



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Politécnica Superior de Gandia

Lixiviación de bisfenol A de microplásticos de policarbonato
empleando distintas matrices acuosas de la zona costera

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Evaluación y Seguimiento Ambiental de
Ecosistemas Marinos y Costeros

AUTOR/A: Galán Marrero, Brenda

Tutor/a: Torres Cartas, Sagrario

Cotutor/a: Meseguer Lloret, Susana

CURSO ACADÉMICO: 2022/2023

RESUMEN

La alta durabilidad de los plásticos y el reiterado uso de materiales plásticos primarios (botellas, latas, fibras, etc) no reciclados hacen que éstos se acumulen en el medio ambiente, en general, y en medios acuosos (mares, ríos, ...), en particular. Una vez allí, los materiales plásticos sufren procesos de descomposición por la acción de la luz solar, las corrientes, las olas, la salinidad, etc. Como consecuencia de estos procesos de degradación, los plásticos se rompen en fragmentos más pequeños, generándose los microplásticos secundarios, de tamaño inferior a 5 mm.

Tanto los plásticos como los microplásticos tienen un efecto dañino directo sobre los ecosistemas porque los componentes tóxicos presentes en los mismos (plastificantes, aditivos, etc) pueden liberarse y alcanzar la cadena trófica. Entre dichos compuestos tóxicos se encuentra el bisfenol A (BPA), un compuesto bifuncional que se utiliza como monómero en la síntesis de los policarbonatos. El BPA es un potencial disruptor endocrino debido a su capacidad de unirse a receptores de estrógenos, por lo que su posible lixiviación desde los plásticos al medio ambiente debe ser controlada.

En este proyecto, se ha estudiado la lixiviación de BPA desde microplásticos de policarbonato en distintas condiciones empleando distintas matrices acuosas de la zona costera (agua de mar, agua de marjal, agua de río y agua de la Albufera de Valencia) con la finalidad de observar las diferencias en la cantidad de contaminante liberada en función de la matriz empleada.

Para ello, los microplásticos se han obtenido en el laboratorio a partir de un panel de policarbonato. En primer lugar, se ha realizado un análisis de los blancos de las muestras de agua. Posteriormente, se ha puesto en contacto cada tipo de agua con una cantidad de microplástico de policarbonato, y se han mantenido en agitación en diferentes condiciones. Con las distintas matrices acuosas se han realizado estudios con luz directa en el laboratorio variando el tiempo de contacto, la masa de microplástico y el tamaño de los microplásticos. También se ha estudiado la influencia de la exposición de las disoluciones a la intemperie en la lixiviación de BPA.

Para el análisis de BPA en los lixiviados y en los blancos de muestras se ha realizado un proceso de extracción en fase sólida (SPE) del compuesto con cartuchos comerciales, previo a su determinación mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Además, se han caracterizado las distintas matrices acuosas mediante la medida de su pH, conductividad, DBO y DQO.

Palabras clave: *lixiviación, microplásticos, policarbonato, cromatografía, HPLC, bisfenol A, BPA, extracción en fase sólida, SPE.*

ABSTRACT

The high durability of plastics and the repeated use of non-recycled primary plastic materials (bottles, cans, fibers, etc.) cause their accumulation in the environment, in general, and in aqueous environments (seas, rivers, etc.), in particular. Once there, the plastic materials undergo decomposition processes due to the action of sunlight, currents, waves, salinity, etc. As a consequence of these degradation processes, plastics break into smaller fragments, generating the secondary microplastics, smaller than 5 mm in size.

Both plastics and microplastics have a direct harmful effect on ecosystems because the toxic components present in their structure (plasticizers, additives, etc.) can be released and reach the food chain. Among these toxic compounds is bisphenol A (BPA), a bifunctional compound used as a monomer in the synthesis of polycarbonates. The BPA is a potential endocrine disruptor due to its ability to bind to estrogen receptors, so its potential leaching from plastics into the environment must be controlled.

In this project, the leaching of BPA from polycarbonate microplastics has been studied under different conditions using different aqueous matrices from the coastal area (sea water, marsh water, river water and water from the Albufera of Valencia) in order to observe the differences in the amount of contaminant released depending on the matrix used.

For this purpose, microplastics have been obtained in the laboratory from a polycarbonate panel. First, the analysis of the blanks of the samples has been carried out. Subsequently, each type of water has been put in contact with a quantity of polycarbonate microplastic, and they have been kept under agitation at different conditions. With the different aqueous matrices, studies have been carried out with direct light, in the laboratory, varying the contact time, the microplastic mass and the size of the microplastics. The influence of the exposure of the solutions to the weather in the leaching of BPA has also been studied.

For the analysis of BPA in leachates and in the blanks of the samples, a solid phase extraction (SPE) process of the compound has been carried out with commercial cartridges, prior to its determination by high performance liquid chromatography (HPLC). In addition, the different aqueous matrices have been characterized by measuring their pH, conductivity, BOD and COD.

Keywords: leaching, microplastics, polycarbonate, liquid chromatography, HPLC, bisphenol A, BPA, solid phase extraction, SPE.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Plásticos y microplásticos	1
1.2. Problemática ambiental de los plásticos y microplásticos.....	2
1.3. Policarbonatos y Bisfenol A.....	5
1.4. Lixiviación de BPA de los microplásticos.....	8
1.5. Matrices acuosas del área litoral valenciana	9
1.6. Extracción en fase sólida (SPE)	10
1.7. Cromatografía líquida de alta eficacia	12
2. OBJETIVOS	15
3. REACTIVOS, DISOLUCIONES E INSTRUMENTACIÓN	16
3.1. Reactivos y disoluciones	16
3.2. Instrumentación.....	16
4. MATERIALES Y MÉTODOS	17
4.1. Materiales.....	17
4.2. Métodos	18
4.2.1. Toma y conservación de las matrices acuosas.....	18
4.2.2. Caracterización de las distintas matrices acuosas	20
4.2.3. Obtención del microplástico de policarbonato.....	23
4.2.4. Tratamientos de lixiviación de BPA de los microplásticos de policarbonato	23
4.2.5. Extracción en fase sólida de la disolución de lixiviado	25
4.2.6. Análisis cromatográfico del BPA del lixiviado mediante HPLC-FL.....	26
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
5.1. Análisis de BPA mediante SPE-HPLC-FL.....	27
5.2. Caracterización de las aguas de origen natural y análisis de blancos.....	29
5.3. Estudios de lixiviación de BPA.....	33
5.3.1. Influencia del tiempo de contacto agua-microplástico en la lixiviación de BPA..	34
5.3.2. Influencia de la cantidad de microplástico en la lixiviación de BPA	36

5.3.3. Influencia del tamaño de los microplásticos de PC en la lixiviación de BPA.....	39
5.3.4. Influencia de la exposición de las disoluciones a la intemperie en la lixiviación de BPA.....	40
5.3.5. Evaluación de las concentraciones de BPA en el lixiviado con las distintas matrices	43
6. CONCLUSIONES	45
7. BIBLIOGRAFIA.....	47

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Plásticos y microplásticos

Los plásticos son materiales sintéticos naturales o artificiales constituidos por compuestos orgánicos que tienen la propiedad de ser maleables y, por tanto, pueden ser moldeados en objetos sólidos de diversas formas (Plastic Europe, 2023). En general, los plásticos son polímeros orgánicos de alto peso molecular y, concretamente los artificiales, se sintetizan en el laboratorio a partir de derivados químicos del petróleo (petroquímicos).

Algunos ejemplos de plásticos artificiales son el policarbonato (PC), polietileno (PE), polipropileno (PP), o el poliestireno (PS) entre otros (Figura 1), y su acumulación en el medio ambiente es uno de los mayores problemas de contaminación a nivel mundial.



Figura 1. Tipos de plástico y su numeración para su posterior reciclaje (National Geographic, 2019)

Los plásticos artificiales presentan propiedades diferentes según su estructura. Los plásticos de PC destacan por poseer una alta resistencia mecánica, gran resistencia al impacto, gran rigidez, dureza elevada y gran tenacidad, ser resistentes a ácidos inorgánicos, además de poseer un alto índice de refracción, por lo que transmiten la luz en la región visible hasta el 89% (Bacca *et. al.*, 2009). En caso de los Pes, podemos decir que pertenecen a la familia de los termoplásticos y destacan por ser químicamente inertes, y por sus propiedades de lubricidad, abrasión y gran resistencia al impacto, según estudios realizados por Cardona y colaboradores. (Cardona *et. al.*, 2010). Si hablamos de los PPs, debemos destacar que tienen gran resistencia ante el impacto y son de pesos ligeros (Blancas y Marco, 2004). Y respecto

a los PSs, se consideran de los materiales plásticos más estables por sus características de estabilidad química, y se caracterizan por su alto valor como aislantes sonoros y eléctricos, y por su transparencia, según lo planteado por Sánchez (2004).

También existe un número menor de plásticos naturales, sintetizados a partir de fuentes renovables, tales como el ácido poliláctico, derivado del almidón de maíz, o la celulosa, obtenida a partir de algodón (Plásticos, Wikipedia). Estos últimos son en general biodegradables o se pueden reciclar sin que esto afecte al medio ambiente.

Podemos decir que los plásticos naturales, como es el caso del ácido poliláctico, destacan por su alta biodegradabilidad, biocompatibilidad y propiedades de barrera. Este ácido es muy utilizado tanto en la agricultura como en la industria química, alimentaria, textil, farmacéutica, y del plástico para la producción de implantes, cápsulas para la liberación lenta de fármacos, producción de hilo de suturas y de empaques y envases para alimentos (Serna y Albán, 2003).

Muchos residuos plásticos no reciclados acaban fragmentándose en piezas más pequeñas, formando lo que llamamos microplásticos (MP), pedazos de plástico con un tamaño menor de 5 μm , en este caso serían microplásticos secundarios. (Li et al, 2022). Además, existen microplásticos primarios, como granzas, que se utilizan a nivel industrial para sintetizar materiales plásticos de mayores dimensiones, u otras pequeñas partículas plásticas que se utilizan en cosmética y detergentes (National Geographic, 2019)

1.2. Problemática ambiental de los plásticos y microplásticos

La contaminación por plásticos y microplásticos es una consecuencia de la acumulación de gran cantidad de residuos plásticos que desechamos diariamente en el medio ambiente, y viene provocada por difícil degradación y/o deficiente reciclado. De ahí surge un problema socioambiental de alcance global, preocupante y complicado de solucionar.

Muchos residuos plásticos no reciclados terminan acumulándose en las zonas costeras (mares, marjales, ríos, lagos) (ACOREMA, 2019), donde se descomponen debido a la acción de los rayos del sol, el paso del tiempo, la acción de las olas y las corrientes, fragmentándose en MP y afectando, en consecuencia, a los ecosistemas.

Estas partículas no sólo quedan en suspensión en el mar, sino que también llegan y se acumulan en la arena de las playas, debido a las mareas, lo cual constituye un problema de contaminación importante, especialmente en áreas protegidas (Cabrera, 2018) (Figura 2).



Figura 2. Acumulación de microplásticos mezclados en arenas de mar. Fuente: ISLAM HOY

Según la ONU (ONU, 2017), cada año más de 8 millones de toneladas de residuos sólidos plásticos acaban en las playas y océanos. Actualmente se está consumiendo 20 veces más plásticos que en 1960, por lo que, de seguir esta tendencia, se proyecta que para el año 2050 se tendrán 33 mil millones de toneladas de residuos plásticos. Estos residuos, en su mayoría, terminarán en mares y océanos donde la vida silvestre marina puede confundirlos, particularmente a los microplásticos, con sus alimentos.

El grupo mixto de expertos sobre los aspectos científicos de la protección del medio ambiente marino menciona que los plásticos en los ecosistemas costeros pueden provocar daño físico y mortalidad a la vida marina, así como en el comportamiento de la cadena alimenticia de los ecosistemas marinos, ya que los peces pequeños pueden ingerir estos microplásticos y éstos son la base de la cadena trófica (GESAMP, 2015). Este problema puede causar estrés fisiológico, daño toxicológico e inanición en plancton, moluscos y otros invertebrados, peces, aves marinas, tortugas y mamíferos marinos.

En la actualidad, los plásticos provocan grandes problemas y amenazas para especies marinas como las ballenas, focas, tortugas y estrellas marinas, ya que estas se ven atrapadas y enmalladas en los residuos plásticos presentes en el mar (Figura 3). Muchas de estas especies sufren estrangulaciones, lo que provoca la imposibilidad de realizar sus funciones vitales como la alimentación y el desplazamiento.



Figura 3. Tortuga enredada en red de pesca abandonada. Fuente: elDiario.es

Estudios realizados por Rojo-Nieto y Montoto y colaboradores (Rojo-Nieto, 2017) mencionan que la acumulación de plásticos en el fondo y en la superficie marina provoca alteraciones fisicoquímicas de los ecosistemas marinos (Figura 4). Por una parte, los residuos de plástico acumulados en la superficie impiden la penetración de la luz en el mar, repercutiendo directamente a la vegetación existente en la zona. Por otro lado, la acumulación de plásticos en los fondos marinos provoca en muchos casos anoxia, sofocando a las algas u otras especies que habitan en la zona.



Figura 4. Acumulación de plásticos en la superficie del mar. Fuente: El Mundo

La exposición a los microplásticos afecta de diversas maneras a los seres vivos. Por una parte, la ingesta del MP genera un daño físico en el sistema digestivo de las especies. Las partículas de MP, después de ser ingeridas por los seres vivos, tienen el potencial de translocarse a distintos tejidos, desencadenando una respuesta inmune localizada (Hernández y Farrés, 2021). En el estudio llevado a cabo por Hussain *et al.* (Hussain et al, 2001) en ratas, se observó la translocación de las partículas contaminantes desde el intestino hasta la linfa y al sistema circulatorio, lo que demuestra que los xenobióticos se pueden ubicar en diversos tejidos de los seres vivos.

Por otra parte, tanto los plásticos como los microplásticos tienen un efecto dañino directo sobre los ecosistemas porque los componentes tóxicos presentes en los mismos (plastificantes, aditivos, etc.) pueden liberarse y alcanzar la cadena trófica, generando en los seres vivos grandes complicaciones a corto y largo plazo (Barboza *et al.*, 2018; Espinosa *et al.*, 2019; Barbosa *et al.*, 2020; Mohsen *et al.*, 2020).

Los MPs, además, pueden actuar como vector al transferir muchas sustancias tóxicas hacia los tejidos de los seres vivos. En este sentido, muchos estudios han demostrado que los peces y otras especies marinas son organismos con alta vulnerabilidad, ya que ciertos contaminantes orgánicos y metales pesados se pueden adherir al plástico durante la interacción del material plástico con el ambiente y liberarse en los sistemas digestivos de los organismos causando efectos negativos sobre las especies (Domínguez y Grisell, 2020).

1.3. Policarbonatos y Bisfenol A

Los policarbonatos (PCs) son polímeros termoplásticos que poseen muy buenas propiedades: son transparentes y poseen alta resistencia mecánica, baja absorción de humedad y buena estabilidad térmica. Debido a estas propiedades, se utilizan en aplicaciones electrónicas para la fabricación de elementos en los teléfonos móviles, en la industria de la construcción para realizar cerramientos, en la industria de la automoción para fabricar los faros o algunos elementos de las consolas interiores, en la fabricación de gafas, CDs y DVDs, así como para hacer envases de alimentos, como botellas de bebidas, biberones y recipientes, entre otros (The Danish Environmental Protection Agency, 2015).

Los policarbonatos se obtienen mediante la reacción de polimerización entre monómeros de Bisfenol A (BPA) y fosgeno en medio básico, según la reacción de la Figura 5 (Tecnología de los plásticos).

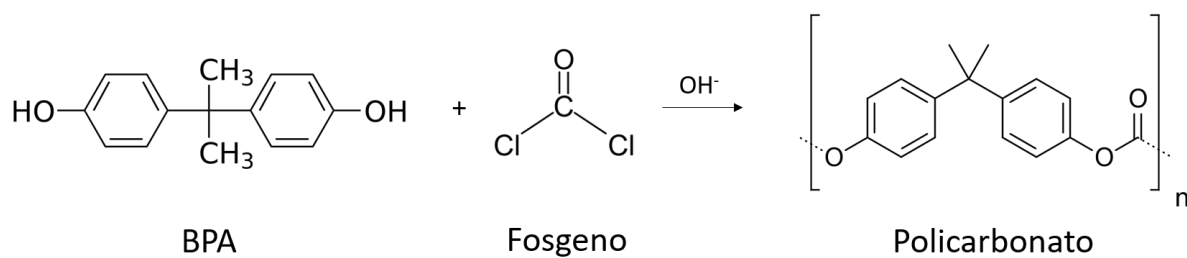


Figura 5. Reacción de síntesis del PC

En cuanto a sus propiedades químicas, el policarbonato es un polímero levemente polar. Los grupos carbonato presentes en su estructura pueden hidrolizarse si el polímero está en contacto con el agua y a temperaturas elevadas, degradándose el polímero y liberándose a la disolución moléculas de BPA. Por otra parte, aunque el polímero es estable a radiaciones UV, su superficie puede también degradarse si el material se encuentra expuesto a la radiación en ambientes exteriores.

Como hemos comentado, uno de los componentes básicos de la estructura de los PCs es el BPA. El BPA es el compuesto químico más representativo del grupo de los bisfenoles, y es el bisfenol que se produce en mayores cantidades. La producción mundial de BPA se estimó en 7,7 millones de toneladas en 2015 y 8 millones de toneladas en 2016 y se espera que alcance los 10,6 millones de toneladas en 2022. Alrededor del 95% del BPA producido se utiliza principalmente como monómero para la síntesis de plásticos de policarbonato (PC) y de resinas epoxi que se utilizan para el recubrimiento de latas en alimentación; el otro 5% de BPA producido se emplea en otras aplicaciones: como estabilizador, retardante de llama, antioxidante e inhibidor en la producción y procesamiento de cloruro de polivinilo (PVC), polipropileno (PP) y polietileno (PE) (Ruiz, 2013).

El principal problema del BPA es su alta toxicidad, ya que es un potencial disruptor endocrino debido a su capacidad de unirse a receptores de estrógenos. Por ello, su posible lixiviación desde los plásticos al medio ambiente debe ser controlada. La exposición a BPA puede generar en los seres vivos cambios de comportamiento, cáncer, pubertad temprana, diabetes y obesidad, daño prostático, disminución de la cantidad espermática, daño cerebral, alteración cromosómica, etc. (González et al., 2011). También se ha demostrado que puede provocar poliquistosis ovárica, problemas de fertilidad femenina, feminización, así como alteraciones reproductivas inmunológicas y de desarrollo (Ruiz, 2013). Además, varios experimentos realizados con animales han demostrado que el BPA influye en el desarrollo de las glándulas mamarias (Markey *et al.*, 2001) y provoca malformaciones uretrales (Timms *et al.*, 2005) o aneuploidía meiótica (Hunt *et al.*, 2003).

Por otra parte, otros estudios científicos indicaron que el BPA puede ser biológicamente activo a dosis muy bajas (Timms *et al.* 2005; Ashby, 2003). En estos estudios se concluía que la exposición alimentaria al BPA es un problema de salud para los consumidores de todos los grupos de edad al identificar efectos potencialmente nocivos para la salud en el sistema inmunitario y superarse en 2 o 3 órdenes de magnitud la ingesta diaria tolerable (IDT) establecida para BPA.

Como medida protectora frente a los posibles daños, la Unión Europea acordó prohibir la fabricación y venta de biberones de PC así como de otros productos plásticos de PC que estuviesen en contacto directo con alimentos. En España, se adoptó esta medida en el BOE nº 72 del 25 de marzo de 2011 (Orden PRE/628/2011) de 22 de marzo, por la que se modifica el Anexo II del Real Decreto 866/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos y se regulan determinadas condiciones de ensayo).

En la evaluación de la IDT para BPA que se realizó en 2015, se fijó un valor de IDT temporal de 4 µg/Kg·día (µg de BPA por Kg de peso por día) que debía ser revisado, ya que los científicos de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) detectaron una serie de lagunas e incertidumbres en los datos estudiados. Los expertos se comprometieron a reevaluarlo cuando se dispusiera de nuevos datos, en particular, los datos de un estudio crónico de dos años patrocinado por el Programa Nacional de Toxicología de los Estados Unidos. Actualmente, sobre la base de todas las nuevas pruebas científicas evaluadas, los expertos de la EFSA han establecido una IDT de 0,04 ng/Kg·día, valor 100000 veces menor que el establecido en 2015.

Recientemente, la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN), en la nueva evaluación del riesgo de la presencia de BPA en alimentos, publicada el 19 de abril de 2023, ha destacado que el sistema inmunitario es el más sensible a la exposición al bisfenol A. El estudio ha destacado que el BPA actúa sobre los linfocitos T colaboradores que son fundamentales en los mecanismos de inmunidad celular y en el desarrollo de reacciones inflamatorias como la autoinmunidad y la inflamación pulmonar (Ministerio de consumo, 2023), por lo que su liberación a los alimentos y al medio ambiente debe ser controlada.

1.4. Lixiviación de BPA de los microplásticos

Como se ha comentado, los humanos hemos estado expuestos a la ingesta de BPA ya que muchos envases de comida estaban hechos de policarbonato y, por otra parte, las resinas epoxi que se utilizaban como revestimientos protectores en latas metálicas o tanques de almacenamiento de vino han estado en contacto con los alimentos que consumimos (Brenn y Cichna 2006) (Figura 6). En estos casos, se sabe que el BPA podría migrar en cantidades pequeñas a los alimentos y bebidas constituyendo un problema para nuestra salud (Alimente, 2023). Este proceso de migración de las moléculas de BPA a la disolución se denomina lixiviación (Mortula, 2021).



Figura 6. Envases alimentarios. Fuente: El bisfenol A de los envases alimentarios es un riesgo para la salud (Fuente: EROSKI Consumer,2023).

La lixiviación de BPA de los microplásticos de PC puede producirse al aumentar el tiempo de almacenamiento, reutilizar el material plástico, lavar el material con detergentes básicos, calentar los alimentos en dichos recipientes empleando el microondas, aumentar la temperatura, o subir o bajar el pH, entre otros (Uadia P.O., 2019). También, en presencia de especies oxidantes reactivas, como radicales hidroxilos, se acelera la lixiviación del BPA de los policarbonatos, y más aún en disoluciones acuosas que contengan dichas especies junto a sales como el NaCl (J. Sajiki et. al., 2003).

En este sentido, la Comisión Europea estableció en 2018 un límite de migración específica de 50 μg BPA/kg alimento en barnices y revestimientos destinados a entrar en contacto con los alimentos para garantizar la seguridad alimentaria (Reglamento (UE) 2018/213 de la Comisión, de 12 de febrero de 2018, sobre el uso de bisfenol A en los barnices y revestimientos destinados a entrar en contacto con los alimentos y por el que se modifica el Reglamento (UE) nº 10/2011 por lo que respecta al uso de dicha sustancia en materiales plásticos en contacto con los alimentos). Más recientemente, en España se ha prohibido el

uso de bisfenol A para envases con la nueva normativa de envases y residuos de envases (Real Decreto 1055/2022, de 27 de diciembre, de envases y residuos de envases, BOE núm. 311, de 28 de diciembre de 2022, 185982-186068, Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico).

En este TFM se van a estudiar los procesos de lixiviación de BPA que se producen desde microplásticos de policarbonato a distintas matrices acuosas del área litoral valenciana (agua de mar, río, lago de la Albufera y marjal), aplicando distintos tratamientos que intentan reflejar situaciones de nuestro entorno natural más cercano.

1.5. Matrices acuosas del área litoral valenciana

Los procesos de lixiviación de los microplásticos de policarbonato se llevaron a cabo en este trabajo empleando 4 matrices acuosas de la zona costera valenciana de distinta naturaleza: agua del lago de La Albufera de Valencia, agua de mar de la playa de Gandía, agua de la Marjal de Gandía, y agua del río Serpis a su paso por Gandía. En función de la procedencia y las actividades desarrolladas en la zona, las aguas poseen características distintas. A continuación, se comentan las características de las distintas matrices acuosas seleccionadas en este trabajo.

Una Albufera es una laguna litoral que se compone de agua salobre, y que está separada del mar por una lengua de tierra o cordón de arena. El agua del lago de La Albufera de Valencia es una de las aguas más contaminadas de la Comunidad de Valencia debido a la alta filtración de aguas residuales, aguas superficiales con altas cantidades de químicos y fertilizantes, y también debido a la gran capacidad de pesca, agricultura y grandes acumulaciones de escombros (Álvarez et. al., 2017). Esta agua presenta un alto valor de turbidez y poca conductividad eléctrica según estudios realizados por (De Laorden, 2020). Además, presenta un flujo mixto ya que se alimenta por un flujo vertical y uno horizontal (IGME,2009).

El agua de mar o agua salada no es más que una disolución que componen los mares y los océanos y se caracteriza por presentar alta salinidad. Esta playa presenta un gran flujo de aguas subterráneas de origen marino y aguas subterráneas del continente (Barrera, 2011). Además, el agua de la playa de Gandía tiene un alto nivel de contaminantes y nutrientes debido a los vertidos que tienen lugar a través de las actividades del puerto (Gadea,2016).

El Marjal es una zona húmeda que mayormente se encuentra ubicada cerca del mar. En cuanto al Marjal de Gandía, podemos decir que se trata de un humedal costero de agua dulce que se alimenta de aguas subterráneas que proceden de los macizos cársticos, además de alimentarse de aguas freáticas almacenadas en el subsuelo de la llanura y del acuífero

detrítico de la Plana Gandía-Denia (Alonso & Viñals, 2012). En esta Marjal hay una importante intrusión marina, por lo que sufre procesos de salinización, ya que tiene una alta permeabilidad, no obstante, existe un equilibrio entre el agua dulce y el agua salada (Villar, 2015).

El agua río se caracteriza por ser no salina y contener sólidos disueltos. Son aguas frescas que fluyen de las montañas y son ricas en minerales. Del agua del Río Serpis podemos decir que la calidad del agua de manera general se encuentra aceptable para el hábitat de los peces (Parra, 2021). Además, la concentración de nitratos y las concentraciones de pesticidas en el agua de este río son bajas. No obstante, existen períodos de alta contaminación causada por el alivio del sistema de saneamiento en las inmediaciones de la playa de Venecia: esto ocurre mayormente en el período de fuertes lluvias y en el período de la temporada en que hay gran afluencia turística (Garófano & Gadea, 2018).

Los lixiviados de los microplásticos empleando estas 4 matrices acuosas fueron tratados en este trabajo mediante extracción en fase sólida previo al análisis de BPA en los mismos.

1.6. Extracción en fase sólida (SPE)

La técnica de extracción en fase sólida (SPE) es una técnica de limpieza y preconcentración muy utilizada para el tratamiento de muestras antes de su análisis. Esta técnica se utiliza en dos sentidos, que son complementarios:

- Cuando el analito se encuentra en una mezcla compleja, en la que los componentes de la matriz pueden interferir en el análisis. En este caso, la SPE se utiliza como sistema de limpieza, para separar el analito del resto de compuestos que no nos interesen.
- Cuando el analito se encuentre en la muestra en concentraciones demasiado bajas. En estos casos, la SPE nos permite realizar una concentración del analito antes de su análisis (pre-concentración), de forma que pueda ser analizado mediante técnicas analíticas convencionales.

Esta técnica es sencilla, económica y contribuye a la química verde, ya que no requiere del uso de equipos costosos ni de grandes cantidades de disolventes orgánicos. (Soledad-Rodríguez, 2017).

En la SPE se hace percolar un volumen conocido de muestra a través de un sorbente sólido, que puede estar empaquetado en un cartucho, columna o disco. Las condiciones de paso de la muestra han de estar cuidadosamente controladas para favorecer que el analito se absorba de forma preferente sobre el sorbente empleado. Tras la etapa de absorción, el analito se ha

de extraer haciendo pasar por el sorbente un pequeño volumen de un disolvente o una mezcla de disolventes apropiados.

En la Figura 7 se muestra un esquema de las etapas del procedimiento de SPE empleando un sorbente empaquetado en un cartucho de extracción. Las etapas son:

- Acondicionamiento: Etapa en la que se hidrata el sorbente sólido y se deja en las condiciones adecuadas para procesar la muestra.
- Aplicación de la muestra: etapa en la que se hace pasar la muestra a través del sorbente. En esta etapa, el analito queda retenido en el sorbente, y pueden quedar retenidos también algunos de los componentes de la matriz de la muestra.
- Lavado: Etapa en la que se hace pasar un disolvente (muchas veces agua) para eliminar los componentes retenidos que no sean el analito.
- Elución: Etapa en la que se extrae el analito del sorbente añadiendo un pequeño volumen de disolvente en el que el analito es muy soluble, habitualmente un disolvente orgánico como metanol.

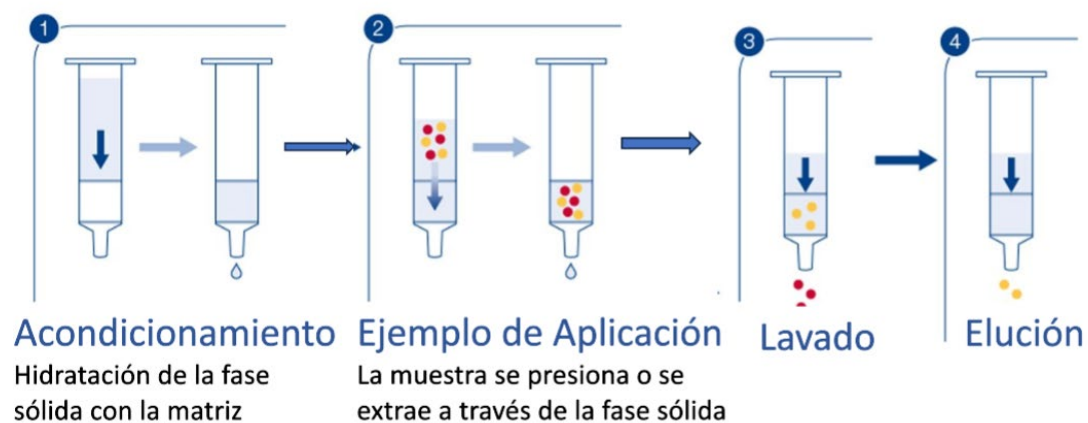


Figura 7. Etapas de un procedimiento de SPE empleando un sorbente empaquetado en un cartucho (Figura Modificada de Macherey-Nagel)

En este TFM se ha empleado la técnica de SPE como sistema de limpieza y preconcentración de las distintas matrices acuosas que se han puesto en contacto con el microplástico de policarbonato bajo distintos tratamientos para observar la posible lixiviación de BPA.

1.7. Cromatografía líquida de alta eficacia

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es una técnica de análisis utilizada para separar y cuantificar los componentes de una mezcla. La separación de los componentes de la mezcla mediante cromatografía líquida requiere dos fases: la fase móvil, que consiste en un disolvente líquido o una mezcla de disolventes líquidos; y la fase estacionaria, que generalmente es un sólido empaquetado en el interior de una columna de acero. La fase móvil se hace pasar de forma continua a través de la fase estacionaria gracias a la fuerza aplicada por una bomba de alta presión. La muestra se inyecta en el sistema cromatográfico, y es arrastrada por la fase móvil a través de la fase estacionaria. La separación de los diferentes compuestos presentes en la muestra se consigue debido a las interacciones de los componentes de la muestra con las fases móvil y estacionaria.

La técnica de HPLC destaca por su alta selectividad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles y, principalmente, por su gran aplicabilidad. La técnica se ha empleado en la determinación selectiva de sustancias como aminoácidos, proteínas, hidrocarburos, fármacos, plaguicidas, o antibióticos, entre otros, que son de suma importancia e interés en la industria, en la ciencia, y en la sociedad en general (Arce, 2017).

Los sistemas cromatográficos de HPLC se componen de las siguientes partes básicas, que se muestran en la Figura 8:

1. Recipientes para la fase móvil.
2. Sistema de bombeo.
3. Sistema de inyección de la muestra.
4. Columna cromatográfica.
5. Detector (o detectores, si hay más de uno). Si el sistema cromatográfico posee varios detectores, se podrán registrar al mismo tiempo los cromatogramas correspondientes a cada detector.
6. Sistema registro de datos (ordenador con el software correspondiente).

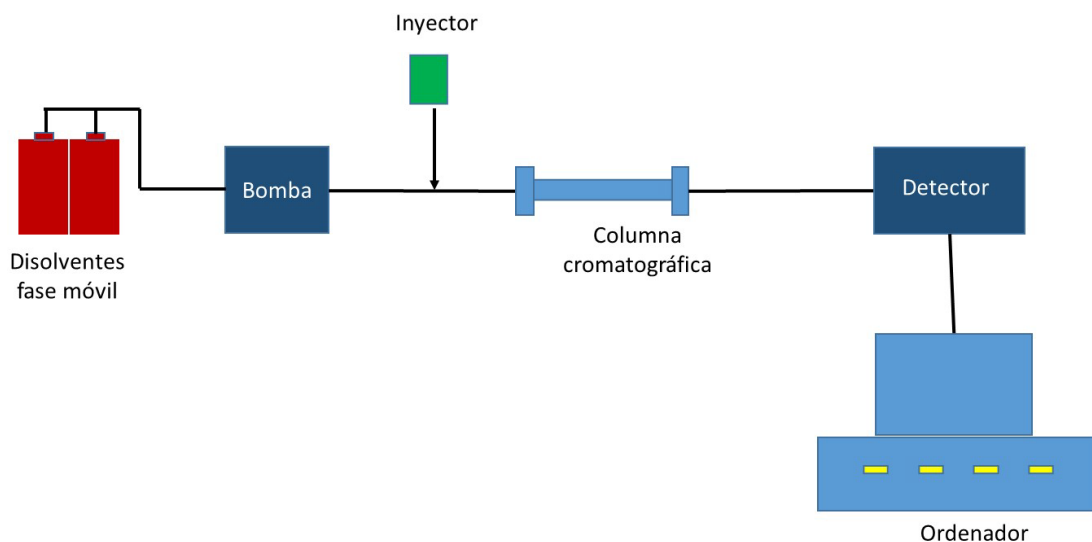


Figura 8. Esquema general de un instrumento de HPLC.

Durante el análisis cromatográfico se registra la señal que llega al detector a lo largo del tiempo de análisis (tiempo necesario para la separación de los componentes), y a este registro se le denomina cromatograma (Figura 9). En el cromatograma, tras el tiempo muerto (t_M , tiempo que tardan en llegar al detector los componentes no retenidos por la columna) aparecerán distintos picos, y cada pico corresponde a uno de los componentes de la muestra; así, cada compuesto tendrá un tiempo de retención característico (t_R , tiempo desde que se inyecta la muestra hasta que aparece el máximo del pico), parámetro que nos sirve para identificar los componentes de la muestra). En la Figura 9 se muestra un cromatograma con un solo pico. Por otra parte, la medida del área bajo el pico, sombreada en la Figura 9, sirve para cuantificar la concentración del componente o especie de la muestra que se eluye de la columna a dicho t_R .

El tipo de señal que se registra en el detector depende del sistema de detección que se emplea. En nuestro laboratorio, disponíamos de un instrumento de HPLC con 2 detectores, como se observa en la Figura 10, que posee un detector de fila de diodos cuya señal medida es la Absorbancia a una o varias longitudes de onda en el espectro del ultravioleta-visible (UV-vis), y un detector de fluorescencia (FL) en el que la señal que se mide la intensidad de emisión de fluorescencia.

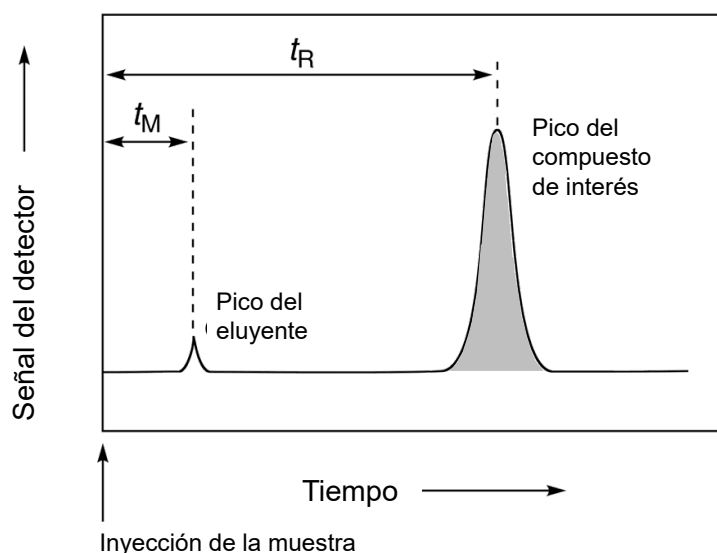


Figura 9. Cromatograma con 1 pico correspondiente al compuesto de interés; en sombreado se muestra el área pico, parámetro que se usa para la cuantificación. (Modificado de: <https://glosarios.servidor-alicante.com/quimica/cromatogram>)

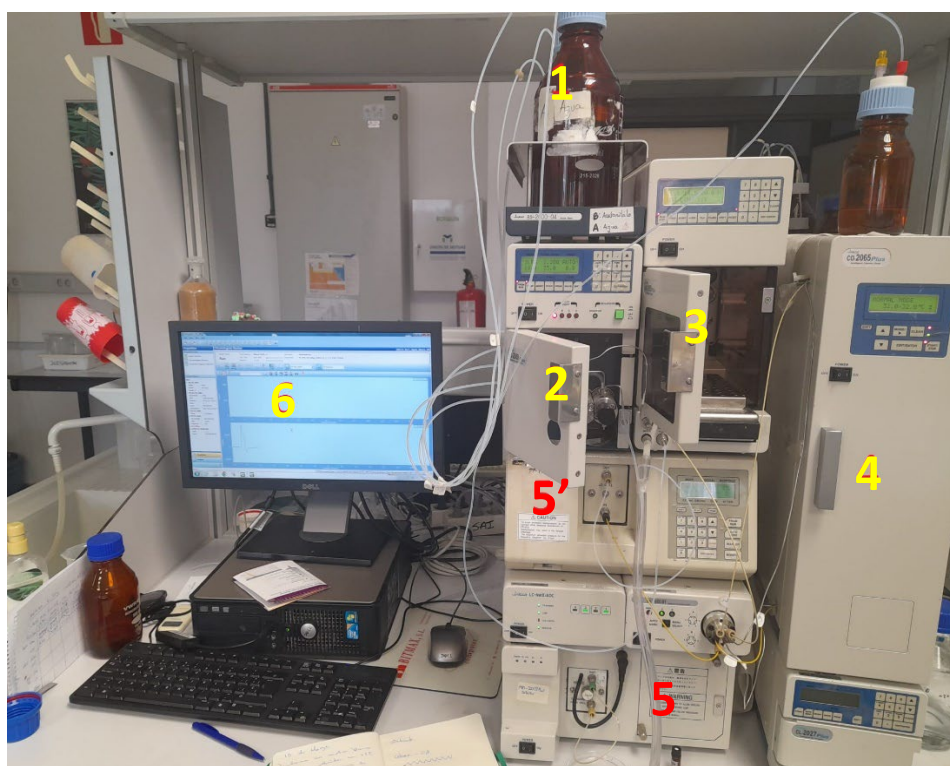


Figura 10. Componentes de nuestro sistema HPLC: 1, recipientes con la fase móvil; 2, bomba de alta presión; 3, inyector automático; 4, horno para la columna (con la fase estacionaria); 5, detector UV-vis de fila de diodos, 5' detector de fluorescencia y 6 sistema de recogida de datos.

En este estudio, dado que el compuesto de interés a analizar (BPA) es un compuesto fluorescente que posee la propiedad de emitir luz fluorescente a 308 nm al ser expuesto a una radiación de 282 nm ($\lambda_{exc}= 282$ nm; $\lambda_{em}= 308$ nm), se ha combinado el HPLC con la detección de fluorescencia (HPLC-FL) ya que la medida de BPA por fluorescencia es más selectiva y sensible. Al tratarse de una propiedad que no todos los compuestos químicos poseen, la detección mediante fluorescencia es más selectiva que la detección UV-vis, por lo que el BPA puede ser detectado sin que otros componentes presentes en la muestra interfieran significativamente.

2. OBJETIVOS

Para llevar a cabo este trabajo de investigación, partimos del estudio realizado por D. Xavier Caniego Ballesteros el curso pasado (Caniego, 2022), en el que se concluyó que, de todos los materiales plásticos ensayados, el policarbonato era el material plástico que liberaba más BPA, y los procesos de lixiviación más favorables en disolución acuosa se producían sobre todo con un aumento de la temperatura y a pH ácido. En dicho estudio, los ensayos de lixiviación con los distintos materiales se realizaron únicamente con dos matrices acuosas (agua milli-Q y agua de mar), se hicieron ensayos individuales y no se estudiaron los blancos, por lo que se ha considerado interesante seguir trabajando en el estudio para establecer conclusiones más certeras.

En el presente proyecto, se ha ampliado el estudio a distintas matrices acuosas de la zona costera de Valencia y Gandía (agua del lago de la Albufera, agua de mar, agua de marjal y agua de río), empleando distintos tratamientos de lixiviación que simulan condiciones en la naturaleza (agitación en presencia o ausencia de luz solar), haciendo réplicas de los procesos y analizando también los blancos de las distintas matrices para averiguar la posible presencia del BPA en las mismas previo al tratamiento de lixiviación.

Los objetivos de este estudio han sido los siguientes:

- Establecer algunos parámetros de calidad para las distintas matrices acuosas seleccionadas.
- Aplicar diferentes estrategias de lixiviación de BPA desde microplásticos de policarbonato empleando matrices acuosas de diferente naturaleza.
- Limpiar y preconcentrar el BPA de los lixiviados mediante cartuchos comerciales Strata X para extracción en fase sólida (SPE).

- Analizar la concentración de BPA en los lixiviados mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Establecer conclusiones acerca de la matriz acuosa y las condiciones de tratamiento que proporcionan una mayor lixiviación de BPA

3. REACTIVOS, DISOLUCIONES E INSTRUMENTACIÓN

3.1. Reactivos y disoluciones

Los reactivos químicos empleados en este proyecto son:

- Acetonitrilo (ACN)
- Bisfenol A (BPA)
- Metanol (MeOH)
- Hidróxido sódico (NaOH), lentejas

Las disoluciones preparadas fueron:

- Disolución madre de BPA de 600 mg/L en MeOH a partir de reactivo BPA sólido. La disolución se conservó a 4°C durante todo el estudio.
- Disoluciones de trabajo de BPA de 2 mg/L y 10 mg/L, preparadas en MeOH a partir de la disolución madre de BPA de 600 mg/L; estas disoluciones se prepararon diariamente.
- Disoluciones patrón de BPA entre 0,025-0,5 mg/L en MeOH, preparadas a partir de las disoluciones de 10 mg/L en MeOH. Estas disoluciones se prepararon diariamente.

Para la calibración del conductímetro se empleó una disolución patrón de KCl 0,01M de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Y para la calibración del pH-metro, se emplearon disoluciones patrón de pH 4 y 7. Para la medida de la DBO se añadió una disolución de microorganismos proporcionada por una EDAR.

3.2. Instrumentación

Los aparatos e instrumentos utilizados en este estudio son los siguientes:

- Agitador magnético
- Agitador orbital con sistema calefactor Rotabit

- Balanza analítica
- Batidora de vaso
- Cromatógrafo de líquidos de alta eficacia de Jasco, constituido por una bomba de gradiente, inyector automático, columna C18, detector de fila de diodos y detector de fluorescencia.
- Conductímetro
- Fotómetro multi-paramétrico Spectroquant Merck, para medida de DQO
- pH-metro
- Sistema de agitación inductiva Oxitop IS 12 con botellas, para medida de DBO
- Sistema de filtración a vacío
- Termoreactor TR 300

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

El material plástico utilizado para el estudio fue un panel de policarbonato (PC) que se utiliza en construcción (Figura 11), del cual se obtuvo el microplástico.

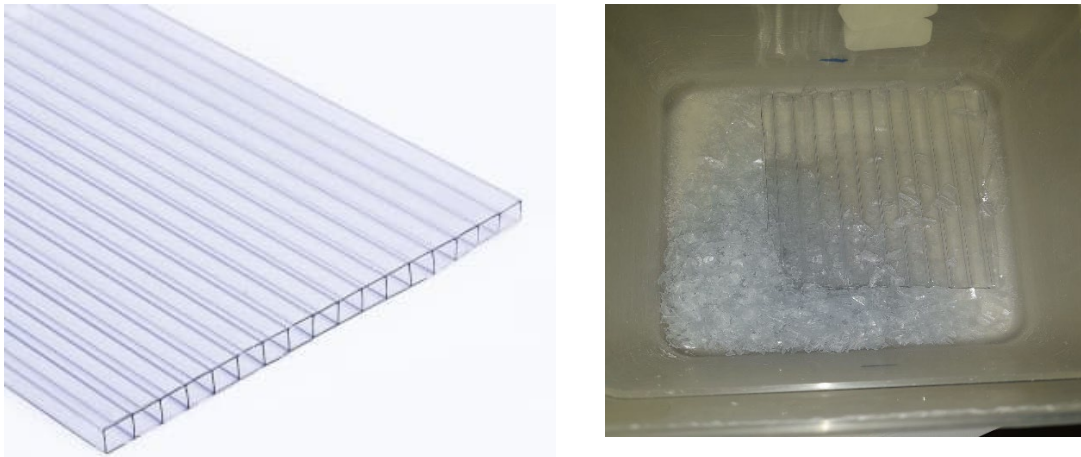


Figura 11. Fotografía de un panel de policarbonato y del panel triturado.

Para la extracción en fase sólida se emplearon Cartuchos Strata X de 200 mg de Phenomenex, y para la medida de la DBO se emplearon tubos Spectroquant COD Cell Test con un intervalo de medida entre 4 y 40 mg/l.

4.2. Métodos

En este apartado se describen los métodos utilizados en las diferentes etapas de trabajo: toma, conservación y caracterización de las distintas matrices acuosas, obtención de los microplásticos de PC, procesos de lixiviado de BPA de los microplásticos de policarbonato empleando las distintas matrices acuosas, extracción del BPA de la disolución de lixiviado mediante SPE, y análisis del BPA presente en las fracciones de elución tras SPE mediante HPLC-FL.

A continuación, se detallan todos los procesos.

4.2.1. Toma y conservación de las matrices acuosas

Los procesos de lixiviación se llevaron a cabo empleando matrices acuosas de la zona costera valenciana de distinta naturaleza: agua del lago de La Albufera de Valencia, agua de mar de la playa de Gandía, agua de la Marjal de Gandía, y agua del río Serpis a su paso por Gandía. Las diferentes matrices ensayadas se han seleccionado dadas sus diferentes características físico-químicas para ver su influencia en los procesos de lixiviación de los microplásticos. En la Figura 12 se muestra una imagen satélite en la que se señalan los 4 puntos de muestreo.



Figura 12. Imagen satélite de en la que se señalan los 4 puntos de muestreo: 1. Lago de La Albufera de Valencia; 2. Playa de Gandía; 3. Marjal de Gandía; 4. Río Serpis.

Las matrices acuosas se tomaron en garrafas de plástico de 5L (Figura 13) y, a su llegada al laboratorio, se procedió a su filtrado para eliminar residuos sólidos que pudieran afectar al estudio. El filtrado se realizó mediante un sistema de vacío como el que se muestra en la Figura 14, y se utilizaron filtros de Nylon con un tamaño de poro de 0,45 μm .



Figura. 13. Ejemplo de las cuatro matrices acuosas naturales usadas en el estudio: agua de la Albufera, agua de mar, de marjal y de río.

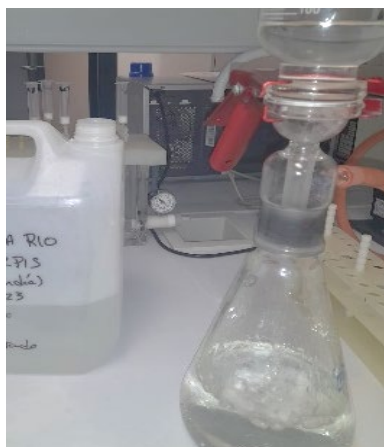


Figura 14. A. Sistema de filtración a vacío empleado para filtrar las distintas matrices acuosas.

Tras el filtrado, las aguas se conservaron en nevera a 4°C hasta su uso.

4.2.2. Caracterización de las distintas matrices acuosas

Para caracterizar las matrices acuosas empleadas (agua de lago de la Albufera, agua del río Serpis, agua de la Marjal de Gandía y agua del mar de la playa de Gandía) se midieron algunos parámetros de calidad: pH, conductividad, demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días (DBO5) y demanda química de oxígeno (DQO).

Medida del pH

Las medias de pH se realizaron mediante un pH-metro Crison (Figura 15). Previo a la medida del pH, el pH-metro se calibró con disoluciones patrón de pH 4 y 7. Tras la calibración, se pusieron 50 mL de cada agua en un vaso de precipitados y se procedió a medir el pH.

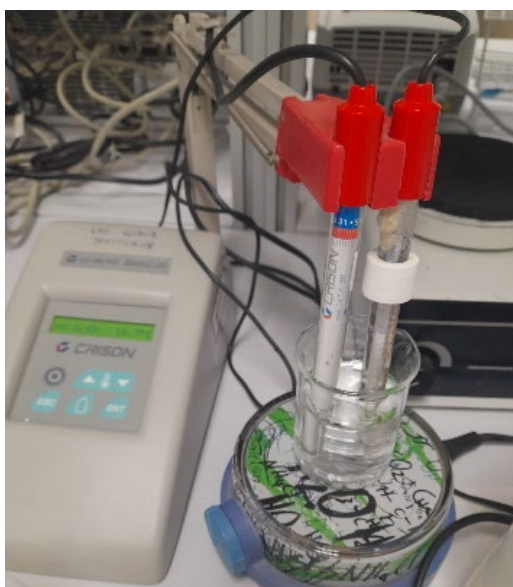


Figura 15. Medida del pH de una de las muestras de agua

Medida de la conductividad

La medida de la conductividad de las aguas se realizó mediante un conductímetro Crison (Figura 16). Para medir la conductividad, se calibró previamente el conductímetro utilizando disolución patrón de KCl 0,01M. Una vez calibrado, se tomaron 50 mL de cada muestra y se midió la conductividad.



Figura 16. Medida de la conductividad de una de las muestras de agua.

Medida de la DBO

La DBO5 se midió para las aguas de Albufera, río y marjal. Para el agua de mar no se midió la DBO puesto que para este tipo de agua este parámetro suele ser muy bajo y no puede medirse mediante con el sistema empleado. Para llevar a cabo la medida de la DBO5 se pusieron en una botella de cultivo (Figura 17A): 430 mL del agua a analizar, 1 gota de microorganismos procedentes de una EDAR, un imán agitador y un tapón con 1 lenteja de sosa en su interior. Luego se cerró la botella con el medidor de DBO que se puso inicialmente en cero. Una vez preparado todo se incuban las botellas a 20°C en agitación durante 5 días (Figura 17B).

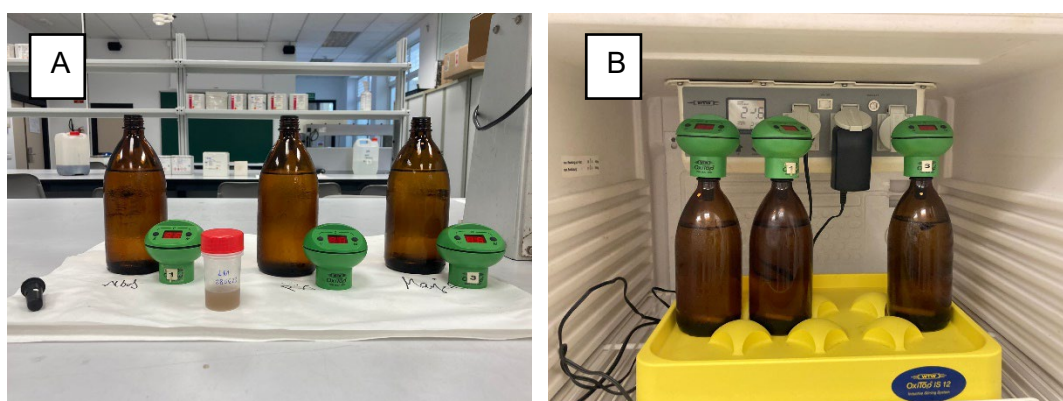


Figura 17. A. Preparación de las botellas para la medida de la DBO de las aguas. B. Cámara de incubación para la DBO.

Medida de la DQO

La DQO se midió para las aguas de Albufera, río y marjal. Para el agua de mar no se midió la DQO puesto que para este tipo de agua los tubos para el ensayo de la DQO han de ser distintos, al llevar la muestra una gran cantidad de sales, y no disponíamos de tubos específicos para agua de mar.

Para medir la DQO mediante los Tubos de Merck, se necesitó añadir a los tubos que contenían los reactivos, 3 mL del agua a analizar (río, Albufera o marjal). En este caso, cada agua se analizó por triplicado (Figura 18). Tras añadir las muestras a los tubos de análisis de DQO, los tubos se colocaron en el termoreactor 2 horas a 150°C (Figura 19A) para llevar a cabo la degradación de toda la materia orgánica. Luego, se dejó enfriar los tubos y se midió la DQO empleando el fotómetro de Merck (Figura 19B) para el análisis de DQO.

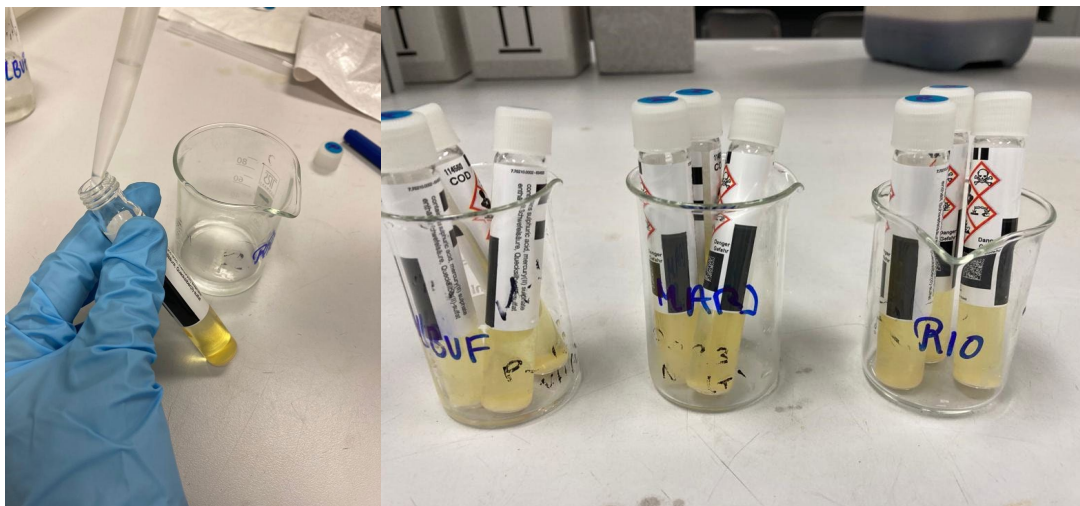


Figura 18. Preparación de los tubos para el análisis de DQO.

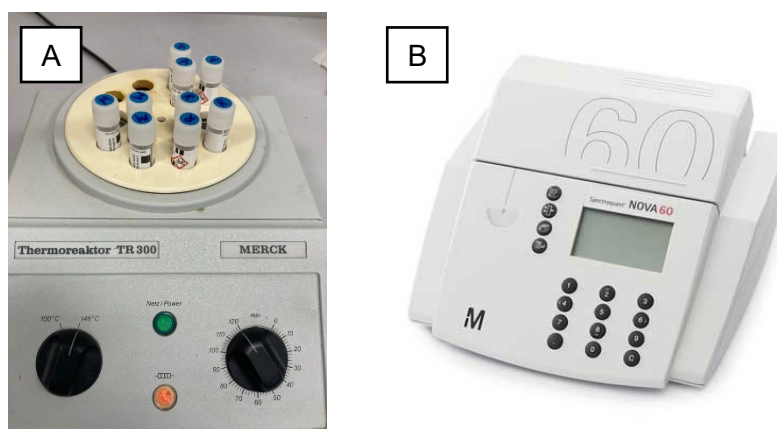


Figura 19. A. Termorreactor para llevar a cabo la degradación de la materia orgánica. B. Fotómetro de Merck para la medida de la DQO.

4.2.3. Obtención del microplástico de policarbonato

Para obtener el microplástico de policarbonato a partir del panel de policarbonato (Figura 11), en primer lugar, se cortó el panel de plástico (policarbonato) manualmente con tijeras y después se trituró durante 10 min a máxima potencia con una batidora como la que aparece en la Figura 20A.

Los fragmentos obtenidos con la batidora fueron cribados con un tamiz con una luz o tamaño de “poro” de 4 mm, de forma que los fragmentos menores de 4 mm son los que conservamos para el estudio. Además, para separar los microplásticos por tamaños, se utilizaron tamices con 2 mm y de 1 mm de tamaño de poro (Figura 20B).



Figura 20. A. Batidora utilizada para la trituración del plástico; B. Tamices utilizados para seleccionar los pedazos con tamaño de microplásticos.

4.2.4. Tratamientos de lixiviación de BPA de los microplásticos de policarbonato

Se estudiaron distintos tratamientos para provocar la lixiviación de BPA de los microplásticos de policarbonato empleando las aguas tomadas en distintos puntos de la zona costera valenciana. Para el estudio de los procesos de lixiviación de BPA desde los microplásticos de PC se procedió de la siguiente forma:

1. Se pesó una determinada masa de PC en un recipiente (frasco de vidrio o vaso de precipitados). En la mayoría de los estudios se utilizaron 0,5 g de PC con un tamaño menor de 4 mm.
2. Se añadió sobre el microplástico 100 mL de la matriz acuosa a estudiar
3. Se provocó la lixiviación del BPA manteniendo la mezcla microplástico-matriz acuosa en distintas condiciones: agitación orbital (Figura 21A) o agitación magnética (Figura

21B y C), en el laboratorio con la luz natural (Figura 21A y B) o en la terraza al sol (Figura 21C), y durante un tiempo determinado que osciló desde horas hasta 15 días.

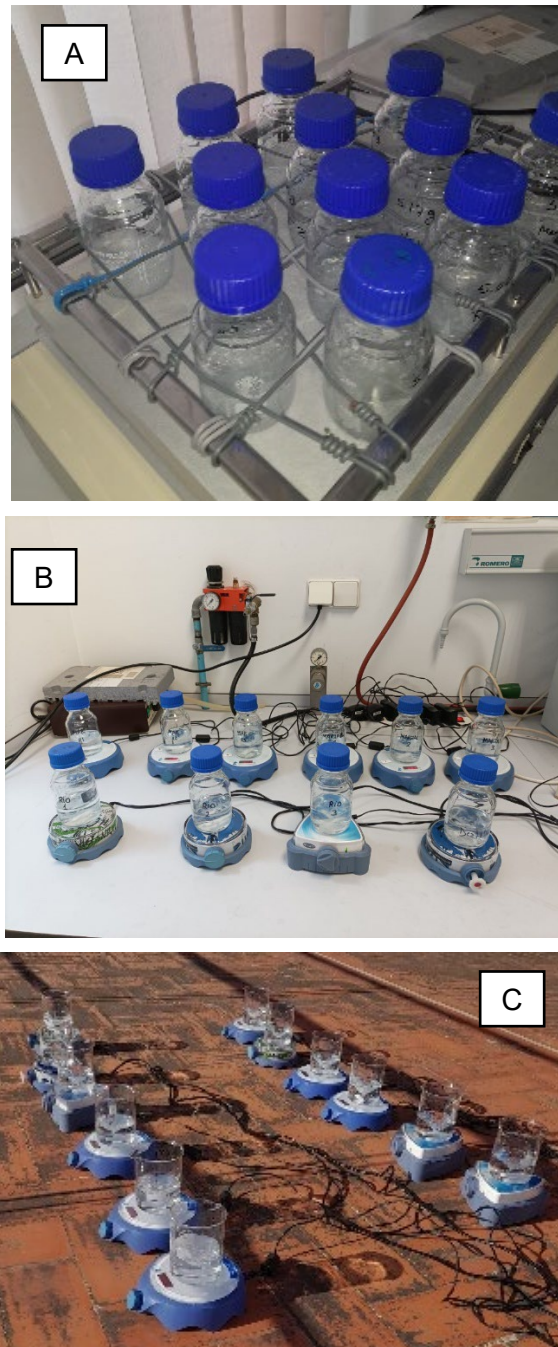


Figura 21. Distintas aguas en contacto con los microplásticos de PC en agitación orbital en el laboratorio con luz natural (A) y en agitación magnética en el laboratorio (B) o al sol en la terraza de la EPSG (C).

Cada estudio se realizó por triplicado, es decir, se prepararon 3 réplicas de cada ensayo con cada matriz acuosa. Además, en todas las condiciones ensayadas se incluyó una réplica en la que la matriz era agua milli-Q, para observar la posible liberación de BPA empleando una matriz acuosa limpia.

Una vez acabado el tratamiento de lixiviación, la mezcla matriz acuosa-microplástico se filtró a vacío para separar el microplástico (que se desechó) de la fase acuosa o disolución de lixiviado, que se sometió al proceso de extracción en fase sólida (SPE) que se detalla a continuación.

4.2.5. Extracción en fase sólida de la disolución de lixiviado

Tras el tratamiento de lixiviado y la separación y filtración de la disolución de lixiviado, se aplicó un tratamiento de extracción en fase sólida (SPE) con el fin de extraer el BPA de la disolución de lixiviado y concentrarlo antes de su cuantificación mediante HPLC-FL.

Para la SPE, se utilizaron cartuchos comerciales Strata X con 200 mg de sorbente, y se utilizó el sistema de extracción a vacío que se muestra en la Figura 22, que nos permitió realizar el tratamiento de extracción a varias muestras a la vez.

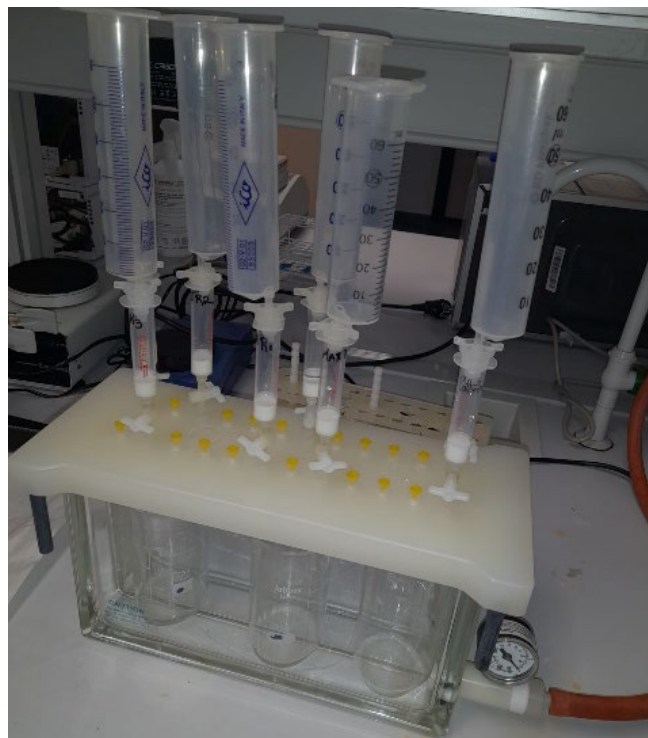


Figura 22. Sistema de vacío para extracción en fase sólida (SPE).

El proceso de SPE constaba de las siguientes etapas:

1. Acondicionamiento del sorbente, primero con 2 mL de metanol y después con 5 mL de agua. Es importante tras esta etapa que el cartucho no quede seco.
2. Procesado de la muestra, etapa en la que se hacen pasar los 100 mL de disolución de lixiviado a través del sorbente.
3. Lavado del sorbente con 2 mL de agua.
4. Secado del sorbente durante 10 minutos, haciendo pasar aire a través del cartucho.
5. Elución del BPA con 2 mL de metanol añadidos en dos etapas: primero se añade 1 mL de metanol, luego se hace pasar aire durante 1 minuto, después se le añade 1 mL más de metanol, y, finalmente, se vuelve a pasar aire por el cartucho. El metanol eluido se recoge en tubos graduados de forma que, tras la elución, se ajusta el volumen final a 2 mL.

Una vez acabado el proceso de SPE, se filtró el eluido con filtros de jeringa de PTFE de 0,22 μm . El eluido filtrado se introdujo en un vial que se llevó al sistema cromatográfico para el análisis de BPA mediante HPLC-FL, como se explica en el siguiente apartado.

Cabe resaltar que los cartuchos empleados para SPE se reutilizaron varias veces. Para ello, tras el proceso de elución, se añadió a cada cartucho 3 mL de metanol, para eliminar posibles residuos, y se hizo pasar aire durante varios minutos para que el sorbente se secase completamente.

4.2.6 Análisis cromatográfico del BPA del lixiviado mediante HPLC-FL

La fracción de elución recogida tras el SPE, y filtrada, se inyectó (20 μL) en el sistema cromatográfico para el análisis de la concentración de BPA en la fracción eluida. En el sistema cromatográfico, la fase estacionara empleada fue una columna C18 AVANTOR de 10 cm de longitud, 4,6 mm de diámetro interno y un relleno de 3 μm de tamaño de poro. La fase móvil empleada se hizo fluir a una velocidad de 1,2 mL/min, con composición variable de acetonitrilo y agua a lo largo del tiempo (modo gradiente). El gradiente de composición de la fase móvil se especifica en la Tabla 1 Tras la separación, la detección se hizo mediante un detector de fluorescencia (ganancia de 1000, $\lambda_{\text{exc}}=282\text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}}=308\text{ nm}$).

En estas condiciones, el tiempo de retención del BPA fue de 4 min. Se ha de resaltar que, aunque el BPA sale al principio, en la zona isocrática (con un 40% de ACN), el gradiente posterior fue necesario en el análisis de los lixiviados puesto que la materia orgánica

absorbida en el Strata X y eluída con el MeOH se ha de hacer salir de la columna antes de la siguiente inyección.

Tabla 1. Gradiente de la fase móvil usada en el análisis cromatográfico

TIEMPO (minutos)	AGUA (%)	ACETONITRILO (%)
0	60	40
5	60	40
6	30	70
10	30	70
11	60	40
15	60	40

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en el proyecto. Se incluyen inicialmente 2 apartados acerca del análisis de BPA mediante SPE-HPLC-FL y la caracterización de las distintas aguas de origen natural empleadas en el estudio. Después, se detallan los resultados de los diferentes estudios de lixiviación aplicados y, finalmente, se incluye una evaluación de las concentraciones de BPA en el lixiviado con las distintas matrices.

5.1. Análisis de BPA mediante SPE-HPLC-FL

El proceso para la extracción del BPA de los lixiviados de microplástico se tomó del estudio anterior del grupo (Caniego, 2022). Tras el SPE, el factor de concentración era de 50 (se procesan 100 mL de disolución lixiviado y se eluyen con 2 mL de metanol). A continuación, se analizó el BPA en las fracciones de elución mediante HPLC-FL.

Para el análisis cromatográfico se prepararon patrones de BPA en metanol de concentraciones entre 0,04 y 0,5 mg/L. La recta de calibrado lineal, Área de pico frente a la Concentración de BPA (mg/L) fue: $\text{Area} = (-0,09 \pm 0,04) + (13,97 \pm 0,13) \cdot C$ ($r^2=0,9996$, $n=7$, $s_{y/x}=0,06$). El límite de detección (LD), que es la cantidad más pequeña de BPA que se puede detectar, se ha calculado como $3 \cdot s_{y/x}/b$, y es de 0,24 ppb teniendo en cuenta el factor concentración de 50 que proporciona el SPE; el límite de cuantificación (LQ), que es la

cantidad más pequeña de BPA que se puede cuantificar, se ha calculado como $10 \cdot s_{y/x}/b$, y es de 0,83 ppb teniendo en cuenta el factor concentración de 50 que proporciona el SPE.

A modo de ejemplo, se muestra un cromatograma completo de un blanco y un patrón de BPA de 0,50 ppm, en el que se observa que el tiempo de retención del BPA es de 4,0 min (Figura 23).

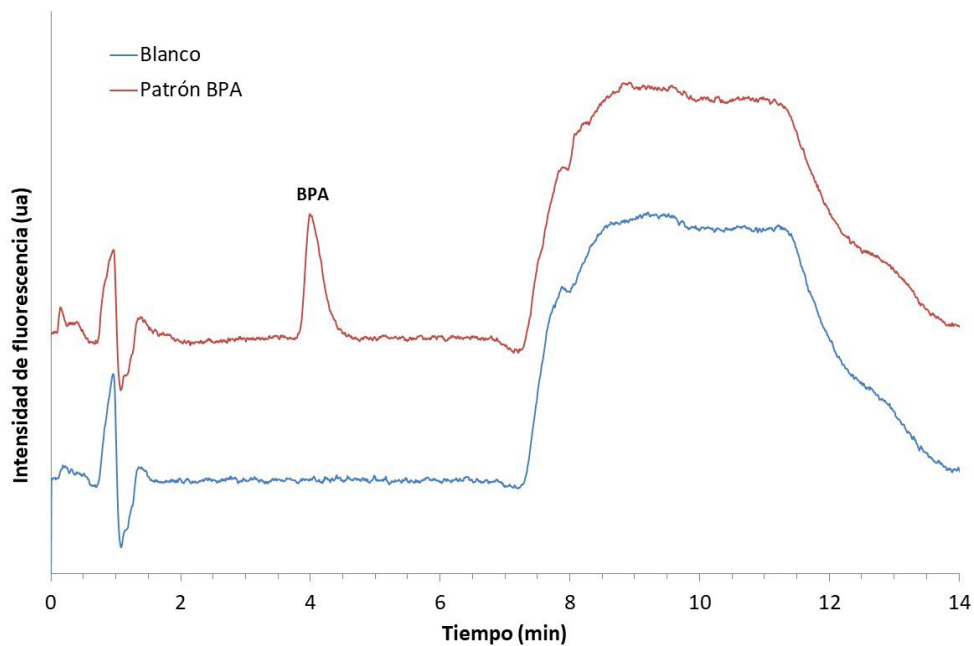


Figura 23. Cromatogramas de un patrón de 0,1 ppm y de un blanco realizados con el programa de gradiente.

Para el análisis del BPA en las disoluciones de lixiviado a partir del área de pico obtenida del cromatograma, se sigue el Esquema 1: se mide el área del pico a $t_r = 4$ min, y se interpola el área en el calibrado para obtener la concentración de BPA en mg/L. Después, se multiplica la concentración obtenida por el factor de concentración que proporciona el SPE ($\times 2/100$) para obtener la concentración en la disolución de lixiviado. Por último, si se quiere tener la concentración en mg BPA por Kg de microplástico (mg/Kg), se multiplica la concentración en mg/L por el Volumen de disolución de lixiviado (0,10 L) y se divide por la masa de policarbonato empleada en el ensayo (en Kg).

$$\text{Área}_{\text{pico}} \xrightarrow{\text{Calibrado}} C \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) (\text{en } 2 \text{ mL}) \xrightarrow{\times \frac{2}{100}} C \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) (\text{en } 100 \text{ mL}) \xrightarrow{\times \frac{0,1}{\text{masa (Kg)}}} C \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \right)$$

Esquema 1. Proceso para el cálculo de la concentración de BPA.

5.2. Caracterización de las aguas de origen natural y análisis de blancos

Tras recolectar las diferentes aguas de origen natural, éstas se llevaron al laboratorio, donde se filtraron y se midió su pH y conductividad y, se guardaron en la nevera, para su posterior uso. Posteriormente, se determinó la DQO y DBO de las aguas de la Albufera, la marjal y el río. Además, se analizaron mediante SPE-HPLC-FL los blancos de las 4 aguas para averiguar si contenían BPA antes de empezar con los ensayos de lixiviación.

Para caracterizar las distintas aguas empleadas en el trabajo, se han evaluado algunos de los parámetros de calidad. En la Tabla 2 se muestran los valores de pH, conductividad, BDO y DQO para las 4 aguas empleadas en los procesos de lixiviación.

Tabla 2. Parámetros de calidad estudiados para las 4 aguas empleadas en los procesos de lixiviación: pH, conductividad, DBO y DQO.

Tipo de agua	pH	Conductividad ($\mu\text{S/cm}$)	DBO (mgO_2/L)	DQO (mgO_2/L) $\bar{x} \pm s$
Albufera	8,15	1530	4	15,6 \pm 0,8
Río	8,42	626	0	1,97 \pm 0,06
Marjal	8,25	720	0	1,0 \pm 0,3
Mar	8,20	49000	-	-

En cuanto a los valores de pH tenemos que en todas las aguas los pH son similares, teniendo todas un pH básico, superior a 8,15.

En cuanto a los valores de conductividad, podemos observar que el valor del agua de mar es superior a las otras matrices ya que ésta presenta un alto contenido de sales, estimado en unos 35 g/L. En caso de las aguas de marjal y río tenemos que estas dos matrices presentan valores similares de conductividad, lo que implica un contenido en iones parecido en dichas

aguas. Por su parte, la conductividad del agua de la Albufera es más del doble que las anteriores, lo que implica un contenido en iones más grande en este tipo de agua.

Respecto de los valores de DBO y DQO, podemos observar que de nuevo el agua de la Albufera presenta valores distintos a las demás. Esta muestra tiene una gran cantidad de materia orgánica biodegradable (DBO) y, como corresponde, mucha más materia orgánica químicamente oxidable (DQO). El agua original (antes del filtrado) tenía un color verde intenso, debido a la gran cantidad de algas, lo que explica los altos valores de DBO y DQO, que hubiesen sido todavía mayor si no se hubieran filtrado. Por su parte, las aguas de río y marjal presentan valores bajos de DBO y DQO: un valor 0 para la DBO y una DQO del orden de 1-2 mgO₂/L. Como se puede observar en la Tabla 2, no tenemos resultados de DBO y DQO del agua de mar ya que esta matriz tiene muchas sales y para poder realizar este análisis se requiere de otro tipo de tubos de reactivos para la DQO y, en caso de la DBO, el agua de mar suele tener una DBO por debajo de los límites que podemos medir. Para tener una estimación de dichos parámetros, en la bibliografía (SIMON, 2013) se dan datos de DBO7 en el agua del Mar Mediterráneo del orden de 1-1,11 mgO₂/L.

Por otra parte, para evaluar la posible presencia de BPA en las aguas, se realizó el procedimiento de SPE a las distintas aguas naturales empleadas en el estudio y se realizó un análisis cromatográfico mediante HPLC-FL de las fracciones de elución tras SPE (procedimientos descritos en el apartado de *Materiales y Métodos*). El proceso se realizó por triplicado con 100 mL de agua.

Como se observa en la Figura 24, al analizar los cromatogramas pudimos constatar que en las aguas naturales escogidas para este estudio no se observaba en ningún caso un pico a 4,0 min, que indicaría la presencia de BPA.

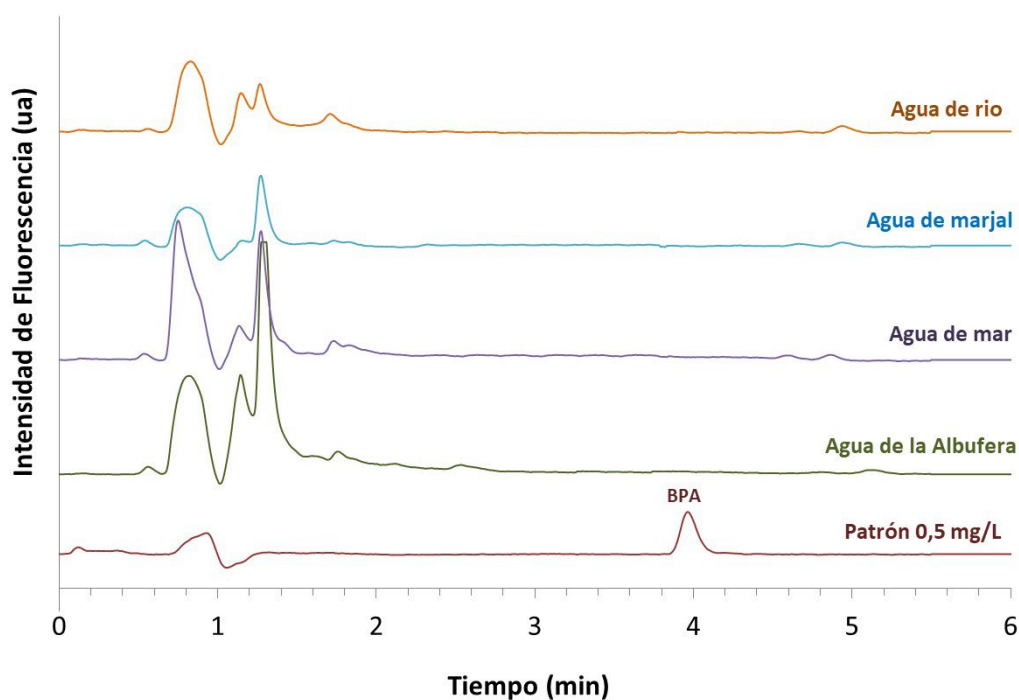


Figura 24. Cromatogramas entre 0-5 minutos de los blancos de los distintos tipos de agua y de un patrón de BPA de 0,5 mg/L.

En las Figuras 25 y 26 se muestran los cromatogramas obtenidos para los blancos de agua en todo el intervalo del análisis cromatográfico, y puede observarse que tanto en la cabeza de cromatogramas, donde salen los compuestos orgánicos más polares, como en la zona de mayor concentración de acetonitrilo, a partir de los 8 min, donde salen los compuestos más apolares, el cromatograma de cada una de las aguas es diferente.

En todos los casos se obtienen picos correspondientes a sustancias fluorescentes tanto en la cabeza de cromatograma como a partir de los 8 min, si bien la altura de los picos es diferente en cada caso. En las aguas procedentes de la Albufera y del rio, los picos (Figura 25) correspondientes a los compuestos más apolares (t_r entre 8-12 min) son más pequeños que para las aguas de mar y de marjal (Figura 26), lo que implica que estas aguas tienen una menor cantidad de compuestos orgánicos apolares. Respecto a los compuestos más polares (t_r entre 0-2 minutos), se han obtenido picos más grandes para el agua de la Albufera.

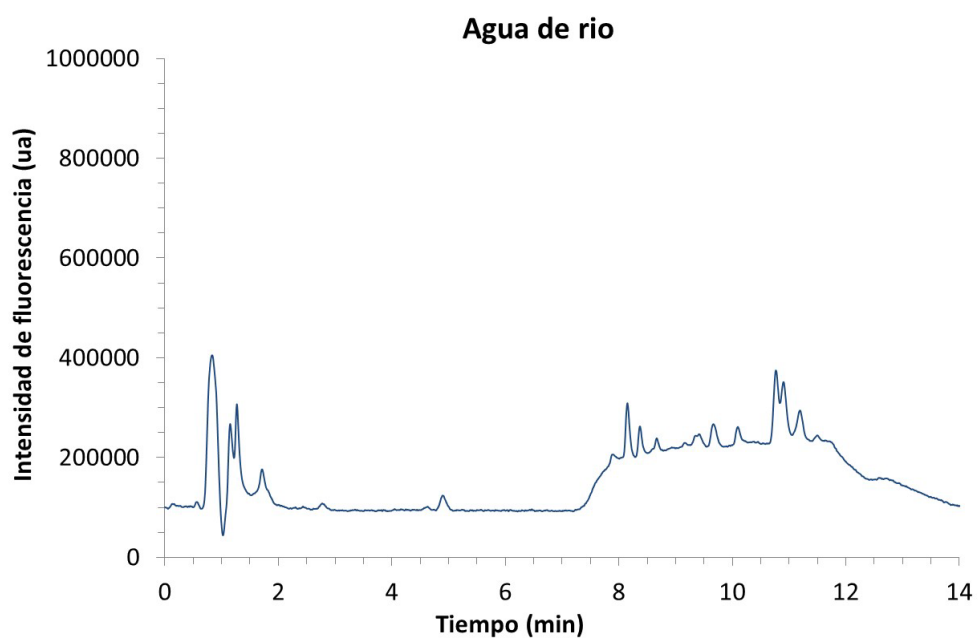
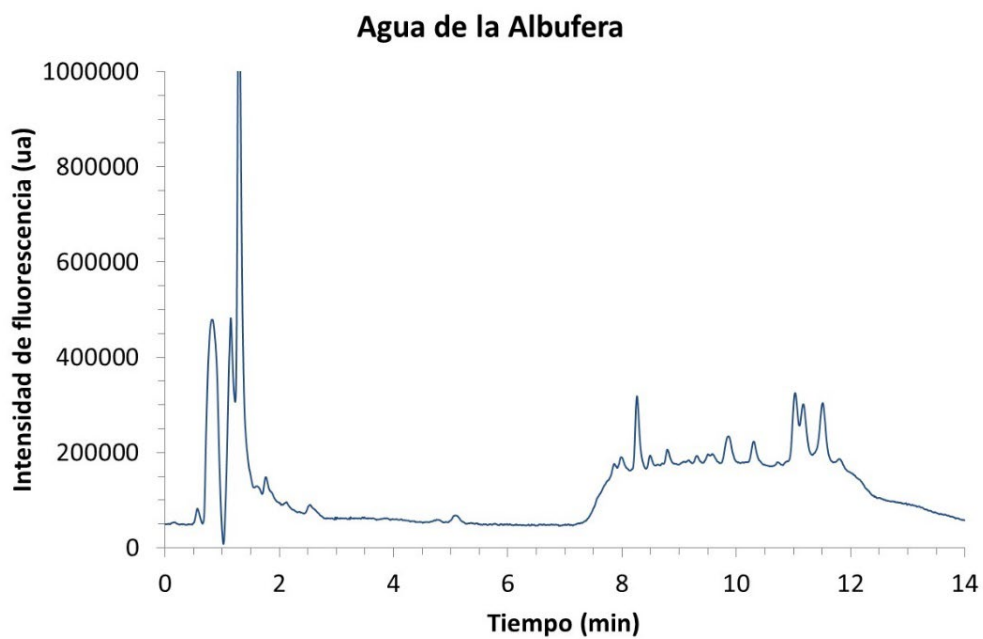


Figura 25. Cromatogramas completos de los blancos de las aguas de la Albufera y de rio sometidas al proceso de SPE.

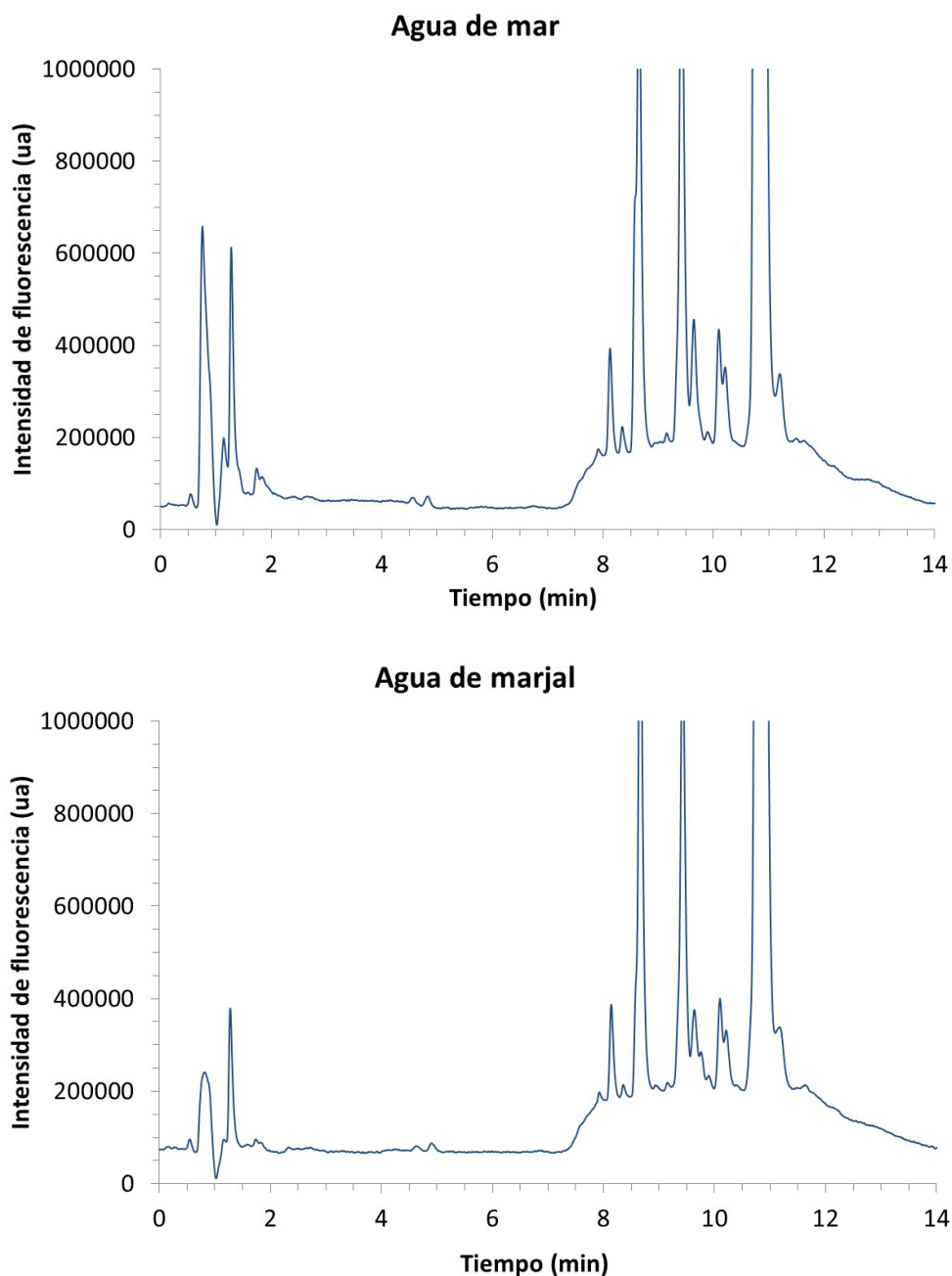


Figura 26. Cromatogramas completos de los blancos de las aguas de mar y de marjal sometidas al proceso de SPE.

5.3 Estudios de lixiviación de BPA

En los ensayos de lixiviación, se mantuvieron en agitación 100 mL de agua de distinta procedencia con la cantidad de microplásticos de policarbonato y en las condiciones específicas de cada estudio. Todos los ensayos con las distintas aguas de origen natural se realizaron por triplicado; de los ensayos con agua milli-Q se realizó sólo una réplica.

Se ha estudiado la influencia de los siguientes factores en la lixiviación de BPA con las distintas matrices:

- El tiempo de contacto agua-microplástico
- La cantidad de policarbonato
- El tamaño de los microplásticos (sólo con agua de mar)
- La influencia de la exposición a la intemperie (radiación solar)

A continuación, se detallan los resultados obtenidos en cada uno de los estudios.

5.3.1 Influencia del tiempo de contacto agua-microplástico en la lixiviación de BPA

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del tiempo de contacto entre el agua natural y el microplástico en la lixiviación de BPA. Para ello, se tuvieron 0,5 g de microplásticos de policarbonato con 100 mL de cada matriz acuosa en agitación magnética expuestas a la luz natural del laboratorio durante diferentes tiempos: 1 día, 7 días y 14 días (Figura 21B).

Una vez concluidos los periodos de agitación (1 día, 7 días y 14 días), las disoluciones se filtraron, se les realizó el proceso de SPE y, posteriormente, se analizaron cromatográficamente para averiguar cómo afectaba el tiempo de contacto agua-microplástico a la liberación de BPA con cada una de las aguas empleadas.

Los resultados obtenidos en este ensayo se resumen a continuación en la Figura 27, en las que detallamos la concentración de BPA hallada en mg/L en las disoluciones de lixiviado obtenidas con las distintas aguas empleadas y a distintos tiempos de contacto agua-microplástico.

Como se observa en la Figura 27, en general, al aumentar el tiempo de contacto entre el policarbonato y el agua, la concentración de BPA lixiviado aumenta. Este comportamiento se observa para el agua milli-Q y para las aguas de mar y marjal.

En el caso del agua de río, observamos que la concentración de BPA en la disolución de lixiviado aumenta al pasar de 1 día a 7 días de contacto. Sin embargo, después de estar 14 días en contacto se observa una disminución de la cantidad de BPA lixiviado. Esto podría deberse a la existencia de alguna sustancia/microorganismo en dicha matriz acuosa que degrade/consuma el BPA liberado.

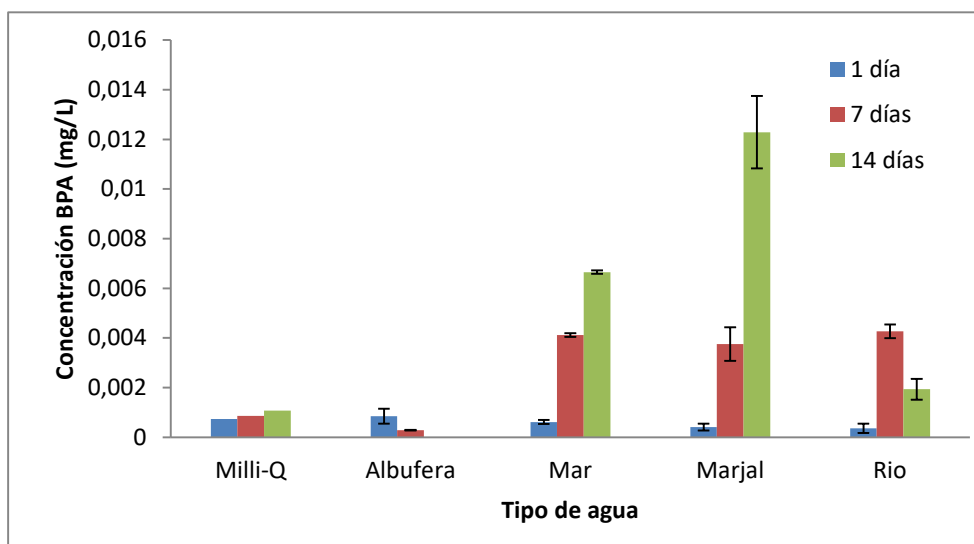


Figura 27. Concentración de BPA, en mg/L, en las disoluciones de lixiviado tras poner en contacto 0,5 g de policarbonato con diferentes tipos de agua de origen natural durante tiempos variables.

En caso del agua de la Albufera, se observó un comportamiento entre 1 día y 7 días de tiempo de contacto similar a lo que sucedió con el agua de río entre 7 y 14 días. Según estudios realizados por Monserrat y Farrés (Monserrat y Farrés, 2021), esto puede estar causado por la presencia de algas y microalgas que hacen que se degraden los microplásticos existentes en el agua y los compuestos que se desprenden (como el BPA), debido a la acción de las enzimas esterazas que son rompen los enlaces del microplástico y causan su degradación. Para esta muestra, no se hizo el análisis con 14 días de tiempo de contacto agua-policarbonato ya que la concentración de BPA hallada tras los 7 días fue muy baja.

En la Tabla 3 se detalla la concentración de BPA hallada en los lixiviados en mg BPA por kilogramo de microplástico (mg/Kg) para los ensayos realizados a los distintos tiempos de contacto con las distintas aguas. En este sentido, con el agua milli-Q, cuya matriz es limpia, se observa solo un ligero aumento de la cantidad de BPA lixiviado, y las matrices de las aguas de mar y marjal son las que más favorecen los procesos de lixiviación del BPA a las aguas, y más, cuanto mayor es el tiempo de contacto, posiblemente por su alto contenido en sales.

Tabla 3. Concentración de BPA en mg/Kg tras poner en contacto 0.5 g de policarbonato con diferentes tipos de agua de origen natural durante tiempos variables

Tiempo (días)	Concentración de BPA (mg/Kg), $\bar{x} \pm s$				
	Milli-Q	Albufera	Mar	Marjal	Río
1 día	0,138	0,17 \pm 0,06	0,117 \pm 0,016	0,08 \pm 0,03	0,07 \pm 0,04
7 días	0,154	0,052 \pm 0,003	0,787 \pm 0,003	0,73 \pm 0,12	0,82 \pm 0,08
14 días	0,207	-	1,279 \pm 0,013	2,4 \pm 0,3	0,37 \pm 0,08

Observando los datos de la Tabla 3, para las aguas de mar, marjal y río con 1 día o 7 días de tiempo de contacto, se podría intuir que la extracción de BPA es independiente de la matriz. Esto se puede demostrar aplicando un ensayo del análisis de la varianza (ANOVA) que compare las concentraciones obtenidas con las 3 matrices. En la Tabla 4 se muestra el resultado del ensayo con 1 o 7 días de contacto. En ambos casos, se concluye que la concentración de BPA liberado (en mg/Kg) es estadísticamente igual para las matrices de agua de marjal, mar y río. Para el estudio de 14 días no se ha aplicado el ensayo ya que las concentraciones son claramente distintas.

Tabla 4. Datos y conclusiones del ensayo ANOVA de comparación de los resultados con las distintas matrices acuosas en distintos días de contacto.

Tiempo de contacto	Ensayo ANOVA		
	F _{calc}	F _{tab}	Conclusión
1 día	2,0	5,14	$\bar{x}_{Mar} = \bar{x}_{Marjal} = \bar{x}_{Río}$ BPA liberado igual con las 3 matrices
7 días	0,89	5,14	$\bar{x}_{Mar} = \bar{x}_{Marjal} = \bar{x}_{Río}$ BPA liberado igual con las 3 matrices

5.3.2 Influencia de la cantidad de microplástico en la lixiviación de BPA

El objetivo de este estudio fue establecer la influencia de la cantidad de microplástico de policarbonato en la liberación de BPA y empleando las distintas aguas naturales. En este caso se determinó la cantidad de BPA liberado empleando 100 mL de las diferentes matrices

acuosas tras una semana de agitación orbital (Figura 21A) en contacto con distintas cantidades de microplástico: 0,1; 0,5; 2 y 5 g.

Tras una semana de agitación, se filtraron las disoluciones de lixiviado y, posteriormente, se realizó el SPE y se realizó el análisis cromatográfico para determinar la cantidad de BPA liberado para cada tamaño de microplástico con cada una de las matrices acuosas. En la Figura 28 se muestran las concentraciones de BPA en la disolución de lixiviado, en mg/L.

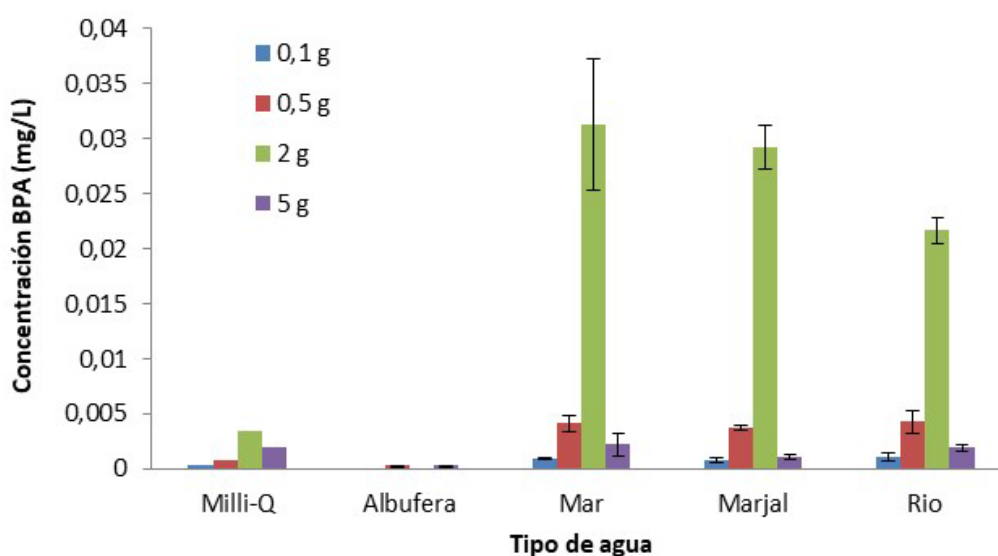


Figura 28. Concentración de BPA en el lixiviado (mg/L) tras poner en contacto cantidades variables de policarbonato con diferentes tipos de agua de origen natural durante una semana.

Exceptuando la matriz agua de Albufera podemos observar que, en el resto de matrices acuosas, la concentración de BPA en el lixiviado aumentaba al aumentar la masa de policarbonato (entre 0,5 y 2 g), siendo máxima cuando se tienen las matrices en contacto con 2 g de microplástico de PC. De nuevo, las matrices de las aguas de mar y marjal son las que más favorecen los procesos de lixiviación del BPA a las aguas, posiblemente por su alto contenido en sales, aunque en este caso, la matriz agua de río también favoreció la lixiviación.

Por otra parte, el resultado obtenido para la concentración de BPA en el lixiviado al estar en contacto las matrices con 5 g de policarbonato, resulta llamativo, ya que se liberó muy poco BPA en estas condiciones con todas las matrices. Esto pudo ser consecuencia de la influencia de la temperatura, como ya se demostró en un trabajo anterior del grupo (Caniego, 2022) en que se concluyó que la cantidad de BPA en el lixiviado aumentaba con la temperatura. En nuestro estudio, el ensayo de las matrices que estuvieron en agitación con 5 g de PC, se puso

durante la semana más fría de este año (del 28 de febrero al 6 de marzo) en que la temperatura media fue de 9°C, como se observa del análisis de los datos históricos del registro de temperatura de la estación de “Gandia Camí de la Mar” (Associació Valenciana de meteorología), lo que podría explicar las bajas cantidades de BPA en los lixiviados en estas condiciones. El resto de los ensayos se realizaron en semanas en que la temperatura media fue considerablemente más alta (entre 20-24°C).

En cuanto al agua de la Albufera, únicamente se realizaron ensayos con 0,5 y 5 g de policarbonato y, en ambos casos, se observó muy poco BPA en la disolución de lixiviado (más con 0,5 g que con 5 g, siguiendo el patrón del resto de matrices), probablemente debido su degradación por las algas y microorganismos, como se ha comentado anteriormente.

En la Tabla 5 se detalla la concentración de BPA hallada en los lixiviados en mg BPA por kilogramo de microplástico (mg/Kg) para los ensayos realizados con las distintas cantidades de MP y las distintas aguas.

Tabla 5. Concentración de BPA en mg/Kg de los lixiviados tras poner en contacto cantidades variables de microplástico con diferentes tipos de agua de origen natural en agitación durante una semana.

Masa de MP (g)	Concentración de BPA (mg/Kg), $\bar{x} \pm s$				
	Milli-Q	Albufera	Mar	Marjal	Rio
0,1 g	0,319	-	0,95 ± 0,12	0,8 ± 0,2	1,1 ± 0,3
0,5 g	0,154	0,058 ± 0,003	0,82 ± 0,14	0,75 ± 0,06	0,8 ± 0,2
2 g	0,172	-	1,6 ± 0,3	1,46 ± 0,12	1,05 ± 0,06
5 g	0,037	0,0066 ± 0,0004	0,042 ± 0,018	0,023 ± 0,005	0,038 ± 0,009

En este sentido, con el agua milli-Q, no se observa una tendencia clara en se observa solo un ligero aumento de la cantidad de BPA lixiviado al aumentar la masa de MP hasta los 2g, mientras que el aumento es mucho más pronunciado con las aguas de mar marjal y río. En la Tabla 6 se muestra el resultado del ensayo del análisis de la varianza (ANOVA) en el que se comparan las concentraciones de BPA lixiviado con estas 3 matrices en cada una de las cantidades de PC estudiadas entre 0,1 y 2 g. Los resultados indican que para 0,1 o 0,5 g de PC, la cantidad de BPA lixiviado es estadísticamente igual con las 3 matrices analizadas. Sin embargo, para el estudio con 2 g de PC, se demuestra que las cantidades de BPA lixiviado

no son estadísticamente iguales. El ensayo de la diferencia significativa menor (DSM) demuestra que, en este estudio con 2 g de PC, las aguas de mar y marjal dan resultados estadísticamente iguales y la muestra de agua de río da un resultado estadísticamente distinto. Por tanto, con pequeñas cantidades de microplástico la influencia de la matriz no resulta significativa, pero sí lo es con cantidades más grandes de MP.

Tabla 6. Datos y conclusiones del ensayo ANOVA y ensayo DSM de comparación de los resultados con las distintas matrices acuosas para distintas cantidades de MP.

Cantidad de PC (g)	Ensayo ANOVA			Ensayo DSM
	F _{calc}	F _{tab}	Conclusión	
0,1	1,40	5,14	$\bar{x}_{Mar} = \bar{x}_{Marjal} = \bar{x}_{Río}$ BPA liberado igual con las 3 matrices	No procede
0,5	0,18	5,14	$\bar{x}_{Mar} = \bar{x}_{Marjal} = \bar{x}_{Río}$ BPA liberado igual con las 3 matrices	No procede
2	6,8	5,14	Al menos una de las matrices da resultados distintos	DSM=0,379 $\bar{x}_{Mar} = \bar{x}_{Marjal}$ $\bar{x}_{Río} \neq \bar{x}_{Mar}$ $\bar{x}_{Río} \neq \bar{x}_{Mar}$

5.3.3 Influencia del tamaño de los microplásticos de PC en la lixiviación de BPA

Si bien se consideran microplásticos aquellos pedazos con un tamaño menor de 5 mm, pensamos que la heterogeneidad de tamaños de los microplásticos de PC generados en el laboratorio puede ser una consecuencia de la dispersión de resultados obtenidos en algunos casos. Por ello, se realizó un estudio para estudiar la influencia del tamaño de los pedazos de microplásticos en la lixiviación de BPA. Para ello, se distribuyeron los microplásticos en tres grupos de tamaño (menor de 1 mm; entre 1-2 mm; y entre 2-4 mm); la distribución de tamaños se hizo mediante el uso de tamices con un paso de luz de 1, 2 y 4 mm, respectivamente.

Este estudio se realizó únicamente con agua de mar, ya que en los estudios anteriores se ha demostrado que esta matriz, junto con la de marjal, es de las que más favorece la lixiviación del BPA desde el microplástico. Para el estudio, se mantuvieron en agitación orbital durante

2 días 0,5 g de PC de cada uno de estos tamaños con 100 mL de agua de mar. El estudio se realizó por triplicado. Tras los 2 días de agitación, las disoluciones de lixiviado se filtraron, se le realizó el SPE y se analizaron cromatográficamente. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Estudio de la influencia del tamaño de los microplásticos (Condiciones: 0,5 g de PC de distintos tamaños en agua de mar durante 2 días).

Tamaño de los Microplásticos (mm)	Concentración BPA en el lixiviado (mg/L), $\bar{x} \pm s$	Concentración BPA en mg/Kg $\bar{x} \pm s$
< 1 mm	0,0019 \pm 0,0003	0,38 \pm 0,05
1-2 mm	0,0016 \pm 0,0002	0,35 \pm 0,04
2-4 mm	0,0015 \pm 0,0004	0,30 \pm 0,08

En principio, resultaría lógico que a menor tamaño del MP, exista mayor capacidad de degradación de MP y liberación del BPA a la disolución ya que el MP más pequeño presenta una mayor área superficial. Como podemos observar en la Tabla 7, los resultados de concentración de BPA en el lixiviado son aparentemente de mismo orden, pareciendo que a menor tamaño de los MP se favorece la lixiviación del BPA. Para demostrar si esto es así, se ha aplicado el Ensayo ANOVA para comparar los resultados con los 3 tamaños de microplástico. El resultado del ensayo dio $F_{cal} = 1,4$ para $F_{tab} = 5,14$, por lo que se concluye que no hay diferencias significativas en la concentración de BPA (en mg/Kg) debidas al tamaño del microplástico, y las concentraciones halladas son estadísticamente iguales.

5.3.4 Influencia de la exposición de las disoluciones a la intemperie en la lixiviación de BPA

En este estudio, se evaluó la influencia de la exposición de las disoluciones a la intemperie para tener en cuenta el efecto de la radiación solar. Para ello, se realizaron 2 estudios:

- En primer lugar, se estudió la influencia de la exposición a la intemperie con las distintas matrices acuosas, y este estudio se hizo en 2 condiciones de tiempo de exposición: 2,5 h y 24 h.
- En segundo lugar, se estudió la influencia de la exposición a la intemperie a distintos tiempos (2,5; 5; 7,5 y 24 h) únicamente con la matriz agua de mar.

Influencia de la exposición a la intemperie con las distintas matrices acuosas

Para el estudio de la influencia de la exposición a la intemperie con las distintas matrices acuosas y 2 tiempos de exposición, se puso en contacto 0,5 g de PC con 100 mL de agua de diferente naturaleza a la intemperie en la terraza de la EPSG (figura 21C). Tras el tiempo de contacto, las disoluciones de lixiviado se filtraron, y se llevó a cabo el SPE y el análisis cromatográfico.

Como se observa en la Figura 29, tras 2,5 h de exposición, se libera más BPA con el agua milli-Q que con las distintas aguas naturales, hecho que resulta llamativo, pues en los ensayos anteriores (sin exposición), el agua milli-Q era casi siempre la matriz con la que menos cantidad de BPA se liberaba. Por ello, y tras observar el resultado a las 24h, pensamos que pudo haber algún error experimental (confusión en la preparación) en este resultado que explicaría la concentración hallada. Por otra parte, de las aguas naturales, el agua de marjal fue la que presentaba mayor cantidad de BPA liberado y la de la Albufera la que menos.

Por otra parte, tras 24 horas de agitación, se observa un aumento en la concentración de BPA lixiviado con las matrices de agua de la Albufera, de mar y de río, por lo que podemos decir que con estas matrices se favorece la lixiviación del BPA al estar las disoluciones a la intemperie. Sin embargo, se observó una disminución en la concentración de BPA en los lixiviados de agua de marjal, que puede ser debida a la degradación del BPA por la radiación solar u otros factores en este tipo de matriz.

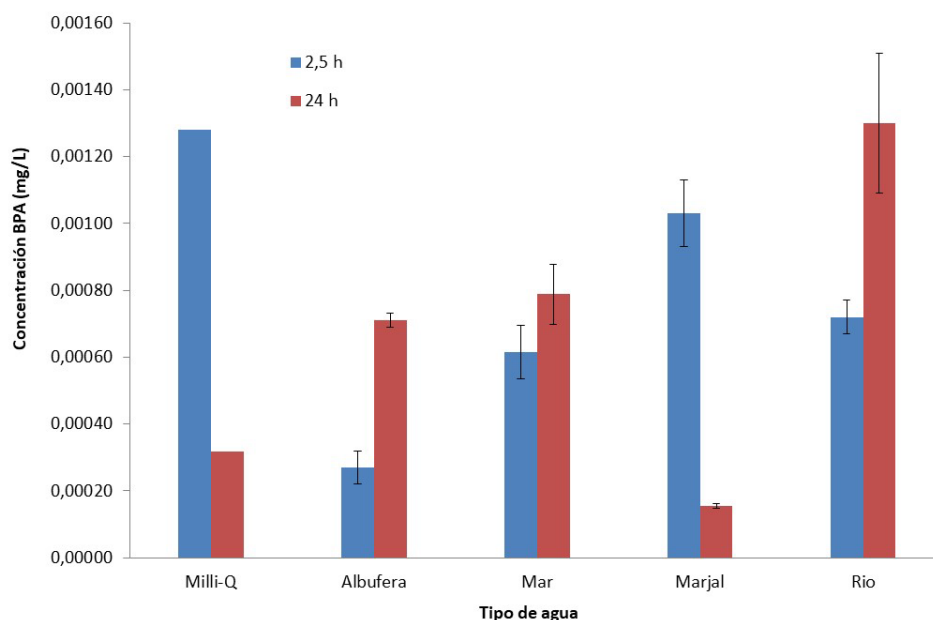


Figura 29. Resultados de la concentración de BPA (mg/L) en el lixiviado al estar las distintas aguas a la intemperie en 2 tiempos (2,5h y 24h).

En la Tabla 8 se detalla la concentración de BPA hallada en los lixiviados en mg BPA por kilogramo de microplástico (mg/Kg) para los ensayos realizados con las distintas distintas aguas expuestas a la intemperie. Hay que destacar que, en este estudio, con el agua de la Albufera, sí se ha observado un aumento de la concentración de BPA lixiviado al aumentar el tiempo de exposición a la intemperie, lo que podría deberse a un aumento en la degradación del MP en esta matriz al estar expuesta a la radiación solar.

Tabla 8. Estudio de la influencia del tiempo de exposición a la intemperie con las distintas aguas.
(Condiciones: 0,5 g de PC, 100 mL de agua).

	Concentración de BPA (mg/Kg), $\bar{x} \pm s$				
Tiempo de exposición	Milli-Q	Albufera	Mar	Marjal	Rio
2,5 h	0,241	0,055 \pm 0,010	0,122 \pm 0,016	0,21 \pm 0,02	0,145 \pm 0,010
24 h	0,059	0,14 \pm 0,03	0,158 \pm 0,018	0,0291 \pm 0,0014	0,24 \pm 0,04

Influencia de la exposición a la intemperie a distintos tiempos (2,5; 5; 7,5 y 24h)

Para complementar el estudio anterior, se realizó un estudio de otros tiempos de exposición en que el sol estaba presente (5 y 7,5h) para ver la posible influencia de la radiación solar empleando como matriz acuosa el agua de mar. Para ello, se puso en contacto 0,5 g de PC con 100 mL de agua de mar durante los tiempos comentados. Tras la exposición, se filtraron las disoluciones, y se llevó a cabo el SPE el análisis cromatográfico. En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos con agua de mar a los distintos tiempos de exposición ensayados.

Tabla 9. Concentraciones de BPA obtenidas tras la exposición a la intemperie con 0,5 de PC en 100 mL de agua de mar en agitación durante distintos tiempos.

Tiempo de contacto (h)	Concentración BPA en el lixiviado ($\mu\text{g/L}$), $\bar{x} \pm s$	Concentración BPA en mg/Kg $\bar{x} \pm s$
2,5	0,61 \pm 0,08	0,122 \pm 0,016
5	0,58 \pm 0,14	0,12 \pm 0,03
7,5	0,91 \pm 0,10	0,18 \pm 0,02
24	0,79 \pm 0,09	0,158 \pm 0,018

En la Tabla 9 podemos observar que, al estar en contacto el agua de mar con los microplásticos, la mayor cantidad de BPA se libera en las primeras horas, y luego dicho proceso va ralentizándose o incluso se observa menos cantidad de BPA lixiviado. Podemos decir que el tiempo en que está dicha matriz a la intemperie en presencia de la radiación solar no parece tener una influencia clara en la lixiviación del BPA o es posible que estén sucediendo reacciones de degradación del BPA. Estudios realizados por Saiz y col. (Saiz *et al*, 2021) aseguran que los protectores solares liberan grandes cantidades de dióxido de titanio que se acumulan en las aguas marítimas (RTVE Noticias, 2023). Y este dióxido de titanio puede provocar la foto-degradación del BPA. En este sentido, podríamos explicar la disminución en la concentración de BPA a las 24h, ya que, al estar la disolución de lixiviado en presencia de los rayos solares durante todo el día, el BPA liberado puede ser degradado por el óxido de titanio presente en las aguas.

5.3.5 Evaluación de las concentraciones de BPA en el lixiviado con las distintas matrices

Tras los estudios realizados, se procede a evaluar las cantidades de BPA en las disoluciones de lixiviado empleando las distintas aguas naturales. En la Tabla 10 se muestran las concentraciones de BPA ($\mu\text{g/L}$) en las disoluciones de lixiviado en las distintas condiciones ensayadas para cada una de las matrices.

Para las aguas milli-Q, mar y marjal, de todos los procesos de lixiviación estudiados, el proceso que proporcionó una mayor concentración de BPA fue la agitación durante 14 días cuando se trabajó con 0,5 g de microplástico de PC en los 100 mL de agua. Sin embargo, para el agua de río, tras 7 días de agitación se obtuvo la mayor concentración de BPA; para el agua de la Albufera, esto ocurrió con sólo un día. Es posible que la presencia de microorganismos o algas en el agua de la albufera produzca la degradación del BPA lixiviado. Esta matriz no se empleó en todos los estudios dado que los primeros estudios dieron concentraciones muy bajas de BPA en los lixiviados.

Por otra parte, en todas las matrices se ha observado un aumento de la cantidad de BPA en el lixiviado cuando se aumenta la cantidad de MP en la disolución, obteniéndose la mayor concentración cuando se trabajó con 2 g de microplásticos. Las concentraciones de BPA empleando 2g de MP son entre 2,3 y 5 veces más grande que con 0,5 g, dependiendo de la matriz.

Tabla 10. Concentraciones de BPA en las disoluciones de lixiviado en las distintas condiciones estudiadas.

Condición	Concentración BPA ($\mu\text{g/L}$)				
	Agua milli-Q	Agua de la Albufera	Agua de Mar	Agua de Marjal	Agua de río
Agitación 1 día 0,5 g PC	0,73	$0,9 \pm 0,3$	$0,62 \pm 0,08$	$0,41 \pm 0,14$	$0,36 \pm 0,19$
Agitación 7 día 0,5 g PC	0,86	$0,29 \pm 0,02$	$4,12 \pm 0,07$	$3,7 \pm 0,7$	$4,3 \pm 0,3$
Agitación 14 días 0,5 g PC	1,08	-	$6,65 \pm 0,07$	$12,3 \pm 0,7$	$1,9 \pm 0,3$
Agitación 2 días 0,5 g PC, <1mm	-	-	$1,9 \pm 0,3$	-	-
Agitación 2 días 0,5 g PC, 1-2mm	-	-	$1,6 \pm 0,2$	-	-
Agitación 2 días 0,5 g PC, 2-4mm	-	-	$1,5 \pm 0,4$	-	-
Intemperie 2,5 h 0,5 g PC	1,28*	$0,27 \pm 0,05$	$0,61 \pm 0,08$	$1,03 \pm 0,10$	$0,72 \pm 0,05$
Intemperie 5 h 0,5 g PC	-	-	$0,58 \pm 0,14$	-	-
Intemperie 7,5 h 0,5 g PC	-	-	$0,91 \pm 0,09$	-	-
Intemperie 24h 0,5 g PC	0,32	$0,7 \pm 0,2$	$0,79 \pm 0,09$	$0,154 \pm 0,007$	$1,3 \pm 0,2$
Agitación 7 días 0,1 g PC	0,32	-	$0,95 \pm 0,12$	$0,8 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,3$
Agitación 7 días 2 g PC	3,5	-	31 ± 6	29 ± 2	$21,7 \pm 0,2$

* Possible error experimental

6. CONCLUSIONES

Las conclusiones que se extraen de este estudio se detallan a continuación.

El análisis de BPA mediante SPE-HPLC-FL permite evaluar la concentración de BPA con un LD de 0,24 $\mu\text{g/L}$ y un LQ de 0,83 $\mu\text{g/L}$. El intervalo lineal de medida del método HPLC-FL es de 0,04-0,5 mg BPA/L (0,83-10 $\mu\text{g/L}$ teniendo en cuenta el factor de concentración de SPE).

Respecto a la caracterización de las diferentes aguas naturales empleadas para los procesos de lixiviación se puede decir que: las aguas presentaban pH similares, alrededor de 8, la conductividad fue muy alta para el agua de mar por su alto contenido en sales, y el agua de la Albufera es la que presenta mayor valor de DBO y DQO debido a su alto contenido de algas y materia orgánica. Además, al analizar los blancos de las aguas mediante SPE-HPLC-FL, en ninguna de las muestras se observó presencia de BPA. En el agua de la Albufera se observa la presencia de compuestos fluorescentes polares que salen en el frente del cromatograma, y en las aguas de mar y marjal se observa la presencia de compuestos fluorescente apolares que salen en la parte final de cromatograma, cuando la concentración de acetonitrilo en la fase móvil es más grande.

Por otra parte, se llevaron a cabo varios estudios de lixiviación empleando distintas condiciones en los que se ponían en contacto las aguas naturales caracterizadas y también el agua milli-Q con una determinada cantidad de microplástico de policarbonato, y se evaluó el contenido de BPA en las disoluciones de lixiviado tras el tratamiento correspondiente. Concretamente, se estudiaron: el tiempo de contacto agua-policarbonato, la cantidad de policarbonato, el tamaño de los microplásticos en contacto con el agua de mar, y la influencia de la exposición a la intemperie en presencia de radiación solar con las distintas matrices y durante distintos tiempos. Las conclusiones que se extraen de los estudios de lixiviación fueron las siguientes:

- En el estudio del tiempo de contacto microplástico-agua, se concluyó que con las aguas milli-Q, mar, marjal y río, al aumentar el tiempo de contacto policarbonato-agua, aumentaba la cantidad de BPA lixiviado, aunque el agua de río dio menor concentración de BPA a los 14 días. Con el agua de la Albufera sucedió que al aumentar el tiempo de contacto disminuyó la concentración de BPA en el lixiviado, posiblemente debido a la existencia de alguna sustancia/microorganismo en la matriz que degrada/consume el BPA liberado. En este estudio, las aguas de mar, marjal y río son las que más favorecen los procesos de lixiviación del BPA. Mediante un análisis ANOVA se concluyó que la concentración de BPA liberado (en mg/Kg) es

estadísticamente igual para estas 3 matrices acuosas a los 1 y 7 días de contacto. A los 14 días, el agua que presentó mayor liberación de BPA fue la de marjal.

- En el estudio de la cantidad de policarbonato en contacto con las distintas aguas, se concluyó que mientras mayor sea la masa de policarbonato mayor será la liberación de BPA en las aguas milli-Q, mar, marjal y río. En el agua de la Albufera, apenas se apreció cambio en la concentración de BPA en el lixiviado probablemente debido a la degradación del mismo por las algas y microorganismos. Además, con esta agua, se encontró muy poco BPA si se compara con las otras matrices. También en este estudio se aplicó un ensayo ANOVA en el que se compararon las concentraciones de BPA lixiviado con las aguas de marjal, mar y río. Y se concluyó que con cantidades pequeñas de MP (0,1 o 0,5 g) la cantidad de BPA lixiviado era independiente de la matriz. Sin embargo, con 2 g de PC, las aguas de mar y marjal daban resultados estadísticamente iguales pero la muestra de agua de río daba una concentración de BPA lixiviado estadísticamente distinta, lo que indicaba que la matriz sí influye en el proceso de lixiviación si se tienen cantidades grandes de MP.
- En el estudio del tamaño del microplástico en contacto con el agua de mar, aunque parecía que la concentración de BPA en el lixiviado aumentaba ligeramente al disminuir el tamaño del microplástico, se concluyó que no había diferencias significativas en la concentración de BPA (en mg/Kg) debidas al tamaño del microplástico, y las concentraciones halladas son estadísticamente iguales independientemente del tamaño (ANOVA).
- En el estudio de la influencia de la exposición a la intemperie con las distintas matrices acuosas y en distintos tiempos, se liberaba más BPA con agua de marjal que con el resto de matrices (mar, río y Albufera), y el agua que presentaba menor concentración de BPA en el lixiviado fue la de la Albufera. Con el agua milli-Q posiblemente hubo una confusión en la preparación del experimento. En este estudio, excepto con el agua de marjal, al aumentar el tiempo de exposición a la intemperie, aumentó la cantidad de BPA lixiviado.
- Por último, en el estudio del tiempo de exposición a la intemperie en presencia de irradiación solar con agua de mar, se concluyó que, para esta matriz, el tiempo en que está la mezcla agua-MP a la intemperie en presencia de la radiación solar no parece tener una influencia clara en la lixiviación del BPA o es posible que estén sucediendo reacciones de degradación del BPA.

Para finalizar, si se comparan las cantidades de BPA lixiviado en los distintos tratamientos aplicados se concluye que con 0,5 gramos de PC en los 100 mL de agua:

- Las aguas milli-Q, mar y marjal presentaron la máxima lixiviación tras 14 días de agitación en el laboratorio.
- El agua de río presentó la máxima lixiviación tras 7 días de agitación en el laboratorio.
- El agua de albufera presentó la máxima lixiviación tras 1 día de agitación en el laboratorio.

Además, al aumentar la masa de policarbonato a 2 g, la cantidad de BPA lixiviado aumentó entre 2,3 y 5 veces dependiendo de la matriz.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Acorema (2019). "La contaminación marina por plásticos Información básica para docentes de Primaria", http://www.acorema.org.pe/documentos/La_contaminacion_marina_por_plasticos-Informacion_basica_para_docentes_de_Primaria_2019.pdf. Fecha de consulta: 22/03/2023.
2. Alimento, https://www.alimento.elconfidencial.com/consumo/2023-04-19/cientificos-alertan-bisfenol-a-alimentos-riesgo-salud_3614248/, "Alertan de que el bisfenol A en contacto con alimentos es un riesgo para la salud". Fecha de consulta: 21/04/2023.
3. Alonso-Monasterio Fernández, P y Viñals Blaso, M^a J. (2012) Marjal de la Safor ruta oeste. *Colección Mapas*,
4. Alsing Pedersen, G., Hvilsted, S., Højslev Petersen, J. (2015) Migration of bisphenol A from polycarbonate plastic of different qualities. Ed. *The Danish Environmental Protection Agency*.
5. Álvarez, M., González, J.L., Yu, Y., González, A. (2017). "Recopilación e identificación de acciones de restauración ecológica en humedales españoles". Terra Naturalis, naturaleza cultura y desarrollo.
6. Arce, M (2017) Determinación, mediante cromatografía de líquidos con detección fluorescente de bisfenol A y fenol migrado desde juguetes y envases de suero. TFM Universidad de Burgos.
7. Ashby, J. "Endocrine disruption occurring at doses lower than those predicted by classical chemical toxicity evaluations: The case bisphenol A" Pure and Applied

- Chemistry, vol. 75, no. 11-12, 2003, pp. 2167-2179.
https://doi.org/10.1351/pac200375112167_
8. Associació Valenciana de meteorologia Josep Peinado (Avamet). MXO MeteoXarxaOnlie. <https://www.avamet.org/mxo-meteoxarxaonline.php>. Fecha de consulta: 16/03/2023.
 9. Bacca, A., Ramirez, E., & Serrano, R. (2009). Caracterización de las propiedades mecánicas según la influencia de los elementos externos al policarbonato en discos compactos recuperados. *Trabajo de Grado para optar al título de Ingeniero Mecánico, Universidad Autónoma de Occidente*.
 10. Barbosa, F.; Adeyemi, J.A.; Bocato, M.Z.; Comas, A. & Campiglia, A (2020). A critical viewpoint on current issues, limitations, and future research needs on micro- and nanoplastics studies: from the detection to the toxicological assessment. *Environmental Research*, 182: 109089.
 11. Barboza, L.G.A.; Vieira, L.R.; Branco, V.; Carvalho, C. y Guilhermino, L. (2018) Microplastics increase mercury and bioconcentration and bioaccumulation in the liver, and cause oxidative stress and damage *Dicentrarchus labrax* juveniles. *Scientific Reports*, 8: 15655.
 12. Barrera, Alina E. Pascual, (2011). Caracterización bacteriológica y simulación con Visual Plumes en la descarga del emisario submarino de Gandía en la costa valenciana. *Bacteriological characterization and simulation with Visual Plumes in the marine outfall discharge of Gandía in the valencian coast*.
 13. Blancas, C., & Marco, C. (2004). Análisis térmico comparativo de polipropileno de reología controlada y de reactor, cristalizados en condiciones dinámicas. *Revista de plásticos modernos: Ciencia y tecnología de polímeros*, (582), 569-581.
 14. Bren-Struckofova, Z. y Cichna-Markl, M. (2006) Determinación de bisfenol A en vino mediante cromatografía de inmunoafinidad sol-gel, HPLC y detección por fluorescencia. *Aditivos alimentarios y contaminantes*, vol. 23, nº 11, pág. 1227-1235.
 15. Cabrera, D. 2018. *Determinación de la presencia de microplásticos en playas de Tenerife*. Tesis de grado. Departamento de Química. Universidad de la Laguna. Santa Cruz de Tenerife—España.
 16. Caniego Ballesteros, X. (2022). Análisis de Bisfenol A en Lixiviados de Microplásticos. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/188089>.

17. Cardona, D., Lavernia, C. J., & Alcerro, J. C. (2010). Polietileno. *Acta ortopédica mexicana*, 24(2), 123-128.
18. De Laorden, L. (2020). "Calidad del agua en el parque natural de L` Albufera de Valencia. Trabajo Final de Máster. Universidad de Alcalá.
19. Domínguez, L., & Grisell, J. (2020). *Microplástico en el tracto digestivo de Scomber japonicus, Opisthonema libertate y Auxis thazard, comercializados en el puerto pesquero de Santa Rosa, provincia de Santa Elena-Ecuador* (Bachelor's thesis, La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2020).
20. El Diario.es, https://www.eldiario.es/sociedad/pesqueros-dejan-perdido-mar-sedal-asesino-dar-400-vueltas-mundo_1_9639550.html. "Los pesqueros dejan perdido en el mar tanto sedal 'asesino' como para dar 400 vueltas al mundo". Fecha de consulta: 26/05/2023".
21. El Mundo, Los plásticos acaban en el océano tras viajar pocos días desde la atmósfera", <https://www.elmundo.es/ciencia-y-salud/medio-ambiente/2022/05/10/627a59d9fc6c8390078b45c5.html>. " Fecha de consulta: 06/06/2023.
22. EROSKI Consumer, https://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/bisfenol-a-envases-alimentarios-riesgo-salud?utm_source=boletinesconsumer&utm_medium=email&utm_campaign=Lomejor&utm_content=20230508_ES&utm_term=bloque "El bisfenol A de los envases alimentarios es un riesgo para la salud", fecha de consulta 12 de mayo 2023.
23. Espinosa, C.; Esteban, M.A. y Cuesta, A. (2019). Dietary administration of PVC and PE microplastics produces histological damage, oxidative stress and immunoregulation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Fish and Shellfish immunology*, 95:574-583.
24. Garófano-Gómez, V., Gadea-Pérez, I. (2018). *Investigación del ecosistema fluvial del río Serpis y propuesta de actuaciones prioritarias para su rehabilitación en la comarca de la Safor (Valencia)* (Doctoral dissertation, Centre de Desenvolupament Rural la Safor-COCEDER).
25. Gadea Perez, M. I. (2016) *Determinación de la influencia de los factores ambientales en las proliferaciones algales fitoplanctónicas en la zona costera de Gandia*. 2016. Tesis Doctoral. Universitat Politècnica de València.

26. GESAMP, Sources, Fate and Effects of Microplastics in the Marine Environment: <https://www.imo.org/es/OurWork/Environment/Paginas/GESAMP.aspx> A Global Assessment, 2015, pp 98.
27. Hernandez-Maldonado M. y Farres, A. (2021). Efecto de microplásticos en las microalgas. *BioTecnología*, Vol. 25 No.5
28. Hunt PA, Koehler KE, Susiarjo M, Hodges CA, Ilagan A, Voigt RC, Thomas S, Thomas BF, Hassold TJ. (2003). Bisphenol A exposure causes meiotic aneuploidy in the female mouse. *Current Biology* 13: 546-553.
29. Hussain N, Jaitley V, Florence AT (2001) Recent advances in the understanding of uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 50(1-2), 107-142.
30. IGME (2009). Encomienda de gestión para la realización de trabajos científico-técnicos de apoyo a la sostenibilidad y protección de las aguas subterráneas. Actividad 4. Demarcación Hidrográfica 081 Júcar. Masa de Agua Subterránea 081.142 Plana de Valencia Sur.
31. ISLAM HOY, <https://islamhoy.com/microplasticos/>. Fecha de consulta: 26/05/2023.
32. La Vanguardia, <https://www.lavanguardia.com/natural/20230419/8906389/cientificos-constatan-bisfenol-contacto-alimentos-riesgos-salud.html>.—“Los científicos alertan de que el bisfenol A en contacto con alimentos es un riesgo para la salud”. Fecha de consulta: 12/05/ 2023.
33. Li Y, Lu Z, Abrahamsson DP, Song W, Yang C, Huang Q, Wang J. Non-targeted analysis for organic components of microplastic leachates. *Sci Total Environ.* 2022 Apr 10;816:151598. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.151598. Epub 2021 Nov 12. PMID: 34774944.
34. Luis González, G., Tejera Pérez, R. L., Hernández Sánchez, C., Rubio Armendáriz, C., Revert Gironés, C., Gutiérrez Fernández, A., Burgos Ojeda, A., Hardisson de la Torre, A., *Revista profesional de formación continuada*, Vol. 7, N°. 87, 2011, 58-65)
35. Macherey-Nagel, <https://www.mn-net.com/chromatography/solid-pase-extraction-spe-information/>. Fecha consulta: 29/05/23.
36. Marigel, Alonso (2014). Grandes acumulaciones de plástico en todos los océanos del planeta. euroXpress portal de noticias de la Unión Europea. <https://www.euroxpress.es/noticias/investigadores-de-la-uca-demuestran-la->

existencia-de-grandes-acumulaciones-de-plastico-en-todos-los-oceanos-del-planeta .

Fecha de consulta: 12/05/2023

37. Markey CM, Luque EH, Muñoz de Toro M, Sonnenschein C, Soto AM. (2001) In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary glands. *Biology of Reproduction* 65: 1215-1223.
38. Ministerio de consumo, (2023) Gobierno de España, Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición, "Reevaluación del riesgo de la presencia de bisfenol A en los alimentos",
https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/noticias_y_actualizaciones/noticias/2023/Bisfenol.htm, Fecha consulta: 29/05/23
39. Mohsen, M., Zhang, L., Sun, L., Lin, C., Wang, Q., Yang, H. (2020). Microplastics fibers transfer from the water to the internal fluid of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Environmental Pollution*,27:113606.
40. National Geographic, <https://www.nationalgeographic.es/medio-ambiente/2019/01/adios-a-los-microplasticos-de-tus-cosmeticos>-.Fecha de consulta: 12/07/2023.
41. National Geographic, https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/actualidad/tipos-plastico-segun-su-facilidad-reciclaje_12714, Fecha de consulta 10/05/2023.
42. Noticias ONU: <https://news.un.org/es/story/2017/05/1378771> (12 de Mayo de 2017). *La ONU lucha por mantener los océanos limpios de plásticos*. Fecha de consulta: 15/05/2023.
43. Parra López, M. (2021). *Variaciones del hábitat acuático, nitratos y plaguicidas en el tramo bajo del río Serpis* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València)
44. Pérez, I. G. (2009). Variación espacial del fitoplancton en la zona costera de Gandía y su relación con la entrada de nutrientes.
45. Peri Paleracio, Marine Photobank. Fuente: Basuras marinas, plásticos y microplasticos, Ecologistas en acción, 2017.
46. PlasticsEurope. www.plasticseurope.org (en inglés).«¿Qué son los plásticos? Fecha de consulta: 11/05/2023.
47. Rojo-Nieto, E. y Montoto Martínez, T.(2017). *Basuras marinas, plásticos y microplásticos: orígenes, impactos y consecuencias de una amenaza global*. Ecologistas en acción.

48. Ruiz Salmón, I. (2013) Degradación de bisfenol a en agua mediante fotocatalisis con dióxido de titanio". TFG, Universidad de Cantabria
49. Sajiki, J., Yonekubo J., "Leaching of bisphenol A (BPA) to seawater from polycarbonate plastic and its degradation by reactive oxygen species", *Chemosphere*, 51 (2003) 55-62.
50. Sánchez, A. L. (2004). *Influencia del proceso de reciclado sobre las propiedades de los materiales compuestos obtenidos por inyección de poliestireno reforzado con fibras lignocelulósicas*. Tesis Doctoral, Universitat de Girona.
51. Saiz Fernández, A (2021) Modelos de liberación e interacción de los protectores solares con el medio marino. TFG Universidad de Cantabria.
52. Serna, L. y Albán, F. (2003). Ácido poliláctico (PLA): Propiedades y aplicaciones. *Ingeniería y competitividad*, 5(1), 16-26. *Shellfish immunology*, 95:574-583.
53. Simón, F. X., Rudé i Payró, E., Llorens Llacuna, J.y Baig, S. (2013) Study on the removal of biodegradable NOM from seawater using biofiltration. *Desalination*, vol. 316, p. 8-16. <http://hdl.handle.net/2445/45687>.
54. Soledad-Rodríguez, B. E. (2017). *Empleo de Polímeros de Impronta Molecular como preconcentradores de muestras en el análisis químico de trazas*. Rev. Tekhné. Vol. 20, Núm 2, 03-022
55. Tecnología de los plásticos, <https://tecnologiadelosplasticos.blogspot.com/2011/06/policarbonato.html>, Fecha consulta: 29/05/23.
56. Timms BG, Howdeshell KL, Barton L, Bradley S, Richter CA, Vom Saal FS (2005). Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102: 7014 -7019.
57. Uadia, P.O; Makinwa, T.T; AKeshinro, A.A. (2019) Leaching of bisphenol a (BPA) from plastic materials increases with storage time while its degradation increases with temperature", *Salem University Journal of Environmental Sciences*, 1 (1) 1-8.
58. Villar Piqueres, J. (2015). *Análisis, descripción y valoración medioambiental del término municipal de Gandia* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).

59. Welshons W.V., Thayer K.A., Judy BM, Taylor JA, Curran, E.M., Vom Saal, F.S. (2003). Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environmental Health Perspectives* 111: 994-1006.
60. Wikipedia: Plásticos. <https://es.wikipedia.org/wiki/Pl%C3%A1stico>. Fecha de Consulta 10/04/2023.
61. Zana M A., Fehmi Y., Abdurrahman A. y Orhan T. (2022) Determination of bisphenol a in plastic-packaged foods by liquid chromatography coupled with fluorescent detection. Vol 31-No.06, 5933-5939. *Fresenius Environmental Bulletin*.