

3.3. Eliminació de COPs amb adsorbents carbonacis

3.3.1. Els adsorbents carbonacis

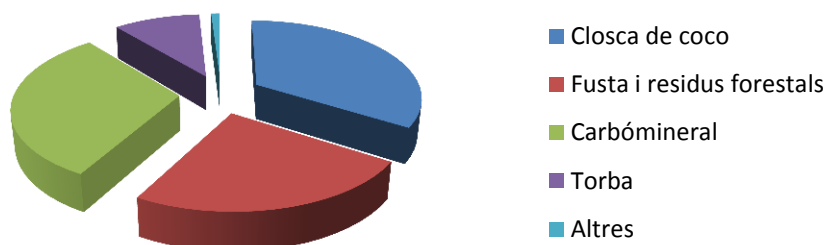
Es defineix com a carbó actiu a una sèrie de carbons porosos preparats artificialment mitjançant un procés tèrmic i/o químic, a fi de presentar una elevada porositat i una alta superfície específica. Per aquest motiu, el carbó actiu s'usa habitualment com a adsorbent.

Aquest material és d'un elevat interès industrial degut a les seves propietats característiques: elevada estabilitat tèrmica, caràcter hidròfob, estructura porosa, baix cost i resistència a l'atac amb àcid (Luna *et al.*, 2007). Per aquest motiu, el carbó actiu és molt indicat per l'adsorció de compostos apolars.

Origen i producció

Els carbons actius comercials són preparats a partir de materials precursors amb un alt contingut en carboni -especialment materials orgànics- com fusta de pi, residus forestals, closca de coco, antracita, lignit o pinyols d'oliva. L'elecció del precursor és fonamentalment una funció de la seva disponibilitat, puresa, cost i bona capacitat d'adsorció. A més, l'elecció d'aquest pot afectar les característiques finals del carbó actiu. La *Figura 3.13* mostra les principals fonts de matèries primeres per la seva producció en l'any 2000.

Figura 3. 1. Matèries primeres per a la producció de carbó actiu (Menéndez, 2008).

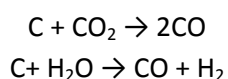


El carbó actiu obtingut a partir de fusta de pi presenta una duresa molt baixa, de manera que és inapropiat per ser comercialitzat de forma granular, en canvi, el produït a partir de closca de coco resulta ser més resistent. Aquests precursors són polvoritzats, aglomerats en forma de briquetes i posteriorment trencats. Seguidament són sotmesos a un procés d'activació, per tal d'augmentar el seu grau de porositat i, en conseqüència, la seva superfície específica. Els mètodes més emprats per a l'activació dels carbons són (Rodríguez i Tyreman, 2002):

- Activació per deshidratació química: La matèria primera crua no carbonitzada és impregnada amb un agent químic deshidratant i/o oxidant, com l'àcid fosfòric, clorur de zinc o carbonat potàssic. La mescla és escalfada entre 400 i 700 ° C, i quan la carbonització i activació és completa, l'agent químic és lixiviat i reutilitzat mitjançant el seu rentat, purificació i concentració. Aquest tipus d'activació és especialment emprat

en produir carbó a partir de fusta de pi. Mitjançant aquesta tècnica s'obté un carbó actiu amb una mida de porus petita (Chiemivall, 2010).

- Activació física o tèrmica: El procés d'activació d'aquest tipus de carbó actiu consta de dues etapes: la primera etapa és la carbonització de la matèria primera, on té lloc la descomposició tèrmica del carbó a temperatures entre 800 i 1000 °C en atmosfera inert. Durant aquest procés s'eliminen les possibles impureses del carbó. Donat que el producte que se n'obté presenta una escassa capacitat adsorbent (Singla, 1983), és necessària una segona etapa d'activació que desenvolupi la porositat del carbó. Aquesta es duu a terme amb diòxid de carboni i vapor d'aigua, que reaccionen amb el carbó d'acord amb les reaccions següents (González *et al.*, 2009):



Posteriorment a l'activació, el producte és refredat, trencat i tamisat per a la seva comercialització. Els mecanismes de la reacció del carbó amb el diòxid de carboni i el vapor d'aigua són diferents. Per això, la porositat del carbó actiu variarà de forma considerable depenent de l'agent activant que s'usi. A la indústria, la major part del carbó actiu granular s'obté a partir de l'activació amb vapor d'aigua (González, 1996). Mitjançant aquesta tècnica s'obté un adsorbent amb una mida de porus gran (Chiemivall, 2010).

Tant si s'usa el mètode d'activació química com física, el procediment s'ha d'ajustar a l'objectiu que el producte final tingui una mida de porus suficient per tal de que permeti el transport ràpid de substàncies a l'interior del carbó, i també una elevada superfície interna que asseguri una alta capacitat d'adsorció.

Estructura i propietats

L'estructura del carbó activat està constituïda per un conjunt irregular de capes de carboni orientades a l'atzar amb espais entremig, que constitueixen els porus (*Figura 3.14*). L'orientació de les capes i l'entrecruament entre elles, així com la presència d'heteroàtoms, impedeix l'ordenació de l'estructura per donar lloc a grafit, encara que estigui sotmès a tractaments tèrmics de fins a 3000 °C. Aquesta és la característica que contribueix a la propietat més important del carbó activat, l'estructura porosa interna altament desenvolupada i alhora accessible pels processos d'adsorció (Reinoso, 2005).

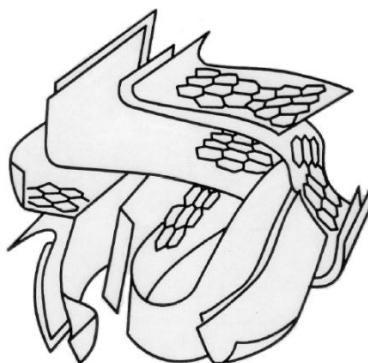


Figura 3. 2. Estructura del carbó actiu segons Reinoso (2005).

En funció de l'estructura dels carbons, aquests es poden classificar en carbons grafítics i carbons no grafítics. Els primers es defineixen com tot tipus de substància que està constituïda principalment per l'element carboni en la forma del grafit. Com a conseqüència d'això, els carbons grafítics consten d'una estructura laminar ordenada.

D'altra banda, els carbons no grafítics també tenen substàncies constituïdes principalment per carboni, tot i que l'estructura presenta un ordre bidimensional d'àtoms de carboni en làmines planes i hexagonals, però sense cap ordre cristal·logràfic en la tercera dimensió. Dins dels carbons no grafítics es pot parlar dels carbons grafititzables (carbó no grafític que es converteix en carbó grafític mitjançant un tractament tèrmic de grafitització) i dels carbons no grafititzables (carbó no grafític que no pot transformar-se en carbó grafític mitjançant tractaments tèrmics, obtenint-se una estructura altament porosa i irregular). Així doncs, el carbó actiu és un carbó no grafític i no grafititzable.

El carbó actiu presenta en la seva majoria àtoms de carboni amb hibridació sp^2 , però també grups funcionals (principalment oxigen i nitrogen) i components inorgànics provinents de les cendres, tots ells amb un efecte important en els processos d'adsorció. Els grups funcionals es formen durant el procés d'activació mitjançant la interacció entre els radicals lliures de la superfície del carbó, fent que aquesta sigui químicament reactiva.

A continuació es mostra una representació esquemàtica dels principals grups superficials que poden trobar-se en un carbó. La majoria d'aquests són grups oxigenats, degut a la tendència d'aquests materials a oxidar-se, fins i tot a temperatura ambient (Figura 3.15).

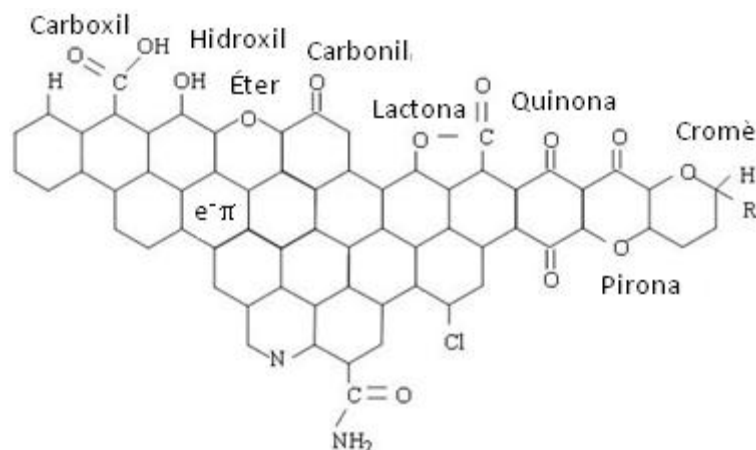


Figura 3. 3. principals grups superficials del carbó activat (Menéndez i Martín-Gullón, 2006).

Tot i així, un augment del contingut de grups superficials oxigenats pot modificar la textura porosa del carbó, ja que poden bloquejar part dels porus i disminuir així l'accessibilitat al sistema porós (Gregg i Sing, 1982).

Des del punt de vista químic, el carbó actiu és covalent i apolar. En conseqüència, mostra preferència per molècules covalents i poc polars, com és el cas de la majoria dels contaminants orgànics, i en concret dels COPs. Per tant, el carbó actiu és considerat un adsorbent quasi universal per les molècules orgàniques. Des del punt de vista de la composició química, el carbó actiu és pràcticament pur, de la mateixa manera que ho és el diamant, el grafit i els diversos carbons minerals.

La superfície específica i les dimensions dels porus del carbó actiu depenen del precursor i de les condicions dels processos de carbonització i activació usats (Luna *et al.*, 2007). L'àrea superficial del carbó actiu té dos components: l'àrea superficial externa i l'àrea superficial interna.

L'àrea superficial interna és més gran que l'externa i està formada per una complexa xarxa de porus a l'interior de cada partícula. Com s'ha comentat anteriorment, aquests s'han format durant el procés d'activació, i determina el caràcter adsorbent del carbó actiu. La IUPAC classifica el tipus de porus en funció del seu diàmetre intern (Figura 3.16):

- Microporus: porus on la seva amplada no excedeix del 2 nm (20 Å).
- Mesoporus: porus on la seva amplada és compresa entre els 2 i 50 nm (20 i 500 Å).
- Macroporus: porus on la seva amplada excedeix els 50 nm (500 Å)

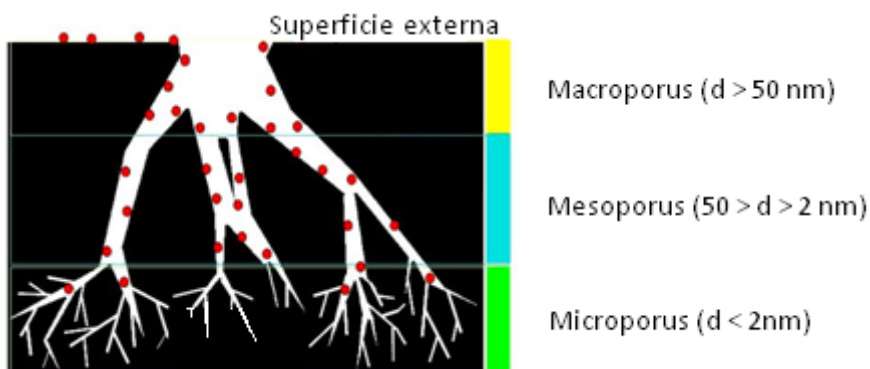


Figura 3. 4. Representació del sistema porós d'un carbó actiu, segons Luna et al. (2007).

Els carbons actius poden presentar superfícies específiques molt elevades, de l'ordre de 500 - 2000 m²/g. Aquests valors es deuen en gran mesura a la porositat que presenten els materials carbonosos, sent els microporus els responsables majoritaris de l'adsorció física de les substàncies. Els mesoporus també contribueixen en aquesta adsorció, tot i que en menor mesura. En canvi, els macroporus són els responsables de donar accés a l'interior del material, i per tant constitueixen un paper significatiu encara que secundari en la cinètica d'adsorció.

Per tant, la capacitat d'un carbó actiu per retenir una substància determinada no només ve determinada per l'àrea superficial, sinó per la proporció de pors i per la pròpia naturalesa química del carbó.

A nivell macroscòpic, una altre possible classificació dels carbons actius és segons la seva mida de partícula. D'acord amb aquest criteri, es poden diferenciar el carbó activat en pols (CAP) o bé el carbó activat granular (CAG):

- Carbó activat en pols (CAP): Presenten mides de partícula inferiors a les 100 µm, sent les mides habituals entre 15 i 25µm. La propietat física més important d'un CAP és la densitat aparent, que es tradueix en una major capacitat per eliminar un adsorbat per unitat de volum d'adsorbent.
- Carbó activat granular (GAP): Presenten mides de partícula entre 1 i 5 mm. Aquests, es poden dividir en dues categories: carbó activat trossejat (o sense forma) i carbó activat conformat (amb forma específica, com cilindres, discos...). Els primers s'obtenen per tamisat i la posterior classificació de briquetes, mentre que els segons, per extrusió de carbó en pols mesclat amb diferents tipus d'aglomerats. En aquest cas, les propietats físiques més importants són la duresa i la mida de partícula.

Ja que a nivell microscòpic tenen la mateixa estructura, el temps necessari per a obtenir els mateixos resultats d'adsorció és més elevat en el que presenta partícules més grans -el granular- ja que té menor superfície específica. La *Figura 3.17* mostra els diferents estats en que es comercialitza el carbó actiu.



Figura 3. 5. Classes de carbó actiu en funció de la seva mida de partícula: pols (esquerra), trossejat (centre) i conformat (dreta) (Siamnathan, 2011).

Aquest material presenta una ampla gamma d'aplicacions com adsorbent en medi líquid o gasós, tant si aquest és en pols com granular. Una aplicació força estesa és en plantes incineradores, ja que és un dels processos que s'usa per evitar que els gasos contaminants s'emetin a l'atmosfera. Altres aplicacions són la decoloració de licors, potabilització d'aigües, purificació de grasses i olis comestibles, o purificació de proteïnes, entre d'altres.

3.3.2. Caracterització dels adsorbents carbonacis emprats

Inicialment, per l'eliminació de COPs en oli de peix amb adsorbents amb base carbó, s'ha realitzat un estudi dels adsorbents disponibles comercialment. S'han seleccionat un total de 7 carbons actius de diferent origen (fusta de pi i closca de coco).

A més, entre els sòlids escollits també s'hi han inclòs dos carbons grafititzats, per tal d'avaluar si l'adsorció dels contaminants és millor amb adsorbents amb una estructura porosa i irregular –carbó actiu- o ordenada i laminar –carbó grafititzat-.

La *Taula 3.22* mostra les característiques que es recullen en la informació subministrada pels fabricants.

Taula 3. 1. Característiques dels adsorbents carbonacis inclosos en l'estudi.

Codi	Nom comercial	Origen	Superfície específica	Fabricant
CA1	Norit SA 4PAH-HF	Closca de coco	1150 m ² /g	NORIT
CA2	Chiemi Vall K Plus	Fusta de pi	-	CHIEMI VALL
CA3	Chiemi Vall V Plus	Fusta de pi	-	CHIEMI VALL
CA4	CCP 900	Closca de coco	-	CHIEMI VALL
CA5	Chiemi Vall MK	Fusta de pi	-	CHIEMI VALL
CA6	Organosorb 200-C303	Fusta de pi	1200 m ² /g	DESOTEC
CA7	Organosorb 200-1 WI	Closca de coco	950 m ² /g	DESOTEC
CL1	Varian Bond Elut Carbon (500 mg, 6 ml)	-	-	VARIAN
CL2	Superclean ENVI-CARB (0.5 g, 6 ml)	-	-	SUPELCO

Per tal d'harmonitzar la informació disponible per a cada adsorbent, s'ha realitzat una caracterització més a fons de les mostres. S'ha determinat la superfície específica de les mostres segons el mètode de la isoterma BET, s'ha realitzat una anàlisi morfològica per microscòpia electrònica d'escombratge i una anàlisi elemental per difracció de Raigs X.

Determinació de la superfície específica

Com s'ha comentat anteriorment, l'àrea específica de tot material porós constitueix un paràmetre important que és necessari determinar per a la completa caracterització d'aquest. La superfície específica d'un carbó actiu es defineix com l'àrea de la superfície de les partícules del carbó contingudes en una unitat de massa (m^2/g).

Anàlogament a l'estudi realitzat amb els adsorbents amb base silici, per determinar aquest paràmetre es segueix el mètode de la isoterma de BET (Brunauer-Emmet-Teller), el qual es basa en l'adsorció física d'una monocapa de gas a la superfície del sòlid a determinar (Gregg i Sing, 1982). A més, aquesta tècnica permet discriminar entre els diferents tipus de porus del carbó (Grossman i Ghosh, 2009).

Les superfícies específiques determinades experimentalment es mostren en la *Taula 3.23*. A la taula es detallen per a cada mostra la seva àrea interna (dels porus), àrea externa i superfície específica total (interna+ externa).

Taula 3. 2. Superfícies específiques dels carbons actius estudiats

Codi	Superfície específica (m^2/g)	Àrea de microporus (m^2/g)	Àrea superficial externa (m^2/g)
CA1	926.1	256.1	670.0
CA2	447.8	299.2	148.6
CA3	531.5	343.1	188.4
CA4	760.9	556.3	204.6
CA5	780.4	422.4	358.0
CA6	975.6	334.8	640.8
CA7	794.4	463.7	330.7
CL1	77.8	21.3	56.5
CL2	80.2	21.7	58.5

En general, es pot observar que els adsorbents carbonacis amb estructura porosa (de CA1 a CA7) tenen una superfície específica de l'ordre de deu cops superior als dels carbons grafititzats (CL1 i CL2). Per la primera classe de carbons, aquests valors es comprenen entre 976 i 448 m^2/g , mentre que per la segona es troba entorn 80 m^2/g . Els adsorbents amb major superfície específica són el CA6 i CA1, obtinguts a partir de fusta de pi i closca de coco, respectivament.

Els resultats obtinguts empíricament per als carbons actius es troben dins dels valors habituals per aquest tipus de material, entre 500 i 1200 m^2/g (Reinoso, 2005). Tot i així, les àrees específiques determinades experimentalment són inferiors lleugerament (entorn a un 20%) a les especificades pels fabricants.

Pel cas de CA1, CA6, CL1 i CL2, la major part de la superfície específica és deguda a la seva àrea externa. Aquest fet té sentit pels carbons grafititzats, ja que es tracta d'una estructura més ordenada i, en conseqüència, més compacte. Per altra banda, CA2, CA3, CA4 i CA5 tenen una major proporció de superfície basada en l'àrea interna. Aquesta relació d'àrees no s'ha pogut relacionar amb l'origen del carbó.

Anàlisi morfològica i elemental

Per a l'estudi de la morfologia i l'anàlisi elemental de superfícies dels adsorbents, s'ha emprat la tècnica de la Microscòpia Electrònica d'Escombratge (SEM). Aquest instrument presenta un filament incandescent que genera electrons que interaccionen amb la mostra i, mitjançant un conjunt de lents, permet fer arribar el senyal elèctric al detector, obtenint-se així una imatge de la mostra en el monitor.

En aquest sistema hi ha dos detectors: el primer permet visualitzar la morfologia de la superfície (detector d'electrons secundaris), mentre que el segon (detector de Raigs X) permet obtenir l'anàlisi química elemental de la mostra.

Les principals característiques del SEM són l'alta resolució (aproximadament 100 Å), la gran profunditat de camp que li dona l'aparença tridimensional a les imatges i la habitualment senzilla preparació de mostres.

A més, cal destacar que a major contingut de carbó actiu, la imatge s'observa més fosca que les corresponents a les mostres amb un menor percentatge d'adsorbent (Maes, 2005). A continuació es mostra la imatge superficial i l'anàlisi elemental de cada un dels adsorbents.

CA1

A continuació es mostra l'anàlisi morfològica i elemental del carbó actiu CA1 (Figura 3.18).

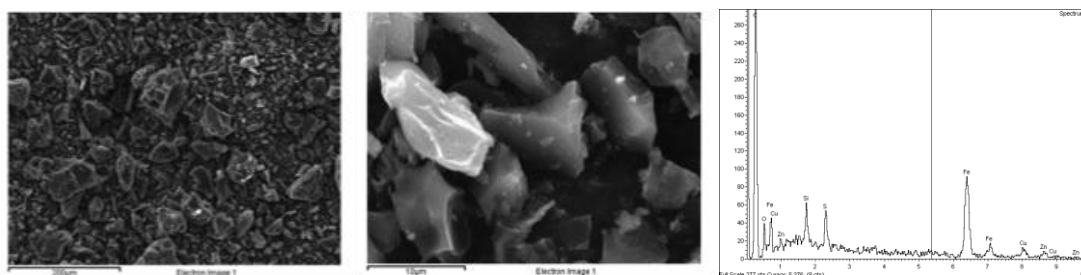


Figura 3. 6. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA1.

La superfície d'aquest carbó actiu mostra partícules de mida homogènia i estructura arrodonida.

Pel que fa a l'espectre de Fluorescència de Raigs X, s'hi pot observar la composició elemental del carbó (Figura 3. 6, dreta). L'eix de les abscisses mostra les unitats d'energia (keV) mentre que l'eix d'ordenades representa la intensitat. Com era d'esperar, l'abundància majoritària correspon al C, tot i que també es poden visualitzar els senyals de O, Si, Cu, Zn, S i Fe, on cal destacar la presència d'aquest últim element.

CA2

Les imatges d'aquest adsorbent obtingudes amb el microscopi electrònic mostren a continuació (Figura 3.19):

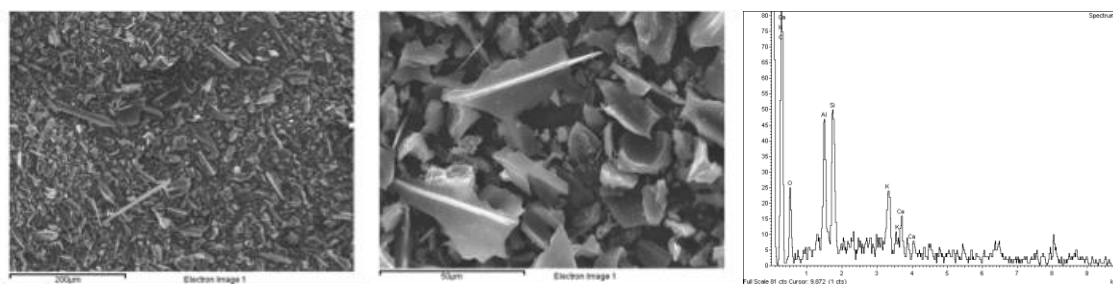


Figura 3. 7. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA2.

En aquest tipus de carbó les partícules són morfològicament allargades i planes. D'altra banda, un cop realitzada l'anàlisi elemental del carbó actiu, en l'espectre de Fluorescència de Raigs X es mostra la presència de C, Si, Al, O, K, Ca i Zn.

El fet que tingui una abundància molt elevada en partícules silíciques-alumíniques pot ser degut a una possible contaminació en el Laboratori Mediambiental, ja que es treballa amb columnes compactades de sílica.

CA3

La Figura 3.20 mostra l'aspecte que presenta el carbó actiu CA3 a diferents augments.

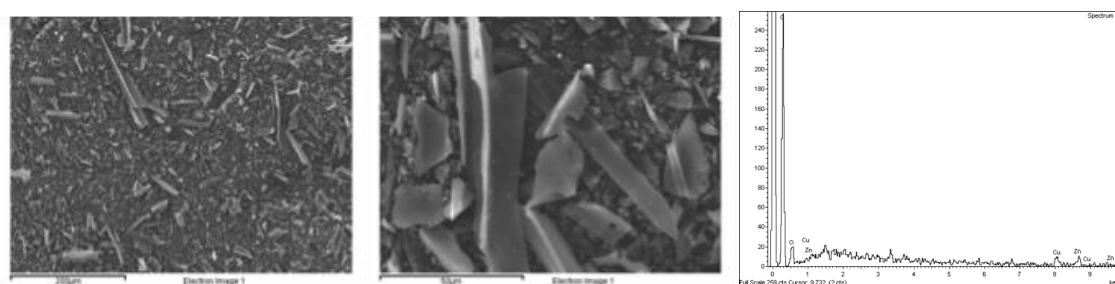


Figura 3. 8. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA3.

L'anàlisi morfològica d'aquest adsorbent mostra partícules allargades i planes. D'altra banda, en l'espectre de Fluorescència de Raig X s'observa la presència de C (majoritari), O, Cu, Zn i K. Pot ser que durant el procés de producció o emmagatzematge d'aquest carbó s'hagi treballat amb maquinària que contingui llautó, ja que s'observa la presència de Cu i Zn (minoritaris) en diferents punts de la seva superfície.

Es remarcable que CA2 i CA3 –ambdós produïts a partir de fusta de pi- tenen una forma de partícula semblant, plana i allargada. Aquesta morfologia fa que les superfícies específiques dels dos adsorbents siguin més baixes que per la resta de carbons actius estudiats (488 i 532 m²/g respectivament).

CA4

La Figura 3.21 mostra l'estructura morfològica d'aquest carbó actiu a diversos augments.

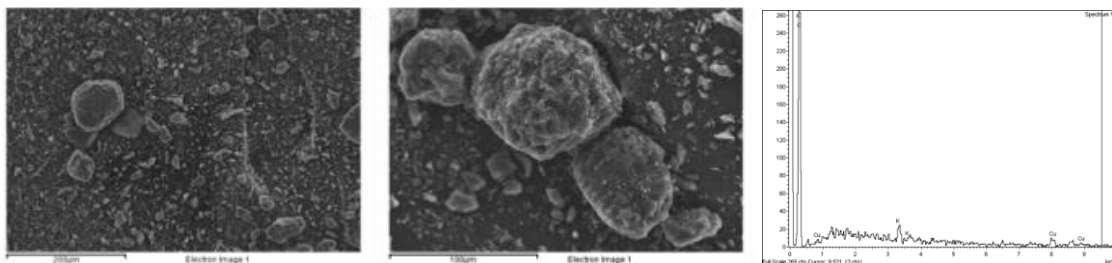


Figura 3. 9. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA4.

Les partícules presents a la superfície del carbó CA4 són petites, arrodonides i amb certa rugositat. Aquesta morfologia no s'ha observat en cap dels altres adsorbents caracteritzats. Per tal d'obtenir la imatge adequada, s'ha hagut de treballar amb el microscopi a 7500 augments, el màxim que permet l'aparell, degut a la reduïda mida de partícula.

Per altra banda, la Fluorescència de Raigs X estima la presència de C com a element majoritari, juntament amb traces de K i Cu.

CA5

La caracterització morfològica del carbó actiu CA5 mitjançant microscòpia electrònica d'escombratge es mostra en la Figura 3.22.

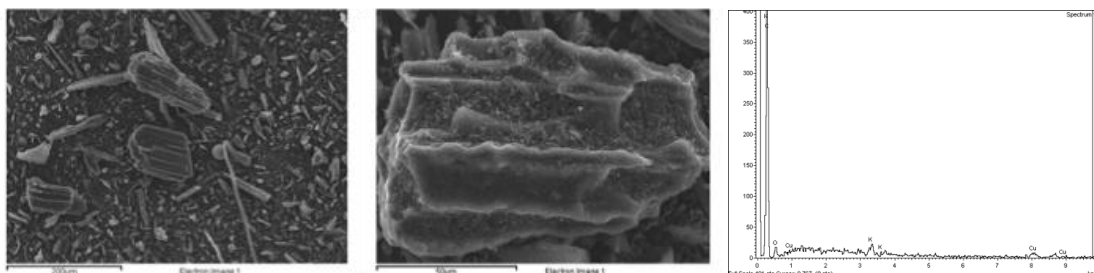


Figura 3. 10. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA5.

L'anàlisi superficial d'aquest carbó actiu evidencia una gran varietat entre la mida de les partícules i la seva forma. Destaca la rugositat que presenten les partícules grans (s'observen canals) i la superfície llisa de les petites.

En la determinació de la composició qualitativa de les partícules presents en el carbó actiu, s'observa la presència de C com a element majoritari, seguit de Cu, K i O com a elements minoritaris.

CA6

La morfologia del carbó actiu CA6 es mostra a *Figura 3.23*:

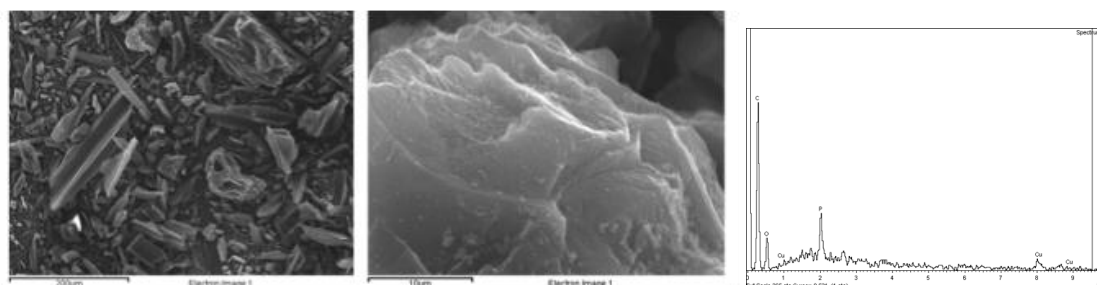


Figura 3. 11. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA6.

L'anàlisi superficial d'aquest adsorbent mostra estructures laminars amb mida de partícula de l'ordre dels 50 µm, que recorda a la morfologia observada en CA2 i CA3 (també obtingudes a partir de fusta de pi). L'estructura laminar queda clarament definida al treballar a 3500 augments, a on fins i tot es poden veure els estrats de la superfície.

D'altra banda, la Fluorescència de Raigs X indica la presència de C (majoritari), O, Cu i P. Com s'ha comentat anteriorment, la presència de fòsfor pot ser deguda al procés d'activació del carbó actiu, on s'usen agents químics, tals com l'àcid fosfòric (Rodríguez i Tyreman, 2002).

CA7

L'anàlisi morfològica d'aquest carbó actiu es mostra a continuació (*Figura 3.24*):

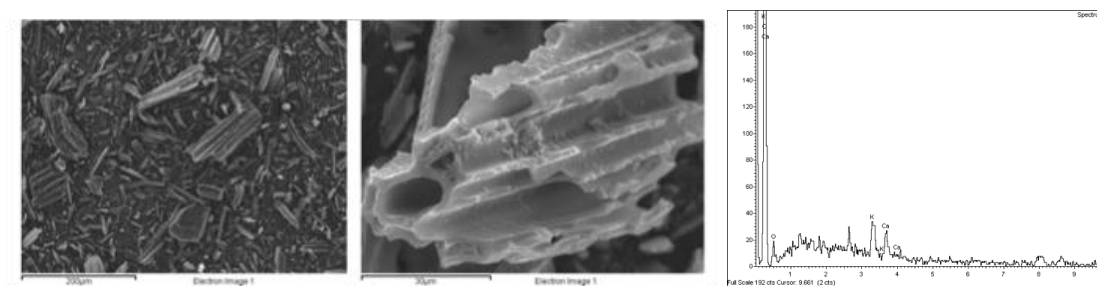


Figura 3. 12. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CA7.

Les partícules presents del carbó actiu analitzat són allargades i rugoses, amb canals molt definits a la superfície de l'adsorbent. Són de mida reduïda i la seva forma és molt semblant a la de CA5, tot i que en aquest cas es tracta d'un carbó obtingut a partir de closca de coco.

Respecte a la seva anàlisi elemental, la composició qualitativa al realitzar la Fluorescència de Raigs X és la següent: C (majoritari), Cu, O, Ca i K.

CL1

Aquest tipus d'adsorbent presenta característiques diferents als descrits anteriorment. Es tracta de carbons empaquetats i alhora grafititzats, els quals s'usen al laboratori pel fraccionament dels COPs. Com a conseqüència d'això, aquests han de presentar una puresa molt elevada. A la *Figura 3.25* es pot visualitzar com morfològicament és un carbó diferent als anteriors.

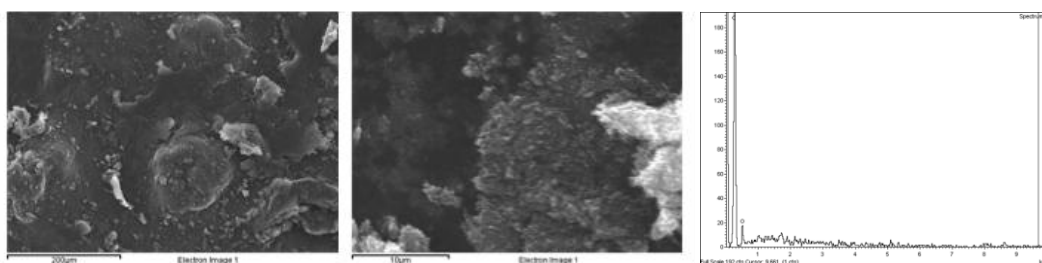


Figura 3. 13. Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CL1.

S'observa la presència de partícules arrodonides i molt homogènies. Aquestes resulten ser tant petites que la visualització és quasi impossible, fins i tot treballant a 7500 augments (màxim enfoc que l'equip permet).

La Fluorescència de Raigs X només mostra la presència de C i O, la qual cosa verifica que es tracta d'un carbó molt pur.

CL2

Aquest carbó actiu presenta pràcticament les mateixes propietats que l'anterior. La seva anàlisi morfològica es mostra a continuació (*Figura 3.26*):

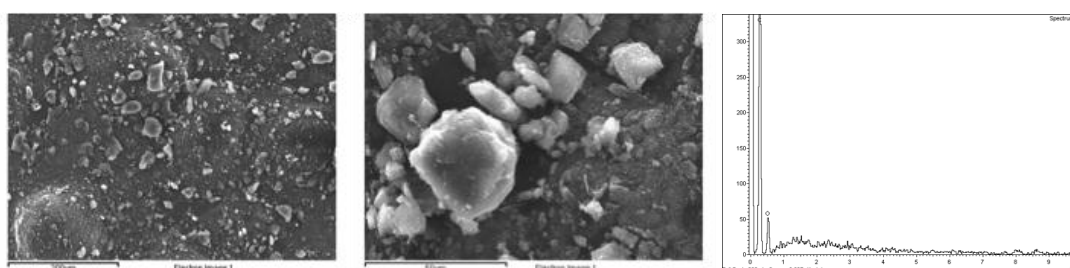


Figura 3. 14. *Morfologia superficial (esquerra, centre) i anàlisi elemental (dreta) de CL2.*

Es tracta d'un carbó que conté partícules molt arrodonides amb un fons tant fi que difícilment es pot enfocar. Tot i així, a 3500 augments s'observen partícules molt més definides en forma d'aglomerats.

Al realitzar la fluorescència de Raigs X es pot observar la presència de C i O, de manera que també es tracta d'un carbó molt pur.

Tenint en compte l'anàlisi morfològica de cada un dels adsorbents carbonacis caracteritzats mitjançant microscòpia electrònica d'escombratge, es conclou que:

- Les superfícies dels carbons provinents de closca de coco presenten partícules arrodonides, de mida homogènia i amb certa rugositat (CA1, CA4).
- Les superfícies dels carbons provinents de fusta de pi presenten partícules allargades i de diferent mida (CA2, CA3, CA5 i CA6).
- Els carbons grafititzats (CL1 i CL2) presenten una morfologia completament diferent a la dels carbons actius, la qual es basa amb aglomerats de partícules de mida molt reduïda. El carbó CL1 presenta partícules difícilment visualitzables, a diferència de CL2. Ambdós adsorbents presenten un grau molt elevat de puresa, ja que només s'obté carboni i oxigen a l'anàlisi elemental.
- El carbó actiu CA1 no mostra la rugositat tant característica que s'observa a les altres mostres que provenen de la closca de coco (CA4 i CA7).
- La morfologia de les estructures és molt diferent entre carbons, en canvi, químicament són molt semblants. En la majoria dels carbons s'observa Zn, la qual cosa pot ser un índex del tipus d'activació que s'ha dut a terme.

3.3.3. Eliminació de COPs amb adsorbents carbonacis

Un cop s'han caracteritzat degudament els carbons seleccionats, s'ha dut a terme l'estudi d'eliminació de COPs en oli de peix mitjançant aquests adsorbents. Amb aquesta finalitat, s'han analitzat els nivells de PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines, PCBs indicadors, PBDEs, DDT i HCB anteriors i posteriors al procés d'adsorció, utilitzant els mètodes d'anàlisi desenvolupats en el capítol 2 de la present tesi doctoral.

Per tal d'obtenir dades més reproduïbles i comparables entre sí, aquest estudi d'adsorció s'ha realitzat emprant en tots els casos l'oli de salmó refinat, prèviament caracteritzat en l'apartat 2.7. Aquest oli presenta unes concentracions de contaminants inicials suficientment elevades

per estudiar-ne la seva eliminació, i el fet de ser refinat fa que tècnicament sigui fàcil de manipular. La *Taula 3.24* resumeix els nivells de COPs que presenta inicialment aquest oli.

Taula 3. 3. Nivells de COPs inicials en l'oli de salmó refinat.

COP	Concentració
Σ PCDD/Fs (pg/g)	37.8
Σ PCBs similars a dioxines (ng/g)	37.6
Σ PCBs indicadors (ng/g)	207.8
Σ PBDEs (ng/g)	10.5
Σ DDTs (ng/g)	95.4
HCB (ng/g)	9.75

Respecte a les condicions d'adsorció inicials, van ser determinades basant-se en la bibliografia existent en estudis semblants (Maes *et al.*, 2005; Kawashima *et al.*, 2006). La següent taula (*Taula 3.25*) mostra els valors d'aquestes variables experimentals.

Taula 3. 4. Condicions inicials d'adsorció.

Variable experimental	Valor
Proporció adsorbent/oli (% p/p)	0.5
Temperatura (°C)	70
Pressió (hPa)	200
Temps (min)	30

D'acord amb aquests valors, a alíquotes de 20 g d'oli de salmó refinat s'hi van afegir 0.1g d'adsorbent. El procés d'adsorció es va realitzar durant mitja hora a 70°C i 200 hPa en el rotavapor, amb agitació constant. Un cop passat aquest temps, l'oli es va separar de l'adsorbent mitjançant filtres de nylon d'HPLC (0.45 μ m, 25 mm de diàmetre).

A continuació es detallen les eliminacions obtingudes per a cada família de contaminants.

Eliminació de PCDD/Fs

Els nivells totals de PCDD/Fs determinats en l'oli refinat inicial i els olis tractats amb cadascun dels adsorbents estudiats es mostren en la següent figura (*Figura 3.27*):

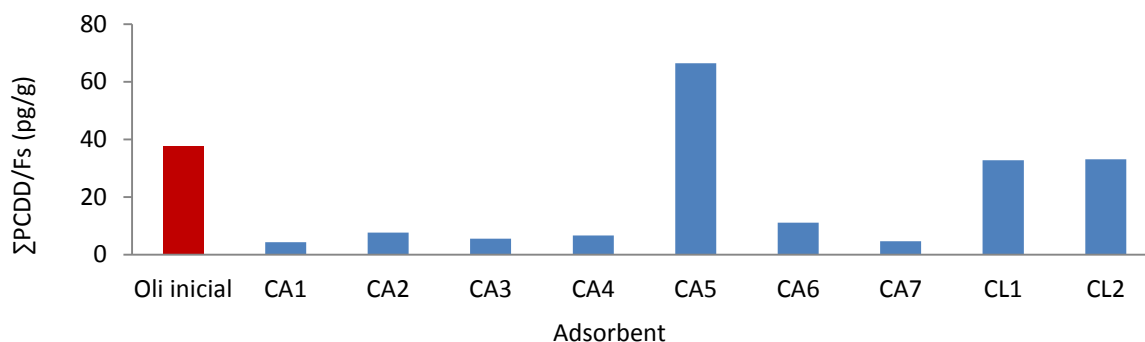


Figura 3. 15. Nivells totals de PCDD/Fs (pg/g) abans i després del procés d'adsorció.

Tal i com es pot observar en la figura, els nivells de PCDD/Fs totals han disminuït de manera notable respecte a l'oli inicial quan s'ha emprat carbó actiu com a adsorbent (CA1-CA7). L'única excepció ha estat el cas de CA5, que mostra nivells més elevats. El fet de que aquest adsorbent s'escapi de la tendència general fa que es sospiti d'una possible contaminació durant l'etapa d'anàlisi de la mostra, tot i que els blancs realitzats durant el procés no indiquin aquesta possibilitat. Pel que fa als adsorbents amb estructura laminar (CL1-CL2), la seva capacitat per a l'eliminació de PCDD/Fs és molt menor a la dels carbons actius, ja que els nivells que mostra l'oli tractat són del mateix ordre que els inicials.

En vista de la bona eliminació de PCDD/Fs obtinguda amb aquest tipus d'adsorbents, es decideix avaluar el procés d'adsorció des d'un punt de vista toxicològic, per tal d'estudiar si aquesta eliminació és igual d'efectiva en les unitats de concentració (pg WHO-TEQ) en les quals es troben els màxims legislat en oli de peix. La *Figura 3.28* en mostra els resultats.

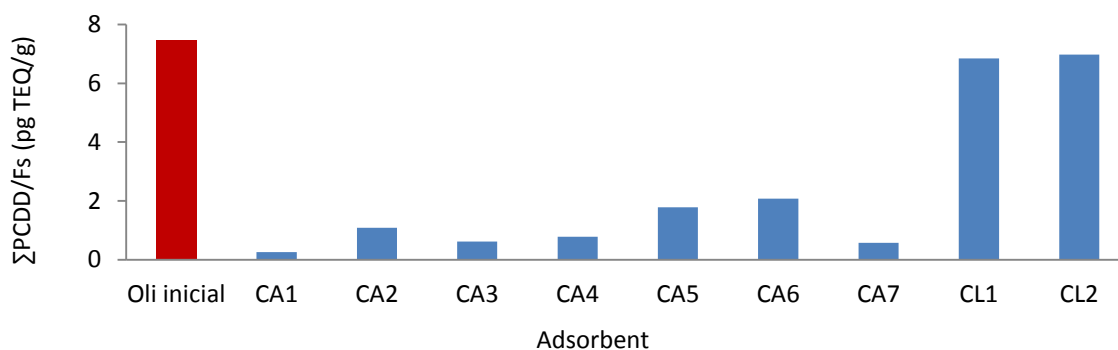


Figura 3. 16. Nivells totals de PCDD/Fs (pg WHO-TEQ/g) abans i després del procés d'adsorció.

Al representar les concentracions en unitats de toxicitat, l'eliminació encara ha estat major. Sembla que existeixi certa selectivitat per a l'adsorció d'aquells compostos més tòxics. A més, l'efecte de la contaminació de CA5 no s'observa en aquest cas, ja que és deguda per a un congènere de baixa toxicitat. Les eliminacions observades amb els carbons grafititzats segueixen sent baixes. Per tal d'estudiar més a fons aquest procés d'adsorció, les *Taules 3.26 i 3.27* mostren les concentracions i eliminacions de cada congènere.

Taula 3. 5. Concentració de PCDD/Fs (en pg/g) en oli de peix abans i després del procés d'adsorció.

Congènere	Oli original	Concentració (pg/g)								
		CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
2,3,7,8-TCDF	14.9	0.65	<0.21	1.11	1.56	2.41	4.93	1.04	13.8	13.9
1,2,3,7,8-PeCDF	2.41	<0.22	0.64	<0.19	0.36	0.66	0.60	0.17	2.13	2.21
2,3,4,7,8-PeCDF	6.69	0.38	1.98	0.80	1.04	1.65	2.01	0.61	6.03	6.00
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.74	<0.21	0.23	<0.13	<0.11	<0.26	0.22	0.18	0.64	0.55
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.71	<0.19	<0.14	0.26	0.24	1.84	0.18	<0.15	0.60	0.65
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.76	<0.20	0.42	0.34	0.29	1.91	0.230	<0.15	0.72	0.71
1,2,3,7,8,9-HxCDF	<0.31	<0.26	<0.20	<0.20	<0.17	<0.37	<0.21	<0.22	<0.22	<0.19
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.23	<0.17	0.35	0.22	0.19	17.4	<0.09	<0.13	0.17	0.24
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	<0.25	<0.28	<0.24	<0.21	<0.16	<0.27	<0.16	<0.26	<0.19	<0.18
OCDF	<0.17	<0.25	0.46	0.18	0.42	19.5	<0.17	<0.23	<0.19	0.15
2,3,7,8-TCDD	0.45	<0.15	<0.13	<0.12	<0.14	<0.13	<0.13	0.15	0.44	0.47
1,2,3,7,8-PeCDD	1.57	<0.29	<0.20	<0.31	<0.15	<0.39	0.43	<0.24	1.47	1.56
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.32	<0.20	<0.19	0.19	<0.18	0.34	<0.16	<0.16	0.41	0.53
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1.49	<0.21	<0.20	0.23	0.26	0.49	0.43	<0.16	1.34	1.46
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.51	<0.21	<0.20	<0.19	<0.20	<0.19	0.18	<0.18	0.41	0.36
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.66	<0.17	0.50	0.31	0.33	5.07	0.31	<0.18	1.37	1.26
OCDD	4.60	<0.24	1.37	0.46	0.76	13.5	0.74	0.43	2.63	2.70
Total 2,3,7,8 (Upperbound)	37.8	4.28	7.66	5.46	6.57	66.4	11.1	4.64	32.7	33.1
Total 2,3,7,8 (pg TEQ/g)	7.48	0.26	1.09	0.62	0.78	1.79	2.08	0.58	6.84	6.98

Taula 3. 6. Eliminació de PCDD/Fs (en % de pg/g) en oli de peix degut al procés d'adsorció.

Congènere	Eliminació (% pg/g)								
	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
2,3,7,8-TCDF	95.7	100	92.5	89.5	83.8	66.9	93.0	7.3	6.7
1,2,3,7,8-PeCDF	100	73.3	100	84.9	72.8	75.3	92.8	11.7	8.4
2,3,4,7,8-PeCDF	94.3	70.4	88.0	84.4	75.3	70.0	90.9	9.9	10.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	100	68.3	100	100	100	70.5	75.7	12.7	25.8
1,2,3,6,7,8-HxCDF	100	100	63.4	67.0	-158	75.3	100	15.4	9.5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	100	43.9	55.1	61.2	-153	69.7	100	5.0	5.4
1,2,3,7,8,9-HxCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	100	-53.4	0.9	17.8	-7635	100	100	26.7	-5.4
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
OCDF	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,3,7,8-TCDD	100	100	100	100	100	100	66.9	1.4	-5.1
1,2,3,7,8-PeCDD	100	100	100	100	100	72.7	100	6.4	0.7
1,2,3,4,7,8-HxCDD	100	100	41.1	100	-3.6	100	100	-25.1	-61.8
1,2,3,6,7,8-HxCDD	100	100	84.7	82.5	66.9	71.1	100	9.9	1.9
1,2,3,7,8,9-HxCDD	100	100	100	100	100	65.6	100	19.1	29.8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	100	70.1	81.4	79.9	-205	81.2	100	17.5	24.1
OCDD	100	70.2	90.0	83.4	-194	84.0	90.7	42.8	41.2
Total 2,3,7,8	88.7	79.7	85.5	82.6	-75.9	70.6	87.7	13.4	12.3
Total 2,3,7,8 (% pg TEQ/g)	96.5	85.4	91.7	89.6	76.1	72.2	92.2	8.6	6.7

Al quantificar les eliminacions de PCDD/Fs obtingudes mitjançant els adsorbents emprats, es pot confirmar que el procés és altament eficaç. Es confirmen les tendències apuntades anteriorment, amb unes eliminacions entorn al 80% de la concentració inicial d'aquest contaminant per al cas dels carbons actius. D'entre aquests adsorbents, el que ha donat millors resultats ha estat el CA1 (89%).

L'adsorbent CA5 és l'únic carbó actiu que no ha seguit aquesta tendència, tal i com ja s'ha comentat. Si es para atenció en les concentracions de cada congènere, es pot observar que la contaminació de l'oli (ja sigui provinent de l'etapa d'adsorció o d'anàlisi) és deu bàsicament a un increment d'HexaCDDs, HexaCDFs i –sobretot- 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF.

Per altra banda, les eliminacions obtingudes amb els carbons amb estructura grafititzada (CL1-CL2) han estat només del 12-13%. Això és degut al major grau d'empaquetament d'aquests carbons i la seva menor superfície específica, que fa que l'àrea de contacte amb els adsorbats sigui molt menor. Per aquest motiu, aquest tipus de carbons no són tant indicats per l'eliminació d'aquests contaminants.

Si es calculen les concentracions de PCDD/Fs en unitats toxicològiques, es pot observar que les eliminacions augmenten entorn a un 10%. En aquest cas, amb CA1 s'obté una eliminació del 97%. Sembla ser que, tot i que les adsorcions de cada congènere són elevades, aquestes són lleugerament millors per aquelles molècules menys halogenades –que ahora són les que tenen uns factors de toxicitat més elevats-.

Eliminació de PCBs similars a dioxines

Les concentracions totals per a aquesta família de COPs en l'oli de peix inicial i després de ser tractat amb adsorbents carbonacis es mostren en la *Figura 3.29*.

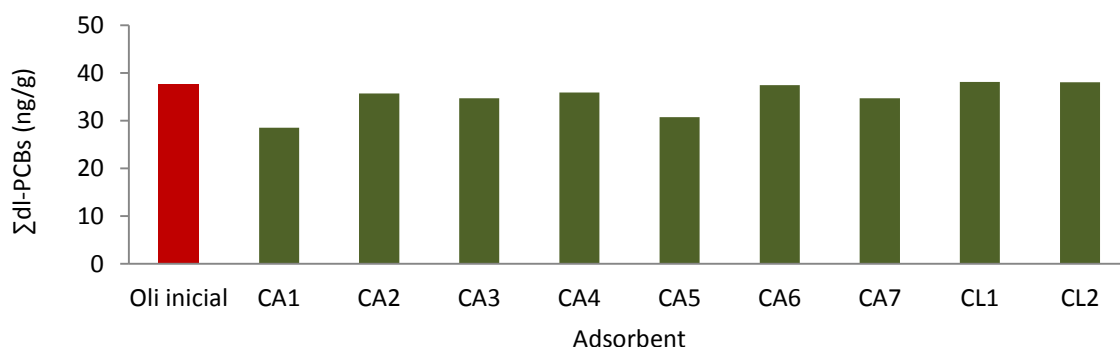


Figura 3. 17. Nivells de PCBs similars a dioxines (ng/g) abans i després del procés d'adsorció.

En aquest cas, els nivells de PCBs dels olis de peix tractats no mostren una disminució tant notable com en el cas de les PCDD/Fs, tot i que per alguns casos (CA1, CA5) sí sembla ser significativa. Tot i així, els nivells dels olis tractats amb carbons actius són lleugerament inferiors als tractats amb carbons grafititzats.

Novament, s'ha calculat la concentració en unitats toxicològiques, per veure si des d'aquest punt de vista les eliminacions són millors (*Figura 3.30*).

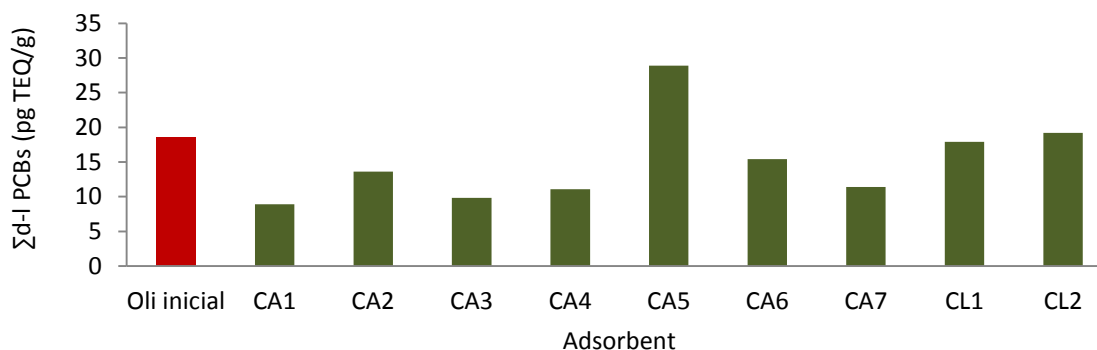


Figura 3. 18. Nivells de dl-PCBs (pg WHO-TEQ/g) abans i després del procés d'adsorció.

En aquest cas, els valors d'eliminació han canviat molt al passar de quantificar les mostres en unitats de ng/g a pg TEQ/g. S'observen nivells de PCBs molt més variables, i en general més baixos. En aquest cas CA1 i CA3 són els adsorbents que han aconseguit eliminar aquesta família de contaminants de forma més efectiva, en un 52 i 47% respectivament.

Novament, pel cas de CA5 sembla ser que hi hagi hagut una contaminació. Els seus resultats s'escapen clarament de la tendència dels altres carbons al presentar nivells de PCBs més elevats després del procés d'adsorció que abans, tot i que els blancs de procés no han mostrat anomalies tècniques. Respecte als carbons grafititzats, aquests adsorbents no han aconseguit reduir significativament el nivell de PCBs.

Per tal de realitzar un estudi més exhaustiu del procés d'eliminació d'aquests contaminants, s'ha estudiat la seva adsorció congènere a congènere (la *Taula 3.28* mostra les concentracions de PCBs i la *Taula 3.29* les respectives eliminacions). En aquestes taules es pot observar que els PCBs que s'han eliminat més efectivament són els congèneres -81, -77, -126 i -169, amb eliminacions promig d'un 43%, 39%, 34% i 24% respectivament. Aquest fenomen es pot relacionar amb l'estructura d'aquests contaminants, ja que es correspon amb aquells congèneres que no tenen cap clor en substitució *-orto*. D'aquesta manera, les seves estructures poden establir una configuració més plana, i en conseqüència la seva adsorció en el carbó actiu és més efectiva, al tenir un solapament més efectiu entre els orbitals π del adsorbent i els orbitals π de l'adsorbat (Haglund *et al.*, 1994a; Haglund *et al.*, 1994b; Casiday *et al.*, 2008).

S'han obtingut unes eliminacions totals de dl-PCBs entre un 0.5% i 24% pel cas dels carbons actius, sent CA1 el que ofereix millors resultats. Degut al seu mecanisme toxicològic, els PCBs més plans són també els que tenen un factor de toxicitat més elevat (Burkhard i Lukasewycz, 2008). Per aquest motiu, al recalculer les eliminacions obtingudes en unitats de pg WHO-TEQ/g, aquestes passen a trobar-se entre un 52% i 17%. L'únic carbó actiu que s'escapa d'aquest rang és el CA5, que degut a una contaminació per part del PCB-169 presenta una eliminació negativa del -56%. Les millors eliminacions en aquest cas han estat les obtingudes amb CA1 (52%), CA3 (47%) i CA4 (40%), sent CA1 i CA4 obtinguts a partir de closca de coco i CA3 de fusta de pi.

Taula 3. 7. Concentració de PCBs similars a dioxines (en ng/g) en oli de peix cru abans i després del procés d'adsorció.

	Concentració (ng/g)									
	Oli original	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
PCB 81	0.08	0.04	0.04	0.02	0.04	0.03	0.07	0.03	0.05	0.09
PCB 77	0.99	0.46	0.62	0.49	0.52	0.52	0.72	0.55	0.73	0.86
PCB 123	0.69	0.40	0.61	0.89	0.74	0.68	0.35	0.50	0.59	0.84
PCB 118	21.6	16.5	21.8	22.5	22.9	17.1	22.7	20.8	22.9	21.9
PCB 114	0.28	0.18	0.28	0.29	0.27	0.26	0.27	0.26	0.28	0.29
PCB 105	6.62	6.55	5.61	5.15	5.40	5.57	6.49	6.11	6.82	6.73
PCB 126	0.13	0.05	0.08	0.05	0.06	0.09	0.10	0.06	0.12	0.14
PCB 167	2.45	1.36	2.25	1.73	1.86	2.01	2.28	2.20	2.26	2.39
PCB 156	3.34	2.03	3.04	2.47	2.88	2.97	3.11	3.03	3.00	3.37
PCB 157	0.94	0.57	0.81	0.64	0.75	0.96	0.89	0.81	0.88	0.91
PCB 169	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02	0.05	0.02	0.02	0.03	0.03
PCB 189	0.47	0.30	0.47	0.46	0.49	0.50	0.42	0.40	0.43	0.46
Total dl-PCBs (Upperbound)	37.6	28.5	35.7	34.7	35.9	30.7	37.5	34.7	38.1	38.0
Total dl-PCBs (pg TEQ/g)	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02

Taula 3. 8. Eliminació de PCBs similars a dioxines (en% de ng/g) en oli de peix cru degut al procés d'adsorció.

	Eliminació (%)								
	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
PCB 81	49.3	44.3	75.8	54.0	57.2	17.3	67.9	32.9	-10.3
PCB 77	53.5	38.0	50.2	47.5	47.3	27.1	44.9	26.3	13.5
PCB 123	41.6	11.9	-29.1	-7.27	0.58	49.4	27.6	14.0	-21.7
PCB 118	23.5	-0.92	-3.86	-5.98	20.9	-5.11	3.85	-6.05	-1.50
PCB 114	34.8	-1.75	-3.19	1.83	7.56	2.19	8.64	0.40	-2.83
PCB 105	1.15	15.3	22.3	18.5	15.9	1.98	7.69	-2.99	-1.64
PCB 126	61.3	34.8	60.9	53.9	27.0	22.5	51.0	3.15	-5.44
PCB 167	44.4	7.86	29.2	24.0	17.8	6.79	10.1	7.69	2.46
PCB 156	39.2	9.12	26.3	13.9	11.3	6.87	9.48	10.2	-0.85
PCB 157	39.2	13.6	32.0	20.5	-2.14	5.00	13.4	6.50	3.30
PCB 169	71.5	21.1	45.6	25.3	-48.3	32.2	45.6	7.41	11.0
PCB 189	36.1	-1.20	2.24	-5.27	-6.34	10.8	14.9	7.60	2.02
Total dl-PCBs	24.3	5.26	7.93	4.51	18.4	0.49	7.70	-1.30	-1.05
Total dl-PCBs (pg TEQ/g)	51.9	26.5	46.8	40.0	-56.2	16.8	38.4	3.24	-3.78

Eliminació de PCBs indicadors

Les concentracions totals d'aquests COP en les mostres d'oli de peix tractades amb adsorbents carbonacis, juntament amb l'oli inicial, es mostren en la *Figura 3.31*.

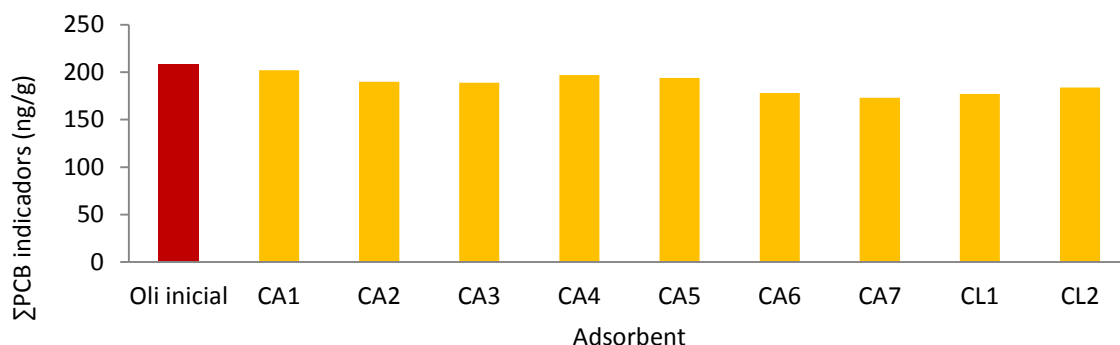


Figura 3. 19. Nivells de PCBs indicadors (ng/g) abans i després del procés d'adsorció.

No s'ha observat una reducció significativa de PCBs indicadors amb cap dels adsorbents estudiats. La *Taula 3.30* mostra les concentracions de cada congènere per cada un dels casos, i la *Taula 3.31* l'eliminació corresponent.

Els rangs d'eliminació d'aquests contaminants ha estat entre un 3% (CA1) i 17% (CA7) pels carbons actius –amb una eliminació promig del 9%–, i 15% (CL1) i 12% (CL2) pels carbons grafititzats. En qualsevol cas, aquests resultats han estat baixos, independentment del tipus de carbó.

Aquest fet es pot justificar amb l'estructura d'aquests contaminants, que solen presentar un o dos àtoms de clor en posició –orto. Això fa que siguin molècules menys planes i, en conseqüència, no s'adsorbeixin tant efectivament en la superfície del carbó (Casiday *et al.*, 2008).

Per altra banda, no s'ha observat una clara selectivitat en l'adsorció de cap dels congèneres estudiats. Només el PCB-101 sembla mostrar una eliminació promig superior a la dels altres congèneres (16%).

Taula 3. 9. Concentració de PCBs indicadors en oli de peix cru abans i després del procés d'adsorció.

	Concentració (ng/g)									
	Oli original	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
PCB 28	1.80	1.44	1.74	1.62	1.67	1.69	1.79	1.66	1.84	1.9
PCB 52	5.95	5.61	5.56	5.36	5.5	5.37	5.76	5.76	5.9	6.17
PCB 101	14.2	12.6	11.9	11.4	11.9	11.7	12.3	11.9	11.6	12.0
PCB 153	93.3	93.1	86.3	85.6	91.3	88.9	81.2	77.5	81.0	84.2
PCB 138	59.6	56.1	54.6	54.4	56.1	57.0	49.0	48.9	49.7	50.3
PCB 180	32.9	33.3	30.3	31.1	30.9	29.4	27.8	27.2	27.5	30.0
Total PCB ind	208	202	190	189	197	194	178	173	177	184

Taula 3. 10. Eliminació de PCBs indicadors en oli de peix degut al procés d'adsorció.

	Eliminació (% de ng/g)									
	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2	
PCB 28	19.8	3.12	9.80	7.02	5.90	0.34	7.57	-2.45	-5.79	
PCB 52	5.67	6.52	9.88	7.52	9.71	3.15	3.15	0.80	-3.74	
PCB 101	11.1	16.1	19.6	16.1	17.5	13.2	16.1	18.2	15.4	
PCB 153	0.26	7.54	8.29	2.19	4.76	13.0	17.0	13.2	9.79	
PCB 138	5.82	8.33	8.67	5.82	4.31	17.7	17.9	16.6	15.6	
PCB 180	-1.12	7.99	5.56	6.17	10.7	15.6	17.4	16.5	8.90	
Total PCB ind	2.88	8.65	9.13	5.29	6.73	14.4	16.8	14.9	11.5	

Eliminació de PBDEs

La *Figura 3.32* mostra les eliminacions totals de PBDEs obtingudes amb cada un dels adsorbents carbonacis estudiats.

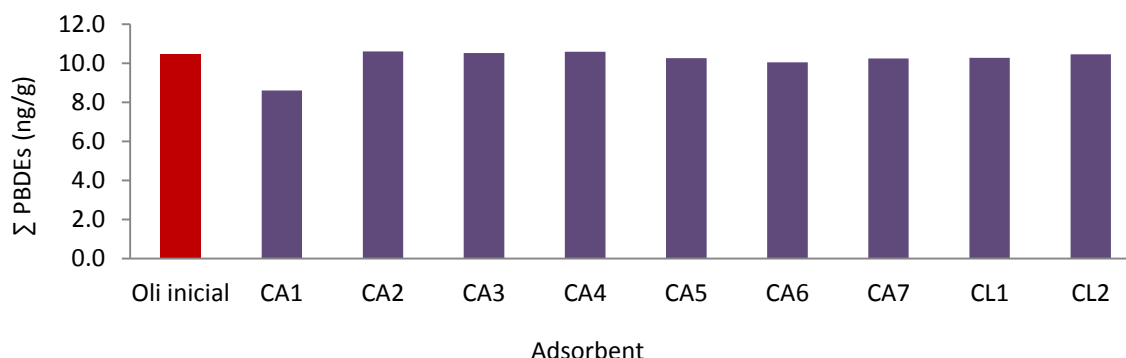


Figura 3. 20. Nivells de PBDEs (ng/g) abans i després del procés d'adsorció.

Tal i com s'observa, el procés d'adsorció no ha aconseguit rebaixar significativament la concentració del PBDEs detectats inicialment el l'oli de peix. Només un adsorbent (CA1) sembla haver reduït sensiblement aquesta càrrega de contaminants.

Les *Taules 3.32* i *3.33* mostren, respectivament, la concentració de cada congènere i la seva respectiva eliminació posterior al procés d'adsorció.

En elles es pot observar que les eliminacions de PBDEs es troben totes entre un rang de +/-5%, independentment del tipus de carbó, pel que no es considera que hi hagi hagut una eliminació efectiva. L'única excepció n'és CA1, amb una adsorció total del 18% de la concentració inicial de PBDEs. Aquestes baixes eliminacions es poden relacionar amb l'estructura molecular d'aquesta família de contaminants, que al no ser plana i tenir àtoms de brom enlloc de clor –i per tant ser una molècula més voluminosa- l'adsorció en el carbó és menys efectiva.

Respecte al perfil de contaminants, tots els congèneres semblen ser eliminats en la mateixa proporció, tot i que el BDE-154 (eliminació promig d'un 12%) sembla ser adsorbit de forma lleugerament més efectiva.

Taula 3. 11. Concentració de PBDEs en oli de peix cru abans i després del procés d'adsorció.

	Concentració (ng/g)									
	Oli original	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
BDE-28	0.39	0.29	0.37	0.36	0.37	0.38	0.36	0.36	0.35	0.37
BDE-47	6.11	5.44	6.35	6.23	6.27	6.01	5.99	6.09	6.18	6.22
BDE-99	0.95	0.81	0.95	0.95	0.96	1.01	0.86	0.95	0.95	0.96
BDE-100	1.77	1.29	1.77	1.79	1.82	1.73	1.69	1.73	1.69	1.75
BDE-153	0.30	0.17	0.29	0.29	0.29	0.30	0.28	0.28	0.28	0.29
BDE-154	0.92	0.59	0.87	0.88	0.86	0.8	0.81	0.81	0.82	0.84
BDE-183	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Total PBDE	10.5	8.60	10.6	10.5	10.6	10.3	10.0	10.2	10.3	10.5

Taula 3. 12. Eliminació de PBDEs en oli de peix cru degut al procés d'adsorció.

	Eliminació (% de ng/g)									
	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2	
BDE-28	25.1	4.41	7.00	4.41	1.83	7.00	7.00	9.58	4.41	
BDE-47	10.9	-3.99	-2.03	-2.68	1.58	1.90	0.27	-1.21	-1.86	
BDE-99	15.0	0.35	0.35	-0.70	-5.95	9.79	0.35	0.35	-0.70	
BDE-100	27.2	0.34	-0.90	-2.71	2.37	4.63	2.37	4.63	1.24	
BDE-153	43.8	4.07	4.07	4.07	2.42	7.38	7.38	7.38	4.07	
BDE-154	35.9	5.42	4.33	6.50	13.0	11.9	11.9	10.9	8.68	
BDE-183	55.5	1.12	-2.34	-4.32	-20.1	3.10	-7.28	-19.1	-10.3	
Total PBDE	17.8	-1.34	-0.38	-1.34	1.53	4.40	2.49	1.53	-0.38	

Eliminació de DDTs

En la *Figura 3.33* es poden observar les eliminacions de DDT i metabòlits per adsorció.

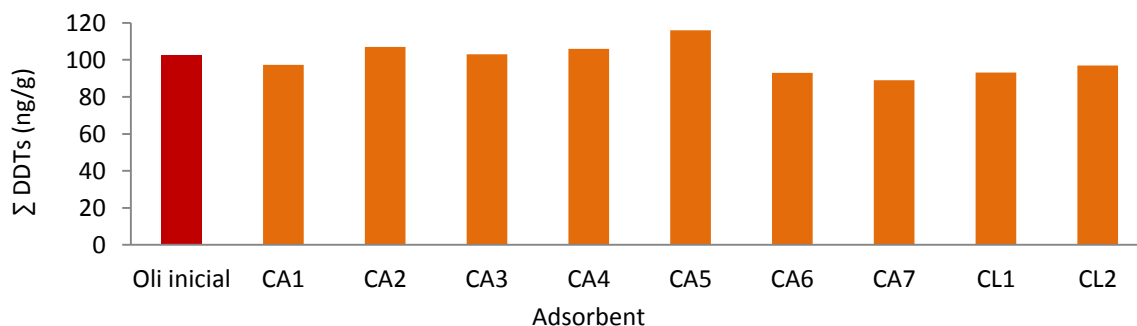


Figura 3. 21. Nivells de DDTs (ng/g) abans i després del procés d'adsorció.

Les eliminacions obtingudes per aquesta família de contaminants tampoc han estat molt elevades. CA6, CA7 i CL1 semblen reduir les seves concentracions inicials entorn a un 10%. Per altra banda, CA2, CA4 i CA5 semblen haver contaminat l'oli inicial. Tot i així, aquestes variacions no són significatives, doncs es troben compreses dins de l'incertesa metodològica.

En les *Taules 3.34* i *3.35* es detallen respectivament les concentracions de cada isòmer i les seves eliminacions. En aquest cas s'observa que mentre que per alguns isòmers hi ha hagut eliminacions promig força elevades (4,4'-DDT en un 45%) d'altres han augmentat la seva concentració (4,4'-DDD en un -54%). Això es deu a que el DDT en medi bàsic o en presència de metalls pot degradar-se a DDE o DDD (Broto, 1992). Aquesta reacció es pot haver dut a terme durant l'etapa de purificació en columna multicapa, tal i com ja s'havia observat en els anteriors estudis de purificació de la mostra (apartat 2.4.1).

Eliminació de HCB

La *Figura 3.34* mostra les eliminacions de HCB degudes a la seva adsorció en carbons.

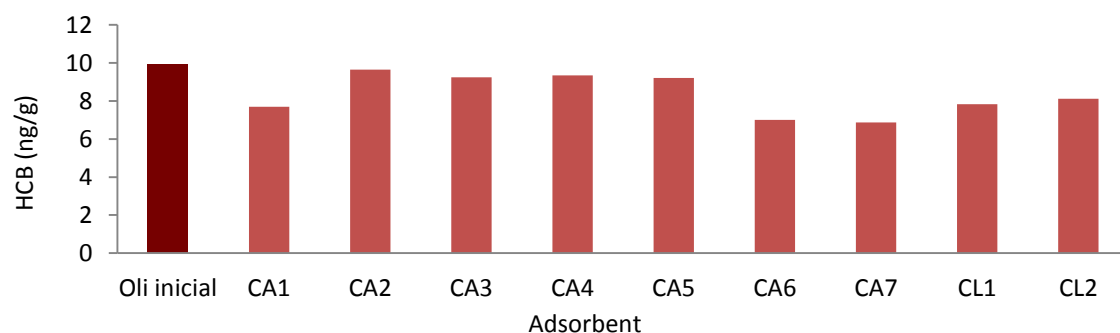


Figura 3. 22. Nivells de HCB (ng/g) abans i després del procés d'adsorció.

Les eliminacions d'HCB degudes al procés d'adsorció en carbons han estat força variables, però més elevades que per la majoria dels altres contaminants estudiats (excepte PCDD/Fs). Aquests valors es troben entre un 31% i un 6% d'eliminació, sent destacables els resultats obtinguts amb els adsorbents CA7 (31%), CA6 (29%) i CA1 (22%).

Taula 3. 13. Concentració de DDTs i HCB en oli de peix cru abans i després del procés d'adsorció.

	Concentració (ng/g)									
	Oli original	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2
HCB	9.92	7.70	9.64	9.24	9.34	9.2	7.01	6.86	7.82	8.12
2,4'-DDE	<0.05	<0.09	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.03	<0.03	<0.03	<0.04
4,4'-DDE	50.2	51.9	42.2	42.1	42.3	41.9	44.2	44.2	45.5	47.2
2,4'-DDD	18.7	16.8	27.7	26.7	26.6	27.0	16.4	16.1	16.7	17.8
4,4'-DDD	12.0	15.2	21.8	19.6	22.8	32.0	15.1	12.5	13.6	14.1
2,4'-DDT	7.17	4.50	10.1	9.91	9.94	9.92	4.80	4.57	4.91	5.16
4,4'-DDT	14.5	8.87	4.85	4.73	4.83	4.73	12.4	11.6	12.4	12.6
Total DDT (Upperbound)	103	97.3	107	103	106	116	92.9	89.0	93.1	96.9

Taula 3. 14. Eliminació de DDTs i HCB en oli de peix cru degut al procés d'adsorció.

	Eliminació (% de ng/g)									
	CA1	CA2	CA3	CA4	CA5	CA6	CA7	CL1	CL2	
HCB	22,3	2,8	6,8	5,8	7,2	29,3	30,8	21,1	18,1	
2,4'-DDE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
4,4'-DDE	-3,48	15,9	16,1	15,7	16,5	11,9	11,9	9,3	5,89	
2,4'-DDD	10,3	-47,8	-42,5	-42,0	-44,1	12,5	14,1	10,9	5,01	
4,4'-DDD	-26,7	-81,6	-63,3	-90,0	-167	-25,8	-4,2	-13,3	-17,5	
2,4'-DDT	37,3	-40,8	-38,1	-38,6	-38,3	33,1	36,3	31,6	28,1	
4,4'-DDT	39,0	66,6	67,4	66,8	67,4	14,9	20,2	14,7	13,3	
Total DDT	5,19	-3,95	-0,43	-3,77	-12,6	9,48	13,3	9,25	5,59	

Tenint en compte els resultats d'eliminació dels COPs en oli de peix amb adsorbents carbonacis -obtinguts en unes condicions experimentals basades en la bibliografia existent (Maes *et al.*, 2005; Kawashima *et al.*, 2006)-, es conclou que:

- Les PCDD/Fs són el contaminant que més bé s'elimina, entorn a un 80% de la seva concentració -pg/g- inicial (fins a un 97% en unitats pg TEQ/g). També s'han obtingut eliminacions destacables d'HCB (fins a un 31%) i PCBs similars a dioxines (fins a un 24% en pg/g o 52% en pg TEQ/g). Pel cas de PCBs indicadors, PBDEs i DDTs, rarament s'ha observat adsorcions superiors al 15%.
- Els adsorbents amb estructura de carbó actiu han donat millors resultats d'eliminació que els d'estructura grafititzada. No s'han observat diferències significatives entre els resultats obtinguts amb carbó provinent de fusta de pi i closca de coco.
- El carbó actiu CA1 és l'adsorbent que ha donat millors resultats per a l'eliminació de PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines i PBDEs. CA7, en canvi, és el més adequat per l'eliminació d'HCB.
- En general, es pot observar que els contaminants que s'han eliminat de forma més efectiva són aquells que tenen una estructura més plana, com les PCDD/Fs o HCB. També s'ha comprovat que els congèneres que poden establir configuracions més planes (PCB similars a dioxines) s'eliminen millor que els seus homòlegs que no poden fer-ho (PCBs indicadors).

3.3.4. Estudi del procés d'adsorció mitjançant disseny d'experiències

Les eliminacions observades per a les diferents famílies de COPs estudiades varien molt en funció de l'absorbent emprat. Per exemple, l'adsorció de PCBs similars a dioxines va des d'un 52% (CA1) a un 17% (CA6). Aquest fet fa pensar que els resultats d'aquest procés poden variar molt en funció de les condicions experimentals en què es realitza.

Per tal de millorar aquestes eliminacions, es decideix estudiar més a fons el procés d'adsorció mitjançant un disseny d'experiències. De forma anàloga a l'estudi realitzat per als adsorbents silícics (apartat 3.2.4 del present capítol), aquest disseny permet conèixer quins factors experimentals afecten al procés d'adsorció amb carbons actius, i de quina manera.

Degut a la complexitat de l'anàlisi de COPs en oli de peix, la matriu que s'ha fet servir és un disseny saturat de Plackett-Burmann $L_8(2^7)$, mitjançant el qual amb només 8 experiències es poden estudiar 7 factors a 2 nivells, sense tenir en compte la interacció d'aquests factors entre sí. Així doncs, el primer pas per a la realització d'aquest estudi és escollir quins factors i a quins nivells és convenient realitzar els assaigs. Aquests s'han determinat basant-se en la bibliografia existent (Maes *et al.*, 2005; Kawashima *et al.*, 2006) i els resultats de l'estudi d'eliminació de COPs amb adsorbents silícics de l'apartat anterior. Aquests valors es mostren en la *Taula 3.36*.

Taula 3. 15. Factors i nivells escollits pel disseny d'experiències.

Factor	Codi	Nivell alt	Nivell baix
Temperatura (°C)	A	80	25
Proporció adsorbent/oli (%p/p)	B	1.5	0.5
Temps d'adsorció (min)	C	60	15
Pressió (hPa)	D	200	1000
Tipus d'adsorbent	E	CA1	CA3
Tipus d'oli	F	Cru	Refinat
Error experimental	G	+	-

Els factors seleccionats en aquest estudi són diferents que els escollits pels adsorbents silícics. En aquest cas, no s'ha inclòs l'activació de l'adsorbent, i en el seu lloc s'ha estudiat el tipus d'oli emprat; cru o refinat. Ambdós olis tenen concentracions inicials de COPs molt semblants, tal i com s'ha determinat en l'apartat 2.7.1 (es corresponen als olis 8 i 9, de salmó refinat i cru respectivament).

D'altra banda, els carbons actius que eliminen millor els COPs en les condicions inicials són CA1, CA7 (ambdós de closca de coco) i CA3 (fusta de pi). El disseny d'experiències proposat és a dos nivells, de manera que permet escollir dos dels tres carbons seleccionats. S'ha considerat interessant el poder comparar els resultats entre tipus de carbó diferents, de manera que es descarta CA7 (closca de coco) i es treballa amb els adsorbents CA1 (closca de coco) i CA3 (fusta de pi).

Els valors dels nivells alts i baixos s'han determinat prenent com a valors centrals els emprats en l'anterior estudi, i augmentant-los (nivell alt) o disminuint-los (nivell baix) proporcionalment. Novament, s'ha confós l'error experimental amb el Factor F, per tal de discriminar quines són les condicions experimentals que afecten significativament l'eliminació de COPs.

Per tal de determinar exactament en quines condicions experimentals cal realitzar les 8 noves experiències, cal combinar els factors i nivells seleccionats (*Taula 3.38*) amb la matriu de Plackett-Burmann (que es com la que es mostra en l'anterior apartat 3.2.4 en la *Taula 3.15*). D'aquesta manera s'obté la nova matriu experimental, que es mostra en la *Taula 3.37*.

Taula 3. 16. Matriu experimental per l'eliminació de COPs amb adsorbents carbonacis.

Experiència	Factor						
	A	B	C	D	E	F	(G)
DE1	80 °C	1.50 %	60 min	1000 hPa	CA1	Refinat	-
DE2	25 °C	1.50 %	60 min	200 hPa	CA3	Cru	-
DE3	25 °C	0.50 %	60 min	200 hPa	CA1	Refinat	+
DE4	80 °C	0.50 %	15 min	200 hPa	CA1	Cru	-
DE5	25 °C	1.50 %	15 min	1000 hPa	CA1	Cru	+
DE6	80 °C	0.50 %	60 min	1000 hPa	CA3	Cru	+
DE7	80 °C	1.50 %	15 min	200 hPa	CA3	Refinat	+
DE8	25 °C	0.50 %	15 min	1000 hPa	CA3	Refinat	-

D'acord amb aquest disseny, s'han realitzat les 8 experiències d'adsorció, i s'han analitzat els 8 olis de peix tractats mitjançant els mètodes per la determinació de COPs desenvolupats en el capítol 2 de la present tesi. Els resultats es resumeixen en la següent taula (Taula 3.38).

Taula 3. 17. Eliminacions de COPs (%).

Experiència	Eliminació (%)					
	PCDD/Fs	dI-PCBs	PCBs ind	HCB	DDTs	PBDEs
1	100 (100)	22.0 (70.2)	9.84	50.9	31.1	-0.88
2	96.9 (95.4)	5.99 (70.7)	6.76	16.8	26.1	5.71
3	83.6 (83.9)	0.86 (19.1)	7.67	14.9	26.9	1.17
4	58.7 (60.7)	-2.75 (63.6)	1.87	19.1	22.3	2.49
5	95.0 (92.8)	7.30 (64.8)	6.29	24.8	24.1	2.56
6	93.2 (90.3)	3.87 (59.4)	1.10	7.12	21.2	0.22
7	98.5 (98.0)	19.9 (60.5)	10.5	21.9	24.8	2.02
8	67.6 (67.4)	-1.10 (4.00)	4.44	10.1	27.2	0.41

*Entre parentesis els resultats calculats en pg TEQ/g

Dels resultats obtinguts se'n poden extreure les següents conclusions:

- Les PCDD/Fs continuen sent el contaminant que millor s'elimina, entre un 60 i 100% de la seva concentració inicial, sent destacables els resultats obtinguts amb CA1 (100%).
- Les eliminacions de PCBs similars a dioxines mostren una elevada variabilitat en funció de les condicions experimentals. S'han obtingut màxims d'eliminació del 22% (CA1) que augmenten fins a més del 70% en unitats toxicològiques (CA1, CA2).
- Els PCBs indicadors i els PBDEs són els contaminants que presenten les eliminacions menys efectives. Els primers s'eliminen com a màxim en un 11%, mentre que els darrers, en un 6%.
- Les eliminacions obtingudes per l'HCB i els DDTs són notablement superiors a les de l'estudi preliminar. Els intervals d'aquestes van d'un 7-51% per l'HCB i d'un 21-31% pels Σ DDTs.

Tal i com s'ha dut a terme pel disseny d'experiències dels adsorbents silícics, per tal de relacionar les eliminacions de COPs obtingudes amb les condicions experimentals emprades en cada cas, es calcula l'efecte dels factors mitjançant la matriu de Box, Hunter i Hunter (Taula 3.19) de forma anàloga. Al realitzar aquest càlcul, s'obtenen els resultats que es mostren en la Taula 3.39.

Taula 3. 18. Efectes dels factors en l'eliminació de COPs amb carbó actiu.

Factor	PCDD/Fs	dl-PCBs	PCBs ind	HCB	DDTs	PBDEs
A	1.82	7.49	-0.47	8.13	-1.21	-1.50
B	21.8	13.6	4.57	15.8	2.09	1.28
C	13.4	2.36	0.58	3.42	1.75	-0.32
D	-4.53	-2.03	1.28	-5.05	-0.90	2.27
E	-4.71	-0.30	0.72	13.4	1.27	-0.75
F	-1.49	-6.82	-4.10	-7.53	-4.11	2.07
G	11.8	1.94	0.66	-7.05	-2.42	-0.44

Per facilitar la comprensió d'aquests valors es representen en diagrames de Pareto per cada família de contaminants. A continuació se'n mostren els resultats.

PCDD/Fs

La Figura 3.35 mostra el diagrama de Pareto dels efectes dels factors seleccionats en l'eliminació de PCDD/Fs en oli de peix.

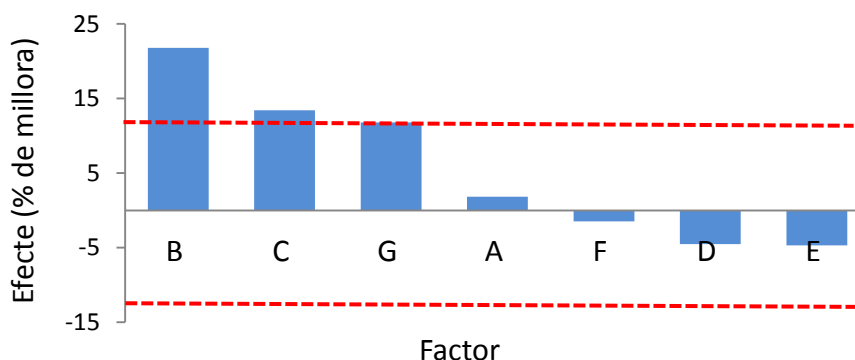


Figura 3. 23. Efecte dels factors en l'eliminació de PCDD/Fs.

Durant el procés d'adsorció de PCDD/Fs en carbó actiu, les condicions experimentals que influencien significativament són la proporció d'adsorbent (Factor B) i el temps d'adsorció (Factor C). Al passar de treballar de 0.5 g a 1.5 g d'adsorbent s'elimina un 22% més de contaminants, mentre que si es realitza l'adsorció durant 60 min enlloc de 15 min la millora és d'un 13%.

Els efectes dels factors estudiats també es poden quantificar des d'un punt de vista toxicològic, aplicant l'algoritme de Box, Hunter i Hunter a les eliminacions amb unitats de pg TEQ/g. Si es realitza aquest càlcul, els resultats obtinguts són anàlegs.

La resta de factors estudiats no són significatius, ja que el valor absolut del seu efecte és inferior al de l'error experimental (Factor F).

PCBs similars a dioxines

La *Figura 3.36* mostra els efectes dels factors en l'eliminació de PCBs similars a dioxines mitjançant carbó actiu.

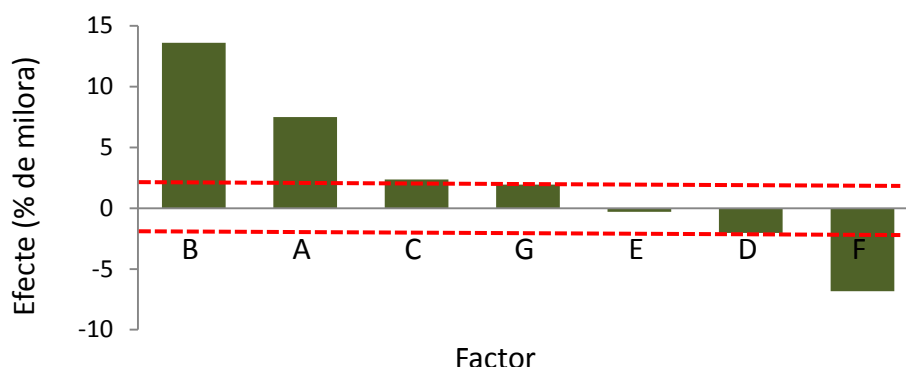


Figura 3. 24. Efecte dels factors en l'eliminació de PCBs similars a dioxines.

En aquest cas el procés d'adsorció és més efectiu quan es duu a terme emprant 1.5 g d'adsorbent (s'elimina un 14% més que amb 0.5 g), 80°C (millora d'un 7.5% respecte a 25 °C), durant 60 minuts (un 2.5% més que durant 15 minuts) i en oli refinat (7% més que amb oli cru). La resta de factors no són significatius.

Com s'ha observat anteriorment, els resultats d'eliminació de PCBs similars a dioxines varien molt si es calculen en unitats de concentració normals (pg/g) o toxicològiques (pg TEQ/g). Com que aquest punt de vista també és important –sobretot des d'una perspectiva legislativa– s'han estudiat els efectes dels factors en aquestes unitats (*Figura 3.37*).

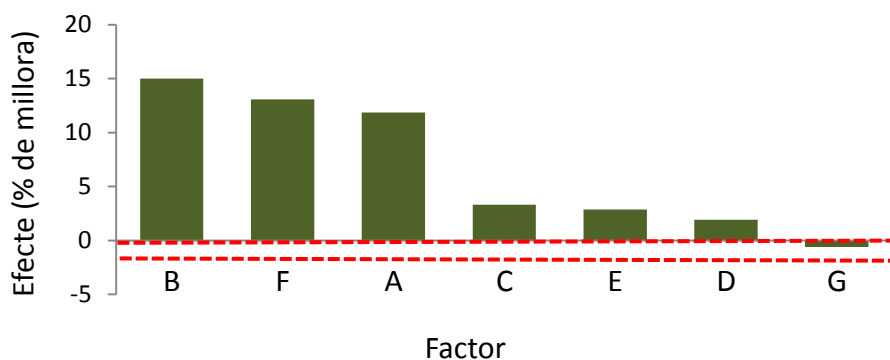


Figura 3. 25. Efecte dels factors en l'eliminació de PCBs similars a dioxines (pg TEQ/g).

En aquest cas la proporció d'adsorbent (Factor B), el tipus d'oli (Factor F) i la temperatura d'adsorció (Factor A) continuen sent els factors més influents, però ara l'eliminació és millor quan es realitza amb olis de peix crus. La resta de factors també s'han mostrat influents, però amb un ordre de magnitud menor (inferiors al 5%).

PCBs indicadors

Els efectes dels factors estudiats en el procés d'adsorció de PCBs indicadors en carbó actiu es mostren en la *Figura 3.38*.

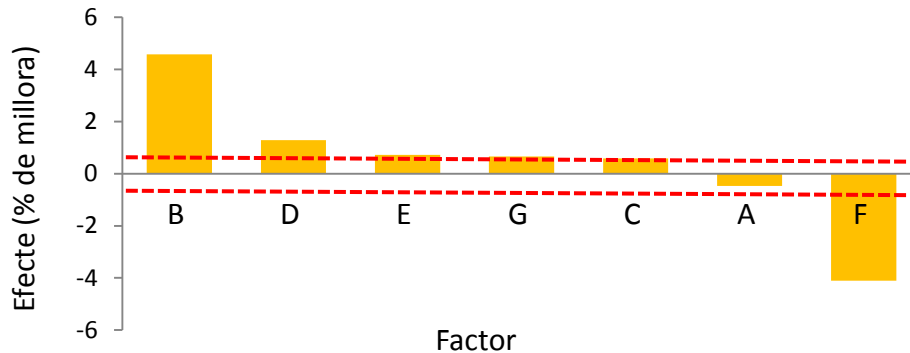


Figura 3. 26. Efecte dels factors en l'eliminació de PCBs indicadors.

En l'adsorció d'aquests contaminants, els factors més importants tornen a ser la proporció d'adsorbent (Factor B, l'eliminació millora en augmentar aquest valor) i el tipus d'oli (Factor F, el procés és més efectiu amb oli refinat). La resta de paràmetres són de l'ordre o inferiors a l'error experimental. Tot i així, cal esmentar que els valors dels efectes són baixos, degut a la baixa efectivitat del procés d'adsorció per aquest tipus de contaminants.

PBDEs

El diagrama de Pareto pels factors que afecten l'eliminació de PBDEs en oli de peix es mostra en la següent figura (*Figura 3.39*).

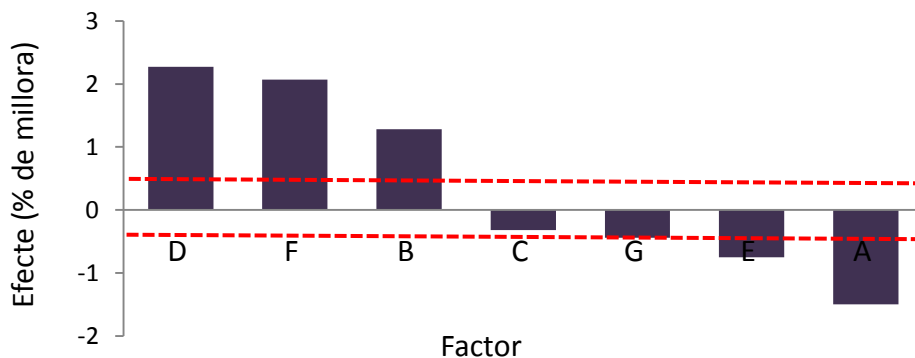


Figura 3. 27. Efecte dels factors en l'eliminació de PBDEs.

D'acord amb aquests resultats, els factors influents en aquest procés d'adsorció són la pressió, el tipus d'oli i la proporció d'adsorbent –amb uns efectes positius- i el tipus de carbó i la temperatura d'adsorció -amb valor negatiu-. Tot i així, les eliminacions de PBDEs han estat molt baixes en totes les experiències (< 6%) i, en conseqüència, el valor dels efectes dels seus factors també són molt baixos (< 3%). Per aquest motiu, aquests resultats només són orientatius.

DDTs

La Figura 3.40 mostra els efectes dels factors estudiats en l'eliminació de DDTs.

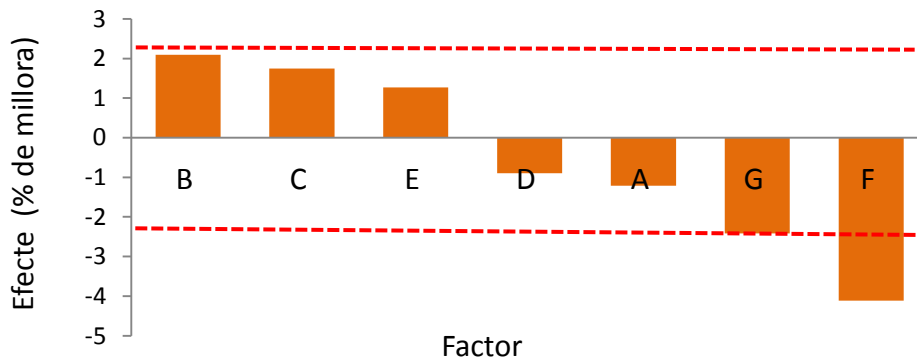


Figura 3. 28. Efecte dels factors en l'eliminació de DDTs.

En l'eliminació d'aquesta família de contaminants només la classe d'oli de peix (Factor F) a demostrat tenir un efecte significatiu en el procés d'adsorció, sent millor quan s'aplica en oli refinat. La resta de factors tenen un efecte inferior al de l'error experimental.

Novament, els efectes tornen a ser d'un ordre de magnitud molt baix (<5%). En aquest cas no és deu a que la eliminació de DDTs hagi estat baixa, sinó que s'ha mostrat com un procés força robust, amb percentatges d'eliminació molt semblants entre sí en les 8 experiències realitzades (entre 20 i 30%) independentment de les condicions experimentals.

HCB

La Figura 3.41 mostra els efectes dels factors estudiats en l'eliminació d'HCB mitjançant carbó actiu.

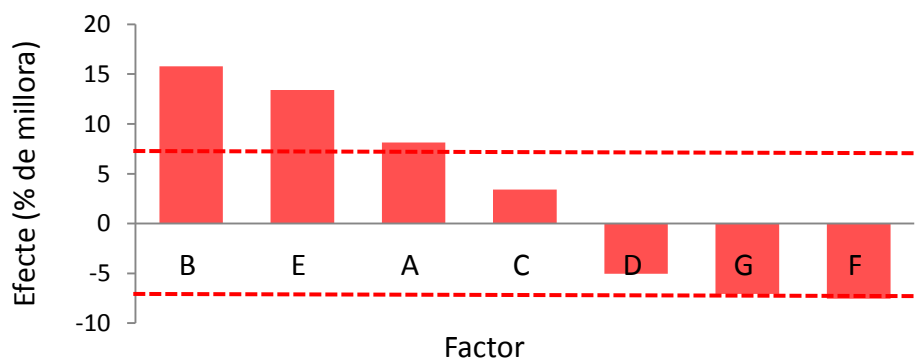


Figura 3. 29. Efecte dels factors en l'eliminació d'HCB.

D'acord amb aquests resultats, l'eliminació d'aquest plaguicida organoclorat millora amb la quantitat d'adsorbent (un 16% més al passar de 0.5 a 1.5 g), el tipus d'adsorbent (un 13% més al treballar amb AC1 enlloc d'AC3) i la temperatura d'adsorció (un 8% més a 80 °C enlloc de 25 °C). La resta de factors estudiats no són significatius al ser del mateix ordre o inferiors a l'error experimental.

Si es comparen els diagrames de Pareto obtinguts per cada una de les famílies de contaminants estudiades, es pot concloure que a nivell general la proporció d'adsorbent és el factor més influent durant el procés d'adsorció, sent més eficient en augmentar el valor d'aquest paràmetre. La resta de factors que afecten significativament l'eliminació de COPs varien en funció del contaminant en qüestió.

L'annex de la present tesi doctoral conté informació més detallada respecte als valors dels resultats d'aquest disseny d'experiències.

3.3.5. Optimització del mètode

El disseny d'experiències que s'ha portat a terme ha permès determinar quins són els factors experimentals que afecten significativament l'eliminació de COPs en oli de peix mitjançant carbó actiu, i de quina manera ho fan (en augmentar o disminuir el valor d'aquests). Tot i així, aquest estudi no ha permès determinar les millors condicions d'adsorció. Per aquest motiu, s'ha dut a terme l'optimització del mètode d'eliminació de COPs.

Existeixen diversos models matemàtics que permeten ajustar empíricament les condicions experimentals d'un procés per tal de maximitzar la seva resposta (òptim experimental). En la present tesi doctoral s'ha emprat un disseny d'evolució EVOP (Evolutionary Operations) que permet seleccionar quins valors experimentals cal prendre per a cada un dels factors escollits, per tal d'optimitzar els resultats finals. El procediment a seguir per tal de dur a terme aquest mètode d'optimització de processos és el següent:

- 1) Es pren com a partida els resultats d'un estudi previ com, per exemple, un disseny d'experiències.
- 2) A partir de les condicions inicials de treball es determinen una sèrie de punts espaiats regularment al voltant del punt base (b_1 , b_2 , N). Per a dues variables la forma és un quadrat amb el punt base al centre (Figura 3.42); per a tres variables, la forma és un cub. El valor de major interès és el vector "N", el qual determina cap a quina direcció es troba l'òptim. Les respostes que s'obtenen corresponen al cicle inicial.

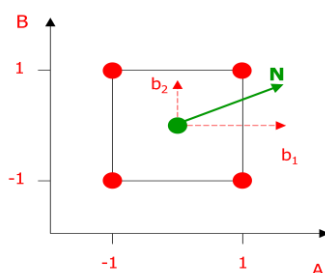


Figura 3. 30. Condicions inicials per dues variables

- 3) Als resultats obtinguts s'ajusta la superfície de resposta mitjançant l'anàlisi de variances (ANOVA). L'anàlisi de variances permet quantificar la significància dels efectes dels factors estudiats, així com la influència de la interacció entre ambdós paràmetres. Aquesta

informació s'obté mitjançant programes informàtics estadístics (Statgraphics Plus, pel cas del present treball), els quals permeten ajustar funcions matemàtiques per a cada paràmetre estudiat. D'aquesta manera es pot visualitzar si s'ha assolit l'òptim experimental. En cas de no observar-se, el programa és capaç d'extrapolar les condicions necessàries per trobar les condicions òptimes. Pel càlcul de les corbes de nivell s'ajusten els resultats empírics obtinguts pels factors estudiats a una equació. Els coeficients d'aquesta són determinats computacionalment mitjançant l'ajust dels valors experimentals a una superfície de resposta. D'altra banda, l'anàlisi de varianza permet calcular un paràmetre F que indica si un factor és influent o no.

- 4) Si no s'ha assolit l'òptim experimental dins del rang de valors estudiat, es determinen unes noves condicions experimentals tot desplaçant els nous valors experimentals en la direcció desitjada de millora, de manera que es canvia el centre de procés fins al punt que té major valor de la funció objectiu. S'usa aquest nou punt com a punt de nova base i s'apliquen els apartats 2 i 3.
- 5) Aquest procés es va repetint fins que la millora es considera suficient, quan no existeix una resultant significativa (l'òptim està dins de l'últim cicle) o quan es produeix un "rebot" al cicle anterior (l'òptim es troba a l'aresta del vèrtex). A la *Figura 3.43* es mostra un exemple de tot el procés, on s'observa la necessitat de realitzar 5 cicles, fins a obtenir l'òptim en qüestió.

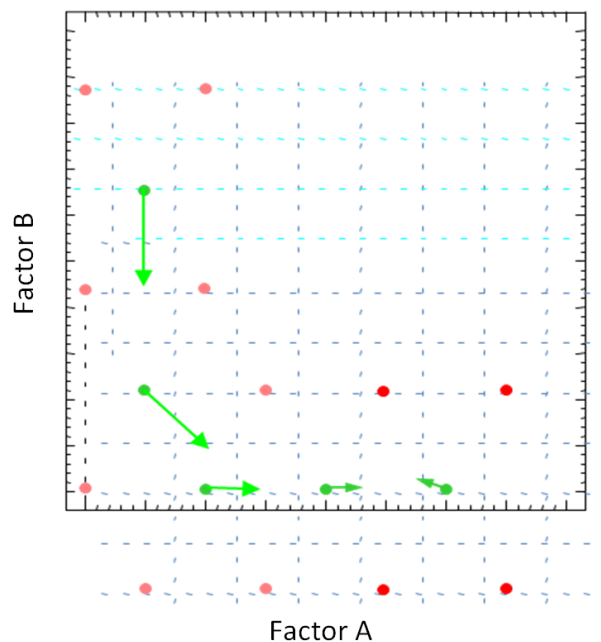


Figura 3. 31. Evolució del mètode EVOP per obtenir l'òptim

L'evolució dels resultats obtinguts permet optimitzar les condicions de treball. Cal dir, però, que es desconeix el nombre d'anàlisis que suposa obtenir l'òptim, de manera que el temps passa a ser un factor important i alhora indeterminat.

Pel cas del present estudi, aquesta optimització s'ha dut a terme amb els dos factors prèviament estudiats que s'han considerat més adequats. D'acord amb les dades experimentals, el primer factor seleccionat ha estat la proporció d'adsorbent (Factor B), ja que l'eliminació de la majoria de COPs augmenta significativament en incrementar la quantitat de carbó actiu en contacte amb l'oli.

El segon factor seleccionat per l'optimització del procés d'adsorció ha estat el temps d'adsorció (Factor C), ja que aquesta variable experimental afecta significativament l'eliminació de PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines, augmentant amb el temps de contacte. L'eliminació d'aquestes dues famílies de contaminants és d'especial interès degut a la seva elevada toxicitat (Burkhard i Lukasewycz, 2008) i a tenir nivells màxims legislat per al consum humà i animal (Reglament 1881/2006; Directiva 2006/13/EC).

Selecció de les noves condicions experimentals a través d'un disseny d'evolució

Primer de tot cal fixar el rang de valors dels factors a optimitzar dins del qual es buscarà l'òptim. Això s'ha dut a terme mitjançant el model matemàtic d'EVOP, el qual es basa en construir un disseny d'evolució a partir d'unes condicions prèvies i obtenir-ne les òptimes que permeten una major eliminació de COP (Canavos, 1988).

El mètode EVOP estableix que, abans d'escollir les condicions de treball, s'ha de conèixer en quina direcció es troba l'òptim, o el que és el mateix, en quina proporció cal augmentar els valors d'aquestes dues variables. Amb aquesta finalitat, es construeix una matriu 2x4 (*Taula 3.40*) amb els factors seleccionats i les corresponents eliminacions de PCDD/Fs obtingudes en l'anterior disseny d'experiències (*Taula 3.38*). El càlcul es realitza amb aquesta família de COPs perquè ha estat la que ha donat millors resultats.

Taula 3. 19. Càlcul de la direcció de les condicions òptimes.

Experiència	Factor B	Factor C	Eliminació PCDD/Fs (%)
8	-1	-1	67,7
7	1	-1	98,5
6	-1	1	93,2
1	1	1	100

Aquesta taula indica que per temps d'agitació baixos, augmentar la proporció d'adsorbent suposa un increment del 31 % (passar de l'experiència 8 a la 7). En canvi, quan es treballa amb temps d'agitació alts, aquest increment és del 7% (de l'experiència 6 a la 1).

Per altra banda, per proporcions d'adsorbent baixes, augmentar el temps d'agitació suposa un increment del 26% (de l'experiència 8 a la 6). Si la proporció d'adsorbent és alta, allargar el temps suposa un 2 % (de l'experiència 7 a la 1).

En una superfície imaginària es considera cadascun dels dos factors seleccionats com una variable. Per a cada factor es defineix un vector, el mòdul del qual serà proporcional a l'efecte del factor i amb una direcció que apunta als valors amb que les eliminacions milloren. Aquest mòdul L es calcula amb la següent equació:

$$Lx = \frac{\sum(\text{Factor} \cdot \text{Eliminació} (\%))}{2}$$

on el vector genèric Lx pot ser Lb (Factor B, proporció d'adsorbent) o Lc (Factor C, temps d'adsorció). Els dos vectors es poden combinar linealment per l'obtenció de l'angle α , a partir de la següent equació:

$$\alpha = \arctg \left(\frac{Lc}{Lb} \right)$$

Que, aplicant la conversió de π radianys = 180° , permet obtenir l'angle en les unitats desitjades, que indica la direcció del màxim. Aplicant aquestes equacions als resultats experimentals de la Taula 3.40, s'obtenen els resultats que es mostren en la Taula 3.41.

Taula 3. 20. Mòduls dels vectors Lb i Lc, i direcció de l'òptim (angle α).

Longituds del mòdul		Angle ($^\circ$)
Lb	Lc	α
18.8	13.5	35.6

Aquests dos vectors es poden trobar representats en la Figura 3.44.

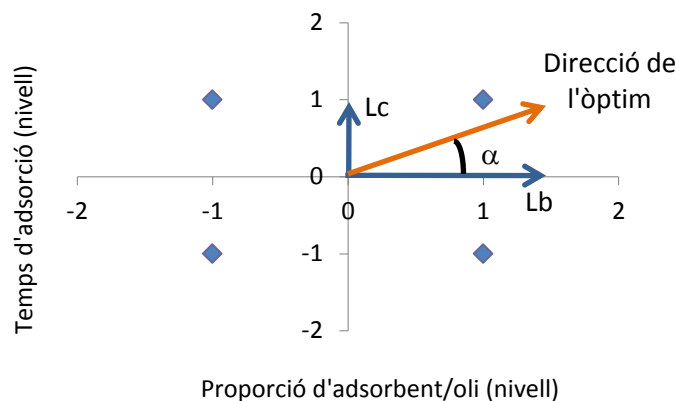


Figura 3. 32. Direcció de l'òptim experimental.

Aquest gràfic ens confirma que l'òptim per a l'eliminació es troba a l'augmentar la proporció d'adsorbent i el temps d'adsorció. El valor de l'angle α ens indica que per assolir aquest òptim l'augment de la quantitat d'adsorbent ha de ser proporcionalment major que l'augment del temps de contacte.

D'acord amb les conclusions que s'extreuen d'aquest disseny d'evolució, es poden adoptar diferents estratègies per a la selecció dels nous valors dels factors a optimitzar, tot intentant realitzar un nombre raonable d'assais i –si s'escau- aprofitar dades experimentals de l'anterior disseny d'experiències. Aquestes possibles estratègies es representen gràficament en la Figura 3.45.

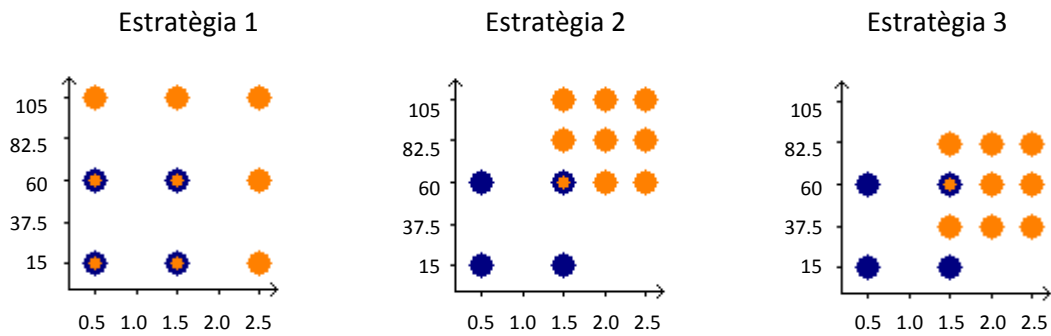


Figura 3. 33. Estratègies per a la selecció dels valors experimentals dins d'on buscar l'òptim, amb la proporció d'adsorbent (% p/p) a l'eix d'abscisses i el temps d'adsorció (min) al d'ordenades . En blau es mostren les experiències ja realitzades i en taronja les que caldria fer.

En la Figura 3.45 es mostren en blau les condicions experimentals en que ja s'ha portat a terme el procés d'adsorció durant l'anterior estudi, amb 0.5 i 1.5% d'adsorbent i durant 15 i 60 minuts (experiències 1, 6, 7 i 8). En taronja es mostren les noves condicions d'adsorció que caldria provar, que varien en funció de l'estratègia que es decideixi adoptar.

En la primera estratègia s'aprofiten les quatre proves ja realitzades, de manera que només caldria realitzar-ne 5 de noves. Es basa en una separació equidistant dels nivells en què s'estudien els factors. Aquesta és l'estratègia més conservadora, ja que cobreix un ampli rang de condicions experimentals (de 0.5 a 2.5% d'adsorbent i de 15 a 105 minuts), i per tant és més possible que l'òptim d'adsorció es trobi dins d'aquests marges. Per contrapartida, el fet de només disposar de 9 punts experimentals fa que aquest òptim sigui determinat amb menys precisió.

En la segona estratègia es fa un desplaçament de les experiències realitzades de 45°, augmentant en la mateixa proporció la quantitat d'adsorbent i el temps d'adsorció. Es tracta d'un disseny lleugerament més arriscat, ja que a part de només aprofitar una de les experiències anteriors, l'amplitud del rang experimental és menor que en l'anterior estratègia. Tot i així, el fet de tenir els nivells dels factors més pròxims entre sí fa que, si l'òptim experimental es troba dins d'aquests marges, es pugui determinar amb més precisió.

La darrera estratègia proposada també es basa en un augment dels valors dels factors experimentals a estudiar, aprofitant només una de les experiències anteriors. En aquest cas però, la quantitat d'adsorbent s'augmenta proporcionalment més que el temps d'adsorció, desplaçant el rang d'experiències a realitzar en un angle més pròxim al que s'ha determinat amb l'anterior disseny d'evolució (35.6°). L'amplitud del rang experimental és menor que en l'estratègia 1, però per aquest mateix fet si l'òptim d'adsorció es troba dins d'aquest marge serà determinat amb més precisió.

Per aquest motiu s'ha escollit aquesta estratègia per a determinar les noves condicions experimentals per l'optimització del mètode d'eliminació de COPs. La Taula 3.42 en mostra aquests valors.

Taula 3. 21. Condicions experimentals per l'optimització del mètode d'adsorció.

Experiència	Factor	
	B	C
O1	1.5 %	37.5 min
O2	2.0 %	37.5 min
O3	2.5 %	37.5 min
O4	2.0 %	60 min
O5	2.5 %	60 min
O6	1.5 %	82.5 min
O7	2.0 %	82.5 min
O8	2.5 %	82.5 min
O9	1.5 %	60 min

Els factors experimentals que s'havien estudiat anteriorment i que no s'han inclòs en l'optimització del mètode han estat mantinguts fixos, a una temperatura de 80°C, 1000 hPa, CA1 com a adsorbent i emprant oli de peix refinat.

Resultats experimentals

D'acord amb les condicions experimentals que es mostren en la *Taula 3.42*, les eliminacions de COPs en oli de peix han estat les següents (*Taula 3.43*):

Taula 3. 22. Eliminacions de COPs obtingudes durant l'optimització del mètode d'adsorció.

Experiència	Eliminació (%)					
	PCDD/Fs	dI-PCBs	PCBs ind	HCB	DDTs	PBDEs
O1	100 (100)	22.7 (68.9)	11.5	51.7	25.9	7.52
O2	97.2 (95.2)	29.0 (79.0)	14.4	66.1	27.3	9.27
O3	99.2 (98.8)	35.8 (81.3)	10.8	70.3	27.3	8.56
O4	99.0 (98.8)	27.1 (73.9)	15.6	61.7	35.5	6.89
O5	99.2 (98.8)	34.8 (81.4)	0.44	69.6	31.9	10.2
O6	99.4 (99.7)	18.7 (76.5)	16.4	49.5	31.6	5.88
O7	98.7 (99.6)	22.8 (77.8)	16.2	63.8	29.4	6.91
O8	98.3 (99.2)	31.7 (80.0)	14.3	66.2	29.6	7.00
O9	98.7 (98.1)	19.3 (77.3)	14.4	54.8	40.5	6.40

Entre parèntesis es troben les eliminacions calculades en pg TEQ/g

D'aquests resultats se'n poden extreure les següents conclusions:

- Els PCDD/Fs són els contaminants que millor s'eliminen, amb valors pròxims al 100% en totes les experiències. En conseqüència, totes aquestes condicions són vàlides per a la seva adsorció.
- En el cas dels PCBs similars a dioxines, les eliminacions obtingudes han estat de l'ordre d'un 20-30%. Per a un mateix temps d'adsorció, aquesta eliminació augmenta amb la proporció de carbó actiu. Contràriament, per a una mateixa proporció d'adsorbent els resultats disminueixen lleugerament amb el temps de contacte.

- Les eliminacions d'HCB han augmentat significativament en aquest estudi (entorn un 50-70%), el que indica que els valors en els que s'han realitzat les noves experiències es troben més a prop de l'òptim. En aquest cas, per un temps d'agitació constant les eliminacions són més efectives quan la proporció d'adsorbent augmenta. En canvi, quan es manté el valor de la proporció d'adsorbent, les eliminacions són del mateix ordre, independentment del temps de contacte.
- L'eliminació de DDTs és força robusta, entorn al 25-30% per a les diverses condicions d'adsorció provades. És destacable l'eliminació que s'obté amb un 1.5% d'adsorbent durant 60 minuts (O9), del 41%. Tot i així, per a la resta de proves no s'observa una clara dependència dels resultats amb els factors estudiats.
- Tant els PCBs indicadors com els PBDEs mostren resultats del mateix ordre, sent tots ells molt baixos (10-15% d'eliminació).
- En general, sembla ser que les condicions experimentals de O3 (2.5% d'adsorbent, 37.5 min) són les més adequades per a l'eliminació de COPs en oli de peix, disminuint les PCDD/Fs en un 99%, HCB en un 70%, PCBs similars a dioxines en un 36%, DDTs en un 27%, PCBs indicadors en un 11% i PBDEs en un 9%.
- Les influències dels factors estudiats en l'eliminació de cada COP observada en aquesta optimització coincideixen amb els resultats ja apuntats en l'anterior disseny d'experiències.

Comparació dels resultats amb la legislació vigent

Tal i com s'ha comentat anteriorment, existeixen normatives que regulen els nivells màxims de PCDD/Fs i PCDD/Fs + PCBs similars a dioxines en olis de peix pel consum humà (Reglament 1881/2006) i animal (Directiva 2006/13/EC).

La següent taula (*Taula 3.44*) compara aquests nivells legiscats amb els de l'oli de salmó refinat inicial i posterior al tractament d'adsorció amb carbons actius, recalculats en unitats toxicològiques pg TEQ/g.

Taula 3. 23. Comparativa del resultats obtinguts amb la legislació vigent.

	Concentració (pg TEQ/g)		
	PCDD/Fs	dl-PCBs	PCDD/Fs + dl-PCBs
Màxim alimentació humana	2	6*	10
Màxim alimentació animal	6	14*	24
Oli de salmó refinat inicial (SR)	7.45	18.5	25.9
O1	0.82	5.76	6.58
O2	0.61	15.2	15.8
O3	0.55	3.46	4.00
O4	0.75	10.4	11.1
O5	0.70	9.08	9.78
O6	1.83	12.3	14.1
O7	0.42	9.25	9.67
O8	0.73	15.8	16.5
O9	0.48	9.29	9.78

*Llindar d'intervenció de PCBs similars a dioxines

Inicialment, l'oli de salmó refinat emprat en aquest estudi no podria ser destinat ni al consum humà ni al animal, ja que supera ambdós nivells màxims legiscats. Posteriorment al procés d'adsorció amb carbó actiu, aquest oli podria ser emprat en alimentació animal en els casos de O2, O4, O6 i O8, i en alimentació humana i animal en O1, O3, O5, O7 i O9.

Anàlisi de variança (ANOVA)

L'anàlisi de variança és una eina estadística que, pel cas que ocupa, permetrà quantificar el grau de significança dels dos factors estudiats en el procés individual d'adsorció de cada un dels COP estudiats, així com la influència entre ambdós paràmetres. D'aquesta manera es podrà determinar una equació que expliqui l'eliminació dels contaminants en funció de les condicions experimentals.

Per tal de determinar aquestes superfícies de resposta, s'han ajustat matemàticament els resultats empírics d'eliminació pels factors estudiats –proporció d'adsorbent (Factor B) i temps d'adsorció (Factor C)- a una funció genèrica del següent tipus:

$$\% \text{ Eliminació} = b_0 + \beta B + \gamma B^2 + \delta C + \varepsilon C^2 + \zeta BC$$

a on les variables B i C són els Factors B i C respectivament, BC la interacció entre els factors, b_0 l'ordenada a l'origen i els coeficients β , γ , δ , ε i ζ són constants ajustades computacionalment.

L'anàlisi de variança permetrà estimar el grau d'ajust d'aquests coeficients amb els valors experimentals reals, discriminant els que tenen un bon ajust dels que no d'acord amb el Test de Fischer. D'aquesta manera es pot obtenir el valor de F experimental, el qual resumeix la informació que proporciona l'experiment.

Per tal de conèixer si els efectes dels factors temps d'agitació, proporció d'adsorbent i la interacció entre ells són significatius, cal comparar aquest valor amb la F crítica. Aquest es representa per $F_{\alpha}(d_1, d_2)$, on α és el valor de significància i d_1 i d_2 , els graus de llibertat del

factor (2) i de la interacció (4), respectivament. Aquest valor de F crítica es troba en les taules del Test de Fisher (Canavos, 1998), que en les condicions de l'estudi té un valor de 6.94. Si el valor de F experimental és igual o major que el de F crítica indica que el factor es significatiu en el procés d'adsorció realitzat (Pharm, 2006).

El valor de significància α és la probabilitat de no trobar el valor dins del interval de confiança en qüestió i correspon a la diferència entre la certesa (1) i el nivell de confiança (1- α). En aquest estudi es considera que el valor α és significatiu quan la probabilitat és menor a 0,05 (5%), que correspon a un nivell de confiança del 95%.

Així doncs, si es realitza l'anàlisi de variances dels Factors B, C i la interacció BC per l'eliminació de cada contaminant (d'acord amb els càlculs descrits per Canavos, 1998), s'obtenen els valors de F experimental de la *Taula 3.45*.

Taula 3. 24. Resultats de l'anàlisi de variances.

Factor	F experimental					
	PCDD/Fs	dl-PCBs	PCBs ind	HCB	DDTs	PBDEs
Proporció Adsorbent (B)	1.08	<u>132</u>	2.24	<u>44.3</u>	1.06	2.41
Temps (C)	0.035	<u>15.6</u>	1.28	1.35	<u>9.43</u>	2.17
Interacció BC	6.39	6.39	6.39	6.39	6.39	6.39

En subratllat apareixen els valors de F superiors a F crítica (6.94)

En l'annex de la present tesi doctoral es pot trobar més informació sobre com s'han calculat aquests valors. També hi figuren els resultats de les eliminacions de COPs obtingudes en aquest apartat, descrits amb major grau de detall.

Gràcies a l'aplicació de l'estratègia del mètode EVOP s'han obtingut eliminacions més efectives que en l'anterior disseny d'experiències. A més, les conclusions de la *taula 3.47* concorden amb els resultats d'eliminació obtinguts a la *taula 3.45* per a cada contaminant. Per exemple, les eliminacions dels PCB coplanars estan més influenciades per la proporció d'adsorbent que pel temps de contacte, d'aquí la diferència entre els dos valors de F experimental.

Matemàticament, aquests valors de F ens permetran discriminar quins termes són negligibles de la funció genèrica que descriu l'eliminació de cada contaminant. Aquestes superfícies de resposta s'han representat mitjançant el programari StatGraphics Plus, que permet ajustar gràficament una superfície de resposta als 9 valors experimentals, representant l'eliminació (eix Z, variable dependent) en funció de la proporció d'adsorbent (eix X, primera variable independent) i el temps d'adsorció (eix Y, segona variable independent).

A través d'aquesta superfície de resposta es podrà observar visualment si en el rang de les condicions d'adsorció estudiades s'ha assolit l'òptim experimental (o màxim d'adsorció de cada COP). En el seu defecte, el programari és capaç d'extrapolar les condicions d'adsorció necessàries per assolir aquest òptim. A continuació es mostren les superfícies de resposta corresponents als contaminants estudiats.

PCDD/Fs

L'eliminació d'aquests contaminants és molt efectiva en totes les condicions experimentals provades, de manera que –tal i com mostren els valors de F experimental- la resposta és independent dels dos factors estudiats. Per aquest motiu, la superfície de resposta que explica la seva eliminació és un pla amb una ordenada a l'origen igual a la mitja de les nou eliminacions obtingudes (Figura 3.46).

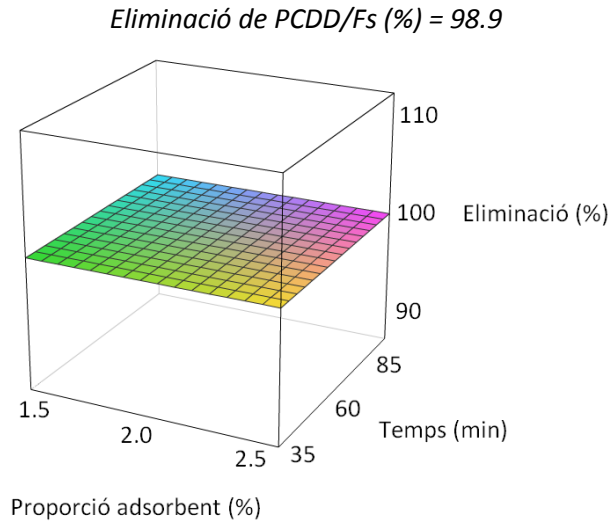


Figura 3. 34. Superfície de resposta per a l'eliminació de PCDD/Fs.

PCBs similars a dioxines

Tal i com mostra la Taula 3.47, l'eliminació d'aquest contaminant es veu significativament afectada tant per la proporció d'adsorbent/oli com pel temps d'adsorció, amb valors de F experimental superiors als de F crítica pels dos factors. La seva interacció no s'ha mostrat significativa, de manera que aquest terme és negligible. A continuació es mostra la funció i la superfície de resposta que prediu l'eliminació d'aquests contaminants (Figura 3.47)

$$\text{Eliminació de PCBs similars a dioxines (\%)} = 17.04 + 0.06B + 3.45B^2 - 0.04C - 0.0005C^2$$

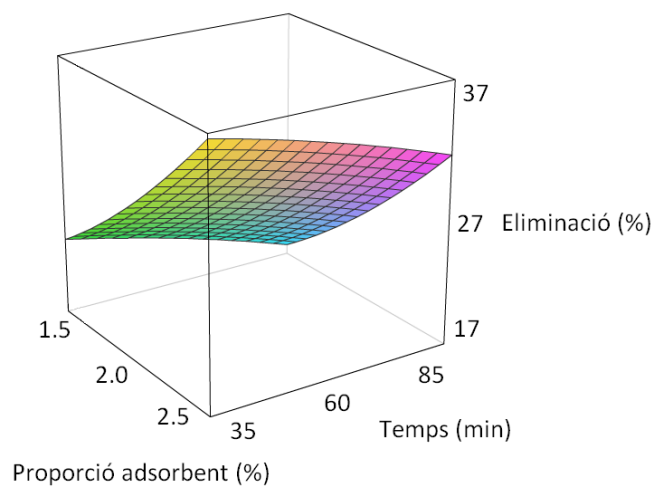


Figura 3. 35. Superfície de resposta per a l'eliminació de PCBs similars a dioxines.

Com es pot observar en la figura, la inclinació de la superfície de resposta ens indica que aquesta eliminació es veu més afectada per la proporció d'adsorbent que pel temps d'adsorció. El màxim d'adsorció dins del rang estudiat es troba en incrementar la quantitat d'adsorbent i disminuir el temps de contacte. D'acord amb la funció, matemàticament no es pot determinar un màxim ja que al augmentar la proporció d'adsorbent i disminuir el temps l'eliminació tendeix a infinit, de manera que no es poden extrapolar les condicions òptimes.

PCBs indicadors

L'eliminació d'aquest tipus de contaminants és força baixa, entre un 10-15%. Aquests resultats no s'han pogut relacionar estadísticament amb cap dels dos factors estudiats, i per tant –igual que amb les PCDD/Fs, però per motius diferents– la resposta no depèn ni de la proporció d'adsorbent ni del temps d'adsorció. La seva superfície de resposta es correspon amb un pla a l'alçada de la mitjana de les eliminacions obtingudes experimentalment (Figura 3.48).

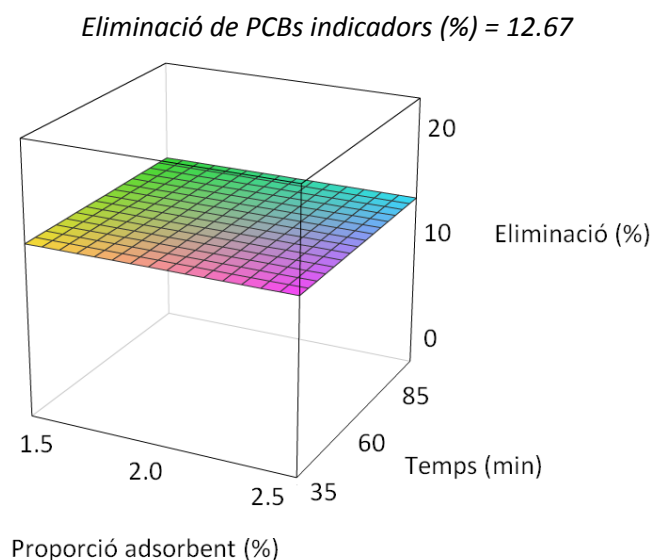


Figura 3. 36. Superfície de resposta per a l'eliminació de PCBs indicadors.

PBDEs

Els resultats per aquesta família de contaminants han estat anàlegs que als observats amb els PCBs indicadors. Les eliminacions han estat tant baixes (<10%) que no s'ha pogut determinar una relació estadística significativa amb cap dels paràmetres d'adsorció estudiats. La corresponent equació i superfície de resposta es mostren a continuació (Figura 3.49).

$$\text{Eliminació de PBDEs (\%)} = 7.63$$

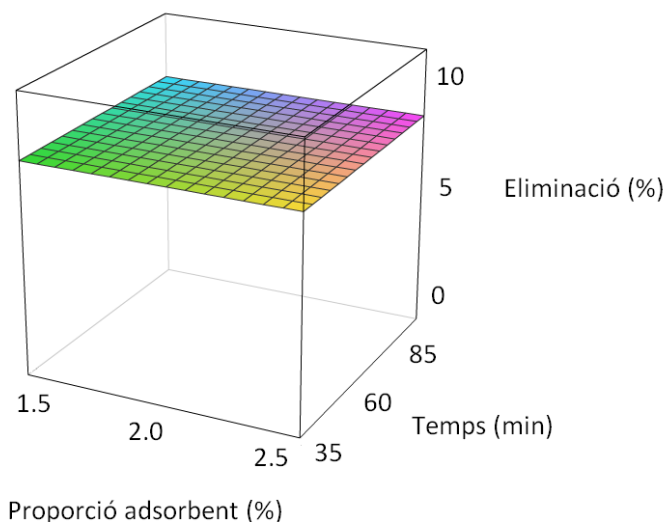


Figura 3. 37. Superfície de resposta per a l'eliminació de PBDEs.

ΣDDTs

Tal i com es mostren en els valors de F experimental tabulats en la *Taula 3.47*, l'eliminació de DDTs i metabòlits es veu afectada significativament pel temps d'adsorció, mentre que és independent de la proporció d'adsorbent, tal i com mostra la funció de la *Figura 3.50*:

$$\text{Eliminació de } \Sigma\text{DDTs (\%)} = -21.5 + 1.841C - 0,0147C^2$$

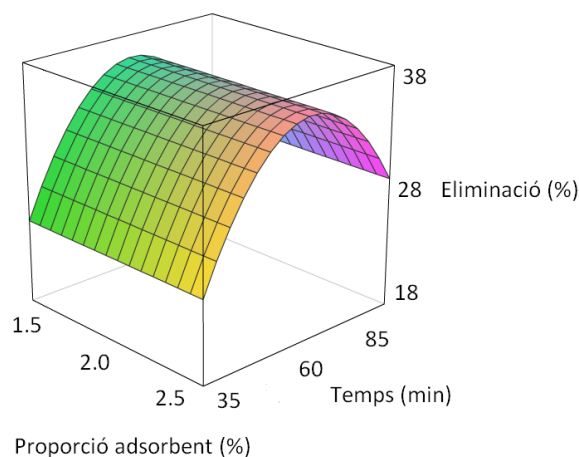


Figura 3. 38. Superfície de resposta per a l'eliminació de ΣDDTs.

En aquesta figura es pot observar l'òptim experimental per l'eliminació d'aquests contaminants, que s'assoleix als 63 minuts amb un màxim d'eliminació del 36.1%. Tot i així, aquest procés d'adsorció es força robust; els resultats obtinguts amb diferents condicions experimentals són lleugerament més baixes, però del mateix ordre.

HCB

L'eliminació d'aquesta plaguicida només es veu afectada significativament per la proporció d'adsorbent, independentment del temps d'adsorció. L'equació que regeix aquest comportament és la que es mostra en la Figura 3.51.

$$\text{Eliminació d'HCB (\%)} = -32,05 + 75,78B - 14,13B^2$$

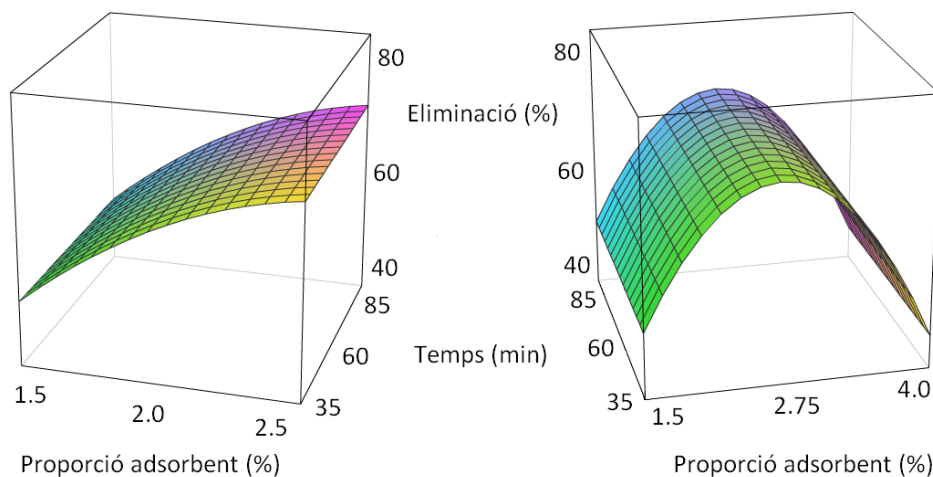


Figura 3.39. Superfície de resposta per a l'eliminació d'HCB.

En el gràfic de l'esquerra es pot veure la superfície de resposta per a l'eliminació d'HCB. Com s'observa, l'eliminació augmenta amb la proporció d'adsorbent, però el màxim d'adsorció no s'ha assolit dins del rang de valors experimentals (1.5-2.5%). En el gràfic de la dreta s'ha extrapolat la superfície de resposta fins a un 4% d'adsorbent, obtenint l'òptim d'eliminació emprant 2.7% de carbó actiu. En aquestes condicions s'obtingria una eliminació màxima d'un 71%.

L'estudi d'optimització del procés d'adsorció ha demostrat que la proporció de carbó actiu i el temps d'adsorció afecten de forma diferent a l'eliminació dels diversos contaminants objecte d'estudi. Mentre que les eliminacions de PCDD/Fs, PCBs indicadors i PBDEs no es veuen afectades significativament per cap dels factors avaluats, l'eliminació de PCBs similars a dioxines augmenta amb la quantitat d'adsorbent i disminueix amb el temps de contacte. L'adsorció de DDTs només es veu afectada pel temps d'adsorció, amb un valor màxim als 63 minuts. Finalment, l'eliminació d'HCB només és afectada per la proporció d'adsorbent, amb un màxim (valor extrapolat matemàticament) quan s'empra un 2.7% de sòlid.

D'acord amb aquesta informació, caldrà definir unes condicions òptimes per l'adsorció de tots els contaminants de forma simultània, tenint en compte la magnitud de l'efecte dels factors en l'adsorció de cada contaminant. Dins del rang de valors estudiats, per a tots els contaminants que són significativament afectats per la proporció d'adsorbent l'eliminació augmenta en augmentar el valor d'aquest factor.

Pel factor temps, en canvi, l'eliminació de PCBs similars a dioxines disminueix amb el valor d'aquest, mentre que els DDTs presenten un màxim d'adsorció als 63 minuts. Tot i així, pel fet de tenir valors legistats pel cas de l'oli de peix per alimentació humana i animal, s'ha prioritzat

el cas dels PCBs. Així doncs, les condicions òptimes per l'eliminació de COPs en oli de peix dins del rang estudiat són les següents (*Taula 3.46*):

Taula 3. 25. *Condicions òptimes per l'eliminació de COPs en oli de peix.*

Factor	Valor òptim
Proporció adsorbent/oli	2.5%
Temps d'agitació	37.5 min
Temperatura	80°C
Pressió	1000 hPa
Tipus d'adsorbent	CA1
Tipus d'oli	Refinat

En aquestes condicions experimentals, s'obtenen unes eliminacions del 99% de PCDD/Fs (99% en pg TEQ/g), 70% d'HCB, 36% de PCBs similars a dioxines (81% en pg TEQ/g), 27% DDTs, 11% de PCBs indicadors i 9% de PBDEs.

Comparant aquests resultats amb els que s'havien publicat anteriorment per a PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines, la primera família de contaminants s'elimina en les mateixes proporcions que en la bibliografia existent, en un 99% (Kawashima *et al.*, 2006; Maes, 2005). Les eliminacions de PCBs similars a dioxines han estat millorades respecte a les descrites en la literatura, en un 81% contra un 64% de pg TEQ/g (Maes, 2005, Usyduš *et al.*, 2009, Oterhals *et al.*, 2009). A més, s'ha aportat per primera vegada informació sobre l'eliminació de PCBs indicadors, DDTs, HCB i PBDEs.

3.3.6. Capacitat del carbó actiu com a adsorbent

En l'anterior apartat s'ha demostrat que els nivells de COPs en olis de peix poden ser reduïts mitjançant l'ús de carbó actiu com a adsorbent. Aquesta eliminació és especialment efectiva pel cas de les PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines, sent aquest un fenomen altament desitjable des d'un punt de vista toxicològic, ja que són dues famílies de contaminants estudiades amb factors de toxicitat definits (Burkhard i Lukazewycz, 2009) i nivells màxims en oli de peix legislats en l'Unió Europea (Reglament 1881/2006; Directiva 2006/13/EC).

Per tal de finalitzar amb la caracterització d'aquest carbó actiu, en el present apartat s'estudia la capacitat màxima de l'adsorbent –o en altres paraules-, quantes vegades es pot reutilitzar el mateix carbó i que l'adsorció dels contaminants de l'oli de peix continuï sent efectiva. L'estudi s'ha centrat en el cas de les PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines.

Amb aquesta finalitat, s'ha pres una alíquota de 20 g d'oli de peix de salmó refinat, a la qual s'ha aplicat el procés d'adsorció amb carbó actiu, segons el mètode optimitzat de la *Taula 3. 25*. Per tal de recuperar l'adsorbent quantitativament, el carbó actiu s'ha separat de l'oli per centrifugació (això no es podria fer mitjançant filtres d'HPLC, ja que es perdria el sòlid). Aquest mateix adsorbent s'ha tornat a afegir a una nova alíquota de 20g del mateix oli, i el procés s'ha repetit d'aquesta manera fins a 5 vegades.

Posteriorment, els olis tractats han estat filtrats a través de filtres d'HPLC, per si es donés el cas de que quedés alguna petita partícula de carbó en suspensió. Els nivells de PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines han estat determinat mitjançant les metodologies analítiques desenvolupades durant el segon capítol de la present tesi doctoral. Els resultats es resumeixen en la *taula 3.47*.

Taula 3. 26. Nivells i eliminacions de PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines de l'estudi de capacitat del carbó actiu.

	Oli inicial	Adsorció 1	Adsorció 2	Adsorció 3	Adsorció 4	Adsorció 5
Σ PCDD/Fs (pg/g)	14.8	0.58	0.70	0.76	0.53	0.97
Σ PCDD/Fs (pg TEQ/g)	1.42	0.09	0.09	0.09	0.09	0.13
Eliminació PCDD/Fs (%)	-	94	94	93	94	91
Σ dl-PCBs (ng/g)	8.38	5.82	8.10	8.56	8.58	9.10
Σ dl-PCBs (pg TEQ/g)	7.15	0.94	2.69	3.92	4.64	5.34
Eliminació dl-PCBs (% TEQ)	-	87	62	45	35	25
Σ PCDD/Fs + dl-PCBs (pg TEQ/g)	8.57	1.02	2.78	4.01	4.72	5.47
Eliminació PCDD/Fs+dl-PCBs (% TEQ)	-	88	68	53	45	36

A continuació es detallen els resultats per a cada família de contaminants.

PCDD/Fs

Els nivells de PCDD/Fs i les corresponents eliminacions observades en cada un dels olis tractats amb el mateix adsorbent es troben representats gràficament en la *Figura 3.52*.

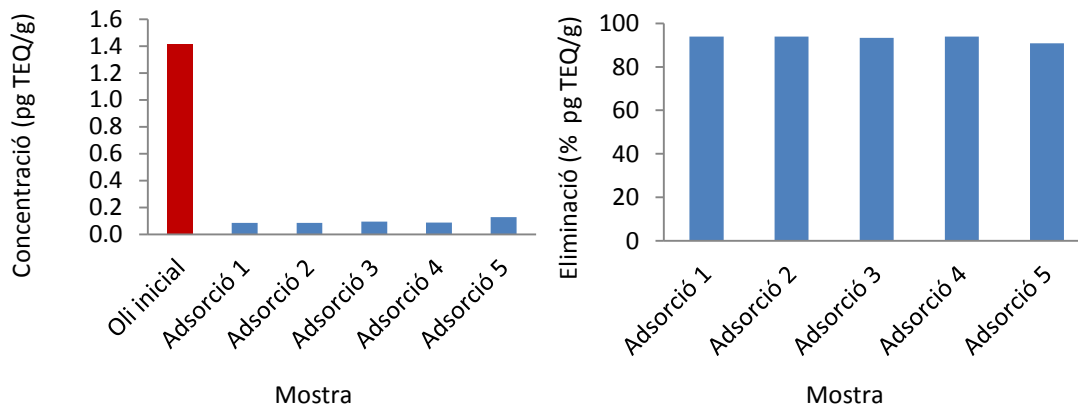


Figura 3. 40. Concentracions (esquerra) i eliminacions (dreta) de PCDD/Fs en oli de peix corresponents a l'estudi de la capacitat màxima del carbó actiu com a adsorbent.

El carbó actiu ha demostrat ser molt efectiu per l'adsorció de PCDD/Fs, doncs fins i tot després de reutilitzar el mateix adsorbent 5 vegades, continua eliminant més del 90% de la càrrega de contaminant inicial. Això es pot relacionar amb la baixa concentració massica d'aquesta família de contaminants que sol haver en l'oli de peix, que inicialment era de 15 pg/g, i per tant hi ha menys molècules per cada punt actiu de l'adsorbent

PCBs similars a dioxines

Les concentracions d'aquesta família de contaminants en els olis de peix tractats amb el mateix adsorbent de forma successiva -així com les corresponents eliminacions- es mostren en la *Figura 3.53*.

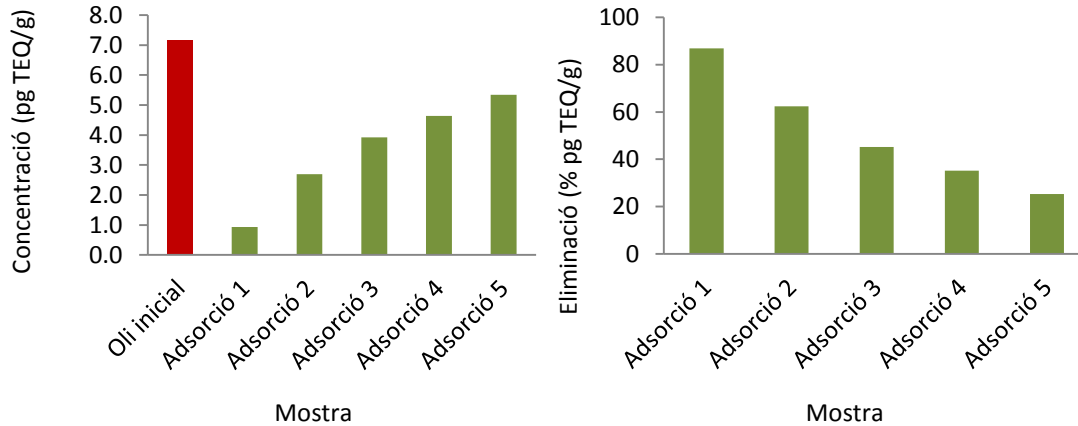


Figura 3. 41. Concentracions (esquerra) i eliminacions (dreta) de PCBs similars a dioxines en oli de peix corresponents a l'estudi de la capacitat màxima del carbó actiu com a adsorbent.

Tal i com s'aprecia en la figura, l'adsorció inicial de PCBs similars a dioxines ha estat del mateix ordre que l'obtingut durant l'optimització del mètode d'adsorció, entorn al 87%. En aquest cas però -i contràriament al fenomen observat per les PCDD/Fs-, a partir de la segona adsorció que es realitza amb el mateix carbó les eliminacions cada cop són més baixes, fent-se evident la progressiva saturació de la capacitat d'adsorció del sòlid.

Aquest fet es deu a que la concentració màssica d'aquests contaminants és molt més elevada que en el cas anterior -inicialment de 8379 pg/g-, i per tant existeixen moltes més molècules de contaminant per punt actiu de l'adsorbent.

La disminució de les eliminacions és asimptòtica i tendeix a zero, amb una pèrdua del 20% de la capacitat d'eliminació durant la primera adsorció, 17% durant la segona, i 10% per la tercera i quarta vegada que es repeteix el procés. En total, la disminució de la capacitat adsorbent del carbó actiu observada entre la primera i la cinquena vegada que es reutilitza el sòlid és del 62%.

PCDD/Fs + PCBs similars a dioxines

Com que el valor additiu de les concentracions d'aquestes dues famílies és un dels paràmetres que es troba legislat (juntament amb els nivells màxims de PCDD/Fs), s'ha considerat adequat l'estudi de la capacitat del carbó actiu per l'adsorció simultània dels dos grups de contaminants. Les seves concentracions i eliminacions en els olis de peix tractats es mostren en la *Figura 3.54*.

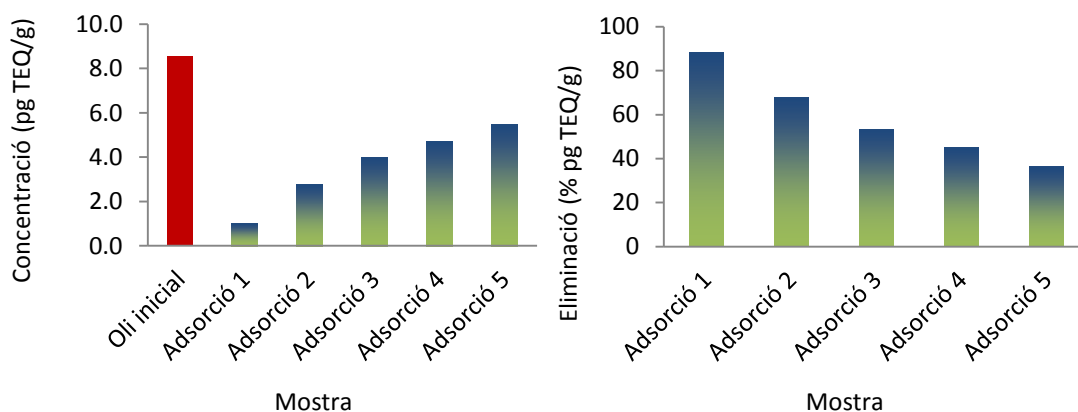


Figura 3. 42. Concentracions (esquerra) i eliminacions (dreta) de PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines corresponents a l'estudi de la capacitat màxima del carbó actiu com a adsorbent.

En aquesta figura s'observa la saturació del carbó actiu degut a l'adsorció de PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines, que varia des d'una eliminació inicial pròxima al 90% fins a només un 35% durant la cinquena repetició del procés.

D'acord amb la informació prèvia de l'eliminació de cada un dels contaminants per separat, es pot determinar que la saturació de l'adsorbent es deu majoritàriament per part dels PCBs, ja que la seva concentració és d'un grau de magnitud molt superior.

Cal tenir en compte que, tot i que anteriorment s'han quantificat les dues famílies de contaminants per separat, en l'oli inicial i durant els successius processos d'adsorció ambdós COPs es trobaven originàriament en la matriu d'estudi. El fenomen de saturació de l'adsorbent, però, només s'ha observat pel cas dels PCBs, de manera que el carbó actiu mostra certa selectivitat per l'adsorció de PCDD/Fs enfront a PCBs. Aquest fenomen possiblement és degut a que les PCDD/Fs són molècules més planes, i per tant la seva adsorció en la superfície del carbó actiu és una interacció més forta que pel cas dels PCBs (Haglund *et al.*, 1990a; Luna *et al.*, 2007).

Degut a això és possible que pel cas dels PCBs s'estigui observant el fenomen invers al desitjat; al anar afegint PCDD/Fs en el carbó actiu durant els consecutius processos d'adsorció, fa que aquestes desplacin molècules de PCBs prèviament adsorbides, alliberant-les en l'oli. Aquesta hipòtesis està recolzada pel fet de que en l'oli obtingut del cinquè procés d'adsorció té uns nivells de PCBs lleugerament superiors als inicials.

Així doncs, les vegades que es pugui reutilitzar l'adsorbent dependrà de les concentracions inicials de contaminants dels olis a tractar, però de forma general seria recomanable canviar-lo cada 3-5 cicles, doncs el carbó queda saturat de PCBs i perd capacitat d'adsorció.

3.4. Efectes del procés d'adsorció en la qualitat de l'oli de peix

L'oli de peix ha estat introduït en les dietes humana i animal degut als seus diversos efectes beneficiosos per la salut (Panchaud *et al.*, 2005; Ortega *et al.*, 2008), gràcies al seu alt contingut natural en àcids grassos insaturats de cadena llarga ω -3 –especialment EPA i DHA– (Domingo, 2008). Per aquest fet, és important que el procés d'adsorció de COPs que s'ha desenvolupat en el present capítol no afecti el contingut d'aquests compostos.

Per aquest motiu s'ha determinat la qualitat dels olis de salmó refinats abans i després del procés d'eliminació de COPs optimitzat. Aquesta caracterització s'ha dut a terme a través de l'anàlisi del contingut en àcids grassos, mitjançant cromatografia de gasos amb detector d'ionització de flama (HRGC-FID). En el present estudi no només s'han estudiat els ω -3 (incloent EPA i DHA), sinó que també s'han inclòs tots els altres àcids grassos saturats i insaturats.

Abans de realitzar l'anàlisi instrumental, en el cas dels àcids grassos és habitual una etapa prèvia de derivatització d'aquests a esters metílics d'àcid gras. Aquesta reacció facilita l'anàlisi cromatogràfica, ja que es rebaixen les temperatures d'ebullició dels analits (el àcids grassos són més difícils de volatilitzar, ja que el grup àcid carboxílic forma ponts d'hidrogen entre sí) i no queden tant retinguts en la columna al ser menys polars.

Aquesta derivatització s'ha dut a terme basant-se en el mètode de transesterificació mixta proposat per Ortoll (2009). Els àcids grassos es fan reaccionar primer amb un catalitzador bàsic (NaOH en metanol) i posteriorment amb un catalitzador àcid (BF₃ en metanol). D'aquesta manera s'obté un millor rendiment de la reacció, i per això és el mètode recomanat per la Farmacopea Europea (European Pharmacopoeia, 2008).

Com a patró intern del procés s'ha fet servir àcid tricosanoic (C23:0, 400 µg/ml), un àcid gras sintètic que no es troba en mostres d'origen animal o vegetal. Paral·lelament, per tal d'evitar l'oxidació dels àcids grassos insaturats durant l'anàlisi s'ha afegit un antioxidant (BHT, 44 µg/ml) en totes les dissolucions preparades.

La quantificació de les mostres s'ha realitzat mitjançant un patró de quantificació de 37 àcids grassos diferents, a una concentració de 1 µg/ml. La qualitat de les anàlisis s'ha controlat mitjançant l'estudi de blancs de procés i patró control d'EPA i DHA.

Les condicions cromatogràfiques són les que es mostren en la següent taula (*Taula 3.48*):

Taula 3. 27. Condicions cromatogràfiques per l'analisi d'àcids grassos.

Paràmetre cromatogràfic	Valor
Cromatògraf	Agilent 6890N
Columna	TRB-WaxOmega (30 m; 250 µm; 0.25 µm)
Gas portador	He
Mode de treball	Flux constant (1 ml/min)
Temperatura injecció	250°C
Volum d'injecció	2µl
Mode d'injecció	Split (25:1)
Temperatura del forn	Isoterma a 200°C durant 58 minuts
Detecció	FID
Temperatura detector	250°C
Proporció H ₂ /aire	1/10

Les concentracions dels àcids grassos presents en l'oli de salmó refinat inicial i el que s'obté després del procés d'adsorció amb carbó actiu –en les condicions experimentals del mètode optimitzat- són les que es mostren en la següent taula (Taula 3.49).

Taula 3. 28. Nivells d'àcids grassos en l'oli de salmó refinat original i tractat.

Àcid gras	Concentració (mg/g)			Àcid gras	Concentració (mg/g)		
	Oli inicial	Oli tractat	% de variació oli inicial vs tractat		Oli inicial	Oli tractat	% de variació oli inicial vs tractat
C6:0	<0.01	<0.01	-	C20:0	2.91	3.11	6.7
C8:0	0.16	<0.01	-	C20:1	42.3	44.7	5.8
C10:0	0.48	<0.01	-	C20:2	3.91	4.08	4.5
C11:0	0.44	0.43	-2.8	C20:3 ω-6	1.51	1.63	7.8
C12:0	6.51	<0.01	-	C21:0	<0.01	<0.01	-
C13:0	2.90	2.77	-4.4	C20:3 ω-3	6.19	6.65	7.6
C14:0	46.7	48.6	4.1	C20:4 ω-6	4.49	4.79	6.6
C14:1	0.42	1.78	-	C20:5 ω-3 (EPA)	79.1	84.3	6.5
C15:0	4.13	4.30	4.0	C22:0	<0.01	<0.01	-
C15:1	0.75	0.85	12.6	C22:1	6.49	7.02	8.1
C16:0	130	137	5.5	C22:2	<LD	<LD	-
C16:1	16.6	17.6	5.5	C23:0	78.2	77.2	-1.2
C17:0	3.32	3.58	8.1	C24:0	<LD	<LD	-
C17:1	5.84	6.14	5.0	C22:6 ω-3 (DHA)	104	110	6.5
C18:0	27.3	28.6	4.7	C24:1	5.32	5.58	4.9
C18:1 (cis+trans)	170	179	5.3	Total	819	853	-4.16
C18:2 ω-6 (cis+trans)	46.0	48.6	5.5	Total saturats	303	306	0.89
C18:3 ω-6	1.77	1.87	5.6	Total insaturats	516	547	6.09
C18:3 ω-3	21.9	23.0	4.9				

LD: Límit de detecció

Tal i com s'observa en la taula, la degradació total dels àcids grassos (saturats i insaturats) durant el procés d'adsorció ha estat d'un 4.2 %. Pel que fa als àcids grassos insaturats, aquesta variació global ha estat del 6.1 %.

A tall d'exemple, la *Figura 3.55* mostra una superposició dels cromatogrames obtinguts pels olis inicials i tractats, a o es fa palès que no existeix cap diferència significativa entre ambdues mostres.

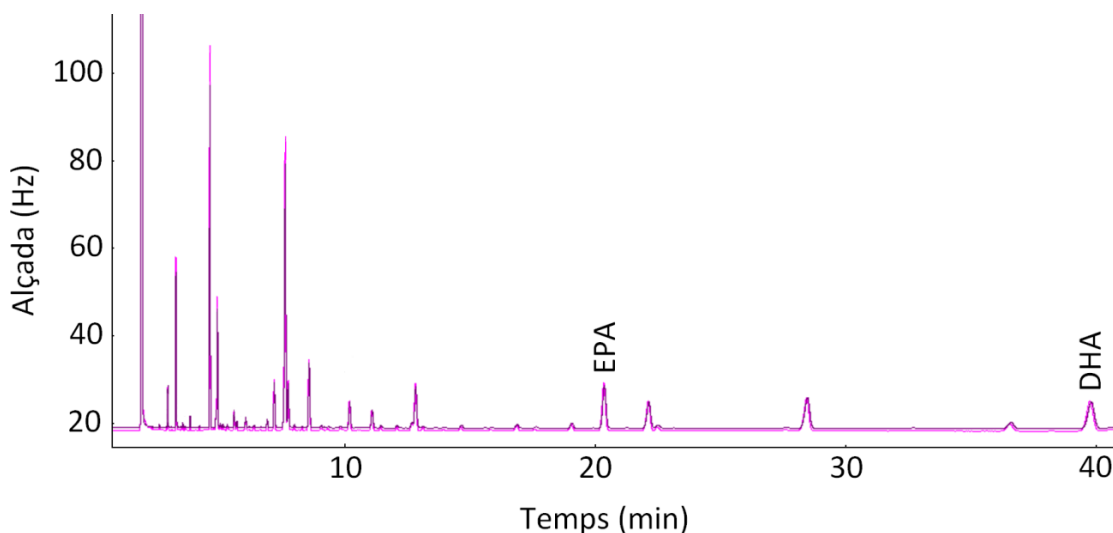


Figura 3. 43. Cromatogrames HRGC-FID dels olis de peix –pre (rosa) i –post (lila) adsorció.

D'acord amb aquesta anàlisi, la variació dels àcids grassos en oli de salmó refinat –pre i –post adsorció no han estat significatives, ja que es troben dins de l'incertesa del mètode analític (Ortoll, 2009).

3.5. Bibliografia

- Broto Puig, Francesc (1992). Metodología analítica para la determinación de contaminantes organoclorados de alto peso molecular (PCBs y plaguicidas) en muestras ambientales: desarrollo y aplicación a sedimentos marinos. Tesis doctoral dirigida pel Dr Miquel Gassiot, realitzada a l'IQS
- Burkhard LP, Lukasewycz MT (2009). Toxicity equivalency values for polychlorinated biphenyl mixtures. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (3): 529-534
- Canavos G (1998). Probabilidad y estadística: Aplicaciones y métodos. Virginia Commonwealth University. México, 401-435.
- Casiday R, Noelken G, Frey R (2008). Treating the Public Water Supply. What Is In Your Water, and How Is It Made Safe to Drink? <http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Water/PublicWaterSupply/PublicWaterSupply.html>. Data de l'última consulta: 31/03/2011
- Carbonelle S, Eppe G, Hellebosch L, De Meulenaer B, Vila Ayala J, De Grey W, Verhé R, De Pauw E, Goeyens L (2005). Removal, of dioxins and PCBs in fish oils: comparison of CALUX and GC-HRMS results. *Organohalogen Compounds* 67: 31-34
- Chang SH, Yeh JW, Chein HM, Hsu LY, Chi KH, Chang MB (2008a). PCDD/F Adsorption and Destruction in the Flue Gas Streams of MWI and MSP via Cu and Fe Catalysts Supported on Carbon. *Environmental Science and Technology* 42 (15): 5727-5733
- Chang W, Komazu T, Korenaga T (2008b). Fabrication of Monolithic Silica in Microchannel as an Adsorbent for Preconcentration of VOCs. *Analytical Letters* 41: 1468-1476
- ChiemiVall (2009). Carbón activado. Principales materias primas. http://www.carbonactivo.com/web/index.php?option=com_content&task=view&id=51&Itemid=82 . Data de l'última consulta: 07/10/2010
- Cosgrave JP, Church DF, Pryor WA (1987). The kinetics of autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 22 (5): 299
- Directiva 2006/13/EC. Amending Annexes I and II to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed as regards dioxins and dioxin-like PCBs. *Diari Oficial de la Unió Europea*, L 32: 44-53
- Domingo JC (2008). Nuevos omega-3 de alta bioactividad. Aplicación Nutricional y dietética. Publicación Sociedad Española Dietética y Ciencias de la Alimentación. <http://www.nutricion.org/actividades/pdf/Conferencia%20w3%20Zaragoza.pdf>. Data de l'última consulta: 30/09/2010
- Eppe G, Carbonelle S, Hellebosch L, De Meulenaer B, Vila J, De Greyt W, Verhé R, Goeyens L, Focant J, De Pauw E (2005). Removal of PCDD/Fs and DL-PCBs from fish oil by activated carbon: Compliance with European Legislation. *Organohalogen Compounds* 67: 1412-1416

- Escribano F (2004). La sepiolita, una arcilla en el campo de la alimentación animal. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias* 12: 253-269
- EUBA (2007). What is bentonite? <http://www.ima-eu.org/euba.html>. Data de l'última consulta: 04/10/2010
- European Pharmacopoeia 6.2, 01/2008: 20429 corrected 6.2
- García J (2007). Síntesis de cerámicos tecnológicos mediante métodos de combustión de geles de acrilamida. Tesis doctoral dirigida pel Dr. Ferran Espiell, la Dra. Mercedes Segarra i el Dr. Alberto Calleja, realitzada a l'Universitat de Barcelona
- Gregg S, Sing K (1982). *Adsorption Surface Area and Polarity*. Ed. Academic Press, London
- Grossman A, Ghosh U (2009). Measurement of activated carbon and other black carbons in sediments. *Chemosphere* 75: 469-475
- González MT (1996): Estudio comparativo del dióxido de carbono y el vapor de agua como agentes activantes. Tesis doctoral dirigida pel Dr. Miguel Molina i el Dr. Francisco Rodríguez, realitzada a l'Universitat d'Alicant
- González JF, Román S, González-García CM, Valente JM, Ortiz AL (2009). Porosity Development in Activated Carbons Prepared from Walnut Shells by Carbon Dioxide or Steam Activation. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 48:7474-7481
- Haglund P, Asplund L, Järnberg U, Jansson B (1990a). Isolation of toxic polychlorinated biphenyls by electron donor—acceptor high-performance liquid chromatography on a 2-(1-prenyl)ethyltrimethylsilylated silica column. *Journal of Chromatography A* 507: 389-398
- Haglund P, Asplund L, Järnberg U, Jansson B (1990b). Isolation of mono- and non-ortho polychlorinated biphenyls from biological samples by electron-donor acceptor high performance liquid chromatography using a 2-(1-pyrenyl)ethyltrimethylsilylated silica column. *Chemosphere* 20: 887-894
- Kawashima A, Iwakiri R, Honda K (2006). Experimental study on the removal of dioxins and coplanar polychlorinated biphenyls (PCBs) from fish oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 10294-10299
- Klein C (1997). *Manual de mineralogía*. Ed Reverté, Barcelona
- Leroy G, Gambin A, Brasseur A, Guernion P, Pettiau X, Pirard J (2004). Minsorb mineral reagent to remove dioxins and furans. Conferència en IT3'04 , del 10 al 14 de maig del 2004, Phoenix, EUA.
- Luna D, González A, Gordon M, Martín N (2007). Obtención del carbón activado a partir de cáscara de coco. *Contactos*, 64: 39-48

- Maes J (2005). Removal of Dioxins and PCB from Fish Oil by Activated Carbon and Its Influence on the Nutritional Quality of the Oil. *Journal of the American Oil Chemical Society* 82: 593-597
- Menéndez JA, Martín-Gullón I (2006). Types of carbon adsorbents and their production Activated carbon surfaces in environmental remediation (Interface science and technology series, 7). Ed. Elsevier, Amsterdam
- Menéndez JA (2008). Residuos de biomasa para la producción de carbones activos y otros materiales de interés tecnológico. <http://www.oviedocorreio.es/personales/carbon/cactivo/impqcatex.htm>. Data de l'última consulta: 07/10/2010
- Ortega RM, Pérez Jiménez F, Bultó Sagnier L, Martín Quesada E (2008). Prejuicios y verdades sobre las grasas y otros alimentos. http://www.nutricion.org/publicaciones/pdf/prejuicios_y_verdades_sobre_grasas.pdf. Data de l'última consulta: 30/09/2010
- Ortoll U (2009). Determinación de los ácidos omega 3 EPA y DHA en aceites de pescado por cromatografía de gases con detector FID. Treball final de carrera dirigit pel Dr. Francesc Broto Puig i Eng. Lourdes Margarit Roig, realitzat a l'IQS
- Oterhals A, Solvang M, Nortvedt R, Berntssen MH (2007). Optimization of activated carbon-based decontamination of fish oil by response surface methodology. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109: 691-705
- Panchaud A, Avois L, Roulet M, Pilet M, Hug C, Saugy M, Decosterd LA (2005). A validated liquid chromatography–mass spectrometry method for the determination of leukotrienes B4 and B5 produced by stimulated human polymorphonuclear leukocytes. *Analytical Biochemistry* 341: 58–68
- Pham H (2006). *Handbook of Engineering Statistics*. Ed. Springer-Verlag, Berlin
- Reglament 1881/2006. Reglamento que fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diari Oficial de la Unió Europea*, L 364: 5-24
- Reglament 1883/2006. Reglamento que establecen métodos de muestreo y de análisis para el control oficial de los niveles de dioxinas y PCB similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios. *Diari Oficial de la Unió Europea*, L364: 32-43
- Reinoso F (2005). Carbon activado: estructura, preparación y aplicaciones. <http://www.ua.es/grupo/lma/web%20cyted/publicaciones/cyted%20librotallerV/II.3%20ORodriguez%20Reinoso.pdf>. Data de l'última consulta: 31/03/2011
- Rodríguez S, Tyreman D (2002). Carbó actiu: conceptes introductoris al tractament d'aigües residuals. Nota tècnica de Betaquímica, S.A., subministrada per la mateixa empresa
- Siamnathan (2011). www.siamnathan.com/index.php/en/component/content/article/86 Data de l'última consulta: 26/01/2011

Singla PK, Miura S, Hudgins RR, Silveston PL (1983). Pore development during carbonization of coals. *Fuel*, 62: 645-648

Sigma-Aldrich (1997). Amberlite XAD-2 Polymeric Adsorbent. www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Product_Information_Sheet/4802.P ar.0001.File.tmp/4802.pdf. Data de l'última consulta: 31/03/2011

Trinh KS, Nghiem XT, Do NK, Nguyen TT (2006). The adsorption efficiency of PCDDs/PCDFs from aqueous solution on activated carbons. *Organohalogen Compounds* 68:2341-2342

Tye H (2004). Application of statistical design of experiments methods in drug discovery. *Drugs discovery Today* 9: 485-491

Usydus Z, Szlinder-Richert J, Polak-Juszczak L (2009). Study on the raw fish oil purification from PCDD/F and dl-PCB-industrial tests. *Chemosphere*, 73: 1495-1501

Weaver C (1989). *Clays, muds, and shales*. Ed. Elsevier Science Publishing Company, Nova York.

4. ELIMINACIÓ DE COPs EN OLI DE PEIX MITJANÇANT
TÈCNIQUES FOTOQUÍMIQUES

4.1. Introducció

Per tal d'assolir el principal objectiu de la present tesi doctoral –l'eliminació de COPs en oli de peix amb finalitat alimentària- en aquest capítol s'ha estudiat la degradació de PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, DDTs i HCB mitjançant tècniques fotoquímiques.

Amb aquesta finalitat, en l'**apartat 4.2** es descriu el fonament teòric que suporta les diverses tècniques de degradació fotoquímiques existents, emprades posteriorment per l'eliminació dels COPs objecte d'estudi. En aquest apartat també s'ha inclòs una revisió bibliogràfica dels estudis de fotodegradació d'aquesta classe de contaminants realitzats amb anterioritat.

La part experimental del capítol s'introdueix en l'**apartat 4.3**, amb la descripció del fotorreactor utilitzat durant les proves de degradació de COPs. En aquest punt també s'hi han inclòs diverses proves prèvies realitzades amb aquest aparell, per tal de garantir l'efectiva irradiació dels analits. Aquestes han estat la comprovació de la nul·la adsorció de la radiació ultravioleta per part del material de quars utilitzat i la selecció del dissolvent més adequat per la degradació de COPs.

Inicialment, els estudis de degradació fotoquímica s'han dut a terme en dissolucions de patrons dels contaminants objecte d'estudi. La fotodegradació d'aquests analits s'ha realitzat a través de dues tècniques diferents; la fotocatalisi heterogènia a una longitud d'ona de 365 nm (**apartat 4.4**) i la fotodegradació a 254 nm (**apartat 4.5**). S'han realitzat diverses proves per determinar els mecanismes i equacions cinètiques d'eliminació dels COPs, així com la identificació dels subproductes que se'n generen.

Un cop s'han determinat les condicions experimentals més adequades per a l'eliminació de COPs en dissolvents orgànics, es procedeix a estudiar l'efecte de la seva fotodegradació en la matriu d'interès, l'oli de peix (**apartat 4.6**). Amb aquesta finalitat s'han irradiat mostres d'oli de tonyina refinat durant diversos temps d'exposició a la llum ultraviolada (UV), per tal d'observar la cinètica de degradació dels COPs en mostres reals. El capítol finalitza amb l'exposició de la bibliografia citada durant aquest estudi (**apartat 4.7**).

4.2. Fotodegradació de compostos orgànics

L'objectiu del present capítol és el desenvolupament de tècniques fotoquímiques capaces de degradar PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, DDTs i HCB. Un cop conegudes les condicions experimentals necessàries per a la fotodegradació de COPs, s'aplicarà el mètode per a la seva eliminació en oli de peix.

Les tècniques de fotodegradació de compostos orgànics més habituals són la fotocatalisi heterogènia i la degradació fotoquímica directa. A continuació es descriuen ambdues metodologies.

4.2.1. Fotocatalisi heterogènia

La fotocatalisi heterogènia és un procés basat en l'adsorció directa o indirecta de fotons de llum per part d'un sòlid, que habitualment és un semiconductor. Aquest tipus de sòlids es caracteritzen per tenir una banda de valència plena d'electrons, i una banda de conducció buida. El salt energètic entre ambdues bandes es denomina energia de banda prohibida. La radiació ultraviolada té una energia suficient com per promocionar els electrons a la banda de conducció, generant espais buits en la banda de valència.

Les reaccions fotocatalítiques d'oxidació o reducció tenen lloc en la interfase entre el sòlid excitat i la solució en que es troba, sense que el primer sofreixi canvis químics. En la interfase hi ha una densitat de càrrega local diferent a la del sí de la dissolució, produint-se un camp elèctric que actua com a font impulsora del procés de transferència de càrrega. Aquesta excitació del semiconductor pot ser generada per dues vies diferents:

- Per excitació directa del semiconductor, de manera que aquest és el que absorbeix els fotons emprats durant el procés.
- Per excitació inicial de molècules adsorbides en la superfície del catalitzador (fotosensibilitzadors), que a la vegada són capaces de transferir la càrrega elèctrica al semiconductor.

Per tant, un sistema fotocatalític consisteix en partícules de semiconductor suspeses en un dissolvent, que quan son il·luminades amb una radiació d'energia suficient (ja sigui llum solar o artificial) es fotoactiven, donant lloc a reaccions d'oxidació/reducció en la interfase. Aquest procés es troba esquematitzat en la *Figura 4.1*.

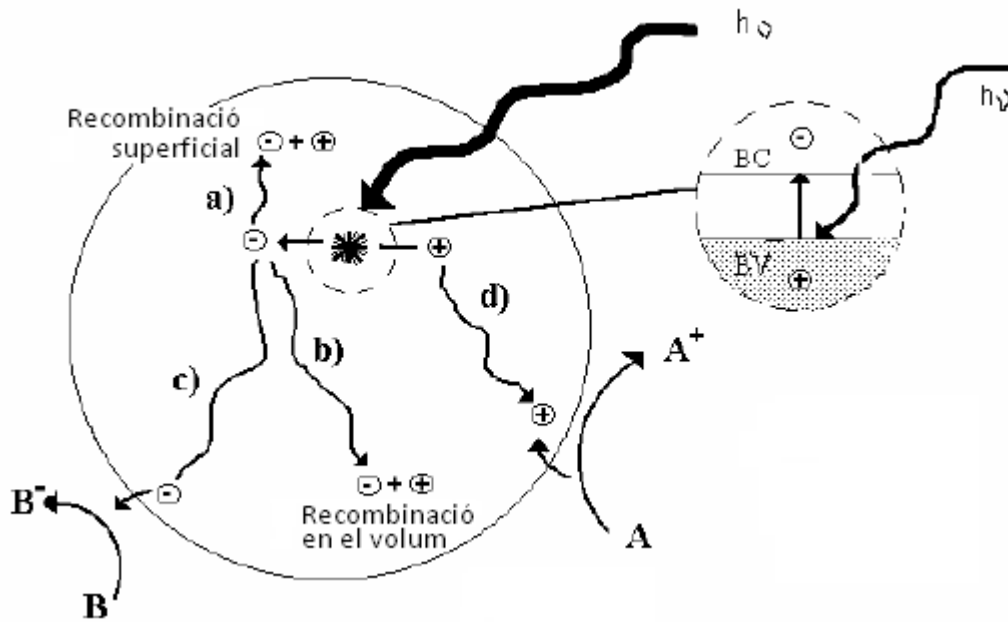


Figura 4. 1. Reaccions d'oxidació/reducció en la superfície del semiconductor, segons Mills i Hunte (1997).

La vida mitja del parell electró/buit és de l'ordre dels nanosegons. Durant aquest temps, les càrregues generades han de desplaçar-se fins la superfície exterior del semiconductor i reaccionar amb els compostos en dissolució, donant reaccions d'oxidació (procés d de la *Figura 4.1*) o reducció (procés c). Els parells d'electró/buit que no aconsegueixen separar-se ni reaccionar amb d'altres espècies químiques es recombinen entre ells i l'energia es dissipa. Aquest fenomen es pot donar tant al sí de la partícula (procés b) com a la superfície (procés a). El procés net és la catàlisi de la reacció entre el reductor A i l'oxidant B, regenerant-se el catalitzador (Mills i Hunte, 1997).

Existeixen diversos materials amb propietats idònies per actuar com a fotocatalitzadors, com són el TiO_2 , ZnO , CdS , ZnS , WO_3 o diversos òxids de ferro. Aquests materials són econòmicament assequibles, i molts d'ells participen en processos químics en la natura. A més, poden ser excitats amb radiació de no molt alta energia, com la de la llum del sol que incideix a la superfície terrestre ($\lambda > 310 \text{ nm}$).

Un dels fotocatalitzadors més emprats és el TiO_2 , ja que té una elevada activitat, fotoestabilitat, és barat i no és tòxic. Aquest sòlid es un cristall que es pot trobar empaquetat de tres formes diferents, totes elles existint en la naturalesa: rutil, anatasa i broquita (*Figura 4.2*).

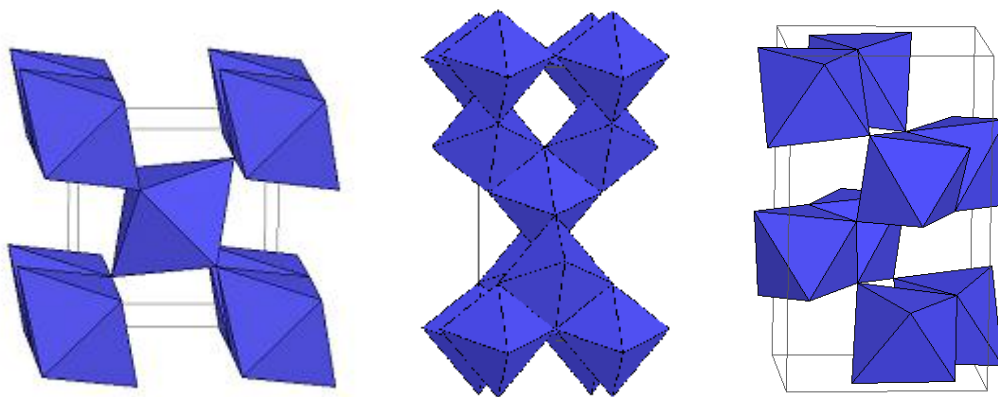


Figura 4. 2. Estructures cristal·lines del TiO₂: Rutil (esquerra), anatasa (centre) i broquita (dreta).

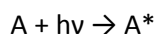
El rutil és l'estructura cristal·lina més comuna del TiO₂, amb coordinació octaèdrica. En l'anatasa i la broquita aquests octaedres es troben molt distorsionats, degut a que els àtoms d'oxigen es troben molt a prop els uns dels altres. En la naturalesa el TiO₂ acostuma a ser de color fosc degut a la presència d'impureses de ferro. Quan és pur, en canvi, és un sòlid de color blanc.

L'activitat fotocatalítica d'aquests catalitzador es veu afectada pel tipus de cristall i la mida de partícula, però es sol activar amb radiacions de longituds d'ona inferiors a 387 nm. En aquestes condicions, en dissolucions aquoses pot reaccionar amb l'aigua per generar radicals hidroxil (OH·), que alhora degraden la matèria orgànica en dissolució per oxidació.

Per dur a terme la degradació de COPs mitjançant tècniques fotocatalítiques, en aquest estudi s'ha emprat el TiO₂ comercialitzat per Degussa (P-25). Aquest catalitzador està format per un 75% d'anatasa i un 25% de rutil, presenta una superfície específica de 50 m²/g i una mida de partícula elemental de 85 nm per l'anatasa i 25 nm pel rutil (Ohno *et al.*, 2003).

4.2.2. Fotodegradació de molècules orgàniques

La llum pot ser absorbida per àtoms o molècules quan aquesta té una longitud d'ona d'energia determinada. Pel cas dels compostos orgànics, aquesta absorció de radiació pot fer promocionar els electrons de l'orbital molecular ocupat més energètic (HOMO) a l'orbital molecular desocupat de menor energia (LUMO), passant de l'estat fonamental de la molècula a un estat excitat més energètic, segons la següent fórmula:



on A és l'estat fonamental, hv la radiació absorbida i A* l'estat excitat de la molècula. Aquest nou estat molecular pot ser considerat un compost químic nou, amb estructura i propietats químiques diferents a les de l'estat fonamental. Es tracta de compostos menys estables i més reactius (Wagner, 1967).

Per tal de generar aquesta promoció electrònica HOMO → LUMO, l'energia del fotó incident ha de ser igual a la que separa ambdós orbitals. En molts casos, el valor d'aquest salt energètic és del mateix ordre de magnitud que l'energia dels enllaços moleculars. A tall d'exemple, un mol de fotons a una longitud d'ona de 300 nm té una energia de 399 kJ, mentre que l'enllaç Br-Br és de 190 kJ/mol, o el de C-H del metà és de 416 kJ/mol.

Per tant, l'augment energètic que sofreix una molècula que absorbeix un foto amb la longitud d'ona adequada no és de cap manera negligible, sent capaç de trencar els enllaços d'aquesta. Que la molècula s'acabi degradant o no dependrà, en molts casos, de processos interns de desactivació o dissipació de l'energia guanyada, fent vibrar, estirant o torçant els enllaços covalents d'aquesta (Bertran *et al.*, 2002).

Pel cas dels compostos orgànics aromàtics -com és el cas de la majoria de COPs- la primera transició electrònica es dona lloc a una longitud d'ona entorn als 247 nm, energia necessària perquè un electró de l'orbital molecular π (HOMO) sigui promoció a l'estat excitat π* (LUMO) (Bunce *et al.*, 1978). A través d'aquesta transició electrònica s'obté el compost en estat excitat de singlet, on l'electró promoció ha canviat d'orbital molecular conservant el seu espín electrònic.

Tot i així, s'ha demostrat que per aquest tipus de molècules aromàtiques les reaccions es donen amb el seu estat de triplet (l'electró promoció canvia d'espín), provinent d'una interconversió entre sistemes del seu estat excitat de singlet (Ruzo *et al.*, 1973).

Pel cas dels compostos aromàtics halogenats, les reaccions fotoquímiques que es solen donar són de pèrdua dels grups halogen per trencament homolític dels enllaços C-X (X=Cl, Br, I).

En la *Figura 4.3* es descriu el mecanisme de fotodegradació del PCB-47 en hexà (Ruzo *et al.*, 1974). En ella el PCB capta un fotó per passar a tenir estructura de singlet excitat ${}_1[1]^*$. Aquesta, a través d'una conversió entre sistemes (isc), passa a estructura de triplet excitat ${}_3[1]^*$. És en aquesta configuració quan es trenca un dels enllaços C-Cl homolíticament, quedant-se un electró de l'enllaç en el PCB· i l'altre en el Cl·. Aquests radicals reaccionen amb l'hexà per donar el PCB-28 i àcid clorhídric.

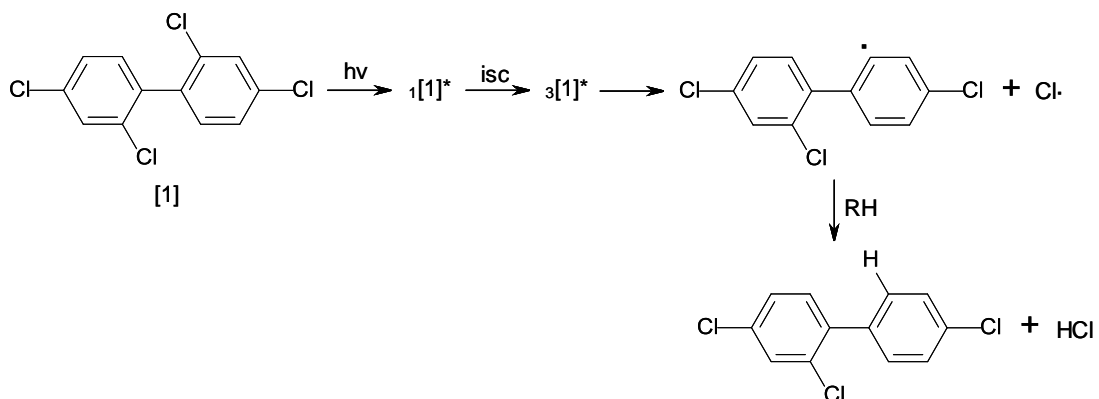


Figura 4. 3. Mecanisme de fotodegradació del PCB-47 en hexà segons Ruzo *et al* (1974).

4.2.3. Estudis de fotodegradació previs

Existeix un elevat nombre de publicacions en el camp de la fotodegradació de COPs. Un dels principals problemes observats durant la cerca bibliogràfica respecte a aquest tema, però, ha estat la poca homogeneïtat de les condicions experimentals dels diferents estudis previs.

Primerament, les publicacions existents anteriors a aquest estudi tenien com a objectiu la degradació fotoquímica de només una de les diverses famílies de COPs (ja siguin PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, DDTs o HCB). Com que les condicions de fotodegradació no eren les mateixes entre els estudis, la comparació dels resultats entre famílies de contaminants era impossible. Principalment, els estudis es dividien segons els següents criteris:

- Alguns estudis degraden els COPs dipositats en la superfície d'un film, mentre que d'altres ho fan en dissolució.
- Certs estudis degraden els contaminants per fotocàlisi, i d'altres ho fan per degradació fotoquímica directa amb longituds d'ona més energètiques.
- Les fonts de radiació són totes diferents, tant pel que fa a la forma del fotorreactor com per les longituds d'ona/tipus de làmpada.
- Els dissolvents i concentracions dels patrons emprats.

Un dels principals objectius d'aquest apartat, doncs, és l'estudi de la fotodegradació de COPs en condicions experimentals reproduïbles entre les diferents famílies, per així poder-ne comparar els resultats obtinguts.

Les *Taules 4.1* i *4.2* resumeixen les condicions experimentals i els resultats obtinguts dels diferents estudis de fotodegradació previs.

Taula 4. 1. Estudis de fotodegradació de COPs previs (1).

Contaminant degradat	Referència	λ (nm)	Dissolvent / suport	Font d'irradiació	Resultats	Mecanisme de degradació suggerit
PCBs	Miao et al., 1999	254/300	Hexà	Làmpada de Hg (300W)	Degradació dels congèneres en d'altres de menys grau de cloració. Posició dels clors en la molècula influeix en la seva degradació. Reactivitat <i>orto</i> > <i>meta</i> > <i>para</i>	Decloració
	Izadifard et al., 2008	254	2-propanol	Làmpada de Hg	Degradació observada	Decloració homolítica Decloració per transferència d'electrons
	Hawari et al., 1991	300-254	Metil siliconat de sodi	Làmpada UV	Degradació observada	
	Baron i Torger, 2005	280-320	Mostres d'oli de peix	Làmpada UV	Degradació observada però dificultada per l'efecte matriu. Fotoproductes molt inestables	Varis mecanismes simultanis
PCDD/Fs	Colombini et al., 1996	310-269	Hexà	Làmpada de Xe (1000W)	Degradació observada Els dissolvents apròtics dificulten la fotodegradació	Decloració Ruptura de l'enllaç C-O
	Koshioka et al., 1990	199.8-397.9	1,4 dioxà	Làmpada de Xe	Degradació observada Màxima degradació a 252.6 nm i 305-352 nm	
	Koshioka et al., 1990	199.8-397.9	1,4 dioxà	Làmpada de Xe Llum solar	Degradació observada. Comparació en diferents èpoques de l'any Llum solar en l'estiu màxima degradació	
	Konstantinov et al., 2000	254/300	Hexà	Làmpada de Hg	Degradació observada Fotoproductes: hidroxidifenil èters clorats Fotocatàlisi. TiO ₂ catalitzador més efectiu.	Ruptura de l'enllaç C-O
	Wu et al., 2004		Dipositat en film	Làmpada de Hg (400W)	Degradació observada. Les substitucions de Cl influeixen en la selectivitat del procés. Menor rendiment en augmentar el grau de cloració.	Ruptura de l'enllaç C-O
	Minghui et al., 1996	250-315	Cloroform	Làmpada de Hg	Degradació observada molt ràpidament	Ruptura de l'enllaç C-O

Taula 4. 2. Estudis de fotodegradació de COPs previs (2).

Contaminant degradat	Referència	λ (nm)	Dissolvent / suport	Font d'irradiació	Resultats	Mecanisme de degradació suggerit
PCDD/Fs	Baron i Torger, 2005	280-320	Mostres de peix	Làmpada UV	Degradació observada	Decloració Obertura de l'anell
	Kim, 2000	300	Acetonitril/ aigua aigua	Làmpada de Hg	Degradació observada El rendiment de la degradació de PCDD és més elevat en aigua que en la mescla ACN/aigua. Per a PCDF és a la inversa	Decloració però no és el mecanisme majoritari
	Hung i Ingram, 1990	295-350	Mescles de dissolvents amb hexà	Làmpada de Hg (125W)	Degradació observada. La fotòlisi ocorre més ràpidament en dissolvents donadors d'H	Decloració
	Isosaari et al., 2004		Mostres de sòl	Llum solar	Degradació observada	
PBDEs	Xie et al., 2009	365	THF	Làmpada de Xe (500W)	Deca-BDE es degrada en congèneres de baix grau de bromació	Debromació
	Zeng et al., 2008	254	Isooctà	Làmpades UV (254 nm)	Degradació observada Les entalpies de formació són més elevades per als congèneres més bromats i més també en els que presenten Br en posicions orto	Debromació Possible trencament enllaç èter
	Fang et al., 2008	< 290	Hexà	Làmpada de Hg (500W)	Degradació observada El rendiment de la fotodegradació depèn del grau de bromació. Broms en posició <i>orto</i> presenten més fotoreactivitat que aquells en posició <i>meta</i>	Debromació
	Sanchez-Prado et al., 2005		Aigua	Làmpada de Hg (18W)	Degradació observada Formació de polibromo-dibenzofurans	Debromació Ciclació intramolecular
HCB	Yamada, et al., 2008	254	Hexà, isopropanol, metanol	Làmpada de Hg	Degradació observada Es trenca l'enllaç C-Cl més dèbil	Decloració
DDTs	Hong, et al., 1997	254	Aigua	Làmpada de Hg	Degradació observada Per al cas de DDT s'observa DDE i DDD com a productes de fotodegradació	

4.3. Proves prèvies

Abans de procedir a estudiar la fotodegradació de COPs, és necessari dur a terme certes proves prèvies amb l'aparell emprat per irradiar les mostres (fotorreactor), així com estudiar algunes de les condicions experimentals del procés que poden afectar als resultats. D'aquesta manera es pot garantir una irradiació efectiva de les mostres posteriorment tractades.

En aquest apartat es descriuen les característiques tècniques del fotorreactor que s'ha fet servir en el present estudi. També s'ha comprovat empíricament que ni el material de quars ni els dissolvents emprats absorbeixen la radiació UV emesa pel reactor fotoquímic, creant un efecte d'apantallament en l'exposició dels analits a la llum.

4.3.1. El reactor fotoquímic

El fotorreactor que s'ha fet servir durant aquest estudi es tal i com es representa esquemàticament en la *Figura 4.4*.

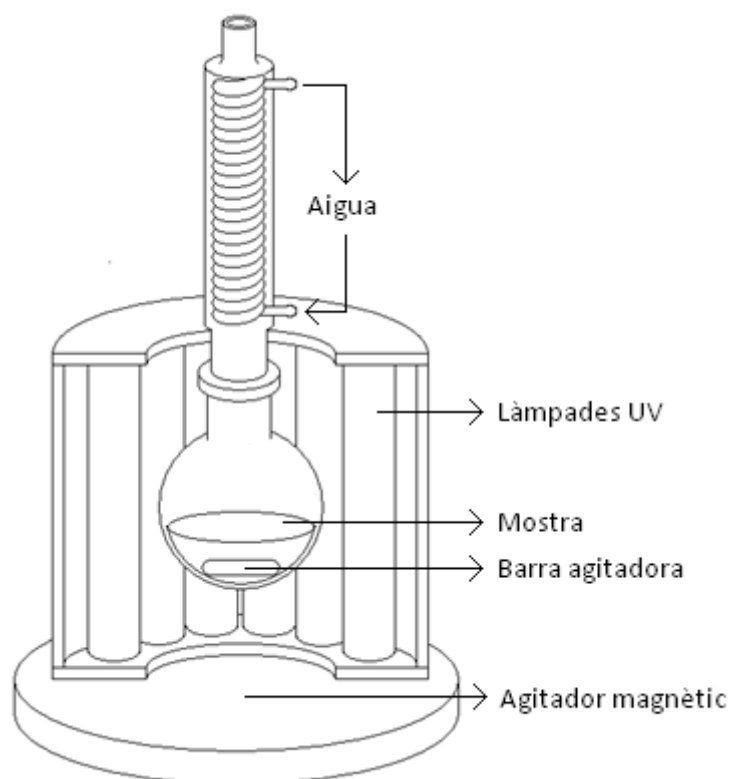


Figura 4. 4. Reactor fotoquímic.

Es tracta d'un cilindre metàl·lic amb obertures superiors i inferiors, per tal d'oferir la possibilitat de treballar en continu. En el seu interior conté setze làmpades de 4 watts cada una (potència total de irradiació màxima: 64W). Aquestes làmpades poden ser substituïdes fàcilment per d'altres amb una longitud d'ona diferent. En aquest estudi se n'han fet servir de dos tipus: làmpades de 365 nm i de 254 nm.

El fotorreactor està equipat amb un selector de potència que permet la possibilitat de treballar independentment amb 4, 8, 12 o 16 làmpades, que es corresponen amb unes potències d'irradiació de 16, 32, 48 i 64 W, respectivament. Per tal d'evitar el sobreescalfament de les mostres tractades per absorció de la llum UV, el cilindre té unes perforacions laterals per on – mitjançant un ventilador – es permet la refrigeració del seu interior amb un corrent d'aire fred.

Pel que fa a l'equipament de vidre, les mostres a tractar són introduïdes en un matràs de quars de fons rodó de 125 ml. Aquest va connectat a un refrigerant, que evita que el dissolvent s'evapori en cas de que les mostres s'escalfin pel tractament UV, modificant així la seva concentració real. Finalment, el sistema és agitat magnèticament, per tal de garantir l'homogeneïtat de la radiació de la alíquota tractada fotoquímicament.

4.3.2. Absorció del material de quars

El primer estudi que s'ha realitzat amb el reactor fotoquímic ha estat la comprovació empírica que el material emprat durant el procés de fotodegradació no absorbeix la radiació de 365 nm, que és la longitud d'ona amb la que s'han realitzat les experiències de degradació fotoquímiques inicials. Per aquest motiu s'ha emprat material de quars, doncs el vidre no és transparent en la regió espectral de l'ultraviolat.

Per tal de realitzar aquesta comprovació s'ha estudiat la fotodegradació del *p*-clorofenol. Aquest compost és fotosensible, i en dissolució aquosa pot ser degradat al ser exposat a una radiació de 365 nm i la presència de TiO₂ com a catalitzador (Yang *et al*, 2009).

Per tal de dur a terme l'experiència, s'ha pres una alíquota de 50 ml d'una dissolució aquosa de *p*-clorofenol a una concentració de 1.6 g/L. S'hi ha afegit TiO₂ fins assolir una concentració de 1 g/L, i s'ha mantingut durant 15 minuts a l'abric de la llum, per tal de que el solut arribi a l'equilibri de adsorció/desorció a la superfície del catalitzador.

Passat aquest temps, es pren una alíquota de 2 ml (que es correspondrà amb la concentració de *p*-clorofenol inicial) i es separa el sòlid mitjançant un filtre d'HPLC de 0.45 µm de mida de porus i 25 mm de diàmetre. Posteriorment es comença a irradiar la mostra en agitació amb el fotorreactor, a una longitud d'ona de 365 nm i emprant les 16 làmpades (64 W). S'ha continuat prenent alíquotes durant els següents 350 minuts, filtrant-les immediatament per tal d'evitar una reabsorció de l'analit sobre el TiO₂.

En aquest cas, l'anàlisi de la concentració de *p*-clorofenol en cada una de les alíquotes al llarg del temps s'ha realitzat mitjançant un espectrofotòmetre, aprofitant l'absorció d'aquesta molècula en la regió de l'ultraviolat. Prèviament a l'anàlisi en sí, però, ha estat necessari determinar la longitud d'ona en que aquest analit té una absorció màxima, per tal d'augmentar la sensibilitat del instrument.

Amb aquesta finalitat s'ha mesurat l'absorbància d'una mostra no tractada de *p*-clorofenol (1.6 g/L) en les longituds d'ona compreses entre 250 i 650 nm (regió UV-VIS). L'espectre d'absorbància es mostra en la *Figura 4.5*.

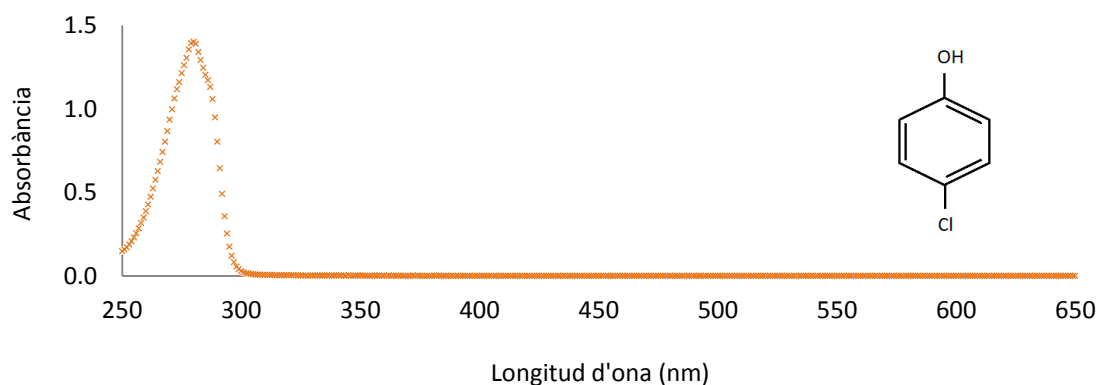


Figura 4. 5. Espectre d'absorbància del *p*-clorofenol.

Tal i com es coneixia, aquest compost absorbeix en la regió de l'UV, amb un màxim d'absorbància als 279 nm. Es farà servir aquesta longitud d'ona per l'estudi de la fotodegradació del *p*-clorofenol.

Així doncs, s'ha mesurat l'absorbància de cada una de les mostres tractades fotoquímicament, per determinar-ne la seva concentració. L'evolució de la degradació del *p*-clorofenol al llarg del temps es pot observar en la següent figura (Figura 4.6).

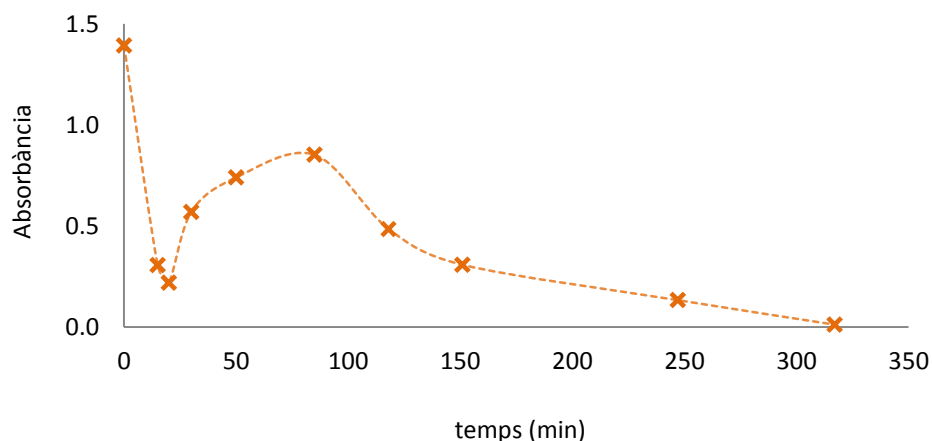


Figura 4. 6. Absorbància del *p*-clorofenol a 279 nm respecte al temps d'exposició a la llum UV.

En el gràfic es pot observar com durant el primer tram (minuts 0-20) la concentració de l'analit disminueix dràsticament, degut a l'adsorció d'aquest a la superfície del catalitzador. Posteriorment (minuts 20-85) l'absorbància de la mostra augmenta degut a la desorció del *p*-clorofenol del TiO₂, afavorida per l'increment de temperatura causada per la calor que desprenen les làmpades. Finalment, en el tercer tram del gràfic (minuts 85-317) s'observa el procés de fotodegradació de l'analit en qüestió, disminuint l'absorbància amb el temps.

Aquest experiment ha demostrat que el material de quars emprat en aquest estudi no absorbeix la radiació ultraviolada, ja que el *p*-clorofenol es fotodegrada tal i com es troba descrit en la bibliografia existent (Huang *et al.*, 1996).

4.3.3. Absorció dels dissolvents

Com s'ha exposat anteriorment, durant les primeres proves s'ha treballat amb dissolucions de patrons de COPs en dissolvents orgànics, per tal d'estudiar els seus mecanismes de degradació. Un factor que podria afectar en el correcte funcionament del fotorreactor seria l'elecció de un dissolvent que no fos transparent a la longitud d'ona de treball, absorbint la radiació UV destinada a degradar els analits.

Per aquest motiu s'ha estudiat l'espectre d'absorció de diversos dissolvents orgànics, per tal de determinar quins d'ells són aptes per les posteriors proves de fotodegradació, al no ser absorbents en la longitud d'ona de treball. Els dissolvents seleccionats han estat l'hexà, l'isooctà i el toluè. La *Figura 4.7* en mostra els seus espectres d'adsorció.

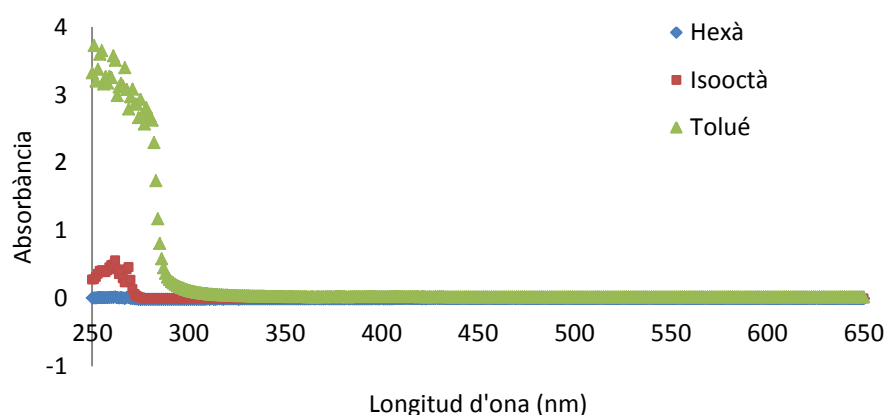


Figura 4. 7. Espectres d'absorció de l'hexà, isooctà i toluè.

Tal i com es pot observar la figura, cap dels dissolvents estudiats absorbeix en la longitud d'ona de treball inicial, 365 nm. Tot i així, el toluè sí que presenta una elevada absorció entorn la zona de 254 nm, que és una longitud d'ona que es pretén estudiar més endavant. Per aquest motiu no és recomanable l'ús del toluè com a dissolvent per a l'estudi de fotodegradació de COPs.

4.4. Degradació fotocatalítica de COPs a 365 nm

Un cop s'ha verificat el correcte funcionament del fotorreactor en les condicions de treball inicials, es procedeix a estudiar la degradació fotoquímica dels COPs en dissolvents orgànics.

Inicialment, en aquest apartat s'ha estudiat la degradació fotoquímica dels contaminants objecte d'estudi emprant longituds d'ona menys energètiques: a 365 nm mitjançant TiO₂ com a fotocatalitzador heterogeni. D'acord amb les conclusions a les que s'ha arribat en l'apartat de proves prèvies anterior, les primeres proves de fotodegradació s'han realitzat emprant isooctà com a dissolvent.

4.4.1. Fotodegradació de PCBs indicadors en isooctà

La primera família de contaminants que s'ha estudiat ha estat la dels PCBs indicadors. Amb aquesta finalitat s'ha preparat una dissolució dels 7 PCBs habituals d'estudi (PCB-28, -47, -52, -101, -118, -153, -138, -180) de 10 ng/ml en isooctà.

El procediment experimental consisteix en la presa d'una alíquota d'aquesta dissolució de 20 ml, a la qual s'hi afegeix el catalitzador en el matràs de fons rodó de quars. En aquest cas, l'estudi s'ha dut a terme amb dues concentracions de catalitzador diferents (1.0 i 1.5 g/L), doncs es coneix que aquest paràmetre pot tenir influència en el procés de fotodegradació (Huang et al., 1996). Posteriorment, s'introdueix la mostra al fotorreactor, que es manté apagat.

Per a la presa de l'alíquota inicial (temps d'irradiació = 0), s'extreuen 250 µl de la dissolució amb una microxeringa calibrada, al cap de 20 minuts d'agitació sense haver engegat l'aparell. D'aquesta manera s'assegura que els analits es troben en equilibri d'adsorció amb el TiO₂. Posteriorment s'engega el fotorreactor, treballant a la màxima potència d'aquest (16 làmpades, 64W), i es van retirant alíquotes de 250 µl cada cert temps. Per al primer experiment s'ha irradiat la mostra de PCBs indicadors entorn a 10 hores.

És important que un cop presa cada una de les mostres, aquestes siguin filtrades per tal de separar el catalitzador, i així evitar fenòmens indesitjables de readsorció en el sòlid. Posteriorment a cada una de les alíquotes s'hi afegeixen 30 ml de TCN (3 µg/ml) com a patró d'injecció. Finalment, cada una de les alíquotes és analitzada directament per HRGC-ECD d'acord amb els mètodes cromatogràfics descrits en el capítol 2 de la present tesi doctoral.

La *Figura 4.8* mostra els resultats per a la degradació fotoquímica del sumatori de tots els PCBs indicadors al llarg del temps.

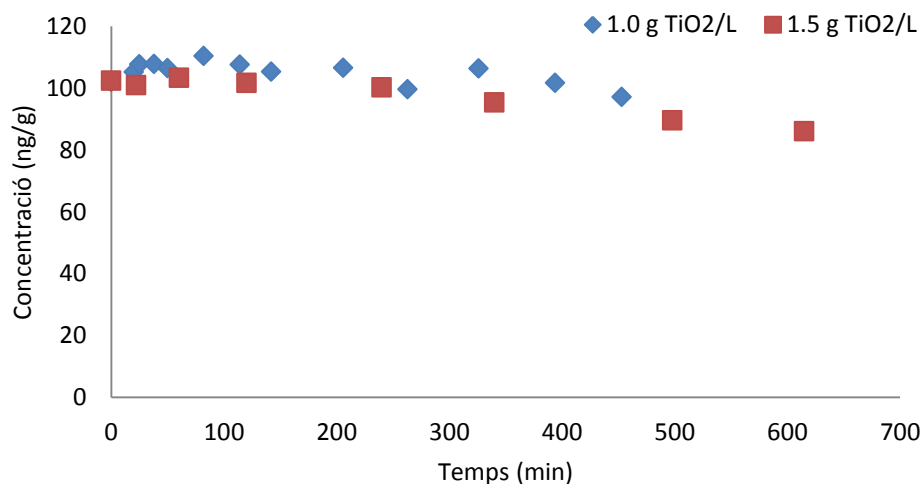


Figura 4. 8. Fotodegradació de PCBs indicadors a 365 nm.

Com es pot observar en la figura, per perllongats temps d'exposició sembla haver-hi una lleugera disminució de la concentració de PCBs, però molt poc significativa en ambdós casos.

Emprant 1 g/L de catalitzador només es va obtenir una degradació del 5% de la concentració inicial a les 7.5 hores d'irradiació. En el següent experiment es va incrementar la concentració de TiO₂ fins a 1.5 g/L, i també es va augmentar el temps d'exposició a la llum ultraviolada fins a 10 hores. Els resultats van seguir la mateixa tendència, tot i que l'eliminació del total de PCBs va arribar fins al 16% en aquestes condicions. Així doncs, sembla ser que la proporció de catalitzador augmenti lleugerament el rendiment de la reacció, tot i que segueixen sent força baixos.

Respecte a degradació de cada un dels diferents congèneres, no es va observar cap tipus de selectivitat especial en la fotodegradació per cap d'ells, seguint tots la mateixa tendència. Tampoc es van observar fenòmens de formació a partir d'altres congèneres degradats.

Els resultats d'aquesta primera prova de degradació fotocatalítica de PCBs indicadors a 365 nm no han estat del tot satisfactoris, degut a la poca eficàcia del procés d'eliminació.

4.4.2. Fotodegradació de PCBs indicadors en diversos dissolvents

S'ha observat bibliogràficament que el dissolvent en el qual es porten a terme les reaccions de degradació fotocatalítica és un factor que pot tenir una elevada importància en les cinètiques d'eliminació de COPs (Taules 4.1 i 4.2)

Com que els resultats experimentals de fotodegradació de PCBs indicadors en isooctà no han estat satisfactoris, s'ha decidit estudiar aquest mateix procés en altres tipus de dissolvents orgànics: cloroform, isooctà-etanol 1:1 i isooctà-aigua 1:1.

Fotodegradació de PCBs indicadors en cloroform

S'ha seleccionat aquest dissolvent per diversos motius. Primerament, perquè existeixen estudis que demostren que és possible degradar fotoquímicament COPs –en aquest cas PCDD/Fs- en cloroform (Minghui et al., 1995).

A part, és un dissolvent químicament molt diferent de l'isooctà (el cloroform és un compost clorat mentre que l'isooctà és un hidrocarbur) i per aquest motiu pot tenir un efecte molt diferent en el procés de fotodegradació.

El procés d'irradiació de la mostra amb el reactor fotoquímic i la presa d'alíquotes s'ha realitzat de forma anàloga a l'estudi amb isooctà. La quantitat de catalitzador emprada en aquest cas ha estat de 1.5 g/L, i la concentració inicial dels PCBs indicadors de 10 ng/ml..

Malauradament, els resultats obtinguts en aquestes condicions experimentals no han estat els desitjats, ja que el cloroform s'ha degradat (*Figura 4.9*).

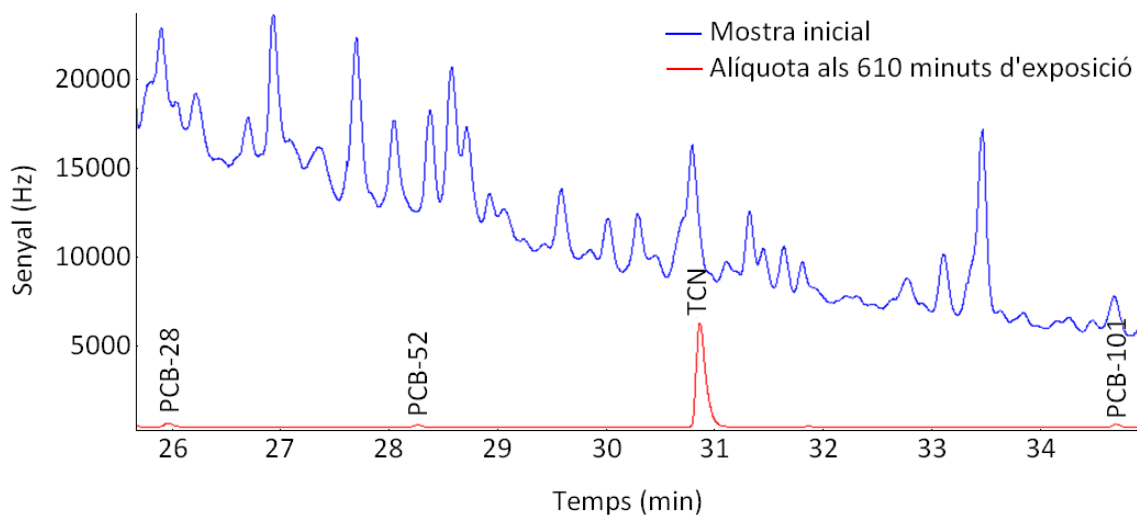


Figura 4. 9. Cromatograma de mostra la degradació fotoquímica de PCBs indicadors en cloroform.

El fet de que el dissolvent s'estigui degradant té una doble connotació negativa; per una banda significa que el procés de irradiació no és efectiu, ja que s'està fent servir l'energia aportada al sistema per degradar el cloroform en lloc dels analits.

Per altra banda, els productes de degradació del dissolvent –que és clorat i per tant dona resposta en el detector de captura d'electrons- interfereixen cromatogràficament amb els PCBs, fet que dificulta la seva anàlisi.

Per aquests motius, la fotodegradació dels PCBs indicadors en cloroform tampoc és un procés efectiu.

Fotodegradació de PCBs indicadors en isooctà-etanol 1:1 i isooctà-aigua 1:1

Tal i com es comenta en l'apartat 4.2.3, el TiO₂ pot degradar diversos compostos orgànics per dues vies catalítiques diferents; la degradació directa dels analits adsorbits a la seva superfície o la degradació indirecta a través de la formació de radicals hidroxil.

Fins ara s'ha treballat en medis que només permetien la degradació directa dels analits, ja que per la seva estructura molecular no són possibles fonts d'hidroxils. Per tal d'investigar la degradació de PCBs indicadors segons aquesta segona via s'han emprat com a dissolvents mesclades 1:1 d'isooctà-aigua i isooctà-etanol, que són possibles precursors dels radicals desitjats. S'han emprat mesclades amb isooctà ja que l'aigua i l'etanol són dissolvents massa polars per dissoldre aquest tipus de contaminants per sí sols.

Novament, el procés d'irradiació de les mostres i presa d'alíquotes s'ha dut a terme de la mateixa forma que en l'apartat anterior, amb 1.5 g/L de catalitzador. Pel cas de la mescla isooctà-etanol, la *Figura 4.10* compara els cromatogrames de la dissolució inicial (10 ng/ml) amb la mostra corresponent als 430 minuts de tractament amb llum UV.

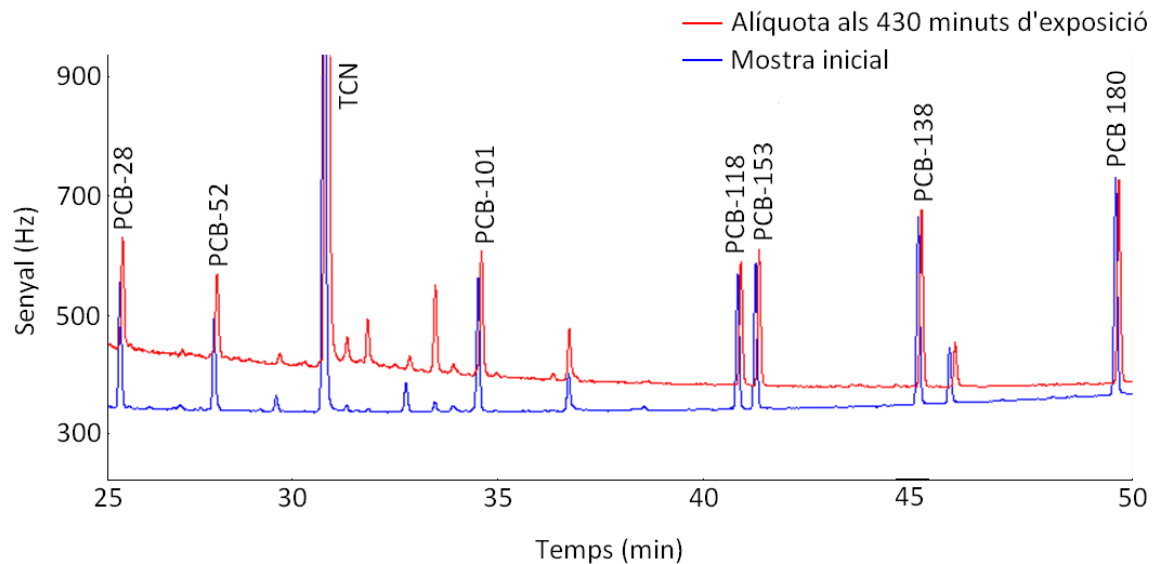


Figura 4. 10. Cromatogrames corresponents de la dissolució de PCBs indicadors en isooctà-etanol 1:1 abans i després de l'irradiació.

Tal i com es pot observar en el cromatograma, en isooctà-etanol no hi ha hagut una eliminació significativa dels PCBs indicadors quan aquests són irradiats durant més de 7 hores a la potència màxima del fotorreactor. Per altra banda, la degradació que s'ha observat al llarg del temps d'irradiació quan s'empra isooctà-aigua com a dissolvent és la que es mostra en la *Figura 4.11*.

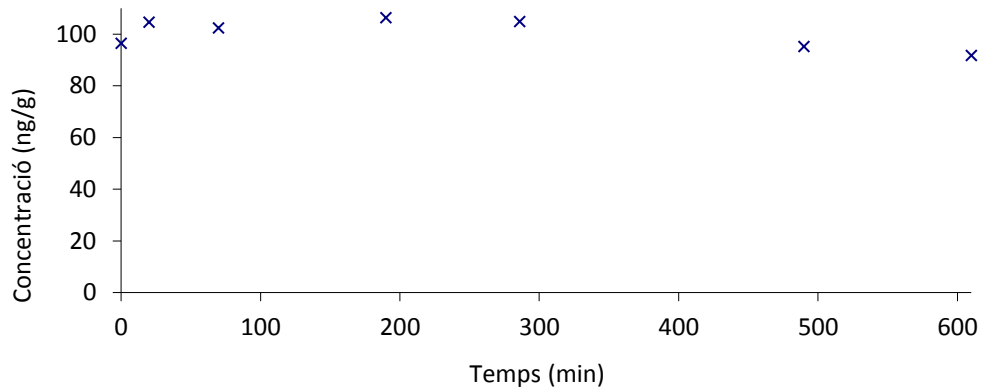


Figura 4. 11. Degradació de PCBs indicadors en isooctà-aigua 1:1.

En la figura es pot observar que en aquestes condicions experimentals la degradació fotoquímica del total de PCBs tampoc és significativa, havent-se eliminat només un 5% de la seva concentració inicial al cap de 610 minuts de tractament quan es treballa a la màxima potència del fotorreactor.

D'aquest apartat es pot concloure que en cap de les condicions experimentals provades ni dissolvents emprats s'ha aconseguit degradar els PCBs indicadors de forma destacable. Tot i així, els millors resultats d'eliminació obtinguts han estat fent servir isooctà com a dissolvent, amb 1.5 g/L de TiO₂ com a catalitzador. En aquestes condicions, s'ha eliminat un 16% de la concentració inicial al cap de 10 hores de tractament a la màxima potència del fotorreactor.

Per aquest motiu, enlloc de continuar estudiant la degradació fotocatalítica a 365 nm de la resta de COPs objecte d'estudi (PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines, PBDEs, DDTs i HCB) s'ha cregut més convenient passar directament a treballar a longituds d'ona més energètiques.

Aquests resultats es poden trobar expressats amb major grau de detall en l'annex de la present tesi doctoral.

4.5. Fotodegradació de COPs a 254 nm

En l'anterior estudi s'ha observat que la degradació fotoquímica de PCBs indicadors a una longitud d'ona de 365 nm no és suficientment efectiva. Per aquest motiu, en el present apartat s'estudia la fotodegradació dels COPs a unes condicions d'irradiació més energètiques, a una longitud d'ona de 254 nm.

Emprant aquesta longitud d'ona no és necessari l'ús de fotocatalitzador, doncs és suficientment energètica com per degradar directament els compostos orgànics (Zeng et al., 2008; Yamada et al., 2008). El dissolvent seleccionat per a dur a terme les experiències ha estat l'hexà, ja que és un dels medis més utilitzats en els estudis previs (*Taules 4.1 i 4.2*), i s'ha comprovat experimentalment en l'apartat 4.3.3 que no absorbeix a aquesta longitud d'ona (*Figura 4.7*).

Durant les proves realitzades de forma independent per a cada una de les famílies de COPs, s'ha adequat la potència i temps d'irradiació a la resistència a la fotodegradació de cada grup. El procés d'irradiació i presa de mostra s'han dut de forma anàloga a l'apartat anterior, substituint les làmpades de 365 nm del fotorreactor per làmpades de 254 nm i sense la necessitat de filtrar les alíquotes degut a l'absència de catalitzador.

Per a l'anàlisi de PCBs indicadors, PCBs similars a dioxines, DDTs i HCB s'ha fet servir el TCN com a patró d'injecció (20 µl de una concentració de 30 µg/ml). Pel cas de PCDD/Fs i PBDEs – que tenen un temps de retenció en el cromatògraf més elevat- s'ha fet servir Dechlorane[®] (10 i 20 µl respectivament, a una concentració de 3 µg/ml). L'anàlisi cromatogràfica s'ha dut a terme segons els mètodes instrumentals desenvolupats en el capítol 2 de la present tesi doctoral.

A continuació s'exposen els resultats obtinguts per a cada una de les famílies de COPs estudiades. Per a informació més detallada sobre els processos d'eliminació per degradació fotoquímica, consultar l'Annex de la present tesi doctoral.

4.5.1. Fotodegradació de PCBs indicadors a 254 nm

Per tal de dur a terme aquest estudi es prepara una dissolució inicial de 10 ng/ml dels congèneres PCB-28, -52, -101, -118, -153, -138 i -180 en hexà.

Degut a l'elevada resistència a la fotodegradació mostrada per part d'aquesta família de COPs en l'apartat anterior, es decideix treballar inicialment a la màxima potència del fotorreactor (16 làmpades, 64 W), i a partir dels resultats observats ajustar millor les condicions experimentals en les proves posteriors.

Així doncs, en la primera experiència s'han irradiat 40 ml de la dissolució durant 9.5 hores, prenent alíquotes a les 4 hores d'exposició a la llum UV i al final de l'experiment. Els cromatogrames corresponents a aquestes mostres es poden observar en la *Figura 4.12*.

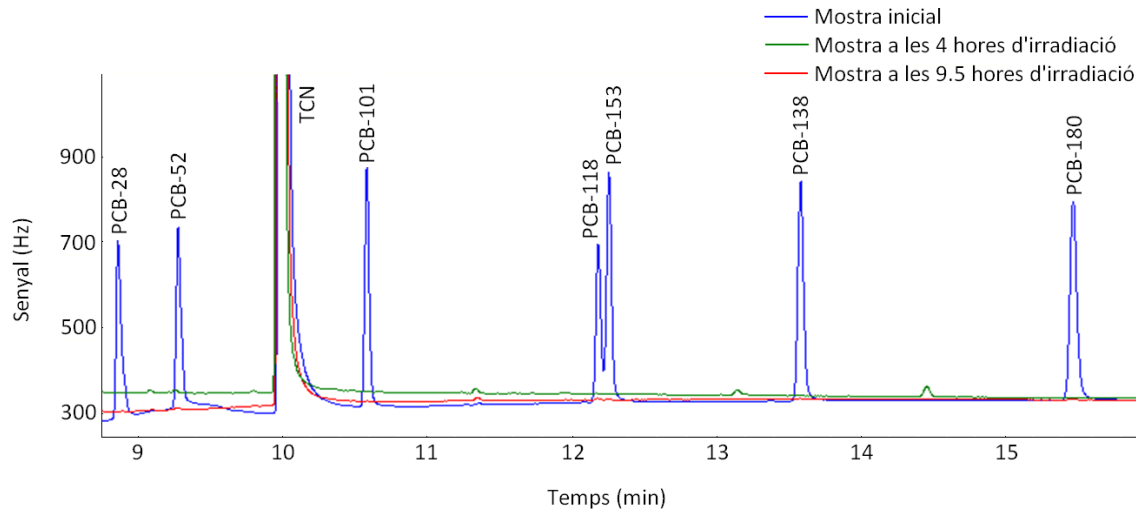


Figura 4. 12. Cromatogrames corresponents a la fotodegradació de PCBs indicadors a 256 nm amb 16 làmpades (64 W).

Tal i com mostra la figura, a les 4 hores d'exposició a la llum UV ja no es pot observar cap de les senyals corresponents als PCBs indicadors, fet que vol dir que s'han degradat en la seva totalitat. Sí que s'observa l'aparició de petits pics (minuts 11.4, 13.2 i 14.5), que possiblement es corresponen a productes de descomposició dels PCBs inicials. Tot i així, a les 9.5 hores d'irradiació no s'observa la presència de cap compost en la mostra.

De la prova inicial es pot concloure que la fotodegradació d'aquest tipus de compostos a 254 nm és molt més efectiva que a 365 nm. En conseqüència, cal reduir el temps de tractament de les mostres i/o la potència del fotorreactor, així com augmentar la freqüència de presa de mostres per tal de poder descriure les cinètiques de degradació de forma acurada.

En la segona prova es va decidir continuar treballant amb la dissolució de PCBs indicadors de 10 ng/ml, a la potència màxima del fotorreactor durant 4 hores. En aquest cas, però, es varen prendre alíquotes amb més freqüència (cada 5 minuts aproximadament). Tot i així el procés de fotodegradació va seguir sent massa ràpid –al minut 5 ja s'havien degradat la majoria dels compostos–, de manera que no es van poder descriure les cinètiques de degradació amb suficient precisió.

Per tal de solucionar aquest problema, finalment es va decidir dur a terme l'experiència a la meitat de la potència del fotorreactor (8 làmpades, 32 W). També es va treballar amb una dissolució de PCBs indicadors el doble de concentrada (20 ng/ml) i prenent un elevat nombre d'alíquotes al llarg del procés de fotodegradació.

En aquestes condicions experimentals, les cinètiques de degradació fotoquímica per a cada un dels congèneres estudiats són les que es mostren en la següent figura (*figura 4.13*).

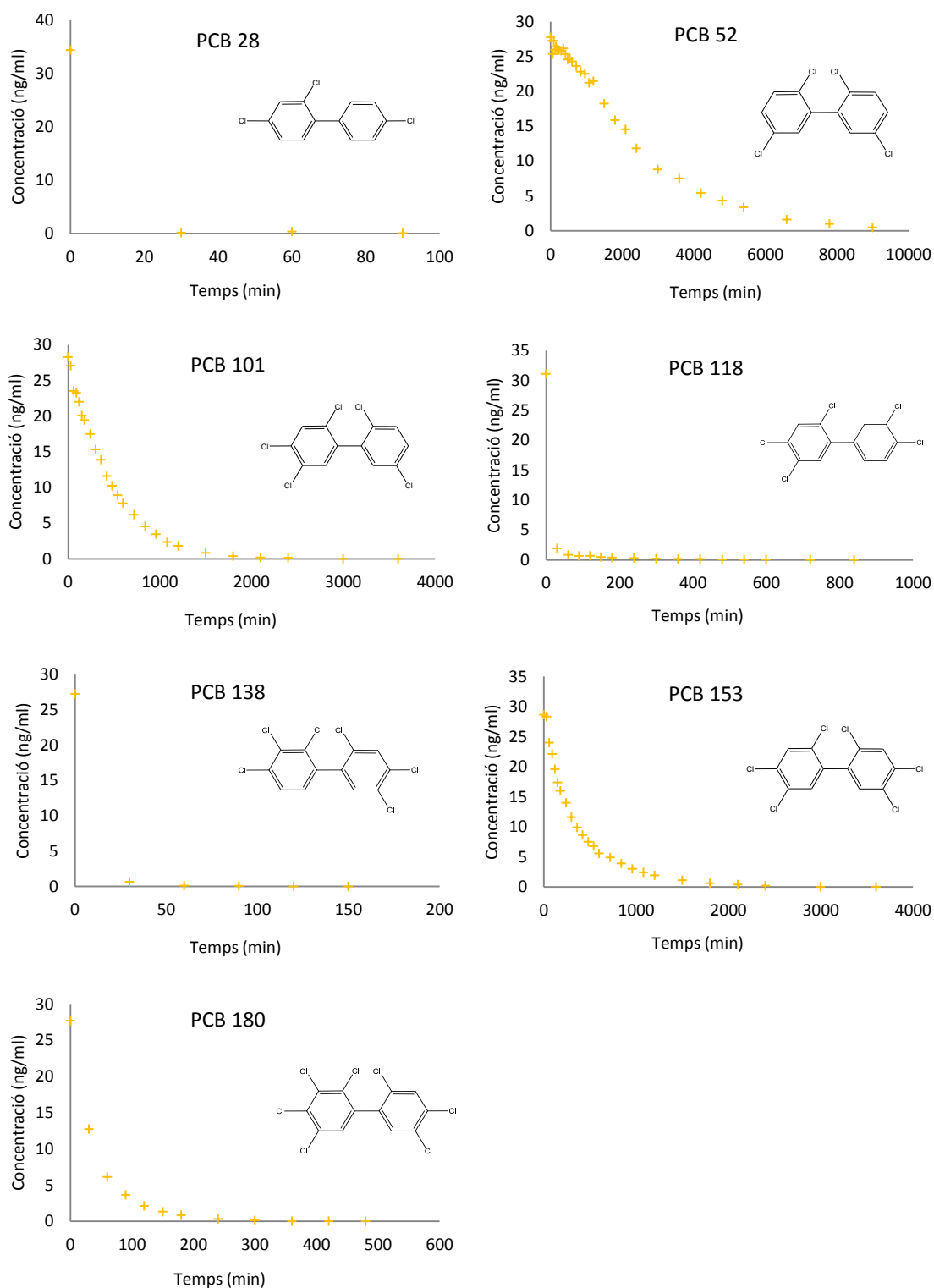


Figura 4. 13. Cinètiques de degradació dels PCBs indicadors a 254 nm.

En aquestes noves condicions experimentals, s'obté una eliminació completa dels PCBs després de 150 minuts d'irradiació. Els mecanismes de degradació semblen seguir una cinètica de *pseudo*-primer ordre, sent més ràpida quan la concentració és més alta (així és durant el inici de l'experiment). Aquesta observació està d'acord amb el que es descriu en la bibliografia (Wu *et al.*, 2004).

Tot i així, es pot observar en les cinètiques de degradació de cada un dels congèneres que la velocitat a la qual són eliminats varia molt en funció del PCB. Mentre que els PCB-28, -118 i -138 són gairebé totalment fotodegradats en menys d'un minut, els PCB-52, -101 i -153 necessiten més de 20 minuts d'irradiació a aquesta potència per a la seva eliminació. El PCB-180 té un temps de vida mitja intermig, sent totalment eliminat al minut 4 d'exposició a la llum UV.

És destacable la corba de degradació del PCB-52. En ella, fins al minut 15 aproximadament, es pot observar com no es degrada de forma asimptòtica al igual que la resta de congèneres, sinó que ho fa més lentament. Això pot ser degut a que pel fet que s'estan fotodegradant diversos PCBs de forma simultània, congèneres més halogenats poden generar el PCB-52 per pèrdua de clors, ja que aquest té una estructura comuna a molts d'altres possibles precursors (PCB-101, -153, -180).

Cal remarcar que no és fàcil determinar amb exactitud el temps necessari per a la completa eliminació d'aquests contaminants, principalment per dos motius: per una banda la degradació dels PCBs és asimptòtica tendint a zero, fet que fa que sigui difícil discriminar diferents concentracions quan aquestes són baixes. Per altra banda, existeixen diferents processos simultanis de degradació/generació de PCBs, fet que –sobretot en temps més llargs d'exposició- pot desvirtuar el perfil d'aquestes corbes. Hipotèticament, fins i tot es podria arribar a generar un congènere que ja s'havia arribat a eliminar completament amb anterioritat.

Per aquest motiu, per tal de comparar la resistència a la fotodegradació entre els diferents congèneres s'ha cregut convenient caracteritzar-los segons el temps necessari per la degradació del 50% de la concentració inicial. Aquest paràmetre farà menys influent el primer factor distorsionant comentat en l'anterior paràgraf. Cal destacar que –conceptualment-aquest paràmetre no és equivalent al temps de vida mitja habitualment emprat en estudis de cinètica, pel fet que coexisteixen diferents processos simultanis de generació i degradació de PCBs, i experimentalment només es pot observar el procés global (que es correspon a la suma de tots els processos involucrats). Tenint en compte això, els temps de irradiació necessaris per fotodegradar el 50% la concentració inicial de PCBs indicadors són els que es mostren en la *Figura 4.14*. Per facilitar la seva visualització, el gràfic té l'eix d'ordenades en escala logarítmica.

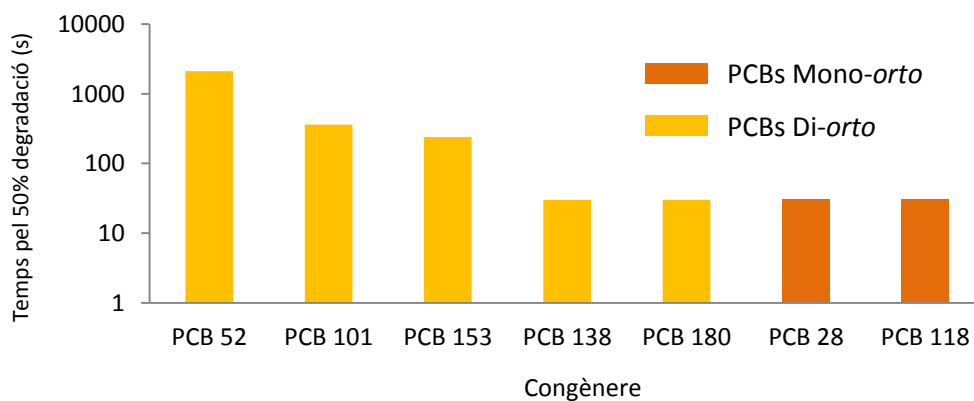


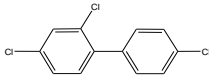
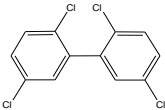
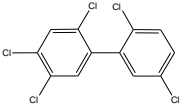
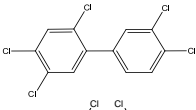
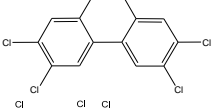
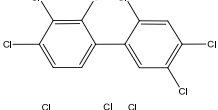
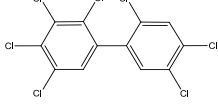
Figura 4. 14. Temps necessari per assolir el 50% de fotodegradació de PCBs indicadors.

Per entendre més a fons el mecanisme de degradació de cada un dels congèneres en particular, així com la seva velocitat d'eliminació, cal tenir en compte certes premisses que regeixen la fotodegradació d'aquest tipus de compostos:

- Les estructures amb un clor en posició *-orto* es degraden més ràpidament, degut a l'elevat impediment estèric d'aquest àtom. Quan aquest clor es perd, s'allibera molta tensió molecular i permet al PCB establir una configuració més plana. En aquestes condicions hi ha una deslocalització entre els orbitals π dels dos fenils, donant un caràcter més aromàtic a la molècula sencera i, per tant, una estructura més estable (Bunce *et al.*, 1975).
- Els clors en *-meta* fan que els substituents en *-orto* siguin degradats més lentament, ja que per efecte inductiu desactiven la reactivitat de l'anell benzènic (Lepine, 1991).
- Els clors en *-para* fan que els substituents en *-orto* siguin degradats més fàcilment, ja que mitjançant estructures canòniques ressonants aporten una major conjugació entre els dos anells fenílics al ser electrodonadors. Aquest fet fa que els dos anells tendeixin a establir una configuració plana, trencant els enllaços dels clors en *-orto* més impeditos estèricament (Ruzo *et al.*, 1974).
- Com més alt és el grau de cloració dels PCBs, més ràpid es fotodegraden. Això es deu a que els clors són àtoms molt voluminosos que generen un gran impediment estèric entre ells, i per tant els seus enllaços es poden trencar més fàcilment (Miao *et al.*, 1999).
- Pel fet d'estar fotodegradant diversos PCBs de forma simultània, alguns poden ser generats a partir de la pèrdua d'àtoms de clor per part de congèneres més halogenats. Com més elevat sigui aquest nombre de possibles precursors, més lent serà el seu procés de degradació global.
- Els congèneres amb més d'un clor en posició *-orto* es degraden més lentament que els mono-*orto*. Aquest fet pot ser explicat si es té en compte que la pèrdua d'un clor per part d'un congènere di-*orto* condueix a una estructura radical de PCB mono-*orto*, que no és estable ja que també està subjecte a impediments moleculars. Aquest fenomen va ser descobert en els primers estudis amb bifenils substituïts, com els bifenils polibromats o els bifenils metilats (Bunce *et al.*; 1975, Wagner, 1967).

La *Taula 4.3* caracteritza cada un dels PCBs indicadors en funció d'aquests criteris.

Taula 4. 3. Caracterització de cada un dels congèneres de PCBs indicadors.

Congènere	Estructura	orto-Cl	meta-Cl	para-Cl	Grau cloració	Precursors	Coplanar	Ordre degradació
28		1	0	2	3	118,153, 138,180	No	1er
52		2	2	0	4	101,153, 180	No	4rt
101		2	2	1	5	153, 180	No	3er
118		1	2	2	5	138, 180	Si	1er
153		2	2	2	6	180	No	2on
138		2	1	2	6	180	No	1er
180		2	3	2	7	-	No	1er

En **vermell** es mostren els factors que alenteixen la velocitat de degradació i en **verd** els factors que l'acceleren.

Experimentalment es pot comprovar que els congèneres que s'han fotodegradat més fàcilment són els que només tenen un clor en posició *-orto* (PCB-28 i -118). Seguidament, s'han degradat els PCB-138 i -180, degut al seu elevat grau de cloració (són congèneres hexa- i heptaclorats, respectivament). En aquells casos en què existeix igual grau de cloració, els PCBs amb substitucions en *-para* semblen ser lleugerament més resistents (per exemple PCB-138 i -153).

Per a la resta de congèneres, la velocitat de degradació baixa al disminuir el grau de cloració: PCB-153 > PCB-101 > PCB-52, de major a menor velocitat d'eliminació. A més, el PCB-52 es genera simultàniament a partir de diversos precursors més clorats (PCB-101, -153, -180).

Es pot concloure que, en general, l'ordre de reactivitat dels enllaços C-Cl segueix l'ordre *orto* > *meta* > *para*.

4.5.2. Fotodegradació de PCBs similars a dioxines a 254 nm

Per dur a terme aquesta experiència es va preparar una dissolució de PCBs similars a dioxines (PCB-77, -81, -105, -114, -118, -123, -126, -156, -157, -167, -169 i -189) i dos PCBs di-*orto* (PCB-170 i -180) de 30 ng/ml.

Inicialment es va irradiar la mostra a la màxima potència del fotorreactor (16 làmpades de 254 nm, 62W) durant 40 minuts. Durant l'anàlisi HRGC-ECD de les alíquotes que es van prendre durant el procés de fotodegradació, es va comprovar que les condicions d'irradiació de la mostra havien estat capaces d'eliminar els PCBs, tal i com s'observa en la *Figura 4.15*.

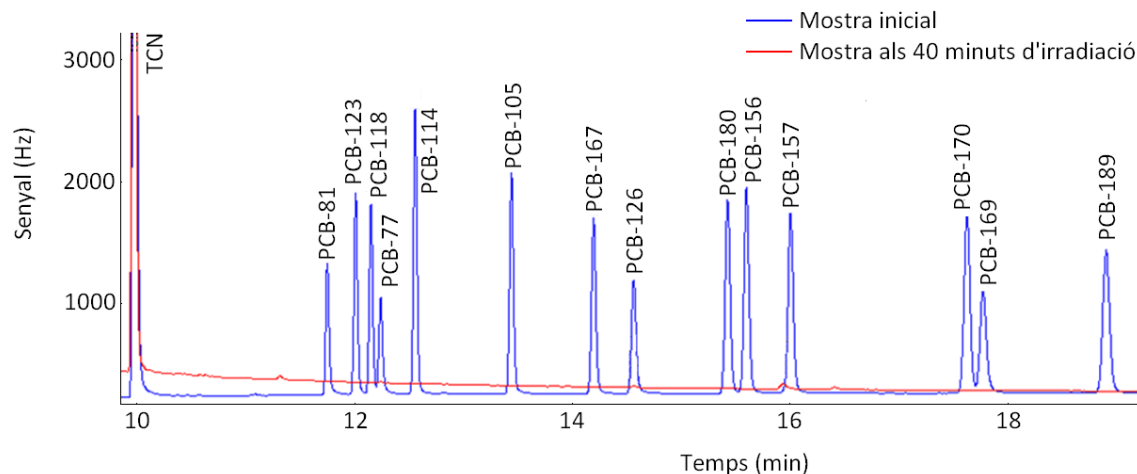


Figura 4. 15. Cromatograma de la mostra inicial de PCBs similars a dioxines i després de 40 minuts de tractament UV.

Tal i com es pot observar en els cromatogrames, en aquestes condicions d'irradiació s'ha aconseguit degradar totalment els PCBs similars a dioxines presents inicialment a la mostra en menys de 40 minuts, així com els seus productes de descomposició. Per altra banda, les *Figures 4.16 i 4.17* mostren les cinètiques de degradació individuals de cada un dels PCBs similars a dioxines.

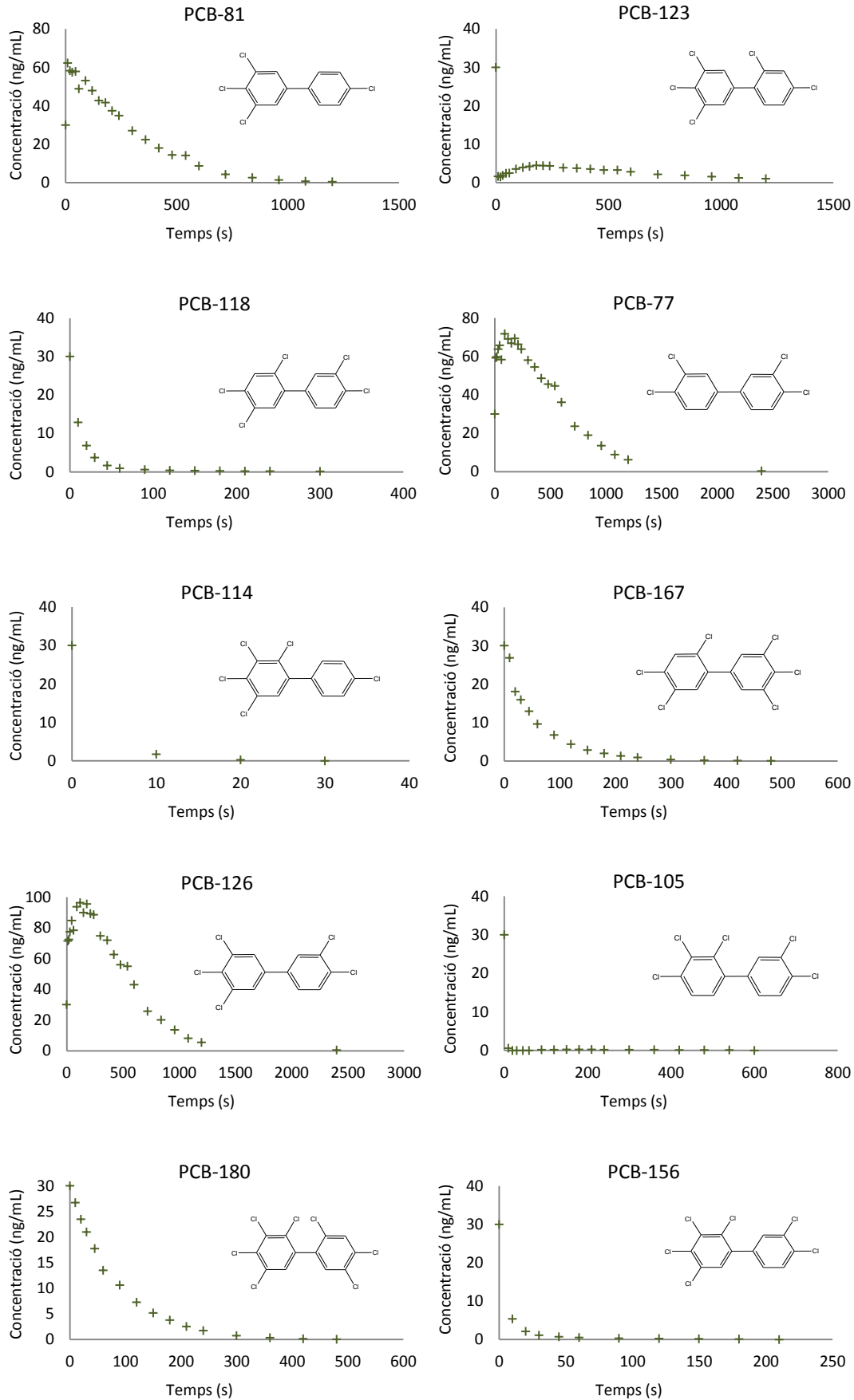


Figura 4. 16. Cinètiques de degradació dels PCBs similars a dioxines a 254 nm.

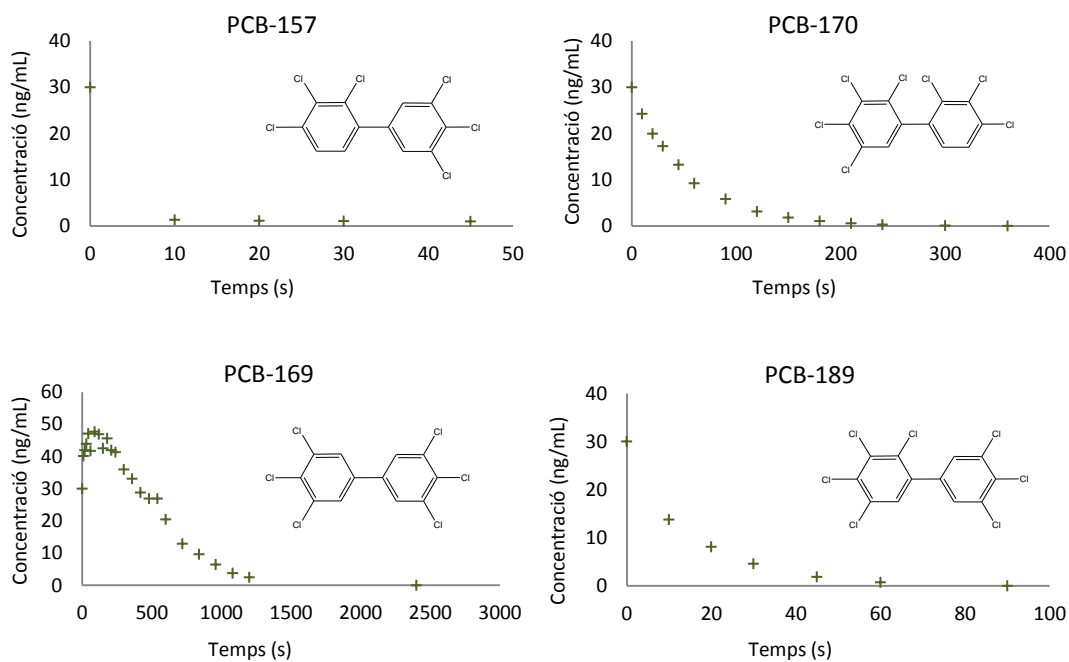


Figura 4. 17. Cinètiques de degradació dels PCBs similars a dioxines a 254 nm.

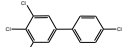
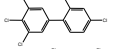
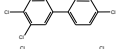
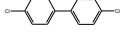
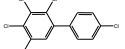
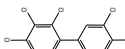
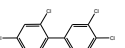
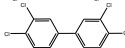
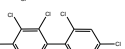
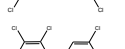
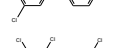
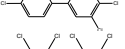
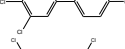
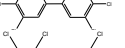
Tot i seguir processos de degradació semblants, en general els PCBs similars a dioxines ofereixen més resistència a la radiació UV que els PCBs indicadors, ja que pel fet de ser més plans també són més estables.

Un fet que evidencia que el mecanisme de fotodegradació dels PCBs és per pèrdua de clors és la clara generació que s'observa d'alguns dels congèneres durant el procés d'irradiació. Aquests són els casos del PCB-77 (possibles precursors: PCB-105, -126, -156, -157, -167, -169, -170, -180, i -189), PCB-126 (possibles precursors: PCB-156, -157, -167, -169, -170, -180 i -189) i PCB-169 (possible precursor: PCB-189). En el cas d'aquest últim congènere es pot observar clarament com es va generant fins aproximadament el minut 80, moment en que s'esgota el seu precursor i per tant la seva concentració comença a disminuir per l'efecte de la radiació UV.

També és destacable el cas del PCB-123. Aquest congènere és degradat inicialment de forma molt ràpida, ja que té un clor en posició *orto*. Tot i així, posteriorment la seva concentració augmenta lleugerament, segurament per generació a partir d'altres PCBs més clorats (possibles precursors: PCB-167, -180, -157, -170 i -189).

En general, tots els factors que afecten a la velocitat de degradació dels PCBs que s'han documentat bibliogràficament (posició dels substituents, grau de cloració...) es poden veure reproduïts en aquest estudi. De forma anàloga a l'anàlisi realitzada pels PCBs indicadors, la *Taula 4.4* caracteritza cada un dels PCBs similars a dioxines segons aquests criteris.

Taula 4. 4. Caracterització de cada un dels congèneres de PCBs similars a dioxines.

Congènere	Estructura	orto-Cl	meta-Cl	para-Cl	Grau cloració	Precursors	Ordre degradació
PCB 81		0	1	2	4	123,114,167,126,180,156,157,170,169,189	6è
PCB 123		1	2	2	5	167,180,157,170,189	1er
PCB 118		1	2	2	5	167,180,156,170,189	2on
PCB 77		0	2	2	4	105,167,126,180,156,157,170,169,189	8è
PCB 114		1	2	2	5	180,156,170,189	1er
PCB 105		1	2	2	5	156,157,170,189	1er
PCB 167		1	3	2	6	180,189	3er
PCB 126		0	3	2	5	180,156,157,167,170,169,189	8è
PCB 180		2	3	2	7	-	5è
PCB 156		1	3	2	6	170,189	1er
PCB 157		1	3	2	6	170,189	1er
PCB 170		2	3	2	7	-	4rt
PCB 169		0	4	2	6	189	7è
PCB 189		1	4	2	7	-	2on

En **vermell** es mostren els factors que alenteixen la velocitat de degradació i en **verd** els factors que l'acceleren.

Aquesta taula permet explicar l'ordre de degradació fotoquímica que segueixen els PCBs similars a dioxines, que és el que es mostra en la *Figura 4.18* segons el criteri del 50% d'eliminació.

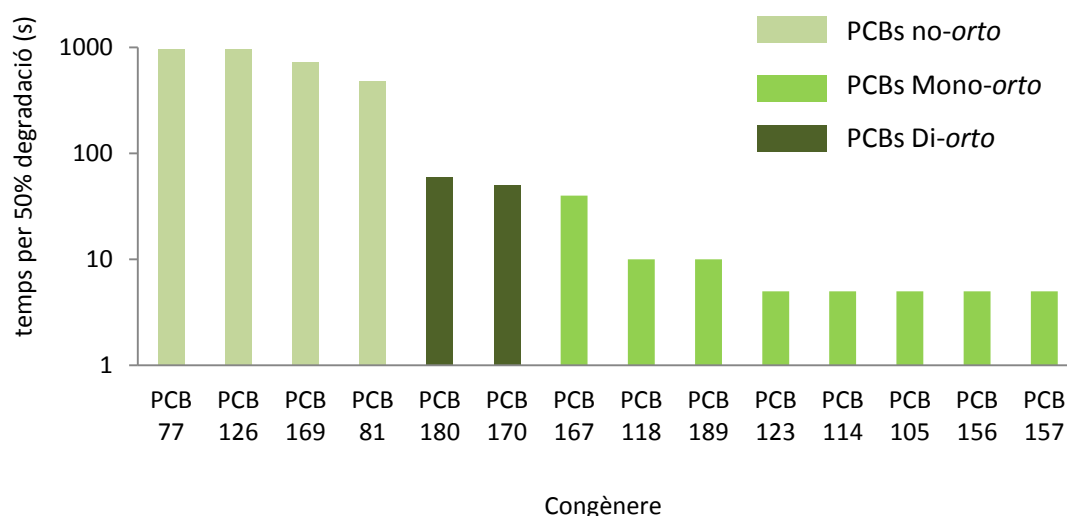


Figura 4. 18. Temps pel 50% de degradació dels PCBs similars a dioxines.

Com s'observa en el gràfic, els PCBs mono-orto són els congèneres que més ràpid s'han eliminat, degut a la facilitat amb la qual poden perdre un àtom de clor. En aquestes condicions d'irradiació, els PCB-123, -114, -105, -156 i -157 són totalment fotodegradats en menys de 10 segons.

El PCB-189 ofereix una resistència lleugerament superior a l'eliminació pel fet de tenir 4 clors en posició meta, que desactiven la seva fotorreactivitat. El PCB-118 també triga més a degradar-se, possiblement degut al seu elevat nombre de precursors (PCB-167, PCB-180, -156, -170 i 189). Finalment, el PCB 167 és el congènere mono-orto que es fotodegrada més tard, possiblement perquè és el subproducte més estable de la descomposició del PCB-180 per la pèrdua d'un clor en -orto. Les cinètiques d'ambdós PCBs confirmen aquesta teoria.

Després dels mono-orto, els següents PCBs a ser degradats són els di-orto, degut a l'efecte que s'exposa anteriorment. Aquests són els PCB-170 i -180, amb uns temps de 50 i 60 segons per l'eliminació de la meitat de la seva concentració inicial.

Finalment, els últims congèneres a ser degradats han estat els PCBs no-orto, ja que són les estructures més estables al no tenir substituents en les posicions més impedides estèricament.

Fotodegradació del PCB-167

Per tal d'estudiar més a fons el procés de fotodegradació dels PCBs similars a dioxines, s'ha monitoritzat el procés de degradació de un sol congènere (PCB-167). D'aquesta manera és més fàcil realitzar el seguiment de l'eliminació d'aquest compost, juntament amb el de les estructures que se'n generen.

Amb aquest objectiu, una dissolució de PCB-167 en hexà de 150 ng/ml ha estat exposada a la llum UV a la màxima potència del fotorreactor (16 làmpades de 254 nm, 64W) durant una hora. La concentració inicial de l'analit ha estat més elevada per tal de poder estudiar els productes de descomposició més fàcilment.

La *Figura 4.19* mostra la cinètica de degradació del PCB-167, juntament amb la de generació (i posterior degradació) dels altres PCBs similars a dioxines a partir de la pèrdua de clors del precursor.

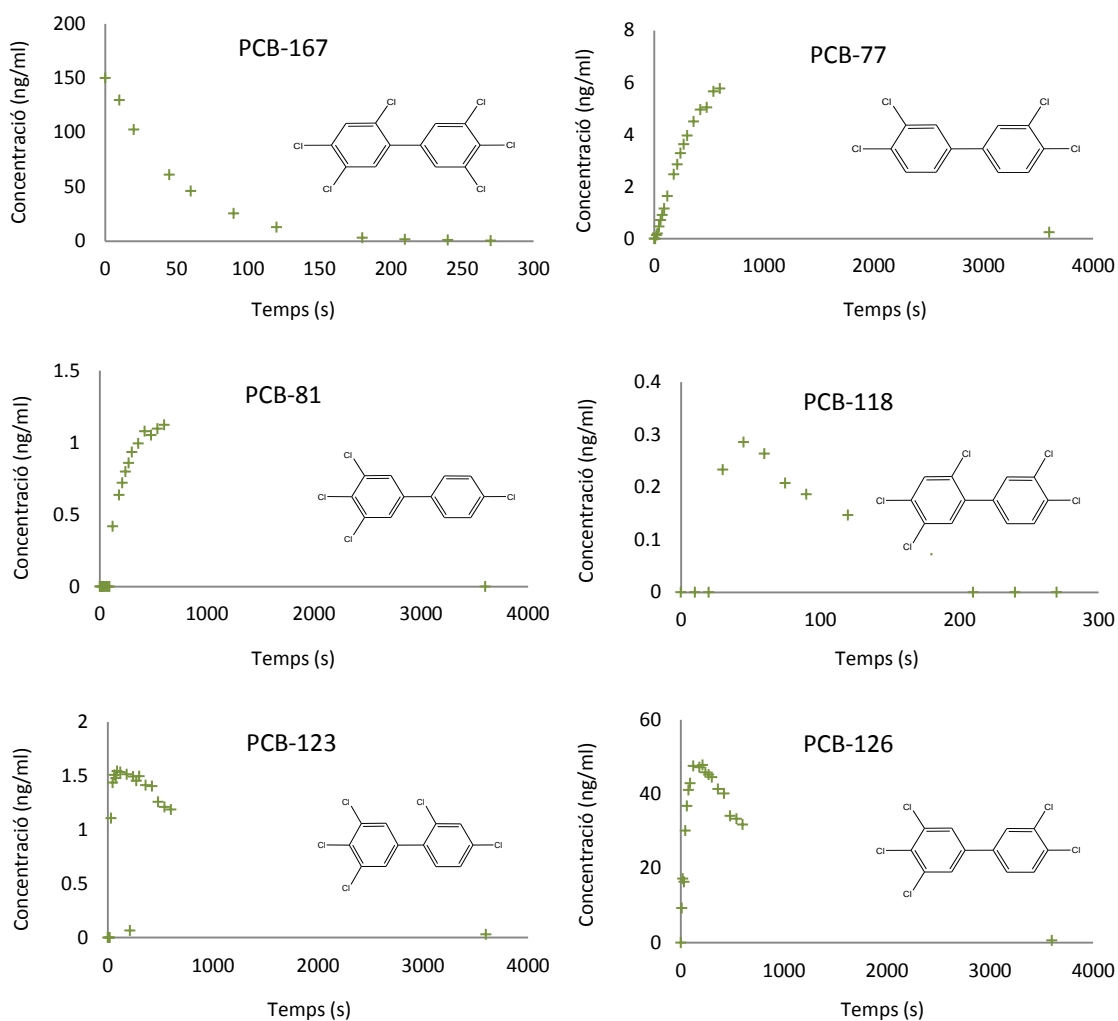


Figura 4. 19. Cinètiques de degradació del PCB-167 i dels seus productes de descomposició.

Si s'analiza la figura amb deteniment, es pot observar com a mesura que es degrada el PCB-167 (hexaclorat) es generen tres estructures de un grau de halogenació inferior (pentaclorades); el PCB-118, -123 i -126. La que es genera amb més abundància és el PCB-126, doncs és la que es la que prové de la pèrdua del clor en *-orto* del PCB-167, que és l'àtom més làbil. En menor proporció es genera el PCB-123 per la pèrdua del clor en *-meta* (posició 5) i encara en menor proporció es genera el PCB-118, per la pèrdua d'un altre clor en *-meta* (posició 5').

Posteriorment, la concentració d'aquests congèneres comença a disminuir quan s'esgota el precursor, entorn als 100 segons d'irradiació. En aquest punt augmenta la concentració de

PCBs tetraclorats, com són el PCB-77 per una pèrdua d'un clor en *-meta* del PCB-126 (posició 5) o del clor en *-orto* del 118, o bé el PCB-81 per una pèrdua d'un clor en *-meta* del PCB-126 (posició 3) o del clor en *-orto* del PCB-123. Tot i així, el que es forma amb major abundància és el PCB-77 a partir del -126. D'acord amb aquesta interpretació de les dades, les principals vies de degradació del PCB-167 són les que es mostren en la *Figura 4.20*.

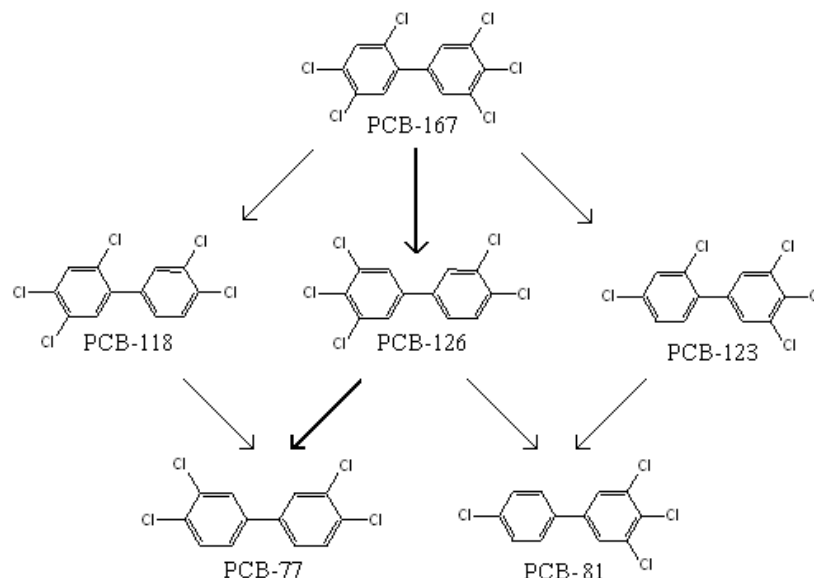


Figura 4. 20. Vies de degradació del PCB-126 (en negreta les vies principals).

Tot i així es destacable que quan s'irradia el PCB-167, no només es generen les estructures que s'estan estudiant, sinó que també es creen d'altres PCBs no inclosos en l'estudi. Les vies de degradació d'aquest compost serien molt més complexes tenint en compte aquests altres congèneres.

Estudi computacional de l'estructura del PCB-167

També s'ha realitzat un estudi computacional de l'estructura del PCB-167, calculant l'ordre dels enllaços d'aquesta molècula mitjançant el programari informàtic Hyperchem. La configuració espacial optimitzada d'aquesta molècula en el seu estat fonamental, juntament amb els ordres d'enllaç, es mostren en la *Figura 4.21*.

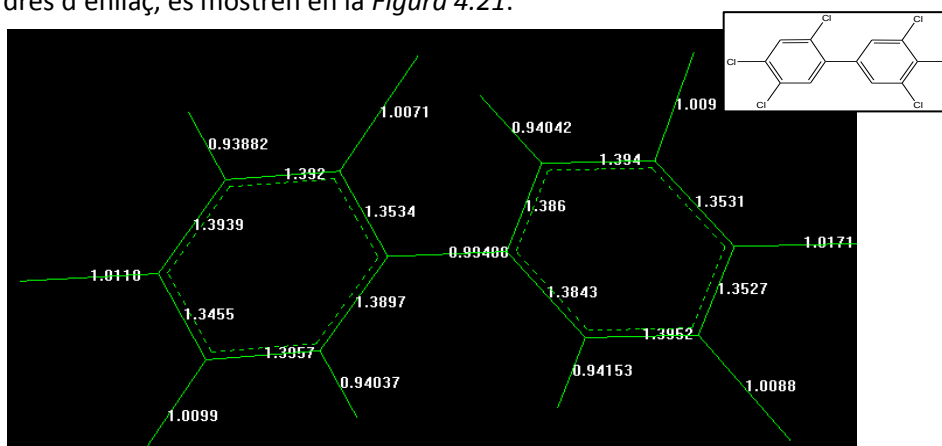


Figura 4. 21. Optimització de l'estructura i ordres d'enllaç del PCB-167.

Com es pot veure en la imatge, en el seu estat fonamental el PCB-167 es troba amb els dos grups fenils en estructura no plana. En aquest estat, l'ordre d'enllaç (OE) més baix d'aquesta molècula és el de l'enllaç C-C entre els dos fenils, que al no haver aromacitat entre els dos grups té caràcter d'enllaç simple (OE: 0.99). Això canvia quan la molècula és irradiada, ja que el PCB assoleix un estat excitat de triplet per promoció d'un electró de l'orbital molecular $\pi \rightarrow \pi^*$, prenent una configuració coplanar. Aquest fet augmenta el valor d'aquest OE, al tenir més caràcter aromàtic (Bunce *et al.*, 1978).

Pel que fa als enllaços C-Cl (en la figura són aquells lleugerament més llargs), tal i com era d'esperar l'OE més baix (i per tant enllaç més feble) és el del C-Cl en *-orto* (OE: 1.007). Seguidament es troben els enllaços en posició *-meta* (1.009, 1.009 i 1.010) i finalment els enllaços en posició *-para* (1.017 i 1.011).

Aquest estudi computacional ha servit per confirmar la teoria de que la reactivitat dels clors segueix l'ordre *orto* > *meta* > *para*, formulada anteriorment a partir d'observacions empíriques.

Ajust matemàtic de les equacions de degradació

D'acord amb la bibliografia existent (Wu *et al.*, 2004), la fotodegradació de COPs sol seguir una cinètica de pseudo-primer ordre. Aquestes cinètiques poden ser ajustades matemàticament segons la següent equació:

$$C_A = C_{A0} \cdot e^{(-kt)}$$

D'acord amb aquesta funció, la concentració del contaminant A (C_A) depèn de la seva concentració inicial (C_{A0}) i decreix exponencialment amb el temps (t), a una velocitat proporcional a la constant de degradació (k).

Fins ara no s'han pogut ajustar matemàticament les cinètiques de degradació de PCBs indicadors i similars a dioxines a aquest tipus d'equació, ja que per la majoria de congèneres el que s'ha estat observant experimentalment era en realitat una combinació simultània de cinètiques de generació i degradació. Es podria haver ajustat amb els congèneres de major grau d'halogenació, ja que no poden ser generats a partir de cap altre contaminant. Tot i això, aquests habitualment es degradaven molt ràpid, i per tant l'ajust matemàtic amb pocs valors experimentals no hagués estat molt bo.

Sí que s'ha pogut ajustar la degradació fotoquímica del PCB-167 a una equació de degradació de pseudo-primer ordre, ja que -en les condicions d'aquest experiment- no pot ser generat a partir de cap altre congènere, i es disposa del suficient nombre de valors experimentals. L'ajust matemàtic s'ha dut a terme d'acord amb la bibliografia existent (Logan, 2000).

Aquest mètode ha estat el de regressió lineal per ajust de cinètiques de primer ordre, segons el qual la representació del $\ln C_A$ enfront al temps ha de correspondre a una recta, el pendent de la qual sigui $\ln k$ i l'ordenada a l'origen la C_{A0} (la Figura 4.22 en mostra un exemple genèric).

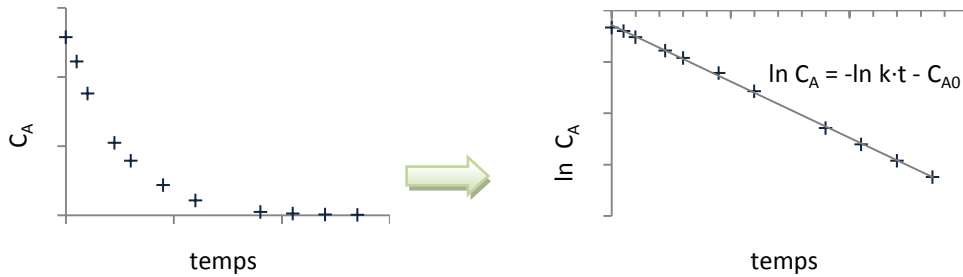


Figura 4. 22. Mètode de la regressió lineal per ajust de cinètiques de primer ordre

Així doncs, l'equació que descriu la corba de degradació fotoquímica del PCB-167 és la que es mostra a continuació:

$$C_A = 187.5 \cdot e^{-0.022t}$$

Aquest resultat està d'acord amb la informació bibliogràfica existent (Wu *et al.*, 2004), ja que els valors experimentals obtinguts fins ara (Figures 4.16 i 4.17) s'ajusten bé a una cinètica de pseudo-primer ordre.

4.5.3. Fotodegradació de PBDEs a 254 nm

Per a l'estudi d'aquesta família de COPs s'ha preparat una dissolució inicial de PBDEs (BDE-28, -47, -66, -85, -99, -100, -138, -153, -154, -183) a una concentració de 10 ng/ml en hexà.

A diferència dels PCBs estudiats anteriorment, els PBDEs són compostos bromats. Com que es coneix que l'energia d'enllaç C-Br és inferior a la de C-Cl (aproximadament de 293 i 352 kJ/mol respectivament), es decideix treballar inicialment a la meitat de la potència màxima del fotorreactor (8 làmpades de 254 nm, 32W). El procés de presa de alíquotes ha estat anàleg a l'emprat pels PCBs. Tot i haver determinat unes condicions inicials d'irradiació més suaus per a aquesta classe de contaminants, la seva degradació ha estat massa ràpida (Figura 4.23).

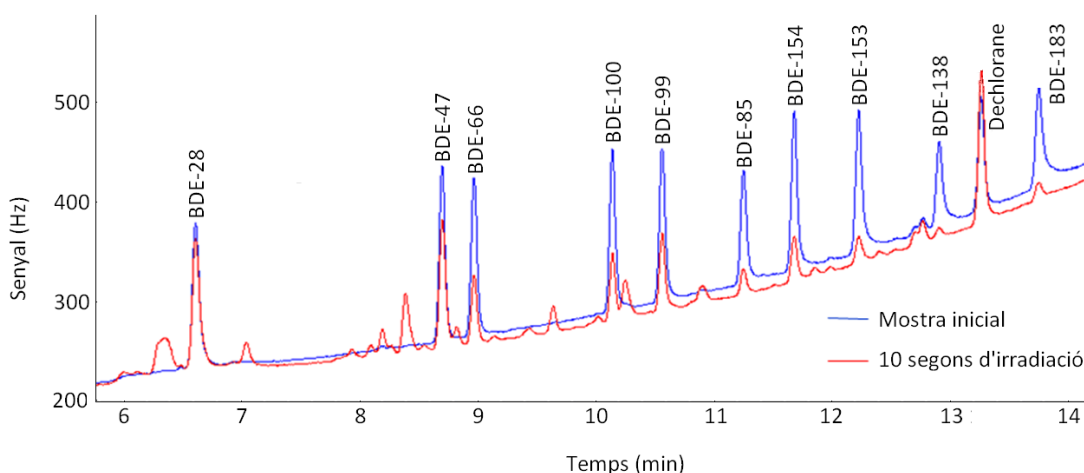


Figura 4. 23. Cromatogrames corresponents a la fotodegradació de PBDEs amb 8 làmpades (mostra inicial i després de 10 segons d'irradiació).

Com es pot veure en els cromatogrames, amb només 10 s d'exposició a la llum UV a 32W de potència, la fotodegradació dels PBDEs és força elevada. Es pot observar com els pics dels

congèneres presents inicialment en la dissolució han disminuït, alhora que s'han generat altres senyals corresponents als productes de debromació d'aquests contaminants. Tot i així, al cap de 3 minuts ja s'havien eliminat la totalitat dels PBDEs. Aquesta prova preliminar ha servit per confirmar la teoria que els PBDEs són més fàcilment fotodegradables que els PCBs, i que cal treballar en condicions d'irradiació més suaus.

Per al segon experiment fotoquímic amb aquesta família de contaminants s'ha preparat una nova dissolució, que contenia els congèneres d'estudi recomanats pel mètode 1614 de l'EPA americana del 2007 (BDE-28, -47, -99, -100, -153, -154, -183 i -209), a una concentració de 10 ng/ml en hexà, excepte pel BDE-209 que era de 100 ng/ml. Respecte al procés de fotodegradació, s'ha decidit treballar a la mínima potència del reactor (4 làmpades de 254 nm, 16W). En aquestes condicions d'irradiació, les cinètiques d'eliminació de cada un dels congèneres individuals de PBDEs han estat les que es mostren en la *Figura 4.24*.

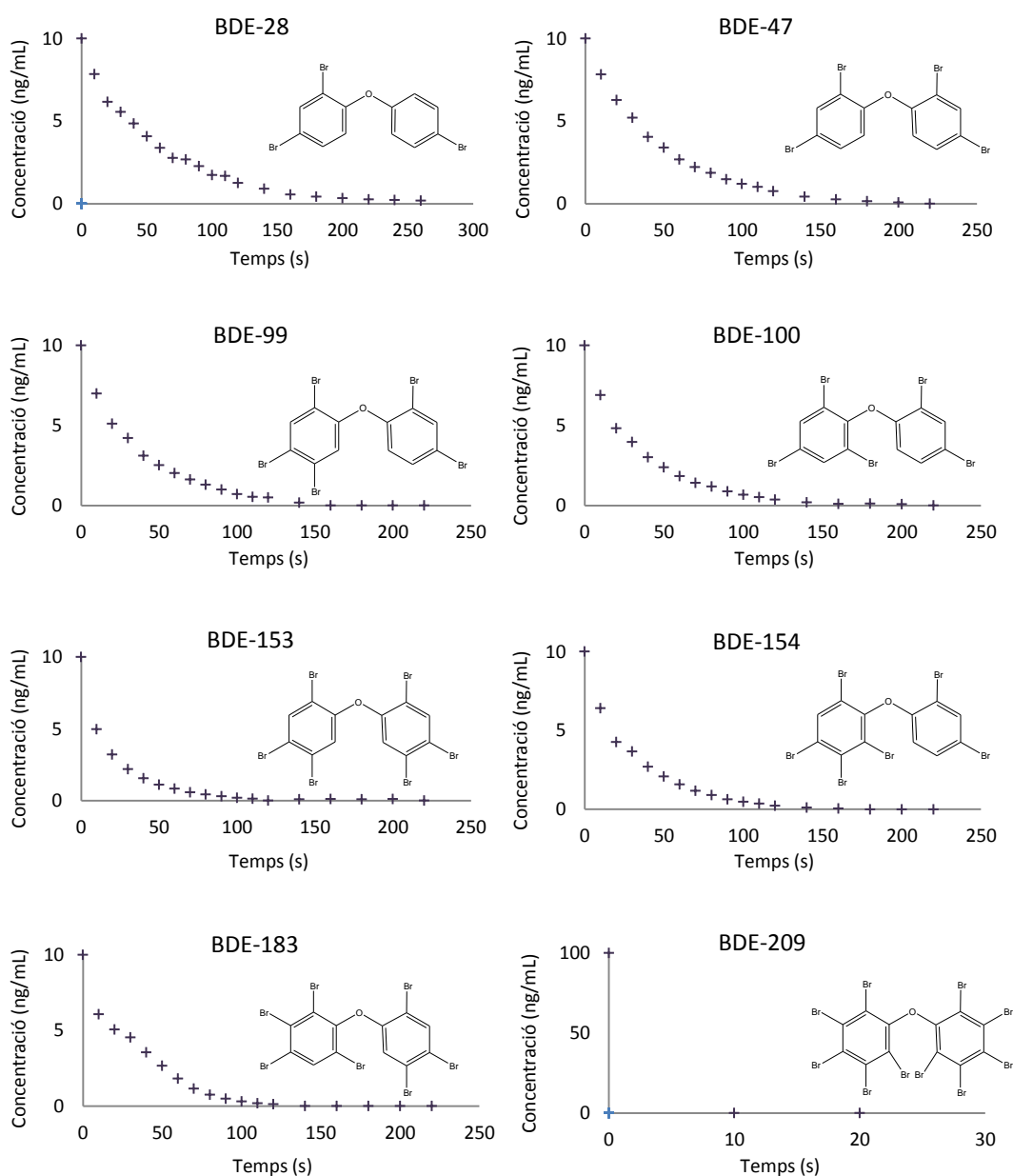


Figura 4. 24. Cinètiques de degradació dels PBDEs a 254 nm.

Tal i com mostren les figures, en menys de 5 minuts a la mínima potència del fotorreactor ja s'havia aconseguit eliminar el 100% dels PBDEs de seguiment. És destacable l'elevada fotosensibilitat del BDE-209, que tot i estar present en la dissolució inicial a una concentració deu cops superior a la dels altres congèneres, és totalment fotodegradat en menys de 10 segons.

La corba de degradació del BDE-183 presenta una desviació de la tendència durant el primer minut d'experiment, possiblement degut a la seva generació a partir del BDE-209. Tot i així la degradació del BDE-209 i la generació del BDE-183 no és simultània, ja que prèviament s'han hagut de generar els compostos nona- i octabromats intermedis.

Novament sembla ser que els compostos més bromats es degraden més fàcilment que els de menor nombre d'halogenació, tot i que en general tots s'eliminen més ràpidament que els PCBs.

Com s'ha comentat, al cap de 4 minuts i 30 segons ja no es podia detectar cap dels congèneres de seguiment monitoritzats en el present apartat, però sí que s'observaven d'altres senyals, possiblement corresponents a PBDEs producte de descomposició dels congèneres inicials (Figura 4.25).

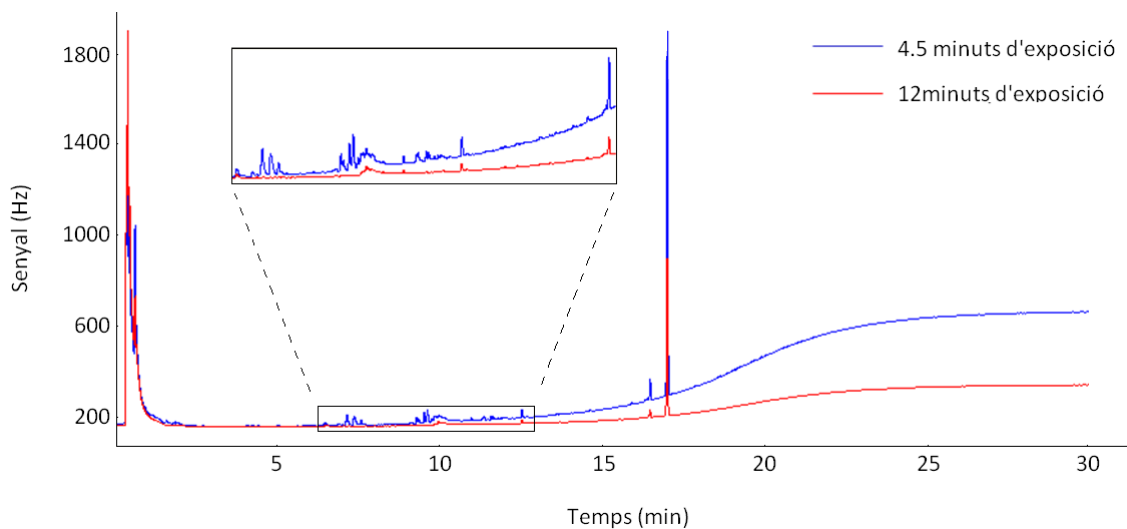


Figura 4. 25. Cromatogrames de la fotodegradació de PBDEs als minuts 4.5 i 12.

Tot i així, al cap de 12 minuts d'exposició a la llum UV pràcticament ja no quedava cap dels subproductes bromats provinents de la fotodegradació dels PBDEs presents en la dissolució inicial.

Per tal de comparar la resistència a la fotodegradació de cada un dels congèneres estudiats s'ha calculat el temps necessari per a la degradació del 50% de les seves concentracions inicials. Els resultats es mostren en el següent histograma (Figura 4.26).

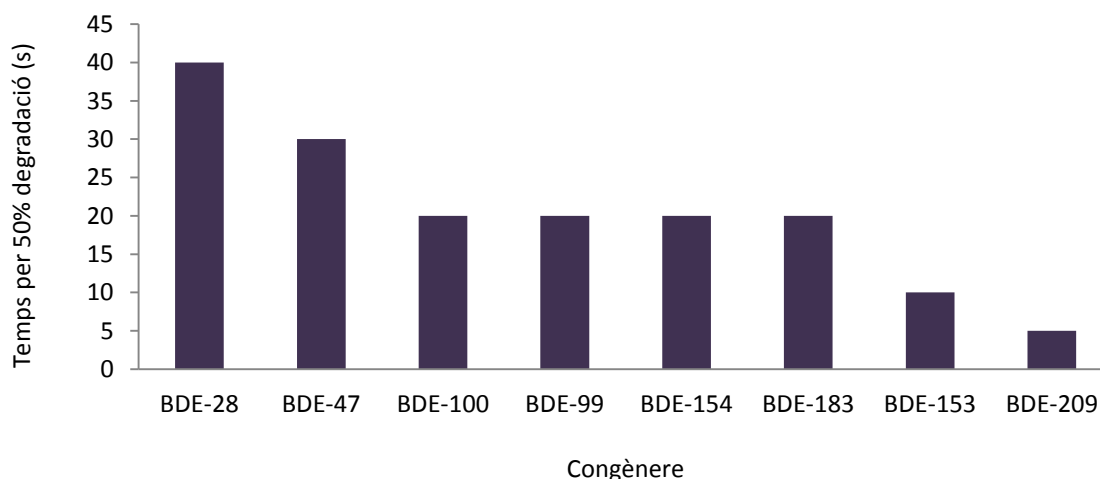


Figura 4. 26. Temps d'irradiació pel 50% de degradació dels PBDEs.

D'acord amb la figura, la velocitat de fotodegradació segueix l'ordre de bromació, sent eliminats abans els compostos més halogenats. A més, els compostos menys bromats també poden experimentar el fenomen de generació a partir de precursors més bromats, fet que pot allargar el temps necessari per la seva degradació.

L'únic congènere que s'escapa d'aquesta tendència és el BDE-183, que és heptabromat i té un temps de vida superior al del BDE-153 (hexabromat). Això segurament es deu a la seva generació a partir del BDE-209, tal i com s'exposa anteriorment.

Fotodegradació del BDE-209

El BDE-209 sol tenir un comportament diferent a la resta de PBDEs, degut al seu elevat grau de bromació. En l'àmbit fotoquímic, aquest compost s'ha degradat molt més ràpidament que la resta de congèneres, impedit un estudi rigorós de la seva degradació per manca de valors experimentals (als 10 segons d'exposició a la llum UV ja s'havia eliminat totalment).

Tot i així, sí que s'ha pogut realitzar un estudi dels seus productes de descomposició, que en primera instància són els nonaBDEs -206, -207 i -208. Tot i que aquests congèneres no són presents entre els PBDEs habituals d'estudi, els seus senyals solen aparèixer en els cromatogrames dels patrons sense necessitat de ser irradiats, segurament per la pròpia descomposició tèrmica del BDE-209 a l'injector del cromatògraf o el forn.

Per aquest motiu s'ha realitzat un seguiment d'aquests 3 congèneres durant el procés d'irradiació. Les seves abundàncies relatives es mostren en la *Figura 4.27*.

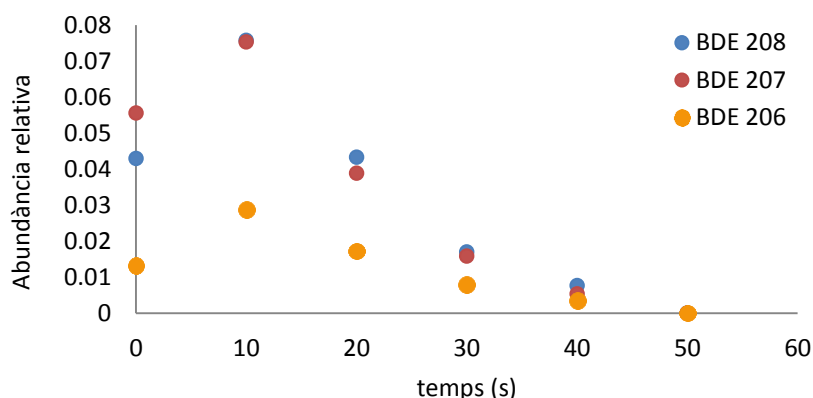


Figura 4. 27. Generació i degradació de BDE-206, -207 i -208 a partir del BDE-209.

Tot i que aquests tres congèneres no són presents inicialment en la mescla de patrons, es pot veure com abans d'irradiar a la mostra -eix d'ordenades en el gràfic- ja s'hi poden observar. Principalment, es corresponen als productes de degradació tèrmica del BDE-209 a l'injector o forn del cromatògraf, ja que aquest es pot descompondre amb facilitat a altes temperatures (Kierkegaard *et al.*, 2009). Aquí el nonaBDE més abundant és el congènere -207, que es correspon a la pèrdua d'un brom en *-meta* per part del BDE-209. En una proporció molt semblant es troba el BDE-208, que és el que s'obté per una pèrdua en *-orto*. Finalment, el producte de descomposició tèrmica menys abundant és el que s'obté per una pèrdua de brom en posició-*para*.

Un cop es comença a irradiar la mostra, s'observa que el producte de descomposició fotoquímica que més es genera és el BDE-208, seguit del -207 i en molt menor proporció el -206. Aquesta observació confirma dues teories formulades pel cas dels PCBs: que el mecanisme de degradació fotoquímica dels PBDEs és a partir de la pèrdua d'àtoms d'halògens i que l'ordre de reactivitat fotoquímica dels substituents és *orto* > *meta* > *para*. Pel cas de la degradació tèrmica que té lloc en el cromatògraf, aquest ordre és *meta* > *orto* > *para*, tal i com es veu en l'anterior figura per temps d'irradiació igual a zero.

Fotodegradació del BDE-183

De forma anàloga a l'estudi per a PCBs similars a dioxines, en aquest cas també s'ha fotodegradat un sol congènere de PBDEs (BDE-183), fet que permet estudiar més a fons els mecanismes i vies principals de degradació d'aquesta família de contaminants.

L'experiment s'ha dut a terme amb una dissolució de 150 ng/ml d'aquest congènere en hexà. La mostra s'ha irradiat amb el fotorreactor a la mínima potència (4 làmpades de 254 nm, 16W) durant 15 minuts.

El cromatograma que s'obté després de 210 segons d'irradiació de la mostra és el que es mostra en la *Figura 4.28*, on s'hi poden observar un elevat nombre de pics. Aquests han estat identificats mitjançant l'ús de patrons i bibliografia (Korytar *et al.*, 2005; Mydlová *et al.*, 2007).

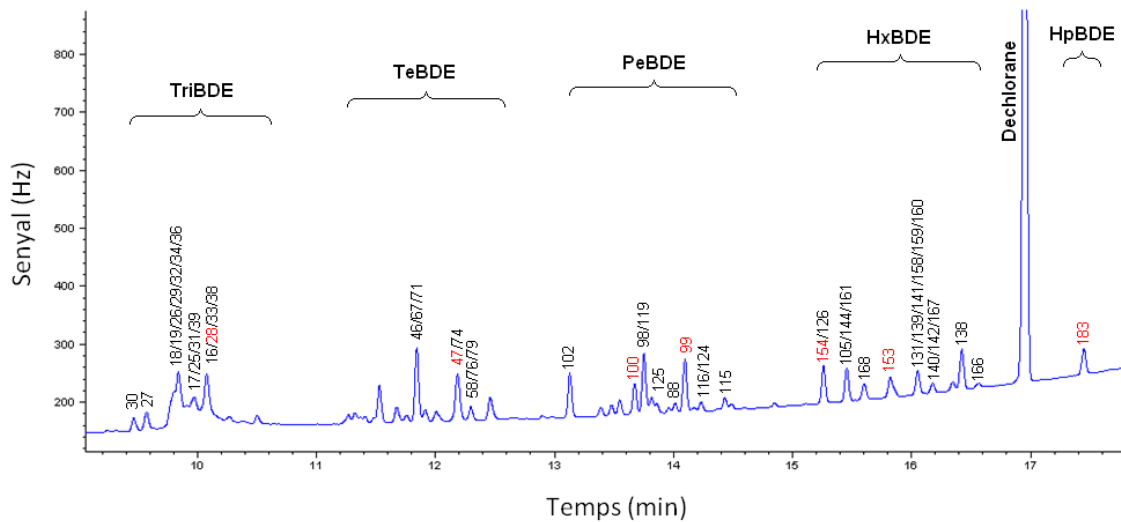


Figura 4. 28. Cromatograma corresponent a la fotodegradació del BDE-183 després de 210 segons d'irradiació.

En el cromatograma es pot observar com a partir d'un sol BDE es poden generar un elevat nombre d'estructures de inferior grau de bromació. Els PBDEs identificats per comparació amb els temps de retenció dels patrons es mostren en vermell, mentre que els altres s'han identificat bibliogràficament.

A continuació (Figures 4.29 i 4.30) es mostra la cinètica de degradació del BDE-183, així com les de generació/degradació dels PBDEs habituals de seguiment (EPA 1614) en què descomposa fotoquímicament.

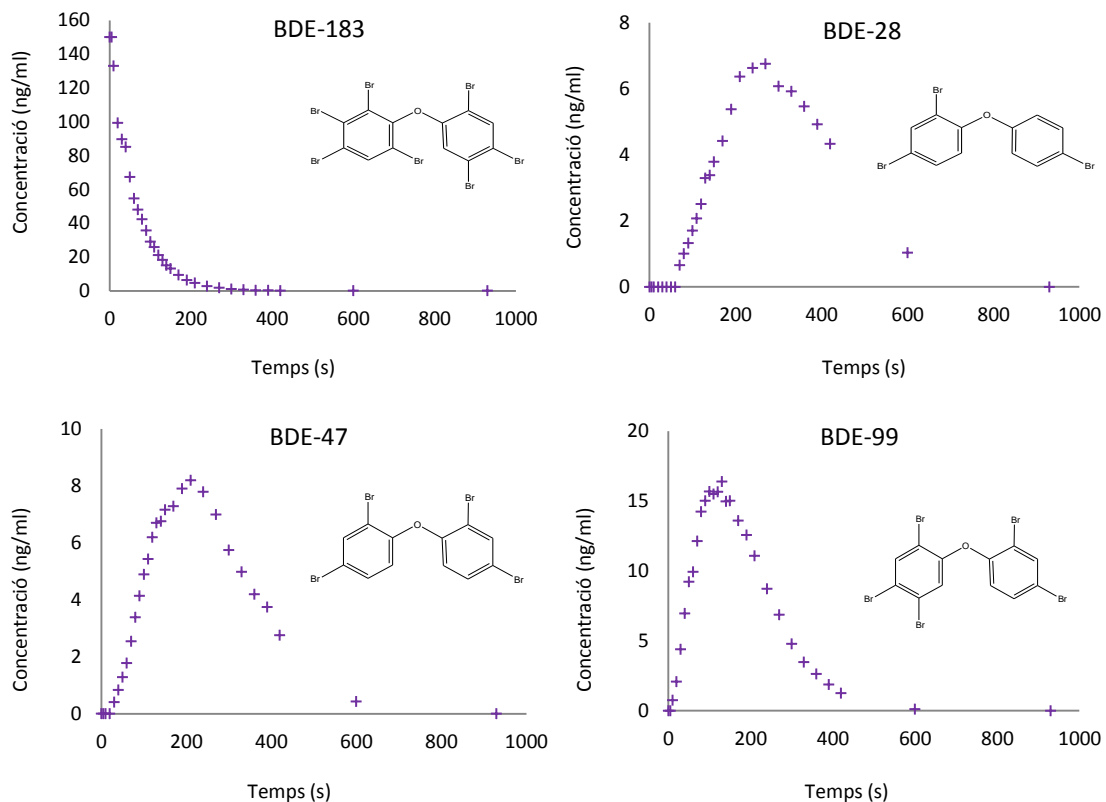


Figura 4. 29. Cinètiques de degradació del BDE-183 i dels seus productes de descomposició.

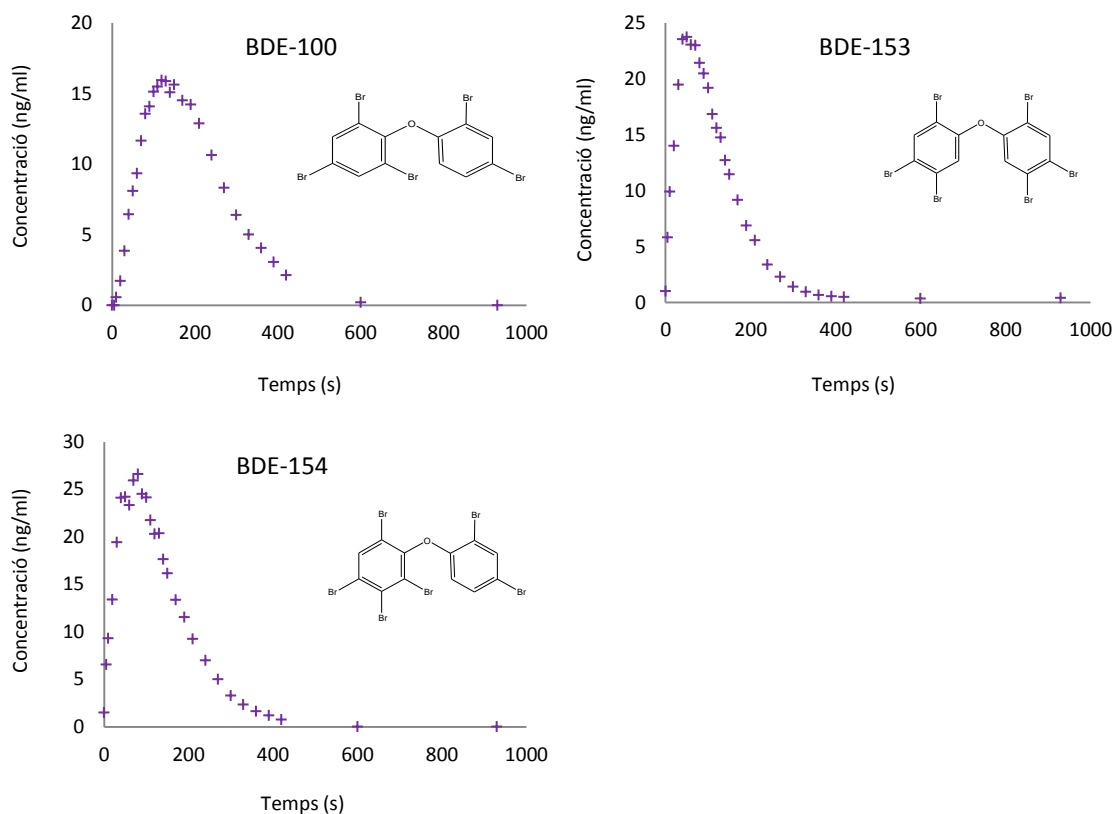


Figura 4. 30. Cinètiques de degradació del BDE-183 i dels seus productes de descomposició.

En les Figures 4.29 i 4.30 es pot observar com, mentre disminueix la concentració de l'heptaBDE-183, augmenta la dels hexaBDEs -154 per una pèrdua de brom en *-meta* (posició 5') i -153 per una pèrdua de brom en *-orto* (posició 2), ambdós en proporcions similars. Posteriorment es generen els pentaBDEs -100 per una pèrdua de brom en *-meta* (posició 5) del BDE-154, i el -99 per una pèrdua de brom en *-orto* (posició 2) del BDE-154 o bé per una pèrdua del brom en *-meta* (posició 5') de BDE-153, també en la mateixa proporció.

Els pentaBDEs -99 i -100 poden generar el tetraBDE-47 per una pèrdua de brom en *-meta* (posició 5) o *-orto* (posició 6) respectivament. Finalment, el BDE-28 es pot generar a partir del BDE-47 per una pèrdua de brom en *-orto* (posició 2). Aquesta via de degradació s'esquemmatitza en la Figura 4.31.

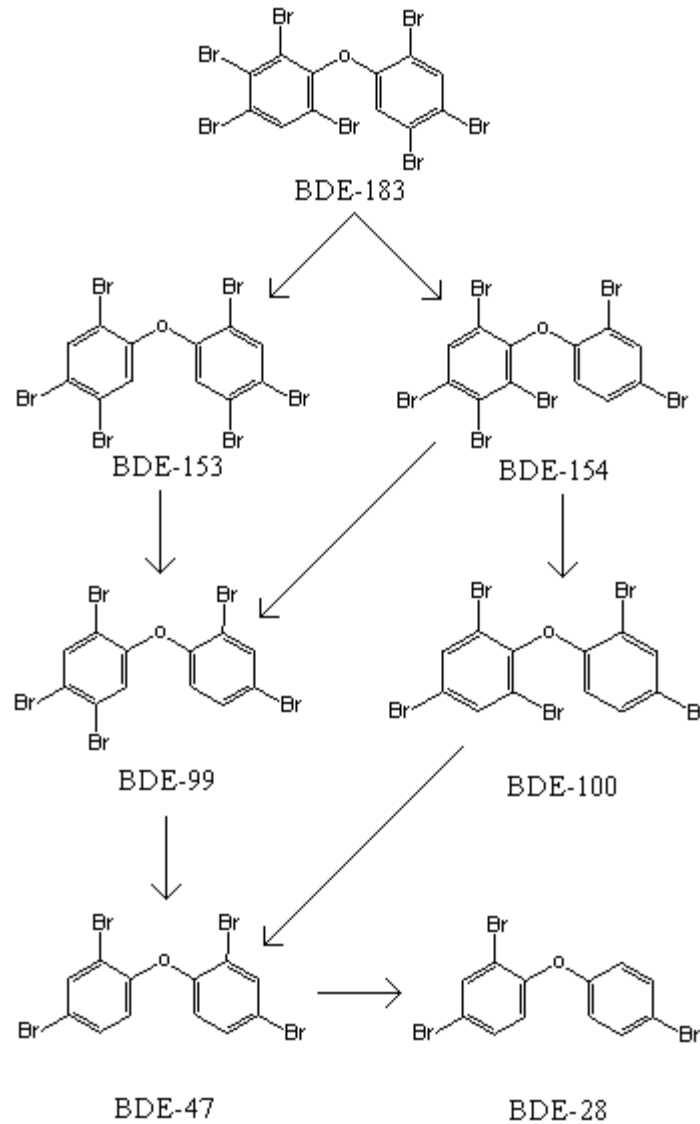


Figura 4. 31. Vies de degradació del BDE-183.

Anàlogament al cas del PCB-169, cal destacar que al fotodegradar el BDE-183 no només s’han generat els congèneres de seguiment, sinó que també ho ha fet en molts d’altres (Figura 4.28). Les vies de degradació tenint en compte aquests altres congèneres serien molt més complexes.

Ajust matemàtic de les equacions de degradació

D’acord amb els mètodes matemàtics d’ajust d’equacions a valors experimentals emprats anteriorment (Logan, 2000), la fotodegradació del BDE-183 segueix la següent equació cinètica:

$$C_A = 191.6 \cdot e^{-0.017t}$$

Aquesta equació no pot ser directament comparada amb la que es correspon al PCB-167, ja que les condicions experimentals d'irradiació no eren les mateixes (diferent nombre de làmpades).

Tot i així, si es té en compte que com més gran és el valor absolut de la constant k més ràpida és la degradació, es pot confirmar que d'acord amb aquesta equació els PBDEs es fotodegraden més fàcilment que els PCBs: tenen un valor de constants del mateix ordre (0.022 pel PCB-167 i 0.017 pel BDE-183) tot i que les condicions d'irradiació van ser més suaus pel cas dels compostos bromats (16 i 4 làmpades, respectivament).

4.5.4. Fotodegradació de PCDD/Fs a 254 nm

Per a l'estudi de la degradació fotoquímica de PCDD/Fs s'ha preparat una dissolució en hexà d'aquells congèneres recomanats de seguiment segons el mètode 1613 de la USEPA. Les concentracions per a cada grau de cloració són de 20 ng/ml per TetraPCDD/Fs, 100 ng/ml per Penta-, Hexa- i HeptaPCDD/Fs i 200 ng/ml per OctaCDD/Fs.

Segons la bibliografia existent (*Taules 4.1 i 4.2*) aquests contaminants solen ser més estables fotoquímicament, al tractar-se d'estructures de doble anell tancat molt més planes i rígides que pel cas dels PCBs o els PBDEs. Per aquest motiu, inicialment s'ha irradiat la mostra a la màxima potència del fotorreactor (16 làmpades de 254 nm, 64W) durant 240 minuts.

En aquestes condicions experimentals, les cinètiques de degradació individuals per cada un dels congèneres es corresponen amb les que es mostren en les *Figures 4.32, 4.33 i 4.34*.

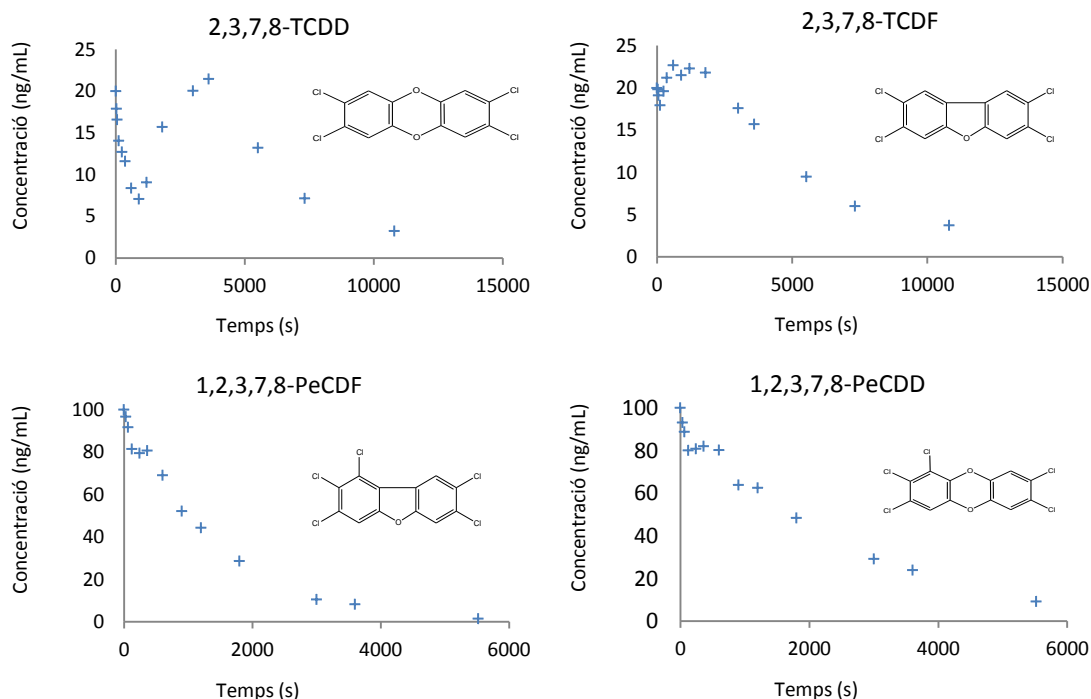


Figura 4. 32. Cinètiques de degradació de PCDD/Fs a 254nm.

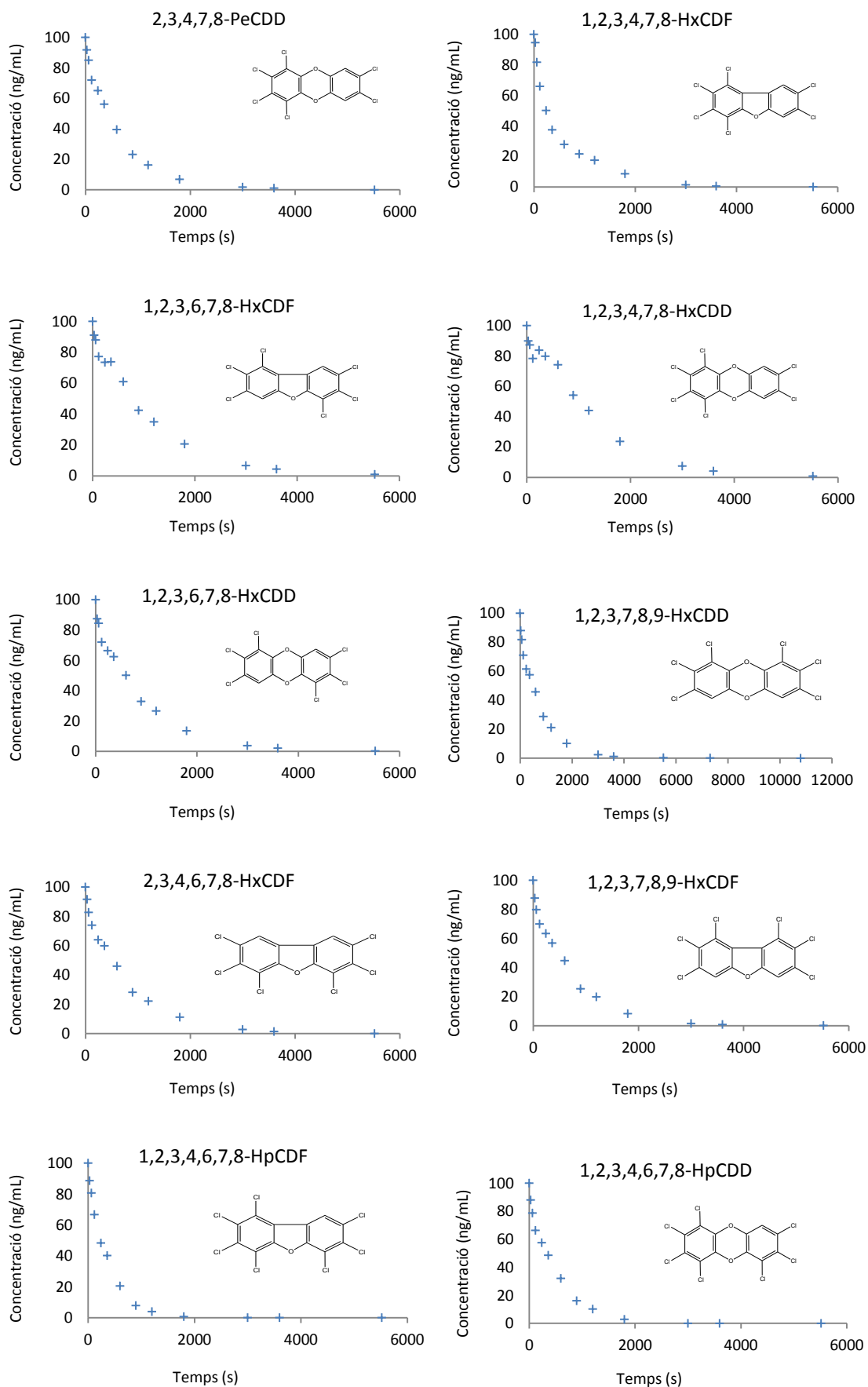


Figura 4. 33. Cinètiques de degradació de PCDD/Fs a 254nm.

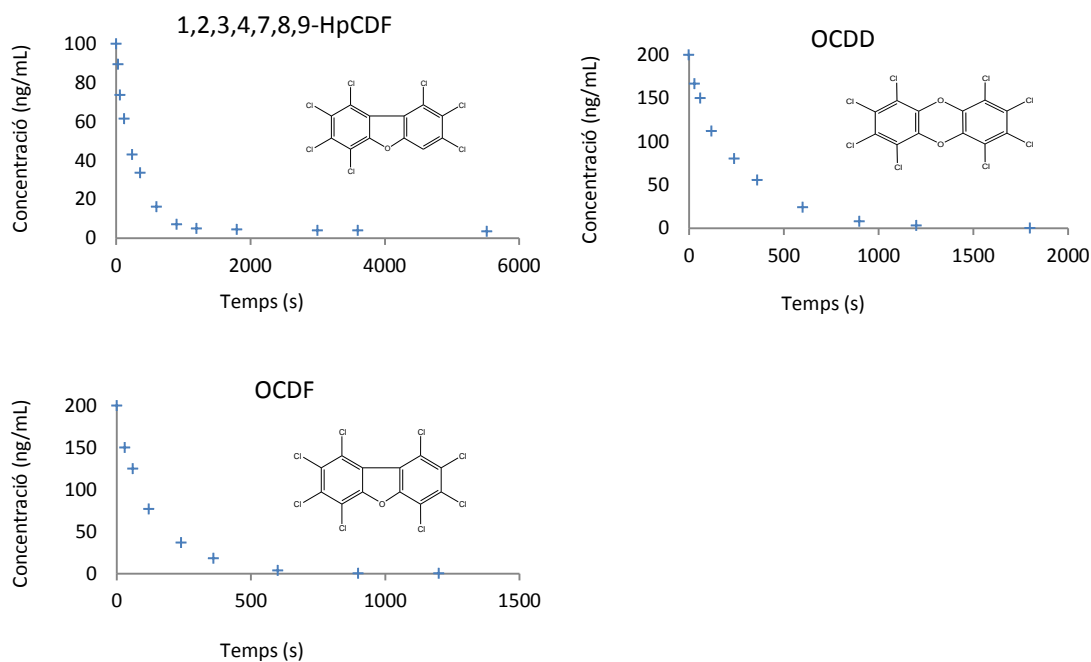


Figura 4. 34. Cinètiques de degradació de PCDD/Fs a 254nm.

S'ha comprovat experimentalment que aquesta família de contaminants és la que ofereix una major resistència a la fotodegradació; tot i treballar en les condicions més agressives del fotorreactor, s'ha necessitat irradiar la mostra durant 3 hores i mitja per a la completa degradació dels PCDD/Fs. Aquesta també sembla seguir una cinètica de pseudo-primer ordre, sent l'eliminació més ràpida quan la concentració de l'analit és més alta.

Gràcies a aquest experiment també es pot confirmar que el mecanisme de fotodegradació de les PCDD/Fs és per decloració, doncs es pot observar com es generen alguns dels congèneres menys halogenats al llarg del temps.

Aquest fenomen es pot observar molt clarament en el cas de la 2,3,7,8-TeCDD, on es pot veure com la seva concentració disminueix de 20 a 7 ng/ml durant els primers 15 minuts, per tornar a augmentar fins a 21 ng/ml al cap d'una hora d'irradiació. Finalment, aquesta dioxina s'acaba degradant totalment al cap de 3 hores i mitja.

Per poder comparar la resistència de cada un dels congèneres de PCDD/Fs s'ha determinat el temps necessari per degradar el 50% de la seva concentració inicial. Aquests resultats es representen en l'histograma de la *Figura 4.35*.

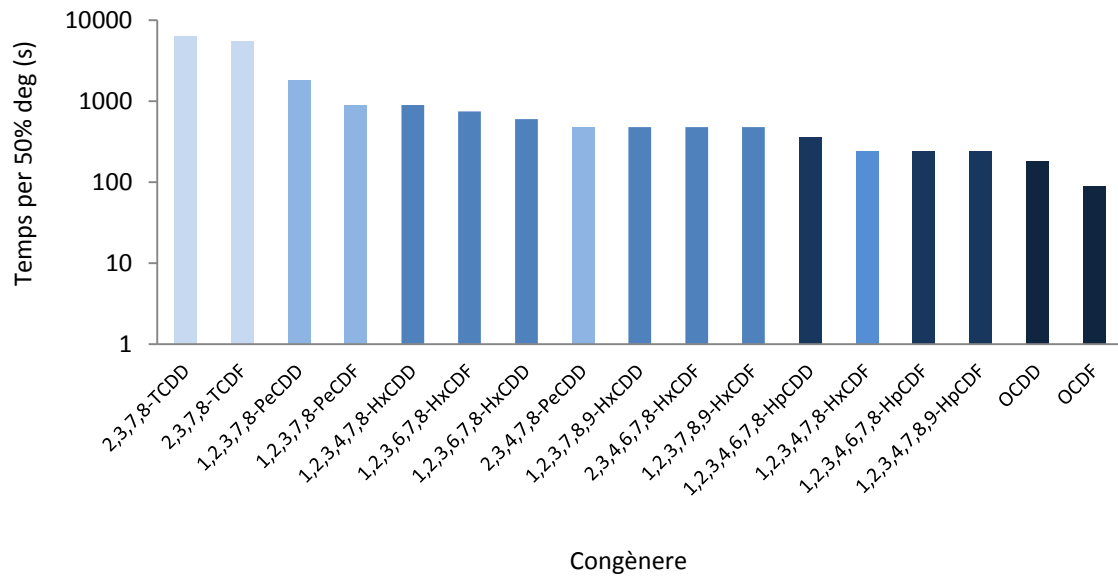


Figura 4. 35. Temps d'irradiació per al 50% de degradació dels PBDEs.

D'aquesta figura se'n poden extreure dues conclusions importants. La primera es que, en general, la resistència a la fotodegradació augmenta al disminuir el grau de cloració. Les dues úniques excepcions a aquesta tendència han estat la 2,3,4,7,8-PeCDD i l'1,2,3,4,7,8-HxCDF. Aquest fenomen ja s'havia observat amb els PCBs i els PBDEs, i es pot explicar tenint en compte que les estructures amb menys substitucions estan subjectes a una menor tensió estèrica i per tant són més estables. A més –tal i com s'ha demostrat- es poden generar simultàniament a partir de congèneres més clorats.

La segona conclusió és que, dins d'un mateix grup d'homòlegs d'igual grau de cloració, en la majoria dels casos les dioxines semblen ser lleugerament més resistents que els respectius furans (per exemple, veure el cas de 2,3,7,8-TeCDD i 2,3,7,8-TeCFD o bé OCDD i OCDF).

Ajust matemàtic de les equacions de degradació.

Com que la degradació de PCDD/Fs és molt més lenta que la dels altres COPs estudiats fins ara, en aquest cas sí que es pot determinar les cinètiques de degradació dels compostos de major grau de cloració (OCDD i OCDF), ja que es disposa de suficients valors experimentals. Cal recordar que per ajustar aquest tipus de cinètiques cal que en la mateixa dissolució no existeixi cap altre possible precursor.

D'acord amb els mètodes matemàtics anteriorment comentats (Logan 2000), les cinètiques de degradació de les OCDD/Fs són les següents:

$$\text{OCDD: } C_A = 209.52 e^{-0.0034 t}$$

$$\text{OCDF: } C_A = 205.83 e^{-0.0066 t}$$

Aquestes equacions confirmen la teoria anteriorment postulada que les dioxines són més resistents a la fotodegradació química, doncs l'OCDF té una constant de degradació amb un valor absolut més gran (0.0066 per l'OCDF i 0.0034 per l'OCDD).

Aquest valor es poden comparar directament amb l'obtingut pel PCB-167, ja que les condicions experimentals d'irradiació han estat les mateixes (16 làmpades). Tal i com s'havia observat empíricament, aquell PCB s'elimina més ràpidament ja que té una constant absoluta de degradació més elevada que pel cas de les OCDD/Fs (0.022 contra 0.0066 i 0.0034, respectivament), tot i que aquest té un ordre de cloració més baix.

4.5.5. Fotodegradació de DDTs i HCB a 254 nm

Finalment s'ha estudiat la degradació fotoquímica de certs plaguicides organoclorats, com són dos isòmers del DDT (2,4'-DDT, 4,4'-DDT) i els seus metabòlits (2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE), i HCB. Amb aquesta finalitat s'ha preparat una dissolució d'aquests contaminants en hexà de 30 ng/ml.

El procés d'irradiació de la mostra s'ha realitzat a la màxima potència del fotorreactor (16 làmpades, 64W). En aquestes condicions, les cinètiques de degradació de cada un dels plaguicides són les que es mostren en les *Figures 4.36 i 4.37*.

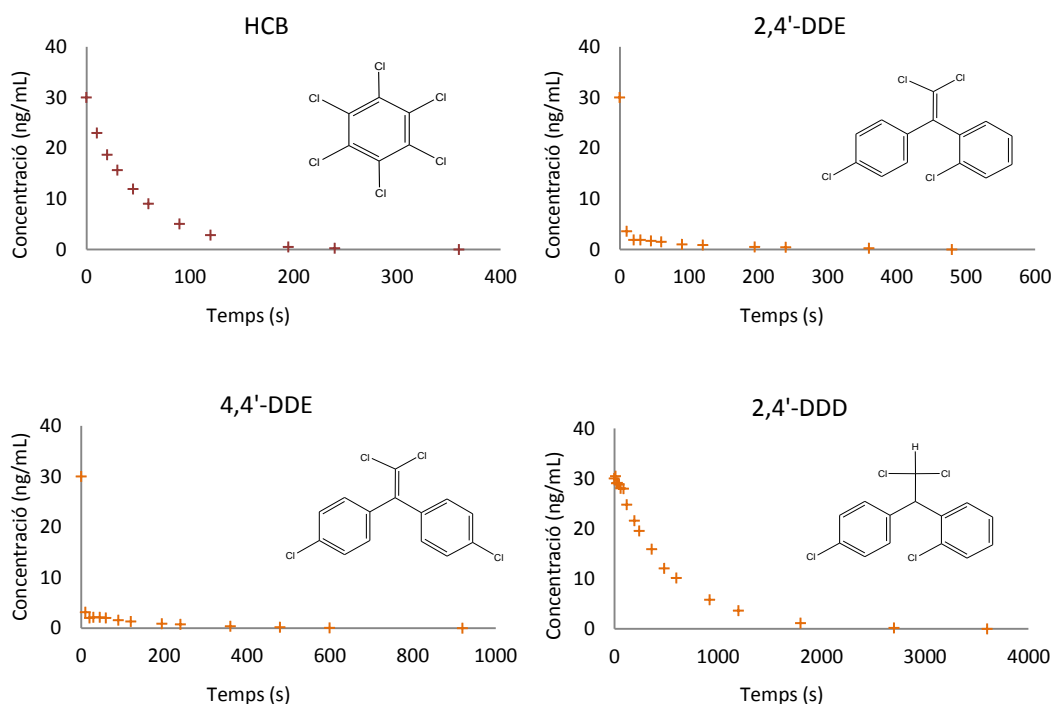


Figura 4. 36. Cinètiques de degradació de DDTs i HCB.

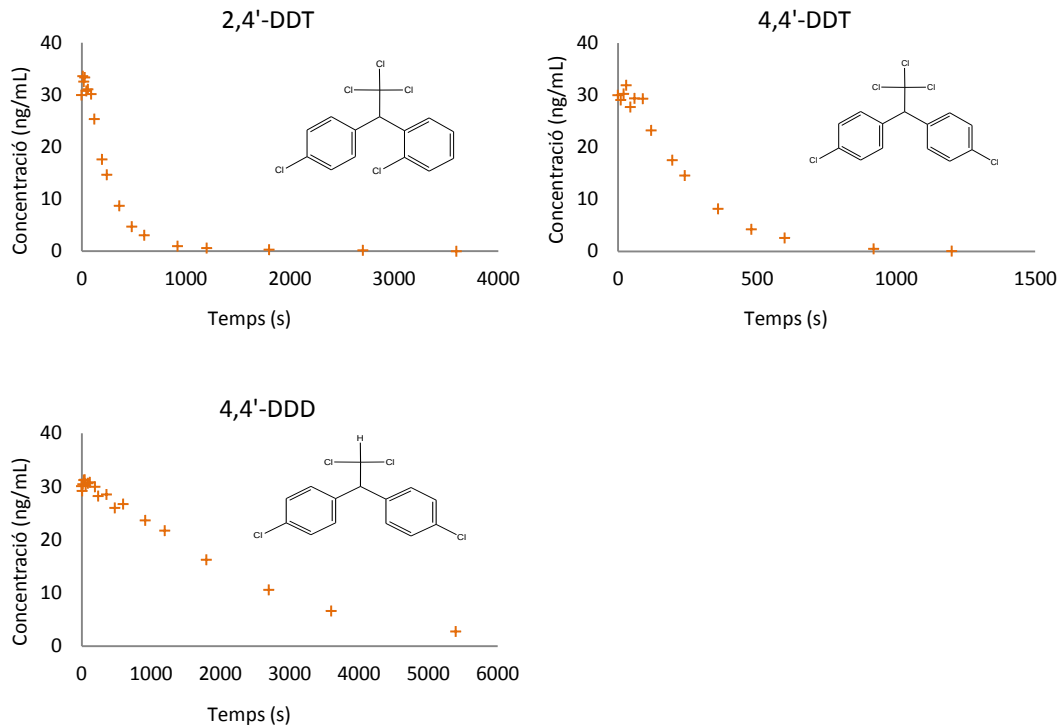


Figura 4. 37. Cinètiques de degradació de DDTs i HCB.

En una hora i mitja s'ha aconseguit degradar tots els plaguicides organoclorats inclosos en l'estudi. Tot i així, la resistència a la fotodegradació varia molt en funció del contaminant, des d'uns pocs segons (HCB, 2,4'-DDE, 4,4'-DDE) fins a 90 minuts (4,4'-DDD). La resta de plaguicides organoclorats (2,4'-DDD, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT,) han mostrat una fotosensibilitat del mateix ordre que els PCBs indicadors, sent més resistents a la degradació fotoquímica que els PBDEs però menys que els PCBs similars a dioxines.

El temps d'irradiació necessari per a la degradació de la meitat de cada contaminant es representa en la *Figura 4.38*.

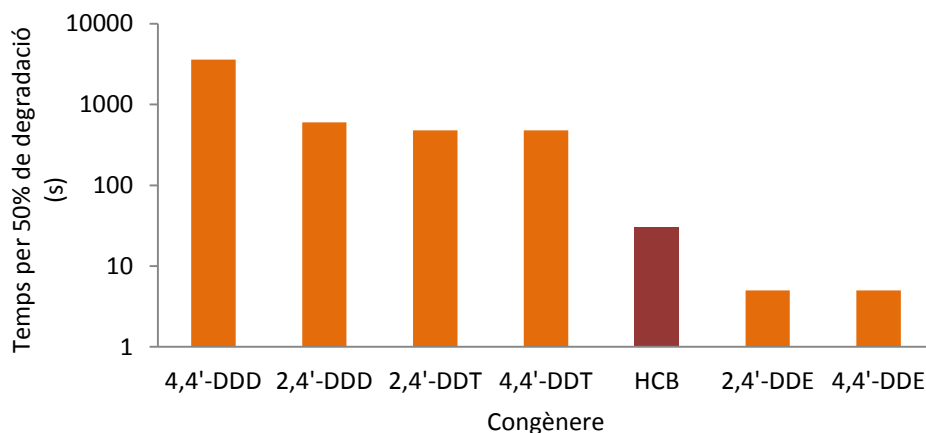


Figura 4. 38. Temps d'irradiació pel 50% de degradació dels DDTs i HCB.

A l'histograma es pot comprovar que els plaguicides més fotosensibles són els DDEs, seguit de l'HCB, els DDTs i els DDD. A diferència del que succeïa amb les altres famílies de COPs

estudiades, aquí no es fa tant evident el mecanisme de degradació. Això es deu a que es tracta de compostos estructuralment diferents, i per això no es pot establir la relació de degradació/generació anteriorment observada.

Tot i així, que els contaminants que ofereixin menys resistència a la fotodegradació siguin els DDEs es pot explicar pel fet de que aquests presenten un doble enllaç fàcilment oxidable en presència de radiació a 254nm (apartat 4.2.4 del present capítol). Aquest procés de degradació donaria com a producte el respectiu DDD, fet que ajudaria a explicar l'elevat temps necessari per l'eliminació d'aquest últim. La degradació dels DDTs per via fotoquímica dona uns resultats molt diferents als de la seva degradació per metabòlisi a través dels éssers vius, a on el 4,4'-DDE és el metabolit més estable per deshidrocloració anaeròbia del DDT (Hong *et al.*, 1997).

Respecte al mecanisme de degradació de l'HCB, no s'ha pogut confirmar experimentalment que la seva eliminació és deguda a la pèrdua de clors, ja que no es disposava de patrons de benzens policlorats. Tot i així, altres autors han documentat que la seva principal via de fotodegradació és per aquest mateix mecanisme de deshalogenació, ja observat en el cas dels altres COPs (Yamada *et al.*, 2008) tal i com es representa en la *Figura 4.39*.

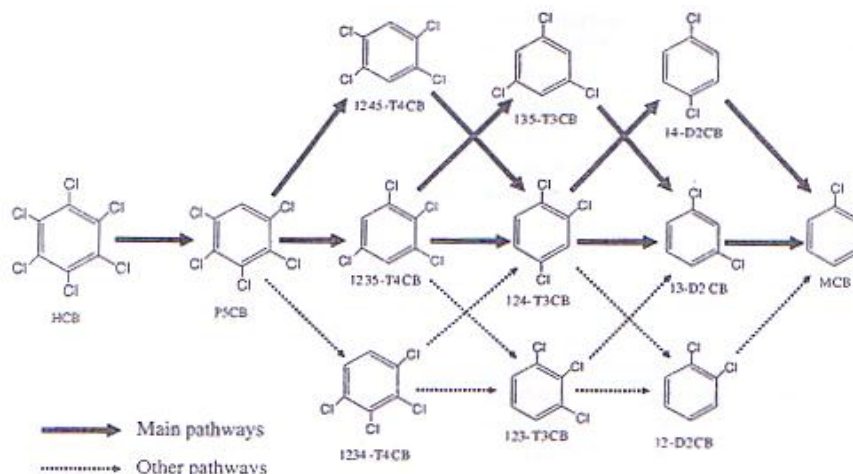


Figura 4. 39. Mecanisme de degradació fotoquímica de l'HCB segons Yamada *et al.*, 2008.

Segons aquesta figura, les pèrdues de clors més comuns són les que es donen en posicions –*meta* o en –*para* respecte dels carbons prèviament deshalogentas, ja que són aquells que continuen tenint més impediments estèrics.

Ajust matemàtic de les equacions de degradació

S'han determinat les equacions que descriuen l'eliminació del 4,4'-DDE i l'HCB. Com que en les condicions anteriors la seva fotodegradació ha estat molt ràpida –i per tant es disposa de pocs valors experimentals- s'ha repetit el procés d'irradiació de la mostra, però aquest cop treballant a la mínima potència del fotorreactor (4 làmpades, 16W). En aquestes noves condicions experimentals les equacions cinètiques determinades són les següents:

$$4,4'\text{-DDE: } C_A = 30.2 \cdot e^{-0.0574t}$$

$$\text{HCB: } C_A = 34.2 \cdot e^{-0.0205t}$$

Segons aquestes expressions matemàtiques, l'HCB es degrada més lentament que el 4,4'-DDE, tal i com s'ha comprovat empíricament en la *Figura 4.36*. Comparant els valors de les constants de degradació d'aquests dos contaminants amb la del BDE-183 (ambdues experiències es van realitzar irradiant la mostra amb 4 làmpades) s'observa que aquests dos plaguicides es degraden lleugerament més ràpid.

4.5.6. Comparació entre les cinètiques de degradació de cada família de COPs

Com s'ha comentat en els anteriors apartats, els diferents COPs objecte d'estudi s'han pogut degradar per exposició a llum ultraviolada de 254 nm. En la majoria de casos s'ha pogut confirmar que aquest mecanisme de fotodegradació és per pèrdua de clors (o broms en el cas dels PBDEs), seguint una cinètica de pseudo-primer ordre.

Tot i això, s'ha fet palès que les velocitats de degradació varien molt entre les diferents famílies de contaminants, i fins i tot entre els diferents congèneres dins d'una mateixa família. La *Taula 4.5* recull el temps necessari per a la completa degradació de cada un dels COPs estudiats, tenint en compte les condicions de fotodegradació.

Taula 4.5. Temps necessari per la degradació completa de cada un dels COPs estudiats.

Compost	Làmpades	Temps pel 100% de degradació (min)	Compost	Làmpades	Temps pel 100% de degradació (min)
PCB 28	8	1.5	2,3,7,8-TCDD	16	>180
PCB 52	8	>150	1,2,3,7,8-PeCDD	16	>180
PCB 101	8	50	1,2,3,4,7,8-HxCDD	16	>180
PCB 118	8	12	1,2,3,6,7,8-HxCDD	16	180
PCB 138	8	2	1,2,3,7,8,9-HxCDD	16	180
PCB 153	8	50	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	16	50
PCB 180	8	6	OCDD	16	30
PCB 77	16	>40	2,3,7,8-TCDF	16	>180
PCB 81	16	40	1,2,3,7,8-PeCDF	16	>180
PCB 105	16	10	2,3,4,7,8-PeCDF	16	92
PCB 114	16	0.5	1,2,3,4,7,8-HxCDF	16	92
PCB 118	16	6	1,2,3,6,7,8-HxCDF	16	180
PCB 123	16	40	2,3,4,6,7,8-HxCDF	16	92
PCB 126	16	>40	1,2,3,7,8,9-HxCDF	16	92
PCB 156	16	3.5	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	16	50
PCB 157	16	>40	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	16	>180
PCB 167	16	8	OCDF	16	15
PCB 169	16	40	HCB	16	6
PCB 189	16	1.5	2,4'-DDE	16	8
BDE-28	4	4.3	4,4'-DDE	16	15
BDE-47	4	3.7	2,4'-DDD	16	60
BDE-99	4	2.7	4,4'-DDD	16	>90
BDE-100	4	3.7	2,4'-DDT	16	60
BDE-153	4	2.0	4,4'-DDT	16	20
BDE-154	4	3.0			
BDE-183	4	2.3			
BDE-209	4	0.2			

Aquesta taula ajuda a evidenciar que, en línies generals, la resistència a la fotodegradació de les diferents famílies de COPs estudiades és el següent (de menys a més estable):

PBDEs << PCBs indicadors < DDTs i HCB < PCBs similars a dioxines < PCDD/Fs

Els PBDEs són els contaminants menys resistents a la llum ultraviolada degut a que l'energia de l'enllaç C-Br és menor a la de C-Cl, fent que aquests COPs siguin més fàcilment deshalogenables.

Els PCBs indicadors són degradats més fàcilment que els seus homòlegs similars a dioxines, però dins del mateix ordre de magnitud. Això es deu a que els primers presenten més estructures amb clors en posició *-orto*, fet que impedeix que la molècula prengui una configuració més plana i estable. El substituent en aquesta posició tenen un ordre d'enllaç més baix i es trenquen més fàcilment.

Les PCDD/Fs són els contaminants que ofereixen una major resistència a la degradació fotoquímica degut a la seva estructura de doble anell aromàtic tancat, que és més plana, rígida i estable.

Finalment, els plaguicides són la família de COPs estudiada que ha presentat major diversitat de comportament enfront a la radiació UV, degut a les seves diferències estructurals. En general, la seva fotosensibilitat és del mateix ordre que pel cas dels PCBs indicadors, tot i que és destacable l'elevada resistència de l'isòmer 4,4'-DDD.

4.6. Fotodegradació COP en oli de peix a 254 nm

Tal i com es defineix en l'exposició d'objectius del primer capítol, la finalitat del present estudi de degradació de COPs és l'aplicació del mètode fotoquímic desenvolupat en la reducció d'aquests contaminants en oli de peix.

Un cop es coneixen bé els efectes de la radiació a 254 nm en la degradació fotoquímica de PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, DDTs i HCB en hexà, es procedeix a estudiar la seva eliminació en l'oli en qüestió. Per a aquest estudi, s'ha fet servir oli de tonyina refinat, el mateix que s'havia caracteritzat a l'apartat 2.7.1 del segon capítol.

Amb aquesta finalitat, s'ha partit d'una alíquota de 30 g d'oli de tonyina refinat. La mostra s'ha irradiat amb el fotorreactor a la màxima potència (16 làmpades de 254 nm, 64W), prenent alíquotes a les 3, 6, 9 i 12 hores de tractament.

L'anàlisi dels COPs de cada una de les mostres, juntament amb l'oli inicial, s'ha dut a terme d'acord amb els mètodes analítics desenvolupats en el capítol 2.

Les concentracions totals de COPs determinades en cada una de les alíquotes tractades es resumeixen en la *Taula 4.6*.

Taula 4. 6. Concentracions de COPs en els olis de peix tractats amb el fotorreactor.

	Temps d'irradiació				
	0 hores	3 hores	6 hores	9 hores	12 hores
Σ PCDD/F (pg/g)	12.0	14.0	11.3	9.86	7.87
Σ PCDD/F (pg WHO-TEQ/g)	2.04	1.23	1.38	1.42	1.16
Σ dI-PCB (ng/g)	9.00	13.3	14.7	14.9	15.4
Σ dI-PCB (pg WHO-TEQ/g)	7.58	72.9	107	127	138
Σ PCBs indicadors(ng/g)	57.7	47.2	37.6	32.6	27.0
Σ PBDEs (ng/g)	8.18	5.48	4.17	3.25	2.74
Σ DDTs (ng/g)	71.3	38.7	27.3	24.3	19.4
HCB (ng/g)	3.35	2.64	2.07	1.69	1.38

Aquestes concentracions es troben més detallades en l'annex de la present tesi doctoral. A continuació s'estudien els resultats per a l'eliminació de cadascuna de les diferents famílies de contaminants.

Eliminació de PCBs indicadors

La degradació fotoquímica d'aquest contaminant en l'oli de peix observada en les dades de la *Taula 4. 6* es pot veure representada en la *Figura 4.40*, expressada en percentatge d'eliminació al llarg del temps d'irradiació.

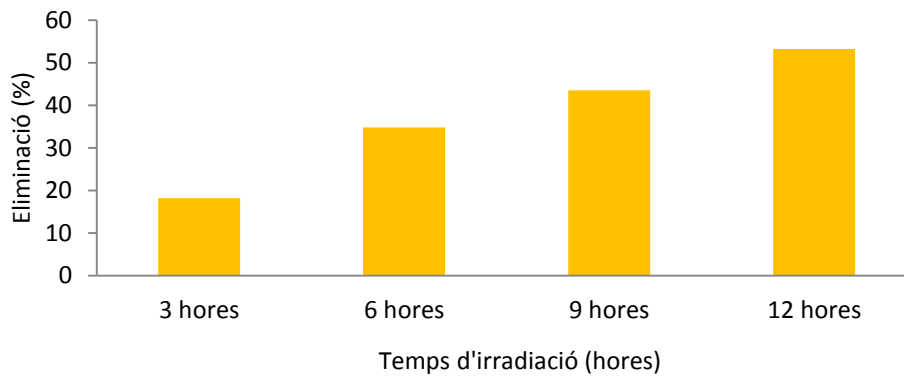


Figura 4. 40. Fotodegradació de PCBs indicadors en oli de peix.

El primer fet destacable és que la degradació dels PCBs indicadors en oli de peix és molt més lenta que en hexà, que en aquestes condicions d'irradiació (16 làmpades) s'havien degradat totalment en menys de 40 minuts. Probablement, aquest fet es deu a l'efecte matriu, degut a l'apantallament de la radiació UV per part de l'oli enfront als contaminants. Això fa pensar que s'estigui degradant una part d'aquest en lloc dels analits objecte d'estudi, i per aquest motiu és recomanable l'estudi de l'estat de l'oli després del tractament fotoquímic.

Tot i així, després de 12 hores d'exposició de l'oli de tonyina a la llum UV s'ha aconseguit eliminar més d'un 53% de la presència inicial de PCBs indicadors. Els congèneres que proporcionalment han sofert una major eliminació són aquells que presentaven una concentració inicial més elevada (principalment PCB-138 i -153), degut a que les cinètiques de degradació de pseudo-primer ordre depenen d'aquest paràmetre. Per altra banda, les concentracions d'aquells congèneres de seguiment de menor grau de cloració (PCB-28, -52) no han variat significativament, i tampoc s'ha pogut observar amb claredat el fenomen de generació a partir de congèneres de major grau d'halogenació, tal i com succeïa amb l'estudi de patrons en hexà.

Eliminació de PCBs similars a dioxines

La fotodegradació d'aquesta família de COPs en oli de tonyina al llarg del temps d'exposició a la llum UV es mostra en la *Figura 4.41*. En aquest cas s'hi pot observar el seu percentatge d'eliminació calculat a partir de la seva concentració en unitats màssiques (ng/g, esquerra) i de toxicitat (pg WHO-TEQ/g, dreta).

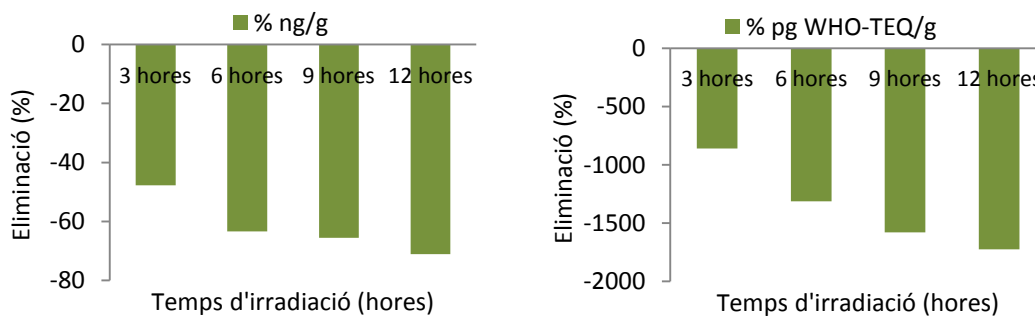


Figura 4. 41. Fotodegradació de PCBs similars a dioxines en oli de peix.

Pels PCBs similars a dioxines s'ha observat una degradació negativa, o el que és el mateix, que s'estan generant al llarg del temps d'irradiació. Una possible explicació per aquest fenomen és que la matriu d'estudi (que és d'origen natural) està contaminada per un elevat nombre de diferents congèneres de PCBs, no només pels 12 congèneres habituals de seguiment. Quan són degradats fotoquímicament descomponen en estructures amb una configuració més estable, de PCB similar a dioxines, i per tant augmenta la seva concentració.

Aquest fet és confirmat per l'augment de la concentració de congèneres menys clorats, com és el cas del PCB-77. Aquest congènere té una estructura comuna amb molts d'altres PCBs, i per això la seva concentració augmenta de 0.13 a 7.72 ng/g en 12 hores de tractament fotoquímic.

Si es comparen els resultats d'eliminació en unitats màssiques o toxicològiques es pot comprovar com en el segon cas l'augment de concentració és molt major (71 i 1725% respectivament). Això es deu a que, tal i com s'ha comentat anteriorment, els PCBs que es generen són aquells que són més estables, que al mateix temps habitualment també són els que tenen un factor toxicològic més elevat.

Eliminació de PBDEs

El percentatge d'eliminació d'aquesta família de contaminants es representa en la *Figura 4.42*.

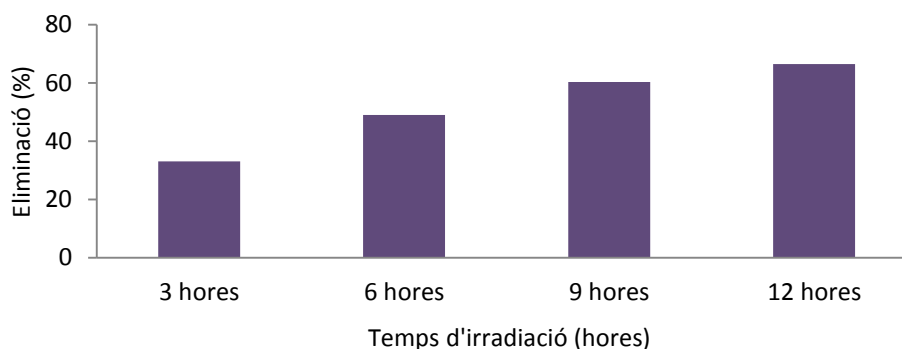


Figura 4. 42. Fotodegradació de PBDEs en oli de peix.

Igual que en els estudis amb dissolucions d'hexà, els PBDEs són els COPs que es degraden més fàcilment en presència de llum UV, atribuïble a la menor energia d'enllaç C-Br respecte a la de C-Cl. De la mateixa forma que amb els PCBs indicadors, les cinètiques de degradació en oli de peix han estat més lentes que en l'estudi previ amb patrons, per l'efecte d'apantallament de la matriu.

Les eliminacions d'aquest COP varien entre un 33% a les 3 hores d'irradiació fins a un 67% al cap de 12 hores. Tot i que globalment el que s'observa és la eliminació de PBDEs, si s'estudia el cas congènere a congènere es pot veure com els compostos menys bromats (BDE-28) són generats inicialment, per acabar sent degradats en gran part.

Les cinètiques de degradació segueixen una tendència de pseudo-primer ordre, sent proporcionalment més degradats aquells congèneres que presentaven una concentració inicial més elevada.

Eliminació de DDTs i HCB

L'eliminació dels plaguicides organoclorats DDTs i HCB es mostren en la *Figura 4.43*.

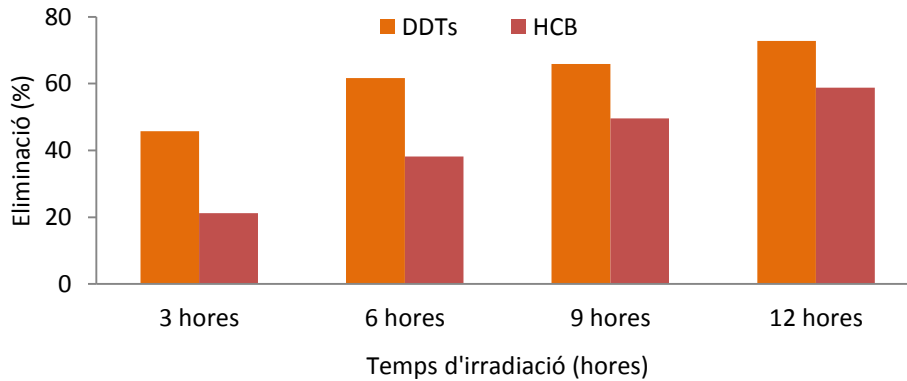


Figura 4. 43. Fotodegradació de DDTs i HCB en oli de peix.

Com es pot veure a l'histograma, l'eliminació de DDTs és molt ràpida durant les primeres hores d'irradiació, assolint un 46% de degradació en només 3 hores d'exposició a la llum UV. Això es deu a la ràpida eliminació dels isòmers menys resistents a la fotodegradació d'aquests plaguicides, com el 2,4'-DDE. A més, aquest contaminant és el que es troba en major concentració inicial en l'oli, fet pel qual la cinètica de degradació de pseudo-primer ordre fa que encara s'elimini més ràpidament. Després d'aquest temps, la degradació del total de DDTs es desaccelera, arribant a un màxim de degradació del 73% a les 12 hores.

Pel que fa a l'HCB, la seva degradació inicial no és tant elevada com la del total de DDTs, sent del 21% a les 3 hores de tractament fotoquímic. Tot i així, l'eliminació d'aquest contaminant és més progressiva, arribant a eliminacions del mateix ordre que els DDTs (59%) després de 12 hores d'irradiació.

Eliminació de PCDD/Fs

La degradació fotoquímica d'aquesta família de contaminants es troba representada a l'histograma de la *Figura 4.44*, on es poden observar les eliminacions calculades a partir d'unitats de concentració màssiques (pg/g) o toxicològiques (pg WHO-TEQ/g).

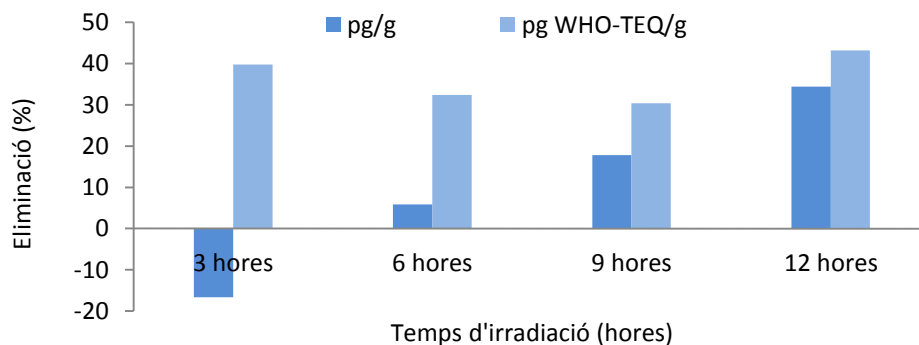


Figura 4. 44. Fotodegradació de PCDD/Fs en oli de peix.

En aquest cas les tendències observades inicialment són molt diferents si s'estudia l'eliminació des d'un punt de vista màssic o toxicològic.

Pel que fa als resultats d'eliminació calculats en unitats de pg/g, s'observa una generació de PCDD/Fs del 17% a les 3 hores d'irradiació, per dechloració de congèneres presents en l'oli no monitoritzats a les estructures de seguiment. Tot i així, en incrementar les hores de tractament fotoquímic de la mostra, el total de PCDD/Fs s'acaba degradant fins a un 34% de la seva concentració inicial a les 12 hores de tractament.

Si s'estudia l'eliminació de PCDD/Fs des d'un punt de vista toxicològic, es pot observar una degradació inicial força elevada, del 40%. Aquesta diferència respecte als resultats en pg/g indica que els congèneres més contaminants presents en l'oli de peix han estat eliminats en major proporció. Aquesta eliminació inicial en manté més o menys constant al llarg del temps d'irradiació, obtenint una degradació final del 43% al cap de 12 hores d'exposició de l'oli a la llum UV.

Comparació de l'eliminació dels diversos COPs en oli de tonyina

La *Figura 4.45* representa en un mateix histograma l'eliminació de cada una de les famílies de contaminants (en unitats màssiques), per tal de facilitar la comparació entre els seus resultats.

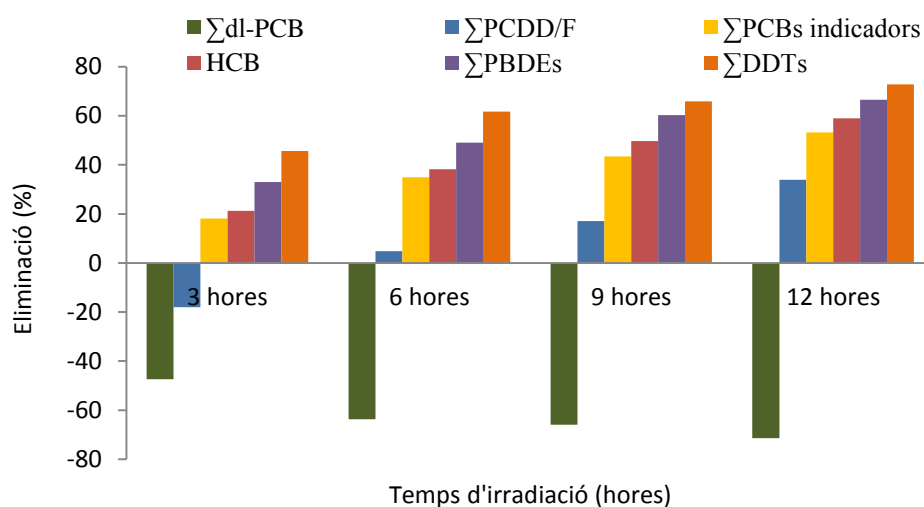


Figura 4. 45. Fotodegradació de COPs en oli de peix.

En general, d'aquest estudi de degradació fotoquímica de COPs en oli de peix es pot concloure que els contaminants que sofreixen una major degradació al cap de 12 hores d'irradiació amb 16 làmpades són els DDTs (73%), seguit pels PBDEs (67%), HCB (59%), PCBs indicadors (53%) i PCDD/Fs (34%).

Pel cas dels PCBs similars a dioxines, el tractament de l'oli no ha estat efectiu, doncs la seva concentració ha augmentat en un 71%. Aquest fenomen es deu a que són generats a partir d'altres congèneres més clorats, presents inicialment en l'oli però no monitoritzats durant l'estudi.

4.7. Bibliografia

- Baron P, Torger J (2005). UV treatment of fishmeal: a method to remove dioxins?, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53:7091-7097.
- Bertran J, Branchadell V, Moreno M, Sodupe, M (2002). *Química cuántica*. 2ª edició, Madrid. Editorial síntesis.
- Bunce NJ, Safe S, Ruzo LO (1975). Photochemistry of Bromobiphenyls: Steric effects and electron transfer. *Journal of the Chemical Society Perkin 1*: 1607-1610.
- Bunce NJ, Kumar Y, Ravanal L, Safe S (1978). Photochemistry of polychlorinated biphenyls in iso-octane solution. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*: 880-884.
- Colombini MP, di Francesco F, Fuoco R (1996). Photodegradation of dibenzo-*p*-dioxins in liquid samples in near UV light irradiation. *Microchemical Journal* 54: 331-337.
- EPA 1614 Method. 2007. Brominated biphenyl ethers in water, soil, sediment and tissue by HRGC-HRMS.
- Fang L, Huang J, Yu G, Wang L (2008). Photochemical degradation of six polybrominated diphenyl ether congeners under ultraviolet irradiation in hexane. *Chemosphere*. 71:258-267.
- Hawari J, Tronczynski J, Demeter A, Samson R, Mourato D (1991). Photodechlorination of chlorobiphenyls by sodium methyl silicate. *Chemosphere* 22 (1-2): 189-199.
- Hong J, Yoo JS, Jung SY, Kim MJ (1997). Identification of photodegradation products of DDT in water. *Analytical Sciences* 13: 75-82.
- Huang IW, Hong CS, Bush B (1996). Photocatalytic degradation of PCBs in TiO₂ aqueous suspensions. *Chemosphere* 32 (9): 18-69-1881.
- Hung LS, Ingram LL (1990). Effect of solvents on the photodegradation rates of octachlorodibenzo-*p*-dioxin. *Environmental Contaminants Toxicology* 44:380-386.
- Isosaari P, Tuhkanen T, Vartiainen T (2004). Photodegradation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in soil with vegetable oil. *Environmental Science and Pollution Research* 11 (3): 181-185.
- Izadifard M, Gopal A, Langford CH (2008). The pathway of dechlorination of PCB congener by a photochemical chain process in 2-propanol: the role of medium and quenching. *Chemosphere*. 73:1328-1334.
- Kierkegaard A, Sellström U, McLachlan MS (2009). Environmental analysis of higher diphenyl ethers and decabromodiphenyl ethane. *Journal of Chromatography A* 1216: 364-375

- Kim M, O'Keefe PW (2000). Photodegradation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in aqueous solutions and in organic solvents. *Chemosphere*. 41: 793-800.
- Konstantinov AD, Johnston AM, Cox BJ, Petrulis JR, Orzechowski MT, Bunce NJ (2000). Photolytic method for destruction of dioxins in laboratory waste and identification of the photoproducts from 2,3,7,8-TCDD. *Environmental Science and Technology* 34: 143-148.
- Korytar P, Covaci A, Leonards PEG, de Boer J, Brinkam UA (2005). Comprehensive two-dimensional gas chromatography of polybrominated diphenyl ethers. *Journal of Chromatography A* 1100 (2): 200-207.
- Koshioka M, Ishizaka M, Yamada T, Kanazawa J, Murai T (1989). Quantum yields of the photodegradation of 1,2,3,4-, 1,3,6,8-, and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxins and their half-life periods. *Journal of Pesticide Science* 15: 39-45.
- Lepine FL, Milot SM, Vincent NM, Gravel D (1991). Photochemistry of higher chlorinated PCBs in cyclohexane. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 2053-2056.
- Logan SR (2000). *Fundamentos de Cinética Química*. Ed. Iberoamericana, Madrid.
- Miao XS, Chu SG, Xiao-Bai X (1999). Degradation pathways of PCBs upon UV irradiation in hexane. *Chemosphere*. 39:1639-1650.
- Minghui Z, Zhicheng B, Xiaobai X, Keou W (1996). Mechanism of photodegradation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins in carbon tetrachloride. *Chemosphere* 32 (4), 603-607.
- Mydlová J, Krupcyk J, Korytár P, Sandra P (2007). On the use of computer assisted resolution of non-separable peaks in a congener specific polybrominated diphenyl ether capillary gas chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A* 1147:95-104.
- Mills A, Hunte S (1997). An overview of semiconductor photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 108 (1): 1-35.
- Ohno T, Sarukawa K, Tokieda K, Matsumura M (2003). Morphology of a TiO₂ photocatalyst (Degussa, P-25) consisting of anatase and rutile crystalline phases. *Journal of catalysis* 203 (1): 82-86.
- Sanchez-Prado L, Llompart M, Lores M, Garcia-Jares C, Cela R (2005). Investigation of photodegradation products generated after UV-irradiation of five polybrominated diphenyl ethers using photo solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1071: 85-92.
- Ruzo LO, Zabik MJ, Schuetz RD (1973). Photochemistry of bioactive compounds. Photochemical processes of polychlorinated biphenyls. *Journal of the American Chemical Society* 96 (12): 3809-3813.

- Ruzo LO, Zabik MJ, Schuetz RD (1974). Photochemistry of bioactive compounds. Photoproducts and kinetics of polychlorinated biphenyls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 22 (2): 199-202.
- Wagner PJ (1967). Conformational changes involved in the singlet-triplet transitions of biphenyl. *Journal of the American Chemical Society* 89 (12): 2820-2825.
- Wu CH, Chang-Chien GP, Wei SL (2004). Photodegradation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins: comparison of photocatalysts. *Journal of Hazardous Materials* B114:191-197.
- Xie Q, Chen J, Chang'er C, Zhao H, Hao C (2009). Important role of reaction field in photodegradation of decabromodiphenyl ether: Theoretical and experimental investigations of solvent effects. *Chemosphere* 76, 1486-1490.
- Yamada S, Naito Y, Takada M, Nakai S, Hosomi M (2008). Photodegradation of hexachlorobenzene and theoretical prediction of its degradation pathways using quantum chemical calculation. *Chemosphere* 70:731-736.
- Yang J, Dai J, Cheng C, Zhao J (2009). Effects of hydroxyl radicals and oxygen species on the 4-chlorophenol degradation by photoelectrocatalytic reactions with TiO₂-film electrodes. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 208: 66–77.
- Zeng X, Staci L, Kristin RR, Korytár P, Alvarez-Cohen L, Barofsky DF (2008). Development and validation of a congener –specific photodegradation model for polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (12): 2427-2435.

**5. ELIMINACIÓ DE COPs EN OLI DE PEIX MITJANÇANT
ADSORCIÓ EN CARBÓ ACTIU I FOTODEGRADACIÓ**

5.1. Introducció

Per tal d'eliminar els COPs en oli de peix, fins al present capítol s'han estudiat dues possibles tècniques: l'eliminació de COPs mitjançant adsorbents sòlids (capítol 3) i mitjançant tècniques fotoquímiques (capítol 4).

Els mecanismes d'eliminació per a cada una de les metodologies estudiades es fonamenten en principis físics totalment diferents; adsorció en la superfície d'un sòlid o fotodegradació. En conseqüència, els resultats obtinguts varien molt en funció de la tècnica emprada.

Com a continuació d'aquests dos estudis, el present capítol s'inicia amb la comparació de les eliminacions de COPs en oli de peix observades individualment per a cada un dels mètodes desenvolupats (**apartat 5.2**).

Degut a la complementarietat dels resultats obtinguts en ambdós casos, s'ha estudiat empíricament l'eliminació de COPs en oli de peix que s'obté al combinar els mètodes d'adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica. El disseny de l'experiment s'inclou en l'**apartat 5.2**, i els resultats d'eliminació per a cada família de COPs es presenten en l'**apartat 5.3**. Per tal de completar l'estudi, finalment s'ha estudiat la qualitat dels olis tractats mitjançant la determinació del seu contingut en àcids grassos omega-3 (**apartat 5.4**).

En l'**apartat 5.5** es comparen els resultats d'eliminació obtinguts mitjançant les tres tècniques desenvolupades durant tota la tesi (adsorció en carbó actiu, degradació fotoquímica i mètode combinat). També s'exposen les condicions experimentals finals que permeten una millor eliminació de COPs en oli de peix tenint en compte totes les metodologies desenvolupades, tant des del punt de vista dels contaminants com de la qualitat de l'oli. Finalment, la bibliografia citada en aquest capítol s'inclou en l'**apartat 5.6**.

5.2. Eliminació de COPs en oli de peix combinant adsorció en carbó actiu i fotodegradació

Fins al present apartat s’han estudiat de forma independent les eliminacions de COPs en oli de peix obtingudes a partir d’adsorció en carbó actiu (capítol 3) i degradació fotoquímica (capítol 4). Els resultats obtinguts mitjançant ambdues tècniques per separat han estat molt diferents, mostrant certa complementarietat en l’eliminació de cada una de les famílies de COPs estudiades.

Mentre que l’adsorció en sòlids s’ha mostrat altament efectiva per aquells compostos més plans (PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines i HCB), la degradació fotoquímica s’ha mostrat més adequada per als contaminants menys plans o amb estructures menys estables (PCBs indicadors, PBDEs i DDTs). Els resultats obtinguts amb ambdós mètodes optimitzats es resumeixen en la *Taula 5.1*.

Taula 5.1. Eliminació de COPs en oli de peix mitjançant adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica (12 hores d’irradiació).

Contaminant	Eliminació per adsorció en carbó actiu	Eliminació per degradació fotoquímica
PCDD/Fs	99% (99%)	34% (43%)
PCBs similars a dioxines	36% (81%)	-71% (-1725%)
HCB	70%	59%
PCBs indicadors	11%	53%
PBDEs	9%	67%
DDTs	27%	73%

En lletra **verda** es mostren les millors eliminacions, i en **vermella** les pitjors. Entre parèntesis es mostren les eliminacions calculades en unitats de pg WHO-TEQ/g.

Per aquest motiu en el present apartat s’ha estudiat l’eliminació de COPs que s’obté al combinar les dues metodologies desenvolupades.

Un factor que pot tenir una gran influència en els resultats finals és l’ordre en què s’aplica cada un dels mètodes de reducció de COPs. Particularment, pot ser determinant pel cas dels PCBs similars a dioxines, on en la etapa de fotodegradació s’ha observat que la concentració dels congèneres estudiats augmenta degut a la seva generació a partir d’altres congèneres no monitoritzats. Aquest és un dels principals motius pel qual s’ha dut a terme el present estudi.

En aquest cas, si es realitza primer la fotodegradació de l’oli, la posterior etapa d’adsorció podria ajudar a eliminar els nous PCBs generats. En canvi, si es realitza primer l’etapa d’adsorció pot ajudar a eliminar els possibles precursors d’altres PCBs que es degraden durant l’etapa de degradació fotoquímica.

En el present estudi s’ha decidit optar per la primera opció (primer fotodegradació, després adsorció), ja que d’aquesta manera es prioritza la tècnica que permet una millor eliminació dels compostos que es troben regulats per diverses normatives de la UE (Normatives 1881/2006 i 1883/2006) en incloure-la com a última etapa. Altrament, es podrien tornar a generar PCBs similars a dioxines ja eliminats per adsorció degut durant la posterior degradació fotoquímica d’altres congèneres.

Capítol 5. Eliminació de COPs en oli de peix mitjançant adsorció en carbó actiu i fotodegradació

Per tal de dur a terme l'estudi, s'ha pres una alíquota de 60 grams d'oli de salmó refinat, que s'ha irradiat amb el fotorreactor a la màxima potència (16 làmpades de 254 nm, 64W), prenent-se alíquotes al cap de 3, 6, 9 i 12 hores de tractament. En aquest cas l'alíquota inicial ha estat major que en l'anterior estudi fotoquímic, ja que durant la posterior etapa d'adsorció en carbó actiu una petita part d'aquesta es perd durant el pas de filtrat.

Seguidament, cada una de les alíquotes –juntament amb l'oli inicial- ha estat tractada amb carbó actiu, segons el mètode d'adsorció optimitzat del capítol 3: 2.5% d'adsorbent (Norit SA 4PAH-HF) durant 37.5 minuts, a una temperatura de 80°C i pressió ambiental (1000 hPa), en oli de peix refinat.

La *Taula 5.2* mostra les condicions experimentals i la codificació de cada una d'aquestes mostres.

Taula 5.2. Codificació de les mostres de l'estudi d'eliminació de COPs per adsorció i fotodegradació.

Codi mostra	Adsorció en carbó actiu	Fotodegradació
Oli inicial	No	No
0h FQ + CA	Sí	No
3h FQ + CA	Sí	Sí (3 hores)
6h FQ + CA	Sí	Sí (6 hores)
9h FQ + CA	Sí	Sí (9 hores)
12h FQ + CA	Sí	Sí (12 hores)

5.2.1. Eliminació de COPs

Les concentracions de COPs en les mostres tractades han estat determinades d'acord amb els mètodes analítics desenvolupats en el segon capítol. Aquestes es poden trobar resumides en la següent taula (*Taula 5.3*).

Taula 5.3. Concentracions de COPs en oli de peix tractats amb carbó actiu i fotoquímicament.

	Mostra					
	Oli inicial	0h FQ + CA	3h FQ + CA	6h FQ + CA	9h FQ + CA	12h FQ + CA
Σ PCDD/F (pg/g)	36.3	1.15	0.68	0.84	0.20	0.51
Σ PCDD/F (pg WHO-TEQ/g)	7.21	0.12	0.003	0.11	0.10	0.10
Σ dI-PCB (ng/g)	38.9	23.2	20.0	16.8	14.3	10.4
Σ dI-PCB (pg WHO-TEQ/g)	19.8	4.31	13.0	13.4	16.7	14.4
Σ PCBs indicadors (ng/g)	197	186	144	118	100	75.0
Σ PBDEs (ng/g)	11.5	9.94	7.61	5.78	4.55	3.43
Σ DDTs (ng/g)	103	94.6	81.5	68.8	56.8	41.3
HCB (ng/g)	8.23	3.02	2.36	1.80	1.41	0.92

Aquests valors es troben més detallats en l'annex de la present tesi doctoral. A continuació es mostren els resultats de l'eliminació per a cada una de les famílies de contaminants.

Eliminació de PCDD/Fs

La *Figura 5.1* mostra la concentració de PCDD/Fs al llarg del tractament amb adsorbent i fotodegradació (esquerra), així com el percentatge d'eliminació que això suposa (dreta). Degut a l'elevada eliminació observada, aquesta última figura es troba escalada entre un 95-100% d'eliminació.

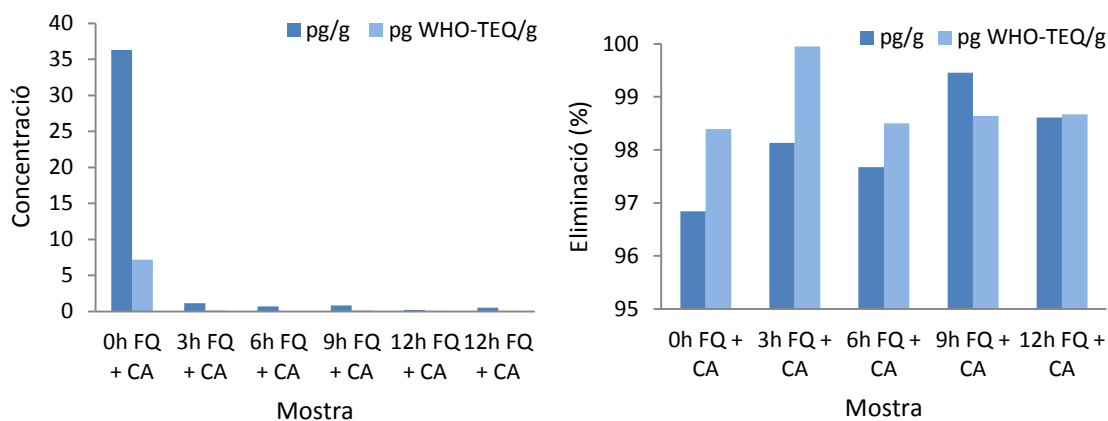


Figura 5.1. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) de PCDD/Fs en oli de peix per degradació fotoquímica i adsorció en carbó actiu.

Tal i com es pot observar en la figura, només amb el procés d'adsorció en carbó actiu (0h FQ + CA) ja s'aconsegueix reduir en un 97% la contaminació inicial de PCDD/Fs de l'oli de salmó. Per al cas d'aquests COPs, el mètode d'adsorció per sí sol ja seria suficient com per eliminar-lo quantitativament de l'oli de peix, sent innecessària l'etapa de degradació fotoquímica.

Tot i així, combinant aquesta tècnica amb la fotodegradació de la mostra s'ha aconseguit augmentar lleugerament l'eliminació de PCDD/Fs fins a un 99% de la seva concentració inicial en l'oli de salmó.

Els resultats obtinguts són igualment efectius tant des d'un punt de vista de concentració màssica (pg/g) com toxicològic (pg WHO-TEQ/g), amb eliminacions també entorn al 99% quan són calculades amb aquestes darreres unitats de concentració.

Eliminació de PCBs similars a dioxines

La concentració de PCBs similars a dioxines al llarg del tractament amb adsorbent i degradació fotoquímica (esquerra), així com els percentatges d'eliminació que això suposa (dreta) es mostren en la *Figura 5.2*.

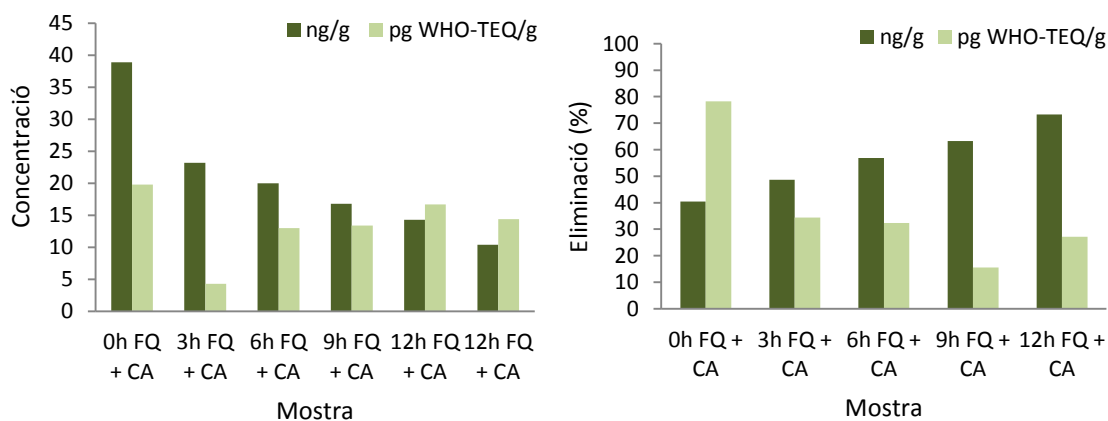


Figura 5.2. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) de PCBs similars a dioxines en oli de peix per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica.

Pel cas d'aquests contaminants, la major part de l'eliminació és deguda a l'adsorció en carbó actiu, amb una disminució del 40%. Aquest valor augmenta fins a 78% si es calcula en unitats pg WHO-TEQ/g. Els resultats són del mateix ordre de magnitud que els obtinguts en el capítol 3 (36 i 81% respectivament), fet que fa palesa la robustesa del mètode d'adsorció.

Tot i així, si a més la mostra és tractada fotoquímicament, els valors d'eliminació van augmentant amb el temps d'irradiació, fins a un màxim d'un 73% de la seva concentració massica inicial. Aquest resultat suposa una notable millora respecte als que s'obtenen del procés de degradació fotoquímica, on en lloc d'observar-se una eliminació de contaminants s'obté un augment de la seva concentració per decloració d'altres congèneres més halogenats no inclosos en l'estudi. Possiblement aquest fenomen es deu continuar donant durant l'etapa de fotodegradació, però l'eliminació global millora ja que els PCBs que es generen en major proporció durant aquesta etapa (aquells que no tenen clors en *-orto*) són també els que s'eliminen millor en la posterior etapa d'adsorció, al ser més plans.

La interpretació d'aquests resultats varia molt si es té en compte l'eliminació des d'un punt de vista de toxicitat, calculada amb unitats pg WHO-TEQ/g. En aquest cas, l'eliminació per adsorció en el sòlid continua sent molt eficaç. Quan la mostra és irradiada, els PCBs que es degraden solen perdre els clors més làbils (generalment en posició *-orto*) per donar lloc a estructures més estables, generalment similars a dioxines (veure apartat 4.5.2 de la present tesi). És per això que, com més perllongada és l'exposició de l'oli de peix a la llum ultraviolada, més PCBs similars a dioxines es generen.

Tot i així, la posterior etapa d'adsorció aconsegueix eliminar aquests nous congèneres generats -i una part dels que ja hi havia inicialment-, ja que l'eliminació neta per a totes les mostres és positiva, encara que disminueix amb el temps d'irradiació.

La principal diferència entre els resultats d'eliminació en unitats de ng/g o pg WHO-TEQ/g resideix en que els PCBs degradats tendeixen a generar aquells congèneres més tòxics en major proporció, que són els que tenen una major contribució en el sumatori total de contaminants.

Des del punt de vista màssic els resultats obtinguts mitjançant fotodegradació i adsorció en carbó actiu milloren els que s'obtenen a partir de les dues tècniques per separat. D'acord amb aquest criteri, els millor resultats s'obtenen mitjançant el tractament amb carbó actiu i 12 hores d'irradiació UV, amb una eliminació del 73% de la concentració inicial (anteriorment s'havia obtingut un 36% d'eliminació per adsorció en carbó actiu i -71% per fotodegradació).

No obstant, des del punt de vista toxicològic la millor eliminació s'obté quan només es tracta l'oli amb carbó actiu, sense irradiar. Degut a que aquests olis solen tenir finalitat alimentària, caldria prioritzar aquest segon criteri d'interpretació dels resultats.

Eliminació de PCBs indicadors

Els resultats obtinguts pel cas dels PCBs indicadors es mostren en la *Figura 5.3*, a on a l'esquerra es pot veure l'evolució de les concentracions al llarg del procés de reducció de COPs, i a la dreta els mateixos resultats expressats en percentatge d'eliminació.

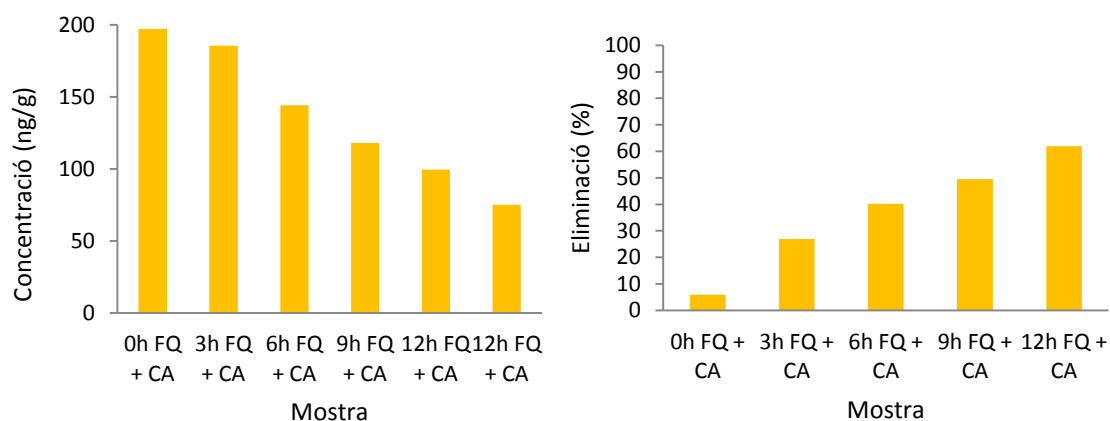


Figura 5.3. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) de PCBs indicadors en oli de peix per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica.

A diferència dels PCBs similars a dioxines i PCDD/Fs, l'eliminació de PCBs indicadors obtinguda mitjançant aquesta tècnica combinada de reducció de COPs en oli de peix és en major part deguda a la degradació fotoquímica dels analits.

Mentre que l'etapa d'adsorció en carbó actiu només ha aconseguit eliminar un 6% de la concentració inicial d'aquesta família de contaminants, aquest valor augmenta amb el temps d'irradiació de la mostra, fins a un 62% al cap de 12 hores de tractament.

Aquesta reducció de PCBs indicadors mitjançant la tècnica combinada millora les que s'obtenen dels processos d'adsorció i fotodegradació per separat (11 i 53% d'eliminació, respectivament).

Eliminació de PBDEs

A la *Figura 5.4* es mostren les concentracions (dreta) i eliminacions (esquerra) de PBDEs que se'n deriven, obtingudes a partir del procés de reducció de COPs combinat.

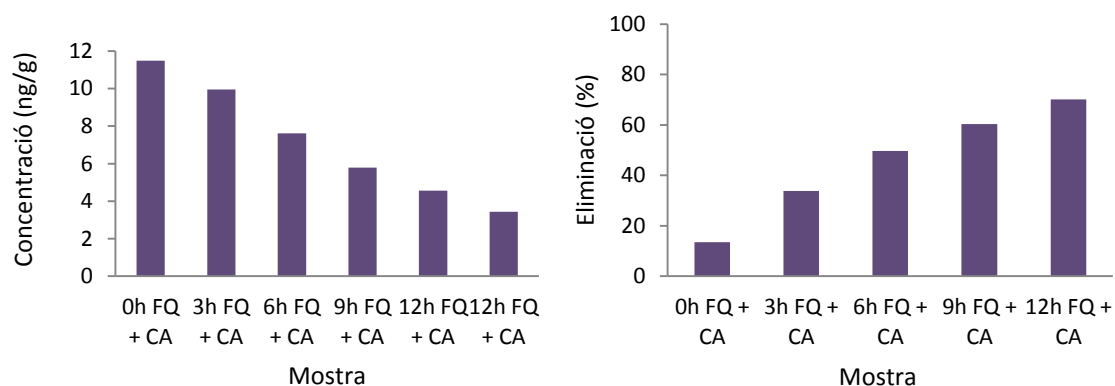


Figura 5.4. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) de PBDEs en oli de peix per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica.

Els resultats que mostren les figures són coherents respecte al que caldria esperar tenint en compte els que s'obtenen d'ambdós processos d'eliminació per separat, i seguint el mateix comportament que els PCBs indicadors.

Dels resultats d'eliminació globals, la reducció de PBDEs deguda al procés d'adsorció és molt baixa (14%), i es deu bàsicament al procés de degradació per exposició a la llum ultraviolada. La disminució dels nivells d'aquesta família de COPs augmenta amb el temps d'irradiació, fins a un màxim d'un 70% de degradació al cap de 12 hores de tractament. Aquests resultats d'eliminació de PBDEs milloren lleugerament els que s'obtenen a partir dels dos processos de reducció de COPs per separat (9 i 67% per adsorció i fotodegradació, respectivament).

Eliminació de DDTs

La concentració de DDTs resultant del tractament amb carbó actiu i fotodegradació (esquerra), i els percentatges d'eliminació que aquestes suposen (dreta) es mostren en la *Figura 5.5*.

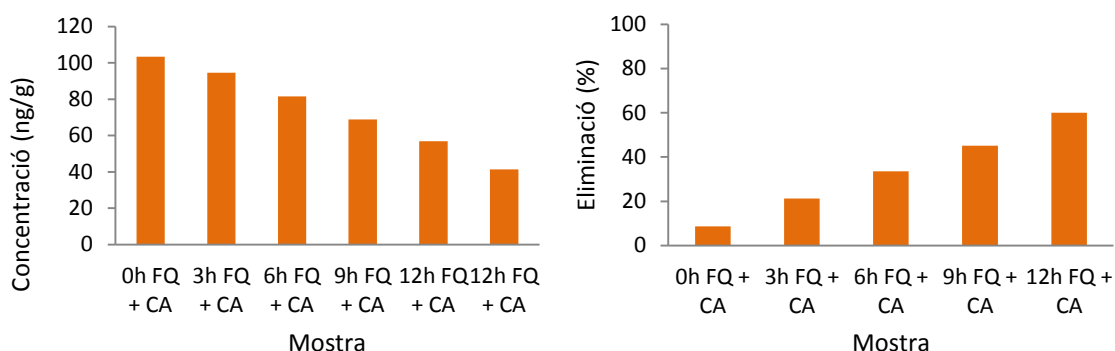


Figura 5.5. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) de DDTs en oli de peix per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica.

Tal i com es pot observar en la figura, l'eliminació d'aquest plaguicida organoclorat és baixa (9%) durant l'etapa d'adsorció en carbó actiu, i és molt més dependent de l'etapa de degradació fotoquímica. Aquest valor pren un màxim de 61% al cap de 12 hores d'irradiació de l'oli de peix amb el fotorreactor a la màxima potència (16 làmpades de 254 nm, 64W).

En aquest cas, l'eliminació de DDTs mitjançant la tècnica combinada ha estat millor que la que s'obté només del tractament amb carbó actiu (27%) i del mateix ordre que la obtinguda a través de degradació fotoquímica (73%).

Eliminació d'HCB

Finalment, les concentracions (esquerra) i eliminacions (dreta) d'HCB en oli de peix mitjançant la tècnica de reducció de COPs combinada es representen en els histogrames de la *Figura 5.6*.

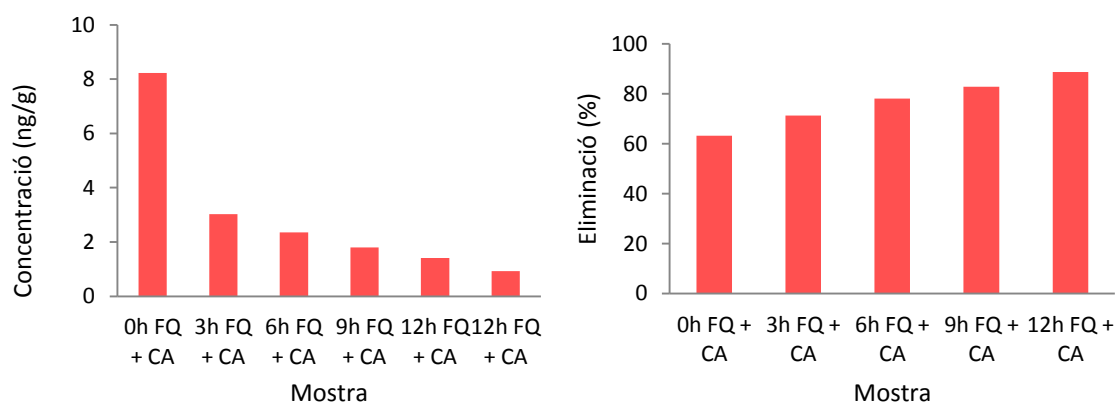


Figura 5.6. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) de HCB en oli de peix per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica.

Contràriament al fenomen observat pels DDTs, la reducció d'HCB en oli de salmó refinat mitjançant la tècnica híbrida és deguda principalment a l'etapa d'adsorció, que de per sí sola aconsegueix eliminar entorn al 63% de la concentració inicial de l'analit.

Tot i així, al combinar les dues tècniques de reducció de COPs s'aconsegueix eliminar fins a un 89% de la concentració inicial d'HCB al cap de 12 hores de tractament.

Aquests resultat ha millorat els que s'havien obtingut de forma independent en els estudis previs d'eliminació d'HCB en oli de peix, tant a través d'adsorció en carbó actiu (70%) com per degradació fotoquímica (59%).

5.2.2.Efecte del tractament en el contingut d'àcids grassos de l'oli de peix

Com s'ha observat durant el capítol 4, la degradació de COPs en oli de peix mitjançant tècniques fotoquímiques és més lenta que quan es duu a terme el mateix procés en hexà. Això fa pensar que una part de la radiació està sent absorbida pel propi oli.

Capítol 5. Eliminació de COPs en oli de peix mitjançant adsorció en carbó actiu i fotodegradació

Per altra banda, aquests olis de peix són emprats en la dieta humana pel seu alt contingut en àcids grassos insaturats beneficiosos per la salut (Domingo, 2008), tot i que fotoquímicament són compostos fàcilment oxidables (capítol 1 apartat 2.4).

Per aquests motius és necessària la comprovació de l'efecte de la radiació UV en l'oli, estudiant la composició en àcids grassos dels olis tractats.

Aquest estudi s'ha dut a terme mitjançant la caracterització del contingut en àcids grassos de l'oli de salmó refinat abans i després del tractament combinat. Les anàlisis de les mostres s'han realitzat per transesterificació mixta a esters metílics d'àcid gras i posterior anàlisi per HRGC-FID, tal i com es troba descrit en Ortoll (2009).

Els corresponents resultats es mostren en la *Taula 5.4* (àcids grassos saturats) i 5.5 (àcids grassos insaturats).

Taula 5.4. Concentració d'àcids grassos saturats de l'oli de peix tractat amb el mètode combinat.

	Concentració (mg/g)					
	Oli inicial	CA + 0h FQ	CA + 3h FQ	CA + 6h FQ	CA + 9h FQ	CA + 12h FQ
C8:0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C10:0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C11:0	0.69	0.49	0.37	0.46	0.39	0.40
C13:0	2.94	2.77	2.60	3.08	2.74	3.10
C14:0	46.6	46.5	43.5	46.2	45.1	46.2
C15:0	4.14	4.00	3.76	4.04	3.88	4.11
C16:0	125	126	118	124	121	125
C17:0	3.14	3.21	2.94	3.14	3.10	3.18
C18:0	25.5	25.7	24.5	25.1	24.9	25.5
C20:0	2.78	2.79	2.63	2.70	2.67	2.75
C22:0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C23:0	76.3	72.3	75.0	81.7	74.0	81.6

Tal i com era d'esperar, el contingut en àcids grassos saturats no ha variat de forma significativa amb el tractament de reducció de COPs per fotodegradació i adsorció en carbó actiu. Les variacions sofertes han estat negligibles, i sempre incloses en la pròpia incertesa metodològica del $\pm 5\%$ (Ortoll, 2009).

Aquest fet era previsible, ja que els àcids grassos saturats no s'adsorbeixen en el carbó actiu (apartat 3.4.1 de l'anterior capítol) i no tenen dobles enllaços que puguin ser oxidats en presència de llum ultraviolada.

Taula 5.5. Concentració d'àcids grassos insaturats de l'oli de peix tractat amb el mètode combinat.

	Concentració (mg/g)					
	Oli inicial	CA + 0h FQ	CA + 3h FQ	CA + 6h FQ	CA + 9h FQ	CA + 12h FQ
C14:1	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C16:1	48.5	48.8	48.9	51.9	47.1	48.3
C17:1	5.52	5.58	5.12	5.40	5.40	5.40
C18:1	158	160	151	158	155	158
C18:2 n6	42.7	43.1	40.6	42.3	41.4	41.7
C18:3 n6	1.86	1.99	1.51	1.64	1.52	1.58
C18:3 n3	19.6	19.8	18.5	19.2	18.8	18.7
C20:1	36.6	36.8	35.6	36.3	36.0	36.4
C20:2	2.02	2.01	1.97	2.00	1.99	2.02
C20:3 n6	1.16	1.29	1.19	1.08	1.20	1.14
C20:3 n3	6.59	6.08	5.74	5.90	5.77	5.55
C20:4 n6	4.16	3.77	3.66	4.01	3.88	3.84
C20:5 n3 (EPA)	67.3	66.6	62.8	64.1	62.8	61.0
C22:1	5.73	5.77	5.76	5.72	5.71	5.79
C22:6 n3 (DHA)	92.3	90.8	87.3	88.2	86.1	80.8
C24:1	4.48	4.92	4.55	4.39	4.24	4.50

Com ja s'havia observat anteriorment en el capítol 3 de la present tesi doctoral, la degradació dels àcids grassos insaturats durant el procés d'adsorció no és significativa. Durant aquesta etapa, la diferència del total d'àcids grassos ha estat inferior al 5%, amb una degradació del 1% de l'EPA i el 2% del DHA. Aquests valors estan inclosos dins de la incertesa metodològica.

Sí que s'ha observat una lleugera disminució d'aquests compostos deguda a la fotodegradació. Després de 12 hores d'exposició a la llum ultraviolada, s'ha degradat un 6% del total d'àcids grassos insaturats inicial.

Pel que fa als àcids grassos ω -3, l'EPA s'ha degradat un 9% i el DHA un 12% (Figura 5.7). Aquestes oxidacions han estat lleugerament més elevades que pels altres àcids grassos insaturats degut a que presenten més insaturacions.

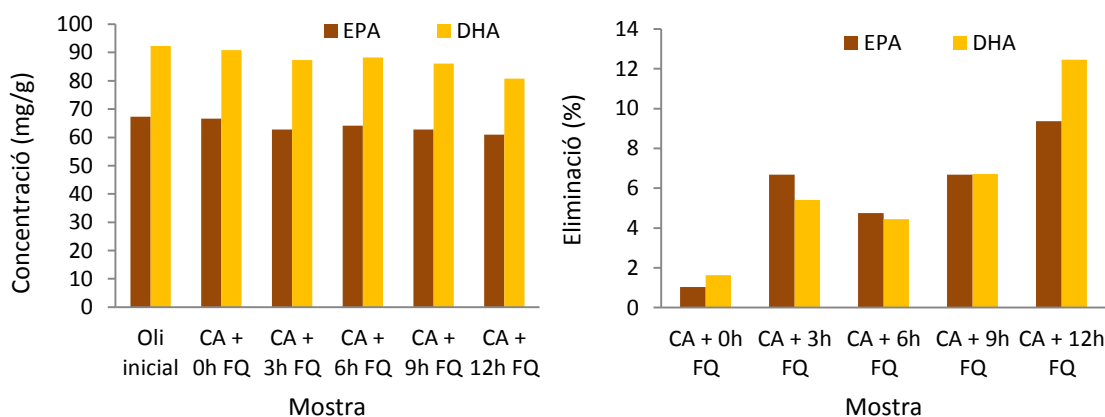


Figura 5.7. Concentració (esquerra) i eliminació (dreta) d'EPA i DHA en oli de peix per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica.

En general, es conclou que la degradació fotoquímica dels COPs en oli de peix pot degradar una part dels àcids grassos insaturats. Tot i així, aquesta eliminació no és molt elevada, doncs només s'ha oxidat entorn a un 10% dels àcids grassos ω -3 al cap de 12 hores d'exposició de l'oli a la radiació UV, treballant a la màxima potència del fotorreactor (254 nm, 16 làmpades).

5.2.3. Estudi de la degradació fotoquímica d'oli de tonyina refinat

Per tal de complementar l'estudi de degradació fotoquímica dels olis, s'ha avaluat com afecta la radiació ultraviolada a un oli de peix amb característiques ben diferents a les del salmó refinat emprat anteriorment. En aquest cas s'ha emprat oli de tonyina refinat, el qual presenta un contingut inicial diferent en àcids grassos.

Per tal de dur a terme l'experiment, 30 grams d'oli de tonyina refinat –la mateixa quantitat i tipus de mostra que la emprada en l'estudi de degradació fotoquímica de COPs de l'anterior capítol- s'han irradiat amb el fotorreactor a la màxima potència (16 làmpades, 64W). Aquesta quantitat de mostra és inferior a la emprada en l'estudi d'eliminació amb el mètode combinat, doncs no s'hi aplicarà l'etapa d'adsorció en carbó actiu (etapa durant la qual es perd una part d'oli). S'han pres mostres al cap de 0, 3, 6 i 9 hores de tractament.

L'anàlisi d'àcids grassos s'ha realitzat d'acord amb la metodologia descrita per Ortoll (2009). Els resultats es mostren en la *Taula 5.6* (àcids grassos saturats) i *5.7* (àcids grassos insaturats).

Taula 5.6. Concentració d'àcids grassos saturats de l'oli de tonyina tractat fotoquímicament.

	Concentració (mg/g)			
	0 hores	3 hores	6 hores	9 hores
C8:0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C10:0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C11:0	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C13:0	2.76	2.51	3.66	3.40
C14:0	32.6	32.3	35.9	31.9
C15:0	7.76	7.77	8.49	7.70
C16:0	167	166	177	157
C17:0	8.69	8.53	9.12	7.98
C18:0	44.9	44.5	46.3	40.1
C20:0	2.98	2.97	3.01	2.59
C22:0	1.93	1.79	1.80	1.59
C23:0	74.2	68.0	86.7	86.7

Pel que fa a la composició de l'oli de peix en àcids grassos saturats, no s'ha observat una gran diferència entre la mostra inicial i la tractada fotoquímicament, amb una degradació màxima (de l'1% a les 9 hores de tractament) inclosa dins de la pròpia incertesa metodològica (Ortoll, 2009). Com s'ha comentat anteriorment, això es deu a que els àcids grassos saturats no tenen dobles enllaços, que és el punt per on poden ser oxidats en presència de la llum UV.

Taula 5.7. Concentració d'àcids grassos insaturats de l'oli de tonyina tractat fotoquímicament.

	Concentració (mg/g)			
	0 hores	3 hores	6 hores	9 hores
C14:1	1.31	1.37	1.49	1.29
C16:1	1.17	1.18	1.30	1.14
C17:1	0.99	1.06	1.14	1.02
C18:1	22.5	22.5	22.6	20.1
C18:2 n6	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C18:3 n6	3.12	2.99	2.98	2.46
C18:3 n3	5.61	5.14	4.91	2.79
C20:1	1.77	1.62	1.49	1.58
C20:2	2.78	2.63	2.66	1.90
C20:3 n6	1.23	1.00	<0.01	<0.01
C20:3 n3	15.2	12.7	11.6	6.40
C20:4 n6	3.25	2.99	2.73	<0.01
C20:5 n3 (EPA)	51.3	39.8	36.2	17.3
C22:1	2.94	3.04	2.99	11.1
C22:6 n3 (DHA)	169	125	109	51.6
C24:1	6.53	6.51	5.38	5.50

A diferència de l'estudi anterior, en aquest cas s'han observat unes degradacions molt elevades dels àcids grassos insaturats. El percentatge d'oxidació del total ha estat del 20% a les 3 hores de tractament, 27% a les 6 hores i 56% a les 9 hores.

Novament, s'ha observat que com més insaturacions té l'àcid gras, més es degrada proporcionalment. Aquest és el cas dels àcids grassos omega-3 EPA i DHA, que presenten respectivament 5 i 6 dobles enllaços en la seva estructura. La *Figura 5.8* mostra l'evolució d'aquests dos compostos al llarg del temps d'irradiació.

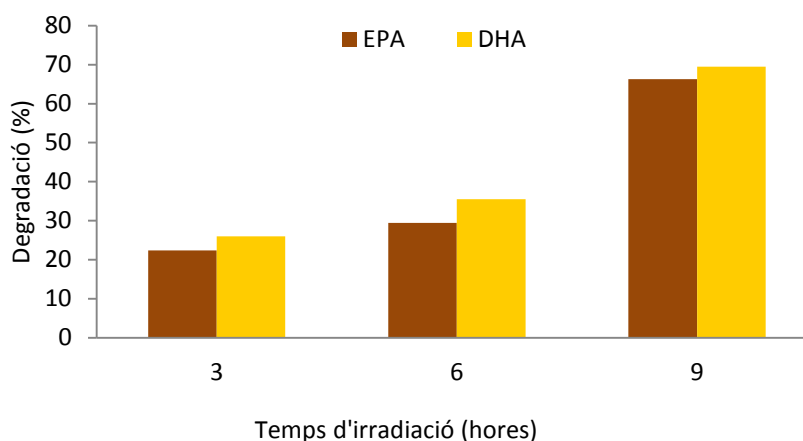


Figura 5.8. Percentatge de degradació de EPA i DHA.

Al cap de 9 hores de tractament amb el reactor fotoquímic s'ha observat una degradació del 66% de la concentració inicial d'EPA i 70% de DHA. Aquest fet fa que l'oli de peix perdi les seves propietats nutritives, i que en aquestes condicions el procés de reducció de COPs mitjançant tècniques fotoquímiques no sigui útil quan es vulgui fer servir amb finalitats alimentàries.

5.2.4. Estudi de l'ús d'antioxidant per evitar la degradació dels olis

Comparant els dos estudis anteriors, es pot observar que l'oxidació dels àcids grassos insaturats en presència de radiació UV és molt diferent quan s'empren 60 g d'oli de salmó (6% de degradació a les 12 hores) de quan es fan servir 30 g d'oli de tonyina (56% en 9 hores). Possiblement, aquest fet sigui atribuïble a que en augmentar la quantitat de mostra tractada, la radiació no té una incidència tant efectiva. Això es deu a que la superfície en contacte amb la radiació per gram d'oli és menor.

Es descarta que aquestes diferències tants significatives siguin degudes a la pròpia naturalesa dels olis emprats –salmó i tonyina-, doncs presenten concentracions d'àcids grassos que no són iguals però sí del mateix ordre (per exemple, l'oli de salmó té 67 mg/g d'EPA i 92 mg/g de DHA, mentre que el de tonyina en té 51 mg/g i 169 mg/g respectivament). Aquestes diferències no justificarien una variabilitat tant elevada en l'oxidació dels olis.

Conseqüentment, en aquest apartat s'ha estudiat l'ús d'agents antioxidants per tal d'intentar disminuir l'oxidació dels àcids grassos insaturats quan s'empren volums petits de mostra (30 g). Amb aquesta finalitat s'ha fet servir el *tert*-butil-*para*-cresol (BHT), que és un dels antioxidants més utilitzats en la indústria alimentària per a la conservació d'olis (Figura 5.9).

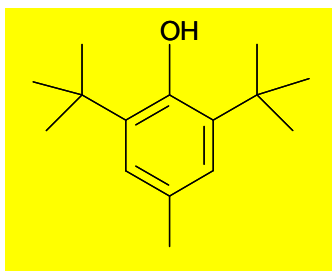


Figura 5.9. *Tert*-butil-*para*-cresol (BHT).

Aquest compost és liposoluble i no tòxic a baixes concentracions. Quan es troba dissolt en oli, es capaç d'absorbir les radiacions ultraviolades, degradant-se ell en lloc de la matriu i descomponent en d'altres subproductes no tòxics.

Per a dur a terme l'experiment, a 30 grams d'oli de salmó refinat s'hi ha afegit BHT fins a una concentració de 200 ppm, que és el límit màxim legislat d'aquest producte en matrius alimentaries per la majoria de països de la UE (Eastman, 1995). Posteriorment, l'oli s'ha irradiat amb el fotorreactor a la màxima potència (16 làmpades de 254 nm, 64W), prenent-se alíquotes a les 0, 3, 6 i 9 hores de tractament fotoquímic.

Aquestes mostres d'oli de peix tractat han estat analitzades per transesterificació mixta i anàlisi HRGC-FID (Ortoll, 2009). Els resultats es mostren en la *Taula 5.8* (àcids grassos saturats) i *5.9* (àcids grassos insaturats).

Taula 5.8. Concentració d'àcids grassos saturats de l'oli de peix amb BHT.

	Concentració (mg/g)			
	0 hores	3 hores	6 hores	9 hores
C8:0	0.20	0.14	0.19	0.19
C10:0	0.34	0.29	0.33	0.43
C11:0	0.43	0.44	0.42	0.48
C13:0	2.89	2.98	2.79	2.96
C14:0	48.5	48.3	46.5	47.7
C15:0	4.25	4.29	4.08	4.18
C16:0	130	128	124	128
C17:0	3.33	3.31	3.16	3.31
C18:0	26.4	26.2	25.5	26.2
C20:0	3.06	2.80	2.90	2.81
C22:0	1.06	0.85	0.95	0.95
C23:0	78.6	80.7	78.3	83.3

Tal i com era d'esperar, la concentració d'àcids grassos saturats no ha disminuït de forma significativa, degut a l'absència de dobles enllaços en les seves estructures.

La concentració ha variat en un 3% al cap de 12 hores de tractament fotoquímic, valor que queda comprès dins de la pròpia incertesa metodològica (Ortoll, 2009).

Taula 5.9. Concentració d'àcids grassos insaturats de l'oli de peix amb BHT.

	Concentració (mg/g)			
	0 hores	3 hores	6 hores	9 hores
C14:1	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
C16:1	50.7	49.6	48.0	48.5
C17:1	5.62	5.27	5.09	4.78
C18:1	164	160	156	158
C18:2 n6	44.3	41.6	39.9	37.7
C18:3 n6	1.39	1.23	1.21	1.29
C18:3 n3	20.4	18.5	17.4	15.2
C20:1	35.4	37.2	36.4	37.0
C20:2	2.07	2.07	2.05	2.38
C20:3 n6	1.07	1.15	1.07	1.19
C20:3 n3	6.35	5.52	5.06	4.55
C20:4 n6	4.26	3.79	3.90	3.50
C20:5 n3 (EPA)	69.6	58.0	53.0	39.6
C22:1	6.38	5.54	5.42	5.88
C22:6 n3 (DHA)	96.6	77.9	70.5	50.9
C24:1	5.43	5.20	4.94	5.33

Pel cas dels àcids grassos insaturats, sí que s'ha observat una degradació important al llarg de l'exposició a la llum UV, a pesar de la presència d'antioxidant en l'oli de peix. Tot i així, l'oxidació d'aquest oli ha estat més baixa quan s'usa BHT a 200 ppm, disminuint la degradació total d'àcids grassos insaturats d'un 56% en l'estudi anterior a un 31% en el present estudi.

Pel que fa al contingut en àcids grassos omega-3 –que són els més importants degut al seu alt valor nutritiu- la seva degradació fotoquímica també ha disminuït en presència d'antioxidant. La *Figura 5.10* compara les concentracions d'EPA i DHA al llarg de l'exposició a la llum UV, amb i sense BHT.

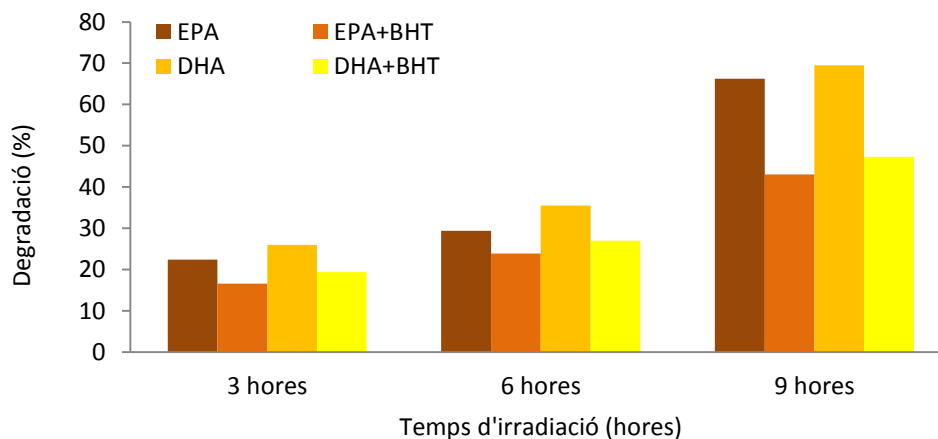


Figura 5.10. Efecte del BHT en el procés de fotodegradació d'EPA i DHA.

Anàlogament a l'efecte observat en el cas de l'estudi de la fotodegradació d'àcids grassos omega-3 sense antioxidant, el DHA sofreix una lleugera major oxidació que l'EPA. Tot i així, en ambdós casos la degradació es veu reduïda amb la presència de BHT com a antioxidant, disminuint de 67 a 43% d'oxidació per l'EPA i de 70 a 47% pel DHA.

Encara que s'ha aconseguit reduir l'efecte de la radiació UV en les propietats nutritives de l'oli mitjançant l'ús de BHT com a antioxidant, els seus efectes continuen sent força significatius quan el volum de mostra tractat és de 30 g. Per altra banda, es descarta repetir l'experiment a concentracions més elevades de BHT, ja que no tindria aplicabilitat real en la indústria alimentària al superar el màxim legislat de 200 ppm.

D'aquest estudi se'n pot concloure que els àcids grassos insaturats presents en oli de peix es degraden quan són exposats a la llum ultraviolada, siguin quines siguin les condicions experimentals. Encara que els resultats poden variar molt en funció de l'oli, volum de mostra o addició d'antioxidant, en tots els casos l'oxidació de l'oli ha estat significativa.

5.3. Comparació dels tres mètodes d'eliminació estudiats i selecció de les millors condicions per a l'eliminació de COPs en oli de peix

En aquest apartat es resumeixen els resultats obtinguts amb els tres mètodes d'eliminació de COPs en oli de peix desenvolupats durant la present tesi doctoral: eliminació per adsorció en carbó actiu, per degradació fotoquímica i mitjançant la combinació d'aquests dos en el mètode combinat.

Aquesta comparació es duu a terme tant des del punt de vista d'eliminació de contaminants com de la composició de l'oli (contingut en àcids grassos). Finalment, l'apartat es conclou amb una exposició dels punts forts i febles de cadascun d'aquests mètodes. D'aquesta manera s'ha determinat quin és el mètode més adequat per assolir el principal objectiu de la tesi doctoral.

5.3.1. Eliminació de COPs

Per tal de comparar més còmodament els resultats obtinguts per a l'eliminació de COPs en oli de peix mitjançant les tres tècniques estudiades en la present tesi (adsorció en carbó actiu, degradació fotoquímica i tècnica híbrida que combina les dues anteriors), els percentatges de reducció de la concentració inicial de cada família de contaminants per a cada cas es mostren en la següent taula (Taula 5.10).

Taula 5.10. Eliminació de COPs en oli de peix mitjançant adsorció en carbó actiu, degradació fotoquímica (12 hores d'irradiació) i tècnica híbrida (12 hores d'irradiació).

Contaminant	Eliminació per adsorció en carbó actiu	Eliminació per degradació fotoquímica	Eliminació mitjançant el mètode combinat
PCDD/Fs	99% (99%)	34% (43%)	99% (99%)
PCBs similars a dioxines	36% (81%)	-71% (-1725%)	73% (27%)
HCB	70%	59%	89%
PCBs indicadors	11%	53%	62%
PBDEs	9%	67%	70%
DDTs	27%	73%	60%

En lletra **verda** es mostren les millors eliminacions. Entre parèntesis es mostren les eliminacions calculades en unitats de pg WHO-TEQ/g. La resta de valors han estat calculats en unitats de ng/g.

Comparant les eliminacions de COPs obtingudes amb el mètode fotoquímic i el mètode combinat, es pot observar que els millors resultats per la majoria de contaminants han estat obtinguts amb la segona tècnica. És destacable que l'addició d'una etapa d'adsorció en carbó actiu posterior a la degradació fotoquímica és capaç d'eliminar en gran mesura el increment de PCBs similars a dioxines que es dona durant la primera etapa.

Contràriament, si es comparen els resultats obtinguts amb els mètodes d'adsorció en carbó actiu i combinat, no és fa tant fàcil determinar quina és la millor tècnica per l'eliminació de COPs, doncs depèn de la interpretació de les dades. Des d'un punt de vista de càrrega contaminant, el mètode combinat millora notablement les eliminacions de PCBs indicadors, PBDEs i DDTs. Des d'un punt de vista toxicològic, l'adsorció en carbó actiu millora notablement l'eliminació de PCBs similars a dioxines.

En el cas del present estudi es prioritza aquesta segona interpretació de les dades, doncs els PCBs similars a dioxines (juntament amb les PCDD/Fs) són els únics contaminants que tenen uns màxims legiscats en olis de peix destinats al consum humà i animal (Reglament 1881/2006; Directiva 2006/13/EC).

5.3.2. Degradació de l'oli

Per tal de determinar com afecta cada un dels mètodes d'eliminació de COPs desenvolupats en la qualitat de l'oli de peix, en la *Taula 5.11* es comparen els resultats i condicions experimentals de totes les anàlisis d'àcids grassos que s'han dut a terme.

Taula 5.11. Resultats de les anàlisis d'àcids grassos dels tres mètodes d'eliminació de COPs.

	Eliminació per adsorció en carbó actiu	Eliminació mitjançant la tècnica híbrida	Eliminació per degradació fotoquímica	Eliminació per fotodegradació en presència de BHT
Tipus d'oli	Salmó refinat	Salmó refinat	Tonyina refinat	Salmó refinat
Volum de la mostra	15 g	60 g	30 g	30 g
Temps d'irradiació	-	12 hores	9 hores	9 hores
Degradació del total d'àcids grassos	5%	10%	30%	21%
Degradació del total de saturats	0.1%	5%	1%	3%
Degradació del total de insaturats	4%	6%	56%	31%
Degradació d'EPA	6%	9%	66%	43%
Degradació de DHA	6%	12%	70%	47%

En totes les proves on s'ha inclòs una etapa de degradació fotoquímica s'ha pogut observar una oxidació significativa dels àcids grassos insaturats. Aquesta degradació és més elevada pels casos d'aquells àcids grassos amb major valor nutritiu -EPA i DHA- que alhora també són els que es poden oxidar més fàcilment pel fet de contenir més insaturacions en les seves estructures.

Tot i així, aquesta degradació pot variar molt en funció de les condicions experimentals, sent més baixa quan s'empren volums més grans de mostra –i per tant reduint la proporció de superfície irradiada per gram de mostra- i es fa servir antioxidant.

Pel que fa als àcids grassos saturats, cap de les tècniques aplicades als olis de peix en modifiquen la seva concentració inicial de forma significativa, doncs estructuralment no presenten dobles enllaços que puguin ser oxidats.

Contràriament, l'eliminació de COPs en olis de peix mitjançant carbó actiu no altera de forma significativa la seva composició inicial en àcids grassos, tant pel cas dels saturats com dels insaturats. Per tant -des d'un punt de vista nutritiu- aquest és el millor mètode, al no afectar les propietats originals de l'oli.

5.3.3. Punts forts i febles de cada mètode i selecció de l'òptim

Els mètodes que s'han desenvolupat per a l'eliminació de COPs en oli de peix (per adsorció en carbó actiu, degradació fotoquímica i la seva combinació) es basen en principis químicofísics molt diferents. Conseqüentment els resultats que generen també són molt dispers, tant des del punt de vista de reducció de contaminants com d'afectació al grau de la qualitat de l'oli, tal i com es comenta en els apartats anteriors.

Per tal de determinar quin és el mètode més adequat per assolir el principal objectiu d'aquesta tesi, en la següent taula (*Taula 5.12*) es resumeixen els punts forts i febles de cada un d'ells.

Taula 5.12. Punts forts i febles de les metodologies d'eliminació de COPs desenvolupades.

Mètode	Punts forts	Punts febles
Adsorció en carbó actiu	<ol style="list-style-type: none"> 1) Elevada eliminació de PCDD/Fs, HCB i PCBs similars a dioxines 2) Efectivitat enfront els compostos més tòxics i legislats 3) No afecta la qualitat de l'oli 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Baixa eliminació de DDTs, PCBs indicadors i PBDEs
Degradació fotoquímica	<ol style="list-style-type: none"> 1) Elevada eliminació de DDTs, PBDEs, HCB i PCBs indicadors 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Baixa eliminació de PCDD/Fs 2) Augment de la concentració de PCBs similars a dioxines 3) Augment global de la toxicitat de l'oli tractat 4) Afecta a la qualitat de l'oli
Metodologia híbrida	<ol style="list-style-type: none"> 1) Elevada eliminació de PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines, PCBs indicadors, PBDEs, DDTs i HCB (en % de pg/g). 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Baixa eliminació de PCB similars a dioxines (en % de pg WHO-TEQ/g) 2) Afecta la qualitat de l'oli

El mètode de degradació fotoquímica no compleix amb els requisits necessaris del present estudi, ja que no ofereix unes degradacions efectives dels analits de major interès des del punt de vista toxicològic (PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines), i oxida de forma significativa els àcids grassos insaturats de l'oli. Tot i així, pot ser una tècnica a tenir en compte per la descontaminació d'altres matrius no tant sensibles, com per exemple mostres aquoses.

El mètode híbrid és el que ofereix globalment una millor reducció de COPs en oli de peix. Tot i així, l'eliminació de PCBs similars a dioxines és moderada -degut a la generació d'aquests durant l'etapa fotoquímica- i s'oxida una part dels àcids grassos insaturats, alterant les propietats nutritives inicials de l'oli.

Tenint en compte que el present estudi s'ha realitzat amb finalitats alimentàries, s'ha escollit el mètode d'adsorció en carbó actiu com el més adequat per l'eliminació de COPs en oli de peix. Aquest és el mètode més indicat per la reducció d'aquells contaminants que tenen uns efectes toxicològics més elevats (PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines), que a més són els únics que a dia d'avui tenen uns màxims legislats en productes per a consum humà i animal dins de l'UE (Reglament 1881/2006; Directiva 2006/13/EC). A més, és l'únic mètode que no afecta de forma significativa a la qualitat de l'oli ni al seu contingut en àcids grassos (especialment els insaturats omega-3 EPA i DHA), condició fonamental doncs aquests tipus d'olis són emprats com a complementos nutritius degut a les seves propietats beneficioses per la salut.

5.4. Bibliografia

Directiva 2006/13/EC. Amending Annexes I and II to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed as regards dioxins and dioxin-like PCBs. Diari Oficial de la Unió Europea, L 32: 44-53

Domingo JC (2008). Nuevos omega-3 de alta bioactividad. Aplicación Nutricional y dietética. Publicación Sociedad Española Dietética y Ciencias de la Alimentación. <http://www.nutricion.org/actividades/pdf/Conferencia%20w3%20Zaragoza.pdf>. Data de l'última consulta: 30/09/2010

Eastman Chemical Company (1995). Tenox TBHQ antioxidant versus BHT in fats and oil. Eastman Publications, Vol 3 No 2

Ortoll U (2009). Determinación de los ácidos omega 3 EPA y DHA en aceites de pescado por cromatografía de gases con detector FID. Treball final de carrera dirigit pel Dr. Francesc Broto Puig i Eng. Lourdes Margarit Roig, realitzat a l'IQS

Reglament 1881/2006. Reglamento que fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Diari Oficial de la Unió Europea, L 364: 5-24

Reglament 1883/2006. Reglamento que establecen métodos de muestreo y de análisis para el control oficial de los niveles de dioxinas y PCB similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios. Diari Oficial de la Unió Europea, L364: 32-43

6. ANÀLISI D'HBCD EN OLI DE PEIX

6.1. Introducció

Com a complement al mètode per a l'eliminació de COPs en oli de peix que s'ha posat al punt durant la present tesi doctoral, en aquest últim capítol experimental s'ha inclòs un nou contaminant, l'hexabromociclododecà (HBCD).

Aquest estudi s'ha realitzat en col·laboració amb l'Institut de Diagnòstic Ambiental i Estudis de l'Aigua, del Consell Superior d'Investigacions Científiques (IDÆA-CSIC), amb el grup de la Dra. Ethel Eljarrat.

Els mètodes instrumentals per a l'anàlisi d'HBCD per cromatografia líquida d'alta resolució acoblada a espectrometria de masses de triple quadrupol (HPLC/MS/MS) emprats habitualment en el laboratori del grup d'investigació col·laborador es descriuen en l'**apartat 6.2**. En aquest també s'hi poden trobar l'estudi dels possibles mètodes de purificació de la mostra realitzats al Laboratori Mediambiental de l'IQS.

Un cop establert el mètode analític, en l'**apartat 6.3** es detallen els resultats de l'estudi dels enantiòmers i diastereòmers de l'HBCD en mostres d'oli de peix per a alimentació humana i animal.

Posteriorment, s'ha aplicat a mostres d'oli de peix el mètode de reducció de COPs combinat desenvolupat en el capítol 5 de la present tesi doctoral, per estudiar en quin grau es poden eliminar per adsorció en carbó actiu o degradació fotoquímica. Tota aquesta informació queda recollida en l'**apartat 6.4**. Finalment, en l'**apartat 6.5** es detalla la bibliografia citada durant el mateix.

6.2. Mètode per l'anàlisi d'HBCD en oli de peix

Tal i com s'ha comentat amb més detall durant el primer capítol de la present tesi doctoral, l'oli de peix pot presentar elevats nivells de contaminants apolars (Zennegg i Schmid, 2006) ja que es bioacumulen en els teixits adiposos dels éssers vius i es biomagnifiquen a través de la xarxa tròfica (Kelly *et al.*, 2007), a part que els peixos tenen una baixa capacitat per metabolitzar aquest tipus de compostos (Voorspoels *et al.*, 2004). D'acord amb això, un dels contaminants que es poden trobar en olis de peix és l'HBCD.

6.2.1. Determinació instrumental de l'HBCD

Tot i que existeixen diverses publicacions que descriuen l'anàlisi d'aquests contaminants mitjançant cromatografia de gasos (Haug *et al.*, 2008), l'HBCD s'acostuma a analitzar per cromatografia de líquids i espectrometria de masses. Això es deu a que a partir de 170 °C existeix un procés d'interconversió entre els tres principals diastereòmers, que impedeix la seva correcta quantificació (Janák *et al.*, 2005a). Així doncs, la cromatografia de gasos és una tècnica útil per la determinació del total d'HBCD, però no ho és pel cas de l'anàlisi diastereoisomèric d' α -, β -, i γ -HBCD.

Per aquest motiu, en el present estudi s'ha emprat la tècnica de HPLC-MS-MS triple quadrupol per a l'anàlisi d'HBCD en oli de peix. Les condicions instrumentals, però, no són les mateixes pel que fa a les anàlisis de diastereòmers i enantiòmers. A continuació es descriu cada un d'aquests dos mètodes.

Anàlisi dels diastereòmers de l'HBCD

En aquest cas, l'equip cromatogràfic emprat va ser un HPLC Symbiosis Pico (Spark Holland, Emmen, Holanda) amb una columna Symmetry C₁₈ (2.1 mm x 150 mm, 5 μ m). Els experiments es van dur a terme per ionització química negativa emprant una mescla d'aigua i metanol (3:1 v/v) com a eluent A i metanol com a eluent B, amb un flux de 0.25 ml/min. El volum d'injecció va ser de 10 μ l. El programa d'elució era inicialment d'un 100% d'eluent A, que disminuïa fins a 0% durant els 8 primers minuts. Posteriorment, l'eluent A tornava a incrementar fins al 10% en 17 minuts, per passar a 100% al cap de tres minuts més. Aquestes condicions es mantenien durant els 15 minuts finals.

L'anàlisi per espectrometria de masses va ser realitzat amb un triple quadrupol/trampa de ions MSD Sciex 4000QTRAPTM (Applied Biosystems, California, EUA) equipat amb un sistema d'ionització per electroesprai, treballant en mode d'ionització negativa.

Per a l'anàlisi quantitativa d'HBCD, l'adquisició de dades es va realitzar mitjançant el seguiment de les fragmentacions dels analits (selected reaction monitoring, SRM). Pel cas dels HBCDs natiu, les transicions [M-H]⁻→Br⁻ de seguiment van ser les de les relacions massa/càrrega 638.7→78.9 i 638.7→80.9. Pel cas dels compostos marcats isotòpicament (en aquest cas deuterats), els fragments monitoritzats van ser als corresponents a les transicions 655.8 → 78.9 i 655.8 → 80.9. Les condicions del detector van ser optimitzades per obtenir la màxima intensitat relativa, segons els mètodes d'anàlisi del grup col·laborador (Guerra *et al.*, 2008a).

Anàlisi dels enantiòmers de l'HBCD

Per tal d'aconseguir la separació dels sis enantiòmers corresponents als diastereòmers d' α -, β - i γ -HBCD, es va fer servir una columna cromatogràfica quiral Nucleodex β -PM (4.0 mm x 200 mm, 5 μ m). La separació enantiomèrica òptima s'aconsegueix emprant metanol, acetonitril i aigua com a fase mòbil. Els experiments es van dur a terme fent servir aigua i metanol (70:30 v/v) com a eluent A, i acetonitril i metanol (70:30 v/v) com a eluent B, a un flux de 0.5ml/min. El volum d'injecció va ser de 10 μ l.

El programa d'elució era inicialment d'un 50% d'eluent A, que disminuïa fins a 100% d'eluent B durant els 8 primers minuts i es mantenia aquesta composició durant 17 minuts més. Posteriorment, es tornava a les condicions inicials en 5 minuts i es mantenia aquesta composició durant 12 minuts més (Guerra *et al.*, 2008b). Les condicions de l'espectròmetre de masses eren anàlogues a les de les anàlisis diastereoisomèriques.

La composició enantiomèrica s'expressa com a fracció enantiomèrica (FE), que habitualment es calcula segons la següent equació:

$$FE = \frac{A_+}{(A_+ + A_-)}$$

a on A+ i A- són les àrees corresponents als pics de cada un dels enantiòmers.

Tot i així, és ben conegut que la ionització de la mostra per electroesprai està subjecta a l'efecte matriu, que pot afectar severament a la quantificació final per supressió iònica. Per tal d'evitar aquest efecte les anàlisis d'HBCD s'han dut a terme segons el mètode de dilució isotòpica amb homòlegs deuterats (d_{18} -HBCDs). En aquest cas, la quantificació es duu a terme segons la següent expressió (Marvin *et al.*, 2007):

$$FE \text{ corregit} = \frac{\left(\frac{[A_+]}{[A_{+d18}]}\right) \times pg A_{+d18}}{\left(\frac{[A_+]}{[A_{+d18}]}\right) \times pg A_{+d18} + \left(\frac{[A_-]}{[A_{-d18}]}\right) \times pg A_{-d18}}$$

on [A+] i [A-] es corresponen a les àrees dels pics de cada un dels enantiòmers de (+) i (-) HBCD, [A+18] i [A-18] són els pics dels respectius enantiòmers marcats i pg A+d18 i A-d18 són les concentracions d'HBCD sense corregir.

6.2.2. Metodologia d'anàlisi d'HBCD en oli de peix

Par tal d'analitzar el contingut d'HBCD en oli de peix, a alíquotes d'un gram de mostra d'oli de peix s'hi afegixen 200 ng de $d_{18}\alpha$ - i 200 ng de $d_{18}\gamma$ -HBCD com a patró intern, per quantificar la pèrdua d'analit que pugui existir durant la preparativa de la mostra o per supressió iònica durant l'anàlisi instrumental. Les mostres es dilueixen en 10 ml d'hexà i la matriu és degradada per l'addició de 10 ml d'àcid sulfúric concentrat. La fracció orgànica es separa, es concentra fins a 3 ml i es torna a repetir el procés de purificació, fins que la fase inorgànica no es torna groga –fet que indica que tot l'oli ha estat degradat.

La purificació final d'aquests extractes es duu a terme mitjançant tubs preempaquetats de 5 grams d'alúmina. Prèviament, els cartutxos són condicionats amb 20 ml d'hexà. Un cop sembrada la mostra, aquesta és eluïda amb 30 ml d'una mescla d'hexà i diclorometà (1:2), a un flux de 3 ml/min.

Els extractes purificats són concentrats en tubs cònics amb una suau corrent de nitrogen, i finalment s'hi afegixen 200 ng de $d_{18}\beta$ -HBCD com a patró d'injecció. S'ha seleccionat aquest diastereòmer amb aquesta finalitat ja que sol ser el que presenta uns nivells més baixos en l'oli de peix. En aquest cas, el possible contingut inicial de β -HBCD nativa present a l'oli s'ha quantificat respecte $d_{18}\gamma$ -HBCD com a patró intern.

Cal destacar que en cap moment de la preparativa de les mostres aquestes han estat escalfades, ja que com s'ha comentat anteriorment l'HBCD pot isomeritzar estereoselectivament a elevades temperatures (Janák *et al.*, 2005b).

6.3. Anàlisi enantiomèric i diastereoisomèric d'oli de peix per alimentació humana i animal

Tot i l'existència de diverses publicacions respecte els nivells de diversos COPs en oli de peix (Eljarrat *et al.*, 2002), molts pocs estudis han determinat la presència d'HBCD en aquest tipus de mostres. A dia d'avui, només hi ha un estudi que descriu l'anàlisi dels diastereòmers d'aquest compost en oli de peix (Kakimoto *et al.*, 2007) encara que existeix més informació per mostres de peix (Zhang *et al.*, 2009; Sørmo *et al.*, 2009; Eljarrat *et al.*, 2004)

Per aquest motiu, el primer objectiu del present capítol es la determinació diastereoisomèrica dels nivells d'HBCD en mostres d'oli de peix emprades a Espanya pel seu consum humà i animal. A més, tenint en compte que existeix un parell enantiomèric per a cada diastereòmer (Heeb *et al.*, 2007), s'han estudiat les fraccions enantiomèriques (FE) mitjançant una columna cromatogràfica quiral.

6.3.1. Mostres d'oli de peix

En aquest estudi s'ha analitzat el contingut en HBCD en un total de 25 mostres d'oli. Deu d'elles eren olis de peix crus, destinades al consum animal. El seu origen era variat, però principalment provenien de l'Oceà Atlàntic Nord i Pacífic Sud.

Dotze mostres més eren olis de peix destinades al consum humà, adquirides en farmàcies o botigues dietètiques. Aquests olis de peix havien estat refinats prèviament d'acord amb els processos habituals de purificació d'olis (Hilbert *et al.*, 1998).

Aquests productes són generalment comercialitzats com a suplement nutritiu, i per aquest motiu solen estar enriquits amb d'altres compostos beneficiosos per la salut –a part dels propis àcids grassos omega-3- com vitamines i minerals. A més, tres d'aquestes dotze mostres també contenien olis vegetals, pel seu alt contingut en àcids grassos omega-6.

Finalment, per tal de poder comparar els resultats obtinguts, en el estudi també es van incloure tres suplement nutritius basats només en olis vegetals. Tota aquesta informació es troba recollida en la *Taula 6.1*, juntament amb la codificació de les mostres.

Taula 6. 1. Mostres incloses en l'estudi dels nivells diastereoisomèrics i enantiomèrics d'HBCD en oli de peix.

Codi de la mostra	Consum	Component principal	Altres components	Origen	Format	Dosi diària recomanada
A1	Animal	Oli de peix	----	Nord Atlàntic	Oli cru	----
A2	Animal	Oli de salmó	----	----	Oli cru	----
A3	Animal	Oli de peix	----	Nord Atlàntic	Oli cru	----
A4	Animal	Oli de peix	----	Sud Pacífic	Oli cru	----
A5	Animal	Oli de peix	----	Nord Atlàntic	Oli cru	----
A6	Animal	Oli de peix	----	Nord Atlàntic	Oli cru	----
A7	Animal	Oli de peix	----	Sud Pacífic	Oli cru	----
A8	Animal	Oli de peix	----	----	Oli cru	----
A9	Animal	Oli de peix	----	Sud Pacífic	Oli cru	----
A10	Animal	Oli de peix	----	Nord Atlàntic	Oli cru	----
H1	Humà	Oli de salmó	Proteïnes, carbohidrats, vitamina E	----	Perles	2-3 perles/dia
H2	Humà	Oli de peix	Proteïnes, carbohidrats, vitamina E	----	Perles	2 perles/dia
H3	Humà	Oli de peix	----	----	Ampolla	1 cullerada (3.3 g)/dia
H4	Humà	Oli de peix	Vitamines i minerals	----	Perles	1 perla/dia
H5	Humà	Oli de peix	Vitamines i minerals	----	Perles	5-10 perles/dia
H6	Humà	Oli de peix	Vitamines	----	Perles	2-3 perles/dia
H7	Humà	Oli de peix	----	----	Perles	4 perles/dia
H8	Humà	Oli de fetge de bacallà	Vitamines	----	Perles	1 perles/dia
H9	Humà	Oli de peix	Vitamina E	----	Perles	4 perles/dia
H10	Humà	Oli de peix +oli de prímula	Isoflavones, calci i magnesi	----	Perles	2 perles/dia
H11	Humà	Oli de peix +oli de prímula	Vitamines and minerals	----	Perles	1 perles/dia
H12	Humà	Oli de salmó + oli de borraïna	Vitamina E	----	Perles	3-5 perles/dia
H13	Humà	Oli de llavors de carbassa	Tocoferols	----	Perles	6 perles/dia
H14	Humà	Oli vegetal ric en omega-6	----	----	Perles	2-3 perles/dia
H15	Humà	Oli de prímula	α -tocoferol	----	Perles	1-2 perles/dia

6.3.2. Nivells diastereoisomèrics d'HBCD en oli de peix

Les 25 mostres d'oli de peix han estat analitzades d'acord amb el mètode que es descriu en l'apartat 6.2.3 del present capítol. Els nivells dels diastereòmers α -, β - i γ -HBCD, així com el total d'HBCD i la proporció α/γ -HBCD, es mostra en la *Taula 6.2*.

Taula 6.2. Concentracions dels diastereòmers α -, β - i γ -HBCD en les mostres d'oli de peix.

Mostra	Concentració (ng/g)				Proporció α/γ
	α -HBCD	β -HBCD	γ -HBCD	Total	
A1	5.79 (52)	0.23 (2)	5.09 (46)	11.1	1.14
A2	3.71 (38)	0.89 (9)	5.28 (53)	9.88	0.70
A3	3.14 (66)	<0.05 (0)	1.64 (34)	4.78	1.91
A4	2.13 (64)	<0.05 (0)	1.21 (36)	3.34	1.76
A5	3.82 (57)	<0.05 (0)	2.84 (43)	6.66	1.35
A6	6.58 (42)	<0.05 (0)	8.91 (58)	15.5	0.74
A7	2.61 (50)	<0.05 (0)	2.65 (50)	5.26	0.98
A8	6.13 (23)	3.95 (15)	16.7 (62)	26.8	0.37
A9	2.62 (48)	<0.05 (0)	2.87 (52)	5.49	0.91
A10	4.65 (59)	0.11 (1)	3.29 (41)	8.05	1.41
Promig en olis de consum animal	4.12 (43)	0.52 (5)	5.05 (52)	9.69	1.13
Desviació estàndard	1.59	1.24	4.67	7.01	0.49
H1	2.42 (58)	0.05 (0)	1.77 (42)	4.19	1.37
H2	0.13 (48)	0.14 (52)	<0.06 (0)	0.27	-
H3	<0.03	<0.05	<0.06	<0.14	-
H4	<0.03	<0.05	<0.06	<0.14	-
H5	0.48 (45)	0.59 (55)	<0.06 (0)	1.07	-
H6	0.24 (21)	0.91 (79)	<0.06 (0)	1.15	-
H7	0.23 (22)	0.24 (23)	0.59 (56)	1.06	0.39
H8	1.99 (65)	<0.05 (0)	1.09 (35)	3.08	1.83
H9	0.40 (43)	<0.05 (0)	0.52 (57)	0.92	0.77
H10	0.79 (100)	<0.05 (0)	<0.06 (0)	0.79	-
H11	<0.03	<0.05	<0.06	<0.14	-
H12	0.32 (52)	0.29 (48)	0.16 (0)	0.77	2.00
H13	0.04 (21)	0.15 (79)	<0.06 (0)	0.19	-
H14	<0.03 (0)	<0.05 (0)	0.09 (100)	0.09	-
H15	0.20 (8)	<0.05 (0)	2.19 (92)	2.39	0.09
Promig en olis de consum humà	0.48 (46)	0.19 (15)	0.43 (39)	1.14	0.43
Desviació estàndard	0.74	0.27	0.72	1.27	0.71

Entre parèntesis es mostra la contribució (en %) de cada diastereòmer en el total d'HBCD

Vint-i-dos de les vint-i-cinc mostres d'olis de peix analitzades han mostrat concentracions d'HBCD superiors al límit de quantificació, en un rang entre els 0.09 i 26.8 ng/g. Les mostres destinades al consum animal presentaven una concentració total d'HBCD molt superior a les destinades al consum humà, amb concentracions promig de 9.69 i 1.14 ng/g respectivament.

No s'ha observat una clara correlació entre el diastereòmer predominant i l'origen o la finalitat de l'oli. Mentre que el γ -HBCD té una concentració promig lleugerament més alta en les mostres destinades al consum animal, en les mostres destinades al consum humà les proporcions són pràcticament iguals.

Nou de les mostres analitzades tenien l' α -HBCD com a diastereòmer predominant, mentre que en 8 altres olis ho era el γ -HBCD. Les proporcions α/γ (que són els dos isòmers predominants en aquest tipus de mostres) es troben entre els valors 0.09 i 2.00. La majoria d'aquests valors són superiors a la proporció α/γ de les mesclures tècniques d'HBCD –entorn 1.25 (Tomy *et al.*, 2004)- i evidencien activitat metabòlica.

En la majoria de mostres analitzades, el β -HBCD és el que presenta valors més baixos entre els tres diastereòmers, normalment per sota del límit de detecció. Les seves concentracions promig han estat clarament les més baixes, tant en mostres destinades al consum humà com animal. Tot i així, és remarcable que el β -HBCD ha presentat valors semblants als altres dos diastereòmers en sis dels dotze olis de consum humà (aquells que presenten unes concentracions més baixes), sent el predominant en quatre d'elles.

La majoria de mostres destinades al consum animal tenien un origen conegut. Mentre que els olis A1, A3, A5, A6 i A10 provenien de l'Oceà Atlàntic Nord, els olis A4, A7 i A9 eren de l'Oceà Pacífic Sud. En general, els olis de peix de l'Atlàntic Nord han mostrat nivells d'HBCD (entre 4.78 i 15.5 ng/g) superiors als del Pacífic Sud (entre 3.34 i 5.49 ng/g).

Respecte a les mostres destinades al consum humà, aquells complements nutritius basats en oli de peix han mostrat concentracions d'HBCD més elevades que els que estaven basats en mesclures d'oli de peix i vegetal o només en oli vegetal. Aquesta observació indica que generalment els olis de peix presenten concentracions més elevades d'HBCD que els olis vegetals, fet que es podria relacionar amb el fenomen de biomagnificació que sofreixen els peixos a través de la cadena alimentària (Kelly *et al.*, 2007).

Independentment d'això, tots els olis destinats al consum humà han mostrat uns nivells d'HBCD molt més baixos que els destinats al consum animal. Aquest fet suggereix que els olis han estat sotmesos a algun procés de purificació per tal de fer-los aptes per al seu consum.

Tots aquests valors es representen en el histograma de la *Figura 6.1* (la *Figura 6.2* mostra una ampliació en l'eix d'ordenades per poder apreciar millor els resultats de les mostres d'ordre més baix).

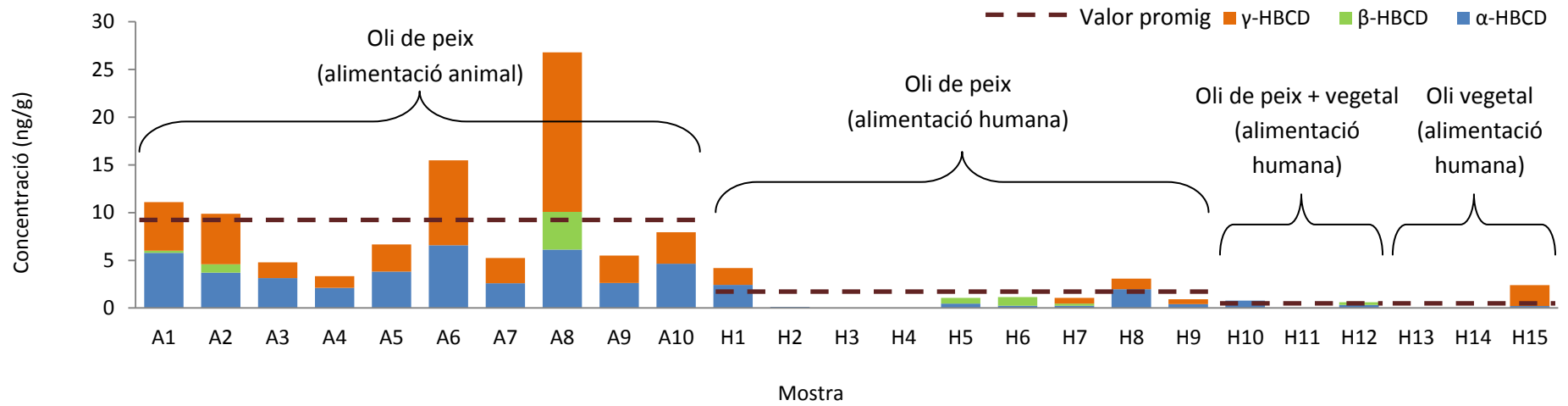


Figura 6. 1. Concentracions d'HBCD en les mostres d'oli de peix.

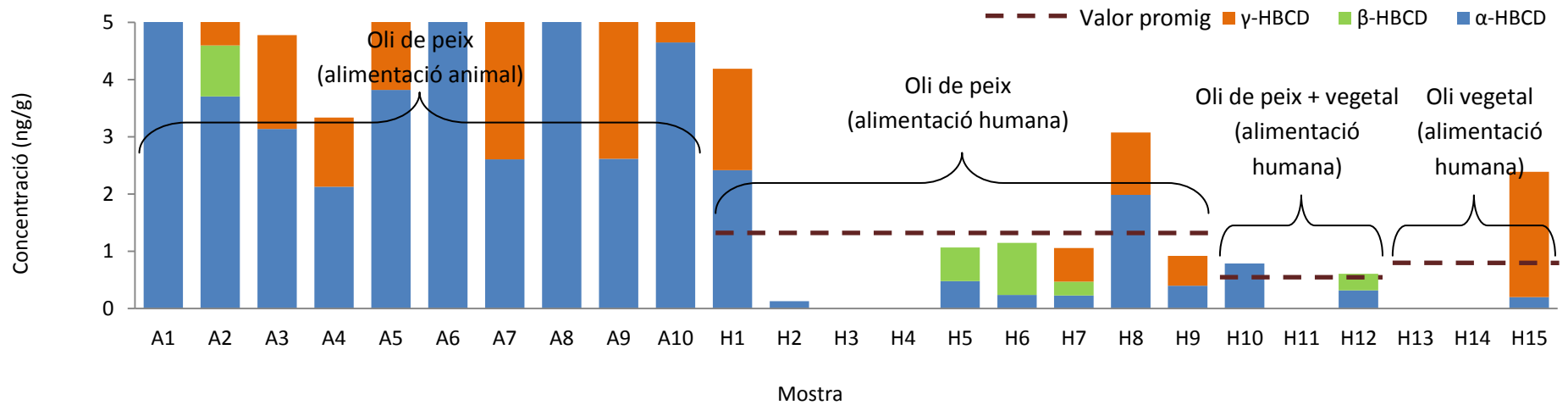


Figura 6. 2. Concentracions d'HBCD en les mostres d'oli de peix (ampliació).

Les concentracions d'HBCD en olis de peix determinades en aquest estudi es troben dins del mateix rang que les determinades prèviament per Kakimoto *et al.* (2007). L'única excepció ha estat la concentració determinada per aquest autor en olis de sardina i fetge de tauró, els quals han presentat valors deu cops més elevats (entre 44 i 67 ng/g en pes de greix) que les dades del present estudi.

Degut a la manca de publicacions pel cas de l'oli de peix, les concentracions d'HBCD determinades en la present investigació també s'han comparat directament amb els del peix (respecte al percentatge de greix). Les concentracions d'aquest contaminant en les mostres d'oli de peix són remarcablement més baixes que les determinades en carpa cruciana (*Carassius carassius*) i peix llop (*Misgurnus anguillicaudatus*) en estudis anteriors (Zhang *et al.*, 2009), amb valors promig de 377 i 1791 ng/g en greix. En aquests dos casos, l' α -HBCD era clarament el diastereòmer predominant. Aquest fet està en desacord amb els nostres resultats (en les mostres analitzades no hi ha un isòmer predominant), i es pot deure a que els olis de peix es solen obtenir a partir de barreges de diverses espècies.

Les concentracions del total d'HBCD en gòbit negre (*Gobius niger*), gòbit de sorra (*Pomatoschistus microps*) i merla (*Merlangius merlangus*) han estat publicades en un estudi (Sørmo *et al.*, 2009), que determina unes concentracions de 6.04, 14.3 i 31.9 ng/g en greix respectivament. Aquests valors es troben en el mateix rang que els obtinguts experimentalment en el present estudi.

Per finalitzar amb l'estudi dels diastereòmers, s'han calculat la ingesta diària d'HBCD corresponent a les mostres d'oli de peix destinades al consum humà, a través de la seva dosi diària recomanada pel fabricant. Aquesta ingesta s'ha estimat multiplicant la concentració del total de contaminant en cada un dels olis per la dosi diària recomanada, d'acord amb les instruccions del fabricant. Aquestes dades es mostren en la *Taula 6.3*.

Taula 6. 3. Ingesta diària d'HBCD a partir de l'oli de peix amb finalitat alimentària.

Mostra	Component principal	Σ HBCD (ng/g)	Dosi diària recomanada	Ingesta diària (ng HBCD/dia)
H1	Oli de salmó	4.19	2-3 perles/dia	5.15
H2	Oli de peix	0.27	2 perles/dia	0.27
H3	Oli de peix	<0.14	1 cullerada (3.3. g)/dia	-
H4	Oli de peix	<0.14	1 perla/dia	-
H5	Oli de peix	1.07	5-10 perles/dia	4.01
H6	Oli de peix	1.15	2-3 perles/dia	1.44
H7	Oli de peix	1.06	4 perles/dia	5.38
H8	Oli de fetge de bacallà	3.08	1 perles/dia	1.26
H9	Oli de peix	0.92	4 perles/dia	1.84
H10	Oli de peix +oli de prímula	0.79	2 perles/dia	0.55
H11	Oli de peix +oli de prímula	<0.14	1 perles/dia	-
H12	Oli de salmó + oli de borratja	0.77	3-5 perles/dia	2.16
H13	Oli de llavors de carbassa	0.19	6 perles/dia	0.46
H14	Oli vegetal ric en omega-6	0.09	2-3 perles/dia	0.08
H15	Oli de prímula	2.39	1-2 perles/dia	3.59
Promig	-	1.14	-	2.51
Desviació estàndard	-	1.27	-	1.88

Les ingestes diàries d'HBCD calculades es troben entre 0.08 i 5.38 ng d'HBCD al dia. En general, els resultats d'aquest estudi demostren que el consum de complements nutritius basats en oli de peix implica una major ingesta d'aquest contaminant que pel cas dels complements basats en olis vegetals (mitjanes de 2.45 i 1.38 ng d'HBCD al dia, respectivament).

Aquestes ingestes són del mateix ordre que les determinades per Knutsen *et al.* (2008) en oli de peix, però alhora són molt més baixes (de l'ordre de deu cops inferiors) que els determinats pel Comitè de Toxicitat del Regne Unit (Committee on Toxicity, 2006). Encara que no existeix informació respecte a la ingesta total d'HBCD a Espanya, la comparació de les dades obtingudes durant el present estudi amb les d'altres països (Knutsen *et al.*, 2008; Roosens *et al.*, 2009) suggereix que el consum de suplement nutritiu basat en oli de peix pot contribuir a un augment significatiu de la ingesta de HBCD, amb valors situats entre 1.2 i 21 ng HBCD/dia.

Encara que es desconeix la dosi d'oli de peix habitual pel cas de consum animal, la seva ingesta d'HBCD podria ser encara més elevada, deguda als nivells més elevats que presenta aquest contaminant en els olis destinats al consum animal.

6.3.3. Fraccions enantiomèriques d'HBCD en oli de peix

Les fraccions enantiomèriques (FE) de l'HBCD presents en les mostres d'oli de peix estudiades han estat determinades mitjançant l'ús d'una columna quiral en el sistema cromatogràfic, tal i com es descriu en l'apartat 6.2.1 del present capítol. Les dades obtingudes han estat posteriorment corregides respecte als patrons deuterats d'acord amb l'equació determinada per Marvin *et al.* (2007).

Pel cas del β -HBCD no s'ha pogut calcular el corresponent FE degut a la baixa concentració en oli de peix d'aquest diastereòmer. A més, cal tenir en compte que aquest senyal encara es veu més reduït al ser desdoblant durant la separació enantiomèrica.

Així doncs, els valors de FE pels diastereòmers α - i γ -HBCD presents en els olis de peix es troben representats en la *Figura 6.3*.

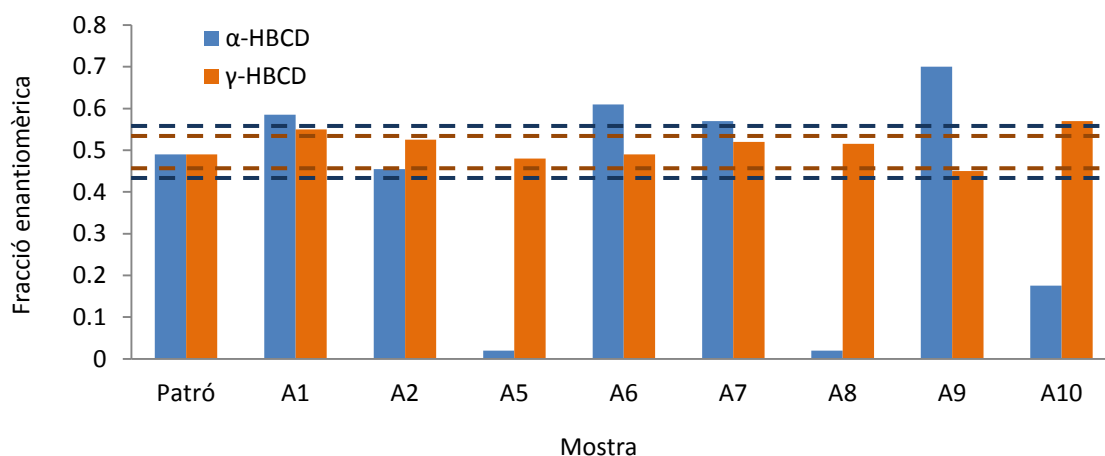


Figura 6.3. Fraccions enantiomèriques d' α - i γ -HBCD en olis de peix. En línia discontinua es mostra la desviació estàndard relativa del EF dels patrons.

Pel cas del γ -HBCD s'han obtingut valors de FE compresos entre 0.45 i 0.57. Si es comparen aquests valors de FE amb els obtinguts pels patrons (en la *Figura 6. 3* es mostren amb línies discontinúes), es pot afirmar que no existeixen diferències significatives per aquest diastereòmer.

En aquest cas el FE promig de les dissolucions de patró ha estat de 0.49, amb un 7% de desviació estàndard relativa. En general, els valors de γ -HBCD es troben compresos dins d'aquest interval del FE del patró \pm 7%. Només dues mostres (A1 i A10) han mostrat un lleuger augment d'aquest valor respecte al del patró, fet que indica un enriquiment per part de l'enantiòmer (+)- γ -HBCD en l'oli de peix. Per l'altra banda, la mostra A9 ha mostrat una lleugera disminució del seu FE respecte a la dissolució patró, indicant un enriquiment de l'enantiòmer (-)- γ -HBCD.

En el cas de l' α -HBCD, els valors de FE determinats en les mostres d'oli es troben entre 0.02 i 0.70. Aquests resultats –especialment en els casos de les mostres A5, A8 i A10- mostren un important decreixement respecte al FE promig del patró, que té un valor de $0.49 \pm 14\%$ de desviació estàndard relativa. Això fa palès un enriquiment de l'enantiòmer (-)- α -HBCD en alguns dels olis de peix estudiats. Per l'altra banda, la mostra A9 ha presenta un important increment del seu FE, indicant un enriquiment per part de l'enantiòmer (+)- α -HBCD.

Janák *et al.* (2005) va observar per primera vegada una acumulació selectiva de certs enantiòmers presents en els peixos de l'estuari occidental de Scheldt. En dos posteriors estudis, la base de dades de FE s'ha estès a l'arengada i diversos ocells depredadors (Janák *et al.*, 2005b), i dofins (Peck *et al.*, 2005). En tots els casos s'ha observat una desviació de FE respecte a la mescla racèmica (FE = 0.5), fet que fa pensar que o bé existeix una bioacumulació enantioselectiva o bé existeixen processos metabòlics enantioselectius en aquests casos.

És destacable que en general no s'ha observat una clara preferència respecte a cap dels dos enantiòmers de l' α -HBCD. En el muscle d'arengada i els ous de falcó existia un evident enriquiment de l'enantiòmer (-)- α -HBCD, mentre que en fetge de lluç i ous d'àguila marina s'hi observava un clar increment de l'enantiòmer (+)- α -HBCD. En un estudi recent realitzat amb llet materna (Eljarrat *et al.*, 2009) s'han extret conclusions semblants, al no observar-se un clar enriquiment de EF per el γ -HBCD però sí en el cas de l'enantiòmer (-) de l' α -HBCD.

6.3.4. Comparació amb els nivells de PCDD/Fs, PCBs i PBDEs

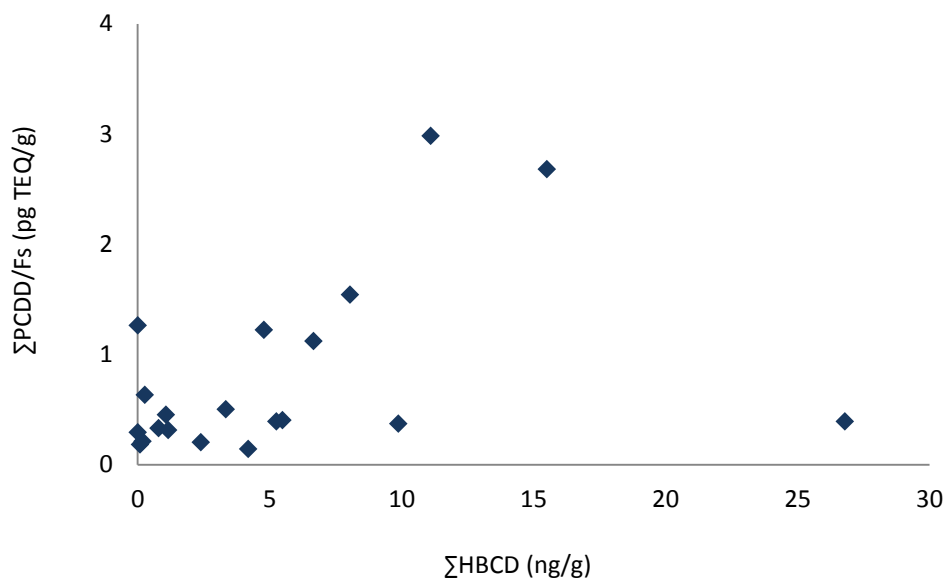
Els nivells d'HBCD en oli de peix determinats en aquest estudi han estat comparats amb les respectives concentracions de PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines i PBDEs, per tal d'intentar elucidar si existeix alguna relació entre les concentracions de les diferents famílies de contaminants.

La *Taula 6.4* mostra les concentracions totals de HBCD, PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines i PBDEs de les mostres d'oli de peix estudiades.

Taula 6. 4. Nivells d'HBCD, PCDD/F, PCBs similars a dioxines i PBDEs en oli de peix.

Mostra	Σ HBCD (ng/g)	Σ PBDEs (ng/g)	Σ PCDD/Fs (pg TEQ/g)	Σ dI-PCBs (pg TEQ/g)	Σ PCDD/Fs+PCBs (pg TEQ/g)
A1	11.1	0.08	2.98	9.59	12.6
A2	9.88	-	0.37	1.59	1.96
A3	4.78	-	1.22	5.11	6.33
A4	3.34	-	0.5	1.85	2.35
A5	6.66	0.30	1.12	6.24	7.36
A6	15.5	0.20	2.68	19.2	21.8
A7	5.26	0.97	0.39	1.97	2.36
A8	26.8	0.07	0.39	0.95	1.34
A9	5.49	-	0.4	1.88	2.28
A10	8.05	-	1.54	7.71	9.25
H1	4.19	-	0.14	0.46	0.6
H2	0.27	8.64	0.63	1.39	2.02
H3	NQ	-	0.29	0.88	1.17
H4	NQ	-	1.26	0.29	1.55
H5	1.07	-	0.45	0.32	0.77
H6	1.15	0.58	0.31	0.15	0.46
H7	1.06	4.81	-	-	-
H8	3.08	0.19	-	-	-
H9	0.92	-	-	-	-
H10	0.79	1.82	0.33	0.39	0.72
H11	ND	-	-	-	-
H12	0.77	-	-	-	-
H13	0.19	-	0.21	0.02	0.23
H14	0.09	-	0.18	0.02	0.20
H15	2.39	1.15	0.20	0.05	0.25

En primer lloc s'ha comparat la concentració de HBCD en oli de peix amb la suma de PCDD/Fs + PCBs similars a dioxines (expressada en unitats pg WHO-TEQ/g, que ponderen l'efecte toxicològic de cada congènere). Els resultats es mostren en la *Figura 6.4*.


Figura 6. 4. Concentracions de PCDD/Fs+PCBs similars a dioxines vs. HBCD.

Tal i com s'observa en la *Figura 6.4*, existeix una correlació positiva entre els nivells de les diferents famílies de contaminants: en augmentar la concentració d'HBCD també ho fa la concentració de PCDD/Fs+PCBs similars a dioxines.

Si no es tenen en compte els valors corresponents a la mostra A8 (els quals es desmarquen clarament de la tendència general, amb un valor proporcionalment molt més alt per l'HBCD) la correlació entre ambdós grups de contaminants (r^2) és de 0.73, fet que indica matemàticament que existeix una relació entre les concentracions d'aquestes famílies de contaminants en els olis de peix estudiats. En aquest cas, la correlació observada per les mostres de consum animal ($r^2 = 0.79$) és molt més alta que la obtinguda pels olis destinats al consum humà ($r^2 = 0.11$).

Les concentracions d'HBCD presents en les mostres d'olis de peix analitzades també han estat comparades amb els respectius nivells de PBDEs (*Figura 6.5*).

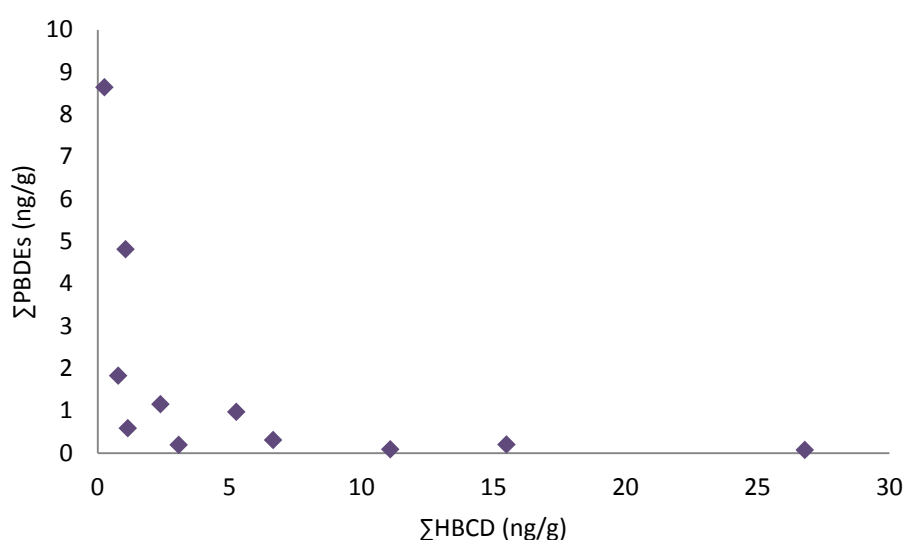


Figura 6.5. Concentracions de PBDEs vs. HBCD.

Cal tenir en compte que ambdós contaminants són retardants de flama bromats, i que per tant es fan servir amb la mateixa finalitat. En aquest cas no s'ha observat una clara relació entre els dos COPs, amb un coeficient de correlació (r^2) de 0.33.

Que aquesta correlació no és significativa ha estat confirmat a través de tests estadístics d'hipòtesi (Braumoeller, 2004). Aquests han descartat la hipòtesis nul·la, que considerava que les dues sèries tenen una correlació significativa (amb un valor de $p = 0.05$). Probablement, l'ús alternatiu d'un o l'altre retardant de flama pot haver influenciat en aquesta baixa correlació.

6.4. Eliminació d'HBCD per adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica

En aquest apartat s'ha estudiat l'eliminació d'HBCD en oli de salmó refinat, mitjançant el mètode híbrid de reducció de COPs desenvolupat en l'anterior capítol 5 de la present tesi. S'ha decidit emprar aquest mètode ja que així es pot determinar com afecten les etapes d'adsorció en carbó actiu i degradació fotoquímica per al cas d'aquest contaminant.

Amb aquesta finalitat, una mostra de l'oli ha estat tractada durant 12 hores amb el fotorreactor a la màxima potència (16 làmpades de 254 nm, 64W), prenent-se alíquotes al cap de 0, 6, 9 i 12 hores de tractament. Posteriorment a aquests olis tractats fotoquímicament se'ls hi ha aplicat el mètode optimitzat de reducció de COPs mitjançant carbó actiu. Els olis tractats han estat analitzats tal i com s'explica en l'apartat 6.2 del present capítol.

La codificació de les mostres, les condicions de reducció de contaminants i les concentracions d'HBCD determinades en cada alíquota es resumeixen en la *Taula 6.5*. Cal esmentar que en aquest estudi no s'ha inclòs el diastereòmer β -HBCD, ja que presentava una concentració en l'oli inicial molt baixa.

Taula 6. 5. Concentracions d'HBCD en mostres d'oli de salmó tractades amb el mètode híbrid.

Mostra	Fotodegradació (temps)	Adsorció en carbó actiu	α -HBCD (ng/g)	γ -HBCD (ng/g)	Σ HBCD (ng/g)	α/γ
Oli inicial	No	No	3.67	0.82	4.49	4.49
FQA0	No	Sí	3.36	0.80	4.15	4.22
FQA6	Sí (6 hores)	Sí	3.06	0.39	3.44	7.94
FQA9	Sí (9 hores)	Sí	2.57	0.36	2.93	7.16
FQA12	Sí (12 hores)	Sí	2.54	0.55	3.09	4.60

Per tal de fer una interpretació més gràfica d'aquests resultat, les concentracions d'HBCD a les mostres tractades es representen en la *Figura 6.6*, juntament amb el percentatge d'eliminació que se'n deriva.

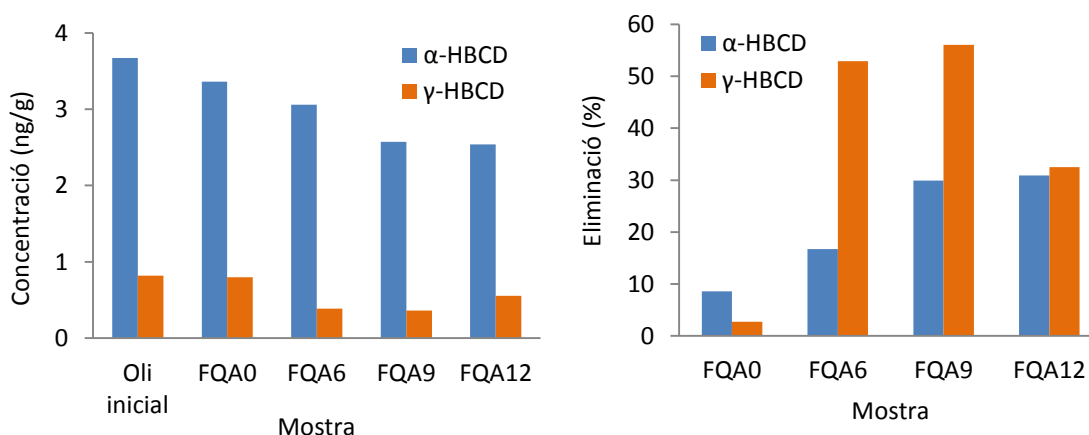


Figura 6. 6. Concentració (esquerra) i percentatge d'eliminació (dreta) d'HBCD de les mostres d'oli de salmó tractades amb el mètode combinat.

Com es pot observar, les concentracions d' α - i γ -HBCD no varien significativament durant l'etapa d'adsorció en carbó actiu. Les reduccions en aquest cas han estat només del 9 i 3% de la seva concentració inicial a l'oli, respectivament. Aquest fet era previsible, degut a l'estructura poc plana d'aquest contaminant. Això fa que la seva adsorció en la superfície del carbó no sigui efectiva.

Sí que s'han observat diferències significatives durant l'etapa de degradació fotoquímica. Pel cas de l' α -HBCD, que és el diastereòmer majoritari, en 12 hores de tractament la seva concentració ha disminuït de 3.67 a 2.64 ng/g, el que suposa una reducció del 31% del seu valor inicial. Exceptuant el valor de FQA3 –que és anòmalament més elevat del que s'esperava– aquesta degradació augmenta progressivament amb el temps d'exposició a la llum ultraviolada.

Pel cas del γ -HBCD, la seva concentració inicial en l'oli de salmó es veu reduïda de 0.82 a 0.55 ng/g al cap de 12 hores de fotodegradació, el que suposa una eliminació del 33%. En aquest cas però, la seva degradació és poc previsible, ja que a les 6 i 9 hores de tractament aquest valor era encara més alt que a les 12 hores (més de un 50%). Això es deu o bé a un major error experimental al estar més a prop del límit de detecció (la concentració inicial d'aquest diastereòmer és molt inferior a la de l' α -HBCD) o bé a un procés d'isomerització per part de l' α -HBCD enfront la radiació UV. Es descarta la possibilitat d'una isomerització tèrmica, ja que la mostra no s'ha escalfat en cap moment.

Després del tractament de l'oli de salmó refinat amb el mètode de reducció de COPs híbrid, el total d'HBCD s'ha vist reduït entorn a un 30% després de 12 hores d'irradiació. Aquests valors són sensiblement més baixos que els obtinguts per la resta de contaminants estudiats en l'anterior capítol (PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, DDTs i HCB).

6.5. Bibliografia

- Braumoeller BF (2004). Hypothesis testing and multiplicative interaction terms. International Organization, Cambridge University Press.
<http://www.memorialartgallery.art.museum/college/psc/clarke/405/Braumoeller.pdf>.
 Data de l'última consulta: 22/12/2010
- COT (2006). Brominated Chemicals: UK dietary intakes. Report 2006,
<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis1006.pdf>. Data de l'última consulta:
 21/12/2010
- Eljarrat E, Caixach J, Rivera J (2002). Determination of PCDDs and PCDFs in different animal feed ingredients. *Chemosphere* 46: 1403-1407
- Eljarrat E, de la Cal A, Raldúa D, Duran C, Barceló D (2004). Occurrence and bioavailability of polybrominated diphenylethers and hexabromocyclododecane in sediment and fish from Cinca River, a tributary of Ebro River (Spain). *Environmental Science and Technology* 38: 2603-2608
- Eljarrat E, Guerra P, Martínez E, Farré M, Alvarez JG, López-Teijón M, Barceló D (2009). Hexabromocyclododecane in human breast milk: levels and enantiomeric patterns. *Environmental Science and Technology* 43: 1940-1946
- Guerra P, de la Torre A, Martínez MA, Eljarrat E, Barceló D (2008). Identification and trace level determination of brominated flame retardants by LC-quadrupole linear ion trap (Qq-LIT) mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 22: 916-924
- Guerra P, Eljarrat E, Barceló D (2008b). Enantiomeric specific determination of hexabromocyclododecane by LC-quadrupole linear ion trap (Qq-LIT) mass spectrometry in sediment samples. *Journal of Chromatography A* 1023: 81-87
- Haug LS, Thomsen , Liane VH, Becher G (2008). Comparison of GC and LC determinations of hexabromocyclododecane in biological samples – Results from two interlaboratory comparison studies. *Chemosphere* 71: 1087-1092
- Heeb NV, Schweizer WB, Mattrel P, Haag R, Gerecke AC, Kohler M, Schmid P, Zennegg M, Wolfensberger M (2007). Solid-state conformations and absolute configurations of (+) and (-) alpha-, beta, and gamma-hexabromocyclododecanes (HBCDs). *Chemosphere* 68: 940-950
- Hilbert H, Lillemark L, Balchen S, Højskov CS (1998). Reduction of organochlorine contaminants from fish oil during refining. *Chemosphere* 37: 1252-1252
- Janák K, Covaci A, Voorspoels S, Becher G, (2005a). Hexabromocyclododecane in marine species from the Western Scheldt Estuary: Diastereomer- and enantiomer-specific accumulation. *Environmental Science and Technology* 39: 1987-1994

- Janák K, Sellström U, Johansson AK, Becher G, de Wit C, Lindberg P, Helander B (2005b). Enantiomer-specific accumulation pattern of hexabromocyclododecane in eggs of predatory birds breeding in Sweden. *Organohalogen Compounds* 67: 204-207
- Kakimoto K, Akutsu K, Konishi Y, Tanaka Y (2007). Hexabromocyclododecane in fish oil supplements. *Organohalogen Compounds* 69: 2307-2310
- Kelly BC, Ikonomou MG, Blair JD, Morin AE, Gobas, FAPC (2007). Food web-specific biomagnification of persistent organic pollutants. *Science* 317:236-239
- Knutsen HK, Kvalem HE, Thomsen C, Froeshaug M, Haugen M, Becher G, Alexander J, Meltzer HM (2008). Dietary exposure to brominated flame retardants correlates with male blood levels in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption. *Molecular Nutrition & Food Research* 52: 217-227
- Marvin C, MacInnis G, Alahee M, Arsenault G, Tomy G (2007). Factors influencing enantiomeric fractions of hexabromocyclododecane measured using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 1925-1930
- Peck AM, Tuerk KJS, Keller J, Kucklick JR, Schantz MM (2005). Hexabromocyclododecane diastereomers and enantiomers in white-sided dolphin blubber and liver tissue. *Organohalogen Compounds* 67: 1259-1262
- Roosens L, Abdallah M, Harrad S, Neels H, Covaci A (2009). Exposure to hexabromocyclododecanes (HBCDs) via dust ingestion, but not diet, correlates with concentrations in human serum: preliminary results. *Environmental Health Perspectives* 11: 1707-1712
- Sørmo EG, Jenssen BM, Lie E, Skaare JU (2009). Brominated flame retardants in the aquatic organisms from the north sea in comparison with biota from the high arctic marine environment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 2082-2089
- Tomy G, Budakowsky W, Halldorson T, Whittle D, Keir M, Marvin C, MacInnis G, Alahee M (2004). Biomagnification of α - and γ -hexabromocyclododecane isomers in a lake Ontario food web. *Environmental Science and Technology* 38: 2298-2303
- Voorspoels S, Covaci A, Schepens P (2004). Brominated flame retardants in birds of prey from Flanders, Belgium. *Organohalogen Compounds* 66: 3884-3891
- Zhang X, Fangxing Y, Luo C, Wen S, Zhang X, Xu Y (2009). Bioaccumulative characteristics of hexabromocyclododecane in freshwater species from an electronic waste recycling area in China. *Chemosphere* 76: 1572-1578
- Zennegg M, Schmid P (2006). PCDD/Fs, PCB, dioxin-like PCB, and PBDE in fish oil used as dietary supplement in Switzerland. *Organohalogen Compounds* 68: 1967-1970

7. CONCLUSIONS

De l'etapa de desenvolupament metodològic per a l'anàlisi de contaminants orgànics persistents en oli de peix, es conclou que:

- El mètode per a l'anàlisi de COPs en oli de peix posat al punt té una elevada precisió (CV <5%), elevada exactitud (biaix <10%) i baixa incertesa (< 10%) per la majoria d'analits. L'etapa de fraccionament mitjançant HPLC-PYE permet separar els PCBs indicadors, PCBs similars a dioxines i PBDEs, PCDD/Fs i BDE-209 en tres fraccions diferents.
- El mètode és aplicable a mostres reals d'oli de peix, havent-se observat que els nivells de PCBs indicadors i plaguicides organoclorats solen ser més alts que els de PCDD/Fs, PCBs similars a dioxines i PBDEs en aquest tipus de matriu. Els olis estudiats destinats al consum humà tenen concentracions més baixes de contaminants que els destinats al consum animal. En suplementos nutritius per alimentació humana, aquells que són basats en olis vegetals tenen nivells de COPs inferiors que els basats en olis de peix.

En relació als estudis d'eliminació de COPs en oli de peix mitjançant adsorbents sòlids, es pot concloure que:

- Cap dels onze adsorbents silícics provats ha estat capaç de disminuir de forma significativa els COPs presents inicialment en oli de peix, sent aquestes eliminacions inferiors al 10% en la majoria dels casos. L'estudi del procés d'adsorció mitjançant un disseny d'experiències ha permès conèixer que el tipus, la quantitat, i l'activació de l'adsorbent, juntament amb la temperatura d'adsorció, són els factors experimentals més influents per l'eliminació de COPs. Malgrat tot, no ha aconseguit millorar el procés de forma destacable.
- Els adsorbents carbonacis han mostrat una eficàcia elevada per a l'eliminació de PCDD/Fs i moderada per l'HCB i PCBs similar a dioxines. Els adsorbents amb estructura porosa (carbó actiu) han donat millors resultats que els que tenien estructura laminar (carbó grafititzat).
- L'estudi del procés d'adsorció amb carbó actiu mitjançant un disseny d'experiències ha determinat la proporció d'adsorbent com el factor més influent durant aquesta etapa, augmentant l'eliminació de COPs en incrementar-se la seva proporció. Les condicions òptimes d'adsorció s'obtenen emprant un 2.5% d'adsorbent (Norit SA 4PAH-HF) durant 37.5 minuts, a una temperatura de 80°C i pressió de 1000 hPa, en oli de peix refinat. En aquestes condicions s'elimina el 99% de PCDD/Fs, 70% d'HCB, 36% de PCBs similars a dioxines (81% en pg TEQ/g), 27% de DDTs, 11% de PCBs indicadors i 9% de PBDEs.
- El procés d'adsorció de COPs mitjançant carbó actiu no afecta significativament el contingut en àcids grassos de l'oli de peix.

Respecte a l'eliminació de COPs en oli de peix per degradació fotoquímica, se'n poden extreure les següents conclusions:

- La degradació fotocatalítica dels PCBs indicadors en presència de TiO₂ a una longitud d'ona de 354 nm només aconsegueix eliminar un 16% de la concentració inicial al cap de 10 hores de tractament amb el fotorreactor (64 W).
- La degradació fotoquímica de COPs en hexà a una longitud d'ona de 254 nm permet eliminar més d'un 99% de les seves concentracions inicials al cap de 3 hores de tractament amb el fotorreactor (64 W). La resistència de les diferents famílies estudiades a la fotodegradació segueix el següent ordre (de menor a major): PBDEs << PCBs indicadors < DDTs i HCB < PCBs similars a dioxines < PCDD/Fs.
- Les eliminacions de les famílies de contaminants estudiades han pogut ser ajustades a cinètiques de degradació de pseudo-primer ordre. Generalment, la velocitat de degradació augmenta juntament amb el grau d'halogenació de cada analit. Pel cas dels PCBs i PBDEs, la reactivitat dels substituents segueix l'ordre orto >> meta >para.
- Al cap de 12 hores de tractament a la màxima potència del fotorreactor (64 W) s'ha aconseguit eliminar un 73% de DDTs, 67% de PBDEs, 59% de HCB, 53 % de PCBs indicadors i 34% de PCDD/Fs en oli de peix. Per contrapartida, la concentració de PCBs similars a dioxines augmenta per decloració d'altres congèneres no estudiats presents en la mostra.

Pel que fa als estudis d'eliminació de COPs en oli de peix per fotodegradació i adsorció en carbó actiu, es pot concloure que:

- Quan el procés es duu a terme amb una exposició de la mostra a la llum ultraviolada de 12 hores a la màxima potència del fotorreactor (64 W), amb una posterior etapa d'adsorció en les condicions optimitzades, s'aconsegueix eliminar un 99% de PCDD/Fs, 89% d'HCB, 73% de PCBs similars a dioxines, 70% de PBDEs, 62% de PCBs indicadors i 60% de DDTs. S'ha observat una degradació significativa dels olis durant l'etapa fotoquímica.
- Dels tres mètodes d'eliminació estudiats –adsorció, fotodegradació i combinat- el que es basa en adsorció en carbó actiu és el més adequat per la reducció de COPs en oli de peix. Aquest és el que elimina millor els compostos més tòxics i amb nivells màxims legislats en la matriu d'estudi (PCDD/Fs i PCBs similars a dioxines), sense afectar les propietats nutritives de l'oli de peix.

De l'estudi dels nivells d'HBCD en oli de peix i la seva eliminació, se'n poden destacar les conclusions que s'exposen a continuació:

- Les mostres destinades al consum animal són les que presenten unes concentracions majors, a on els nivells diastereoisomèrics d' α - i γ -HBCD són majors que els de β -HBCD. D'entre totes aquestes, tres mostres mostren un elevat enriquiment de l'enantiòmer (-)- α -HBCD. L'eliminació de l'HBCD amb carbó actiu és pràcticament nul·la, mentre que a través de degradació fotoquímica s'aconsegueix eliminar fins a un 31% d' α -HBCD i 33% de γ -HBCD al cap de 12 hores de tractament.

Els estudis realitzats en la present tesi doctoral han donat com a fruit els següents articles:

Ortiz X, Martí R, Montaña MJ, Gasser M, Margarit L, Broto F, Díaz-Ferrero J (2010). Fractionation of persistent organic pollutants in fish oil by high performance liquid chromatography equipped with a 2-(1-pyrenyl)ethyl silica column. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 398 (2): 985-994

Martí M, Ortiz X, Gasser M, Martí R, Montaña MJ, Díaz-Ferrero J (2010). Persistent organic pollutants (PCDD/Fs, dioxin-like PCBs, marker PCBs, and PBDEs) in health supplements on the Spanish market. *Chemosphere* 78:1256–1262

Ortiz X, Carabellido L, Martí M, Martí R, Tomás X, Díaz-Ferrero J (2011). Elimination of persistent organic pollutants from fish oil with solid adsorbents. *Chemosphere* 82: 1301-1307

Ortiz X, Guerra P, Díaz-Ferrero J, Eljarrat E, Barceló D (2011). Diastereoisomer- and enantiomer- specific determination of hexabromocyclododecane in fish oil for food and feed. *Chemosphere* 82: 739-744

Ortiz X, Solà N, Martí R, Díaz-Ferrero J. Photochemical degradation of Persistent Organic Pollutants (PCDD/Fs, PCBs, PBDEs, DDTs and HCB) in hexane and fish oil. *Chemosphere*, submitted