3.28	4.24	4.36	3.73
(31) 17274	0.46	0.67	1.31	1.23	1.64	3.22	3.54	2.84	3.99	3.96	2.53
(32) 17276	0.28	0.65	1.13	1.10	1.45	2.62	2.83	2.39	3.49	3.37	2.34
(33) 13654	0.25	0.76	1.39	1.37	1.69	3.17	3.45	2.91	4.40	4.25	3.06
(34) 7599	0.44	1.04	1.72	1.13	0.96	2.45	2.36	1.31	1.28	0.39	nd
(35) 7597	0.32	0.73	1.53	0.97	0.94	2.56	2.95	2.20	2.80	1.80	0.92

A continuación, a modo ilustrativo, en la **figura 6.8** se muestra uno de los cromatogramas obtenidos para la muestra (16) 15674.

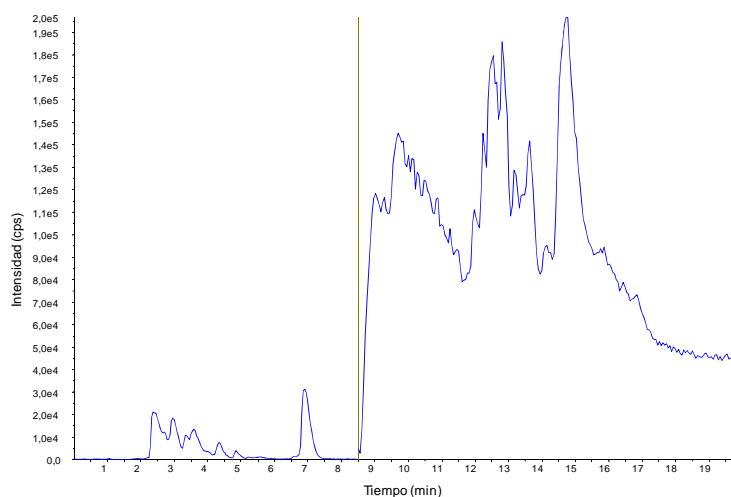


Figura 6.8. Cromatograma TIC obtenido para el análisis multi-residuo de surfactantes en la muestra de sedimento marino (16) 15674.

2.5. Discusión

De los resultados mostrados en las tablas anteriores, se puede concluir que:

- Se demuestra la presencia de tensioactivos en los sedimentos marinos de la Costa de Andalucía. Aunque, las concentraciones encontradas fueron bastante bajas, oscilando en el rango de 0.12 a 620 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, todas las muestras se encontraron contaminadas con alguno de los surfactantes estudiados. Esto puede ser debido a que todas las muestras se tomaron en las cercanías de los emisarios de EDAR. Por lo tanto, las concentraciones encontradas corresponden prácticamente, con el primer punto de la cinética de degradación de estos compuestos, una vez que son aportados a los sedimentos.

- Las concentraciones encontradas para los homólogos del LAS fueron entre 22 y 620 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Al igual que para las muestras de Tenerife, los homólogos de cadena más larga, C₁₂ y C₁₃ se encontraron a mayor concentración que los de cadena más corta, C₁₀ y C₁₁.
- En todas las muestras estudiadas de la Costa de Andalucía, excepto en 3 de ellas, se detectó la presencia de todos los homólogos de AS. La concentraciones encontradas para sus homólogos fluctuaron entre 1.6 y 162.3 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, registrándose, en general, los valores más pequeños para el homólogo más pesado, AS C₁₈.
- Se encontraron AES de las cuatro series homólogas estudiadas, C₁₂, C₁₄, C₁₆ y C₁₈; en el rango de concentraciones para sus etoxímeros de 0.12 a 23.7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, aunque se observó que los homólogos más habituales eran los de cadena corta, C₁₂ y C₁₄. Al seguir aumentando en la serie homóloga, disminuía el número de muestras donde se encontraba, como su concentración. Respecto a los etoxímeros de cada homólogo, en general, se observó que al aumentar el número de unidades etoxiladas disminuía la concentración, encontrándose a mayor concentración los etoxímeros más pequeños.
- Se encontraron AEO de las dos series homólogas estudiadas, C₁₆ y C₁₈, en el rango de concentraciones para sus etoxímeros de 0.18 a 20.7 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Los etoxímeros del homólogo C₁₈ se encontraron a una mayor concentración que los de C₁₆. En general, para las dos series homólogas, se observó que la concentración aumentaba al aumentar el número de unidades etoxiladas del alcohol. La concentración de etoxímeros más elevada se encontró en la muestra de Estepona, Málaga (1) 15691, para las dos series homólogas.

- No se pudo establecer relación alguna entre la localización de la muestra, la provincia y la concentración encontrada, debido a que la cantidad de compuesto dependía de variables no controladas. En la **tabla 6.20** se muestran las concentraciones de cada familia de surfactantes para las 35 muestras analizadas. Se observa que la muestra más contaminada fue la tomada en Huelva capital, (7) 17882 con una concentración total de surfactantes de $1681 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$.
- Respecto al tipo de emisario, se observó que la muestra tomada en el emisario agropecuario y las correspondientes a los emisarios industriales, tenían unas concentraciones totales de tensioactivos por encima del valor medio para el total de muestras, ver **tabla 6.20**.

Tabla 6.20. Concentraciones medias para el total de cada familia

Código	Concentración por familia de surfactantes ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				
	LAS	AS	AES	AEO	Total
(1) 15691	0	17	9	230	256
(2) 10258	434	246	96	80	856
(3) 15690	0	16	9	83	109
(4) 15711	102	59	46	92	298
(5) 15708	0	69	48	79	196
(6) 10257	37	17	8	65	127
(7) 17882	1449	103	56	73	1681
(8) 17973	0	49	35	157	241
(9) 15675	24	8	0	113	146
(10) 17974	0	0	0	81	81
(11) 15710	0	8	0	77	85
(12) 15705	0	0	0	62	62
(13) 15704	0	10	2	73	85
(14) 15706	73	23	5	40	141
(15) 15709	192	52	24	24	293
(16) 15674	357	141	74	45	617
(17) 17217	329	17	8	32	386
(18) 11549	195	30	14	32	271
(19) 17218	1295	21	12	30	1358
(20) 4015	772	95	10	35	912
(21) 17975	810	35	12	29	885
(22) 13579	105	28	21	35	189
(23) 10767	132	34	20	21	206
(24) 13580	0	47	28	44	119
(25) 11550	45	8	1	40	93
(26) 10765	242	68	46	31	388
(27) 10766	656	71	36	29	792
(28) 13653	179	16	7	52	253
(29) 17273	76	40	39	37	192
(30) 17275	0	12	0	44	56
(31) 17274	0	24	13	40	77
(32) 17276	0	16	11	34	61
(33) 13654	114	19	8	40	181
(34) 7599	136	165	48	21	369
(35) 7597	156	285	64	23	528

3. DETERMINACIÓN DE TENSIOACTIVOS EN SEDIMENTOS DE RÍO

3.1. Contextualización

El Río Monachil nace en Sierra Nevada, Granada, en unas chorreras del Veleta, a 2975 metros de altitud y transcurre durante unos 26 Km hacia el río Genil, en el que desemboca justo en las afueras de Granada capital. En sus inicios el Río Monachil pasa por la pedanía de Pradollano perteneciente al municipio de Monachil. Pradollano es el núcleo urbano donde se encuentran todos los servicios de la estación de esquí de Sierra Nevada. Es por esto que, Pradollano dispone de multitud de plazas hoteleras y ve considerablemente incrementada su población durante la época de esquí. Las aguas residuales producidas en Pradollano son tratadas en una EDAR y después vertidas al Río Monachil.

Teniendo en cuenta que el Río Monachil pasa por el Parque Nacional de Sierra Nevada, nuestro objetivo fue realizar un seguimiento de la contaminación por surfactantes en los sedimentos del río. Para ello se realizó un estudio estacional, muestreando una serie de puntos que se establecieron a lo largo del río durante las diferentes estaciones del año.

Para llevar a cabo el análisis de los sedimentos del Río Monachil se aplicó la metodología anteriormente desarrollada mediante LC-MS/MS para sedimentos marinos. Previamente se comprobó, mediante estudios de recuperación en sedimento de río libre de los analitos, que el método era adecuado para tal fin.

3.2. Caracterización de las muestras

Se establecieron 6 puntos de muestreo (P_1 ; P_2 ; P_3 ; P_4 ; P_5 y P_6) a lo largo del río según se muestra en la **figura 6.9** y en la **tabla 6.21**, y se realizaron 6 muestreos de dichos puntos (M_1 ; M_2 ; M_3 ; M_4 ; M_5 y M_6) en las fechas que aparecen reflejadas en la **tabla 6.22**, nótese que no en todos los muestreos fue posible muestrear todos los puntos.

El primer punto de muestreo (P_1) se estableció justo en la zona donde se vierte el agua, procedente de la EDAR, al río, **figura 6.9**.

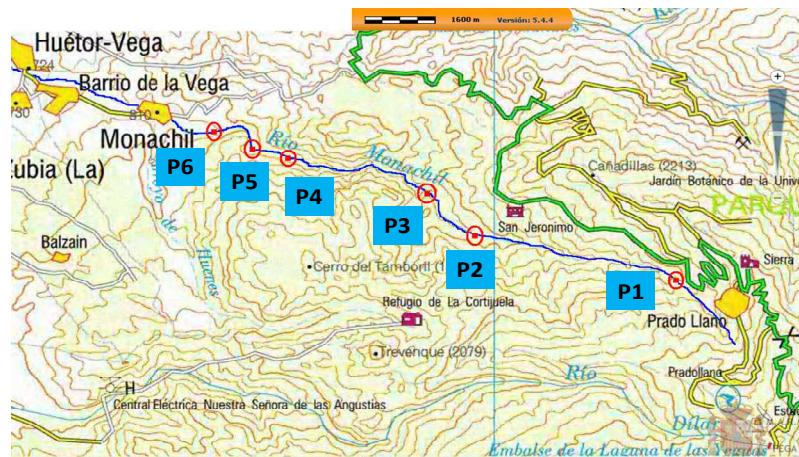


Figura 6.9. Localización de los seis puntos de muestreo en el Río Monachil

Tabla 6.21. Características de los puntos de Muestreo

Código de Punto	Coordenadas DMS		Altura (m)
P_1	37°5'43,82" N	3°24'13,47" O	2028
P_2	37°6'12,47" N	3°27'16,89" O	1435
P_3	37°6'52,60" N	3°28'7,58" O	1301
P_4	37°7'15,95" N	3°30'15,73" O	1074
P_5	37°7'23,56" N	3°30'46,90" O	1008
P_6	37°7'39,79" N	3°31'14,34" O	930

Tabla 6.22. Muestras de sedimentos del Río Monachil

Muestreo del Río Monachil			
Fecha	Estación del año	Código de Muestra	
		Código de Muestreo	Código de Punto
26/06/2008	Verano	M ₁	P ₁ y P ₂
19/03/2009	Invierno	M ₂	P ₁ a P ₃
14/05/2009	Primavera	M ₃	P ₁ a P ₆
19/11/2009	Otoño	M ₄	P ₁ a P ₆
05/06/2010	Primavera	M ₅	P ₁ a P ₆
23/06/2010	Verano	M ₆	P ₁ a P ₆

3.3. Toma y conservación de las muestras

La etapa de toma de muestra de sedimentos de río fue llevada a cabo por nuestro grupo de investigación tal y como se muestra en las **figuras 6.10 y 6.11**.



Figura 6.10. Toma de la muestra M₂ P₁ en el Río Monachil, justo en el punto de descarga del emisario de la EDAR

Una vez tomadas las muestras, se colocaron en recipientes de vidrio y se conservaron a 4 °C durante el transporte hasta el laboratorio, dónde se siguió el siguiente procedimiento operatorio:

- 1) Adición inmediata de formaldehido al 3 % (v/v), para detener la actividad biológica y evitar su alteración.
- 2) Secado de las muestras en un horno hasta pesada constante.
- 3) Tamizado de las muestras (2 mm de luz de malla).
- 4) Colocación de las muestras en recipientes de plástico debidamente etiquetados, y conservación en un frigorífico a 4 °C hasta su análisis según la metodología anteriormente propuesta.



Figura 6.11. Toma de la muestra M_2P_3 del Río Monachil

Durante la toma de muestra, para tratar de correlacionar los resultados se midieron ciertos parámetros del río como la temperatura del

agua, la conductividad, el pH y el caudal. En la **figura 6.12** se muestra una fotografía tomada durante la medida de dichos parámetros.



Figura 6.12. Medida de los parámetros del Río Monachil (muestra $M_5 P_3$)

3.4. Resultados

En las **tablas 6.23 - 6.30** se muestran las concentraciones de tensioactivos encontradas en los sedimentos del Río Monachil analizados. Para calcular la concentración media de cada analito, se realizaron dos réplicas experimentales y tres instrumentales, obteniendo un total de seis datos por muestra. En dichas tablas, “*nd*” indica que el tensioactivo no se ha detectado y “*d*” que el tensioactivo sí se ha detectado, pero a una concentración inferior al límite de cuantificación.

Tabla 6.23. Concentraciones encontradas en las muestras para LAS

Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					
	LAS C ₁₀	LAS C ₁₁	LAS C ₁₂	LAS C ₁₃		LAS C ₁₀	LAS C ₁₁	LAS C ₁₂	LAS C ₁₃		
M1	P ₂	nd	nd	37	40	M5	P ₁	620	1506	1442	1076
	P ₃	nd	nd	d	24		P ₂	16	74	94	86
M2	P ₁	60	276	355	315		P ₃	16	73	95	93
	P ₂	nd	nd	48	52		P ₄	d	36	44	40
	P ₃	nd	nd	43	51		P ₅	nd	nd	43	43
M3	P ₁	21	97	124	118		M6	P ₆	nd	33	41
	P ₂	d	45	65	67	P ₁		95	503	1169	1070
	P ₃	nd	nd	44	51	P ₂		nd	44	68	88
	P ₄	nd	35	32	23	P ₃		nd	d	32	29
	P ₅	nd	nd	33	nd	P ₄		nd	nd	33	32
	P ₆	nd	nd	34	nd	P ₅		nd	nd	nd	nd
M4	P ₁	nd	120	240	272	P ₆	nd	nd	nd	nd	
	P ₂	nd	67	88	79						
	P ₃	nd	48	58	49						
	P ₄	nd	53	83	86						
	P ₅	nd	36	41	31						
	P ₆	nd	39	42	28						

Tabla 6.24. Concentraciones encontradas en las muestras para los AS

Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)				Código	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					
	AS C ₁₂	AS C ₁₄	AS C ₁₆	AS C ₁₈		AS C ₁₂	AS C ₁₄	AS C ₁₆	AS C ₁₈		
M1	P ₂	10.1	15.9	9.2	5.7	M5	P ₁	127	226	100	203
	P ₃	9.3	8.8	2.2	2.2		P ₂	46.4	34.5	10.9	5.3
M2	P ₁	36.3	117.9	81.9	104.3		P ₃	32.8	31.7	10.9	4.0
	P ₂	15.8	31.8	21.6	15.2		P ₄	16.9	19.5	13.7	7.1
	P ₃	13.6	24.2	8.3	4.8		P ₅	11.8	13.9	6.7	3.5
M3	P ₁	53.1	52.5	19.8	14.5		M6	P ₆	36.1	75.4	58.1
	P ₂	11.8	18.0	5.6	3.5	P ₁		36.6	75.7	80.2	71.8
	P ₃	13.7	14.9	5.8	5.2	P ₂		25.6	39.5	28.4	13.8
	P ₄	41.3	20.7	5.3	3.1	P ₃		24.5	23.1	6.5	3.6
	P ₅	23.9	17.9	4.0	2.4	P ₄		19.0	17.1	4.9	4.5
	P ₆	19.8	21.1	5.1	2.1	P ₅		19.7	18.3	5.4	3.6
M4	P ₁	22.9	38.2	11.9	10.1	P ₆	17.4	22.0	9.1	2.9	
	P ₂	19.7	31.0	13.7	4.4						
	P ₃	22.0	23.5	7.6	3.6						
	P ₄	31.8	37.6	13.3	13.2						
	P ₅	28.0	28.2	7.1	4.7						
	P ₆	41.9	24.6	5.7	3.5						

Tabla 6.25. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₂

Código	Concentración AES C ₁₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)						
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		
M1	P ₂	2.82	2.38	1.89	1.17	0.88	M5	P ₁	34.5	19.2	5.82	3.43	2.53
	P ₃	2.42	2.14	1.27	0.71	0.51		P ₂	10.4	11.1	6.67	5.34	3.73
M2	P ₁	12.6	6.53	2.89	1.55	0.95		P ₃	11.7	12.9	8.37	6.15	4.27
	P ₂	3.04	1.89	0.89	0.47	0.30		P ₄	4.91	5.12	3.06	2.35	1.58
	P ₃	3.10	2.52	1.42	0.98	0.63		P ₅	3.56	4.03	2.66	2.08	1.72
M3	P ₁	11.7	7.79	3.73	2.42	1.50		M6	P ₆	9.30	9.45	4.73	2.99
	P ₂	5.27	6.04	4.02	2.69	2.02	P ₁		10.6	6.68	3.06	2.04	1.21
	P ₃	3.93	4.06	2.21	1.64	1.15	P ₂		9.97	7.00	3.84	2.82	1.91
	P ₄	8.98	7.76	4.30	2.88	1.87	P ₃		6.99	7.06	3.89	2.78	1.82
	P ₅	7.77	6.48	3.55	2.42	1.48	P ₄		6.46	6.23	3.55	2.50	1.81
	P ₆	5.34	4.62	2.55	1.88	1.33	P ₅		7.62	7.34	4.14	2.79	1.90
M4	P ₁	7.59	8.22	5.02	3.63	2.95	P ₆	7.94	7.81	4.49	3.13	2.19	
	P ₂	6.84	6.24	3.13	2.13	1.37							
	P ₃	5.71	6.12	3.66	2.84	1.98							
	P ₄	12.4	11.3	6.51	4.88	3.41							
	P ₅	7.77	8.03	4.68	3.29	2.08							
	P ₆	6.77	6.16	3.47	2.37	1.58							

Tabla 6.26. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₄

Código	Concentración AES C ₁₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₄ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)						
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		
M1	P ₂	3.64	2.18	0.99	0.39	0.34	M5	P ₁	116	38.2	8.83	3.29	2.96
	P ₃	2.31	1.90	0.72	0.22	0.27		P ₂	13.7	10.2	4.84	2.47	1.79
M2	P ₁	35.1	12.1	2.88	1.11	0.67		P ₃	13.0	9.61	4.66	2.39	1.63
	P ₂	7.61	3.29	1.20	0.51	0.36		P ₄	6.70	4.58	2.04	0.95	0.78
	P ₃	5.96	3.44	1.39	0.62	0.52		P ₅	6.62	5.06	2.41	1.29	0.90
M3	P ₁	15.2	6.32	2.42	0.89	0.70		M6	P ₆	9.80	6.13	2.60	1.08
	P ₂	7.04	5.12	2.38	1.12	0.97	P ₁		20.0	8.41	2.91	1.10	1.01
	P ₃	4.97	3.52	1.49	0.79	0.61	P ₂		7.49	5.15	2.29	1.02	0.84
	P ₄	7.61	4.64	2.11	0.85	0.54	P ₃		6.62	4.61	2.06	0.93	0.71
	P ₅	6.10	4.14	1.81	0.77	0.59	P ₄		6.62	4.56	1.87	0.80	0.58
	P ₆	6.96	4.26	1.79	0.77	0.49	P ₅		6.60	4.50	1.84	0.90	0.57
M4	P ₁	10.7	7.87	4.05	2.06	1.74	P ₆	8.70	5.92	2.65	1.27	0.82	
	P ₂	10.3	4.56	1.84	0.80	0.54							
	P ₃	10.0	6.53	3.05	1.39	1.02							
	P ₄	16.5	10.7	4.89	2.25	1.62							
	P ₅	10.5	7.35	3.16	1.52	1.07							
	P ₆	8.08	5.61	2.27	1.04	0.73							

Tabla 6.27. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₆

Código	Concentración AES C ₁₆ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₆ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)						
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		
M1	P ₂	0.55	0.54	nd	nd	nd	M5	P ₁	50.5	28.4	10.2	5.59	6.87
	P ₃	nd	nd	nd	nd	d		P ₂	1.36	1.21	0.67	0.26	0.21
M2	P ₁	6.83	3.12	0.72	0.36	0.34	M6	P ₃	1.20	1.08	0.55	0.27	0.13
	P ₂	1.47	0.91	0.32	0.40	0.09		P ₄	0.91	0.68	0.30	0.16	0.12
	P ₃	1.24	0.82	0.35	0.17	0.18		P ₅	0.84	0.71	0.37	0.17	0.10
M3	P ₁	1.89	0.97	0.37	0.47	0.09	M6	P ₆	0.92	0.81	0.28	0.19	nd
	P ₂	1.05	0.72	0.31	0.18	0.13		P ₁	4.33	3.71	1.21	0.97	1.04
	P ₃	0.71	0.54	0.30	0.16	0.09		P ₂	0.70	0.65	0.21	0.21	nd
	P ₄	nd	nd	nd	nd	nd		P ₃	0.53	0.48	0.19	nd	nd
	P ₅	nd	nd	nd	nd	d		P ₄	nd	0.40	0.20	nd	nd
	P ₆	nd	nd	nd	0.53	nd		P ₅	nd	d	0.18	nd	nd
M4	P ₁	1.49	1.67	0.86	0.62	0.46	P ₆	0.78	0.58	0.26	0.09	nd	
	P ₂	1.08	0.46	0.19	0.25	nd							
	P ₃	0.93	0.70	0.29	0.20	0.10							
	P ₄	1.97	1.51	0.68	0.35	0.23							
	P ₅	0.74	0.63	0.29	0.09	nd							
	P ₆	0.70	0.52	0.20	nd	nd							

Tabla 6.28. Concentraciones encontradas en las muestras para los AES C₁₈

Código	Concentración AES C ₁₈ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					Código	Concentración AES C ₁₈ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)						
	EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		EO ₁	EO ₂	EO ₃	EO ₄	EO ₅		
M1	P ₂	nd	nd	nd	4.75	d	M5	P ₁	29.6	17.5	14.3	10.6	6.63
	P ₃	nd	nd	nd	nd	d		P ₂	nd	nd	nd	nd	nd
M2	P ₁	2.11	nd	1.39	0.83	nd	M6	P ₃	nd	nd	nd	nd	nd
	P ₂	nd	nd	nd	0.52	nd		P ₄	nd	nd	d	nd	nd
	P ₃	nd	nd	nd	nd	nd		P ₅	nd	nd	nd	nd	d
M3	P ₁	nd	nd	nd	nd	nd	M6	P ₆	nd	nd	nd	nd	nd
	P ₂	nd	nd	nd	nd	nd		P ₁	1.90	1.42	0.97	0.66	0.65
	P ₃	nd	nd	nd	nd	nd		P ₂	nd	nd	nd	nd	nd
	P ₄	nd	nd	nd	nd	nd		P ₃	nd	nd	nd	nd	nd
	P ₅	nd	nd	nd	nd	nd		P ₄	nd	nd	nd	nd	nd
	P ₆	nd	nd	nd	2.17	nd		P ₅	nd	nd	nd	nd	nd
M4	P ₁	nd	nd	nd	1.60	nd	P ₆	nd	d	nd	nd	nd	
	P ₂	nd	nd	nd	nd	nd							
	P ₃	nd	nd	nd	nd	nd							
	P ₄	nd	nd	nd	nd	nd							
	P ₅	nd	d	nd	nd	nd							
	P ₆	nd	nd	nd	nd	nd							

Tabla 6.29. Concentraciones encontradas en las muestras para los AEO C₁₆

Código		Concentración de los etoxímeros de AEO C ₁₆ (µg·kg ⁻¹)										
		EO ₅	EO ₆	EO ₇	EO ₈	EO ₉	EO ₁₀	EO ₁₁	EO ₁₂	EO ₁₃	EO ₁₄	EO ₁₅
M1	P ₂	0.42	0.63	1.16	1.68	2.20	3.87	4.00	6.67	6.79	6.55	7.03
	P ₃	0.73	0.98	2.10	2.90	3.54	4.90	4.17	4.80	2.92	1.66	0.95
M2	P ₁	nd	0.22	0.65	1.37	1.34	2.95	3.76	6.28	7.72	6.67	6.62
	P ₂	0.55	1.02	2.17	3.20	3.47	6.21	5.61	6.89	4.57	2.77	1.27
	P ₃	0.89	1.14	1.79	2.52	2.64	4.34	3.77	4.12	2.40	1.29	0.62
M3	P ₁	0.28	0.50	1.13	1.93	2.06	4.62	5.26	8.35	9.56	7.64	6.50
	P ₂	0.40	0.77	1.22	1.94	2.65	4.22	4.33	6.92	7.36	7.66	7.74
	P ₃	0.68	0.98	1.40	2.24	2.92	4.45	4.48	6.66	6.17	5.44	4.52
	P ₄	2.98	3.68	4.45	5.50	5.85	9.63	8.42	10.4	8.86	8.98	8.58
	P ₅	1.49	1.46	1.75	2.40	2.86	4.82	5.01	7.26	7.22	7.12	5.79
	P ₆	0.57	1.55	3.21	4.79	5.64	11.5	12.4	18.4	18.5	16.6	13.5
M4	P ₁	0.36	0.92	1.64	2.18	2.60	5.08	5.33	8.36	9.01	7.19	5.75
	P ₂	0.39	0.77	1.40	1.81	2.36	4.07	4.26	7.71	7.58	6.54	5.26
	P ₃	0.98	0.98	1.42	1.73	2.42	3.84	3.73	5.78	4.74	3.14	1.84
	P ₄	0.46	0.67	1.13	1.44	2.20	3.59	3.89	7.05	7.65	7.16	7.44
	P ₅	0.70	1.01	1.57	1.77	2.60	3.76	4.10	7.36	7.65	6.78	7.14
	P ₆	0.44	0.72	1.38	1.88	3.16	4.27	4.71	8.32	9.00	7.97	8.12
M5	P ₁	0.18	0.36	1.30	1.56	1.97	2.69	3.07	6.08	5.85	3.58	3.12
	P ₂	0.73	1.10	1.84	2.18	3.53	4.92	5.08	8.13	6.94	4.38	2.95
	P ₃	0.89	1.00	1.47	1.87	3.06	4.14	4.07	6.78	5.92	4.24	3.19
	P ₄	0.89	1.00	1.44	1.96	3.08	4.49	4.53	7.69	7.61	6.19	5.34
	P ₅	0.83	1.40	2.17	3.09	4.32	5.50	5.00	7.93	7.67	7.31	6.99
	P ₆	0.85	1.34	2.04	2.97	3.84	6.80	6.98	11.1	11.0	9.77	8.56
M6	P ₁	nd	0.36	0.96	1.44	1.57	2.64	3.07	5.45	5.96	4.53	3.71
	P ₂	0.72	1.15	1.65	2.62	3.48	6.06	6.02	9.19	8.41	7.44	5.86
	P ₃	0.58	0.88	1.17	1.78	2.19	4.05	4.20	6.45	6.42	6.62	6.89
	P ₄	0.46	0.74	1.03	1.57	1.99	3.59	3.83	6.09	6.45	6.99	7.77
	P ₅	0.45	0.68	0.91	1.49	1.87	3.56	4.29	7.79	7.54	7.25	7.85
	P ₆	0.52	0.82	1.13	1.84	2.46	4.33	4.47	6.71	7.07	7.85	8.77

Tabla 6.30. Concentraciones encontradas en las muestras para los AEO C₁₈

Código		Concentración de los etoxímeros de AEO C ₁₈ (µg·kg ⁻¹)										
		EO ₄	EO ₅	EO ₆	EO ₇	EO ₈	EO ₉	EO ₁₀	EO ₁₁	EO ₁₂	EO ₁₃	EO ₁₄
M1	P ₂	1.58	1.96	2.74	3.70	4.18	7.49	9.07	8.48	10.8	9.46	12.1
	P ₃	1.31	2.38	3.32	3.93	3.66	5.91	6.46	5.22	5.04	2.93	1.45
M2	P ₁	0.52	1.37	2.64	2.35	2.72	6.28	8.46	9.44	14.6	12.6	10.3
	P ₂	1.06	2.40	4.07	3.77	4.05	7.79	9.33	7.84	9.13	5.44	2.52
	P ₃	1.49	2.44	3.61	3.91	3.90	6.42	6.32	4.74	4.80	2.80	1.33
M3	P ₁	0.81	1.54	2.54	2.39	2.87	6.82	8.78	10.1	16.7	4.30	12.2
	P ₂	1.69	2.17	3.12	3.47	4.12	7.60	8.97	9.03	15.1	15.1	13.8
	P ₃	1.57	2.17	3.18	3.74	4.27	7.53	8.51	8.15	13.2	11.7	9.47
	P ₄	6.78	6.71	8.01	8.20	8.34	13.6	12.7	11.2	17.3	16.2	14.1
	P ₅	2.30	2.77	3.60	4.04	4.38	7.72	9.08	9.01	14.5	13.4	10.6
	P ₆	1.08	3.19	5.75	5.15	5.94	14.4	19.6	21.1	22.8	21.2	14.0
M4	P ₁	1.11	2.14	3.33	2.92	3.42	7.98	10.5	11.6	18.1	16.2	13.2
	P ₂	1.21	2.30	3.17	3.36	3.97	7.71	9.91	9.99	15.4	13.2	10.7
	P ₃	1.81	3.01	3.70	3.82	4.08	6.63	7.77	7.11	8.77	5.78	3.54
	P ₄	1.66	2.64	3.39	3.50	3.83	7.25	8.60	8.94	14.1	13.2	13.9
	P ₅	1.66	2.63	3.19	3.52	3.82	6.94	8.78	8.81	13.6	12.8	14.0
	P ₆	1.21	2.63	3.35	3.71	4.05	6.82	9.43	9.78	15.4	13.9	14.9
M5	P ₁	1.13	3.57	6.43	6.29	7.24	17.9	23.9	16.5	21.4	12.8	6.83
	P ₂	1.61	3.19	4.39	4.79	5.05	7.93	9.47	8.34	10.7	8.15	6.13
	P ₃	1.47	3.22	4.28	4.73	5.23	8.35	9.49	8.47	11.7	9.17	7.53
	P ₄	2.04	3.28	4.14	4.63	5.08	9.03	10.4	9.59	13.1	11.4	10.8
	P ₅	1.16	2.42	3.52	3.77	4.44	10.3	10.3	8.76	12.3	11.6	11.8
	P ₆	1.72	3.21	4.90	4.90	5.80	12.4	14.1	13.4	18.8	17.3	15.4
M6	P ₁	1.16	2.04	3.34	3.41	4.07	9.59	10.7	9.59	13.1	9.84	6.70
	P ₂	1.72	2.22	3.21	3.47	4.06	8.64	10.2	10.4	16.3	14.6	11.3
	P ₃	1.95	2.71	3.45	3.70	4.26	8.28	9.10	8.46	13.5	14.2	14.0
	P ₄	2.00	2.50	3.17	3.70	4.16	8.10	8.82	8.04	13.2	14.0	14.0
	P ₅	1.80	2.77	3.49	3.48	4.06	9.74	9.60	8.74	13.3	13.4	13.7
	P ₆	2.27	2.71	3.63	3.80	4.39	8.80	9.33	8.80	15.0	16.1	15.5

A continuación, a modo ilustrativo, en la **figura 6.13** se muestra uno de los cromatogramas obtenido para la muestra M₃ P₁.

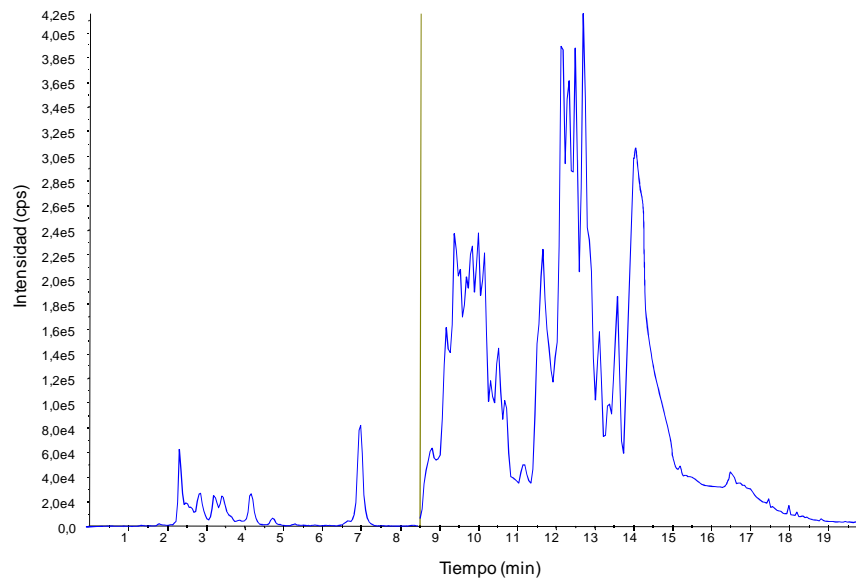


Figura 6.13. Cromatograma TIC obtenido para el análisis multi-residuo de surfactantes en la muestra de sedimento del Río Monachil M₃ P₁

En la **tabla 6.31** se muestran los valores medidos de pH, temperatura, conductividad y flujo, para cada una de las muestras tomadas. El caudal sólo se midió en 2 muestras.

Tabla 6.31. Parámetros del Río Monachil

Estación del año	Código de Muestra		pH	T (°C)	Conductividad ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) 20 °C	Caudal ($\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$)
Verano 2008	M ₁	P ₂	7.2	9.2	101.2	
		P ₃	7.8	10.5	115.4	
Invierno 2009	M ₂	P ₁	6.4	7.5	95.7	
		P ₂	6.8	6.4	100.1	
		P ₃	7.6	5.7	128.3	
Primavera 2009	M ₃	P ₁	7.4	9.5	93.0	
		P ₂	6.8	8.3	105.1	
		P ₃	6.7	8.7	140.0	
		P ₄	6.8	9.6	144.0	
		P ₅	6.7	10.1	149.0	
		P ₆	7.0	9.7	168.2	
Otoño 2009	M ₄	P ₁	7.5	9.3	233.0	
		P ₂	7.3	9.1	262.0	
		P ₃	6.9	9.7	283.0	
		P ₄	7.0	11.8	388.0	
		P ₅	7.1	11.7	406.0	
		P ₆	7.5	13.0	520.0	
Primavera 2010	M ₅	P ₁	7.2	9.9	93.4	
		P ₂	7.7	8.4	109.1	
		P ₃	7.9	8.4	136.4	1151.2
		P ₄	7.9	6.8	148.5	
		P ₅	7.6	6.8	150.3	758.6
		P ₆	7.8	6.6	160.3	
Verano 2010	M ₆	P ₁	7.1	12.1	86.7	
		P ₂	7.3	10.8	90.1	
		P ₃	7.4	10.4	118.9	
		P ₄	7.6	9.4	131.6	
		P ₅	7.4	10.1	132.8	
		P ₆	8.1	10.7	162.0	

3.5. Discusión

De los resultados obtenidos, se concluye que:

- Se demuestra la presencia de tensioactivos en los sedimentos del Río Monachil. Aunque, las concentraciones encontradas fueron bastante bajas, oscilando en el rango de 0.09 a 1506 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, todas las muestras presentaron contaminación por alguno de los surfactantes estudiados. En la **tabla 6.32** se muestran las concentraciones totales para cada familia de surfactantes. Se observa, como cabía esperar, que la muestra más contaminada en cada muestreo fue la tomada en la parte superior del río (P_1), justo al lado de la boca del emisario de la EDAR. Se puede decir que la tendencia fue a ir disminuyendo la concentración encontrada al descender a lo largo del río, siendo el LAS el que mejor comportamiento mostraba, presentando una gran degradación.
- Las concentraciones encontradas para los homólogos del LAS oscilaron entre 16 y 1506 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. En general, los homólogos de cadena más larga, C_{12} y C_{13} se encontraban a mayor concentración que los de cadena más corta, C_{10} y C_{11} .
- En todas las muestras estudiadas del Río Monachil se encontraron los 4 homólogos de AS, fluctuando su concentración entre 21 y 226.2 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. En general, para el homólogo más pesado AS C_{18} se obtuvieron las concentraciones más bajas.
- Se encontraron AES de las cuatro series homólogas estudiadas, C_{12} , C_{14} , C_{16} y C_{18} ; en el rango de concentraciones para sus etoxímeros de 0.09 a 115.8 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, aunque se observó que los homólogos más

habituales eran los de cadena corta, C_{12} y C_{14} . Al seguir aumentando en la serie homóloga, disminuía el número de muestras donde se encontraba, así como su concentración. Respecto a los etoxímeros correspondientes a cada homólogo, en general, se observó que al aumentar el número de unidades etoxiladas disminuía la concentración, encontrándose a mayor concentración los etoxímeros más pequeños.

- Se encontraron AEO de las dos series homólogas estudiadas, C_{16} y C_{18} , en el rango de concentraciones para sus etoxímeros de 0.18 a 23.9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Los etoxímeros del homólogo C_{18} se encontraron a una mayor concentración que los de C_{16} . En general, para las dos series homólogas, se observó que la concentración aumentaba al aumentar el número de unidades etoxiladas del alcohol.
- No se pudo establecer relación alguna entre la conductividad del agua, la temperatura, el pH y la concentración encontrada, debido a que la cantidad de compuesto dependía de variables no controladas.

Tabla 6.32. Concentraciones para cada familia de surfactantes

Código	Concentración para cada familia de surfactantes ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)					
	LAS	AS	AES	AEO	Total	
M₁	P₂	76	41	23	113	252
	P₃	24	22	12	71	130
M₂	P₁	1006	340	92	109	1547
	P₂	100	84	23	95	303
	P₃	94	51	23	67	236
M₃	P₁	359	140	56	127	682
	P₂	177	39	39	129	384
	P₃	95	40	26	113	274
	P₄	91	70	42	201	403
	P₅	33	48	35	129	244
	P₆	34	48	33	241	355
M₄	P₁	632	83	60	139	915
	P₂	233	69	40	123	465
	P₃	154	57	45	87	342
	P₄	222	96	79	124	520
	P₅	108	68	51	124	351
	P₆	109	76	39	135	359
M₅	P₁	4644	657	415	154	5869
	P₂	269	97	74	112	552
	P₃	277	79	78	110	544
	P₄	120	57	34	128	339
	P₅	86	36	33	133	287
	P₆	105	173	51	177	506
M₆	P₁	2838	264	74	103	3279
	P₂	199	107	40	139	486
	P₃	61	58	39	125	282
	P₄	65	45	36	122	268
	P₅	0	47	38	128	213
	P₆	0	51	47	136	234

4. CONCLUSIONES

En el estudio realizado, se demuestra la presencia de los tensioactivos seleccionados en los tres ambientes estudiados, Costa de Tenerife, Costa de Andalucía y Río Monachil. Aunque, las concentraciones encontradas fueron bastante bajas en todos los casos, oscilando en el rango de 0.02 a 1506 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, todas las muestras se encontraron contaminadas con alguno de los surfactantes estudiados. Esto puede ser debido a que todas las muestras se tomaron en las cercanías de los emisarios de EDAR, zonas con alto riesgo de contaminación.

Al tomarse las muestras justo en la zona de descarga del emisario, las concentraciones encontradas corresponden prácticamente, con el primer punto de la cinética de degradación de estos compuestos, una vez que son aportados a los sedimentos. En el caso del Río Monachil, donde se realizó un seguimiento a lo largo del río, se observó que la concentración total de tensioactivos disminuía bastante según se descendía en el río, siendo el LAS el que mejor comportamiento presentaba, mostrando una gran degradación.

En las muestras del Río Monachil fue donde se encontraron las mayores concentraciones de surfactantes (0.09 - 1506 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) seguidas de las de Tenerife (0.09 - 1136 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) y por último las de la Costa de Andalucía (0.02 - 620 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).

De forma general, en el caso del LAS, se observó que la concentración encontrada aumentaba al aumentar la longitud del homólogo. Para Los homólogos de AS, en los tres casos se observó un comportamiento

contrario al LAS, la concentración encontrada aumentaba al disminuir la longitud de la cadena hidrocarbonada.

Los AES se encontraron, de forma general, a mayor concentración conforme disminuía la longitud de la cadena hidrocarbonada y el número de unidades etoxiladas. Por último, para las dos series homólogas estudiadas de AEO, los etoxímeros del homólogo C₁₈ se encontraron a una mayor concentración que los del C₁₆. En general, para las dos series homólogas, se observó que la concentración aumentaba al aumentar el número de unidades etoxiladas del alcohol.

CAPÍTULO VII

Aplicación del Método a Suelos Agrícolas. Modelización en el Laboratorio

En este capítulo se aborda el estudio de dos de las familias de los tensioactivos seleccionados, LAS y AS, sobre un suelo agrícola, con objeto de conocer su comportamiento en dicho ambiente natural y establecer los correspondientes modelos. Con esta finalidad se planteó el siguiente esquema general de trabajo:

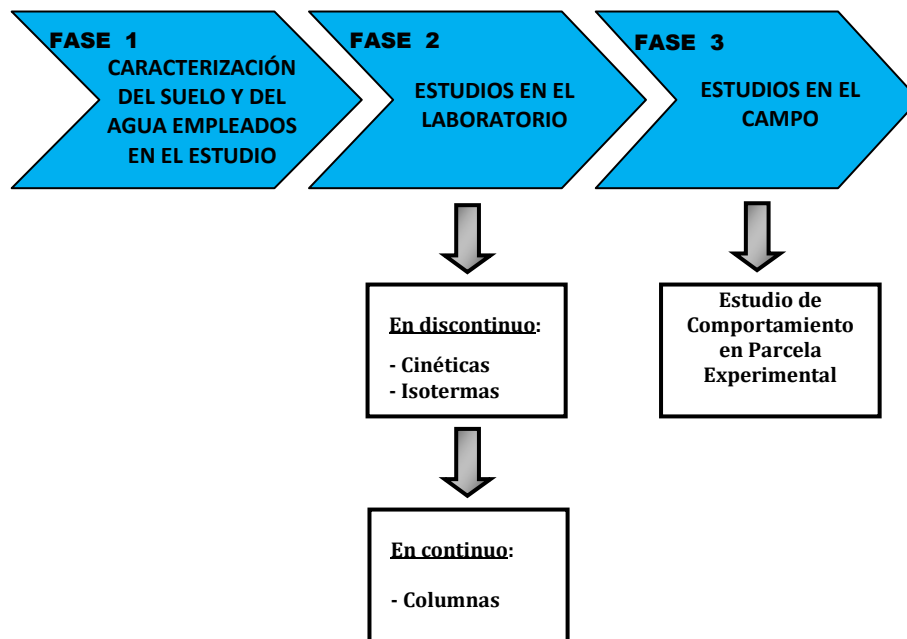


Figura 7.1. Esquema general para el estudio del comportamiento de un compuesto en el suelo y modelización

En el presente capítulo se aborda la caracterización de las distintas matrices y los estudios a escala de laboratorio (fase 1 y fase 2), y el siguiente capítulo los correspondientes a la fase de campo (fase 3).

En primer lugar, se realiza una pequeña introducción donde se exponen los aspectos teóricos relativos a la modelización del comportamiento de un compuesto. A continuación, se muestran los experimentos preliminares que se llevaron a cabo para caracterizar físico-

químicamente las matrices involucradas (suelo agrícola y agua de pozo). Posteriormente, se realizaron los distintos ensayos de laboratorio a fin de dilucidar los distintos fenómenos que integran el comportamiento de los tensioactivos en suelo. Los ensayos de laboratorio se realizaron tanto en forma discontinua (en tanque - *batch*) como en flujo continuo, utilizando para ello columnas rellenas de suelo. En estos estudios se utilizó la metodología analítica anteriormente desarrollada. Finalmente se discuten los modelos obtenidos en los estudios de laboratorio y se alcanzan las conclusiones oportunas.

1. MODELIZACIÓN DEL COMPORTAMIENTO DE UN COMPUESTO EN EL SUELO. ASPECTOS TEÓRICOS

Conocer el comportamiento de un compuesto en el medioambiente es importante para determinar su impacto. En la **figura 7.2**, se indican los distintos fenómenos¹⁴²⁻¹⁴⁴ que pueden integrar el comportamiento de una sustancia en las distintas capas del suelo hasta el nivel freático.

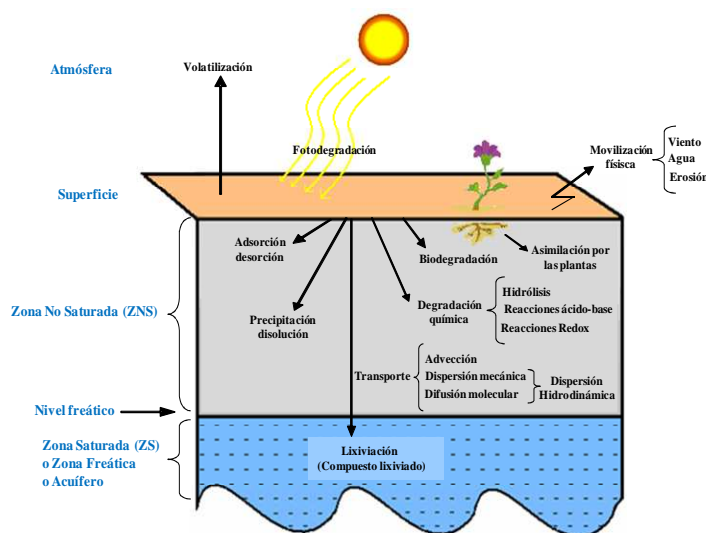


Figura 7.2. Representación de los distintos fenómenos que integran el comportamiento de un compuesto en el suelo

La modelización permite integrar estos fenómenos para entender de forma global y predecir el comportamiento de un compuesto, relacionando

¹⁴² M. Flury. *Experimental evidence of transport of pesticides through field soils. A review.* J. Environ. Qual. 25; 25-45, 1996.

¹⁴³ J.B. Weber, C.T. Miller. *Organic Chemical Movement over and through soil, in reactions and movement of organic chemicals in soil.* Ed. B.L. Sawheney and K. Brown. Soil Science Society of America. p. 305. Madison, WI, 1989.

¹⁴⁴ Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. *Contaminación de suelos por compuestos orgánicos. Informe final.* Centro de documentación ambiental, documentos técnicos, suelo y subsuelo, enero 2003.

fenómenos que a simple vista puedan parecer independientes. La contribución de cada uno de los fenómenos al comportamiento en el suelo varía en función del compuesto. Normalmente, en el caso de los tensioactivos los fenómenos más relevantes e influyentes son:

- Adsorción/desorción.
- Precipitación/disolución.
- Transporte (advección, dispersión mecánica, difusión molecular).
- Biodegradación.

El fenómeno de adsorción/desorción constituye uno de los procesos más importantes ya que es capaz de influir sobre los demás fenómenos. A continuación, se describen algunos aspectos generales relacionados con este fenómeno.

1.1. Adsorción

La adsorción es el proceso por el que una determinada especie química (adsorbida o adsorbato) presente en una fase fluida en contacto con una fase condensada líquida o sólida (adsorbente), se concentra en la superficie de separación de ambas fases (interfase). Se suelen distinguir dos tipos¹⁴⁵ de adsorción:

- Adsorción física o fisorción.

¹⁴⁵ D.M. Ruthven. *Principles of adsorption and desorption processes*. Ed. John Wiley & Sons. p. 433. New York, USA, 1984.

- Adsorción química o quimisorción.

La distribución de un soluto entre una fase sólida y otra líquida está controlada por varios factores, entre los que se pueden citar como más importantes:

- Las propiedades del adsorbato.
- Las propiedades del adsorbente (suelo).
- Las condiciones del medio.

1.1.1. Propiedades del adsorbato

Las principales propiedades del adsorbato que pueden participar en el proceso de adsorción son la estructura electrónica de la molécula, la facilidad para ionizarse, el volumen molecular y la solubilidad de la molécula en agua.

- ⇒ La estructura condiciona la naturaleza de los enlaces que se establecen con la superficie de las partículas del suelo. Así, se puede distinguir entre moléculas con estructura iónica y moléculas con estructura covalente polar y no polar. Las primeras, se fijan mediante mecanismos de intercambio catiónico o por interacciones multipolares con la superficie del sólido. En el caso de moléculas neutras, las uniones tienen lugar por puentes de hidrógeno.
- ⇒ Ionización de las moléculas: algunas moléculas orgánicas se pueden disociar completamente dando lugar a aniones con carácter de ácido fuerte, o cationes con carácter de base fuerte. Estos iones pueden ser fijados con uniones muy energéticas, como los enlaces iónicos.

⇒ Volumen molecular: el tamaño de la molécula puede llegar a ser el factor limitante de la adsorción, al permitir o impedir su acceso a los poros del material adsorbente.

⇒ La solubilidad de la molécula en agua.

1.1.2. Propiedades del adsorbente

Las propiedades del suelo son complementarias de las del adsorbato y pueden influir notablemente en la velocidad y la capacidad de adsorción del mismo. Toda la superficie del suelo puede actuar como adsorbente; sin embargo, el tamaño de las partículas del suelo, la superficie específica, etc., son propiedades que tienen una influencia considerable en los procesos de adsorción. A este respecto, las características más importantes del suelo son el contenido en arcillas, materia orgánica y óxidos e hidróxidos^{146,147}.

⇒ Arcillas. Las características principales de las arcillas son su tamaño reducido de partícula, la presencia de carga en su superficie y su gran capacidad de intercambio de iones, lo cual le otorga propiedades físico-químicas muy particulares, con una decisiva influencia en el proceso de adsorción. La presencia de cargas produce la atracción de sustancias presentes en la solución en contacto con las partículas arcillosas. Estos minerales presentan cargas con dos orígenes diferentes: *permanentes* y *dependientes del pH*. Las cargas permanentes, constantes o estructurales, se generan por sustituciones isomórficas en las estructuras cristalinas, generalmente negativas, debido al reemplazo de átomos de la estructura por otros

¹⁴⁶ C.A.J. Appelo, D. Postma. *Geochemistry, groundwater and pollution*. Ed. A. A. Balkema. p. 536. Rotterdam, Netherlands, 1993.

¹⁴⁷ D. Langmuir. *Aqueous environmental geochemistry*. Ed. Prentice Hall, Coop. p. 600. New Jersey, USA, 1997.

de menor valencia (magnesio por aluminio, aluminio por silicio). Estas cargas resultan independientes del entorno del mineral. En los bordes, sin embargo, aparecen cargas variables que dependen del pH del medio y que se generan por la disociación de grupos superficiales. Estas cargas sólo se encuentran neutralizadas en un determinado valor del pH, denominado pzc (punto de carga cero o isoelectrico = *point of zero charge*), que depende del tipo de enlace químico. Cuando el pH se eleva por encima del pzc, en un medio más alcalinizado, la superficie adquiere carga negativa ($\text{pH} > \text{pzc}$), mientras que al descender por debajo del pzc, en un medio más ácido, se vuelve positiva. Esto no implica que el valor de pzc sea neutro, sino que depende del grupo funcional involucrado y puede ser ácido o alcalino^{146,147}.

En consecuencia, la capacidad de intercambio está relacionada con el pH del medio. En minerales de tipo montmorillonítico, las sustituciones isomórficas generan cargas permanentes negativas, mientras que, en otro tipo de arcillas, el pH del medio conduce al desarrollo de cargas en la superficie, que pueden ser negativas ($\text{pH} > \text{pzc}$), positivas ($\text{pH} < \text{pzc}$) o neutras ($\text{pH} = \text{pzc}$). Las cargas presentes definirán el tipo de iones que se adsorberán sobre la superficie. Cuando prevalecen superficies cargadas negativamente, son los cationes los que tenderán a acercarse a ellas. Se forman así los cationes intercambiables. Los cationes orgánicos, que son atraídos sobre la superficie por fuerzas electrostáticas y también por fuerzas de Van Der Waals, son capaces de desplazar a los cationes inorgánicos que se encuentren en el sistema^{146,147}.

⇒ En la materia orgánica del suelo están representados compuestos húmicos y no húmicos. Estos últimos están constituidos por residuos vegetales en vía de descomposición y comprenden productos de

peso molecular muy variable y de naturaleza química bien definida; proteínas, aminoácidos, lípidos y ácidos. Los compuestos húmicos, por su parte, están constituidos por ácidos húmicos, ácidos fúlvicos y humina y todos poseen como grupos funcionales el carboxilo, el alcohol y el fenol. Las funciones ácido permiten que las moléculas orgánicas puedan ser adsorbidas por interacciones iónicas o por uniones catión-dipolo.

⇒ Los óxidos e hidróxidos libres de hierro y aluminio pueden presentar cargas positivas, debidas a los agrupamientos del tipo Al(OH)_x^+ y Fe(OH)_x^+ , que dan lugar a la adsorción de los aniones. Los hidróxidos de aluminio suelen recubrir las superficies de la arcilla.

1.1.3. Condiciones del medio

Entre las condiciones del medio que pueden alterar el fenómeno de adsorción, se encuentran la temperatura, la composición de la fase líquida en contacto con el adsorbente y el pH.

⇒ La temperatura. Tiene una influencia muy variable que depende de la naturaleza de los materiales adsorbentes y de los adsorbatos.

⇒ La composición de la fase líquida. Es uno de los factores de mayor importancia. Puede disminuir la superficie accesible a las moléculas de soluto, establecer puentes de agua entre el adsorbente y el adsorbato o competir con éste por los lugares de adsorción.

⇒ El pH. Su influencia depende a la vez de la naturaleza del adsorbato y del adsorbente. En la **figura 7.3** se observan distintos efectos que el pH produce en la cantidad adsorbida:

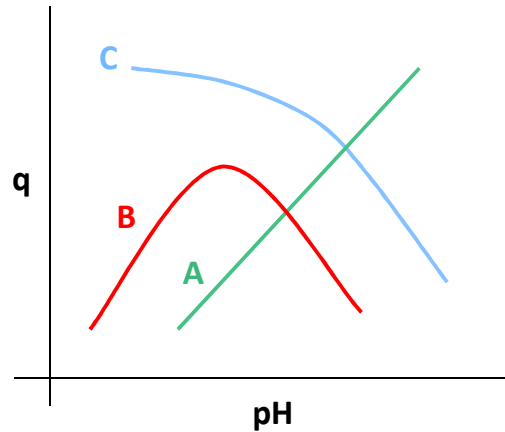


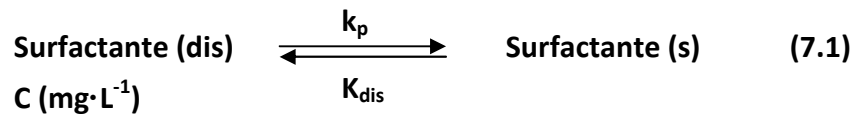
Figura 7.3. Variación de la adsorción con el pH del medio
(*q* expresa la masa de soluto adsorbida por masa de suelo)

En algunos casos, la adsorción presenta un valor máximo (curva **B**) a un valor de pH generalmente próximo al del pK_a de la molécula adsorbida. Las curvas del tipo **A** se presentan generalmente en el caso de que la adsorción de adsorbato con carácter de base débil tenga lugar sobre moléculas neutras, mientras las curvas del tipo **B** y **C** aparecen en tres circunstancias:

- 1)** Adsorción de moléculas con carácter de base débil sobre adsorbentes con carga eléctrica negativa.
- 2)** Adsorción de moléculas con carácter de ácido débil sobre adsorbentes con carga eléctrica positiva.
- 3)** Adsorción de moléculas neutras sobre arcillas.

1.2. Precipitación

El fenómeno de precipitación es una reacción química por la que se produce un depósito de materia sólida (precipitado) a partir de una disolución. El proceso sencillo de precipitación/disolución para un surfactante se puede representar mediante la siguiente ecuación:



En nuestro caso, al considerar la precipitación como un fenómeno de retención del surfactante por parte del suelo, para la **ecuación 7.1** se puede escribir la siguiente ley cinética¹⁴⁸:

$$\frac{dC}{dt} = -k_p \cdot C^m + k_{\text{dis}} \cdot q \quad (7.2)$$

donde $C \text{ (mg}\cdot\text{L}^{-1})$ es la concentración de surfactante en la fase líquida, k_p representa la constante cinética de precipitación, k_{dis} es la constante cinética de disolución, m el orden aparente respecto a la concentración y q es la cantidad de tensioactivo precipitada por unidad de masa de suelo ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). En el equilibrio la variación de C será cero, pudiéndose escribir la siguiente ecuación:

$$k_p \cdot C_e^m = k_{\text{dis}} \cdot q_e \quad (7.3)$$

donde el subíndice e indica que se trata de concentración en el equilibrio. Operando sobre la **ecuación 7.3** se obtienen las siguientes ecuaciones:

¹⁴⁸ R.A. Alvarez-Puebla, C. Valenzuela-Calahorra, J.J. Garrido. *Modeling the adsorption and precipitation processes of Cu (II) on humin*. J. Colloid Interf. Sci. 277; 55-61, 2004.

$$A = \frac{k_p}{k_{dis}} \quad (7.4)$$

$$q_e = A \cdot C_e^m \quad (7.5)$$

La **ecuación 7.5** relaciona la cantidad de surfactante precipitada por kilogramo de suelo con la concentración de tensioactivo en la fase líquida, en el equilibrio.

1.3. Cinética de adsorción/desorción

El proceso de adsorción puede considerarse constituido por un conjunto de etapas, generalmente sucesivas, aunque algunas de ellas pueden tener lugar simultáneamente. Estas etapas pueden ser un número diferente según la porosidad del adsorbente. Aunque los poros del suelo se encuentran en un rango continuo de tamaño, se suelen dividir en dos tipos, macro-poros y micro-poros¹⁴⁹. Los primeros son de gran tamaño y están generalmente llenos de aire, atravesándolos el agua de forma rápida gracias a la fuerza de la gravedad. Los segundos, en cambio, están ocupados en gran parte por agua retenida por fuerzas capilares.

Las estas etapas del proceso de adsorción son:

- 1) Transporte global del soluto.
- 2) Transferencia de masa externa (macro-transporte). El soluto se transfiere desde la masa global hasta los centros activos de la

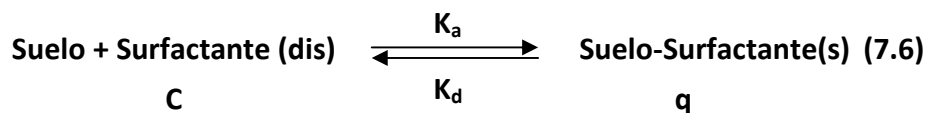
¹⁴⁹ C. Donoso Zegers. *Ecología Forestal: El bosque y su medioambiente*. Universidad Austral de Chile. Editorial Universitaria. P. 369. Santiago, Chile, 1992.

superficie del adsorbente. Como superficie del adsorbente se consideran los macro-poros.

- 3) Difusión interna (micro-transporte). Hace referencia a la difusión de las moléculas del soluto a través de los macro-poros del adsorbente hasta alcanzar los centros activos de adsorción que se encuentran en los micro-poros (suele ser la etapa controlante).
- 4) Adsorción en los centros activos que posea el adsorbente, tanto en los macro-poros, como en los microporos.

Alguna de las etapas mencionadas pueden ser, comparativamente, más lentas que las otras, por lo que ejercen de etapa controladora del proceso de adsorción. Así, si existe una importante resistencia a la transferencia de materia en la fase fluida dentro o fuera de los poros, las etapas que ejercen el control son las difusionales, mientras que, si la adsorción sobre la superficie no es suficientemente rápida, la etapa de adsorción constituye el principal control del proceso.

El estudio de la cinética de adsorción/desorción es importante porque permite conocer mejor el mecanismo de la adsorción. El proceso reversible de adsorción/desorción se puede representar mediante la **ecuación 7.6**:



Lagergren¹⁵⁰ propuso en 1898 el modelo de pseudo primer orden que viene dado por la **ecuación 7.7**. Se trata de una ecuación cinética de

¹⁵⁰ S. Lagergren, B.K. Svenska. *Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe*. Vetenskapsakad Handlingar 24 (4); 1-39, 1898.

velocidad para la adsorción en sistemas líquido-sólido, obtenida a partir de la capacidad de adsorción del sólido. Es una de las ecuaciones de velocidad más usadas para la adsorción de un soluto en una solución acuosa.

$$\frac{dq}{dt} = k_a (q_e - q) \quad (7.7)$$

donde q y q_e ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) son las capacidades de adsorción de la fase sólida a un tiempo t (h) y en el equilibrio, respectivamente. k_a (h^{-1}) es la constante cinética de pseudo primer orden para el proceso de adsorción. Para distinguir las ecuaciones cinéticas basadas en capacidades de adsorción de las basadas en concentraciones en la fase líquida, la ecuación de Lagergren, **ecuación 7.7**, de primer orden, se le llama de pseudo primer orden¹⁵¹.

Integrando la **ecuación 7.7** entre las condiciones frontera $q = 0$ a $t = 0$ y $q = q$ a $t = t$, se obtiene:

$$q = q_e (1 - e^{-k_a t}) \quad (7.8)$$

Y en el caso de que ocurran dos procesos de adsorción con distinta velocidad, las cinéticas experimentales se ajustan a la siguiente ecuación cinética de pseudo primer orden múltiple:

$$q = q_{e,1} (1 - e^{-K_{a,1}t}) + q_{e,2} (1 - e^{-K_{a,2}t}) \quad (7.9)$$

o escrita de otra forma,

$$q = \sum_{i=1}^{i=2} q_{e,i} (1 - e^{-K_{a,i}t}) \quad (7.10)$$

¹⁵¹ Y.S. Ho, G. McKay. *A comparison of chemisorptions kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents*. Process Safety and Environmental Protection 76 (4); 332-340, 1998a.

donde $k_{a,1}$ y $k_{a,2}$ son las constantes de velocidad para cada proceso de adsorción, y $q_{e,1}$ y $q_{e,2}$ son las correspondientes capacidades de retención en el equilibrio.

Para el proceso de desorción el modelo cinético de pseudo primer orden se puede escribir de la siguiente forma:

$$\frac{dq}{dt} = -k_d(q - q_e) \quad (7.11)$$

donde, k_d (h^{-1}) es la constante de velocidad de pseudo primer orden para el proceso de desorción. Integrando la **ecuación 7.11** entre las condiciones frontera de $q = q_i$ a $t = 0$ y $q = q$ a $t = t$, donde q_i es la cantidad inicial adsorbida, y realizando el cambio de variable $q = q_i - q^*$, donde q^* es la cantidad desorbida, de forma similar a la anterior conduce al siguiente resultado:

$$q^* = \left(\sum_{i=1}^{i=2} q_{e,i}^* (1 - e^{-k_{d,i}t}) \right) \quad (7.12)$$

donde $k_{d,1}$ y $k_{d,2}$ son las constantes de velocidad para los procesos de desorción, y $q_{e,1}^*$ y $q_{e,2}^*$ son las cantidades desorbidas en el equilibrio para cada uno de los dos procesos.

1.4. Equilibrio de adsorción

El equilibrio de adsorción a una temperatura dada está determinado por las isothermas de adsorción, que describen la relación entre la cantidad de sustancia que es adsorbida por la fase sólida del suelo y la cantidad que está en la disolución en equilibrio. Estas isothermas se obtienen mediante técnicas experimentales en discontinuo, denominadas "batch", en una

suspensión agitada en continuo. Esta sería representada adecuadamente mediante un modelo físico constituido por un sistema de partículas de suelo completamente disperso en la fase líquida, donde toda la superficie de las partículas está disponible para la interacción con los solutos.

En la adsorción pueden influir numerosos factores, aparte de la naturaleza del suelo y de la temperatura, como son el tiempo de contacto suelo-disolución, el método de agitación, la relación suelo/disolución, la naturaleza y concentración del electrolito inerte, la actividad microbiana y el contenido en humedad del suelo, entre otros. La forma de las curvas de equilibrio de adsorción es muy variada. Giles y col.¹⁵² demostraron que estas curvas contienen información sobre el mecanismo de adsorción y, establecieron una clasificación en cuatro tipos en función de su forma. En la **figura 7.4** se muestra la forma de las distintas curvas.

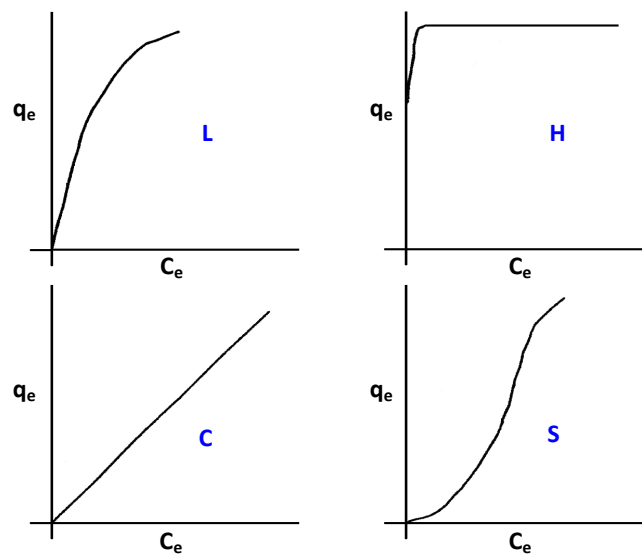


Figura 7.4. Clasificación de las curvas de las isothermas de adsorción

¹⁵² C.H. Giles, T.H. MacEwan, S.N. Nakhwa, D. Smith. *Studies in adsorption. Part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms and its use in diagnosis of adsorption mechanism and in measurement of specific surface areas of solids.* J. Chem. Soc. 111; 3973- 3993, 1960.

- ⇒ Tipo L o de Langmuir. Típica de una adsorción fuerte no competitiva, la adsorción decrece al disminuir el número de lugares de adsorción disponibles en la superficie del adsorbente. Es la más habitual.
- ⇒ Tipo H o de alta afinidad. Se puede considerar un caso especial del caso anterior. Este tipo de isoterma indica que el adsorbato tiene alta afinidad por el adsorbente, que en disolución es casi completamente adsorbido. Por lo tanto, la parte inicial de la isoterma es vertical.
- ⇒ Tipo C. Tiene una forma lineal, lo que indica un reparto constante del adsorbato entre disolución y adsorbente. Es decir, al mismo tiempo que el soluto es adsorbido, se crean nuevos lugares de adsorción.
- ⇒ Tipo S. Típica de una adsorción competitiva. La cantidad adsorbida aumenta a aumentar la concentración del adsorbato en la fase líquida, debido principalmente a fuerzas de enlace intermolecular.

La adsorción ha sido descrita por varios modelos, que involucran ecuaciones de adsorción de la forma:

$$q_e = f(C_e) \quad (7.13)$$

donde q_e es la concentración adsorbida en el equilibrio ($\text{mg adsorbato} \cdot \text{kg}^{-1}$ de adsorbente) y C_e la concentración de equilibrio en la fase líquida ($\text{mg de adsorbato} \cdot \text{L}^{-1}$ de disolución).

A continuación, se muestran diferentes modelos existentes para describir los datos de equilibrio.

1.4.1. Isotherma lineal

En este modelo existe una relación lineal y directa entre la cantidad de soluto adsorbida y su concentración en equilibrio. Se describe con la ecuación:

$$q_e = K C_e \quad (7.14)$$

donde K es la constante de adsorción ($L \cdot mg^{-1}$).

1.4.2. Isotherma de Langmuir

Desarrollada por Langmuir en 1916¹⁵³, **ecuación 7.15**, para describir la adsorción de los gases sobre superficies sólidas planas. Posteriormente, dicha isoterma se ha utilizado para la descripción de la adsorción de solutos en el suelo. Harter y Baker¹⁵⁴ discutieron con detalle la historia del desarrollo de la ecuación.

$$\theta = \frac{q_e}{q_{max}} = \frac{K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (7.15)$$

donde, θ es el recubrimiento de la superficie, q_e la cantidad de adsorbato retenida por el adsorbente ($mg \cdot Kg^{-1}$) en equilibrio con la concentración de adsorbato en la fase líquida C_e ($mg \cdot L^{-1}$), q_{max} la capacidad de saturación del adsorbente ($mg \cdot Kg^{-1}$) y K_L la constante de Langmuir ($L \cdot mg^{-1}$).

La isoterma de Langmuir presupone las siguientes aproximaciones:

¹⁵³ I. Langmuir. *The constitution and fundamental properties of solids and liquids*. J. Am. Chem. Soc. 38; 2221-2295, 1916.

¹⁵⁴ R.D. Harter, D.E. Baker. *Applications and misapplications of the Langmuir equation to soil adsorption phenomena*. Soi Sci. Soc. Am. J 4; 1077-1080, 1977.

- 1) La disolución es ideal.
- 2) Las moléculas de adsorbato se retienen en centros de adsorción definidos y localizados sobre una superficie homogénea.
- 3) No existe transmigración del adsorbato.
- 4) La velocidad de adsorción es la misma que la de desorción.
- 5) Cada centro de adsorción puede retener una sola molécula de adsorbato (adsorción monomolecular).
- 6) La adsorción máxima corresponde a una monocapa saturada de moléculas del adsorbato sobre la superficie del adsorbente.
- 7) Toda la adsorción se produce bajo un mismo mecanismo, siendo la energía de adsorción constante a lo largo del proceso, lo que implica que cada molécula de adsorbato se comporta como si estuviese aislada (no hay interacción adsorbato-adsorbato).

Estas condiciones normalmente no se dan en la práctica. Sin embargo, en muchos casos, a bajas y moderadas concentraciones la isoterma de Langmuir resulta un modelo teórico satisfactorio¹⁵⁵. El modelo de Langmuir se ha utilizado en numerosos estudios sobre adsorción de tensioactivos: Malik y col.¹⁵⁶, Tadros¹⁵⁷, Clementz y Robbins¹⁵⁸, Trogus y col.¹⁵⁹, Dobias^{160,161} y Purakayastha y col.¹⁶².

¹⁵⁵ D.M. Ruthven. *Principles of adsorption and adsorption processes*. Wiley, New York, 1984.

¹⁵⁶ W.U. Malik, S.K. Srivastava, D. Gupta. *Studies on the interaction of cationic surfactants with clay minerals*. Clay Miner. 9; 369-382, 1972.

¹⁵⁷ Th.F. Tadros. *The interaction of cetyltrimethylammonium bromide and sodium dodecylbenzene sulfonate with polyvinyl alcohol. Adsorption of the polymer-surfactant complexes on silica*. J. Colloid Interface Sci. 46; 528-540, 1974.

1.4.3. Isotherma de Freundlich

Otro tipo de modelo muy usado es la isoterma de Freundlich, **ecuación 7.16**. Según McBain¹⁶³ esa ecuación empírica fue propuesta por Bemmelen¹⁶⁴ en 1888 y a su difusión y amplia utilización contribuyeron investigadores tales como Boedecker¹⁶⁵ en 1895 y especialmente Freundlich¹⁶⁶ en 1926, quien consiguió popularizarla, razón por la cual en bibliografía se le denomina isoterma de Freundlich.

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (7.16)$$

donde K_F es la constante de Freundlich y n una constante. Aunque se han realizado varios intentos para justificar los parámetros de la isoterma, aún se consideran empíricos y solo pueden servir como aproximaciones a la hora de realizar comparaciones. K_F se suele usar como una estimación de la capacidad de adsorción y n puede ser usada para estimar la magnitud de la adsorción. $1/n$ refleja el grado de linealidad. Debido a su naturaleza exponencial, la isoterma de Freundlich asume una adsorción infinita.

El modelo de Freundlich presupone las siguientes aproximaciones:

-
- ¹⁵⁸ D.M. Clementz, J.L. Robbins. *Adsorption of dodecylbenzene sulfonate on NA(+)-montmorillonite: effect of salt impurities*. Soil Sci. Soc. Amer. J. 40; 663-665, 1976.
- ¹⁵⁹ F.J. Trogus, R.S. Schetcher, G.A. Pope, W.H. Wade. *Adsorption of mixed surfactant systems*. Soc. Pet. Eng. J. 17; 337-351, 1977.
- ¹⁶⁰ B. Dobias. *Adsorption and electrokinetic phenomena in the system solid - micellar solution of a surface-active substance*. Colloid Polym. Sci. 255; 682-690, 1977.
- ¹⁶¹ B. Dobias. *Adsorption kinetics of surface-active substances from micellar solutions on solid phase*. Colloid Polym. Sci. 256; 465-470, 1978.
- ¹⁶² P.D. Purakayastha, A. Pal, M. Bandyopadhyay. *Adsorption of anionic surfactant by a low-cost adsorbent*. J. Environ Sci. Health 35; 925-938, 2002.
- ¹⁶³ J.W. McBain. *The sorption of gases and vapours by solids*. London, 1932.
- ¹⁶⁴ J.M. Van Bemmelen. *Die Adsorptionverbindungen und das Adsorptionvermögen der Ackererde*. Die Landwirtschaftlichen Versuchs-Stationen 35; 69-136, 1888.
- ¹⁶⁵ C. Boedecker, J. Landw. vol.7, p.48, 1895.
- ¹⁶⁶ H. Freundlich. *Colloid and Capillary Chemistry*. Methuen, London, 1926.

- 1) Transporte global del soluto.
- 2) La adsorción produce una monocapa.
- 3) La superficie es heterogénea.
- 4) La energía de adsorción varía a lo largo del proceso.
- 5) Existen interacciones adsorbato-adsorbato.

Son numerosos los trabajos publicados en la literatura científica en los que se emplea la isoterma de Freundlich para describir la adsorción de algunos solutos, como los aniones fosfato¹⁶⁷ y sulfato¹⁶⁸, metales como el cadmio¹⁶⁹, pesticidas¹⁷⁰ y tensioactivos iónicos¹⁷¹.

¹⁶⁷ K.C. Cheung, T.H. Venkitachalam. *Improving phosphate removal of sand infiltration system using alkaline flyash*. Chemosphere 41; 243-249, 2000.

¹⁶⁸ E. Bonemisza, R. Llanos. *Sulfate movement adsorption and desorption in three Costa Rican soils*. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 31; 356-360, 1967.

¹⁶⁹ J.J. Street, W.L. Lindsay, B.R. Sabey. *Solubility and plant uptake of cadmium in soils amended with cadmium and sewage sludge*. J. Environ. Qual. 6; 72-77, 1977.

¹⁷⁰ K. Kibe, M. Takahashi, T. Kameya, K. Uranó. *Adsorption equilibrium of principal herbicides on paddy soil in Japan*. Sci. Tot. Environ. 263; 115-125, 2000.

¹⁷¹ M.S. Rodríguez-Cruz, M.J. Sanchez-Martin, M. Sanchez-Camazano. *A comparative study of adsorption of an anionic and a non-ionic surfactant by soils based on physicochemical and mineralogical properties of soils*. Chemosphere 61; 56-64, 2005.

1.4.4. Isotherma Cuadrática

Los modelos más simples de termodinámica estadística para la adsorción sugieren que la isoterma de equilibrio podría escribirse como el cociente de dos polinomios del mismo grado¹⁷²:

$$\theta = \frac{q_e}{q_{\max}} = \frac{b_1 C_e + 2b_2 C_e^2 + \dots + nb_n C_e^n}{1 + b_1 C_e + b_2 C_e^2 + \dots + b_n C_e^n} \quad (7.17)$$

donde b_n son cada uno de los coeficientes numéricos y n el grado del polinomio. La **ecuación 7.17** es una aproximación de Padé, conocida por ser capaz de imitar casi cualquier función matemática. Así, el significado físico de los coeficientes derivados de un ajuste de los datos experimentales a esta ecuación es dudoso, a menos que se utilicen pocos coeficientes y muchos datos experimentales.

La isoterma de Langmuir es la isoterma de primer orden. La isoterma de segundo orden, obtenida cuando $n = 2$ en la **ecuación 7.17**, es la llamada isoterma cuadrática, **ecuación 7.18**:

$$\theta = \frac{q_e}{q_{\max}} = \frac{b_1 C_e + 2b_2 C_e^2}{1 + b_1 C_e + b_2 C_e^2} \quad (7.18)$$

Este modelo considera que en la monocapa saturada hay dos moléculas adsorbidas por cada sitio o que en la bicapa saturada hay una molécula por cada sitio. Por esta razón, el límite de θ cuando $C_e \rightarrow \infty$ es $2q_{\max}$. Mientras que la isoterma de Langmuir es siempre convexa hacia arriba y no puede tener punto de inflexión alguno, la isoterma cuadrática puede tener hasta 3 puntos de inflexión que pueden ser visibles o no. Por lo tanto, este modelo se puede aplicar para describir las isothermas tipo S de

¹⁷² T.L. Hill. *Introduction to statistical thermodynamics*. Addison-Wesley, Reading, MA, 1960.

la clasificación de Giles, **figura 7.4**, cuando las interacciones adsorbato-adsorbato son considerables o cuando uno de los supuestos básicos del modelo de Langmuir no se cumple. Cuando $b_2 = 0$, la isoterma cuadrática equivale a la isoterma de Langmuir.

1.4.5. Isothermas multi-término

En la realidad, es difícil obtener se tienen superficies adsorbentes homogéneas. Normalmente se trata de superficies heterogéneas donde coexisten diferentes tipos de sitios activos que exhiben diferentes mecanismos de adsorción frente a un compuesto dado. En general, la adsorción sobre diferentes tipos de sitios no es cooperativa¹⁷³. En consecuencia, puede ser necesario el uso de isothermas multi-término para describir el comportamiento en el equilibrio, representando cada término la adsorción en un sitio dado. A continuación, se muestran algunas de las isothermas multi-término más empleadas:

¹⁷³ J.D. Andrade. *In surface and interfacial aspects of biomedical polymers*. Ed. Plenum Press. vol. 2. p 35. New York, 1985.

⇒ Bi-Langmuir^{174,175}

$$q_e = \frac{q_{\max,1} K_{L,1} C_e}{1 + K_{L,1} C_e} + \frac{q_{\max,2} K_{L,2} C_e}{1 + K_{L,2} C_e} \quad (7.19)$$

⇒ Langmuir + Precipitación¹⁷⁶

$$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} + A \cdot C_e^m \quad (7.20)$$

⇒ Bi-Langmuir + Precipitación¹⁷⁷

$$q_e = \frac{q_{\max,1} K_{L,1} C_e}{1 + K_{L,1} C_e} + \frac{q_{\max,2} K_{L,2} C_e}{1 + K_{L,2} C_e} + A \cdot C_e^m \quad (7.21)$$

⇒ Langmuir + Cuadrática^{178,179}

$$q_e = \frac{q_{\max,L} K_L C_e}{1 + K_L C_e} + \frac{q_{\max,Q} C_e (b_1 + 2b_2 C_e)}{1 + b_1 C_e + b_2 C_e^2} \quad (7.22)$$

¹⁷⁴ Wei Jiang, Shuzhen Zhang, Xiao-quan Shan, Muhua Feng, Yong-Guan Zhu, Ron G. McLaren. *Adsorption of arsenate on soils. Part 1: Laboratory batch experiments using 16 chinese soils with different physiochemical properties.* Environmental Pollution 138; 278-284, 2005.

¹⁷⁵ C.M. González-García, M.L. González-Martín, J.F. González, E. Sabio, A. Ramiro, J. Gañan. *Nonionic surfactants adsorption onto activated carbón. Influence of the polar chain lenght.* Powder Technology 148; 23-37, 2004.

¹⁷⁶ R.A. Alvarez-Puebla, C. Valenzuela-Calahorro, J.J. Garrido. *Cu (II) retention on a humic substance.* J. Colloid Interf. Sci. 270; 47-55, 2004.

¹⁷⁷ R.A. Alvarez-Puebla, R.F. Aroca, C. Valenzuela-Calahorro, J.J. Garrido. *Retention of cobalt on a humin derived from Brown coal.* J. Hazard. Mater. B 135; 122-128, 2006.

¹⁷⁸ Moustapha Diack, Georges Guiochon. *Adsorption isotherm and overloaded elution profiles of phenyldodecane on porous carbon in liquid chromatography.* Anal. Chem. 63; 2608-2616, 1991.

¹⁷⁹ Moustapha Diack, Georges Guiochon. *Adsorption isotherms and overloaded elution profiles of phenyl-n-alkanes on porous carbon in liquid chromatography.* Langmuir 8; 1587-1593, 1992.

1.5. Transporte de compuestos en medio poroso

Para describir adecuadamente el movimiento de los compuestos no volátiles (conservativos) en el suelo es necesario conocer la evolución temporal de su concentración en cada punto del dominio estudiado. La distribución espacial de dicha concentración depende principalmente de los siguientes fenómenos:

- Adsorción/desorción.
- Advección.
- Dispersión mecánica (longitudinal y transversal).
- Difusión molecular.
- Fenómenos que pueden implicar generación o consumo del compuesto estudiado (biodegradación, formación de complejos, reacciones ácido-base, intercambio iónico, hidrólisis, disolución-precipitación, oxidación-reducción, etc.).

La advección es el fenómeno de transporte por el cual un compuesto es literalmente arrastrado por el flujo de fluido (agua), siguiendo su misma trayectoria. Sin embargo, como consecuencia de las tortuosidades del suelo (diferente tipo, tamaño y orientación de los poros), el compuesto sufre desviaciones de esa trayectoria ideal del agua y experimenta cambios en su velocidad, fenómeno conocido como dispersión mecánica. Además, un compuesto puede sufrir difusión. Los fenómenos de advección y dispersión mecánica ocurren sólo cuando el agua se está moviendo, mientras que la difusión molecular puede ocurrir tanto cuando el agua

está en moviendo como cuando está estancada. Cuando los fenómenos de transporte por difusión y por dispersión tienen lugar simultáneamente, al fenómeno conjunto se le llama dispersión hidrodinámica.

El modelo propuesto debe incorporar todos estos fenómenos, aunque como es evidente, la zona no saturada del suelo, es un medio complejo y esto hace muy difícil una representación exacta.

La ecuación de transporte unidimensional en medio poroso, es el resultado de la influencia de todos los fenómenos mencionados y una consecuencia de la condición de continuidad de masa en un volumen elemental: el balance neto de los flujos másicos de entrada y salida debe ser igual al cambio de masa por unidad de tiempo. La ecuación general resultante para el transporte reactivo en una dimensión es^{180,181}:

$$\frac{\partial C(z,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(z,t)}{\partial z^2} - u \frac{\partial C(z,t)}{\partial z} - \lambda C(z,t) - \frac{\rho_{\text{suelo}}}{\theta} \frac{\partial q(z,t)}{\partial t} \quad (7.23)$$

donde t es el tiempo en min, z la coordenada del flujo del agua expresada en cm, λ la constante cinética del proceso de consumo considerado (transformación o biodegradación) del soluto, expresado en min^{-1} , C la concentración de soluto en el fluido expresada en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, q la masa de soluto retenida por unidad de masa de sólido expresada en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, θ la porosidad del suelo, D el coeficiente de dispersión hidrodinámica expresado en $\text{cm}^2\cdot\text{min}^{-1}$, u la velocidad intersticial de flujo expresada en $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$ y ρ_{suelo} la densidad aparente del suelo en $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

¹⁸⁰ Bruce E. Logan. *Environmental transport processes*. Ed. John Wiley and Sons, Inc. Canada, 1999.

¹⁸¹ C.A.J. Appelo, D. Postma. *Geochemistry, ground water and pollution*. Ed. A.A. Balkema. Rotterdam, Netherlands, 1993.

La **ecuación 7.23** contempla, por este orden, la variación temporal de la concentración en disolución, el flujo por dispersión hidrodinámica, el flujo por advección, la velocidad de aparición o de desaparición del compuesto estudiado y la variación de la masa de soluto adsorbida.

La resolución de esta ecuación, requiere definir la evolución en el tiempo de la masa adsorbida en el sólido ($\partial q/\partial t$). Hay dos tipos de modelos:

- **Modelos de equilibrio.** Si los fenómenos de adsorción/desorción son rápidos en relación a los fenómenos de transporte, los primeros pueden considerarse en un estado de equilibrio local, causando una simplificación física y matemática de los fenómenos.
- **Modelos de no equilibrio.** En muchos casos el equilibrio local no es admisible porque la suposición de adsorción rápida no se cumple. En este caso el transporte es más rápido que la adsorción/desorción y, por tanto no pueden utilizarse modelos de equilibrio.

Asimismo, ha de considerarse el tipo de isoterma de adsorción. La isoterma lineal, permite obtener una solución analítica de la ecuación diferencial. En caso de isoterma no lineal, se requieren métodos numéricos para su resolución. Por último han de definirse las condiciones de contorno del estudio.

A continuación, se describen los modelos de equilibrio local, de no equilibrio (limitaciones difusionales) y de no equilibrio (dos sitios). Los tres de ellos se detallan tanto para isotermas lineales (A) como no lineales (B).

1.5.1. Modelo de equilibrio local

Al considerar condición de equilibrio local resultan los modelos más simples. Para ello, en el modelo general de transporte, **ecuación 7.23**, hay que sustituir el valor de q , por la ecuación de la isoterma considerada. Para el modelo de equilibrio local se establecen las siguientes condiciones de contorno:

$$C(0,t) = \begin{cases} C^0 & (0 < t \leq t_0) \\ 0 & (t \geq t_0) \end{cases}$$

$$\frac{\partial C(+\infty,t)}{\partial z} = 0$$

$$C(z,0) = 0$$

donde t_0 es el tiempo al cual se cambia de adsorción a desorción y C^0 es la concentración inicial del soluto en la experiencia de adsorción.

A. Isooterma lineal

Si se considera una isoterma lineal, q vendrá dada por la ecuación:

$$q(z,t) = q_e(C(z,t)) = K \cdot C(z,t) \quad (7.24)$$

donde K_{iso} es el coeficiente de distribución en el equilibrio o constante de adsorción y q_e la concentración retenida. Sustituyendo la **ecuación 7.24** en la **ecuación 7.23** y operando resulta:

$$\frac{\partial C(z,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(z,t)}{\partial z^2} - u \frac{\partial C(z,t)}{\partial z} - \lambda C(z,t) - \frac{\rho_{suelo} \cdot K}{\theta} \frac{\partial C(z,t)}{\partial t} \quad (7.25)$$

$$\left(1 + \frac{\rho_{\text{suelo}} \cdot K}{\theta}\right) \frac{\partial C(z,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(z,t)}{\partial z^2} - u \frac{\partial C(z,t)}{\partial z} - \lambda C(z,t) \quad (7.26)$$

Por conveniencia se define el coeficiente de retardo, retraso o desfase, R , como se muestra en la **ecuación 7.27**, y se refiere al tiempo requerido para un soluto a través de una columna de suelo con respecto a una sustancia que no sufra retención (trazador). Cuanto mayor sea la constante de adsorción, K , mayor será el coeficiente de retardo.

$$\left(1 + \frac{\rho_{\text{suelo}} \cdot K}{\theta}\right) = R \quad (7.27)$$

Por lo tanto, **la ecuación 7.26** se puede escribir en función de, R , según se muestra a continuación:

$$R \frac{\partial C(z,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(z,t)}{\partial z^2} - u \frac{\partial C(z,t)}{\partial z} - \lambda C(z,t) \quad (7.28)$$

B. Isoterma no lineal

En el caso de considerar una isoterma no lineal, para q se puede escribir la siguiente ecuación general, que se sustituiría en la **ecuación 7.23**.

$$q(z,t) = q_e(C(z,t)) \quad (7.29)$$

1.5.2. Modelo de no equilibrio (limitaciones difusionales)

En este modelo, a la isoterma en el equilibrio hay que restarle una cierta cantidad debido a que, al considerar las limitaciones difusionales, no se alcanza el equilibrio. Por lo tanto, dentro del modelo general de transporte, **ecuación 7.23**, la cantidad retenida, q , vendrá dada por la siguiente ecuación:

$$q(z, t) = \alpha[q_e(C(z, t)) - q(z, t)] \quad (7.30)$$

donde α es el coeficiente de transferencia de masa en min^{-1} (de primer orden). Para el modelo de no equilibrio con limitaciones difusionales se establecen las siguientes condiciones de contorno:

$$C(0, t) = \begin{cases} C^0 & (0 < t \leq t_0) \\ 0 & (t \geq t_0) \end{cases}$$

$$\frac{\partial C(+\infty, t)}{\partial z} = 0$$

$$C(z, 0) = 0$$

$$q(z, 0) = 0$$

A. Isotherma lineal

En el caso de considerar una isoterma lineal, q_e vendrá dado por la **ecuación 7.24**.

B. Isotherma no lineal

En el caso de considerar una isoterma no lineal, q_e vendrá dado de forma general por la **ecuación 7.29**.

1.5.3. Modelo de no equilibrio (dos sitios)

Este modelo comprende un modelo de equilibrio (q_1) y un modelo de no equilibrio (q_2), según se muestra en la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial C(z,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(z,t)}{\partial z^2} - u \frac{\partial C(z,t)}{\partial z} - \lambda C(z,t) - \frac{f \cdot \rho_{\text{suelo}}}{\theta} \frac{\partial q_1(z,t)}{\partial t} - \frac{\rho_{\text{suelo}}}{\theta} \frac{\partial q_2(z,t)}{\partial t} \quad (7.31)$$

donde f es el parámetro para el modelo de dos sitios y q_1 y q_2 son las cantidades retenidas según las isothermas consideradas en equilibrio y en no equilibrio, respectivamente.

$$q_1(z,t) = q_e(C(z,t)) \quad (7.32)$$

$$q_2(z,t) = \alpha[(1-f) \cdot q_e(C(z,t)) - q(z,t)] \quad (7.33)$$

Para el modelo de no equilibrio de dos sitios, se establecen las siguientes condiciones de contorno:

$$C(0,t) = \begin{cases} C^0 & (0 < t \leq t_0) \\ 0 & (t \geq t_0) \end{cases}$$

$$\frac{\partial C(+\infty,t)}{\partial z} = 0$$

$$C(z,0) = 0$$

$$q(z,0) = 0$$

A. Isotherma lineal

En el caso de considerar una isoterma lineal, el valor de q_e en q_1 y q_2 vendrá dado por la **ecuación 7.24**.

B. Isoterma no lineal

En el caso de considerar una isoterma no lineal, el valor de q_e en q_1 y q_2 vendrá dado, de forma general, por la **ecuación 7.29**.

1.6. Biodegradación

El empleo de modelos matemáticos para explicar la degradación de los compuestos químicos en matrices medioambientales como el suelo, ha sido una herramienta muy utilizada tradicionalmente siendo el modelo cinético de primer orden (monofásico o cinética de un compartimiento), basado en la ecuación exponencial, uno de los más empleados^{182,183}.

El objeto de la cinética química es medir las velocidades de las reacciones químicas. Para un compuesto dado, su velocidad de desaparición, supuesta una cinética de primer orden, puede expresarse como:

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C \quad (7.34)$$

donde C es la concentración del compuesto en el medio estudiado, k la constante de velocidad del proceso y t es el tiempo. Integrando la **ecuación 7.34** entre las condiciones límite $C = C_0$ a $t = 0$ y $C = C$ a $t = t$, resulta la **ecuación 7.35**:

$$C = C_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (7.35)$$

¹⁸² C.J. Krueger, K.M. Radakovich, T.E. Sawyer, L.B. Barber, R.L. Smith, J.A. Field. *Biodegradation of the surfactant linear alkylbenzenesulfonate in sewage contaminated groundwater: A comparison of column experiments and field tracer tests*. Environ. Sci. Technol. 32; 3954-3961, 1998.

¹⁸³ R.J. Larson, T.W. Federle, R.J. Shimp, R.M. Ventullo. *Behaviour of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in soil infiltration and groundwater*. Tenside Surf. Det. 26; 116-121, 1989.

donde C_0 es la concentración inicial del compuesto. De forma equivalente la **ecuación 7.35** se puede expresar en función de la masa de compuesto, obteniendo la siguiente ecuación:

$$M = M_0 \cdot e^{-k \cdot t} \quad (7.36)$$

donde M_0 es la masa inicial de compuesto y M la masa a un tiempo t .

De las **ecuaciones 7.35** o **7.36** se puede deducir la **ecuación 7.38** para el tiempo de vida media, $t_{1/2}$, que es el tiempo necesario para que la concentración inicial de compuesto se reduzca a la mitad.

$$\frac{C_0}{2} = C_0 \cdot e^{-k \cdot t_{1/2}} \quad (7.37)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} \quad (7.38)$$

2. CARACTERIZACIÓN DEL SUELO Y DEL AGUA EMPLEADOS EN EL ESTUDIO

2.1. Caracterización del suelo empleado

2.1.1. Localización

El suelo agrícola seleccionado, tanto para los estudios de campo desarrollados a lo largo de la presente Tesis Doctoral, se sitúa en La Huerta de Santa María, dentro del municipio de Belicena, perteneciente a la Vega de Granada, a 5 Km de la capital y de coordenadas $37^{\circ} 11' 11.87''$ N; $3^{\circ} 41' 26.09''$ O (*figura 7.5*).

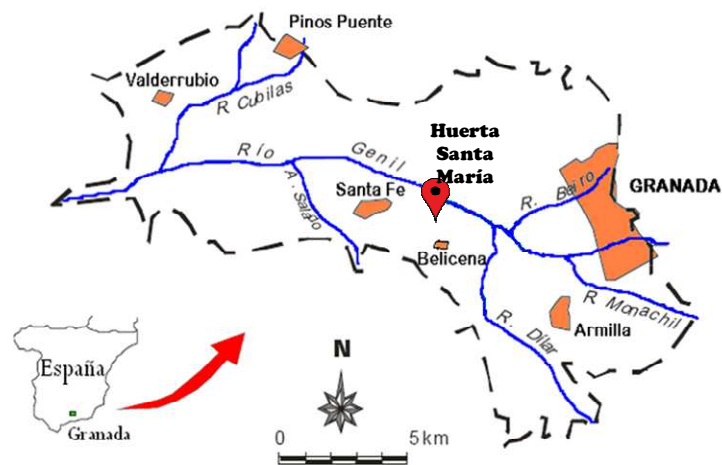


Figura 7.5. Mapa de la Vega de Granada.
Localización de la Huerta de Santa María

Para la realización de los estudios de laboratorio la muestra de suelo se tomó en el horizonte correspondiente a los primeros 25 cm de profundidad. Una vez en el laboratorio, el suelo se secó al aire, se molturó y se pasó a través de un tamiz de 2 mm de luz de malla.

2.1.2. Propiedades físicas del suelo

C. Textura

El análisis granulométrico, se realizó de acuerdo con el método de *Bouyoucos*¹⁸⁴. Este método, se basa en la distinta velocidad de sedimentación de cada partícula de acuerdo con la ley de Stokes (régimen laminar). Para aplicarlo, se debe medir la densidad de los sólidos en suspensión a diferentes tiempos, mediante el uso de un hidrómetro calibrado a una determinada temperatura, habitualmente 20 °C, **figura 7.6**. Dado que la cantidad de sólidos en suspensión disminuye con el tiempo, debido a la sedimentación, la densidad de la suspensión también lo hará. Teniendo esto en cuenta, si se mide la densidad de los sólidos en suspensión a diferentes tiempos se podrá calcular la composición textural.



Figura 7.6. Hidrómetros empleados

El método requiere, como paso previo, lograr la individualidad de las partículas elementales. El primer paso consiste en tratar el suelo con agua oxigenada (H₂O₂) para eliminar la materia orgánica mediante oxidación. A continuación, se añaden a 40 g de suelo previamente tamizados (malla de 2 mm), 10 mL del agente dispersante calgón (hexametáfosfato sódico ((NaPO₃)₆ al 10 % en agua, ajustado a pH 8.3 con Na₂CO₃), y se enrasa con agua en una probeta de 1 L hasta aproximadamente 500 mL. Una vez enrasado, se agita durante 5 minutos, se añade agua hasta un volumen final de un litro y se agita durante 1 minuto más. A continuación, se coloca la probeta en una superficie horizontal, y se introduce el hidrómetro en la probeta. En este punto, se comienza a medir el tiempo, tomando lecturas

¹⁸⁴ G.J. Bouyoucos. *Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils*. Agron. J. 54; 464-465, 1962.

de densidad a tiempos predeterminados. Además, se debe medir la temperatura se mide tanto al inicio como al final de las medidas. Con los datos obtenidos se calcula el porcentaje de limo, arcilla y arena que contiene el suelo, de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Limo} + \text{Arcilla} = (0.36 (T_{40} - 20) + \rho_{40}) \cdot 100/40 \quad (7.39)$$

$$\% \text{ Arcilla} = (0.36 (T_{120} - 20) + \rho_{120}) \cdot 100/40 \quad (7.40)$$

$$\% \text{ Arena} = 100 - \% (\text{Limo} + \text{Arcilla}) \quad (7.41)$$

donde T_{40} y T_{120} son las temperaturas de la suspensión ($^{\circ}\text{C}$) y ρ_{40} y ρ_{120} las densidades de los sólidos en suspensión dadas por el hidrómetro (g/L), a los 40 segundos y los 120 minutos respectivamente.

Según los porcentajes obtenidos de arena, limo y arcilla, el suelo se clasifica en diferentes clases texturales¹⁸⁵ mediante el uso del triángulo que se muestra en la **figura 7.7**.

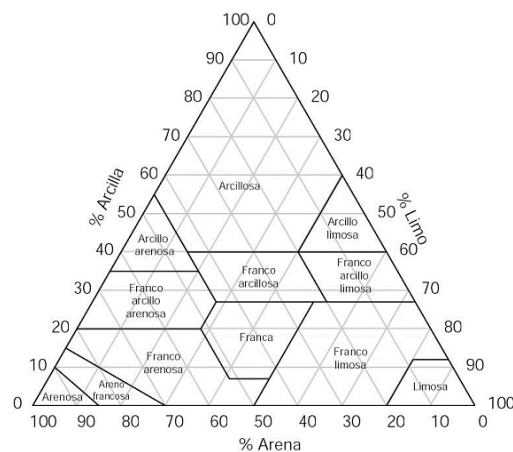


Figura 7.7. Triángulo de las clases texturales

¹⁸⁵ United States Department of Agriculture - Natural Resources Conservation Service (USDA - NRCS). URL: <http://www.nrcs.usda.gov> (Visitada el 2/06/2012).

A. Densidad aparente

Se define como la razón de la masa de suelo seco respecto al volumen del mismo en su estado natural, es decir, considerando tanto el volumen que ocupan las partículas sólidas como el que ocupan los poros. El procedimiento para su determinación¹⁸⁶ consiste en recoger una muestra con un cilindro indeformable (V_{cilindro}) dos o tres días después de una precipitación o riego intenso. En el laboratorio, se seca en estufa a 105 °C hasta peso constante y se deja enfriar en desecador para su posterior pesada (m_{suelo}). La densidad aparente se calcula según la **ecuación 7.42**.

$$\rho_{\text{suelo}} = m_{\text{suelo}} / V_{\text{cilindro}} \quad (7.42)$$

B. Densidad real

La densidad real del suelo (ρ_{real}) corresponde a la densidad de las partículas sólidas del suelo, es decir, a la masa del suelo dividida entre el volumen que ocupan sus partículas. La densidad de partículas de un árido como el suelo, que no puede determinarse con el simple método de pesar, puede obtenerse con el método picnométrico¹⁸⁷. Este método se basa en el principio de Arquímedes, **figura 7.8**. El picnómetro es un frasco con un cierre sellado de vidrio que dispone de un tapón provisto de un finísimo capilar, de tal manera que puede obtenerse un volumen con gran precisión. Esto permite medir la densidad de líquidos o sólidos, en referencia a la de un líquido, no miscible con el anterior, de densidad conocida como el agua, el tolueno o el mercurio.



Figura 7.8. Picnómetro utilizado en el cálculo de la densidad real

¹⁸⁶ Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. *Métodos oficiales de análisis de suelos y aguas*. Ed. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. p.182. Madrid, 1986.

¹⁸⁷ UNE 103302:1994. *Determinación de la densidad relativa de las partículas de un suelo*. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).

El procedimiento consiste en introducir en el picnómetro 10 g de suelo (m_{suelo}). A continuación, se añade agua, aproximadamente hasta la mitad de su volumen, se introduce el picnómetro en un desecador a vacío y se aplica una presión aproximadamente 100 mm Hg inferior a la atmosférica, para facilitar la eliminación del aire que queda entre las partículas. Seguidamente, se termina de llenar el picnómetro con agua, por exceso, y se mantiene en un baño dotado de termostato a una temperatura constante de 20 °C, durante una media hora. Transcurrido ese tiempo, se enrasa y se pesa ($m_{pic+suelo+agua}$).

Previamente se habrá pesado el picnómetro aforado enrasado con agua ($m_{pic+agua}$) a la misma temperatura de 20 °C. La densidad real del suelo se calcula a partir de la **ecuación 7.32**.

$$\rho_{real} = \frac{m_{suelo} \cdot \rho_{agua}}{m_{pic+agua} - m_{pic+suelo+agua} + m_{suelo}} \quad (7.43)$$

donde ρ_{agua} es la densidad del agua medida a 20 °C.

C. Porosidad

Es la relación entre el volumen de poros y el volumen total de la muestra de suelo. Se puede calcular indirectamente¹⁸⁶, a partir de los valores de la densidad aparente y de la densidad real, mediante la **ecuación 7.44**.

$$\theta = \frac{(\rho_r - \rho_{suelo})}{\rho_r} \cdot 100 \quad (7.44)$$

donde θ es la porosidad (%), ρ_{real} es la densidad real del suelo ($g \cdot cm^{-3}$) y ρ_{suelo} es la densidad aparente del suelo ($g \cdot cm^{-3}$).

D. Humedad

El contenido en agua del suelo en las condiciones del laboratorio se determina por diferencia de pesada entre una muestra de suelo antes y después de ser sometida a desecación a 105 °C hasta peso constante¹⁸⁸. El porcentaje en peso de agua contenida en cien gramos de suelo seco (contenido gravimétrico de agua), se halla mediante la **ecuación 7.45**.

$$H = \frac{(m_h - m_s)}{m_s} \cdot 100 \quad (7.45)$$

donde H es la humedad del suelo (%), m_h la masa del suelo húmedo (g) y m_s la masa del suelo seco (g). Los análisis de suelos se realizan sobre muestras secas al aire, con el fin de referir los resultados a masa de muestra seca, y minimizar el error que podría suponer un distinto grado de humedad ambiente entre distintos laboratorios y épocas del año. No obstante, los resultados de humedad también se pueden referir a masa de muestra húmeda.

El contenido de agua también puede estar basado en su volumen. En este caso, se calcula el contenido volumétrico de agua, $H_{\text{volumétrico}}$, según la **ecuación 7.46**.

$$H_{\text{volumétrico}} = \frac{V_{\text{agua}}}{V_{\text{Total}}} \quad (7.46)$$

donde V_{agua} es el volumen de agua existente en la muestra de suelo y V_{Total} el volumen total de la muestra teniendo en cuenta el volumen del suelo, el del agua y el de los poros.

¹⁸⁸ UNE 103300:1993. Determinación de la humedad de un suelo mediante secado en estufa. Asociación Española de Normalización y Certificación (AENOR).

E. Saturación de agua o grado de saturación (S_w)

Se define como la razón entre el volumen de agua en el suelo y el volumen de poros del suelo en su estado natural, es decir, un grado de saturación del 100 % indica que todos los poros del suelo estarían llenos de agua. El grado de saturación puede calcularse mediante la **ecuación 7.47**.

$$S_w (\%) = \frac{\frac{m_h - m_s}{\rho_{\text{agua}}}}{\frac{m_s}{\rho_{\text{suelo}}} \cdot \text{Porosidad}} \cdot 100 \quad (7.47)$$

F. Ensayo de permeabilidad

La determinación de la permeabilidad se ha llevado a cabo utilizando un permeámetro de carga variable. Se coloca la muestra en un recipiente cilíndrico y se compacta hasta tratar de reproducir la porosidad inicial. A la parte inferior de este recipiente se conecta un tubo manométrico de vidrio, de pequeño diámetro, lleno de agua hasta un nivel inicial (h_0), que debe estar por encima del desagüe del recipiente que contiene la muestra, de modo que, iniciando el ensayo, el agua aportada por el tubo manométrico fluye a través de la muestra ensayada. Entonces se mide el descenso del nivel de agua observado en el tubo en un tiempo determinado t . La permeabilidad se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$K = 2.3 \cdot \left(\frac{a \cdot l}{A \cdot t} \right) \cdot \log \left(\frac{h_0}{h} \right) \quad (7.48)$$

donde K es la permeabilidad ($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$), a la sección del tubo manométrico de vidrio (cm^2), l la altura del molde (cm), A la sección del molde (cm^2), t el

tiempo (s), h_0 el nivel inicial del agua en el tubo manométrico y h el nivel del agua en el tubo manométrico en el tiempo t .

G. Resultados

En la **tabla 7.1** se resumen las características físicas y mineralógicas del suelo estudiado a lo largo de la presente Tesis Doctoral.

Tabla 7.1. Propiedades físicas del suelo estudiado

Propiedades físicas			
Propiedades generales		Textura (método Bouyoucos)	
Densidad aparente ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	1.223	Arena (%)	44.14
Densidad real ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	2.368	Limo (%)	28.15
Porosidad (%)	48.36	Arcilla (%)	27.72
Permeabilidad ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$)	$4.42\cdot 10^{-5}$	Clase textural: Franco arcillosa	
Composición mineralógica (%)			
Illita	39.72	Caolinita	10.25
Calcita	23.71	Feldespatos	8.34
Esmectita	13.33	Cuarzo	4.65

Se trata por tanto de un suelo de clase textural franco arcillosa. Entre las arcillas predomina la illita, a la que le sigue en abundancia la esmectita. Las arcillas menos abundantes son las del grupo de la caolinita. Dado que el suelo estudiado presenta una textura fina, un valor de la porosidad del 48.36 % y un valor relativamente bajo de la permeabilidad ($4.42\cdot 10^{-5} \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$), se puede concluir que se trata de un suelo con baja capacidad de infiltración.

2.1.3. Propiedades químicas del suelo

A continuación, se comentan las características químicas estudiadas.

A. pH

La determinación del pH se ha efectuado empleando cuatro suspensiones¹⁸⁶, dos de ellas de suelo en agua y otras dos de suelo en disolución de KCl 0.1 N (la determinación de pH en KCl 0.1 N se realiza para estudiar la capacidad de intercambio iónico del suelo en estudio). Para preparar dichas suspensiones se pesaron 10 g de suelo y se añadió el volumen correspondiente de agua o de disolución de KCl 0.1 N (25 mL). Transcurrida una hora, se efectuó la medida del pH.

B. Materia orgánica

Se ha utilizado el método de *Tyurin*¹⁸⁹, que es un método volumétrico de oxido-reducción por retroceso, en el que se oxida la materia orgánica del suelo, con un oxidante en exceso ($K_2Cr_2O_7$, dicromato potásico), y posteriormente se valora la cantidad de dicromato reducido mediante sal de Mohr ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$).

El procedimiento, establecido en el método citado, consiste en pesar 0.2 g de suelo finamente molido en un mortero de ágata, que se introducen en un matraz erlenmeyer de 100 mL. En este matraz, se añade sulfato de plata (catalizador), arena de mar (para homogeneizar la ebullición) y 10 mL de dicromato potásico 0.4 N. Se introduce el conjunto en un baño de arena. Se lleva a ebullición y se mantiene durante 5 minutos más. Con el mismo procedimiento se hace una prueba en blanco. Por

¹⁸⁹ I.V. Tyurin. *Analytical procedure for a comparative study of soil humus*. Trudy Pochr. Inst. Dokuchaeva 33; 5-21, 1951.

último, se valora el dicromato potásico en exceso, usando como indicador ácido fenilantranílico y como valorante sal de Mohr. El viraje se produce de violeta-azulado a verde. El contenido en materia orgánica (% en peso) se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ M.O} = \frac{(V_b - V) \cdot F \cdot 0.3}{m} \cdot F_1 \cdot F_2 \quad (7.49)$$

donde V_b es el volumen de Sal de Mohr gastado en valorar el blanco (mL), V el volumen de sal de Mohr gastado en valorar la muestra (mL), F el factor de sal de Mohr, F_1 el factor de corrección para calcular la cantidad de carbono orgánico, que se obtendría mediante el método de combustión seca, teniendo en cuenta la cantidad de carbono inorgánico y orgánico ($F_1 = 1.17$), F_2 el factor de Van Bemmelen ($F_2 = 1.724$) y m es la masa de la muestra de suelo utilizada (g).

C. Aniones y cationes solubles del suelo

Los iones solubles del suelo son aquellos que se disuelven al incorporar agua al suelo seco; se miden¹⁸⁶ en el extracto recogido de la pasta de saturación que se prepara añadiendo agua lentamente a la muestra de suelo, hasta que todos los poros estén llenos. Para conseguirlo, se toman 200 o 300 g de muestra de suelo y se colocan en un recipiente. Se añade lentamente agua destilada, al mismo tiempo que se agita con una espátula. Cuando toda la muestra ha sido humedecida, se continúa añadiendo agua destilada, pero en fracciones cada vez más pequeñas. Una vez alcanzado el estado de saturación de la muestra del suelo, el recipiente debe ser tapado y se deja reposar durante un tiempo mínimo de 10 horas.

Para la obtención del extracto de saturación se conecta un kitasato a una bomba de vacío; sobre el kitasato se sitúa un embudo büchner (al que

se le habrá colocado previamente un papel de filtro), se aplica vacío después de rellenar el embudo con una cantidad suficiente de la pasta saturada y se mantiene esta situación hasta haber obtenido suficiente volumen de extracto de saturación.

Una vez obtenido el extracto, se determinan mediante cromatografía iónica los aniones (cloruros, nitratos, nitritos, fosfatos y sulfatos) y los cationes (sodio, calcio, magnesio, potasio y amonio). Los resultados obtenidos se expresan en mg/kg de suelo, teniendo en cuenta la humedad de la pasta saturada preparada, que se determina mediante el método descrito para determinar la humedad.

D. Nitrógeno total

El procedimiento¹⁹⁰ para determinar el nitrógeno total se divide en dos etapas:

- ⇒ Destrucción de la materia orgánica y la transformación del nitrógeno en sales amónicas. En esta fase la materia orgánica se oxida a CO₂ y H₂O por ebullición con ácido sulfúrico concentrado, al tiempo que los citados compuestos nitrogenados se transforman en NH₄⁺, al formarse (NH₄)₂SO₄. Para acelerar esta reacción, se emplean catalizadores (Cu⁺², Hg⁺², Se⁺²) y además se añaden sales que eleven el punto de ebullición del ácido, para evitar su evaporación.
- ⇒ La segunda etapa se subdivide a su vez en dos fases: la primera consiste en hacer reaccionar (NH₄)₂SO₄ producido en la digestión con NaOH, para formar Na₂SO₄ y NH₃ gaseoso; este último es separado por arrastre con aire y condensación. En la segunda fase se valora el NH₃ con H₂SO₄ diluido, en presencia de un indicador adecuado.

¹⁹⁰ A. Bouat, C. Crouzet. *Notes techniques sur un appareil semi-automatique de dosage de l'azote (et de certains composés volatils)*. Annals of Agriculture 16; 107-118, 1965.

En la práctica, se introducen 2 g de suelo tamizado a un tamaño de 2 mm en un tubo de digestión, se les añade 1 g de K_2SO_4 , 10 mL de ácido sulfúrico concentrado y 1 mL de solución sulfúrica de selenio, se calienta durante 1 hora a 100 °C y durante otra hora y media a 350 °C. Finalizado el calentamiento, se retira el tubo del digestor. Una vez enfriado, se añade agua, hasta un volumen total de 25 mL, y unas gotas de fenolftaleína. A continuación, el tubo de digestión se acopla en el soporte de un destilador automático, donde se adiciona NaOH hasta el viraje del indicador a rojo y se comienza la destilación. Finalmente, en un matraz erlenmeyer de 250 mL, al cual se añaden 25 mL de ácido bórico al 4 %, se recoge el destilado, que posteriormente se valora con H_2SO_4 a 0.005 N. El porcentaje de nitrógeno en la muestra de suelo se calcula según la siguiente ecuación:

$$N_T = \frac{V \cdot N \cdot F \cdot 14}{10 \cdot m} \quad (7.50)$$

donde N_T es el contenido en nitrógeno (%), V el volumen de ácido gastado en la valoración (mL), N la normalidad del ácido sulfúrico usado para la valoración, F el factor de corrección del ácido sulfúrico usado para la valoración y m la masa de la muestra (g).

E. Capacidad de cambio

La determinación analítica de la capacidad de cambio catiónica¹⁸⁶ consta de los siguientes pasos:

1. Reemplazamiento completo de los cationes de cambio existentes en el suelo por otro catión.
2. Eliminación del exceso por lavado.
3. Desplazamiento del catión adsorbido y análisis cuantitativo.

El procedimiento operatorio seguido es el que se describen a continuación. En primer lugar se introducen 5.0 g de suelo, tamizado y secado al aire, en una columna de intercambio iónico. Se añade acetato amónico 1 N hasta un volumen equivalente a 4/5 de la capacidad de la columna y se deja en reposo un mínimo de 8 horas para que se produzca el intercambio. Transcurrido este tiempo, se abre el embudo y se recoge el lixiviado. Se enrasa en un matraz aforado a un volumen 100 mL. En este lixiviado se miden las bases de cambio: Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} .

A continuación, se rellena la columna con acetato sódico 1.0 N y se deja en contacto 8 horas para que se produzca el intercambio. Pasado este tiempo, se abre la columna para recoger el lixiviado, que es desechado. Para eliminar el exceso de Na^+ , se lava varias veces con etanol. Se añade de nuevo acetato amónico (1.0 N) y se mantiene en contacto otras 8 horas. A continuación, se recoge el lixiviado en un matraz aforado de 100 mL de capacidad y se enrasa al volumen final. En este lixiviado se mide el Na^+ , de modo que el resultado corresponde a la capacidad de intercambio catiónico total. La capacidad total de cambio catiónico representa la capacidad máxima de cationes que pueden ser adsorbidos por el complejo de cambio, expresado en meq de Na^+ adsorbido por 100 g de suelo.

F. Carbonatos

Un peso determinado de muestra seca se introduce dentro de un crisol en un horno de mufla. Se eleva gradualmente la temperatura hasta 560 °C (a esta temperatura los carbonatos no se ven alterados) y se mantiene durante 3 h. Se deja enfriar y se pesa (de la diferencia de pesos obtienes el contenido en materia orgánica). Se vuelve a introducir el crisol en la mufla y se calienta gradualmente hasta 950 °C durante 2 h. Se deja enfriar y se pesa. De esta forma descontada la materia orgánica se puede conocer el contenido en carbonatos.

G. Elementos mayoritarios

La determinación de los elementos mayoritarios se ha realizado mediante fluorescencia de Rayos-X. En el método diseñado se analizan: Al, Si, Ca, Mg, Mn, Ti, P, Fe, K y Na, y se expresan como óxidos.

H. Resultados

En la **tabla 7.2**, se muestran las características del suelo seleccionado.

Tabla 7.2. Propiedades químicas del suelo estudiado

Propiedades químicas			
pH (KCl)	7.40	Cationes solubles (mg·kg ⁻¹ de suelo)	
pH (agua)	7.90	Ca ⁺²	44.50
Materia orgánica (%)	1.81	Mg ⁺²	37.00
Carbono orgánico (%)	1.05	Na ⁺	42.50
Carbonatos (% CO ₂)	15.4	Elementos mayoritarios (óxidos)	
Nitrógeno total (%)	0.07	Al ₂ O ₃ (%)	12.76
Capacidad de cambio (meq Na ⁺ / 100 g suelo)	22.12	SiO ₂ (%)	46.35
Bases de cambio (meq/100 g de suelo)		Fe ₂ O ₃ (%)	4.97
Ca ⁺²	29.78	MnO (%)	0.08
Mg ⁺²	2.56	MgO (%)	4.01
Na ⁺	0.34	Na ₂ O (%)	1.76
K ⁺	0.49	K ₂ O (%)	2.15
Aniones solubles (mg·kg ⁻¹ de suelo)		TiO ₂ (%)	0.61
SO ₄ ⁻²	241.00	P ₂ O ₅ (%)	0.24
Cl ⁻	91.50	CaO (%)	10.52

En los datos mostrados se observa que el suelo presenta un valor de pH ligeramente básico (7.9). La presencia de KCl en el medio provoca una

disminución de aproximadamente una unidad en el valor del pH, pasando a ser más neutro, lo que indica que el suelo actúa como cambiador iónico, con gran capacidad para la fijación de hidrogenoiones.

Es importante destacar el contenido en óxidos, ya que la superficie de estos compuestos puede adquirir carga eléctrica, por ionización de los grupos hidroxilo superficiales, e interaccionar electrostáticamente con especies cargadas. Las cargas negativas aparecen cuando el pH del medio es alto, por disociaciones de estos grupos, mientras que las cargas positivas las adquieren por protonación. En general, se observa que con los valores del pH del suelo estudiado (7.9), dichos óxidos e hidróxidos presentan una carga positiva, que, junto a la calcita (CaCO_3) y al óxido de magnesio (MgO), confieren al suelo una sensible capacidad de intercambio de aniones.

Otra de las propiedades importantes relacionada con la capacidad de adsorción del suelo es la capacidad de cambio catiónico, que corresponde al total de las cargas negativas disponibles para fijar cationes en disolución. Este fenómeno puede deberse a que la illita y la esmectita presentan cargas permanentes negativas, mientras que la carga de la caolinita depende del pH, sin embargo, dado que el pH del suelo estudiado tiene, un valor muy cercano a 7, la caolinita también presenta carga negativa junto con el feldespato, el cuarzo, el óxido de manganeso, la materia orgánica y el óxido de titanio (TiO_2), lo que le confiere al suelo una importante capacidad de interaccionar con los cationes del líquido intersticial que ocupa los poros. El suelo de la Vega posee una elevada capacidad de cambio de 22.12 meq de sodio/100 g de suelo. También se observa que en el suelo existe una elevada concentración de sulfatos y cloruros solubles, lo que está relacionado con la composición de la roca madre de la zona.

En resumen, las propiedades físico-químicas del suelo estudiado revelan, en primer lugar, que los compuestos del mismo, al tener carácter

coloidal y poseer cargas eléctricas, pueden contribuir de forma relevante a la interacción sólido-fluido y a su capacidad de cambio. Ello pone de manifiesto la capacidad de este suelo para retener los solutos presentes en el agua intersticial proveniente del agua de riego. En segundo lugar, es evidente que las propiedades físicas del suelo que dependen de su textura y estructura, influyen de manera notable y decisiva en el comportamiento del mismo frente al movimiento vertical del agua.

2.2. Caracterización del agua de pozo empleada

2.2.1. Localización

El agua utilizada a lo largo del desarrollo de este estudio de campo se ha obtenido de un pozo situado en La Huerta de Santa María, descrita anteriormente, con la ayuda de una bomba.

2.2.2. Propiedades químicas del agua de pozo

Para la caracterización química del agua empleada, se ha realizado la determinación de los siguientes iones (**aniones**: cloruros, sulfatos, fosfatos, nitratos y nitritos; **cationes**: sodio, calcio, magnesio, potasio, hierro, aluminio) mediante cromatografía iónica. Todas las muestras se filtraron a través de un filtro de fibra de vidrio con 0.22 μm de diámetro de poro, utilizando una jeringa de 10 mL de capacidad, equipada con un cono (luer), antes de ser separadas por cromatografía.

Con la finalidad de separar los aniones de la muestra, ésta fue inyectada en una corriente de eluyente (3.5 mM Na_2CO_3 /1.0 mM NaHCO_3), con un caudal de 1.3 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, separándose los aniones a través de una columna separadora de iones Ionpac AS 14 (4 x 250 mm), compuesta por

una resina intercambiadora de aniones con base de divinilbenceno. El equipo empleado está provisto de precolumnas Ionpac AS (4 x 5 mm) para proteger la columna analítica.

Los aniones separados en las columnas se hicieron pasar por una membrana supresora (AMM-II), a través de la cual circulaba de forma continua una solución regeneradora ácida de H_2SO_4 (0.1 N). En dicha membrana, los aniones separados se transformaban en su forma ácida de alta conductividad y el disolvente se convierte en ácido carbónico de baja conductividad. La detección de los aniones se llevó a cabo con un detector de conductividad y compensación de temperatura de 1.3 a 2 % por $^{\circ}\text{C}$. La identificación se llevó a cabo a partir del tiempo de retención comparando con patrones y la determinación cuantitativa, mediante la evaluación de las áreas de cada pico en el cromatograma, tras establecer la calibración correspondiente con patrones de concentración conocida, comprobando previamente la linealidad de la respuesta en el intervalo de concentraciones seleccionado. Los rangos de concentración seleccionados para el proceso de calibración fueron los mostrados en la siguiente tabla:

Tabla 7.3. Calibrado con los aniones

Concentraciones ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	
Cl^-	3.0 - 20.0
NO_2^-	1.0 - 5.0
NO_3^-	1.0 - 10.0
PO_3^{-4}	1.0 - 5.0
SO_4^{-2}	3.0 - 20.0

En el caso de la determinación de cationes, se procedió siguiendo el mismo protocolo, pero en este caso se utilizó para la separación cromatográfica una columna de cationes Ionpac CS 12A (4 x 250 mm), con una fase estacionaria compuesta por divinilbenceno y un grupo funcional

de carboxilato. El eluyente fue una solución H_2SO_4 0.02 N y la supresión, a diferencia del caso de los aniones, no fue química sino eléctrica, empleándose en este caso una supresora de membrana CSRS - ultra - 4 mm. Para la detección, igual que en el caso anterior, se utilizó una célula de conductividad. El caudal del eluyente se fijó en $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y el detector se ajustó a $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. La fuente de alimentación de la supresora se mantuvo a una corriente de 100 mA. Como en el caso de los aniones, después de estabilizar el sistema, se inyectó un patrón, en este caso de cationes, para su comprobación.

De forma análoga al caso de los aniones, se realizó una calibración con patrones. En la tabla se muestran los rangos de concentración seleccionados para el proceso de calibración:

Tabla 7.4. Calibrado con los cationes

Concentraciones ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	
Na^+	5.0 - 20.0
K^+	2.0 - 5.0
Ca^{+2}	5.0 - 20.0
Mg^{+2}	2.0 - 20.0
Al^{+3}	0.01 - 5.0
Fe^{+3}	0.01 - 5.0

Tanto en la calibración de los aniones como la de los cationes, las disoluciones patrones empleadas se prepararon con agua destilada, diluyendo disoluciones acuosas de $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de cloruros, nitritos, nitratos, fosfatos, sulfatos, sodio, amonio, potasio, calcio y magnesio. Con objeto de detectar cambios de ajuste del detector o algún cambio en el sistema, se realizó una calibración cada 20 determinaciones.

En la **figura 7.9**, se muestra, a modo de ejemplo, uno de los

cromatogramas obtenidos durante el análisis de las muestras.

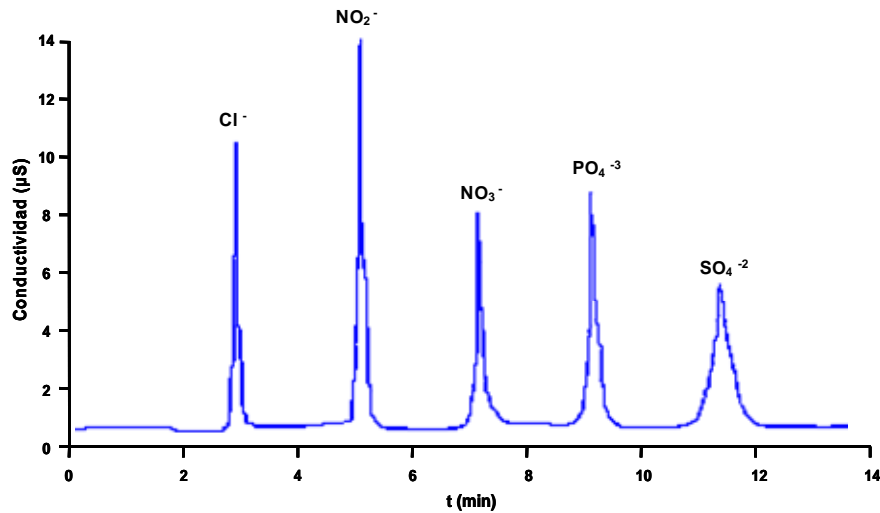


Figura 7.9. Cromatograma de determinación de los aniones

También, se determinó el pH y la conductividad eléctrica del agua. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Tabla 7.5. Propiedades químicas del agua de pozo

Propiedades Químicas			
Cl ⁻ (mg·L ⁻¹)	23.60	Na ⁺ (mg·L ⁻¹)	26.25
NO ₂ ⁻ (mg·L ⁻¹)	23.40	K ⁺ (mg·L ⁻¹)	6.00
NO ₃ ⁻ (mg·L ⁻¹)	60.60	Ca ⁺² (mg·L ⁻¹)	45.00
PO ₄ ⁻³ (mg·L ⁻¹)	43.60	Mg ⁺² (mg·L ⁻¹)	4.42
SO ₄ ⁻² (mg·L ⁻¹)	95.00	Al ⁺³ (mg·L ⁻¹)	0.02
pH	7.53	Fe ⁺³ (mg·L ⁻¹)	0.13
Conductividad (µS·cm ⁻¹)	890		

3. ESTUDIOS EN DISCONTINUO (BATCH)

La técnica utilizada¹⁹¹ para la realización de estos experimentos en discontinuo se denomina en tanque o "*batch*" y se basa en la agitación y mezcla con suelo, a temperatura constante, de disoluciones de los compuestos en estudio. Esta mezcla se agita durante tiempos determinados y posteriormente se separan, por centrifugación, las fases líquida y sólida. Con el fin de evaluar la cantidad de compuesto retenida por el suelo, se determina la concentración de cada especie en la disolución sobrenadante, calculando mediante un balance de materia la que corresponde a la fase sólida.

En primer lugar se realizó un estudio de la *relación suelo/disolución* adecuada, seguidamente se elaboraron las *cinéticas* tanto de adsorción como de desorción, y por último se realizaron las *isotermas* de adsorción y desorción, para las familias de surfactantes LAS y AS. En el caso del LAS se utilizó la mezcla comercial indicada en el capítulo 1, donde los 4 homólogos se encuentran juntos. Para el caso del AS, al disponer de los homólogos por separado, se pudieron realizar los estudios de cada homólogo individualmente.

Tanto en los estudios en discontinuo como en continuo, todas las experiencias se realizaron en un laboratorio climatizado a 20 °C. Además, se descartó el uso de la disolución 0.01 M de CaCl₂ indicada en las guías^{191,192} ya que, al suponer un gran aporte de calcio al medio, se podría producir la precipitación de los surfactantes.

¹⁹¹ OECD. Guideline for the testing of chemicals. *Adsorption-desorption using a batch Equilibrium Method*. 106, 21st January 2000.

¹⁹² OECD. Guideline for the testing of chemicals. *Leaching in soil columns*. 312, 13 April 2004.

El análisis de los tensioactivos en cada uno de los sobrenadantes se realizó mediante LC-MS/MS según la metodología desarrollada en la presente Memoria. Para ello, se construyeron las funciones de calibración en sobrenadante. El sobrenadante necesario se preparó mezclando en una botella de vidrio 125 g de suelo exento de tensioactivos con 500 mL de agua destilada, y sometiendo esta mezcla a agitación durante 2 días mediante el uso de un agitador orbital. Pasados 2 días, mediante centrifugación se recogió el sobrenadante. Las funciones de calibración en sobrenadante se prepararon a los mismos niveles mostrados en el capítulo 5 de la presente Memoria de Doctorado, dopando 1 mL del sobrenadante obtenido con 1 mL de la disolución de dopado correspondiente. La muestra así preparada evaporó completamente bajo una corriente de nitrógeno y a 50 °C, se reconstituyó y se analizó según la metodología propuesta.

Mediante comparación entre las funciones de calibrado en sobrenadante y en disolvente (calibración externa) se comprobó que no existía efecto matriz. Por lo tanto, a la hora de cuantificar las muestras de los estudios en discontinuo y continuo, se utilizaron las funciones de calibración obtenidas en disolvente. En algunos casos, fue necesario realizar una dilución de la muestra para conseguir que la concentración de analito se encontrara dentro del RDL del método (en general, factor de dilución de 10).

3.1. Relación suelo/disolución

Dependiendo del coeficiente de distribución, K_d , la selección de una relación suelo/disolución es básica para el desarrollo de los estudios de adsorción. Si la relación suelo/disolución es demasiado elevada, se corre el riesgo de que la sustancia en estudio quede en su mayor parte retenida y se dificulte su determinación y cuantificación posterior. Por el contrario, si

la relación es demasiado baja, se podrían modificar las condiciones físico-químicas del suelo en estudio al producirse fenómenos de intercambio iónico que alteran la superficie de las partículas del suelo.

La relación suelo/disolución óptima puede determinarse de forma teórica mediante el uso de modelos basados en K_d , que a su vez puede ser predicho gracias a técnicas de estimación basadas en el coeficiente de distribución en n-octano (P_{ow}). Sin embargo, resulta más conveniente determinar esta relación experimentalmente, ya que estos modelos no se pueden extrapolar de manera general a todo tipo de suelos y sustancias.

Para calcular experimentalmente la relación suelo/disolución más adecuada se siguió el siguiente procedimiento operatorio: se pusieron en contacto diferentes cantidades de suelo (0.25, 2.5 y 5.0 g) con 20 mL de disolución del analito en frascos de polipropileno de 67 cm³ de capacidad. Para el LAS se preparó una única disolución de 100 mg·L⁻¹ de LAS total en agua destilada. En el caso de los AS, el estudio se realizó por separado, preparando 4 disoluciones en agua destilada, una para cada homólogo, a una concentración de 10 mg·L⁻¹. Una vez preparados los frascos se sometieron a una agitación rotatoria durante 2 días, tiempo suficiente para asegurarse que hubieran alcanzado el equilibrio, en agitador orbital de tubos, **figura 7.10**.

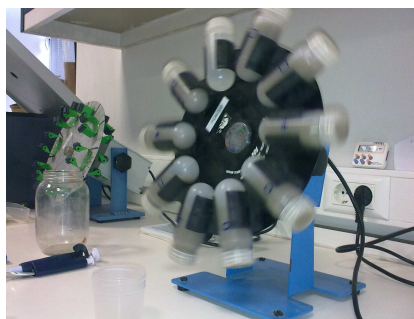


Figura 7.10. Agitador orbital de tubos

Este dispositivo mantenía la velocidad adecuada que aseguraba la homogeneidad de la suspensión, evitando el apelmazamiento del suelo en el extremo del frasco. Con esta situación se asume un modelo físico de un sistema de partículas de suelo completamente disperso, donde toda la superficie de las partículas está expuesta y disponible para interactuar con los analitos.

La concentración de surfactante retenido por el suelo se determinó de forma *indirecta*. Por ello después de cada agitación, se cuantificó la cantidad de analito en la disolución sobrenadante, aceptándose que la diferencia existente entre la cantidad de tensioactivo original de la disolución puesta en contacto con el suelo y la cantidad de tensioactivo del líquido sobrenadante era la cantidad de tensioactivo adsorbida por el suelo. Con objeto de asegurar este hecho, se agitaron durante un tiempo suficientemente alto disoluciones control de tensioactivo, en las mismas condiciones pero sin suelo, llegando a la conclusión de que no se producían fenómenos de adsorción por el material utilizado en la experiencia, bio y/o fotodegradación, etc., que podrían contribuir en la disminución de la cantidad de tensioactivo observada. También se comprobó la equivalencia entre trabajar con disoluciones en agua destilada o en agua de pozo, estableciéndose. En la **figura 7.11**, se muestran los resultados obtenidos.

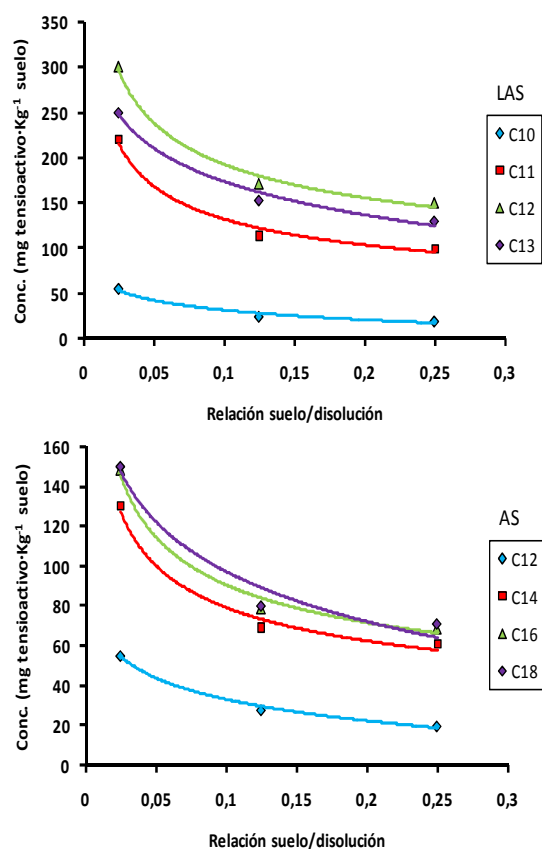


Figura 7.11. Concentración de los diferentes homólogos del LAS y de los AS retenida en función de la relación suelo/disolución

En las figuras se observa que la cantidad retenida de cada homólogo, tanto en el caso del LAS como de los AS, disminuye a medida que aumenta la proporción de suelo. Como situación de compromiso se seleccionó la relación 1/8 (0.125) 2.5 g de suelo y 20 mL de disolución, ya que permite una cuantificación adecuada y los fenómenos de intercambio iónico resultan minimizados.

3.2. Cinéticas de adsorción

Con el objetivo de determinar el tiempo mínimo necesario para alcanzar el equilibrio en la suspensión suelo/disolución, se prepararon una serie de frascos de polipropileno de 67 cm³ de capacidad, debidamente etiquetados, en cada uno de los cuales se introdujeron 2.5 g de suelo y se añadieron 20 mL de disolución acuosa del surfactante correspondiente. Para el LAS se preparó una única disolución de 100 mg·L⁻¹ de LAS total en agua destilada. En el caso de los AS, el estudio se realizó por separado, preparando 4 disoluciones en agua destilada, una para cada homólogo, a una concentración de 10 mg·L⁻¹. Los frascos se agitaron en agitador orbital durante diferentes tiempos, a una velocidad de 12 rpm, y 20 °C. Una vez transcurrido el tiempo de agitación para cada frasco, se separó la fase sólida por centrifugación a 5000 rpm durante 15 minutos. A continuación, el sobrenadante se analizó según la metodología desarrollada. Para cada punto experimental se realizó una réplica. En la **tabla 7.6**, se muestran las condiciones empleadas para este estudio.

Tabla 7.6. Condiciones para el estudio de las cinéticas de adsorción

Adsorbato	Concentración inicial (mg·L ⁻¹)	Tiempo de agitación (a 12 rpm)	Relación suelo/disolución	Temperatura (°C)
LAS Comercial	100	2; 5; 8; 15 y 30 min; y 1; 2; 3; 6; 10; 24; 36; 49 y 61 h	(1/8)	20 °C
AS C ₁₂	10			
AS C ₁₄	10	2; 5; 8; 15 y 30 min; y 1; 2		
AS C ₁₆	10	y 3 h		
AS C ₁₈	10			

De esta forma se obtuvieron las curvas que muestran la evolución de la cantidad adsorbida de cada homólogo por unidad de masa de suelo frente al tiempo. Los resultados obtenidos se muestran en las **figuras 7.12-7.13**.

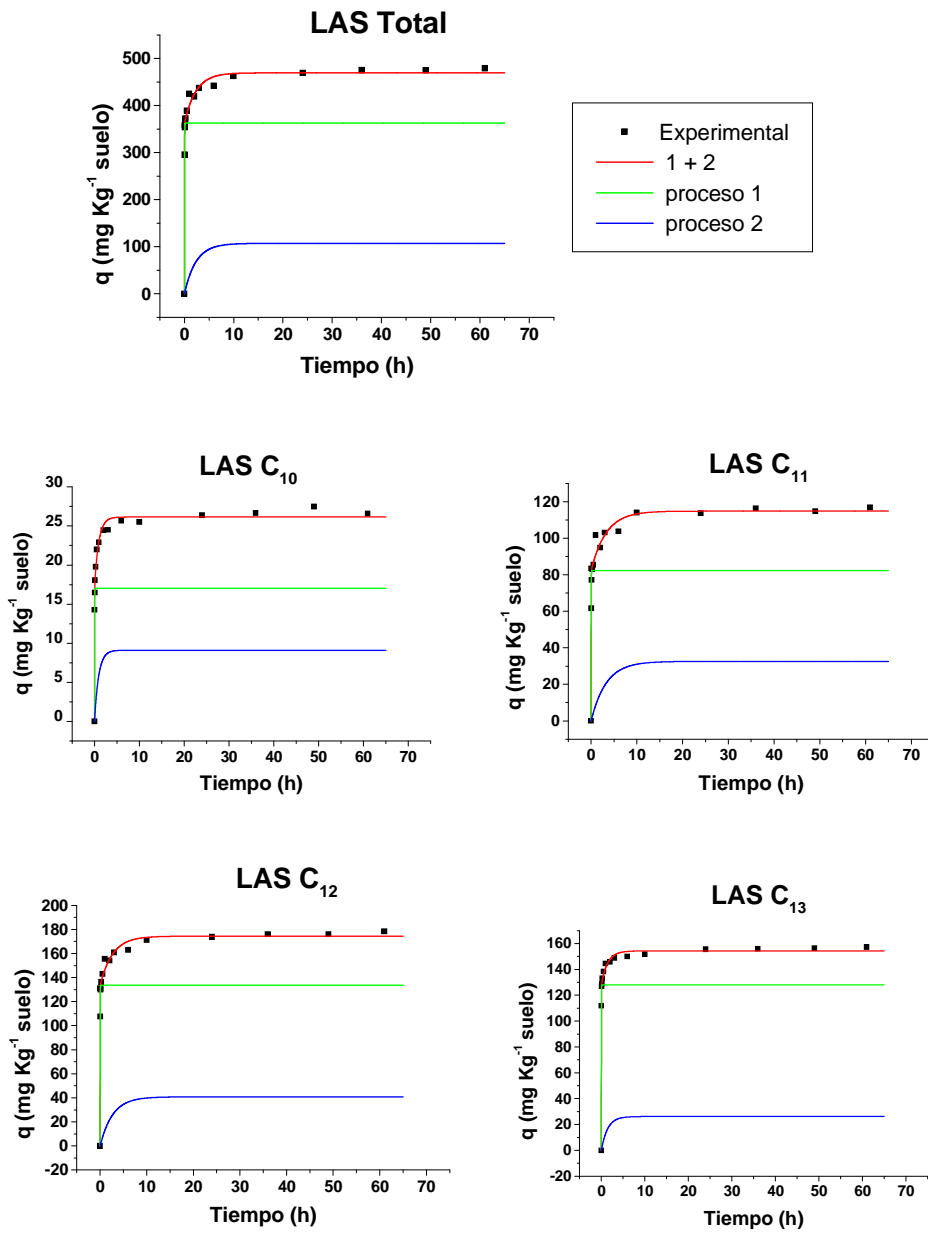


Figura 7.12. Cinéticas de adsorción para LAS

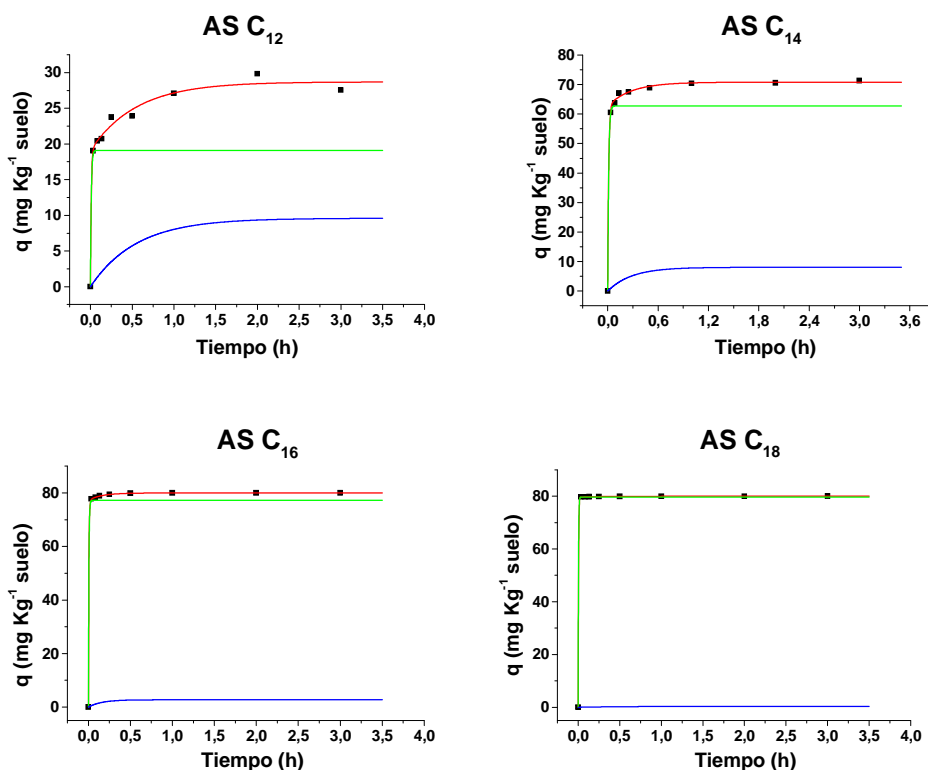


Figura 7.13. Cinéticas de adsorción para AS

El estudio de las cinéticas de adsorción demostró que, bajo las condiciones experimentales establecidas, la adsorción de los dos tensioactivos es muy rápida. La mayor parte de la cantidad final adsorbida se alcanza en los primeros momentos de contacto del experimento. El tiempo necesario para alcanzar el equilibrio entre el suelo y la disolución empleada en el proceso de adsorción, para el caso del LAS se estableció en 24 h, y en el caso del AS en 2 h. Para las dos familias estudiadas, el mejor ajuste de los datos experimentales, como muestran los altos valores obtenidos para el coeficiente de determinación, se obtuvo utilizando un modelo cinético de primer orden múltiple, **ecuación 7.10**. En la **tabla 7.7** se muestran los parámetros del ajuste.

Tabla 7.7. Parámetros del ajuste para las cinéticas de adsorción

Surfactante	$k_{a,1}$ (h^{-1})	$k_{a,2}$ (h^{-1})	$q_{e,1}$ ($mg \cdot kg^{-1}$)	$q_{e,2}$ ($mg \cdot kg^{-1}$)	$q_{e(1+2)}$ (%)	R^2 (%)
LAS C ₁₀	49.0	1.090	17.0	9.10	23.4	98.9
LAS C ₁₁	41.7	0.305	82.3	32.6	44.6	98.3
LAS C ₁₂	48.0	0.376	133	40.8	70.8	99.3
LAS C ₁₃	60.5	0.700	128	26.2	83.8	99.7
LAS Total	49.5	0.429	362	107	58.7	99.3
AS C ₁₂	103	1.82	19.1	9.59	35.9	99.1
AS C ₁₄	90.0	3.53	62.7	8.04	88.5	99.9
AS C ₁₆	170	6.37	77.3	2.73	99.9	99.9
AS C ₁₈	246	2.49	79.7	0.324	99.9	99.9

Los resultados del ajuste de los datos experimentales, tanto para LAS como para AS, demuestran la existencia de dos procesos simultáneos de adsorción. El proceso más rápido (mayor k_a), proceso 1, se puede asignar a la adsorción en la superficie externa de las partículas del suelo (macro-poros); y el más lento (menor k_a), proceso 2, a la adsorción en el interior del espacio intraparticular (micro-poros), puesto que ello implica una etapa de difusión que hace disminuir la velocidad (el proceso 2, de adsorción en los micro-poros es especialmente difusivo). Al proceso 1 y al proceso 2 también se les puede clasificar como macro-transporte y micro-transporte, respectivamente.

En general, se observó que para los macro-poros, tanto la velocidad de adsorción ($k_{a,1}$) como la cantidad retenida ($q_{e,1}$) aumentaba al aumentar la longitud de la cadena hidrocarbonada del tensioactivo. Esto se puede deber a que si las cadenas son lineales, el tamaño de la molécula aumenta a medida que lo hace el número de átomos de carbono, con lo que, a su vez, aumentan las interacciones por Van der Waals entre la molécula de

tensioactivo y los centros activos del suelo. En tal caso, cabe esperar que a medida que aumenta el número de átomos de carbono lo haga también tanto la velocidad del proceso como la cantidad retenida.

En cuanto a los micro-poros, en general, se observó una tendencia contraria a la observada para los macro-poros. Este comportamiento puede ser atribuido a que en este caso adquieren cierta relevancia los impedimentos estéricos. Al aumentar el tamaño de la molécula de tensioactivo se dificulta su difusión hacia el interior del espacio intraparticular disminuyendo así tanto la velocidad del proceso como la cantidad retenida. En los macro-poros los impedimentos estéricos no son significativos, siendo más influyentes las interacciones de Van der Waals. Los resultados experimentales son coherentes con estas hipótesis.

En todos los casos la cantidad retenida en los macro-poros fue mayor que la retenida en los micro-poros. El porcentaje total retenido (macro-poros + micro-poros) aumentaba con la longitud de la cadena hidrocarbonada. Para los 2 homólogos más pesados de la familia de los AS, el AS C₁₆ y AS C₁₈, se obtuvo una gran retención (99.9 %), pasando casi en su totalidad a la fase sólida y quedando muy poca cantidad en equilibrio en la disolución. Además, en estos dos casos, el modelo mostró que la retención tenía lugar casi exclusivamente en la superficie más externa del suelo (macro-poros). Todo esto puede indicar que se está produciendo una precipitación.

3.3. Cinéticas de desorción

De forma similar a la anterior, se estableció el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio en el proceso de desorción de los surfactantes previamente adsorbidos al suelo. Para ello, se preparó una serie de frascos con contenido idéntico a la experiencia anterior, en la que previamente se llevó a cabo el proceso de adsorción durante 24 h en el caso del LAS y durante 2 h para los AS. A continuación, se centrifugaron a 5000 rpm durante 15 min para retirar la fase líquida y se añadió 20 mL de agua milli-Q a cada uno de ellos. Los frascos así preparados, se agitaron mecánicamente, con un agitador giratorio orbital a 12 rpm, y a temperatura de 20 °C durante distintos tiempos, 2, 5, 8, 15 y 30 min y 1, 2, 3, 6, 10, 24, 34 y 48 h para el LAS y 2, 5, 8, 15 y 30 min y 1, 2 y 3 h para los AS con la finalidad de desorber el analito del suelo. Por último, se separó la fase sólida de la líquida, mediante otra centrifugación a 5000 rpm durante 15, para analizar el sobrenadante según la metodología desarrollada. Para cada punto experimental se realizó una réplica.

De esta forma se obtuvieron las curvas que muestran la evolución de la cantidad desorbida de cada homólogo por unidad de masa de suelo frente al tiempo. Los resultados obtenidos se muestran en las **figuras 7.14 - 7.15**.

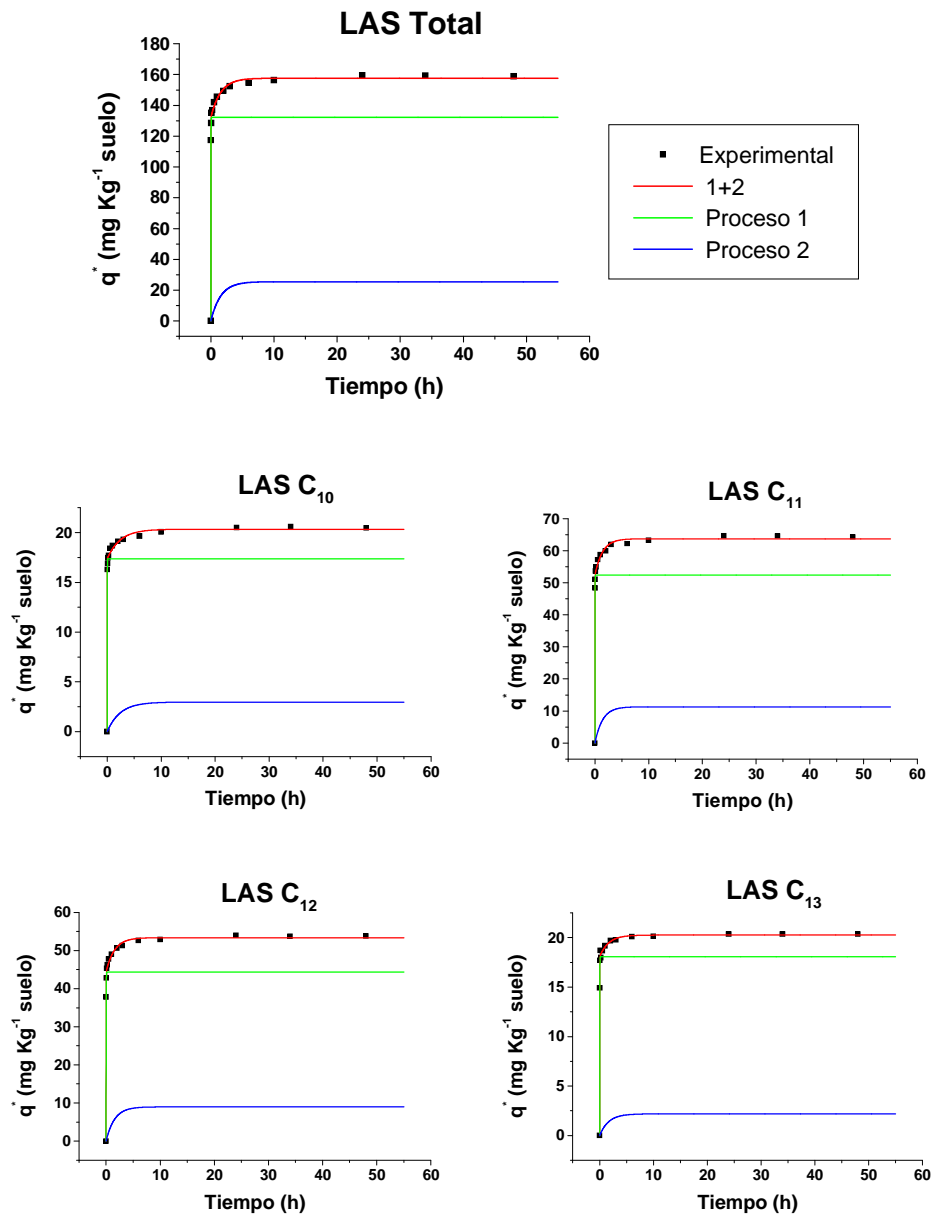


Figura 7.14. Cinéticas de desorción para LAS

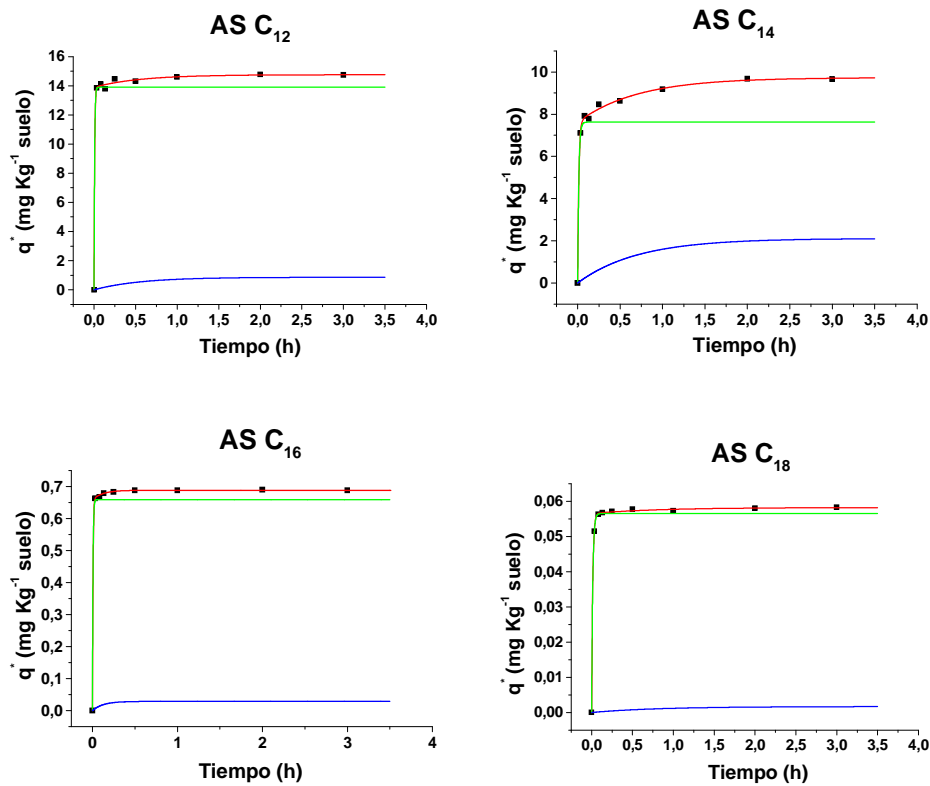


Figura 7.15. Cinéticas de desorción para AS

El estudio de las cinéticas de desorción demostró que, bajo las condiciones experimentales establecidas, la desorción de los dos tensioactivos es muy rápida. La mayor parte de la cantidad final desorbida se alcanza en los primeros momentos de contacto del experimento. El tiempo necesario para alcanzar el equilibrio entre el suelo y la disolución empleada en el proceso de desorción, para el caso del LAS se estableció en 24 h, y en el caso del AS de 2 h.

Para las dos familias estudiadas, el mejor ajuste de los datos experimentales, como muestran los altos valores obtenidos para el coeficiente de determinación, se obtuvo utilizando un modelo cinético de

desorción de primer orden múltiple, **ecuación 7.12**. En la **tabla 7.8** se muestran los parámetros del ajuste.

Tabla 7.8. Parámetros del ajuste para las cinéticas de desorción

Surfactante	$k_{d,1}$ (h^{-1})	$k_{d,2}$ (h^{-1})	$q_{e,1}^*$ ($mg\ kg^{-1}$)	$q_{e,2}^*$ ($mg\ kg^{-1}$)	$q_{e(1+2)}^*$ (%)	R^2 (%)
LAS C ₁₀	81.7	0.418	17.4	2.97	77.8	99.7
LAS C ₁₁	74.0	0.709	52.4	11.3	55.5	99.7
LAS C ₁₂	55.3	0.643	44.4	8.99	30.6	99.8
LAS C ₁₃	51.6	0.604	18.1	2.19	13.1	99.9
Total LAS	63.7	0.643	132	25.5	33.6	99.8
AS C ₁₂	151	1.80	13.9	0.862	51.4	99.9
AS C ₁₄	75.7	1.42	7.62	2.11	13.8	99.8
AS C ₁₆	156	8.22	0.659	0.0291	0.90	99.9
AS C ₁₈	71.1	1.22	0.0565	0.00168	0.10	99.9

Al igual que en las cinéticas de adsorción, los resultados del ajuste de los datos experimentales, tanto para el LAS como para los AS, demostraron la existencia de dos procesos simultáneos de desorción. De forma similar a la anterior, se asignaron a un proceso rápido de desorción en la superficie externa de las partículas del suelo (macro-poros), proceso 1, y a otro más lento especialmente difusivo de desorción en el espacio intraparticular (micro-poros), proceso 2.

En general, se observó que en los macro-poros, tanto la velocidad de desorción como la cantidad desorbida, disminuían al aumentar la longitud de la cadena hidrocarbonada del tensioactivo, lo cual puede razonarse, de forma similar a la anterior, teniendo en cuenta la variación de las interacciones de Van der Waals. Para los micro-poros no se observó una tendencia clara al variar la longitud de la cadena hidrocarbonada. En todos los casos la cantidad desorbida de los macro-poros, fue mayor que la desorbida de los micro-poros. El porcentaje total desorbido (macro-poros +

micro-poros) disminuía al aumentar la longitud de la cadena carbonada. Las cantidades desorbidas para el AS C₁₆ y AS C₁₈ fueron muy bajas (0.86 y 0.07 % respectivamente) lo que, al igual que en las cinéticas de adsorción, nos indica un posible fenómeno de precipitación para estos tensioactivos.

3.4. Control del pH

El proceso de adsorción/desorción está fuertemente condicionado por el pH, ya que tanto la carga de la materia orgánica como la de las arcillas del suelo dependen de él. En las experiencias realizadas, se midió el pH al inicio de la experiencia (t_0) y una vez alcanzado el equilibrio (t_{24} para el LAS y t_2 para AS) de las diferentes mezclas suelo/disolución estudiadas. En **tabla 7.9**, se recogen los valores obtenidos.

Tabla 7.9. Valores de pH de los sistemas estudiados

Agua Milli-Q	pH: 5.84	AS C ₁₄ 10 mg·L ⁻¹	pH: 5.73
LAS 100 mg·L ⁻¹	pH: 5.79	AS C ₁₆ 10 mg·L ⁻¹	pH: 5.74
AS C ₁₂ 10 mg·L ⁻¹	pH: 5.73	AS C ₁₈ 10 mg·L ⁻¹	pH: 5.75
LAS 100 ppm y suelo - t_0	pH: 7.96	LAS 100 ppm y suelo - t_{24}	pH: 8.01
AS C ₁₂ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_0	pH: 8.00	AS C ₁₂ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_2	pH: 8.00
AS C ₁₄ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_0	pH: 8.01	AS C ₁₄ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_2	pH: 8.01
AS C ₁₆ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_0	pH: 8.01	AS C ₁₆ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_2	pH: 8.02
AS C ₁₈ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_0	pH: 8.03	AS C ₁₈ 10 mg·L ⁻¹ y suelo - t_2	pH: 8.04
H ₂ O Milli-Q y LAS adsorbido en suelo - t_0	pH: 8.10	H ₂ O Milli-Q y suelo - t_{24}	pH: 8.11
H ₂ O Milli-Q y AS C ₁₂ adsorbido en suelo - t_0	pH: 8.12	H ₂ O Milli-Q y suelo - t_2	pH: 8.14
H ₂ O Milli-Q y AS C ₁₄ adsorbido en suelo - t_0	pH: 8.11	H ₂ O Milli-Q y suelo - t_2	pH: 8.13
H ₂ O Milli-Q y AS C ₁₆ adsorbido en suelo - t_0	pH: 8.13	H ₂ O Milli-Q y suelo - t_2	pH: 8.13
H ₂ O Milli-Q y AS C ₁₈ adsorbido en suelo - t_0	pH: 8.17	H ₂ O Milli-Q y suelo - t_2	pH: 8.15

Puede observarse que no existió una variación significativa durante el transcurso de las experiencias realizadas.

3.5. Isotermas de adsorción

Una vez establecido el tiempo de agitación necesario para alcanzar el equilibrio en los procesos de adsorción y desorción, se procedió a realizar las correspondientes isotermas en el equilibrio para LAS y AS.

En primer lugar, para la isoterma de adsorción, se pusieron en agitación distintas disoluciones de concentración creciente del surfactante con suelo. Del mismo modo en el que se desarrollaron las experiencias anteriores, se trabajó en la relación suelo/disolución establecida (2.5 g de suelo y 20 mL de disolución), en frascos de polipropileno de 67 cm³ de capacidad y a una temperatura de 20 °C. Transcurrido el tiempo fijado para alcanzar el equilibrio de adsorción (24 horas para el LAS y 2 h para los AS), las muestras se centrifugaron (5000 rpm durante 15 minutos) y se analizaron en el sobrenadante los distintos tensioactivos según la metodología desarrollada. El suelo sedimentado en el frasco se utilizó en las siguientes experiencias de desorción en el equilibrio. Para cada punto experimental se realizó una réplica.

En la **tabla 7.10** se resumen las condiciones empleadas en este estudio:

Tabla 7.10. Condiciones para el estudio de las isotermas de adsorción

Adsorbato	Concentración inicial (mg·L ⁻¹)	Tiempo de agitación (12 rpm)	Relación suelo/disolución	Temperatura (°C)
LAS Comercial	5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 60, 80, 100, 150, 180, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1200, 1400, 1600 y 1800	24 h	(1/8)	20 °C
AS C ₁₂				
AS C ₁₄	5, 7, 10, 15, 20,	2 h		
AS C ₁₆	25, 30 y 45			
AS C ₁₈				

A partir de los resultados obtenidos, se efectuó el tratamiento de datos para establecer las curvas que muestran la evolución de la cantidad de surfactante retenida por el suelo en función de la cantidad que queda en disolución en equilibrio. Los resultados obtenidos se muestran en las **figuras 7.16 - 7.17**.

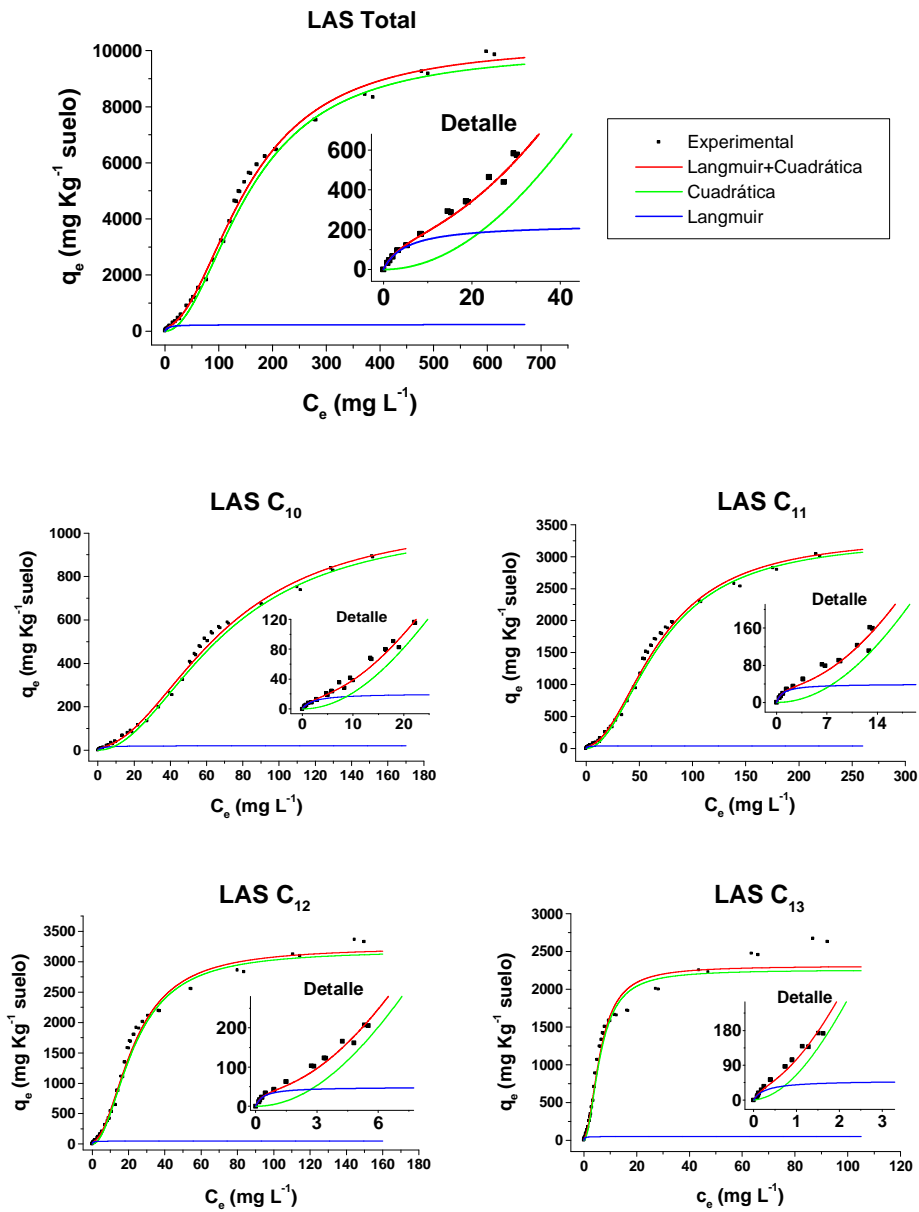


Figura 7.16. Isotermas de adsorción en el equilibrio para LAS

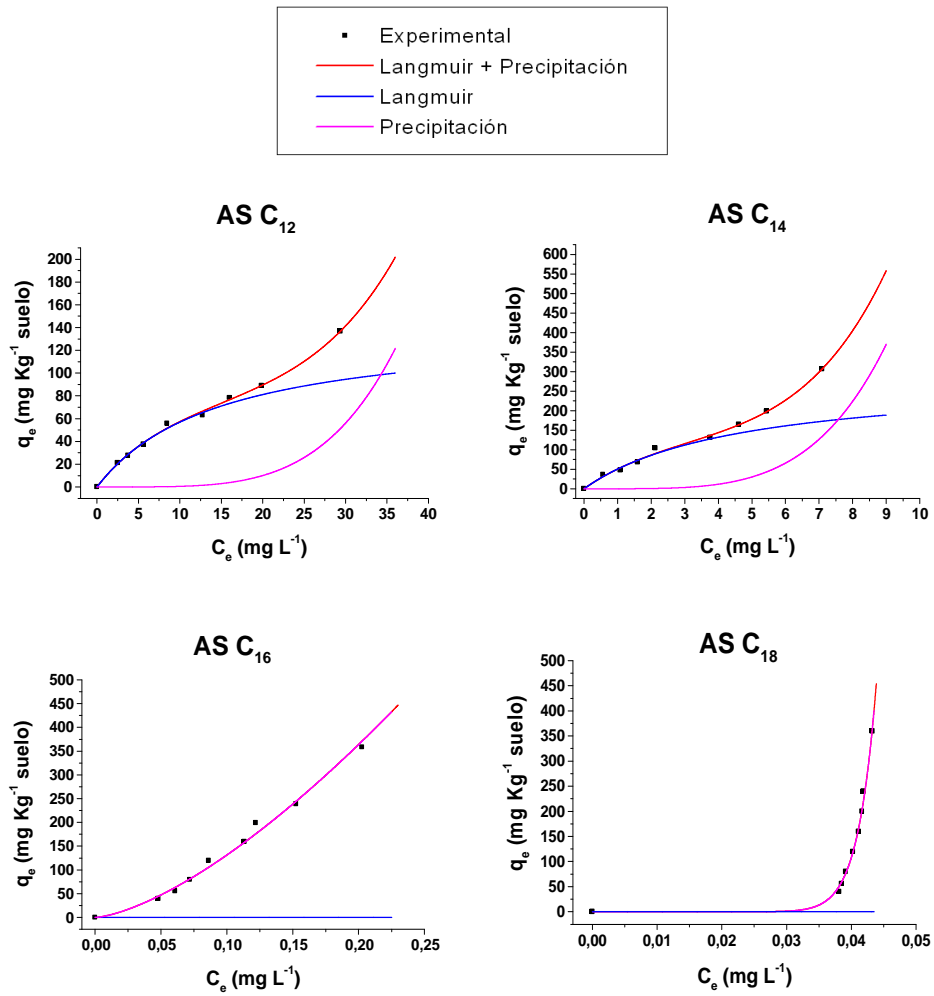


Figura 7.17. *Isotermas de adsorción en el equilibrio para AS*

En las **figuras 7.18 - 7.19** se puede observar de forma conjunta el comportamiento en el equilibrio de adsorción para cada uno de los 4 homólogos de las dos familias estudiadas.

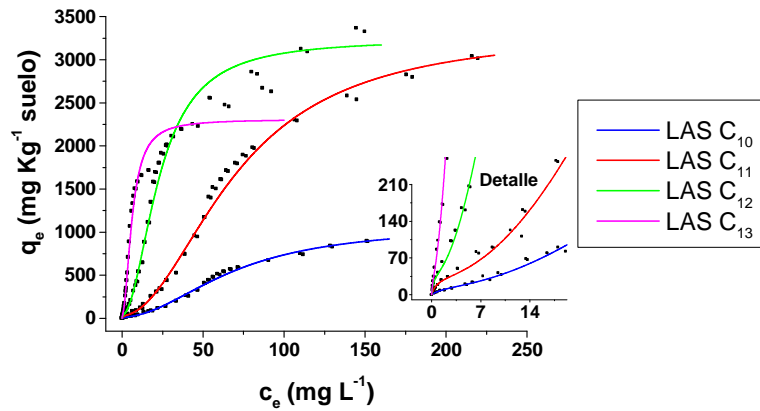


Figura 7.18. Representación conjunta de las isothermas de adsorción para LAS

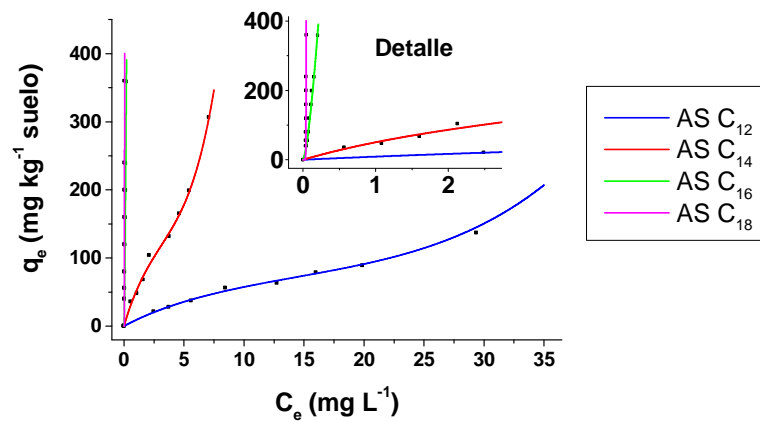


Figura 7.19. Representación conjunta de las isothermas de adsorción para AS

Para las dos familias estudiadas, el mejor ajuste para todo el rango de concentración de las isothermas, como muestran los altos valores obtenidos para el coeficiente de determinación, se obtuvo utilizando modelos multi-término. En el caso del LAS el modelo fue Langmuir + Cuadrático, **ecuación 7.22**, y para los AS el modelo fue Langmuir + Precipitación, **ecuación 7.20**. En la **tabla 7.11** se muestran los parámetros de los distintos ajustes.

Tabla 7.11. Parámetros del ajuste para las isotermas de adsorción

Surfactante	K_L (L·mg ⁻¹)	$q_{max L}$ (mg·kg ⁻¹)	b_1 (L·mg ⁻¹)	b_2 (L ² ·mg ⁻²)	$q_{max Q}$ (mg·kg ⁻¹)	R^2 (%)
LAS C ₁₀	0.44	20.8	$1.00 \cdot 10^{-20}$	$2.10 \cdot 10^{-3}$	528.6	99.6
LAS C ₁₁	1.10	39.9	$4.89 \cdot 10^{-21}$	$2.00 \cdot 10^{-3}$	1648.6	99.4
LAS C ₁₂	2.63	49.1	$1.23 \cdot 10^{-18}$	$1.90 \cdot 10^{-3}$	1594.5	99.3
LAS C ₁₃	3.55	50.5	$9.85 \cdot 10^{-3}$	$2.50 \cdot 10^{-2}$	1129.9	99.0
LAS Total	0.19	230	$9.23 \cdot 10^{-21}$	$4.00 \cdot 10^{-5}$	5023.7	99.7
	K_L (L·mg ⁻¹)	$q_{max L}$ (mg·kg ⁻¹)	A	m	R^2 (%)	
AS C ₁₂	0.068	141	$3.00 \cdot 10^{-5}$	4.24	99.6	
AS C ₁₄	0.213	287	$3.18 \cdot 10^{-2}$	4.26	99.0	
AS C ₁₆	$1.43 \cdot 10^{-7}$	$1.30 \cdot 10^{-4}$	$3.88 \cdot 10^3$	1.47	98.7	
AS C ₁₈	$5.98 \cdot 10^{-10}$	$4.30 \cdot 10^{-6}$	$7.58 \cdot 10^{23}$	15.6	99.4	

- A. Discusión para LAS.** A baja concentración su adsorción sigue el modelo de Langmuir, la isoterma tiene una pendiente inicial elevada que disminuye rápidamente al aumentar la concentración; la isoterma es convexa hacia arriba con una pequeña capacidad de saturación ($q_{max,L}$). El comportamiento en esta primera fase se puede atribuir a la formación de una monocapa ideal (hemimicela) donde no hay interacciones surfactante-surfactante. Esta fase tiene lugar en un rango tan bajo de concentraciones que es difícil de ver en la isoterma completa. Por esta razón, en cada isoterma se incluye una gráfica de detalle donde se puede apreciar mejor este comportamiento. A moderada y alta concentración, el término cuadrático explica la isoterma tipo S. Para todos los homólogos del LAS, al alcanzar una concentración moderada, se produce un punto de inflexión y la curvatura de la isoterma se invierte por lo que la isoterma se vuelve cóncava hacia arriba. Desde ese punto la pendiente de la isoterma aumenta al aumentar las concentraciones

en la fase líquida. Este cambio a concentraciones moderadas se podría explicar por la aparición de las interacciones surfactante-surfactante, dando lugar a la formación de una bicapa (admicela). A alta concentración, aparece un segundo punto de inflexión y la isoterma pasa a ser convexa hacia arriba de nuevo, y la concentración en la fase sólida tiende hacia la capacidad de saturación. Este comportamiento puede ser atribuido a la formación de micelas y la isoterma tiende hacia la saturación.

Se puede observar como los valores de K_L y $q_{max,L}$ aumentan a medida que lo hace la longitud de la cadena alquílica para cada homólogo, corroborándose así que aquellos homólogos de cadena más larga (y por tanto con un mayor carácter hidrofóbico) son más fuertemente retenidos por el suelo. Igualmente, el coeficiente b_2 del término cuadrático aumenta al aumentar la longitud de la cadena alquílica, lo cual puede ser atribuido al aumento de las interacciones surfactante-surfactante al aumentar la longitud de la cadena, causando un aumento en la curvatura de la isoterma.

- B. Discusión para AS.** Los dos fenómenos observados fueron una adsorción tipo Langmuir y una precipitación. Para los homólogos cortos, C_{12} y C_{14} a baja concentración, la isoterma sigue un comportamiento tipo Langmuir, la isoterma tiene una pendiente inicial elevada que disminuye rápidamente al aumentar la concentración; la morfología de la isoterma es convexa hacia arriba con una pequeña capacidad de saturación ($q_{max,L}$). El comportamiento en esta primera fase se puede atribuir a la formación de una monocapa ideal (hemimicela) donde no hay interacciones surfactante-surfactante. Esta fase tiene lugar en un rango bajo de concentraciones. A una concentración moderada, las isotermas de ambos homólogos tienen un punto de inflexión y la curvatura de la

isoterma se invierte por lo que la isoterma se vuelve cóncava hacia arriba. Desde ese punto la pendiente de la isoterma aumenta al aumentar las concentraciones en la fase líquida. Este cambio de comportamiento a concentraciones moderadas se podría explicar por la aparición del fenómeno de precipitación. Para los homólogos largos, C_{16} y C_{18} , prácticamente es el fenómeno de precipitación el que gobierna el comportamiento en todo el rango de concentraciones, siendo despreciable la contribución por adsorción.

El comportamiento en el equilibrio de adsorción obtenido para los AS está en concordancia con los datos obtenidos en las cinéticas de adsorción/desorción.

3.6. Isotermas de desorción

Para realizar las experiencias de desorción en el equilibrio para cada tensioactivo, se partió de un suelo que previamente había alcanzado el equilibrio de adsorción. Para ello, se utilizaron los frascos con el suelo sedimentado provenientes del experimento anterior, a los que se añadieron 20 mL de agua Milli-Q y se agitaron mecánicamente, con un agitador giratorio orbital a 12 rpm con la finalidad de desorber el correspondiente tensioactivo del suelo. Los tiempos de agitación, previamente establecidos en las cinéticas de desorción, fueron de 24 h para el LAS y 2 h para los AS. A continuación, se separó, de nuevo, la fase sólida de la líquida, mediante centrifugación a 5000 rpm durante 15 minutos, y se analizaron los distintos tensioactivos en el sobrenadante. A partir de los resultados obtenidos, se efectuó el tratamiento de datos para establecer las curvas que muestran la evolución de la cantidad de surfactante retenida por el suelo en función de la cantidad que se

encuentra en disolución en equilibrio. A continuación, en las **figuras 7.20 - 7.21** se recogen, los resultados obtenidos.

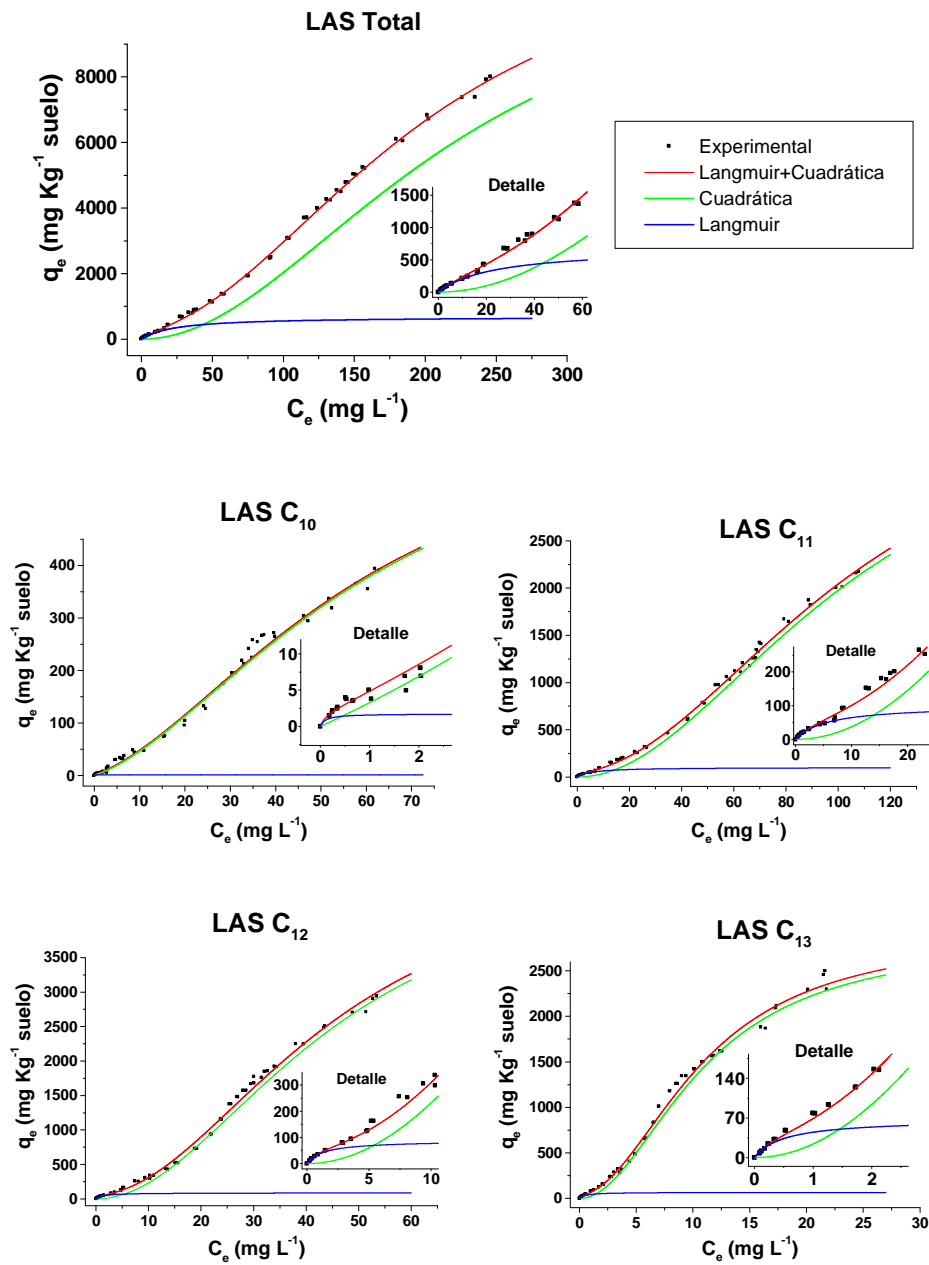


Figura 7.20. Isotermas de desorción en el equilibrio para LAS

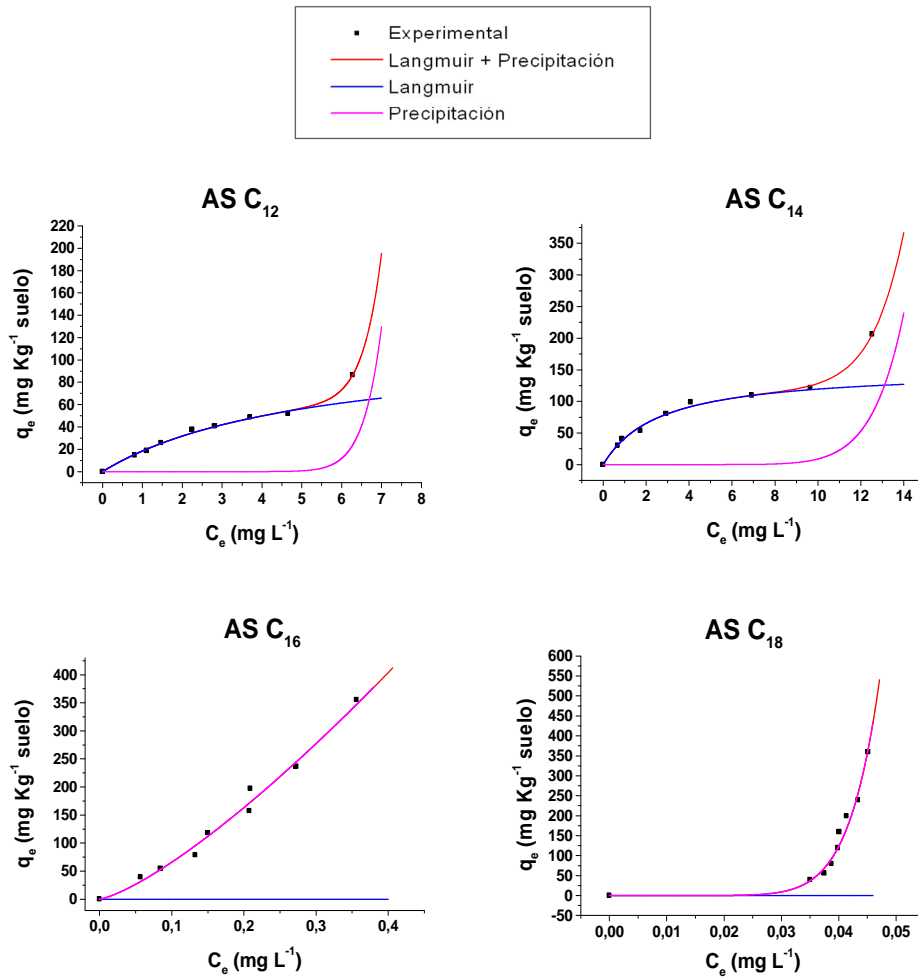


Figura 7.21. Isotermas de desorción en el equilibrio para AS

En las **figuras 7.22 - 7.23** se puede observar de forma conjunta el comportamiento en el equilibrio de desorción para cada uno de los 4 homólogos de las dos familias estudiadas.

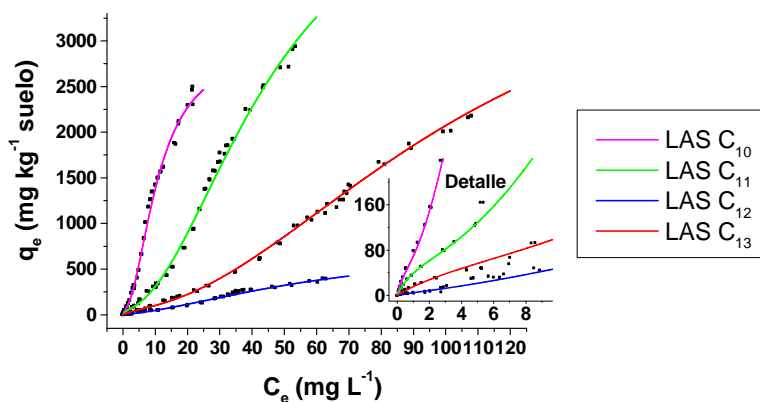


Figura 7.22. Representación conjunta de las isothermas de desorción para LAS

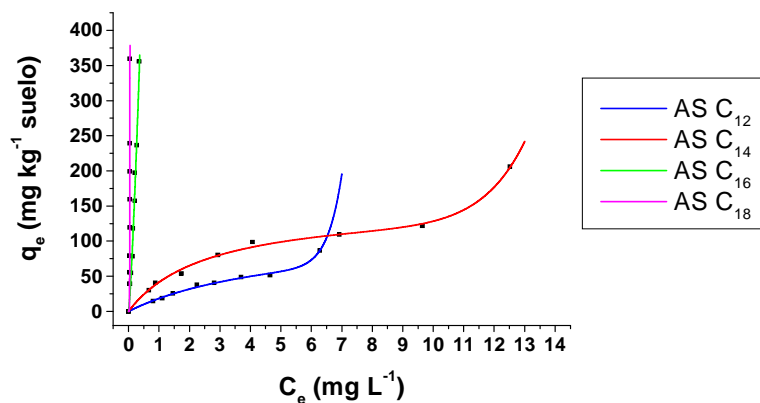


Figura 7.23. Representación conjunta de las isothermas de desorción para AS

Al igual que las isothermas de adsorción, los datos experimentales de las isothermas de desorción se ajustaron al modelo de Langmuir + Cuadrático, **ecuación 7.22**, en el caso del LAS y al modelo de Langmuir + Precipitación, **ecuación 7.20**, en el caso de los AS. En ambos casos se obtuvieron altos valores para el coeficiente de determinación lo que indica un buen ajuste de los modelos a los datos. En la **tabla 7.12** se muestran los parámetros obtenidos de los distintos ajustes.

Tabla 7.12. Parámetros del ajuste para las isotermas de desorción

Surfactante	K_L (L mg ⁻¹)	$q_{max L}$ (mg Kg ⁻¹)	b_1 (L mg ⁻¹)	b_2 (L ² mg ⁻²)	$q_{max Q}$ (mg Kg ⁻¹)	R^2 (%)
LAS C ₁₀	9.32	1.74	$8.17 \cdot 10^{-3}$	$2.7 \cdot 10^{-4}$	379.9	99.1
LAS C ₁₁	0.173	101	$5.79 \cdot 10^{-21}$	$9.00 \cdot 10^{-5}$	2086.5	99.8
LAS C ₁₂	0.714	87.6	$1.67 \cdot 10^{-15}$	$4.9 \cdot 10^{-4}$	2489.0	99.6
LAS C ₁₃	1.97	67.6	$1.00 \cdot 10^{-18}$	$8.53 \cdot 10^{-3}$	1424.9	99.5
LAS Total	0.0422	685	$1.53 \cdot 10^{-21}$	$2.00 \cdot 10^{-5}$	6097.9	99.9
	K_L	$q_{max L}$	A	m	R^2 (%)	
AS C ₁₂	0.191	115	$9.94 \cdot 10^{-12}$	15.5	99.4	
AS C ₁₄	0.380	151	$1.51 \cdot 10^{-9}$	9.77	99.3	
AS C ₁₆	$7.50 \cdot 10^{-13}$	$5.00 \cdot 10^{-5}$	$1.34 \cdot 10^3$	1.31	97.9	
AS C ₁₈	$2.38 \cdot 10^{-10}$	$2.81 \cdot 10^{-6}$	$5.29 \cdot 10^{14}$	9.04	96.3	

A. Discusión para LAS. Las isotermas de desorción para LAS seguían el mismo modelo que las de adsorción. A baja concentración, su comportamiento es tipo Langmuir, y a moderadas y altas concentraciones, cuando surgen interacciones surfactante-surfactante, la isoterma se ajusta a un modelo cuadrático donde la capacidad de retención aumenta al aumentar la concentración en disolución.

Al contrario de lo que ocurría en el proceso de adsorción, en el caso de la desorción se obtuvo el mayor valor de K_L para el homólogo más corto. También se puede observar como los valores de $q_{max L}$ disminuyen a medida que aumenta la longitud de la cadena alquílica para cada homólogo, excepto para el LAS C₁₀ corroborándose así que aquellos homólogos de cadena más larga (y por tanto con un mayor carácter hidrofóbico) son más fuertemente retenidos.

Igualmente, el coeficiente b_2 del término cuadrático aumenta al aumentar la longitud de la cadena alquílica, excepto para el LAS C_{10} , lo cual puede ser atribuido al aumento de las interacciones surfactante-surfactante al aumentar la longitud de la cadena, causando un aumento en la curvatura de la isoterma.

- B. Discusión para AS.** De forma similar a la adsorción, las isothermas de desorción seguían el mismo modelo propuesto de Langmuir más precipitación.

Para los dos homólogos más cortos, C_{12} y C_{14} , a baja concentración la isoterma sigue un comportamiento tipo Langmuir hacia la formación de una monocapa. Sin embargo, a una concentración moderada determinada, el comportamiento se rige principalmente por un fenómeno de precipitación. Para los homólogos más largos, C_{16} y C_{18} , prácticamente es el fenómeno de precipitación el que gobierna el comportamiento en todo el rango de concentraciones, siendo despreciable el comportamiento tipo Langmuir.

El comportamiento en el equilibrio de desorción obtenido para los AS está en concordancia con los datos obtenidos en el equilibrio de adsorción y las cinéticas de adsorción/desorción.

En ambos casos, para LAS y para AS, la variación de los parámetros de las isothermas de adsorción y desorción con la longitud de la cadena alquílica sugieren que estos modelos tienen algún sentido físico.

En el caso del LAS, tanto en las cinéticas como en las isothermas, no se evidencia contribución alguna por parte del fenómeno de

precipitación, estableciéndose siempre un reparto entre ambas fases (suelo y agua) regido por el fenómeno de adsorción, este hecho pone de manifiesto un mejor comportamiento desde el punto de vista medioambiental para este tensioactivo.

4. ESTUDIOS EN CONTINUO (COLUMNA)

Mientras que en las experiencias en discontinuo se determina habitualmente el valor de los coeficientes de adsorción del suelo en condiciones de equilibrio, existen trabajos publicados, como el de Miller y colaboradores¹⁹³, que indican que, en ocasiones, el tiempo de residencia de un soluto en una zona determinada del suelo no permite alcanzar dicho equilibrio, de manera que son las condiciones de no-equilibrio las que rigen los fenómenos de adsorción durante el transporte a través de la zona no saturada. Esto ha hecho que, en los últimos años, se tienda al empleo de procedimientos en flujo, por ofrecer una mejor representación del transporte de los solutos en condiciones reales de campo. Griffioen y sus colaboradores¹⁹⁴ describen en su trabajo las ventajas que presentan las experiencias en columna en comparación con las desarrolladas en tanque, concluyendo que en esta situación, se conserva el estado natural del suelo; la relación suelo/disolución en la columna es más parecida a la del campo; se utiliza más cantidad de suelo en las columnas lo que hace que los ensayos sean más representativos; se evita el efecto de la centrifugación; y el proceso de intercambio de iones en condiciones de flujo es más real.

Se debe puntualizar que, en cualquier caso, antes de llevar a cabo las experiencias en columna, es de gran utilidad determinar los coeficientes de adsorción en tanque, porque ayudan a diseñar las experiencias en columna y a ajustar las condiciones operativas (caudal, concentración, etc.) y a

¹⁹³ D.M. Miller, M.E. Summer, P. Miller. *A comparison of batch and flow generated anion adsorption isotherms*. Soil Sci, Soc. Am. J. 53; 373-380; 1989.

¹⁹⁴ J. Griffioen, C.A.J. Appelo, M. Van Veldhuizen. *Practice of chromatography. Deriving isotherms from elution curves*. Soil Sci, Soc. Am. J. 56; 1429-1437; 1992.

obtener información para incluir en los modelos de flujo continuo o también llamados modelos de transporte¹⁹⁵.

El estudio de cada compuesto en columna comprende dos etapas. En la primera, se estudia el proceso de adsorción y una vez concluido éste, se estudia el de desorción. Previamente se comprueba que el lecho de suelo carece de los compuestos objeto de estudio.

La primera etapa de adsorción en columna consiste en el paso de disolución del compuesto a través de una columna de suelo, a flujo y temperatura constantes, con el fin de obtener la curva de rotura del lecho.

Para realizar las experiencias de desorción es necesario partir de un suelo que ha alcanzado previamente el equilibrio de adsorción. Para ello, una vez alcanzada una concentración constante del efluente de la columna en las experiencias de adsorción en continuo, se sustituye el influente que contiene el compuesto en estudio por una disolución de agua destilada, de este modo se obtiene la curva de desorción que representa como la sustancia previamente retenida se va desorbiendo del suelo. Así, en las experiencias de desorción se utiliza la misma instalación experimental y los mismos caudales que en las experiencias de adsorción realizadas previamente.

La representación gráfica de los resultados experimentales de la concentración del efluente frente a su volumen acumulado, constituye la curva de rotura de adsorción y desorción para cada compuesto estudiado. La modelización de dicha curva permite estudiar y comprender el comportamiento de cada compuesto.

¹⁹⁵ M.P. Papini, M. Majone. *Experimental investigation of transport of strongly retained species by soil columns*. Water Air Soil Pollu. 95; 337-351, 1997.

4.1. Descripción de la instalación experimental

Para la realización de estas experiencias fue necesaria la preparación del lecho de suelo en la columna. Este proceso es de gran importancia ya que de él depende la existencia de flujos preferenciales en el interior del lecho, que pueden conducir a resultados no fiables que se traducen en coeficientes de adsorción menores que el valor real. Las columnas se prepararon cartuchos de SPE vacíos que se rellenaron con suelo, mediante el uso de un vibrador en varias etapas, para obtener una densidad uniforme a lo largo de todo el lecho e igual a la densidad aparente del suelo estudiado ($\rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$). Tanto en la parte inferior como en la superior, se colocaron las fritas de vidrio del cartucho. En la parte superior se colocó además un tapón de polipropileno con un orificio en el centro por el cual se introdujo un tubo de teflón de 1 mm de diámetro interior, por donde circularía el efluente. Las características de las columnas utilizadas se recogen en la **tabla 7.13**.

Tabla 7.13. Características comunes de las columnas utilizadas en los ensayos de adsorción y desorción

Parámetro	Valor
Diámetro interno	12 mm
Longitud	5 cm
Cantidad de suelo	8 g
Tamizado del suelo	2 mm
Porosidad	48.36 %

En la **figura 7.24** se muestra, a modo de ejemplo, el aspecto final de una de las columnas antes de comenzar las experiencias.



Figura 7.24. Columna preparada

Con objeto de trabajar con un flujo en sentido ascendente, se conectó la salida de una bomba peristáltica a la parte inferior de la columna. El influente fue en cada caso, una disolución acuosa del compuesto a estudiar. La disolución con el analito estaba en un recipiente donde estaba sumergido el tubo de succión de la entrada de la bomba. Las muestras del efluente se recogían a intervalos regulares de tiempo con la ayuda de un colector de fracciones automático que se programó previamente, en tubos de ensayo graduados. De cada uno de los tubos de ensayo, se tomaba una muestra a la mayor brevedad posible, para el correspondiente análisis cromatográfico. Como referencia, también se controló periódicamente la concentración de la disolución del influente. La instalación se ubicó en una habitación climatizada a 20 °C.

En las **figuras 7.25 - 7.26** se muestra un esquema de la instalación de los aparatos necesarios para efectuar estas experiencias y una imagen real de la instalación utilizada, respectivamente.

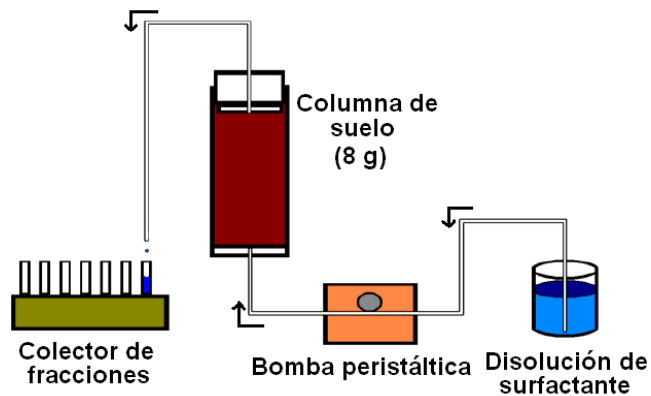


Figura 7.25. Esquema del montaje experimental para estudios en continuo



Figura 7.26. Montaje utilizado para la realización de las experiencias en continuo

4.2. Validación de la metodología numérica para la resolución de los modelos de transporte

Las curvas de rotura obtenidas en los estudios en continuo se ajustaron a los distintos modelos de transporte mediante resolución numérica de las ecuaciones con la ayuda del programa *Matlab*. A continuación, se muestra la validación de la metodología numérica, con respecto a cuando existe solución analítica, por ejemplo, en el caso del modelo de equilibrio local con isoterma lineal. Para ello, se comparó la

solución obtenida numéricamente con la obtenida analíticamente para un mismo problema, determinado por los siguientes valores para los distintos parámetros:

$$u = 0.2468283 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$$

$$C^0 = 6.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

$$L = 5 \text{ cm}; \rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}; \theta = 0.484; t_0 = 1500 \text{ min}$$

$$\text{Dispersividad} = D/u = 1.7013 \text{ cm}$$

$$\lambda = 0.008144 \text{ min}^{-1}$$

$$R = 6.2112$$

En la **figura 7.27** se muestran los resultados obtenidos.

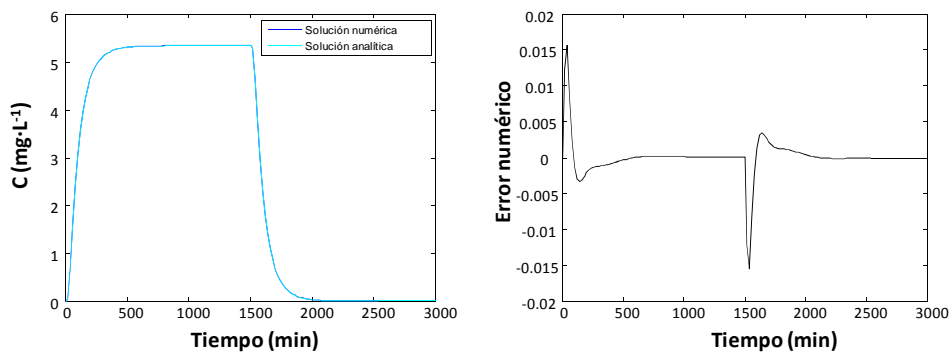


Figura 7.27. Curvas de rotura obtenidas para la solución numérica y la solución analítica (izquierda), error numérico cometido (derecha)

Los resultados obtenidos mostraron un alto grado de coincidencia entre ambas soluciones siendo el error numérico cometido despreciable. Por lo tanto la solución numérica es adecuada para este tipo de problema.

4.3. Columnas ensayadas

Durante los estudios en continuo se ensayaron los siguientes compuestos:

- ⇒ Bromuro potásico (trazador).
- ⇒ Mezcla comercial del LAS.
- ⇒ Alcohol sulfatos: AS C₁₂, AS C₁₄, AS C₁₆ y AS C₁₈.

4.3.1. Columna para el trazador (KBr)

Para la caracterización del dispositivo experimental, se realizó un primer estudio en columna para el bromuro potásico, utilizando a modo de trazador ya que no es adsorbido por el suelo. De esta forma en el modelo propuesto, **ecuación 7.28**, se puede fijar el flujo de trabajo y calcular la dispersión hidrodinámica, la porosidad del lecho y el tiempo muerto.

El análisis del KBr en el efluente se realizó a través de la medida del potencial eléctrico, mediante el uso de un electrodo selectivo de bromuro. Dicho electrodo selectivo fue construido en el laboratorio mediante electrodeposición de bromuro de plata sobre un electrodo de plata, formándose un electrodo Ag/AgBr. El análisis se realizó de forma continua mediante el uso de una celda de flujo apropiada para medidas potenciométricas, **figura 7.28**. La celda de medida se colocó en la posición del colector de fracciones.

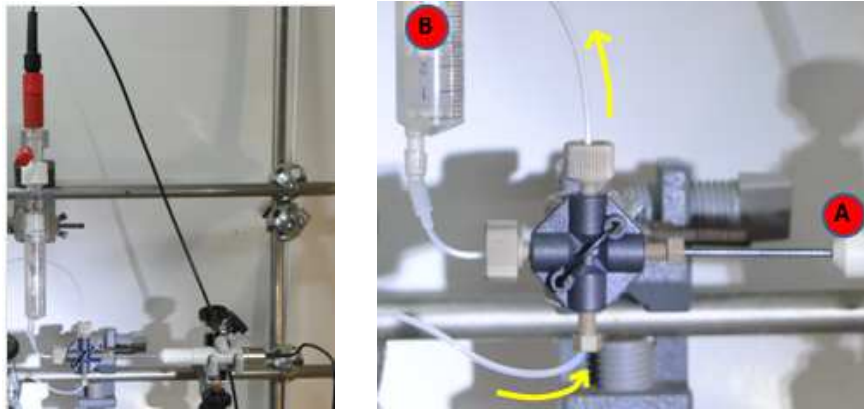


Figura 7.28. Fotografía general del montaje para el análisis de bromuro (izquierda) y detalle de la celda de flujo (derecha). A, electrodo indicador o de trabajo (electrodo selectivo de Br^-); B, electrodo de referencia

Para calcular la concentración, se realizó previamente un calibrado, haciendo pasar por la celda de flujo disoluciones de bromuro potásico en agua Milli-Q de concentraciones 1.0, 5.0, 10.0, 50.0; 100.0 y 150.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Una vez puesto a punto el método de análisis de bromuro, se realizaron las distintas experiencias en columna para este compuesto. En primer lugar, para el estudio en continuo de adsorción se utilizó una disolución de 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de KBr en agua destilada. Una vez alcanzado el equilibrio de adsorción la disolución se cambió por agua destilada para realizar el estudio en continuo de desorción. El caudal se fijó en 0.146 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y fue constante a lo largo de todo el estudio. En la **figura 7.29** se representan los resultados obtenidos así como el ajuste de los mismos al modelo propuesto de equilibrio local, **ecuación 7.28**.

Al tratarse de KBr el coeficiente de retardo, R , vale 1 (ya que la constante de adsorción es cero) y la constante cinética, λ , vale cero debido a que el KBr no sufre transformación alguna. Por lo tanto el único parámetro que se consideró fue el caudal, con el que se calculó la velocidad intersticial de flujo según la siguiente ecuación:

$$u = \frac{Q}{\pi r^2 \theta} \times 100 \quad (7.51)$$

donde Q es el caudal del fluido ($\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$) y r el radio de la columna (cm).

A través del ajuste al modelo se estimaron D , θ y el tiempo muerto, t_d .

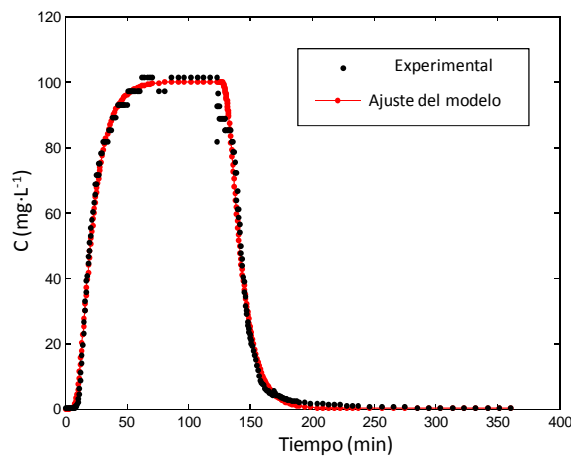


Figura 7.29. Curva obtenida para el estudio en continuo del trazador (KBr)

En el caso del trazador se representó la concentración del efluente frente al tiempo transcurrido. El tiempo transcurrido es equivalente al volumen acumulado, por medio del flujo establecido. Como se puede observar en la **figura 7.29**, el modelo de transporte propuesto se ajustó satisfactoriamente al comportamiento del trazador. En la **tabla 7.14** se muestran los parámetros de ajuste obtenidos.

Tabla 7.14. Parámetros del ajuste para el trazador

Parámetro	valor
D	$0.192 \text{ cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$
θ	0.554
t_d	2.058 min

El tiempo muerto calculado según el volumen de los canales capilares usados fue 2.35 min, muy similar al obtenido mediante ajuste del modelo. La porosidad también fue similar a la obtenida en campo 0.484.

4.3.2. Columna para LAS

Se empleó una disolución de $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de LAS total en agua destilada. Una vez alcanzado el equilibrio de adsorción la disolución se sustituyó por agua destilada para realizar el estudio en continuo de desorción. El caudal se fijó en $0.135 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y fue constante a lo largo de todo el estudio. El efluente fue analizado cromatográficamente, con objeto de determinar la concentración del surfactante en el sobrenadante.

A la hora de ajustar los datos experimentales a los distintos modelos de transporte propuestos, se partió de las siguientes condiciones iniciales:

$$u = 0.247 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1} \text{ (calculado según la ecuación 7.51)}$$

$$C^0 \text{ (LAS Total)} = 20.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ (} C_{10} \text{ 2.80, } C_{11} \text{ 6.44, } C_{12} \text{ 6.16 y } C_{13} \text{ 4.60 mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{)}$$

$$L = 5 \text{ cm; } \rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}; \theta = 0.484$$

En los distintos modelos de transporte se probaron tanto isotermás lineales como las isotermas no lineales previamente obtenidas en los estudios en batch. Estas últimas se descartaron ya que se observó que daban lugar a peores ajustes. Igualmente, se estableció estimar las isotermas lineales a partir de los datos en continuo, puesto que fijar su valor, según los datos previamente obtenidos en los estudios en batch, conducía a peores resultados.

En la **figura 7.30** se encuentran representados los resultados del experimento con los ajustes obtenidos para el modelo de transporte de equilibrio local con isoterma lineal. En la **tabla 7.15** se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros ajustados.

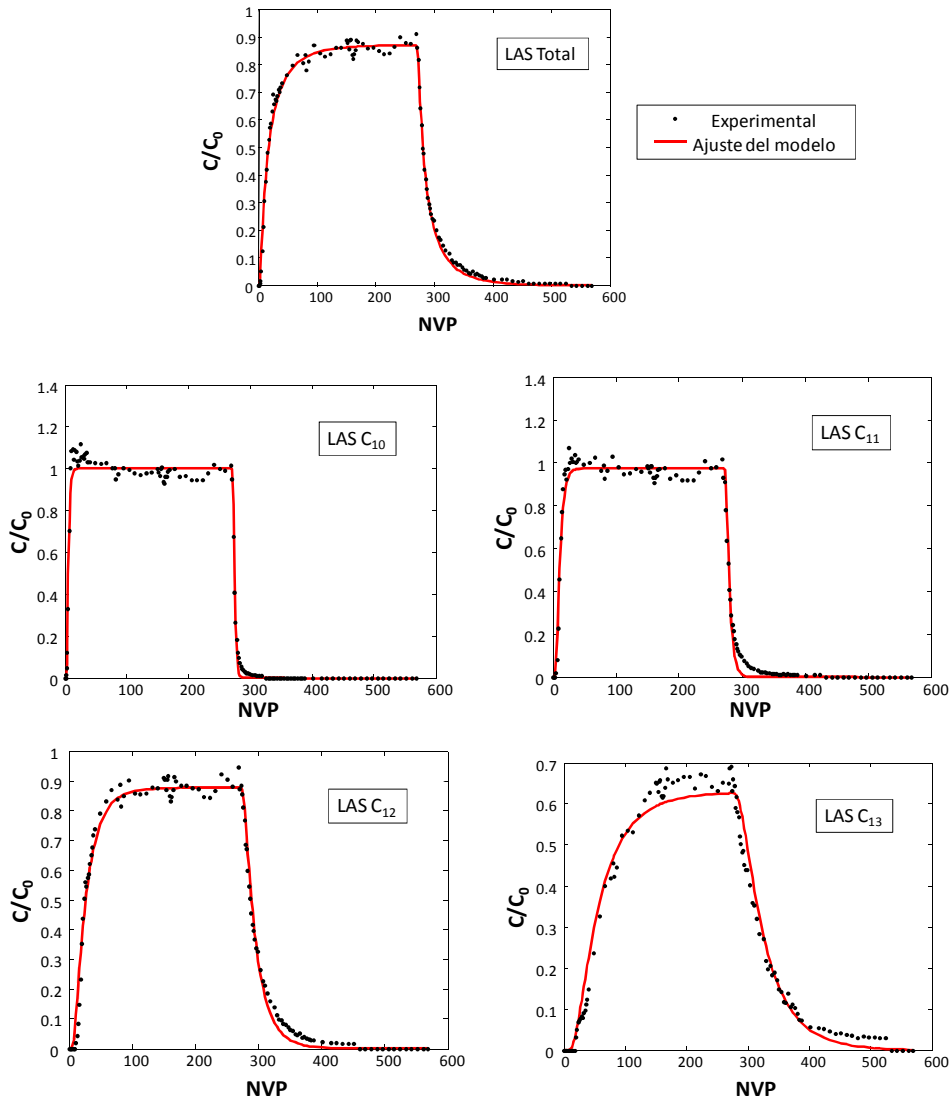


Figura 7.30. Curvas obtenidas para el estudio en continuo del LAS, ajuste para equilibrio local con isoterma lineal

En la **figura 7.30** se representa la relación de concentraciones, C/C_0 , en función del número de volúmenes de poro (NVP) que han pasado por la columna de suelo. El NVP a cada tiempo se calcula dividiendo el volumen acumulado entre el volumen de poro, sabiendo que el volumen de poro es el volumen total de los poros de la columna de suelo.

Tabla 7.15. Parámetros del ajuste al modelo de equilibrio local con isoterma lineal, para los datos en continuo del LAS

Homólogo	<i>R</i> Factor de retardo	<i>D/u</i> Dispersivity (cm)	λ Constante cinética de degradación (min ⁻¹)	R ²
LAS C ₁₀	6.029	0.496	~0	0.992
LAS C ₁₁	12.10	0.651	$1.19 \cdot 10^{-3}$	0.989
LAS C ₁₂	31.63	1.497	$6.68 \cdot 10^{-3}$	0.990
LAS C ₁₃	84.63	1.694	$2.64 \cdot 10^{-2}$	0.979
LAS Total	31.56	4.662	$7.64 \cdot 10^{-3}$	0.996

En la **figura 7.31** se representan los resultados del experimento con los ajustes obtenidos para el modelo de transporte de no equilibrio (limitaciones difusionales) con isoterma lineal. En la **tabla 7.16** se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros ajustados.

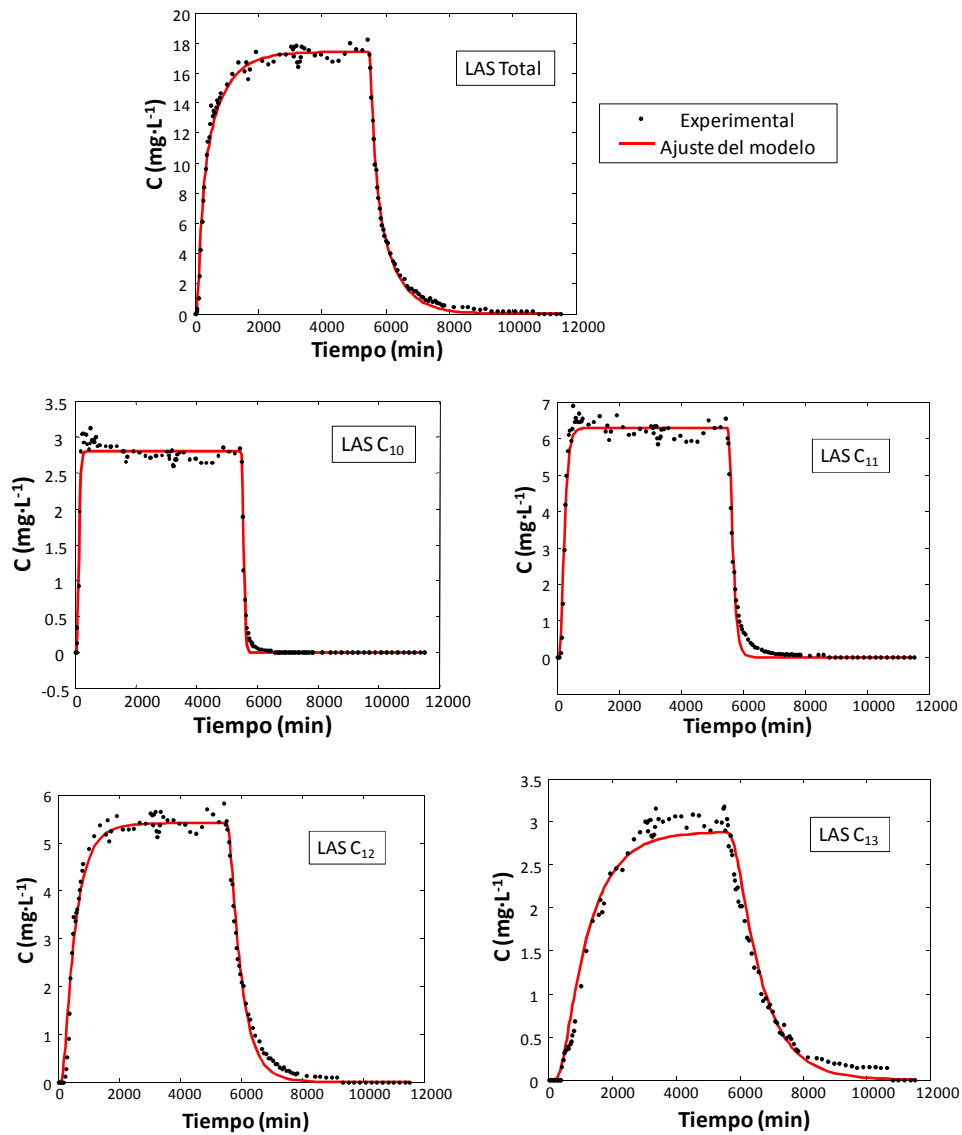


Figura 7.31. Curvas obtenidas para el estudio en continuo del LAS, ajuste para no equilibrio (limitaciones difusionales) con isoterma lineal

Tabla 7.16. Parámetros del ajuste al modelo de no equilibrio (limitaciones difusionales) con isoterma lineal, para los datos en continuo del LAS

Homólogo	α Coeficiente de transferencia de masa (min^{-1})	D Coeficiente de dispersión ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)	λ Constante cinética de degradación (min^{-1})	K Constante de equilibrio ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	R^2
LAS C ₁₀	0.085	0.010	~0	1.956	0.992
LAS C ₁₁	0.381	0.142	$1.20 \cdot 10^{-3}$	4.348	0.990
LAS C ₁₂	1.045	0.363	$6.68 \cdot 10^{-3}$	12.06	0.990
LAS C ₁₃	0.423	0.333	$2.60 \cdot 10^{-2}$	31.43	0.979
LAS Total	2.294	0.802	$7.54 \cdot 10^{-3}$	11.31	0.996

En la **figura 7.32** se encuentran representados los resultados del experimento con los ajustes obtenidos para el modelo de transporte de no equilibrio (dos sitios) con isoterma lineal. En la **tabla 7.17** se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros ajustados.

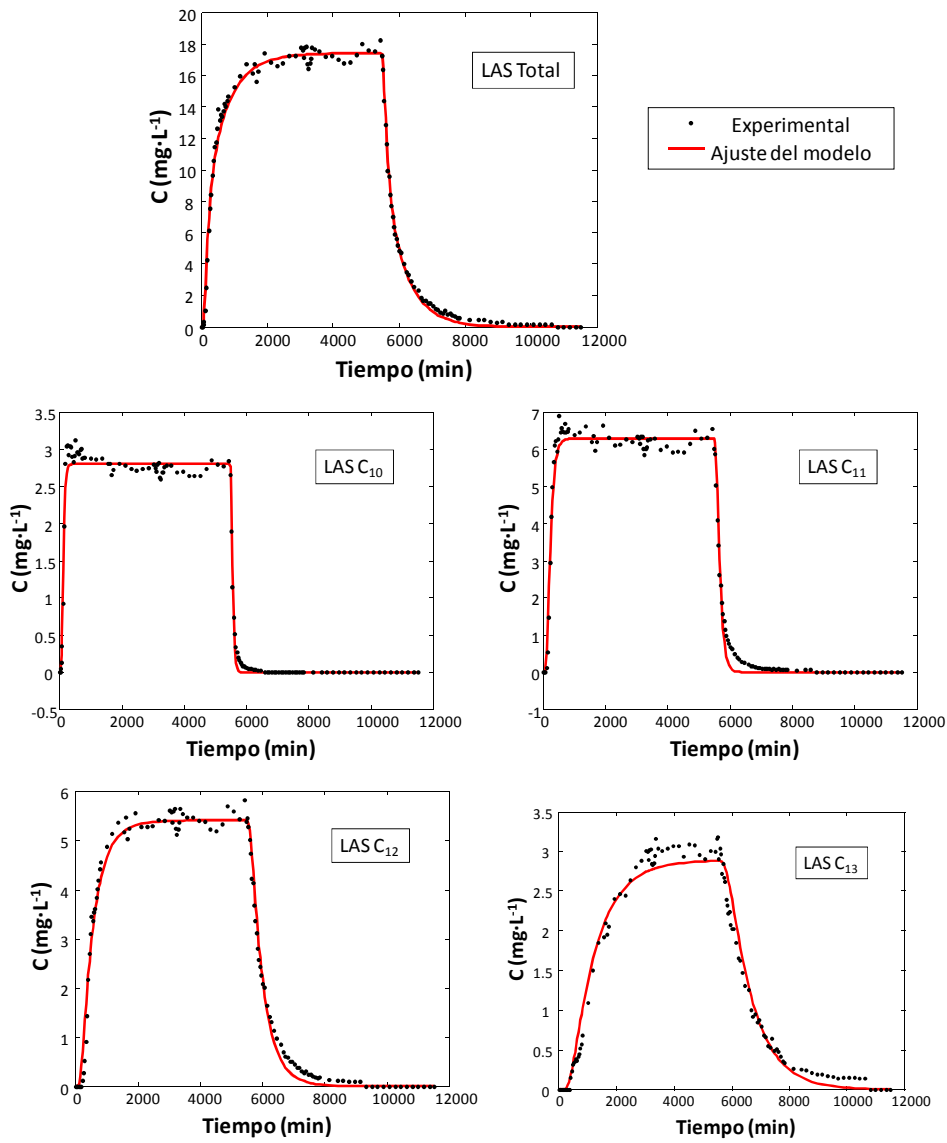


Figura 7.32. Curvas obtenidas para el estudio en continuo del LAS, ajuste para no equilibrio (dos sitios) con isoterma lineal

Tabla 7.17. Parámetros del ajuste al modelo de no equilibrio (dos sitios) con isoterma lineal, para los datos en continuo del LAS

Homólogo	α Coeficiente de transferencia de masa (min^{-1})	D Coeficiente de dispersión ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)	λ Constante cinética de degradación (min^{-1})	K Constante de equilibrio ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	f Coeficiente de dos sitios	R^2
LAS C ₁₀	0.382	0.093	~0	1.970	0	0.992
LAS C ₁₁	0.315	0.139	$1.20 \cdot 10^{-3}$	4.344	0	0.990
LAS C ₁₂	0.727	0.366	$6.68 \cdot 10^{-3}$	12.09	1	0.990
LAS C ₁₃	0.423	0.336	$2.60 \cdot 10^{-2}$	31.42	0	0.979
LAS Total	2.373	0.803	$7.55 \cdot 10^{-3}$	11.32	1	0.996

Para los tres modelos propuestos, equilibrio local, no equilibrio con limitaciones difusionales y no equilibrio de dos sitios, se obtuvieron buenos ajustes, que dieron valores para los distintos parámetros muy semejantes entre sí. Por lo tanto, se puede concluir que asumir un equilibrio local es una aproximación razonable para describir el comportamiento del LAS en columna.

Al analizar los resultados, se observó que en la columna del LAS, una vez alcanzado el equilibrio de los distintos homólogos en el lecho, la concentración del efluente para los homólogos de mayor longitud de cadena, C₁₂ y C₁₃ de LAS, era menor a la del influente (se alcanzaba el equilibrio a una concentración menor a la de entrada). También se puede apreciar que cuanto mayor es la cadena alquílica del homólogo más evidente se hace este comportamiento.

Esto puede ser atribuido a que, en mayor o menor grado tiene lugar su biodegradación y/o precipitación en forma de sales cálcicas y magnésicas. En el caso de la biodegradación, al tratarse de experiencias prolongadas en el tiempo, son sensibles a posibles contaminaciones

microbiológicas pues además se producen las condiciones idóneas para ello, aporte de: carbono (LAS), micronutrientes, oxígeno disuelto en agua y temperatura ambiente (20 °C).

4.3.3. Columnas para alcoholes sulfato

En este caso, al disponer de cada uno de los homólogos por separado, el estudio en columna se realizó por separado para cada uno de ellos, preparándose, por tanto, un total de 4 columnas para AS.

En cada caso para el estudio en continuo de adsorción se utilizó una disolución de $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ del AS correspondiente en agua destilada. Igual que en el caso del LAS, una vez alcanzado el equilibrio de adsorción la disolución se cambió por agua destilada para realizar el estudio en continuo de desorción. En las 4 columnas se fijó un caudal constante a lo largo del estudio de $0.109 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. El efluente fue analizado mediante LC-MS/MS.

A la hora de ajustar los datos experimentales a los distintos modelos de transporte propuestos, se partió de las siguientes condiciones iniciales:

$$u = 0.199 \text{ cm}\cdot\text{min}^{-1} \text{ (calculado según la ecuación 7.51)}$$

$$C^{\circ} (\text{AS } C_{12}) = 10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$C^{\circ} (\text{AS } C_{14}) = 10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$C^{\circ} (\text{AS } C_{16}) = 10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$C^{\circ} (\text{AS } C_{18}) = 10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$L = 5 \text{ cm}; \rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}; \theta = 0.484$$

Al igual que en el caso del LAS, en los distintos modelos de transporte se probaron tanto isotermas lineales, como las isotermas no lineales previamente obtenidas en los estudios en batch. Estas últimas se descartaron ya que se observó que daban lugar a peores ajustes.

Igualmente, se estimaron las isothermas lineales a partir de los datos en continuo, puesto que fijar su valor, según los datos previamente obtenidos en los estudios en batch, conducía a peores resultados.

En la **figura 7.33** se encuentran representados los resultados del experimento con los ajustes obtenidos para el modelo de transporte de equilibrio local con isoterma lineal. En la **tabla 7.18** se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros ajustados.

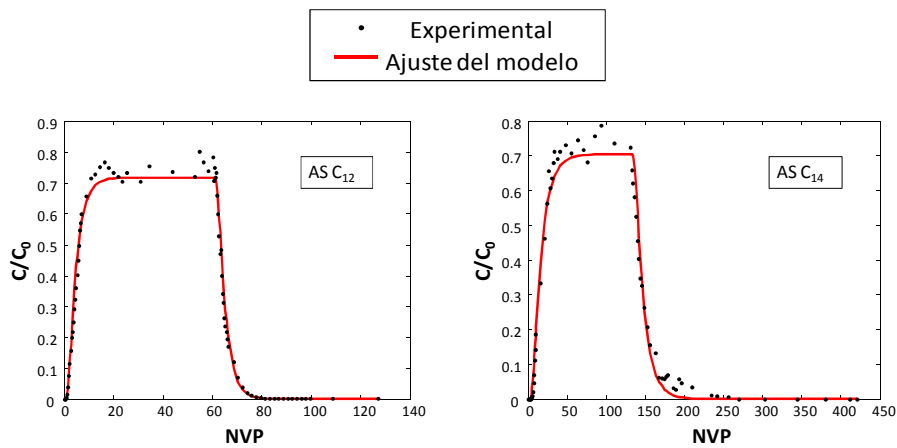


Figura 7.33. Curvas obtenidas para el estudio en continuo de AS, ajuste para equilibrio local con isoterma lineal

Tabla 7.18. Parámetros del ajuste al modelo de equilibrio local con isoterma lineal, para los datos en continuo de AS

Homólogo	R Factor de retardo	D/u Dispersividad (cm)	λ Constante cinética de degradación (min^{-1})	R^2
AS C ₁₂	6.003	1.137	$1.42 \cdot 10^{-2}$	0.987
AS C ₁₄	21.04	1.388	$1.52 \cdot 10^{-2}$	0.981

En la **figura 7.34** se encuentran representados los resultados del experimento con los ajustes obtenidos para el modelo de transporte de no equilibrio (limitaciones difusionales) con isoterma lineal. En la **tabla 7.19** se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros ajustados.

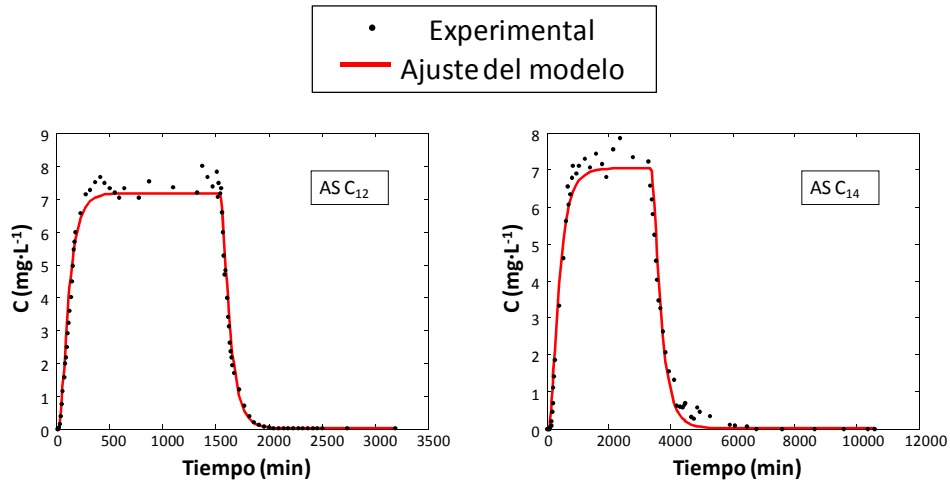


Figura 7.34. Curvas obtenidas para el estudio en continuo de AS, ajuste para no equilibrio (limitaciones difusionales) con isoterma lineal

Tabla 7.19. Parámetros del ajuste al modelo de no equilibrio (limitaciones difusionales) con isoterma lineal, para los datos en continuo de AS

Homólogo	α Coeficiente de transferencia de masa (min^{-1})	D Coeficiente de dispersión ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)	λ Constante cinética de degradación (min^{-1})	K Constante de equilibrio ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	R^2
AS C ₁₂	5.282	0.223	$1.42 \cdot 10^{-2}$	1.969	0.988
AS C ₁₄	0.968	0.270	$1.52 \cdot 10^{-2}$	7.881	0.981

En la **figura 7.35** se encuentran representados los resultados del experimento con los ajustes obtenidos para el modelo de transporte de no equilibrio (dos sitios) con isoterma lineal. En la **tabla 7.20** se muestran los valores obtenidos para los distintos parámetros ajustados.

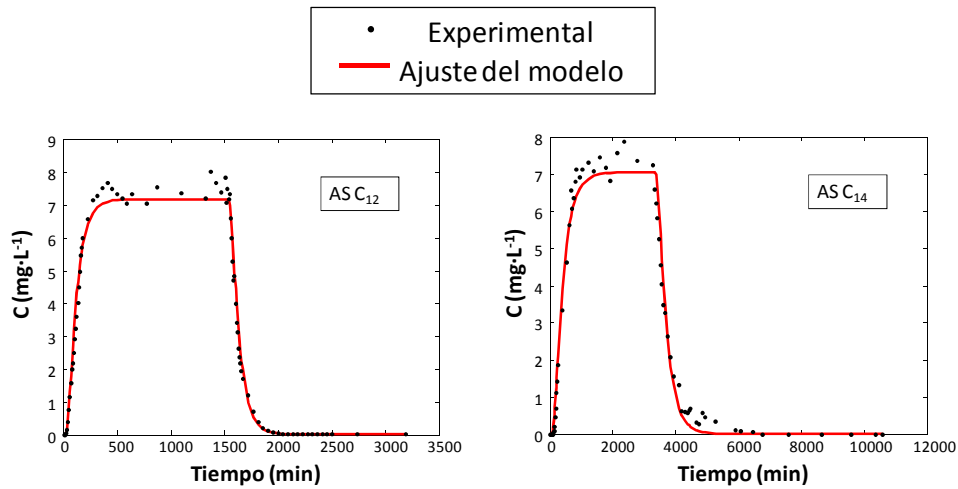


Figura 7.35. Curvas obtenidas para el estudio en continuo de AS, ajuste para no equilibrio (dos sitios) con isoterma lineal

Tabla 7.20. Parámetros del ajuste al modelo de no equilibrio (dos sitios) con isoterma lineal, para los datos en continuo de AS

Homólogo	α Coeficiente de transferencia de masa (min^{-1})	D Coeficiente de dispersión ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)	λ Constante cinética de degradación (min^{-1})	K Constante de equilibrio ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	f Coeficiente de dos sitios	R^2
AS C ₁₂	3.101	0.221	$1.42 \cdot 10^{-2}$	1.964	$1.47 \cdot 10^{-2}$	0.988
AS C ₁₄	0.578	0.266	$1.52 \cdot 10^{-2}$	7.857	$4.43 \cdot 10^{-2}$	0.981

Para los tres modelos propuestos, equilibrio local, no equilibrio con limitaciones difusionales y no equilibrio de dos sitios, se obtuvieron buenos ajustes, con valores para los distintos parámetros muy semejantes entre sí. Por tanto, se concluye que asumir un equilibrio local es una aproximación razonable para describir el comportamiento de AS en columna.

Al analizar los resultados, se observó el mismo fenómeno observado en la columna de LAS, la concentración de equilibrio del efluente quedaba por debajo del valor del influente, para las dos columnas. Este fenómeno se

atribuyo, al igual que anteriormente, a una posible biodegradación y/o precipitación en forma de sales cálcicas y magnésicas.

Para los homólogos C_{16} y C_{18} de AS, no se pudieron obtener las curvas de rotura, ya que durante el transcurso de estas dos experiencias se observó la aparición de una fase blanquecina al inicio de ambas columnas, **figura 7.36**, que fue disminuyendo su permeabilidad. La disminución continuada de la permeabilidad fue dificultando el flujo de influente a través del lecho, que se tradujo en un aumento del tiempo de goteo (tiempo transcurrido entre cada gota en el colector de fracciones). En la **figura 7.37** se ha representado a modo ilustrativo, el aumento del tiempo de goteo con el número de tubos colectados para la columna de suelo del homólogo C_{16} de AS.

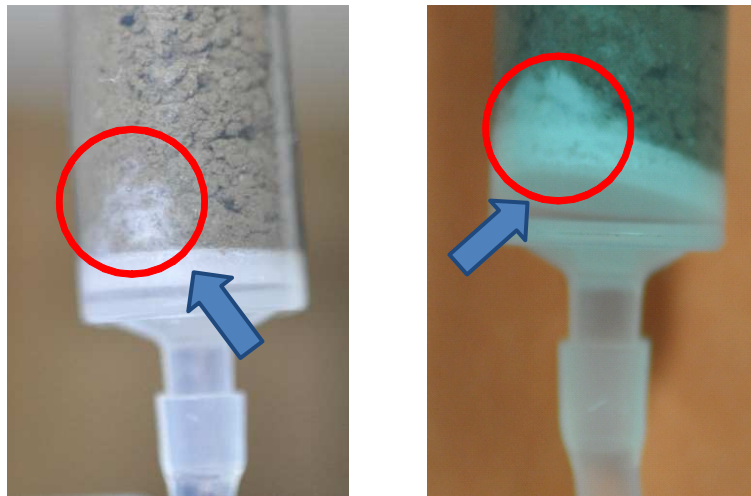


Figura 7.36. Fotografías de las sustancias blanquecinas aparecidas en las columnas de AS C_{16} (izquierda) y AS C_{18} (derecha)

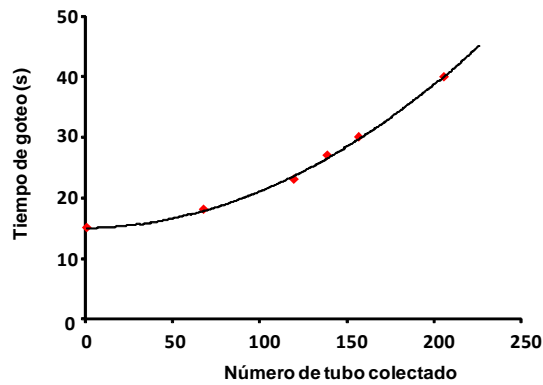


Figura 7.37. Tiempo de goteo del colector para la columna del homólogo C_{16} de AS

Esta acumulación blanquecina puede atribuirse a un fenómeno de precipitación, estando en consonancia con los resultados obtenidos en las cinéticas y en el equilibrio de adsorción, para estos mismos homólogos. Este hecho indica nuevamente un mejor comportamiento en columna para el LAS y predice un mejor comportamiento ambiental en suelo.

5. SIMULACIÓN DEL COMPORTAMIENTO EN CAMPO

Una vez obtenido el modelo de transporte para un compuesto en una columna de suelo de 5 cm, se puede simular su comportamiento en campo para cualquier caudal (riego con agua) deseado.

En este caso, a la hora de simular el comportamiento de los analitos en campo, se establecieron las mismas condiciones de riego que se utilizarían en los estudios de campo, un riego diario con 480 L de agua para una superficie de 4 m². Para esas condiciones se calculó la tasa de flujo diario promedio y se utilizó en el modelo de transporte correspondiente para calcular cual sería la distribución de concentraciones máximas de compuesto que cabría esperar en las distintas profundidades del suelo de una parcela real. De esta forma se podría obtener la profundidad a la que dicho compuesto alcanza su valor de concentración PNEC (concentración máxima prevista sin efecto) a fin de evaluar una posible contaminación del acuífero.

Para todos los compuestos se supuso la misma concentración inicial en el agua de dopado ($C^0 = 17 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). En el caso del LAS, su valor PNEC en agua⁷ es de $0.27 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La distribución obtenida para el LAS se muestra en la **figura 7.38**.

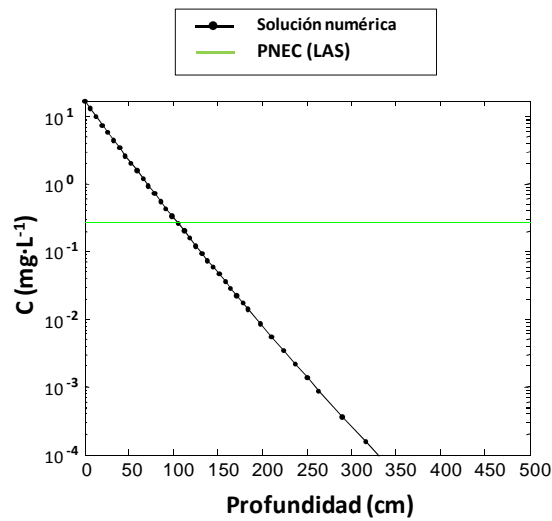


Figura 7.38. Distribución del LAS en función de la profundidad del suelo

La concentración de LAS a partir de una profundidad aproximada de 1 m, cae por debajo de su valor PNEC, descartando así una posible contaminación del acuífero.

En el caso del AS C_{12} , su valor PNEC en agua³⁰ es de $0.088 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La distribución obtenida para el AS C_{12} se muestra en la **figura 7.39**.

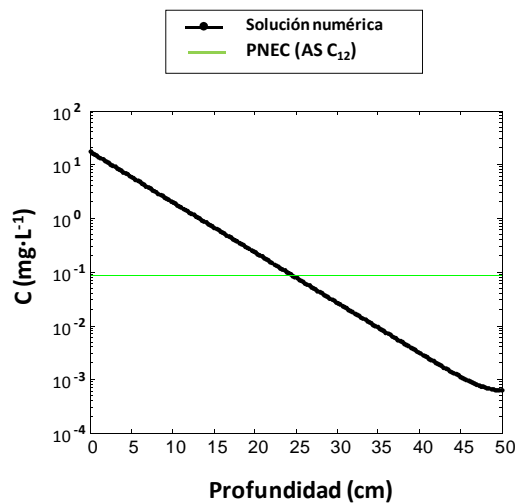


Figura 7.39. Distribución del AS C_{12} en función de la profundidad del suelo

La concentración de AS C_{12} a partir de una profundidad aproximada de 25 cm, cae por debajo de su valor PNEC, descartando así una posible contaminación del acuífero.

En el caso del AS C_{14} , su valor PNEC en agua³⁰ es de $0.0045 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. La distribución obtenida para el AS C_{14} se muestra en la **figura 7.40**.

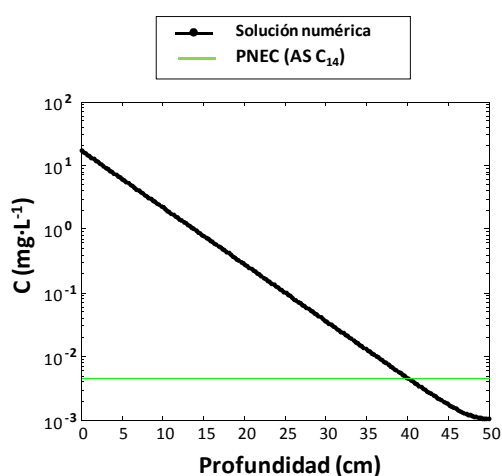


Figura 7.40. Distribución del AS C_{14} en función de la profundidad del suelo

La concentración de AS C_{14} a partir de una profundidad aproximada de 40 cm, cae por debajo de su valor PNEC, descartando así una posible contaminación del acuífero.

Este tipo de simulaciones, constituyen una aproximación del comportamiento de un compuesto, que podría utilizarse como una primera evaluación del riesgo, siendo siempre necesario su estudio en campo a la hora de conocer con certeza su comportamiento. La simulación realizada para ambos tensioactivos predice un buen comportamiento ambiental.

Capítulo VIII

Aplicación del Método a Suelos Agrícolas. Modelización en Campo

En el presente Capítulo se aborda el estudio de los tensioactivos seleccionados a lo largo de la presente Tesis Doctoral en una parcela agrícola situada en la Vega de Granada (fase 3 de la **figura 7.1**).

En primer lugar se describen brevemente las principales características de la región agrícola. A continuación, se realiza una descripción de la parcela experimental. Llegado este punto se describe la metodología experimental puesta a punto para este tipo de estudios. Finalmente se muestran los resultados obtenidos para los distintos compuestos estudiados en campo, discutiendo los modelos obtenidos en cada caso y obteniendo las conclusiones oportunas.

1. LA VEGA DE GRANADA

A continuación, se comentan las principales características de la región donde se han desarrollado los estudios, La Vega de Granada.

1.1. Antecedentes históricos

Hace miles de años, la Vega de Granada, era una densa zona boscosa, donde se practicaba la caza, poseía extensas zonas de marjales inundadas. La mayor transformación física se debió a la aparición de la agricultura y la ganadería. En la época musulmana se diseñó el actual sistema de regadío por acequias, que riegan casi toda la Vega y que derivan de los principales cursos de agua superficial. Existen pocos datos de la utilización del agua en civilizaciones anteriores, aunque se conservan restos de obras hidráulicas romanas e incluso íberas.

Hasta la segunda mitad del siglo XX, no se produjeron cambios significativos en la explotación del acuífero. Estos cambios supusieron la creación de pozos de gran diámetro a lo largo del cauce del río Genil, aunque la explotación del acuífero seguía siendo mínima. En años posteriores se siguieron construyendo pozos en la parte baja de la Vega, conservándose en la actualidad más de un millar de este tipo de sondeos.

A partir de los años 60, la agricultura de la Vega sufre un nuevo empuje, que se ve reflejado en la realización de grandes sondeos, y además se profundizan algunos de los ya existentes. Es en el último cuarto de siglo cuando se construyen los embalses de Quéntar (1973) y Canales (1988), que recogen parte de las aguas de deshielo.

1.2. Características físicas y socioeconómicas

El área de la Vega de Granada corresponde a una vasta llanura de aluvión que se extiende a ambos márgenes del río Genil, entre las poblaciones de Cenes de la Vega, al Este, y de Láchar, al Oeste. Los materiales que la forman son los depósitos aluviales del río Genil y de sus afluentes de cabecera, los ríos Dílar, Monachil, Darro, Cubillas y Velillos. Sus dimensiones son de 22 Km de longitud (en sentido Este-Oeste) por unos 8 Km de anchura, con espesores superiores a 250 metros en el sector central¹⁹⁶. El acuífero detrítico de la Vega de Granada cuenta con unos recursos hídricos de $18000 \text{ hm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$ y unas reservas explotables de 1000 hm^3 . La explotación neta todavía no alcanza el 50 % de los recursos renovables y el excedente escapa del sistema a través de emergencias. La pluviometría y temperatura medias anuales del área son de 450 mm (altura

¹⁹⁶ A. Castillo. *Estudio hidroquímico del acuífero de La Vega de Granada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1986.

de la capa de agua) y 15 °C, respectivamente¹⁹⁷. En esta extensión se concentra una población de aproximadamente medio millón de habitantes. Además, existe una intensa explotación agrícola que abarca una superficie de regadío de más de 15000 ha. Esta zona corresponde al 95 % de la superficie del acuífero, y en ella el espesor no saturado es inferior a 25 m en más de la mitad de su extensión.

1.3. Calidad de las aguas subterráneas

Las aguas del acuífero proceden en más de un 70 % de la infiltración de escorrentías del deshielo de Sierra Nevada, hecho que condiciona que los sectores de mejor calidad se localicen en la cabecera del acuífero (área Sur-oriental) y bajo la cabecera del río Genil. Existen focos puntuales de enriquecimientos salinos y de contaminación por nitratos, esta última debida al empleo de fertilizantes agrícolas. Las aguas más salinas se localizan en los sectores de Sierra Elvira-Alitaje, aeropuerto Romilla-Láchar y Maracena-Pulianas.

En cuanto a la contaminación de la zona, destaca la presencia de plaguicidas, sobre todo organoclorados (OCIs)¹⁹⁸. En estudios realizados en los años 80 se detectaron¹⁹⁹ contaminaciones por OCIs en las aguas superficiales y suelos de cultivo de la provincia de Granada. Estos plaguicidas presentan una elevada persistencia y hoy en día su uso se halla muy restringido o, incluso, prohibido. En otro estudio realizado en aguas de la zona saturada del acuífero²⁰⁰ entre los años 1993 y 1994, sólo se

¹⁹⁷ A. Castillo. *El embalse subterráneo de La Vega de Granada, uno de los más importantes de Andalucía*. Tierra y Tecnología 9; 37-42, 1995.

¹⁹⁸ M.J. Acuña. *Contaminación por plaguicidas organoclorados en La Vega de Granada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1981.

¹⁹⁹ C. Agustín. *Contaminación por plaguicidas en aguas superficiales y suelos de cultivo de la provincia de Granada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1983.

²⁰⁰ C. De la Colina. *Metodología para la determinación de residuos de plaguicidas en aguas. Aplicación al acuífero de La Vega de Granada*. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1996.

encontraron 10 contaminaciones cercanas o superiores al nivel establecido por la Unión Europea²⁰¹ ($0.1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), siendo la contaminación más importante por su extensión, la debida al *captano*. También se detectaron contaminaciones puntuales y esporádicas por el herbicida *triazínico triazina*, durante los meses de verano. Por tanto, la ausencia de contaminaciones por plaguicidas en los trabajos realizados recientemente hace resaltar el poder de depuración de la zona no saturada.

Se debe tener en cuenta que la contaminación del acuífero depende de factores externos, no controlables, como el aporte hídrico que recibe el acuífero y de la cantidad de riego aplicado en prácticas agrícolas. El riesgo de contaminación puede ser mayor en estos casos, por lo que los estudios de prevención son importantes para conservar la calidad de las aguas de este acuífero.

²⁰¹ T.S. Steenhuis, W. Staubitz, M.S. Andreini, J. Surface, T.L. Richard, R. Paulsen, N.B. Pickering, J.R. Hagerman, L.D. Geohring. *Preferencial movement of pesticides and traces in agricultural soils*. J. Irrig. Drain. Eng. 116; 50-66, 1990.

2. ESTUDIO DE MODELIZACIÓN EN CAMPO

Una vez caracterizadas las matrices involucradas en el estudio del comportamiento (suelo agrícola y agua de pozo), (fase 1) y realizados los estudios de laboratorio (fase 2) se procedió con los estudios de modelización en campo (fase 3).

Los estudios de campo se realizaron con el objetivo de evaluar el comportamiento de los tensioactivos en un ambiente real para dichas matrices, como es el suelo agrícola de la Vega de Granada, y relacionarlo con el comportamiento obtenido mediante los estudios de laboratorio.

Para la realización de los estudios de campo, en primer lugar fue necesaria la ejecución de algunas experiencias previas concernientes a la preparación de la zona de experimentación dentro de la huerta (parcela experimental), la puesta a punto de la metodología experimental (dopado, toma de muestra, tratamiento de muestra) y la adecuada selección de los materiales necesarios.

2.1. Descripción de la parcela experimental

Dentro de la Huerta de Santa María se delimitó una parcela con una extensión de 1000 m², donde se realizarían los distintos estudios de campo. En la **figura 8.1** se muestra el aspecto general de la parcela experimental. En el suelo agrícola de dicha parcela no se ha utilizado ningún tipo de pesticida, herbicida o insecticida en los últimos 10 años. Esta condición es muy importante, porque no sólo en estos productos pueden estar presentes los compuestos en estudio, sino que además, con su uso, se podría alterar la microbiota del suelo.



Figura 8.1. Fotografía de la parcela experimental.
Huerta de Santa María (Vega de Granada)

Dentro de la parcela se realizaron distintas subparcelas de 4 m^2 ($2 \times 2 \text{ m}$), y cada una de ellas se utilizó para los ensayos con un tensioactivo concreto. En la **figura 8.2** se muestran con más detalle las subparcelas realizadas dentro de la parcela experimental. Al inicio del estudio correspondiente, en todas las subparcelas realizadas se procedía a la limpieza a mano de toda la vegetación superficial existente, pues ésta podría interferir en los mecanismos de adsorción-desorción, degradación de los compuestos bajo estudio e interfiriendo en la influencia de algunas variables climatológicas como el índice de evaporación del agua.



Figura 8.2. Vista de las subparcelas al inicio del estudio

Durante los estudios se realizó un seguimiento de la temperatura y la humedad del suelo. Para ello se utilizó un equipo de la casa comercial²⁰² *AquaCheck*, compuesto por una sonda de temperatura y humedad y un registrador de datos inalámbrico, **figura 8.3**. La sonda está provista de seis termómetros digitales y seis sensores de humedad distribuidos cada 10 cm.



Figura 8.3. Registrador de datos inalámbrico AquaCheck Hand-held RF Logger (izquierda); Sonda AquaCheck II probe (derecha)

La sonda se instaló en una de las sub-parcelas experimentales, **figura 8.4**, introduciéndola en el suelo de manera que el primer sensor quedara a una profundidad de 1 cm aproximadamente (superficie). Esto significa que el registro del segundo sensor corresponderá a una profundidad aproximada de 10 cm, el tercero a 20 cm, y así sucesivamente hasta los 50 cm de profundidad. Las medidas de temperatura y humedad se registraron cada media hora durante cada experiencia, y los datos se descargaron de la sonda por medio del registrador de datos inalámbrico. Una vez en el laboratorio, los datos almacenados en el registrador portátil, se transfirieron a un ordenador utilizando el software de visualización

²⁰² AquaCheck. Soil Moisture management. Products: probes, data loggers and software. URL: <http://www.aquacheck.co.za> (Visitada el 11/7/2012).

CropGraph 3.5.5, el cual permite una fácil representación y tratamiento de los datos. Los datos registrados en esta sub-parcela servirían de referencia para el resto de subparcelas.



Figura 8.4. Vista general de la sonda Aquacheck en la subparcela experimental

La temperatura y humedad del aire, así como la velocidad y dirección del viento fueron datos suministrados por la Estación Meteorológica del Aeropuerto de Granada (84190 - LEGR), situado en el municipio de Santa Fe, en las cercanías de la Huerta de Santa María.

2.2. Descripción de la metodología experimental

A continuación, se describe la metodología experimental empleada durante el desarrollo de los estudios de campo.

2.2.1. Tratamiento o dopado

En esta etapa, como simulación de un aporte del tensioactivo correspondiente en el suelo agrícola, se empleó el riego por inundación con agua de pozo donde previamente se había disuelto una determinada cantidad del tensioactivo a estudiar, **figura 8.5**. La cantidad de agua de pozo establecida fue de $120 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}$. Dado que cada subparcela tiene una superficie de 4 m^2 se necesitaron 480 L de agua de pozo. Para aportar dicha cantidad, el tiempo necesario a un flujo de $37.5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ fue de 12.8 min.



Figura 8.5. Fotografía de la etapa de tratamiento o dopado

El compuesto en estudio se introduce a una concentración elevada para establecer su comportamiento en las distintas profundidades. Además, este aporte supone una exposición del suelo al compuesto por

encima de los valores habitualmente encontrados en un vehículo usual como es el agua residual. Este hecho representa una mayor garantía en cuanto al comportamiento del compuesto, en el caso de una supuesta y drástica aportación en este ambiente. Cabe destacar que antes del dopado de la subparcela, se realizó una toma de muestra a modo de blanco.

2.2.2. Toma de muestra y riego sucesivo

Una vez contaminada la parcela experimental, se llevaron a cabo sucesivamente dos operaciones, una primera de muestreo y a continuación otra de riego, durante el tiempo necesario para que la concentración encontrada del compuesto en estudio, cayera por debajo de su límite de cuantificación según la metodología analítica aplicada.

Por medio de ensayos previos se observó que debía haber una mayor frecuencia de toma de muestra en la primera semana de la aplicación, correspondiente al primer tramo del decaimiento de la concentración ya que suministra los datos más concluyentes del comportamiento del analito en el campo. Por lo tanto, durante la primera semana se realizaba una toma de muestra cada día. Pasada la primera semana, la frecuencia de toma de muestra iba disminuyendo con el tiempo. La frecuencia de regadío se estableció, según estudios previos, en un riego diario, y se mantuvo constante durante todo el tiempo que durara cada estudio.

En estudios preliminares se comprobó la ausencia de los analitos en las muestras de agua de pozo empleada en los riegos, así como en las muestras de suelo tomadas con anterioridad a la aplicación de los tensioactivos.

La toma de muestra se realizó a distintas profundidades (2, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 cm) mediante el uso de un muestreador de 2 cm de calado y

una barrena helicoidal tipo *EIJKELKAMP*, **figuras 8.6 - 8.7**. Como convenio en la presente estudio, al referirse a la toma de muestra a diferentes profundidades, se procuró seleccionar una muestra representativa de cada tramo, de tal forma que, por ejemplo, cuando se emplea el término “profundidad 20 cm”, significa que ésta fue la profundidad máxima excavada y que se refiere a todo el tramo que abarca desde la profundidad máxima excavada previamente (en este caso 10 cm) hasta los 20 cm. A la muestra de 2 cm se le denominó muestra superficial.



Figura 8.6. Toma de muestra superficial, muestreador de 2 cm de calado



Figura 8.7. Toma de muestras de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 cm, barrena helicoidal

El agujero resultante de la toma de muestra se rellenó con tierra limpia para evitar la entrada de agua durante el riego posterior y se señaló adecuadamente para evitar muestrear de nuevo sobre la misma zona y asegurar un muestreo representativo del total de la subparcela. Una

vez tomada cada muestra, se realizó el riego correspondiente con la cantidad de agua de pozo establecida ($120 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}$).

2.2.3. Pre-tratamiento de muestra

A las distintas muestras de suelo tomadas, se les adicionó inmediatamente 5 mL de una disolución de formaldehído 1 % (m/v) para detener la actividad biológica y así evitar su alteración. A continuación, se les dejó secar a temperatura ambiente, normalmente durante un periodo de 24 h. Posteriormente, se molturó y uniformizó el tamaño de partícula pasando cada muestra por un tamiz de 2 mm. Por último, las muestras se introdujeron en bolsas estériles debidamente etiquetadas, y se llevaron al laboratorio donde se conservaron a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta su análisis. En la **figura 8.8** se muestran imágenes de las etapas del pre-tratamiento de muestra.



Figura 8.8. Fotografías de las etapas del pre-tratamiento de muestra

2.2.4. Análisis

Una vez en el laboratorio, las muestras de suelo se analizaron según la metodología desarrollada en la presente Memoria, extracción mediante ultrasonidos y análisis mediante LC-MS/MS, estableciendo las funciones de calibración en matriz de suelo agrícola. Cuando fue necesario se realizó una dilución de la muestra hasta entrar dentro del RDL del método.

2.3. Estudio estacional

Una vez puesta a punto la metodología experimental para el estudio del comportamiento de un compuesto en el campo, se procedió a la realización de las distintas experiencias para los siguientes compuestos:

- ⇒ Nitrato potásico (trazador).
- ⇒ Mezcla comercial de LAS.
- ⇒ AS.

2.3.1. Trazador

Durante la primavera de 2009, se realizó una primera experiencia de trazado químico (ión nitrato) y físico (humedad del suelo), con el fin de estudiar el comportamiento hidrodinámico de la ZNS considerada, frente a las condiciones de ensayo previamente propuestas para los estudios de campo (principalmente la frecuencia de riego).

La experiencia se realizó durante los últimos días del mes de Mayo de 2009, siendo la dosis de nitrato sódico aplicada en la subparcela correspondiente de $60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$. Para ello se pesaron 240 g de nitrato sódico que se disolvieron inicialmente en una pequeña cantidad de agua de pozo. A continuación, esa disolución se aportó al total de 480 L de agua de pozo homogéneamente en el primer riego de la subparcela. Durante este tratamiento se realizaron 4 tomas de muestra, diariamente durante cuatro días. Las muestras se analizaron mediante el uso de un electrodo de ion selectivo (nitrato). El electrodo se calibró preparando suspensiones de suelo/agua de concentración creciente de ion nitrato. Una vez calibrado, las muestras se analizaron preparándolas en suspensión a la misma relación suelo/agua que los patrones.

A. Evolución de los parámetros ambientales. En las **figuras 8.9 - 8.10** se muestran los datos medidos de temperatura y humedad a diferentes profundidades (superficial, 10, 20, 30, 40 y 50 cm de profundidad).

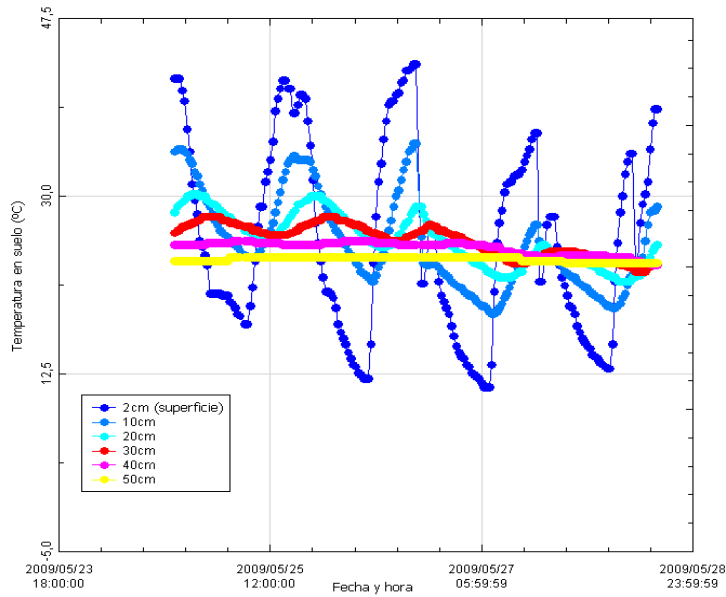


Figura 8.9. Temperaturas a diferentes profundidades

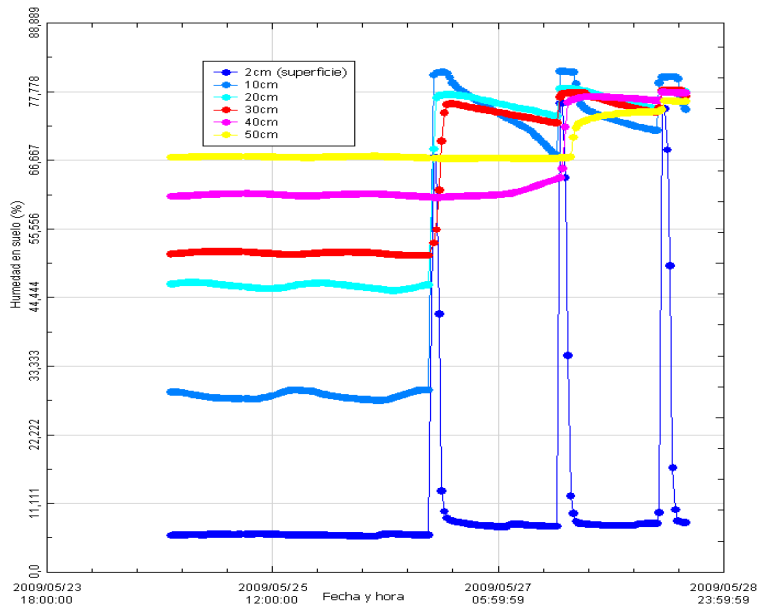


Figura 8.10. Humedades a diferentes profundidades

En la **figura 8.10** se observa que el frente de infiltración en la toma 1 (realizada a las 24 h) alcanza hasta la profundidad de 40 cm. Por lo tanto, para la primera toma de muestra el frente de infiltración aún no ha llegado

a la profundidad máxima excavada (60 cm), asegurándose una adecuada captura y seguimiento del mismo.

También, se observa que la variabilidad, tanto de la temperatura como de la humedad, disminuye al aumentar la profundidad. Esta observación fue común en todos los tratamientos. En la **tabla 8.1**, se muestran los parámetros ambientales.

Tabla 8.1. Parámetros ambientales para el tratamiento con trazador

PARÁMETROS AMBIENTALES			
Temperatura ambiente (°C)			Humedad ambiental (%)
Máx.	Med.	Mín.	
24.9	20.9	11.8	49.3
Precipitación total de lluvia y/o nieve derretida (mm)			Velocidad media del viento (km·h ⁻¹)
No hubo lluvia durante este estudio			8.1

B. Evolución del nitrato sódico en la subparcela. En la **tabla 8.2** se muestran las concentraciones de nitrato sódico obtenidas en los análisis de las diferentes muestras de suelo. Con las concentraciones encontradas a cada profundidad se calcularon los gramos totales de NaNO₃ a cada tiempo, M , para toda la extensión del suelo de la subparcela (superficie - 60 cm) suponiendo en ese tramo una densidad aparente constante ($\rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$). Por otra parte, considerando la cantidad inicialmente puesta, $M_0 = 240 \text{ g NaNO}_3$, se calcularon las correspondientes fracciones M/M_0 .

Tabla 8.2. Resultados para el estudio con trazador en la subparcela

muestra	Concentración (mg NaNO ₃ ·kg ⁻¹ suelo)				
	Toma 0 (blanco)	Toma 1 24 h	Toma 2 48 h	Toma 3 72 h	Toma 4 96 h
2 cm (superficie)	0.20	329.38	22.57	7.00	3.25
10 cm	1.12	143.79	26.05	15.23	6.54
20 cm	2.50	63.33	67.90	33.54	16.46
30 cm	0.66	20.60	79.06	46.35	30.22
40 cm	0.20	9.21	51.64	72.68	56.65
50 cm	2.04	1.90	43.39	56.75	65.05
60 cm	0.32	0.29	10.12	46.86	68.23
	M (g de NaNO₃)				
Parcela total	3.263	135.134	135.737	131.969	118.627
	M/M₀				
Parcela total		0.563	0.566	0.550	0.494

En las **figuras 8.11 - 8.12** se representan los resultados obtenidos.

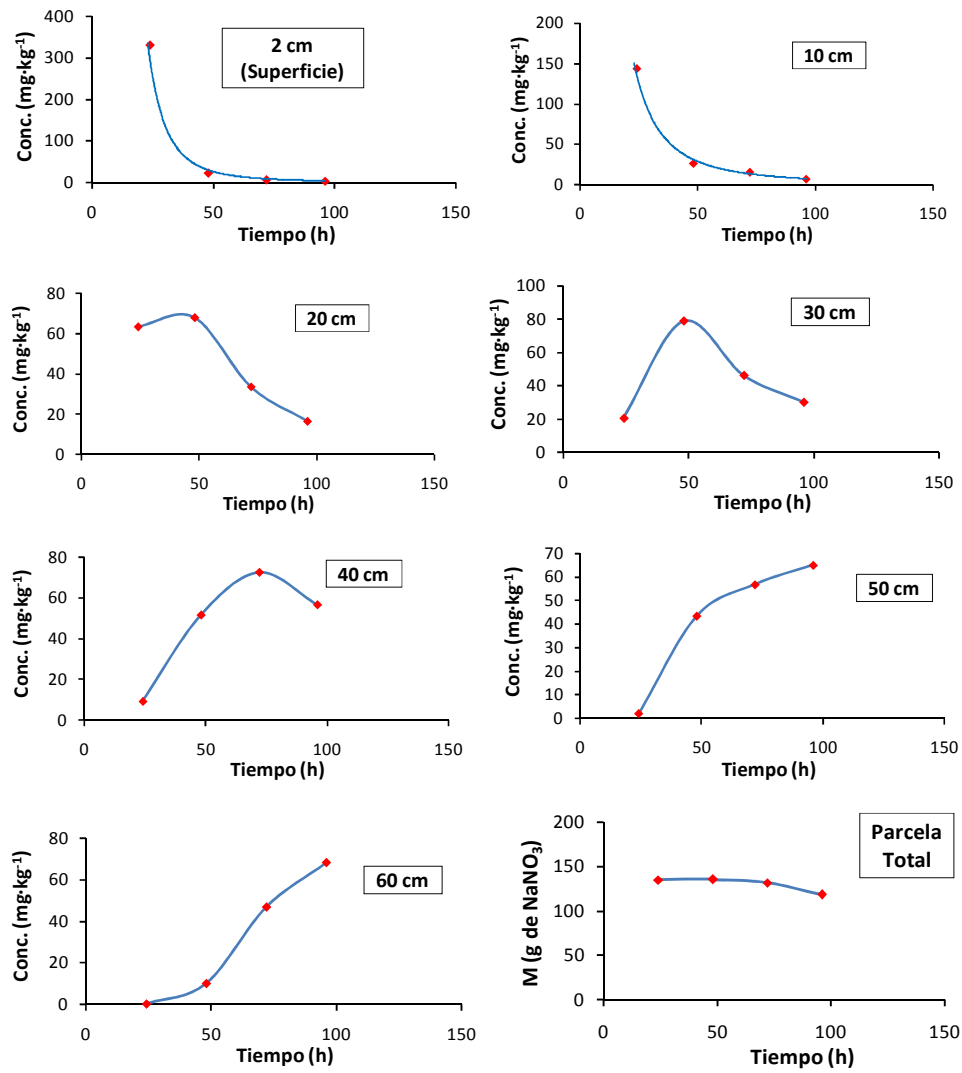


Figura 8.11. Concentraciones de nitrato y cantidad de nitrato total en función del tiempo

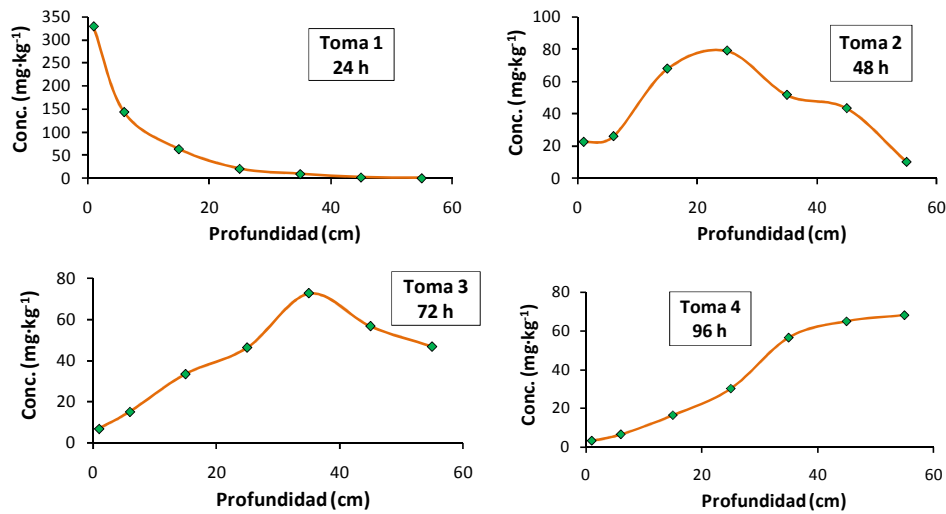


Figura 8.12. Concentraciones de nitrato en función de la profundidad

De la observación de los resultados, se llega a la conclusión de que el nitrato avanza prácticamente igual que lo hace el frente de infiltración, alcanzado en la primera toma hasta los 40 cm. La cantidad de nitrato permanece constante para el total de la subparcela durante las tres primeras tomas, notándose más una cierta disminución a partir de la toma 4, una vez que el frente de infiltración comienza a pasar la máxima profundidad excavada. En cuanto a la pérdida con respecto a la cantidad inicialmente puesta, puede deberse a fenómenos de difusión a través de los laterales de la subparcela.

Tanto el trazado físico como el químico pusieron de manifiesto el mismo comportamiento hidrodinámico de la ZNS frente a las condiciones propuestas. Se obtiene una leve progresión del frente de infiltración que en 24 h alcanza hasta una profundidad de 40 cm.

2.3.2. Alcoholes sulfato

Esta experiencia se realizó durante la primavera de 2010. Debido a la gran diferencia entre las proporciones para cada homólogo en las mezclas comerciales de AS, para tratar de que las cantidades puestas de cada homólogo fueran del mismo orden de magnitud, y así asegurar un correcto estudio de todos sus homólogos, se utilizaron dos mezclas comerciales, **tabla 2.3**. Una consistió en AS de Coco con una proporción más alta para los homólogos de cadena más corta y otra más rica en los homólogos de cadena más larga que fue AS EMPICOL.

La cantidad de AS total aplicada en la subparcela correspondiente fue de $5.3 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$. Para ello, se pesaron 20.0 g de cada mezcla comercial de AS, y se disolvieron inicialmente en una pequeña cantidad de agua de pozo. A continuación, esa disolución se aportó al total de 480 L de agua de pozo homogéneamente en el primer riego de la subparcela. Por lo tanto la concentración final de AS en el agua de pozo fue de $44.38 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En este estudio se realizaron un total de 8 tomas de muestra, teniendo las 4 primeras una frecuencia diaria. Una vez en el laboratorio las muestras de suelo se analizaron según la metodología analítica anteriormente desarrollada.

A. Evolución de los parámetros ambientales. En las **Figuras 8.13 - 8.14**, se muestran los datos de temperatura y humedad a las diferentes profundidades (superficie, 10, 20, 30, 40 y 50 cm de profundidad).

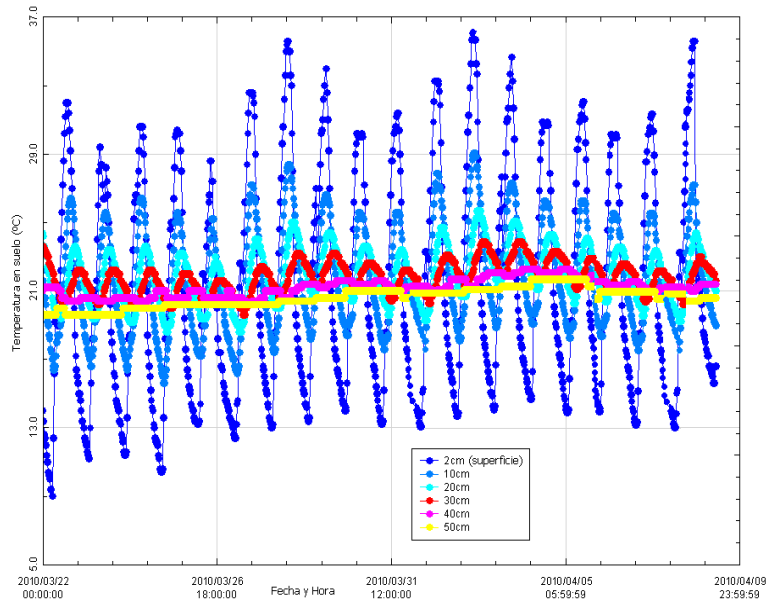


Figura 8.13. Temperaturas a diferentes profundidades

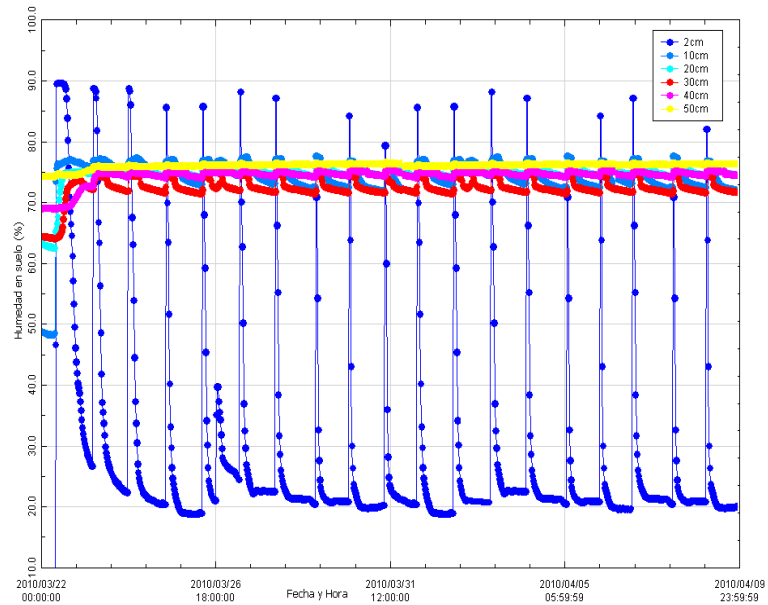


Figura 8.14. Humedades a diferentes profundidades

En la **tabla 8.3**, se muestran los parámetros ambientales medidos.

Tabla 8.3. Parámetros ambientales durante el tratamiento con AS

PARÁMETROS AMBIENTALES			
Temperatura ambiente (°C)			Humedad ambiental
Máx.	Med.	Mín.	media (%)
23.0	11.6	0.9	64.0
Precipitación total de lluvia y/o nieve derretida (mm)			Velocidad media del viento (km·h ⁻¹)
5.84 (Hubo lluvia los días 22 y 30 de marzo de 2010)			7.2

B. Evolución del AS en la subparcela. En las *tablas 8.4 - 8.8* se muestra la concentración de cada homólogo obtenida en los análisis de las diferentes muestras de suelo. Se han eliminado las muestras en las que no se encontró al analito. Igual que anteriormente, con las concentraciones encontradas a cada profundidad se calcularon los gramos totales de AS a cada tiempo, M , para toda la extensión del suelo de la subparcela (superficie - 60 cm) suponiendo en ese tramo una densidad aparente constante ($\rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$). Por otra parte, considerando la cantidad inicialmente puesta, $M_0 = 21.3 \text{ g}$ de AS, se calcularon las correspondientes fracciones M/M_0 .

Tabla 8.4. Resultados para el AS Total en la subparcela

Muestra	Concentración (mg AS Total·kg ⁻¹ suelo)							
	Toma 1 22.5 h	Toma 2 46.5 h	Toma 3 70.5 h	Toma 4 94.5 h	Toma 5 142.5 h	Toma 6 190.5 h	Toma 7 238.5 h	Toma 8 430 h
2 cm (sup)	75.0	58.0	54.5	40.4	19.4	12.1	5.15	0.62
10cm	14.4	8.29	7.73	4.46	3.79	1.55	0.52	0.24
20cm	3.56	2.04	1.04	0.51	0.26	0.12	0.06	0.03
30cm	0.69	0.46	0.40	0.19	0.12	0.10	0.08	0.02
40cm	0.27	0.13	0.09	0.08	0.06	0.04	0.03	0.01
50cm		0.08	0.07	0.05	0.02	0.01		
	M (g de AS Total)							
Parcela total	15.2	10.2	9.14	6.10	3.61	1.93	0.80	0.18
	M/M ₀							
Parcela total	0.71	0.48	0.43	0.29	0.17	0.09	0.04	0.01

Tabla 8.5. Resultados para el AS C_{12} en la subparcela

Muestra	Concentración (mg AS C_{12} ·kg ⁻¹ suelo)							
	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5	Toma 6	Toma 7	Toma 8
	22.5 h	46.5 h	70.5 h	94.5 h	142.5 h	190.5 h	238.5 h	430 h
2 cm (sup)	13.0	6.93	7.04	3.83	3.44	0.71	0.07	0.06
10cm	6.20	3.16	3.38	1.61	1.40	0.18	0.07	
20cm	3.04	1.77	0.89	0.40	0.18	0.05	0.01	
30cm	0.64	0.37	0.34	0.15	0.08	0.07	0.06	
40cm	0.26	0.10	0.04	0.03	0.02	0.01		
50cm		0.08	0.07	0.05	0.02	0.01		
	M (g de AS C_{12})							
Parcela total	5.63	3.05	2.66	1.31	1.03	0.21	0.07	0.005
	M/M₀							
Parcela total	0.63	0.34	0.30	0.15	0.12	0.02	0.01	0.001

Tabla 8.6. Resultados para el AS C_{14} en la subparcela

Muestra	Concentración (mg AS C_{14} ·kg ⁻¹ suelo)							
	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5	Toma 6	Toma 7	Toma 8
	22.5 h	46.5 h	70.5 h	94.5 h	142.5 h	190.5 h	238.5 h	430 h
2 cm (sup)	6.37	5.88	5.00	2.82	0.64	0.49	0.10	0.03
10cm	1.67	1.02	0.69	0.39	0.16	0.09	0.04	0.01
20cm	0.30	0.11	0.06	0.04	0.04	0.03	0.04	0.02
30cm	0.05	0.09	0.06	0.04	0.04	0.03	0.02	0.02
40cm	0.01	0.03	0.06	0.05	0.04	0.03	0.03	0.01
	M (g de AS C_{14})							
Parcela total	1.45	1.09	0.85	0.49	0.18	0.13	0.07	0.03
	M/M₀							
Parcela total	0.58	0.43	0.34	0.20	0.07	0.05	0.03	0.01

Tabla 8.7. Resultados para el AS C_{16} en la subparcela

Muestra	Concentración (mg AS C_{16} ·kg ⁻¹ suelo)							
	Toma 1	Toma 2	Toma 3	Toma 4	Toma 5	Toma 6	Toma 7	Toma 8
	22.5 h	46.5 h	70.5 h	94.5 h	142.5 h	190.5 h	238.5 h	430 h
2 cm (sup)	17.8	13.2	12.0	8.52	5.04	2.08	1.69	0.20
10cm	3.08	2.02	1.80	1.13	0.94	0.23	0.09	0.09
20cm	0.14	0.10	0.06	0.05	0.03	0.02	0.01	0.01
	M (g de AS C_{16})							
Parcela total	3.02	2.13	1.92	1.30	0.872	0.31	0.21	0.06
	M/M₀							
Parcela total	0.80	0.56	0.51	0.35	0.23	0.08	0.06	0.02

Tabla 8.8. Resultados para el AS C_{18} en la subparcela

Muestra	Concentración (mg AS C_{18} ·kg ⁻¹ suelo)							
	Toma 1 22.5 h	Toma 2 46.5 h	Toma 3 70.5 h	Toma 4 94.5 h	Toma 5 142.5 h	Toma 6 190.5 h	Toma 7 238.5 h	Toma 8 430 h
2 cm (sup)	37.7	32.0	30.5	25.2	10.3	8.83	3.28	0.34
10cm	3.47	2.09	1.85	1.33	1.28	1.05	0.32	0.14
20cm	0.07	0.05	0.03	0.02	0.02	0.01		
M (g de AS C_{18})								
Parcela total	5.08	3.98	3.72	2.99	1.52	1.28	0.45	0.09
M/M ₀								
Parcela total	0.83	0.65	0.61	0.49	0.25	0.21	0.02	0.02

Los analitos eran retenidos en los primeros centímetros del suelo, alcanzando el homólogo de cadena más corta hasta una profundidad de 50 cm. En esta franja de la subparcela ocurría su completa degradación. Las cantidades totales de tensioactivo, M , en función del tiempo, se ajustaron a un modelo de degradación de primer orden (monofásico o cinética de un compartimiento) basado en la ecuación exponencial de primer orden, **ecuación 7.36**. En la **figura 8.15** se representan los ajustes obtenidos.

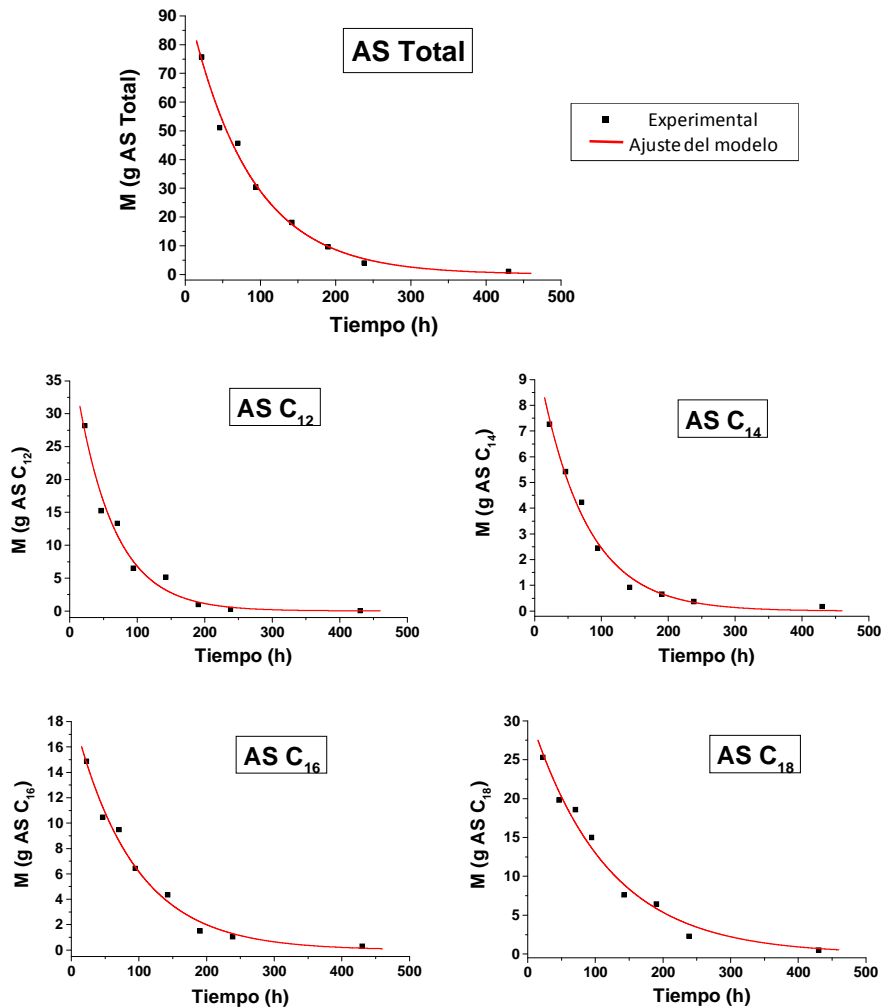


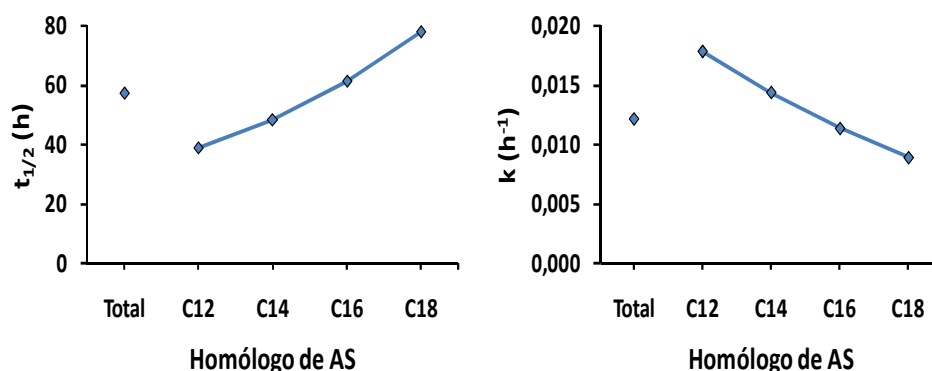
Figura 8.15. Variación de la cantidad de AS con el tiempo para toda la extensión del suelo de la subparcela

En la **tabla 8.9** se muestran los parámetros obtenidos en cada uno de los ajustes así como el coeficiente de determinación. Una vez conocida la constante de degradación, k , el valor para la vida media, $t_{1/2}$, de cada compuesto se calculó por medio de la **ecuación 7.38**.

Tabla 8.9. Parámetros del ajuste para los AS

Compuesto	k (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)	M_0 (g)	R^2 (%)
AS Total	$1.21 \cdot 10^{-2}$	57.2	19.6	99.1
AS C ₁₂	$1.78 \cdot 10^{-2}$	39.0	8.12	97.7
AS C ₁₄	$1.43 \cdot 10^{-2}$	48.3	2.06	99.0
AS C ₁₆	$1.13 \cdot 10^{-2}$	61.2	3.86	98.8
AS C ₁₈	$8.90 \cdot 10^{-3}$	78.0	6.31	98.2

El tiempo de vida media obtenido se sitúa entre las 39 y 78 horas aproximadamente (1.6 - 3.2 días). Se observó que el tiempo de vida media aumentaba conforme aumentaba la longitud de la cadena del tensioactivo, de forma que el homólogo C₁₈ presentó el doble de tiempo de vida media que el homólogo C₁₂. En la **figura 8.16** se muestra la variación de $t_{1/2}$ y k con la longitud de la cadena.

**Figura 8.16.** Variación de $t_{1/2}$ (izquierda) y k (derecha) con la longitud de cadena

En la **figura 8.17** se compara la cantidad inicial de tensioactivo, M_0 , obtenida mediante el ajuste de los datos frente a la realmente puesta en el tratamiento de la subparcela. Se observó que ambos valores fueron similares para todos los homólogos, lo que indica la idoneidad del modelo propuesto para el sistema estudiado.

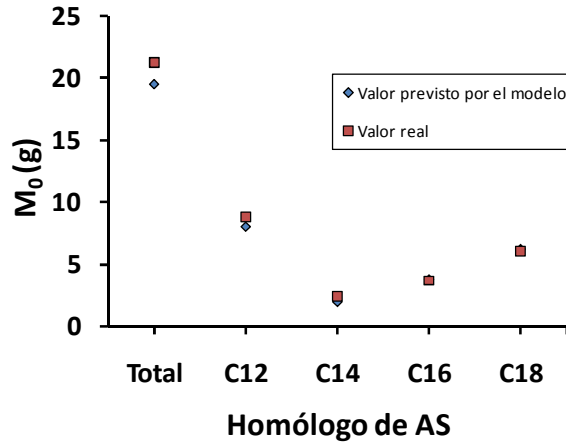


Figura 8.17. Comparación entre M_0 previstas y reales para los AS

2.3.3. LAS

Esta experiencia se realizó durante la primavera de 2011, siendo la dosis de LAS aplicada en la subparcela correspondiente de $5.5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$. Para ello se pesaron 40.898 g de la mezcla comercial de LAS y se disolvieron inicialmente en una pequeña cantidad de agua de pozo. A continuación, esa disolución se aportó al total de 480 L de agua de pozo en el primer riego de la subparcela. Por lo tanto la concentración final de LAS en el agua de pozo fue de $45.83 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

En este tratamiento se realizaron un total de 8 tomas de muestra, teniendo las 4 primeras una frecuencia diaria. Una vez en el laboratorio las muestras de suelo se analizaron según la metodología analítica anteriormente desarrollada.

A. Evolución de los parámetros ambientales. Los datos obtenidos para las medidas de temperatura y humedad a las diferentes profundidades

(superficie, 10, 20, 30, 40 y 50 cm de profundidad) se muestran en las **Figuras 8.18 - 8.19**.

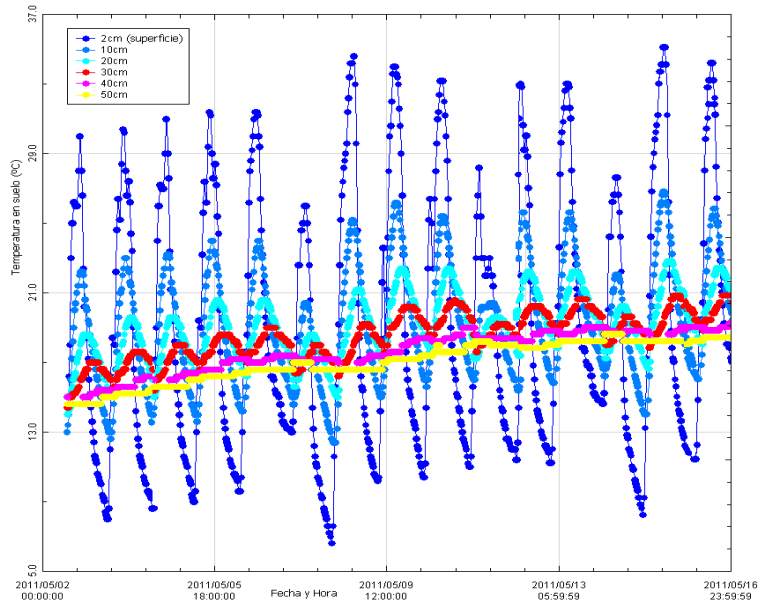


Figura 8.18. Temperaturas a diferentes profundidades

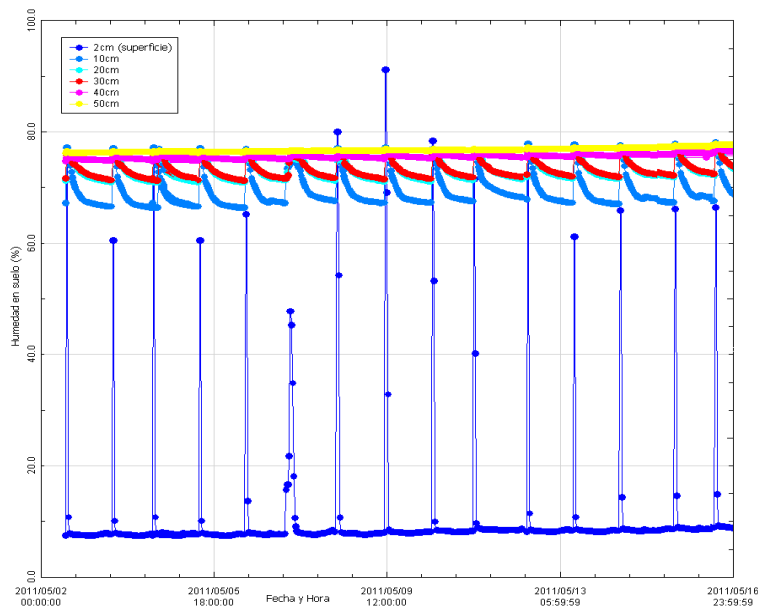


Figura 8.19. Humedades a diferentes profundidades

En la **tabla 8.10**, se muestran los valores para los parámetros ambientales durante el estudio.

Tabla 8.10. Parámetros ambientales durante el tratamiento con LAS

PARÁMETROS AMBIENTALES			
Temperatura ambiente (°C)			Humedad ambiental media (%)
Máx.	Med.	Mín.	
31.1	18.5	7	64.6
Precipitación total de lluvia y/o nieve derretida (mm)			Velocidad media del viento (km·h ⁻¹)
48 (Hubo lluvia los días 2, 3, 4, 5, 7 y 8 de mayo de 2011)			5.7

B. Evolución del LAS en la subparcela. Las concentraciones de cada uno de los homólogos del LAS obtenidas en los análisis de las diferentes muestras de suelo se muestran en las **tablas 8.11 - 8.15**, las muestras en las que no se encontró LAS no se muestran. Igual que anteriormente, con las concentraciones encontradas a cada profundidad se calcularon los gramos totales de LAS a cada tiempo, M , para toda la extensión del suelo de la subparcela (superficie - 60 cm) suponiendo en ese tramo una densidad aparente constante ($\rho_{\text{suelo}} = 1.223 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$). Por otra parte, considerando la cantidad inicialmente puesta, $M_0 = 22 \text{ g LAS}$, se calcularon las correspondientes fracciones M/M_0 .

Tabla 8.11. Resultados para el LAS Total en la subparcela

Muestra	Concentración (mg LAS Total·kg ⁻¹ suelo)						
	Toma 1 24 h	Toma 2 48 h	Toma 3 72 h	Toma 4 96 h	Toma 5 144 h	Toma 6 168 h	Toma 7 240 h
2 cm (sup)	10.1	54.6	16.8	27.9	11.5	5.19	3.73
10 cm	4.13	2.86	2.42	2.03	1.84		
20 cm	3.36	4.46	3.29	3.15	2.41		
30 cm	2.43	2.93	2.56	2.34	2.05		
40 cm	2.57	2.37	2.26	2.06			
	M (g de LAS Total)						
Parcela total	6.691	11.235	6.552	7.214	4.019	0.508	0.365
	M/M ₀						
Parcela total	0.304	0.511	0.298	0.328	0.183	0.023	0.017

Tabla 8.12. Resultados para el LAS C₁₀ en la subparcela

Muestra	Concentración (mg LAS C ₁₀ ·kg ⁻¹ suelo)						
	Toma 1 24 h	Toma 2 48 h	Toma 3 72 h	Toma 4 96 h	Toma 5 144 h	Toma 6 168 h	Toma 7 240 h
2 cm (sup)	0.75	2.00	0.80	1.02	0.55	0.37	0.38
10 cm	0.61	0.50	0.43	0.36	0.29		
20 cm	0.54	0.85	0.71	0.67	0.45		
30 cm	0.41	0.53	0.42	0.40	0.38		
40 cm	0.42	0.41	0.37	0.36			
	M (g de LAS C ₁₀)						
Parcela total	0.98	1.27	0.99	0.94	0.57	0.04	0.04
	M/M ₀						
Parcela total	0.32	0.41	0.32	0.31	0.19	0.01	0.01

Tabla 8.13. Resultados para el LAS C₁₁ en la subparcela

Muestra	Concentración (mg LAS C ₁₁ ·kg ⁻¹ suelo)						
	Toma 1 24 h	Toma 2 48 h	Toma 3 72 h	Toma 4 96 h	Toma 5 144 h	Toma 6 168 h	Toma 7 240 h
2 cm (sup)	2.45	11.8	3.36	6.25	2.56	0.93	0.93
10 cm	1.33	0.95	0.76	0.67	0.61		
20 cm	1.06	1.68	1.18	1.11	0.86		
30 cm	0.71	0.91	0.80	0.74	0.64		
40 cm	0.77	0.70	0.67	0.62			
	M (g de LAS C ₁₁)						
Parcela total	2.00	3.13	1.93	2.08	1.22	0.09	0.09
	M/M ₀						
Parcela total	0.28	0.44	0.27	0.29	0.17	0.01	0.01

Tabla 8.14. Resultados para el LAS C_{12} en la subparcela

Muestra	Concentración (mg LAS C_{12} ·kg ⁻¹ suelo)						
	Toma 1 24 h	Toma 2 48 h	Toma 3 72 h	Toma 4 96 h	Toma 5 144 h	Toma 6 168 h	Toma 7 240 h
2 cm (sup)	3.54	20.2	5.77	10.5	4.24	1.74	1.22
10 cm	1.26	0.79	0.59	0.50	0.45		
20 cm	0.98	1.20	0.78	0.78	0.60		
30 cm	0.71	0.77	0.68	0.61	0.53		
40 cm	0.74	0.66	0.65	0.56			
M (g de LAS C_{12})							
Parcela total	2.03	3.57	1.82	2.17	1.14	0.17	0.12
M/M₀							
Parcela total	0.30	0.53	0.27	0.32	0.17	0.03	0.02

Tabla 8.15. Resultados para el LAS C_{13} en la subparcela

Muestra	Concentración (mg LAS C_{13} ·kg ⁻¹ suelo)						
	Toma 1 24 h	Toma 2 48 h	Toma 3 72 h	Toma 4 96 h	Toma 5 144 h	Toma 6 168 h	Toma 7 240 h
2 cm (sup)	3.31	20.7	6.84	10.1	4.09	2.15	1.20
10 cm	0.94	0.62	0.63	0.50	0.49		
20 cm	0.78	0.73	0.62	0.59	0.50		
30 cm	0.61	0.72	0.66	0.59	0.51		
40 cm	0.64	0.59	0.57	0.52			
M (g de LAS C_{13})							
Parcela total	1.682	3.261	1.816	2.018	1.086	0.210	0.117
M/M₀							
Parcela total	0.332	0.645	0.359	0.399	0.215	0.042	0.023

Los resultados mostraron que el LAS quedaba retenido principalmente en los primeros centímetros del suelo, alcanzando hasta una profundidad de 40 cm. En esta franja de la subparcela tenía lugar su completa degradación. Las cantidades totales de tensioactivo, M , en función del tiempo, se ajustaron a un modelo cinético de degradación de primer orden (monofásico o cinética de un compartimiento) basado en la ecuación exponencial de primer orden, **ecuación 7.36**. En la **figura 8.20** se representan los ajustes obtenidos. A la hora de realizar el ajuste se descartaron los resultados para la primera toma al discrepar del resto,

debido probablemente a un estropeo de la muestra o al muestreo sobre un punto de la subparcela anormalmente a baja concentración.

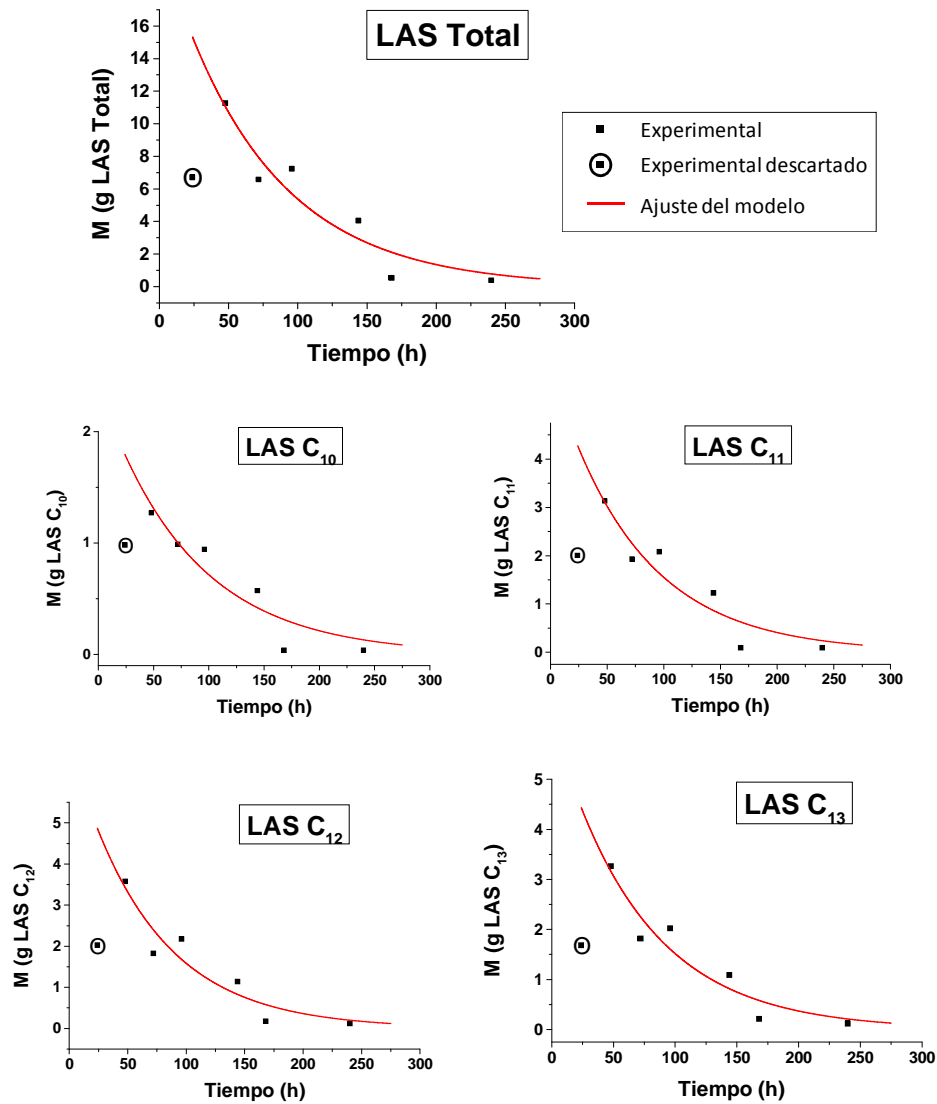


Figura 8.20. Variación de la cantidad de LAS con el tiempo para toda la extensión del suelo de la subparcela

En la **tabla 8.16** se muestran los parámetros obtenidos en cada uno de los ajustes así como el coeficiente de determinación. Una vez conocida

la constante de degradación, el valor para la vida media, $t_{1/2}$, de cada compuesto se calculó por medio de la **ecuación 7.38**.

Tabla 8.16. Parámetros del ajuste para el LAS

Compuesto	k (h^{-1})	$t_{1/2}$ (h)	M_0 (g)	R^2 (%)
LAS Total	$1.38 \cdot 10^{-2}$	50.3	21.3	90.8
LAS C ₁₀	$1.21 \cdot 10^{-2}$	57.2	2.40	88.7
LAS C ₁₁	$1.34 \cdot 10^{-2}$	51.9	5.89	89.7
LAS C ₁₂	$1.48 \cdot 10^{-2}$	46.9	6.94	90.0
LAS C ₁₃	$1.41 \cdot 10^{-2}$	49.1	6.21	91.8

El tiempo de vida media obtenido se sitúa entre las 49 y 57 horas aproximadamente (2 - 2.4 días). En general se observó que el tiempo de vida media disminuía conforme aumentaba la longitud de la cadena del tensioactivo, llegando al valor más bajo para el homólogo C₁₂. Para el homólogo C₁₃ se observó un ligero aumento con respecto al C₁₂. En la **figura 8.21** se muestra la variación de $t_{1/2}$ y k con la longitud de la cadena.

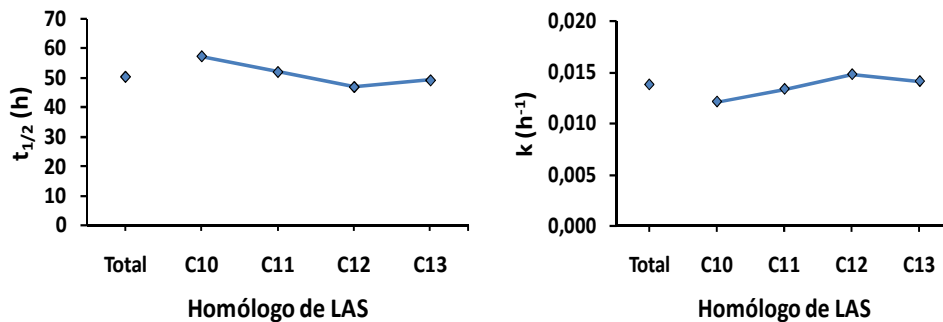


Figura 8.21. Variación de $t_{1/2}$ (izquierda) y k (derecha) con la longitud de cadena

En la **figura 8.22** se compara la cantidad inicial de tensioactivo, M_0 , obtenida mediante el ajuste de los datos frente a la realmente puesta en el tratamiento de la subparcela. Al igual que en el caso de los AS, se observó

que ambos valores fueron similares para todos los homólogos, lo que indica la idoneidad del modelo propuesto para el sistema estudiado.

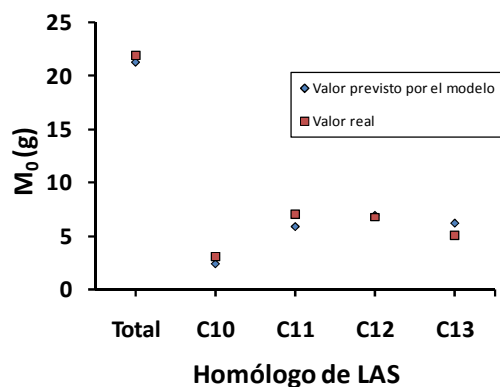


Figura 8.22. Comparación entre M_0 previstas y reales para el LAS

2.4. Estudio comparado de los resultados

Al comparar los resultados obtenidos, **figura 8.23**, en primer lugar se observó que en el caso del LAS total la velocidad de degradación obtenida era más rápida que para el AS total, lo que indica un mejor comportamiento en el caso del LAS. En los dos casos, se comprueba que la velocidad de degradación varía en función de la longitud de la cadena del tensioactivo. Pero la variación, como puede apreciarse en la **figura 8.23**, sigue tendencias contrarias para las dos familias estudiadas.

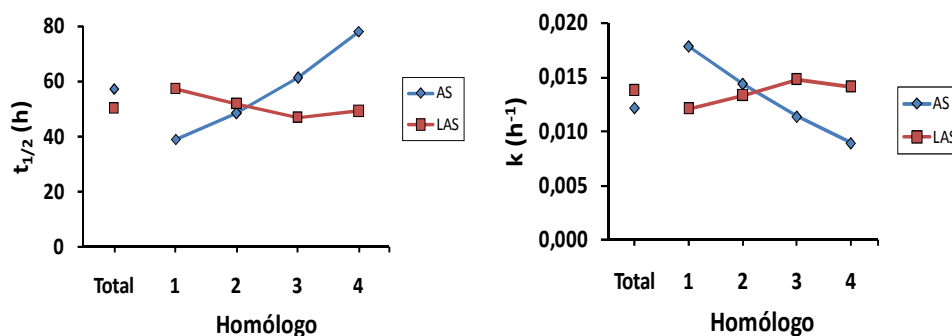


Figura 8.23. Comparación entre LAS y AS para $t_{1/2}$ (izquierda) y k (derecha)

La velocidad de degradación más rápida, así como la más lenta, en los dos casos correspondió a un homólogo de AS, AS C₁₂ y AS C₁₈ respectivamente. Por lo tanto, los AS presentaron una variación más amplia en la velocidad de degradación que los homólogos del LAS. Este hecho se relacionó directamente con la variación de la longitud de los homólogos, que era más grande en el caso de los AS, abarcando desde 12 hasta 18 átomos de carbono.

Aunque la mezcla comercial de AS tiene el homólogo con mayor velocidad de degradación, al contener también los homólogos con menor velocidad, hace que la mezcla comercial de LAS tenga un mejor comportamiento ambiental.

Al representar $t_{1/2}$ y k en función del número de átomos de carbono para las dos familias estudiadas, **figura 8.24**, se observa que la longitud óptima de degradación tanto para AS como para LAS es de 12 átomos de carbono.

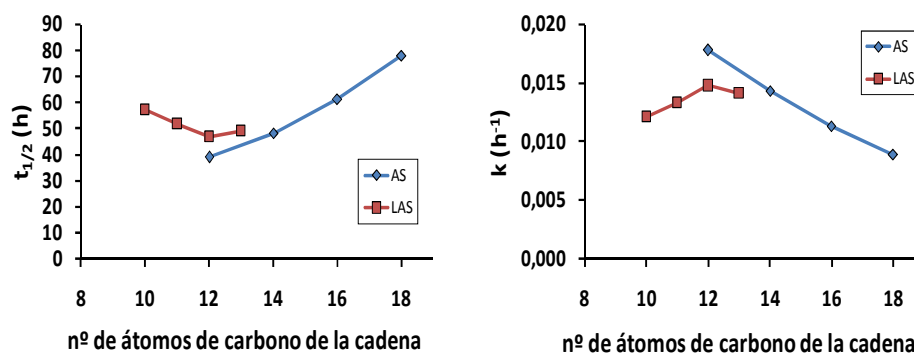


Figura 8.24. Comparación entre LAS y AS, ordenados según la longitud de cadena, para $t_{1/2}$ (izquierda) y k (derecha)

CONCLUSIONES

Como resultado de la investigación realizada durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral, se han obtenido las siguientes conclusiones principales:

- I. Se ha desarrollado un método analítico para la determinación, a nivel traza, de los homólogos y etoxímeros mayoritarios de las principales familias de tensioactivos de interés comercial (LAS, AS, AES y AEO). El método ha sido validado en sedimentos acuáticos y suelos agrícolas, ofreciendo mejoras importantes e innovaciones en relación a los ya existentes en bibliografía científica, ya que muy pocos de ellos han considerado la determinación a nivel de los numerosos homólogos y etoxímeros en un rango tan amplio.
- II. Se ha incidido especialmente en la etapa de tratamiento de muestra ya que los tensioactivos estudiados, normalmente, se encuentran a muy bajas concentraciones en las matrices objeto de estudio.
- III. El método propuesto consta de una primera etapa de extracción mediante ultrasonidos, empleando una sonda ultrasónica que permite altas recuperaciones comprendidas entre 62.0 - 98.8 % en el caso de sedimentos acuáticos y entre 61.5 - 96.2 % en el caso de suelos agrícolas, seguida de una etapa de preconcentración por evaporación a sequedad. A continuación, el residuo seco se reconstituye en el disolvente adecuado y se somete a centrifugación. Por último, los compuestos estudiados son separados y determinados mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem.

- IV. Se trata de un método, con buenas características analíticas, elevada exactitud, selectividad, tiempos de análisis cortos y disolventes poco tóxicos (etanol) con la consiguiente reducción de costes. Los límites de cuantificación obtenidos fueron del orden de $0.07 - 32 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ tanto para sedimentos acuáticos como para suelos agrícolas.
- V. El método es muy útil para realización de investigación exhaustiva sobre la presencia y comportamiento de estos compuestos en las matrices validadas, sedimentos acuáticos y suelos agrícolas.
- VI. Se ha estudiado la presencia de los tensioactivos seleccionados en muestras de sedimentos acuáticos recogidas en distintos puntos próximos a emisarios de EDAR: en la Costa de Andalucía, el litoral de la Isla de Tenerife y el Río Monachil. Los resultados obtenidos mostraron que estos tensioactivos, aunque a muy bajas concentraciones ($0.02 - 1506 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), se encuentran presentes en las muestras ensayadas.
- VII. Se ha puesto a punto una nueva metodología experimental para abordar el estudio del comportamiento y evolución medioambiental de estos compuestos en suelo agrícola, que consta de las siguientes etapas: caracterización fisicoquímica de las matrices involucradas, estudios de laboratorio (en batch y en columna) y estudios de campo.
- VIII. En los estudios de laboratorio en batch se han establecido las cinéticas e isothermas para los procesos de adsorción/desorción de las familias de tensioactivos LAS y AS.

Con las cinéticas de adsorción/desorción realizadas, se ha comprobado la relativa rapidez con que los homólogos del LAS y AS

son retenidos por el suelo. El equilibrio para los procesos adsorción/desorción se alcanza en 24 h para el LAS y en 2 h para los AS. En el caso de los homólogos más pesados de AS, C₁₆ y C₁₈, la gran retención obtenida para el proceso de adsorción y la poca liberación para el proceso de desorción, así como la gran rapidez de ambos procesos, es indicativo de la contribución del fenómeno de precipitación en el comportamiento de esta familia de tensioactivos. Tanto para LAS como para AS, ambos procesos de adsorción/desorción se ajustan al modelo cinético de Lagergren de pseudo primer orden múltiple, con el que se ha caracterizado la adsorción en macro-poros y en micro-poros.

Las isothermas de adsorción/desorción para el LAS se ajustan al modelo multi-término Langmuir + Cuadrático (Langmuir a baja concentración y Cuadrático a moderada/alta concentración para los cuatro homólogos). Para la familia de AS el modelo que mejor explica el comportamiento en el equilibrio es el de Langmuir + Precipitación. Los homólogos de AS más ligeros, AS C₁₂ y C₁₄, siguen un comportamiento Langmuir a baja concentración, teniendo más peso sobre el comportamiento la precipitación al aumentar la concentración. Sin embargo, en los homólogos más pesados, AS C₁₆ y C₁₈, el comportamiento está regulado por un fenómeno de precipitación, para todo en rango de concentraciones.

En el caso del LAS, tanto en las cinéticas como en las isothermas, no se evidencia contribución alguna por parte del fenómeno de precipitación, estableciéndose siempre un reparto entre ambas fases (suelo y agua) regido por el fenómeno de adsorción, este hecho pone de manifiesto un mejor comportamiento desde el punto de vista medioambiental para este tensioactivo.

- IX.** En los estudios de laboratorio en columna de suelo, se han establecido las curvas de rotura para los distintos homólogos de LAS y para los homólogos C_{12} y C_{14} de los AS. En el caso de los homólogos C_{16} y C_{18} de los AS, no se pudieron establecer debido a la obturación de la columna por la precipitación de dichos compuestos. Este hecho indica nuevamente un mejor comportamiento en columna para el LAS y predice un mejor comportamiento ambiental en suelo. El modelo de transporte de equilibrio local con isoterma lineal se ajusta satisfactoriamente a los resultados experimentales de adsorción/desorción.

Así mismo, los estudios de laboratorio efectuados han permitido llevar a cabo simulaciones con las que se ha obtenido la profundidad a la que cada tensioactivo alcanza su valor PNEC (concentración máxima prevista sin efectos). Este tipo de simulaciones, constituyen una aproximación del comportamiento de un compuesto, que podría utilizarse como un modelo de predicción para la primera evaluación del riesgo, siendo siempre necesario su estudio en campo a la hora de conocer con certeza su comportamiento. La simulación realizada para ambos tensioactivos predice un buen comportamiento ambiental.

- X.** En los estudios de campo realizados para las familias de LAS y AS se han corroborado los resultados de laboratorio. Los respectivos homólogos quedan retenidos principalmente en los primeros centímetros del suelo (capa arable) disminuyendo su concentración con la profundidad. El LAS alcanza, a baja concentración, hasta los 40 cm y los AS hasta los 50 cm. En ningún caso son detectables a 60 cm, por lo que se puede concluir que estos compuestos no lixivian, sino que, debido a la retención experimentada, tiene lugar su completa degradación en la zona arable. En todos los casos las curvas de

degradación se ajustan a un modelo cinético de primer orden basado en una ecuación exponencial, con el que se ha obtenido los correspondientes tiempos de vida media, 49 h para LAS total y 57 h para AS total, lo que indica un mejor comportamiento en el caso del LAS. En general, la desaparición de estos tensioactivos del suelo es bastante rápida en las condiciones experimentales establecidas.

En el caso del LAS, sus cuatro homólogos tienen la misma capacidad de penetración, hasta una profundidad de 40 cm. El tiempo de vida media disminuye al aumentar la longitud de cadena, excepto para el C₁₃, que aumenta ligeramente con respecto al C₁₂.

En el caso de los AS, la capacidad de penetración en el suelo disminuye a medida que aumenta la longitud de cadena del homólogo, de forma que el C₁₂ alcanza hasta los 50 cm, el C₁₄ hasta los 40 cm y C₁₆ y C₁₈ hasta los 20 cm. El tiempo de vida media, al contrario que para el LAS, aumenta al aumentar la longitud de cadena.

Tanto para LAS como para AS, el homólogo que presenta la degradación más rápida es el de 12 átomos de carbono.

Los valores de los diferentes parámetros obtenidos en los estudios realizados en laboratorio y en campo, tanto para el LAS como para los AS, se puede concluir que predicen y evidencian un mejor comportamiento del primero. Así mismo, la propuesta realizada en los estudios de campo de mantener el suelo húmedo (mediante un riego diario) contribuye a poder prevenir el impacto de estos compuestos al facilitar su biodisponibilidad y por lo tanto a la bioremediación de suelos contaminados.

XI. Los estudios realizados en esta Memoria constituyen una metodología de trabajo para el estudio y predicción del impacto ambiental de un compuesto, contribuyendo a facilitar su biorremediación en el caso de suelos contaminados. La metodología propuesta incluye las siguientes etapas:

- 4) Caracterización de las matrices involucradas
- 5) Estudios de laboratorio
 - En discontinuo (cinéticas e isothermas)
 - En continuo (curvas de rotura para columnas)
- 6) Estudios de campo
 - Comportamiento en una parcela experimental

Anexo I

**Publicaciones derivadas
de la Tesis Doctoral**



Multi-residue method for the analysis of commonly used commercial surfactants, homologues and ethoxymers, in marine sediments by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry

B. Oliver-Rodríguez^a, A. Zafra-Gómez^{a,*}, F.J. Camino-Sánchez^a, J.E. Conde-González^b, J.P. Pérez-Trujillo^b, J.L. Vilchez^a

^a Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Campus of Fuentenueva, E-18071 Granada, Spain

^b Department of Analytical Chemistry, University of La Laguna, E-38204 Tenerife, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 January 2013

Accepted 12 March 2013

Available online 20 March 2013

Keywords:

Surfactants

Ultrasound extraction

LC-ESI-MS/MS

Environmental analysis

Marine sediments pollution

ABSTRACT

A simple, sensitive and accurate multi-residue method has been developed for simultaneous determination of the main types of surfactants (linear alkylbenzene sulfonates [LAS], alkyl sulfates [AS], alkyl ethoxysulfates [AES], and alcohol polyethoxylates [AEO]). Ultrasound-assisted extraction was used for the extraction of surfactants. Liquid chromatography with tandem mass spectrometry with an electrospray interface (LC-ESI-MS/MS) was used for identification and quantification of the target compounds. The mass spectrometric conditions in positive and negative ionization mode were individually optimized for each analyte to obtain the maximum sensitivity. The selection of specific fragmentation reactions for LAS, AS and AES allowed simultaneous quantification and identification in one run, ensuring the high specificity of the method. For AEO determination, the triple quadrupole mass spectrometer was operated in the Q1 multiple ion mode (Q1 MI) with positive ionization due to the absence of fragmentation. The analytes were separated in less than 15 min. The limits of detection found ranged from 0.02 to 7.00 $\mu\text{g kg}^{-1}$ in marine sediments. Due to the absence of certified materials, the method was validated using matrix-matched calibration and a recovery assay with spiked samples. Recovery rates were close to 100% in all cases and ranged from 94.1% to 113.3%. Precision was also evaluated in terms of %RSD. The values obtained, expressed as inter-day variability, fell between 2.0% and 8.2% for all the analyzed surfactants. Finally, after validation, the proposed method was applied for the simultaneous determination of all the target compounds in samples taken from Tenerife Island, Spain. For each family of analyzed compounds, the homologues or ethoxymers found at the highest concentration levels were LAS C₁₃, AS C₁₆, AES C₁₄ EO₁ and AEO C₁₈ EO₁₄ with values up to 1136, 130, 61 and 9.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ respectively.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In recent years, research in the field of environmental pollution has extended beyond the study of classical contaminants – pesticides, biocides, PAH, PCB or dioxins – to other families of compounds, which are starting to be considered as “emerging contaminants” when they are released into the environment. Among these pollutants, surfactants constitute one of the most relevant categories [1]. Surfactants are widely used for both industrial and domestic purposes, accounting for over 3 million tonnes per year in Western Europe [2]. Due to their surface-active properties, they are used in a wide variety of applications. Surfactants market is a complex industry with several producers, numerous product lines and a broad spectrum of end applications, including household detergents, industrial washing

products and conditioners, laundry additives, cosmetics, lubricants, coatings and paints [4]. Surfactants are mainly of two types according to the charge of the hydrophilic moiety: anionic and non-ionic [5]. Linear alkylbenzene sulfonates (LAS) are the main component of anionic surfactants, with an estimated annual production of 0.4 million tonnes in Europe [4], followed by alcohol ethoxysulfates (AES) and alcohol sulfates (AS). Alcohol polyethoxylates (AEO) have also an important production worldwide [6, 7].

Surfactants are typically highly water soluble and surface active, which confer them with partition to suspended particles that become incorporated into sediments in the environment, where the highest exposure to these compounds is expected [8]. Biodegradation rates and pathways of organic compounds, including some detergent ingredients, are known to depend strongly on the anoxic conditions occurring in sediments, leading to a potential increase in exposure secondary to their accumulation in sediments [9, 10]. In addition, in some situations, the continued input into the environment of

* Corresponding author. Tel.: +34 958 243326; fax: +34 958 243328.
E-mail address: azafra@ugr.es (A. Zafra-Gómez).

- sludge bands spiked with linear alkylbenzene sulfonates: a field study, *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (2003) 821–829.
- [21] G.G. Ying, Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment, *Environ. Int.* 32 (2006) 417–431.
- [22] P.A. Lara-Martín, A. Gómez-Parra, E. González-Mazo, Development of a method for the simultaneous analysis of anionic and non-ionic surfactants and their carboxylated metabolites in environmental samples by mixed-mode liquid chromatography-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1137 (2006) 88–197.
- [23] National Institute of Statistic (INE), Available at: www.ine.es2011.
- [24] Statgraphics Plus version 5.0, Manugistics Inc., Rockville, Maryland, USA, 2000.
- [25] L. Eriksson, E. Johansson, N. Kettaneh-Wold, C. Wikström, S. Wold, Design of experiments, Principles and applications, 3rd ed., Umetrics AB, Umea, Sweden, 2008.
- [26] P.A. Lara-Martín, E. González-Mazo, B.J. Brownawell, Multi-residue method for the analysis of synthetic surfactants and their degradation metabolites in aquatic systems by liquid chromatography-time-of-flight-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 4799–4807.
- [27] Analytical Methods Committee, Is my calibration linear? *Analyst* 119 (1994) 2363–2369.
- [28] L.A. Currie, Detection and quantification limits: origins and historical overview, *Anal. Chim. Acta* 391 (1999) 127–134.

ANEXO II

Otras Publicaciones

UNE-EN ISO/IEC 17025:2005-accredited method for the determination of pesticide residues in fruit and vegetable samples by LC-MS/MS

F.J. Camino-Sánchez^a, A. Zafra-Gómez^{b*}, B. Oliver-Rodríguez^b, O. Ballesteros^b, A. Navalón^b, G. Crovetto^b and J.L. Vilchez^b

^aLaboratorios Cavendish S.L. Research Department, E-18220 Granada, Spain; ^bResearch Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, University of Granada, Campus of Fuentenueva, E-18071 Granada, Spain

(Received 1 April 2010; final version received 25 June 2010)

A rapid, simple and sensitive multi-residue method was developed and validated for the simultaneous quantification and confirmation of 69 pesticides in fruit and vegetables using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The samples were extracted following the quick, easy, cheap, effective, rugged and safe method known as QuEChERS. Mass spectrometric conditions were individually optimised for each analyte in order to achieve maximum sensitivity in multiple reaction monitoring (MRM) mode. Using the developed chromatographic conditions, 69 pesticides can be separated in less than 17 min. Two selected reaction monitoring (SRM) assays were used for each pesticide to obtain simultaneous quantification and identification in one run. With this method in SRM mode, more than 150 pesticides can be analysed and quantified, but their confirmation is not possible in all cases according to the European regulations on pesticide residues. Nine common representative matrices (zucchini, melon, cucumber, watermelon, tomato, garlic, eggplant, lettuce and pepper) were selected to investigate the effect of different matrices on recovery and precision. Mean recoveries ranged from 70% to 120%, with relative standard deviations (RSDs) lower than 20% for all the pesticides. The proposed method was applied to the analysis of more than 2000 vegetable samples from the extensive greenhouse cultivation in the province of Almería, Spain, during one year. The methodology combines the advantages of both QuEChERS and LC-MS/MS producing a very rapid, sensitive, accurate and reliable procedure that can be applied in routine analytical laboratories. The method was validated and accredited according to UNE-EN-ISO/IEC 17025:2005 international standard (accreditation number 278/LE1027).

Keywords: liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS); pesticide residues; fruit; vegetables

Introduction

In the past few years, along with the increasing public concern for food safety, there has been a need to develop rapid and accurate analytical methods for the determination of residual pesticides in agricultural products. More than 800 pesticides belonging to over 100 different chemical classes are used in agricultural practice worldwide to control pests and diseases. Residues of pesticides that persist after treatment may penetrate plant tissues and appear in the pulp and juice of fruit and vegetables, although their concentrations are, in general, lower than those observed in whole fruit (European Union 1991; Albero et al. 2005). The presence of pesticide residues in food is an important concern for consumers due to their possible long-term adverse health effects, especially for children as they consume a higher proportion of fruits and vegetables in relation to their body weight and are more susceptible to chemicals since they are in the early stages of development.

Government agencies and international organizations limit the amount of pesticides in food and establish the maximum residue limits (MRLs) in order to protect consumers' health. Several European Union directives have fixed different MRLs for pesticide residues in vegetables and fruits in the low microgram per kilogram level. In particular, for vegetables and fruits intended for baby food production an MRL of 0.01 mg kg⁻¹ has been established for all pesticides. MRLs below 0.01 mg kg⁻¹ have been established for some toxic pesticides, and the use of some very toxic ones is forbidden (Burchat et al. 1998; European Commission 2002a, 2005, 2006a, 2006b, 2008; Directorate General Health and Consumer Protection 2007).

Generally, the complex matrix of agricultural products affects adversely the precision of analysis, and the determination of pesticides is accomplished by the use of chromatographic techniques that involve many preliminary steps such as sampling, extraction

*Corresponding author. Email: azafra@ugr.es

- Liu LB, Hashi Y, Qin YP, Zhou HX, Jin-Ming L. 2007. Development of automated online gel permeation chromatography-gas chromatograph mass spectrometry for measuring multiresidual pesticides in agricultural products. *J Chromatogr B*. 845(1):61–68.
- Liu Y, Wang Z, Chu X. 2005. Determination of 50 organophosphorous pesticides in unpolished rice sample by gas chromatography-nitrogen phosphorous detecting with gel permeation chromatography clean-up. *Chin J Anal Chem*. 33(6):808–810.
- Obana H, Akutsu K, Okihashi M, Hori S. 2001. Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits using two-layered column with graphitized carbon and water absorbent polymer. *Analyst*. 126(9):1529–1534.
- Pico Y, Font G, Ruiz MJ, Fernandez M. 2006. Control of pesticide residues by liquid chromatography-mass spectrometry to ensure food safety. *Mass Spec Rev*. 25:917–960.
- Soler C, Pico Y. 2007. Recent trends in liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine pesticides and their metabolites in food. *Trends Anal Chem*. 26(2):103–115.
- Specht W, Pelz S, Gilsbach W. 1995. Gas-chromatographic determination of pesticide residues after clean-up by gel-permeation chromatography and mini-silica gel-column chromatography – 6. Communication: Replacement of dichloromethane by ethyl acetate/cyclohexane in liquid-liquid partition and simplified conditions for extraction and liquid-liquid partition. *Fresenius J Anal Chem*. 353:183–190.
- Wan Y, Yan A, Xie M. 2005. Determination of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in Chinese herbal medicines. *Chin J Anal Chem*. 33(5): 614–618.
- Zambonin CG, Quinto M, Vietro ND, Palmisano F. 2004. Solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry: a fast and simple screening method for the assessment of organophosphorus pesticides residues in wine and fruit juices. *Food Chem*. 86(2):269–274.
- Zheng X. 2004. Determination of pyrethroid insecticide residues in vegetable and fruit by microwave-assisted liquid-liquid microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Chin J Anal Chem*. 32(2):225–228.



Validation of a method for the determination of tributyltin in seawater by stir bar sorptive extraction–liquid chromatography tandem mass spectrometry

F.J. Camino-Sánchez^{a,b,*}, A. Zafra-Gómez^a, B. Oliver-Rodríguez^a, I. Ruiz-Naranjo^b, J. Ruiz-García^b, J.L. Vílchez^a

^a Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, Campus of Fuentenueva, University of Granada, E-18071 Granada, Spain

^b Certio Environment S.L.TM, Research Department, E-18220 Granada, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 July 2012

Received in revised form 4 September 2012

Accepted 6 September 2012

Available online 11 September 2012

Keywords:

Stir bar sorptive extraction

Tributyltin

LC–MS/MS

Priority substances

Antifouling

Water analysis

ABSTRACT

The main objective of this work is to develop an accurate, sensitive, simple and cost-effective method for the determination of tributyltin species (as cationic form) in seawater at ultra-trace levels. The method is based on the use of stir bar sorptive extraction (SBSE) followed by solvent desorption and liquid chromatography tandem mass spectrometry (SD–LC–MS/MS (QqQ)) analysis, operating in positive electrospray ionisation (ESI) and in the selected reaction monitoring (SRM) mode. Extraction and LC–MS/MS parameters were accurately optimised to achieve the highest recoveries and to enhance the analytical characteristics of the method. The different parameters that affect the extraction procedure, the chromatographic and spectrometric conditions, and the surrogate selection were evaluated. In contrast with previously proposed methods, the proposed method involves a simplified sample treatment. Quality parameters such as linearity, accuracy in terms of trueness and precision, uncertainty and specificity were examined with good results. The evaluation of two surrogates (tri-*n*-propyltin chloride and tripropyltin chloride) was also carried out. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) obtained were 0.8 and 2.5 ng L⁻¹, respectively. Precision, expressed as relative standard deviation (%RSD), was lower than 16%, and the determination coefficient (*R*²) was higher than 0.990 with a residual deviation for each calibration point lower than ±25%. Mean recoveries were between 92% and 102%. The accuracy of the method was also studied by participating in an external proficiency testing scheme. After validation, the method was applied to the analysis of all tributyltin species found in natural seawater samples. The method meets the requirements of the United States Environmental Protection Agency (US-EPA).

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Tributyltin compounds (TBTs) are organotin compounds consist of three carbon atoms attached to a tin atom via covalent bonds. The general formula is (n-C₄H₉)₃Sn-X, where X is an anion or a group linked covalently through a hetero-atom. The nature of X influences the physicochemical properties of the different TBT compounds, mainly their solubility in water and in non-polar solvents, and the vapour pressure. The most common use of TBTs has traditionally been as marine antifouling paint for ships, however, the International Maritime Organization (IMO) implemented, in 2008, a total ban on TBT paints and more than 70 countries have already signed the agreement. They have also been used as fungicides,

bactericides and wood preservative, but nowadays they are being banned by many countries. TBT is a problem in the aquatic environment because it is extremely toxic to non-target organisms even at very low concentrations (1–2 ng L⁻¹). Also TBT compounds are listed as endocrine disruptors [1]. TBT has been banned by several international environmental organisations [2–4]. The EPA has released an ambient water quality criteria document for TBT [5]. The aim of this document is to protect the aquatic life in both fresh and saltwater. The criteria to protect freshwater and saltwater aquatic life from chronic toxic effects are 0.072 μg L⁻¹ and 0.0074 μg L⁻¹, respectively. The criteria to protect freshwater and saltwater aquatic life from acute toxic effects are 0.46 μg L⁻¹ and 0.42 μg L⁻¹, respectively.

TBT can combine with a counter-ion such as acetate, carbonate, chloride, fluoride, hydroxide and sulphide or can form bis(tributyltin) oxide (TBTO). In seawater, TBT exists mainly as a mixture of the chloride, the hydroxide, the aquocomplex, and the carbonate complex [4–8]. In acid media (pH < 2), only the chlorine complex is present (TBT-Cl) and TBTO also breaks down to two

* Corresponding author at: Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, Campus of Fuentenueva, University of Granada, E-18071 Granada, Spain. Tel.: +34 958 243326; fax: +34 958 243328.

E-mail address: camino@correo.ugr.es (F.J. Camino-Sánchez).

method is also simple, cost-effective and fully automated. No solvents or toxic reagents were necessary, making the method safe to the environment.

Acknowledgement

This work was supported and funded by the Innovation and Development Agency of Andalusia (IDEA) with the help of the Andalusia Economy, Development and Science Council.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.chroma.2012.09.018.

References

- [1] D. Chagot, C. Alzieu, J. Sanjuan, H. Grizel, *Aquat. Living Resour.* 3 (1990) 121.
- [2] R. Benson, Tributyltin oxide, in: *Integrated Risk Information System (IRIS), Toxicological Review*, US-EPA, Washington, D.C, USA, 1997.
- [3] WHO, Tributyltin Compounds, in: *Environmental Health Criteria*, vol. 116, WHO, Geneva, 1990, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Germany, ISBN: 92 4 157116 0/ISSN 0250-863X.
- [4] WHO, Concise International Chemical Assessment Document, vol. 14, WHO, Geneva, 1999, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, Germany, ISBN: 92 4 153014 6/ISSN 1020-6167.
- [5] US-EPA, Office of Water, Washington, D.C., USA. EPA 822-R-03-031, 2003. <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/tributyltin>
- [6] European Commission, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of October 2000, *Off. J. Eur. Commun. L* 327, 22/12/2000.
- [7] European Commission, Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of December 16, *Off. J. Eur. Union L* 348 (84), 24/12/2008.
- [8] R.B. Laughlin, H.E. Guard, V.M. Coleman, *Environ. Sci. Technol.* 20 (1986) 4.
- [9] UNE-EN ISO/IEC 17353:2007, Water Quality. Determination of Selected Organotin Compounds. Gas Chromatographic Method. AENOR (2007).
- [10] C.C. Chou, M.R. Lee, *J. Chromatogr. A* 1064 (2005) 1.
- [11] L. Segovia-Martínez, A. Bouzas-Blanco, P. Campíns-Falcó, A. Seco-Torrecillas, *Talanta* 80 (2010) 1888.
- [12] S. Tsunoi, T. Matoba, H. Shioji, L.T. Huong Giang, H. Harino, M. Tanaka, *J. Chromatogr. A* 962 (2002) 197.
- [13] C. Devos, M. Vlieghe, B. Willaert, F. David, L. Moens, P. Sandra, *J. Chromatogr. A* 1079 (2005) 408.
- [14] A.P. Birjandi, A. Bidari, F. Rezaei, M. Reza, M. Hosseini, Y. Assadi, *J. Chromatogr. A* 1193 (2008) 19.
- [15] Q. Xiao, B. Hu, M. He, *J. Chromatogr. A* 1211 (2008) 135.
- [16] R. Compañó, M. Granados, C. Leal, M.D. Prat, *Anal. Chim. Acta* 314 (1995) 175.
- [17] T. Sano, H. Takagi, K. Nagano, M. Nishikawa, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 4344.
- [18] K. Békri, R. Saint-Louis, É. Pelletier, *Anal. Chim. Acta* 578 (2006) 203.
- [19] Q. Sun, Z. Chen, D. Yuan, M. Megharaj, R. Naidu, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 23 (2009) 3795.
- [20] EPA Method 8323, Rev 0, Determination of Organotins by Micro-Liquid Chromatography–Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry, US-EPA, Washington, D.C, USA, 2003.
- [21] UNE-EN ISO/IEC/17025:2005, General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories, 2005.
- [22] M.J.F. Leroy, P. Quevauviller, O.F.X. Donard, M. Astruc, *Pure Appl. Chem.* 70 (1998) 2051.
- [23] ISO/TS 13530:2009, Water Quality – Guidance on Analytical Quality Control for Chemical and Physicochemical Water Analysis, 2009.
- [24] Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (2002/657/CE), *Off. J. Eur. Commun. L* 221 (8) (2002).
- [25] E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C.A. Cramers, *J. Microcolumn Sep.* 11 (1999) 737.
- [26] R. Cela, *Avances en Quimiometría Práctica*, Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico, Santiago de Compostela, Spain, 1994.
- [27] Analytical Methods Committee, *Analyst* 119 (1994) 2363.
- [28] S.L.R. Ellison, M. Rosslein, A. Williams (Eds.), *EURACHEM/CITAC Guide. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 2nd ed., 2000.
- [29] A. Eaton, L. Clesceri, E. Rice, A. Greenberg, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Tables 8–11, 22nd ed., APHA, AWWA, WEF, USA, 2012.

Effect of the injection of pure oxygen into a membrane bioreactor on the elimination of bisphenol A

N. Dorival-García · A. Zafra-Gómez · B. Oliver-Rodríguez ·
A. Navalón · J. González-López · J. L. Vílchez

Received: 17 June 2012/Revised: 1 October 2012/Accepted: 21 December 2012
© Islamic Azad University (IAU) 2013

Abstract The effect of the injection of pure oxygen instead of air in a membrane bioreactor for the elimination of bisphenol A is investigated. A dynamic experiment was developed in a pilot plant where the aerobic reactor was continuously spiked with 1 mg L^{-1} of bisphenol A. Air was injected for 10 days and then pure oxygen was injected for another 10 days. The bisphenol A concentration was determined in aqueous phases and activated sludge using simple and sensitive analytical methods based on different extraction procedures and liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis. Enzymatic activity was also determined and toxicity tests were performed to discard that the spiked bisphenol A concentration could negatively affect the microorganisms in the bioreactor and, thus, the membrane bioreactor performance. The effluent bisphenol A concentration increased up to 0.26 mg L^{-1} after 4 days in the air injection treatment, and up to 0.48 mg L^{-1} after only 12 h in the oxygen injection treatment. In both cases, this was followed by a decrease in concentration despite the continuous spiking of bisphenol A into the bioreactor. In presence of pure oxygen, bisphenol A concentration reached background levels (below the limit of quantification) after 5 days. In contrast, when using air a total of 10 days were required to reach background levels. The

injection of pure oxygen instead of air is an important innovation in wastewater treatment, allowing permanent elimination of organic contaminants, avoiding their return to the environment and ensuring the safety of water.

Keywords Bisphenol A · Liquid chromatography tandem mass spectrometry · Membrane bioreactor · Sewage sludge · Wastewater

Introduction

Endocrine disrupting chemicals (EDCs) are known to mimic natural hormones thus causing adverse effects in humans and wildlife. Their effects lead to reduced fertility, congenital malformations of the reproductive tract and increased incidence of cancer in estrogen-responsive tissues (Bonefeld-Jørgensen et al. 2007). Recent studies focus on anthropogenic EDCs, such as synthetic hormones, a great variety of pharmaceuticals and personal care products, as well as a large amount of industrial chemicals, especially BPA, PCBs, dioxins, pesticides, phthalates, alkylphenols and alkylphenol ethoxylates (Smith 2009).

BPA is the EDC causing the greatest concern in the scientific and medical community, because its effects are even more pernicious than those caused by other EDCs. BPA can interact with estrogen receptors and is a human androgen receptor antagonist, even at low doses. It is thought that BPA can negatively affect the neuroendocrine, behavioural and cognitive functions of individuals (Takayanagi et al. 2006). In addition, BPA may also cause feminization of numerous species, inhibition of male phenotype and spermatogenesis, stimulate the growth of breast tumour cells, act as teratogenic and carcinogenic agent, and can affect the thyroid function (Furuya et al. 2006; Stowell et al. 2006). The presence of

N. Dorival-García · A. Zafra-Gómez (✉) ·
B. Oliver-Rodríguez · A. Navalón · J. L. Vílchez
Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences,
Department of Analytical Chemistry, Campus of Fuentenueva,
University of Granada, 18071 Granada, Spain
e-mail: azafra@ugr.es

J. González-López
Research Group of Microbiology and Environmental
Technologies, Water Research Institute,
University of Granada, 18071 Granada, Spain



Zhang C, Zeng G, Yuan L, Yu J, Li J, Huang G, Xi B, Liu H (2007)
Aerobic degradation of bisphenol A by achromobacter xyloox-
idans strain B-16 isolated from compost leachate of municipal

solid waste. Chemosphere 68(1):181–190. doi:[10.1016/j.chemosphere.2006.12.012](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.012)



Contents lists available at [SciVerse ScienceDirect](http://www.elsevier.com/locate/chemosphere)

Chemosphere

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

A new procedure of determination of alcohol sulfates and alcohol ethoxysulfates in agricultural soils

C. Fernández-Ramos, O. Ballesteros*, A. Zafra-Gómez, R. Blanc, A. Navalón, G. Crovetto, S. Cantarero, B. Oliver-Rodríguez, J.L. Vílchez

Research Group of Analytical Chemistry and Life Sciences, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Sciences, University of Granada, Granada, Spain

HIGHLIGHTS

- LC–MS/MS method to identify and quantify AS and AES in agricultural soil.
- AS homologues and AES ethoxymers are separately determined.
- PLE allows the extraction of the analytes with a minimal solvent consumption.
- Environmental behavior of AS/AES in agricultural soils is evaluated with a field study.
- Levels of AS and AES at different times and depths were evaluated.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 November 2012
Received in revised form 16 April 2013
Accepted 26 April 2013
Available online xxxx

Keywords:

Alcohol sulfates
Alcohol ethoxysulfates
Pressurized liquid extraction
Liquid chromatography–mass spectrometry
Agricultural soil

ABSTRACT

The number of analytical methodologies that focus in the determination of alcohol sulfates (AS) and alcohol ethoxysulfates (AES) in terrestrial environment is very limited. In the present work, a new methodology to improve the extraction and determination of AS and AES in agricultural soil samples has been developed. Prior to instrumental analysis, an extraction procedure using pressurized liquid extraction with methanol (PLE) was carried out in order to obtain the highest recoveries and improve sensitivity. The most influential variables affecting the PLE procedure were optimized. Then, the separation and quantification of analytes were performed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC–MS/MS). The limits of detection (LOD) ranged from 0.03 to 0.08 $\mu\text{g g}^{-1}$ for AS homologues and in the case of AES ethoxymers from 0.03 to 0.09 $\mu\text{g g}^{-1}$ for AES- C_{12}E_x and from 0.03 to 0.08 $\mu\text{g g}^{-1}$ for AES- C_{14}E_x . Matrix-matched calibration was used. Trueness was evaluated by using a spike recovery assay with spiked blank samples, and the recoveries ranged from 98.3% to 101.0% for AS and from 99.9% to 100.1% for AES. The method was satisfactorily applied in a field study designed to evaluate the environmental behavior of these compounds in agricultural soil.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Due to the variety of their applications, high volumes of surfactants are produced and consumed around the world. Furthermore constitute a major ingredient of detergent components. Surfactants are the active ingredients in household detergents, industrial cleaning agents and personal care products. Among the different types of surfactants, anionic are the most widely used as primary surfactants in personal care products. Surfactants used in personal care preparations account for an estimated 15–16% of the total surfactant consumption (Falbe, 1987 and Levine et al., 2000). In 2011, the total amount of surfactants (not including soaps) consumed in Europe was 2.95 Mt, of them 1.398 Mt were

non-ionic, 1.218 Mt were anionic, 0.237 Mt cationic and 0.099 Mt amphoteric, according to statistics published by the European Committee of Surfactants and their Organic Intermediates (CESIO, 2011). European production of alcohol ethoxysulfates (AES) and alcohol sulfates (AS) together reaches 378 million kg per year (HERA, 2002a,b) so they are placed second in the production volume ranking after LAS. The AS have an alkyl chain length of between 12 and 18 carbon units and the AES have an alkyl chain length of between 12 and 16 carbon units and a chain of 3 or 4 ethylene oxide (EO) units, on average, being the most used ethoxymers with 12 and 14 carbon units.

Detergents are manufactured in large quantities, after use, they usually are disposed to wastewater treatment plants (WWTPs). Here, depending on the chemical structure of the surfactant molecule and on the operating conditions of the WWTP, the compounds are removed by biodegradation processes or adsorption onto the sludge particles from wastewaters. These compounds

* Corresponding author. Tel.: +34 958 243326; fax: +34 958 243328.
E-mail address: oballest@ugr.es (O. Ballesteros).

- Tubau, I., Vázquez-Suñé, E., Carrera, J., González, S., Petrovic, M., López de Alda, M.J., Barceló, D., 2010. Occurrence and fate of alkylphenol polyethoxylate degradation products and linear alkylbenzene sulfonate surfactants in urban ground water: Barcelona case study. *J. Hydrol.* 383, 102–110.
- Weil-Shafran, A., Ronen, Z., Weisbrod, N., Adar, E., Gross, A., 2006. Potential changes in soil properties following irrigation with surfactant – rich greywater. *Ecol. Eng.* 26, 348–354.
- Ying, G.G., William, B., Kookana, R., 2002. Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates – a review. *Environ. Int.* 28, 215–226.
- Ying, G.G., 2006. Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environ. Int.* 32, 417–431.

Manuscript Number: IBB-D-13-00257R1

Title: TWO NOVEL STRAINS WITHIN THE FAMILY CAULOBACTERACEAE CAPABLE OF DEGRADATION OF LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATES AS PURE CULTURES

Article Type: Short Communication

Keywords: Linear alkylbenzene sulfonate; Soil microbiota; Phenyllobacterium; Caulobacter; Alphaproteobacteria; Soil microcosm

Corresponding Author: Dr. Marina Rodríguez Díaz, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: University of Granada

First Author: Carmen Cortés-Lorenzo, Ph.D.

Order of Authors: Carmen Cortés-Lorenzo, Ph.D.; M. del Mar Sánchez-Peinado, Ph.D.; Bartolomé Oliver-Rodríguez; José L Víchez, Ph.D., Professor; Jesús J González-López, Ph.D., Professor; Marina Rodríguez Díaz, Ph.D.

Abstract: Abstract

Culture-independent methods found members of the family Caulobacteraceae to be especially enriched in a soil microcosm perfused 21 days with a 50 mg l⁻¹ solution of linear alkylbenzene sulfonates (LAS) (Sánchez-Peinado et al., 2010). In this study, bacterial isolates from the same soil microcosm were screened for members of the family Caulobacteraceae. Two strains were identified as *Phenyllobacterium haematophilum* and *Caulobacter mirabilis* according to their 16S rRNA gene sequences. The two strains were cultured in liquid medium containing LAS (20 and 40 mg l⁻¹), and HPLC analyses of the supernatants showed that they were capable of metabolizing LAS as pure cultures. These data confirm that indeed members of the family Caulobacteraceae were actively metabolizing LAS in the soil as previously reported, and provide with two valuable strains to study the metabolism of LAS in vitro.

Ms. Ref. No.: IBB-D-13-00257R1

Title: TWO NOVEL STRAINS WITHIN THE FAMILY CAULOBACTERACEAE CAPABLE OF DEGRADATION OF LINEAR ALKYL BENZENE SULFONATES AS PURE CULTURES
International Biodeterioration & Biodegradation

Dear Dr. Marina Rodríguez Díaz,

I am pleased to tell you that your paper has been accepted for publication in International Biodeterioration and Biodegradation, and has now been sent to the publisher for publication.

PDF proofs will be e-mailed to you in due course by Elsevier. If you have any further queries regarding your paper please do not hesitate to visit the Author Home page at <http://authors.elsevier.com>, where you will be able to continue to track the progress of your paper through the production process. Contact details for questions arising after the acceptance of an article, especially those relating to proofs, are provided by Elsevier after registration of the accepted article for publication (authorsupport@elsevier.com).

Do not contact the editorial office, as they do not have access to such information and will be unable to help you.

Thank you for submitting your work to International Biodeterioration and Biodegradation.

When your paper is published on ScienceDirect, you want to make sure it gets the attention it deserves. To help you get your message across, Elsevier has developed a new, free service called AudioSlides: brief, webcast-style presentations that are shown (publicly available) next to your published article. This format gives you the opportunity to explain your research in your own words and attract interest. You will receive an invitation email to create an AudioSlides presentation shortly. For more information and examples, please visit <http://www.elsevier.com/audioslides>.

With kind regards,

Michel Sylvestre, PhD
Editor
International Biodeterioration & Biodegradation

Environmental Science and Pollution Research

Sorption and Desorption of Alcohol Sulfate Surfactants in an Agricultural Soil

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	ESPR-D-13-00073R1
Full Title:	Sorption and Desorption of Alcohol Sulfate Surfactants in an Agricultural Soil
Article Type:	Research Article
Corresponding Author:	Rafael A Garcia-Delgado, Ph.D. SPAIN
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Carolina Fernández-Ramos
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Carolina Fernández-Ramos Rosario Blanc-García Oscar Ballesteros Alberto Zafra-Gómez Alberto Navalón Sara Isabel Crovetto Bartolome Oliver Rafael A Garcia-Delgado, Ph.D. Jose L Vilchez
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	Alcohol sulfates are one of the most important types of commercial anionic surfactants and may pose serious environmental problems. The present paper examines the sorption behavior of alcohol sulfates in an agricultural soil using a batch reactor and column experiments. Kinetics and equilibrium isotherms of the sorption/desorption processes of alcohol sulfate homologues: AS-C12, AS-C14, AS-C16 and AS-C18, have been determined. Sorption and desorption occurred rapidly and equilibrium was achieved in about 1 h. The amount of surfactant sorbed to the soil increased with the length of the hydrocarbon chain. A pseudo-first order kinetic model provided an adequate fit of data. Sorption and desorption equilibrium data were fitted into linear and Freundlich models with good results. Continuous-flow experiments in soil columns were carried out to obtain the breakthrough curves for each compound. This study provides basic theoretical concepts and key parameters for developing mathematical models that simulate the migration of AS into agricultural soils.
Response to Reviewers:	Reviewer #1 This manuscript titled "Sorption and Desorption of Alcohol Sulfate Surfactants in Agricultural Soils" carried out a research on sorption and desorption of alcohol sulfate in soil with some simple model fitting discussions based on limited experiment data. After hard to read and understand it, I think its main finding, the regular of sorption and desorption for alcohol sulfate in soil, is only common result from some test data. Overview, the research meaning of this manuscript is unclear and presentation items required by scientific papers are lack. In my opinion, it could not be accepted to be

