



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

**ESTUDIO DE LA
DEGRADACIÓN DE
ANTIMICROBIANOS EN AGUA
MEDIANTE TRATAMIENTO
CON RADIACIÓN
ULTRAVIOLETA**

Alumno: Laura Molina Andrade

Septiembre, 2014

ÍNDICE

1.	Introducción	3
1.1.	Triclosán	
1.1.1.	Definición.....	3
1.1.2.	Toxicidad	4
1.1.3.	Presencia en el medio ambiente.....	5
1.1.4.	Tecnologías de degradación.....	7
1.2.	Triclocarbán	
1.2.1.	Definición.....	9
1.2.2.	Toxicidad	10
1.2.3.	Presencia en el medio ambiente.....	11
1.2.4.	Tecnologías de degradación.....	12
1.3.	Objetivos del trabajo.....	13
2.	Materiales y métodos.....	
2.1.	Reactivos.....	14
2.2.	Reactor UV.....	14
2.3.	HPLC-MS	15
2.4.	Procedimiento	18
3.	Resultados y discusión.....	
3.1.	Método HPLC-MS para la determinación de triclosán y triclocarbán	20
3.2.	Degradación UV	
3.2.1.	Triclosán.....	24
3.2.2.	Triclocarbán.....	26
3.3.	Identificación de productos de transformación (durante la radiación UV).....	
3.3.1.	Triclosán.....	28
3.3.2.	Triclocarbán.....	33
4.	Conclusiones.....	40
5.	Bibliografía	41

Resumen

En el presente trabajo de fin de grado, se ha estudiado el comportamiento de dos antimicrobianos (triclosán y triclocarbán) empleados en numerosos productos comerciales frente al tratamiento con radiación ultravioleta (UV) para su degradación, estudiando además la posible formación de productos de degradación y su persistencia al tratamiento. Para ello, el método analítico empleado es HPLC-MS ya que según los estudios previos es uno de los más eficaces para la determinación de estos compuestos.

Se encontró que el triclosán se degradaba con facilidad, alcanzándose la degradación completa a los 10 minutos de exposición. Sin embargo el triclocarbán a los 120 minutos de exposición alcanza el 50% de su degradación, siendo la degradación completa a los 250 minutos. Por lo que respecta a la formación de n productos de transformación, se han podido identificar hasta 12 productos de transformación del Triclosán y 25 del triclocarbán siendo la mayoría de ellos de rápida formación y degradación, por lo que se eliminan rápidamente del medio.

Summary

In this work, the degradation of two antimicrobials (triclosan and triclocarban) with ultraviolet (UV) irradiation treatment has been studied. For this purpose, HPLC-MS was used for the monitoring of triclosan and triclocarban degradation as well as for the identification of transformation products. It was found that triclosan was easily degraded, reaching the complete degradation within 10 minutes of exposure. In contrast, triclocarban only reached 50% of its degradation after 120 minutes of UV exposure, being completely degraded after 250 minutes. With respect to the formation of transformation products, 12 triclosan transformation products were identified, while for triclocarban, 25 related species were formed from HPLC-MS data. In all cases, the intermediates identified were completely degraded..

1. INTRODUCCIÓN

El triclosán y el triclocarbán son contaminantes de los llamados emergentes, que son aquellos que no están regulados, y pueden ser candidatos a regulación futura, y cuya presencia en el medioambiente, o las posibles consecuencias de la misma, han pasado en gran parte inadvertidas. Tanto el triclosán como el triclocarban están considerados dentro de los contaminantes emergentes dentro de la categoría de biocidas.

1.1. TRICLOSÁN

1.1.1. Definición

El Triclosán (5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)fenol), es un potente agente antibacteriano y fungicida. Se trata de un sólido incoloro con ligero olor a fenol. Es un compuesto aromático clorado el cual tiene grupos funcionales representativos de éteres y fenoles. Se disuelve poco en agua, pero bien en etanol, dietil éter y soluciones básicas fuertes tales como hidróxido de sodio a 1M, así como muchos otros fenoles. Este compuesto junto con el triclocarbán son contaminantes emergentes que se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de la misma. En la mayoría de los casos, estos contaminantes no están regulados. Son compuestos que debido a su elevada producción y consumo y a la continua introducción de los mismos en el medio ambiente, no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos. [Janet, M., et al (2012)]

En la **Tabla 1** podemos ver las características principales del Triclosán.

Tabla 1. Principales características del Triclosán.

Fórmula	Denominación de la IUPAC	Masa molar	Punto de fusión	Punto de ebullición	Densidad
C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂	5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol	289,54 g/mol	55°C	120°C	1,49 g/cm ³

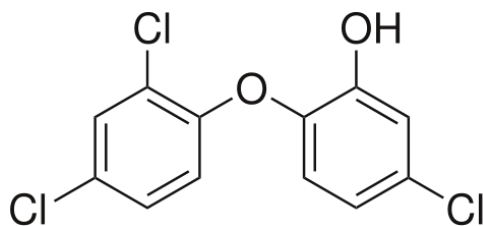


Figura 1. Estructura elemental del Triclosán.

Esta sustancia es un antimicrobiano de origen farmacéutico que está presente en muchos productos como son cosméticos (jabones, desodorantes, pastas de dientes, enjuagues bucales, productos de primeros auxilios etc.), como agente desinfectante. Además, un número creciente de productos destinados al consumidor final están impregnados de triclosán como la ropa de cama, ropa (calcetines), alfombras, juguetes para bebés, bolsas de basura, menaje de cocina (cubiertos), equipamiento informático (teclados de ordenador, móviles), electrodomésticos, encimeras de cocina, etc. [www.abc.es/20120813/sociedad/abci-jabon-triclosan-antibacteriano-funcion-201208131859.html]

Esta sustancia la podemos encontrar en aguas residuales y superficiales, encontrando concentraciones desde los 0,5 ng/L del Río Greifensee [Tixier, C., et al (2002)] a los 11 mg/L del Estuario de Tamar y del Río St Johns [Aranami, K., Readman, J.W. (2007)].

Las principales tecnologías de degradación para el triclosán son Fotodegradación, Biodegradación, degradación con ozono, electro-fenton y degradación con nano partículas que van desde el 70% de eliminación [Mezcua, M., et al (2004)] al 99% de eliminación [Canosa, P., et al (2005)], [Bokare, V., et al (2010)], [Aranami, K., Readman, J.W. (2007)], [Chen, Z., et al (2010)] y [Ferrer, I., et al (2004)]

1.1.2. Toxicidad

Existe una hipótesis de que el triclosán aumenta la producción de cloroformo, el cual está clasificado por la EPA como un probable carcinógeno humano. Un estudio publicado en 2007 ilustró que, en algunas circunstancias, el triclosán desencadena la producción de cloroformo en cantidades de hasta 40% más altos que los niveles base [Fiss, EM., et al (2007)].

Pero otro estudio publicado en el mismo año no mostró formación de niveles detectables de cloroformo en un rango de duraciones de cepillado de dientes esperado entre los sujetos que utilizan la crema dental con triclosán y el agua del grifo normal clorada. [Hao, Z., et al. (2007)]. Por lo que vemos existe cierta incertidumbre con este tema.

En 2009 la Comisión Europea (CE) con el asesoramiento científico, escribió que los datos toxicológicos sugieren que “la continuación del uso de triclosán como conservante en el límite de la concentración actual de máximo 0,3% en todos los productos cosméticos no es seguro para el consumidor a causa de la magnitud de la exposición total”. Sin embargo el Comité observó que el uso continuado en subcategorías específicas incluyendo pasta de dientes, jabón, desodorante y polvos para la cara se considera seguro.

1.1.3. Presencia en el medio ambiente

Esta sustancia se encuentra en todo tipo de aguas residuales y ríos, esto lo sabemos gracias a estudios previos.

Existen numerosos estudios en aguas residuales destacando el estudio realizado por Aranami, K. y Readman, J. W. en 2007 en el cual encontraron concentraciones bastante altas (hasta 11 mg/L) en diferentes ríos y estuarios en Reino Unido.

Tabla 2. Niveles de triclosán detectados en estudios previos.

Muestra	Método Analítico	Concentración	Referencia
Aguas residuales	HPLC	0,61-5,1 µg/L	[Lee, D. G., et al(2012)]
Soluciones acuosas con Fe (III) y en ausencia/presencia de ácidos húmicos	CG/MS	4,5 µg/L	[Martínez-Zapata, M., et al (2012)]
Aguas residuales en la ciudad de Shenzhen (China).			[Gao, Y., et al (2014)]
Muestras de agua ultrapura, fluvial y de aguas residuales (alcantarilla). Muestras tomadas en Inglaterra,	HPLC	A pH neutro 0	[Canosa, P., et al (2005)]

Estados Unidos y sur de España.			
Muestras de aguas residuales recolectadas en planta de tratamiento de aguas residuales en Almería (España)	CG/MS	0,5-3 mg/L	[Mezcua, M., et al (2004)]
Planta de tratamiento de efluente en Thiruvananthapuram en el distrito de Kerala (India)	HPLC	0,42 mg/L	[Gangadharan Puthiya Veetil, P., et al (2012)]
Río Dongjiang en el sur de China.		16,5 ng/L	[Zhang, Q., et al (2013)]
Agua doblemente destilada	HPLC/MS	5 mg/L	[Song, Z., et al (2012)]
Agua pura (agua mili-Q) Agua dulce (Estuario de Tamar, UK) Agua de mar (Lago st. Johns)	CG/MS	2-11 mg/L	[Aranami, K., Readman, J.W. (2007)]
Agua purificada Mili-Q (Millipore, USA)	CG/MS y TOC (Carbón organico total)		[Liu, H., et al (2013)]
Agua de alta pureza Mili-Q	HPLC	0-0,8 mg/L	[Sirés, I., et al (2007)]
Agua del lago Greifensee		5 ng/L	[Tixier, C., et al (2002)]
Escorrentía urbana obtenida de una de las salidas de la planta municipal de drenaje de aguas pluviales de La Canea. Aguas residuales recolectadas en la entrada del sistema de tratamiento secundario de las aguas residuales domésticas de la planta de tratamiento de La Canea. (Grecia)	CG/MS	5 µg/L	[Sanchez-Prado, L., et al (2006)]
Agua del grifo de Taipei (Taiwan)	HPLC/MS	200 ng/L	[Shen, J. Y., et al (2012)]

Aguas residuales, de río y de mar recogidos en Hong Kong	CG/MS	0,25 ng/L	[Wu, J. et al (2007)]
Agua de mar recolectada de Chania (Grecia); Escorrentía urbana obtenida de una de las salidas del sistema de drenaje de La Canea; y aguas residuales recolectadas de la planta de tratamiento de Chania.	SPME/CG-MS		[Sanchez-Prado, L., et al (2008)]
Efluentes de la comunidad de An-Ping en la ciudad de Tainan (Taiwan), las aguas residuales de ducha y lavado se recogieron de la toma de un dormitorio de la Universidad Central Nacional en Taiwan y Cuatro muestras de agua de río recolectadas aguas abajo de la emisión de efluentes industriales de una fábrica de detergentes ubicada en el condado de Taichung (Taiwan).	CG/MS	1 µg/L	[Cheng, C., et al (2011)]
Cuatro muestras de agua superficial; Río Sar (dos puntos de muestreo, Río Sarela y Arroyo “Dos Pasos” en Santiago de Compostela (España). Se tomaron muestras de una estación depuradora de aguas residuales.	LC/MS	20 ng/L en agua del Río 50 ng/L en aguas residuales	[Gonzalez-Mariño, I., et al (2009)]
Se tomaron muestras de agua de la planta de tratamiento de aguas residuales de la ciudad de Berlín y las aguas superficiales del lago Tegel.	LC/MS		[Quintana, J.B., Reemtsma, T. (2004)]
Aguas superficiales tomadas en el Río Xiaoqing en el área de Jinan, Provincia de Shandong (China).	HPLC/MS	20 µg/L	[Sun, J., et al (2012)]

1.1.4. Tecnologías de degradación

Como el triclosán es un compuesto que se encuentra mucho en el medio ambiente hay muchos estudios previos de degradación. Vemos que existen varias tecnologías de degradación y las más efectivas son las que usan para la degradación del Triclosán el cloro libre, nano partículas de Pd/Fe y fotodegradación.

En el caso del estudio de degradación del triclosán con cloro libre, vemos como varía según el pH de la muestra, el método es tanto más efectivo cuanto más neutro sea el pH. [Canosa, P., et al (2005)].

En el estudio realizado por Martínez-Zapata también se observa diferente degradación dependiente del pH, siendo en este caso más efectiva la degradación a pH básicos.

Tabla 3. Tecnologías para la degradación del triclosán.

Tecnologías	% Eliminación	Productos de transformación	Referencia
Cloro libre	100% a pH neutro 82% a pH 6.3 42% a pH 9.0 0% a pH 5.2	Con Cloro, se forma 4,5 hidroxí difenil éter.	[Canosa, P., et al (2005)]
Cloro libre		2,4-diclorofenol y 2,4,6-triclorofenol	[Fiss, EM., et al (2007)]
Biodegradación (pseudomonas)	95,8±1,2%		[Gangadharan, P., et al (2012)]
Biodegradación	85% en el 1º día	Monohydroxy-TCS	[Lee, D.G., et al (2012)]
Nano partículas Pd/nFe	99%	Formación de 2-fenoxyfenol	[Bokare, V., et al (2010)]
Nano partículas Pd/Fe	98,6%	2-fenoxyfenol e iones cloruro	[Murugesan, K., et al (2011)]
Ozono	90%		[Tizaoui, C., et al (2002)]
Ozono	92%	2,4-diclorofenol, clorocatecol, mono-hidroxí-triclosán y di-hidroxí-triclosan	[Chen, X., et al (2012)]
Fotodegradación	99%	2,8-Diclorodibenzo-p-dioxin (DCDD)	[Aranami, K., Readman, J.W. (2007)]
Fotodegradación	99% en 60 min	DCDD	[Chen, Z., et al (2010)]
Fotodegradación	99%	m/z=143,145 m/z=235,237 m/z=269,271 m/z=253,255	[Ferrer, I., et al (2004)]

Fotodegradación con Fe(III) y en ausencia/presencia de ácidos húmicos	A pH 5 se degrada el 55%			[Martínez-Zapata, M., et al (2012)]
	A pH 9 se degrada el 75%			
Fotodegradación	70%	2,7/2,8-dibenzodichloro-p-dioxin		[Mezcua, M., et al (2004)]
Fotodegradación				[Sanchez-Prado, L., et al (2006)]
Fotoelectrocatalítica	78,7%	2,7 diclorodibenzodioxin		[Liu, H., et al (2013)]
Electro-Fenton	98%			[Sirés, I., et al (2007)]
Electro-Fenton	82,7%			[Song, Z., et al (2012)]
Agua desionizada nanopura	68%	Aumenta la concentración de radicales OH		[Son, H., et al (2010)]
Degradación sonoquímica	94% en 120 min de exposición sonoquímica.	Se convierten en especies más tóxicas y persistentes como Fenoles clorados, éter bifenil policlorados y derivados dihydroxilados.		[Sanchez-Prado, L., et al (2008)]

1.2. TRICLOCARBÁN

1.2.1. Definición

Triclocarbán (TCC), o 3,4,4 – triclorocarbanilida, es una sustancia con propiedades anti-bacterianas y anti-hongos que se utiliza en los desinfectantes, jabones y otros productos del hogar. Es un polvo o cristal blanco, insoluble en agua pero soluble en grasas. Tiene acción sinérgica con los detergentes y una acción bactericida contra bacterias Gram-positivas y menor frente a bacterias Gram-negativas y hongos.

Otros nombres que recibe el triclocarbán son: 3,4,4,-Triclorocarbanilida o N-(4-clorofenil)-N'-(3,4-diclorofenil) urea. [\[www.quiminet.com/articulos/el-triclocarban-excelente-agente-bacteriostatico-para-uso-exclusivo-en-jabones-desodorantes-13754.html\]](http://www.quiminet.com/articulos/el-triclocarban-excelente-agente-bacteriostatico-para-uso-exclusivo-en-jabones-desodorantes-13754.html)

En la **Tabla 4** podemos ver otras características de esta sustancia.

Tabla 4. Principales características del Triclocarbán.

Fórmula	Denominación de la IUPAC	Masa molar	Punto de fusión	Punto de ebullición	Densidad
$C_{13}H_9Cl_3N_2O$	3-(4-clorofenil)-1-(3,4-diclorofenil) urea	315,58 g/mol	254-256°C	>150°C	1,53 g/cm ³

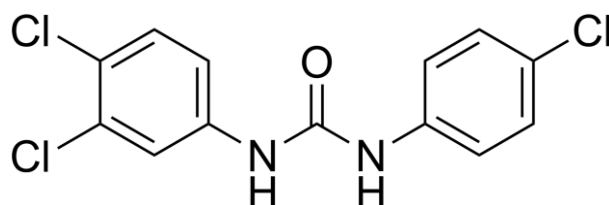


Figura 2. Estructura elemental del Triclocarbán.

Se utiliza con frecuencia en los jabones, geles de ducha, lociones, detergentes, desinfectantes para antibacterianos y antibióticos. [\[www.herbogeminis.com/IMG/pdf/triclocarban.pdf\]](http://www.herbogeminis.com/IMG/pdf/triclocarban.pdf)

Esta sustancia la podemos encontrar en aguas de ríos y aguas residuales, encontrando concentraciones desde los 0,02 ng/L del Río Sar [Gonzalez-Mariño, I., et al (2009)] a los 5 mg/L [Sirés, I., et al (2007)]

Las principales tecnologías de degradación para el triclocarbán son Fotodegradación, Biodegradación, electro-fenton y degradación con ozono que tienen un elevado porcentaje de eliminación que ronda siempre el 100% [Miller, T.R., et al (2010)]

1.2.2. Toxicidad

No se ha hecho mucha investigación sobre la toxicidad del triclocarbán, sin embargo se ha encontrado que cuando se genera triclocarbán, se liberan 139 productos cancerígenos tóxicos, tales como 4-cloroanilina y 3,4-dicloroanilina,

esto afecta negativamente la capacidad de reproducción de los animales de laboratorio [Halden, R.U. et al (2014)]

1.2.3. Presencia en el medio ambiente

Existen altas concentraciones de triclocarbán en aguas residuales. Es uno de los 10 principales compuestos orgánicos de aguas residuales que más se detectan cuando hablamos de frecuencia y concentración. En los últimos cinco años, las concentraciones de triclocarbán han aumentado de manera que ahora se detecta con más frecuencia que el triclosán. [Canosa, P. et al (2005)]

Podemos ver la concentración de triclocarbán en los diferentes estudios previos y la muestra en la que se encuentran. Por ejemplo en el estudio realizado por Shen J.Y. en 2012 encontraron 347 ng/L en agua de grifo que podría ser peligroso para la salud. Pero sin embargo la concentración de Triclocarbán en el Río Turia en Valencia es mayor llegando a los 7 µg/L [Carmona, E., et al (2014)]. Vemos como en todos los casos el método analítico utilizado coincide con el que nosotros hemos usado en este trabajo; HPLC.

Tabla 5. Niveles de triclocarbán detectados en estudios previos.

Muestra	Concentración	Método analítico	Referencia
Muestra de una cubeta de tratamiento secundario de la planta de tratamiento de aguas residuales de Baltimore.		HPLC	[Miller, T.R., et al (2010)]
Disoluciones preparadas	5 mg/L	CG/MS y HPLC	[Sirés, I., et al (2007)]
Río Dongjiang en el sur de China.	34 ng/L		[Zhang, Q., et al (2013)]
Agua mili-Q de alta pureza.		HPLC	[Tizaoui, C., et al (2011)]
Agua desionizada y doblemente destilada	0,1 mg/L	HPLC	[Ding, S., et al (2013)]
Río Turia (Valencia, España)	7 µg/L	LC/MS	[Carmona, E., et al (2014)]
Agua del grifo de Taipei (Taiwan)	347 ng/L	HPLC/MS	[Shen, J.Y., et al (2012)]
Cuatro muestras de agua superficial; Río Sar (dos puntos de muestreo, Río Sarela y Arroyo “Dos Pasos” en	0,02 ng/L en agua de Río y 0,05 en aguas	LC/MS	[Gonzalez-Mariño, I., et al

Santiago de Compostela (España). Se tomaron muestras de una estación depuradora de aguas residuales. (2009)]

1.2.4. Tecnologías de degradación

La degradación del Triclocarbán puede hacerse mediante fotodegradación bajo la radiación ultravioleta, bacterias de sistemas acuosos, tecnología electro-fenton o incluso con ozono.

Estas cuatro tecnologías son las más estudiadas para la degradación del Triclocarban, y son muy eficaces.

Vemos como en el estudio de Shi-Ling Ding (2013), el Triclocarbán se degrada completamente poco después de los 10 min de exposición a la radiación ultravioleta, es una degradación muy rápida; sin embargo, irradiando luz solar simulada a la muestra, solamente se degrada un 35% en 60 min, esta degradación con luz solar es mucho más lenta.

También vemos como tanto con la tecnología de fotodegradación [Ding, S., et al (2013)] y con la de biodegradación [Miller, T.R., et al (2010)] se forman dos productos de transformación idénticos como son 4-Chloroanilina y 3,4-Dicloroanilina.

Tabla 6. Tecnologías para la degradación del triclocarbán.

Tecnologías de degradación	% Eliminación	Productos de transformación	Referencia
Fotodegradación; radiación ultravioleta.	99% a los 10 min de exposición. Luz solar simulada: se degrada un 35% a los 60 min.	3,4-dicloroanilina, 4-cloroisocyanatobenceno, 4-cloronitrobenceno y 4-cloroanilina	[Ding, S., et al (2013)]
Biodegradación; Bacterias de aguas residuales.	100%	4-Chloroanilina y 3,4-Dicloroanilina.	[Miller, T.R., et al (2010)]
Electro-fenton	100% a los 25 min usando una celda de difusión de Pt/O ₂	Hidroquinona y 1-cloro-4-nitrobenceno	[Sirés, I., et al (2007)]
Ozono	99% a los 10 min		[Tizaoui, C., et al (2011)]

1.3. Objetivos del trabajo

Los objetivos que se persiguen en este trabajo son:

1. Poner a punto un método de análisis de triclosán y triclocarbán en agua mediante técnicas cromatográficas
2. Estudiar la degradación mediante radiación UV de triclosán y triclocarbán en disolución acuosa
3. Estudiar la posible formación de productos de degradación y su persistencia al tratamiento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. REACTIVOS E INSTRUMENTACIÓN

- Triclosán (Sigma-Aldrich)
- Triclocarbán (Sigma-Aldrich)
- Agua de grado LC (sistema de agua Mili-Q-Plus ultrapura de Millipore, Milford, MA, EE.UU.)
- Metanol (MeOH) de grado LC (Mer, Darmstad, Alemania)
- Acetonitrilo de grado LC (Panreac, Barcelona, España)
- Ácido fórmico de grado LC (Panreac, Barcelona, España)
- Balanza analítica.

2.2. EQUIPO PARA RADIACIÓN UV

La radiación UV, es un tipo de radiación electromagnética cuya longitud de onda está comprendida entre los 400 nm (4×10^{-7} m) y los 15 nm ($1,5 \times 10^{-8}$ m). La radiación UV comprende varias regiones cuya denominación depende del rango de longitudes de onda concreto, tal como se presenta en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Rangos de la Radiación UV, según su longitud de onda.

Nombre	Longitud de onda (nm)	Energía por fotón (eV)
Ultravioleta cercano	400 – 200	3.10 - 6.30
• Onda larga	• 400 – 320	• 3.10 – 3.87
• Onda media	• 320 – 280	• 3.87 – 4.43
• Onda corta	• 280 – 200	• 4.43 – 6.20
Ultravioleta lejano	200 – 10	6.20 – 124
Ultravioleta extremo	91.2 – 1	13.6 - 1240

Para la aplicación de radiación ultravioleta se requieren equipos específicos que permitan incrementar la cantidad e intensidad de la radiación. El que se aplica en la actualidad es un sistema continuo donde unos emisores de radiación, se encuentran encendidos permanentemente y aplican radiación ultravioleta sobre agua.

Nuestros experimentos se realizaron en un fotorreactor integrado de un tanque reactor de 1L con una lámpara UV inmersa en un tubo de cuarzo y con una camisa

de enfriamiento, un agitador magnético dentro del reactor para mezclar la disolución de TCS o TCC y agua Mili-Q. Se puede observar el equipo en la **Figura 1**.

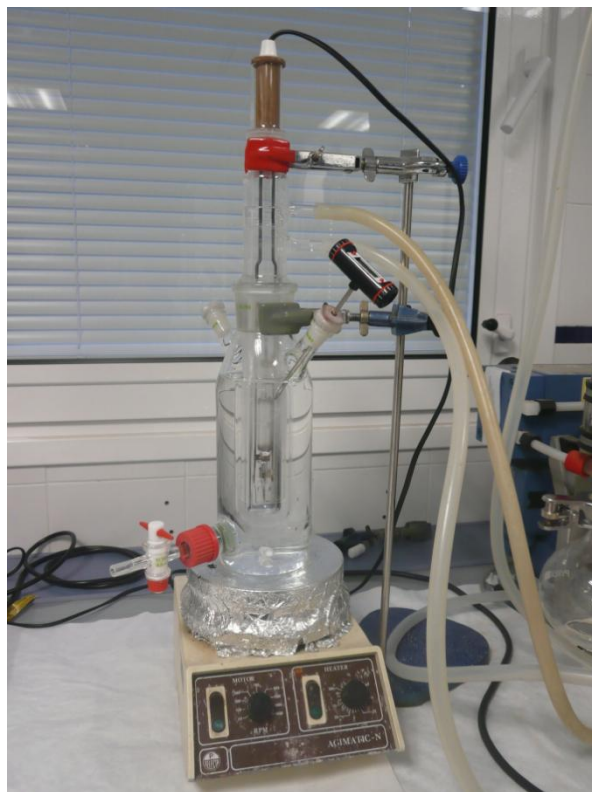


Figura 1. Montaje del equipo empleado para llevar a cabo los estudios de degradación UV.

La lámpara UV utilizada era una lámpara de presión media de mercurio (modelo CA 150; n 5600 1725; marca HNG) con una potencia de 150 W.

2.3. HPLC-MS

En HPLC, el compuesto pasa por la columna cromatográfica a través de la fase estacionaria mediante el bombeo de líquido a alta presión a través de la columna. La muestra a analizar es introducida en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan diferencialmente dependiendo de las interacciones químicas o físicas de la fase estacionaria a medida que avanzan por la columna. El grado de retención de los compuestos que haya en la muestra depende de varios factores: composición de fase móvil y estacionaria y de la naturaleza del compuesto. El tiempo de retención es el tiempo que tarda un compuesto en ser eluido de la columna.

Por su parte la espectrometría de masas es una técnica usada para identificar compuestos desconocidos dentro de una muestra, cuantificar materiales conocidos y elucidar la estructura química de las moléculas.

El análisis por espectrometría de masas se realiza en cuatro etapas básicas, tal como se presenta en la **Figura 2**:

1. Introducción de la muestra
2. Ionización de la muestra, en la cual los átomos o moléculas se transforman en especies iónicas gaseosas.
3. Separación y análisis de iones moleculares y de los fragmentos cargados según su valor de m/z .
4. Se obtiene el espectro de masas, en el que se presenta la abundancia relativa de los iones y fragmentos separados respecto a la relación m/z .

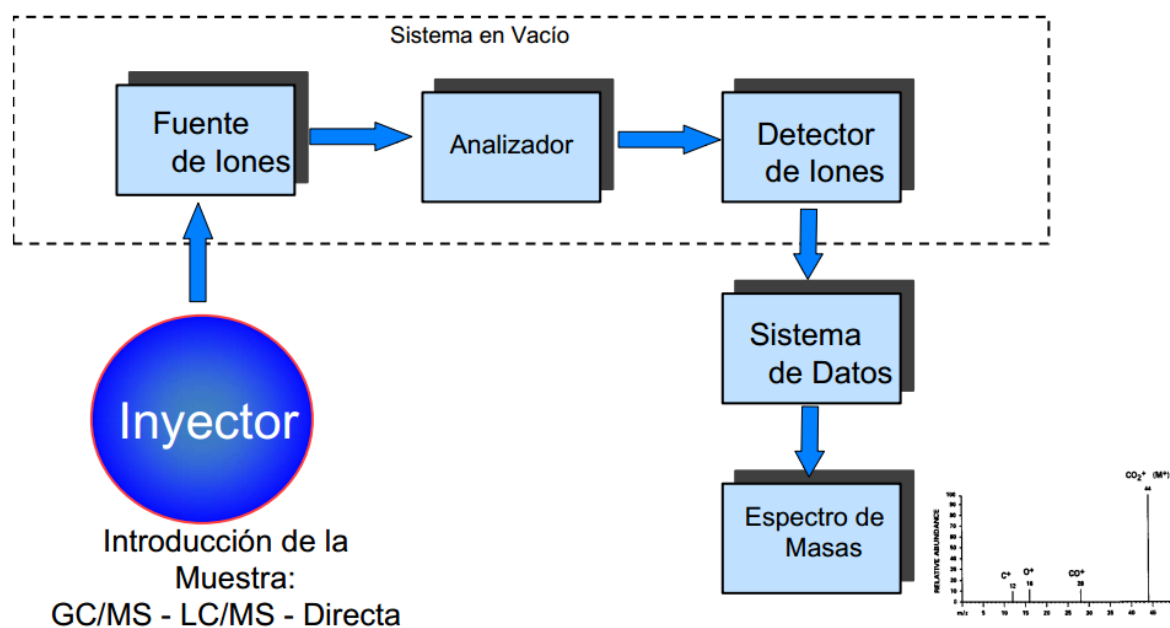


Figura 2. Esquema etapas de espectrómetro de masas.

La técnica acoplada cromatografía de líquidos/espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo permite llevar a cabo medidas de masa/carga exacta de iones de interés, para confirmar o proponer fórmulas moleculares para los diferentes productos de degradación, aún en ausencia de estándares o biblioteca de espectros.

El equipo empleado para los análisis es un sistema LC que consta de un equipo de desgasificación a vacío, inyector automático y una bomba binaria, capaz de proporcionar mezclas de hasta dos disolventes diferentes en diversas proporciones. Este sistema HPLC estaba conectado con un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo Agilent TOF 6220 equipado con una fuente de ionización electrospray (ESI) en modo de ionización positivo.

En la **Figura 3**, se presenta una fotografía del equipo de LC-TOFMS disponible en el laboratorio de investigación con el cual se ha trabajado.



Figura 3. Equipo de cromatografía de líquidos/espectrometría de masas con analizador de tiempo de vuelo empleado en el estudio.

El método cromatográfico empleado consistió en un gradiente de elución con agua con 0.1% de ácido fórmico como disolvente A y acetonitrilo como disolvente B. El método empieza con un 10% de B, que se mantiene constante durante 3 min, seguido de un gradiente lineal hasta el 100% de B en 9 min, donde se mantiene constante durante 3 min más. Se incluye al final una etapa de equilibrado de columna de 5 minutos después de cada análisis. En la **Tabla 8**, se presenta las condiciones cromatográficas ajustadas al equipo.

Tabla 8. Condiciones cromatográficas seleccionadas.

Columna	Columna analítica C18 de 50 mm × 4.6 mm y 1.8 µm de tamaño de partícula (Zorbax Eclipse XDB-C18)
Flujo	0.5 ml/min
Volumen de inyección	20 µL
Tiempo de parada	15 min
Voltaje del capilar	4000 V
Temperatura del gas	325°C
Flujo de gas	9 L/min
Presión del nebulizador	40 psi
Voltaje del fragmentador	190 V
Skimmer	65
Polaridad iónica	Negativa
Rango de m/z	100-1000 Da

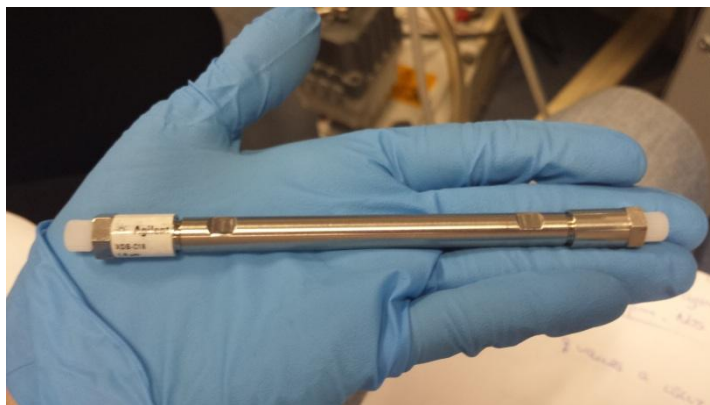


Figura 4. Columna utilizada en el método HPLC-MS

2.4. PROCEDIMIENTO

Se pesan 50 mg del patrón de triclosán con pesasustancias y en balanza analítica (que pese 10 µg) y se disuelve en Metanol. Con esta solución preparada se hacen patrones en viales de 2 mL. Se usan micropipetas por aspiración de volumen (una de 20-200 µL y otra de 200-1000 µL) para tomar 5 mL. Ésta será la disolución madre.

Hay que conseguir una disolución de 0.5 mg/L; para ello se van haciendo sucesivas diluciones 1:10 de agua y metanol hasta conseguir una solución de triclosán de 0.5 mg/L.

Se pincha la solución en el HPLC para obtener resultados, se ve que el TCS es menos polar y es posible que se haya quedado en la columna.

Se hace el mismo procedimiento con el triclocarbán y con una solución conjunta de triclosán y triclocarbán.

a) DEGRADACIÓN DEL TRICLOCARBÁN.

Se hace una disolución de 0,5 L que contenga 5 mg/L de triclocarbán (es decir, cogemos 5 mL de disolución madre en 95 mL).

A continuación se prepara el reactor UV (cuyas características hemos visto en el apartado 2.2. de este documento), encendemos la corriente de agua que nos sirve de refrigerante y se pone el receptáculo de la lámpara sobre la placa calefactora + agitador magnético. Se colocan unos protectores de cartón con papel de aluminio para que la radiación no afecte al operador ni a los demás individuos que haya en el laboratorio. Antes de encender la lámpara, tomamos 500 μ L para medir la concentración a $t=0$ min. Después de encender la lámpara, se van recogiendo alícuotas de 500 μ L en viales de vidrio que posteriormente se van a analizar mediante HPLC/MS a diferentes tiempos de muestreo 5,10, 15, 30, 60, 90, 120, 180 y 360 min.

b) DEGRADACIÓN DEL TRICLOSAN.

Se pesan 25.06 mg de TCS y se disuelven en acetonitrilo, quedando una concentración de TCS de 503 ppm en 50 mL. Entonces se prepara una disolución de 5 mg/L como en el caso anterior. A partir de aquí seguimos los mismos pasos que con el triclocarbán.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. MÉTODO HPLC-MS PARA LA DETERMINACIÓN DE TRICLOSAN Y TRICLOCARBÁN.

Es un método sencillo que nos ha servido para identificar el TCS y el TCC y ver su degradación. Lo hemos realizado con las mismas condiciones que hemos encontrado en estudios anteriores [Song, Z., et al (2012)], [Shen, J. Y., et al (2012)], [Miller, T.R., et al (2010)].

Los ensayos se desarrollaron en el equipo de cromatografía descrito en la sección 2.3. A continuación se muestran y discuten los resultados para cada uno de los compuestos estudiados.

Como en otros trabajos [Bokare, V et al (2010)], [Chen, Z et al (2010)], [Ferrer, I et al (2004)], se ha usado en modo negativo, que detectan iones negativos, esto es que la molécula pierde un protón.

Además usamos la columna C18, utilizada en fase reversa, que consiste en una fase estacionaria apolar y una fase móvil de polaridad moderada, como el triclosán en bastante polar, sale de la columna más rápidamente que los compuestos apolares; que se quedan retenidos en la columna. [Miao, H.H., Wang, Y.N.,(2014)]

En cuanto a las fases móviles, hemos usado ácido fórmico y agua porque son los estándares, tal y como han hecho otros autores. [Sirés, I., et al (2007)]

Hemos usado tiempo de vuelo, que es alta resolución, esto nos permite obtener 4 cifras decimales.

Tabla 9. Datos principales de los compuestos estudiados

Compuesto	Tiempo retención (min)	m/z Teórica	Ion detectado	Composicion elemental
Triclosán	11.063	286.9439	[M-H] ⁻	C ₁₂ H ₆ Cl ₃ O ₂
Triclocarbán	11.13	312.9708	[M-H] ⁻	C ₁₃ H ₈ Cl ₃ N ₂ O

Los compuestos salen casi al mismo tiempo, a los 11 min, esto es porque tienen una polaridad muy parecida como vemos en estudios anteriores [Chen, Z., et al (2012)].

Para la identificación de los compuestos, se observó el tiempo de retención y el valor de m/z de cada uno; en nuestro caso tomamos los datos de la **Tabla 9**.

El cromatograma total (**Figuras 5a y 6a**) representa la intensidad, a través de todo el rango de masa, que se están detectando en cada punto del análisis para cada compuesto que hubiese en la muestra inicial.

Con el valor m/z característico de los compuestos estudiados, identificamos cada uno de ellos en el cromatograma total y vemos su tiempo de retención, que nos servirá para analizar la degradación de los compuestos.

El cromatograma extraído (**Figuras 5b y 6b**) nos muestra uno o más valores de m/z que representan uno o más analitos de interés y se recupera del conjunto completo de datos para una serie cromatográfica. Podemos verificar la masa/carga de cada uno de los dos compuestos y la composición elemental que corresponde a la del triclosán y triclocarban, con lo cual se confirma la identificación de su presencia en cada análisis de forma inequívoca.

Observamos, en las **figuras 5c y 6c**, los espectros de masas correspondientes al triclosán y triclocarbán a 11,074 y 11.197 min respectivamente.

Hasta ahora sólo habíamos visto técnicas cualitativas que nos han servido para identificar los compuestos, a partir de aquí lo que necesitamos es cuantificarlos, para ello medimos el área de pico de los compuestos según vemos en la **figura 5c y 6c**.

Para medir el área de pico usamos el método de integración electrónica que es el más utilizado, éste método digitaliza la señal analógica proporcionada por el detector, detecta el comienzo y el final de cada pico cromatográfico, integra digitalmente el área bajo la curva y corrige automáticamente la línea de base.

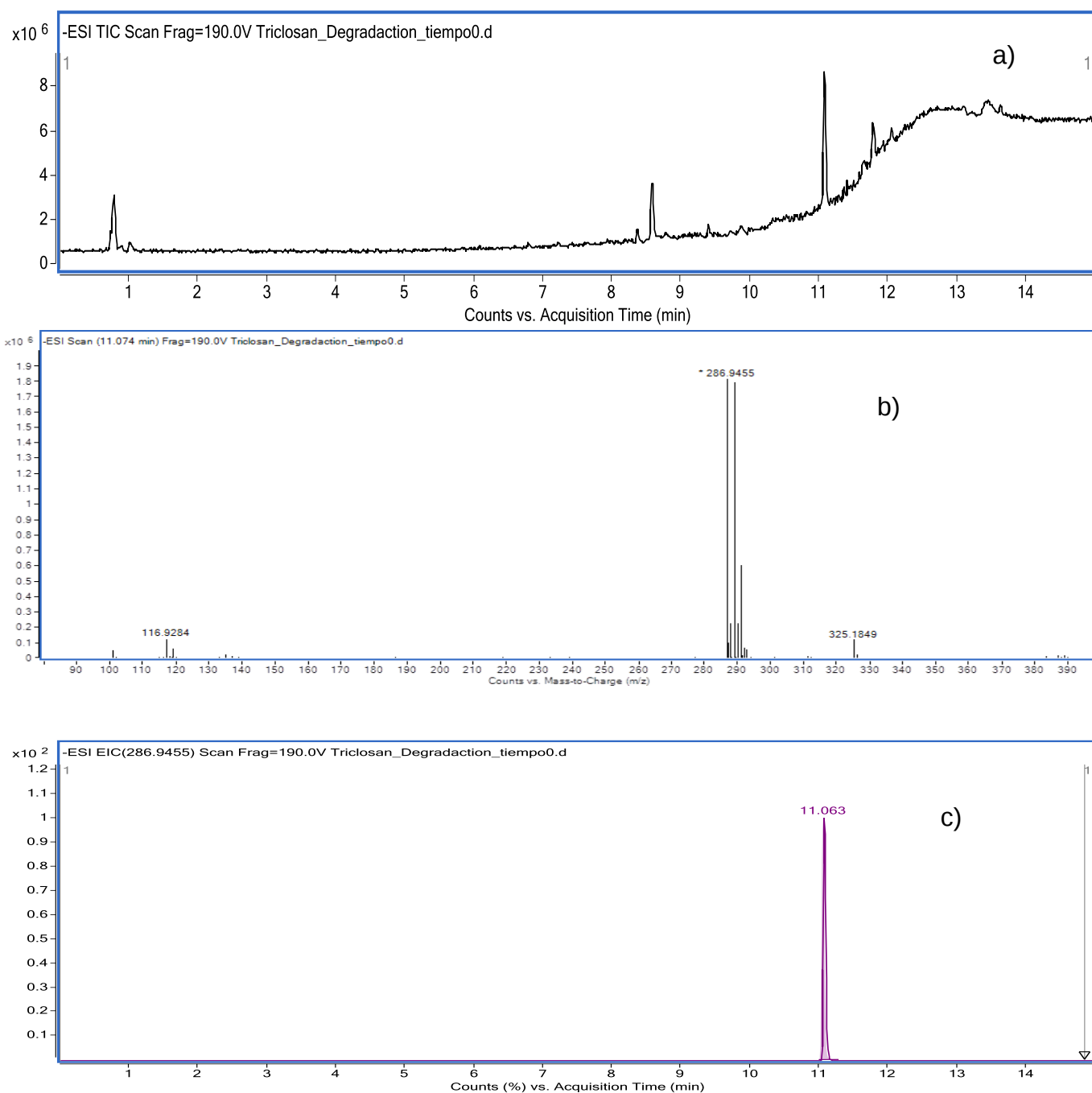


Figura 5. a) Cromatograma total de iones del Triclosan a tiempo 0; b) Cromatograma de iones extraído de la masa del Triclosán ($m/z= 289,54$ g/mol); c) Espectro de masas del Triclosán a un tiempo de retención de 11,074 minutos.

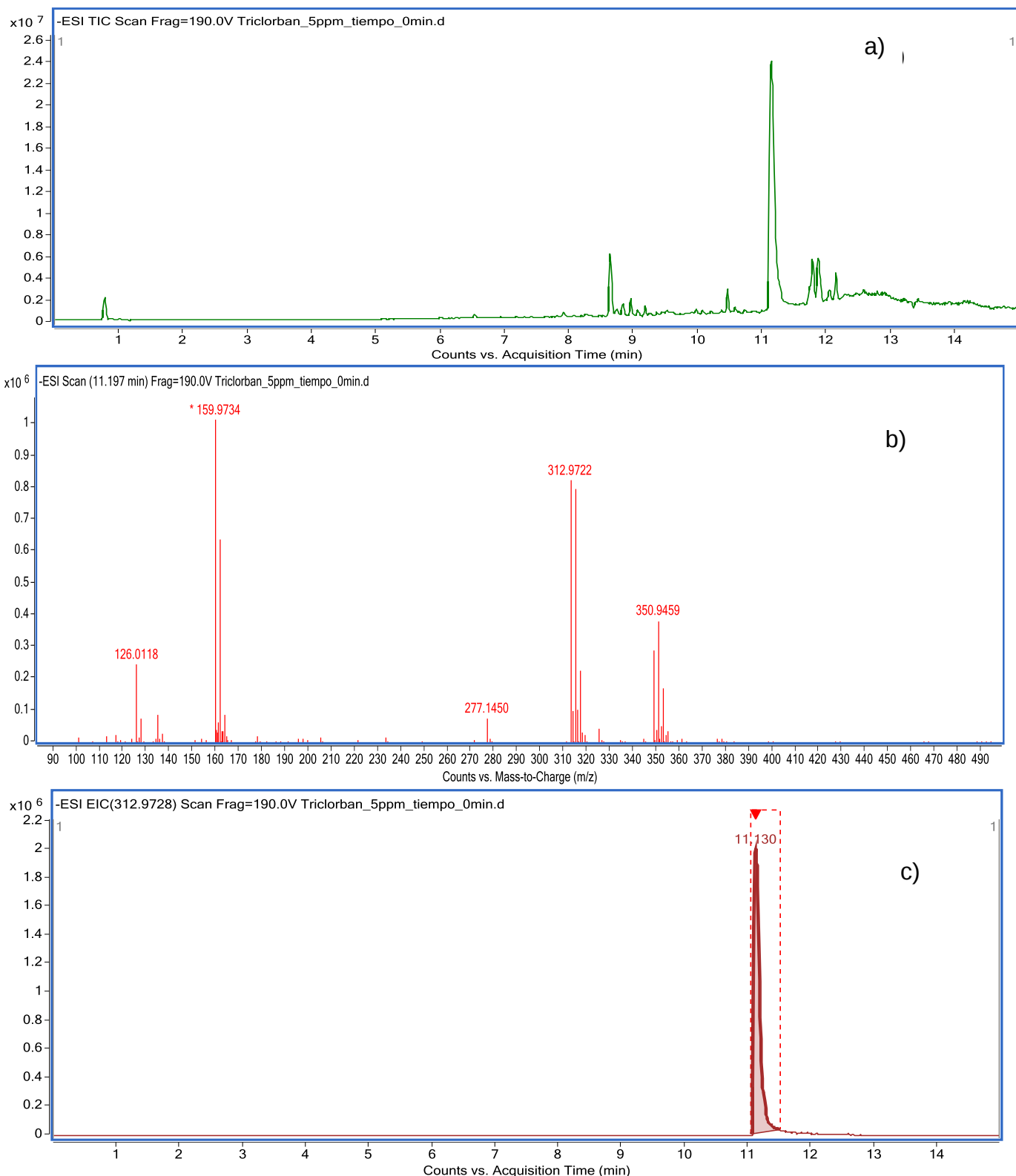


Figura 6. a) Cromatograma total de iones del Triclorobán a tiempo 0; b) Cromatograma de iones extraído de la masa del Triclorobán ($m/z = 315,58$ g/mol); c) Espectro de masas del Triclorobán a un tiempo de retención de 11,197 minutos.

3.2. Degradación UV

Con los datos de área de pico de cada compuesto a cada uno de los tiempos en los que hicimos medida, realizamos un gráfico en el que vemos la degradación de los compuestos estudiados.

3.2.1. Triclosán.

Podemos ver la degradación del Triclosán en la **Figura 7**, en la **Figura 7 a)** se representan las áreas de pico del compuesto con respecto al tiempo de exposición a radiación UV, en la **Figura 7 b)** se representan las áreas de pico a diferentes tiempos de exposición UV con respecto al tiempo de retención de la sustancia, que en este caso es Triclosán= 11.063 minutos.

En esta **figura 7 a)** vemos como a medida que va pasando el tiempo, aumenta la degradación, esto es, el área de pico es cada vez menor. Podemos observar como en los primeros 5 minutos el triclosán está degradado aproximadamente al 50%, y a los 10 min está degradado casi por completo. Esto nos indica que el la radiación UV es muy eficaz para la degradación de Triclosán.

En la **Figura 7 b)** podemos observar el cromatograma superpuesto del Triclosán de masa 286.9439, a un tiempo de retención de 11.063 minutos. En ella podemos ver la degradación del Triclosán conforme pasa el tiempo de exposición a luz UV.

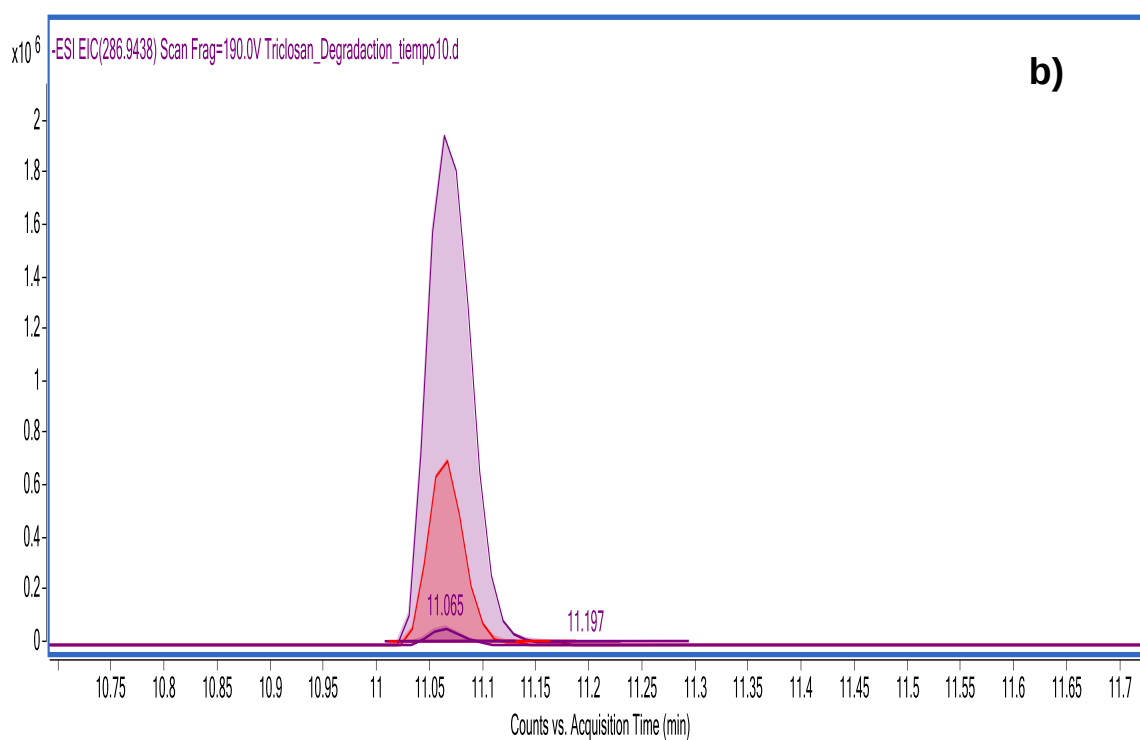
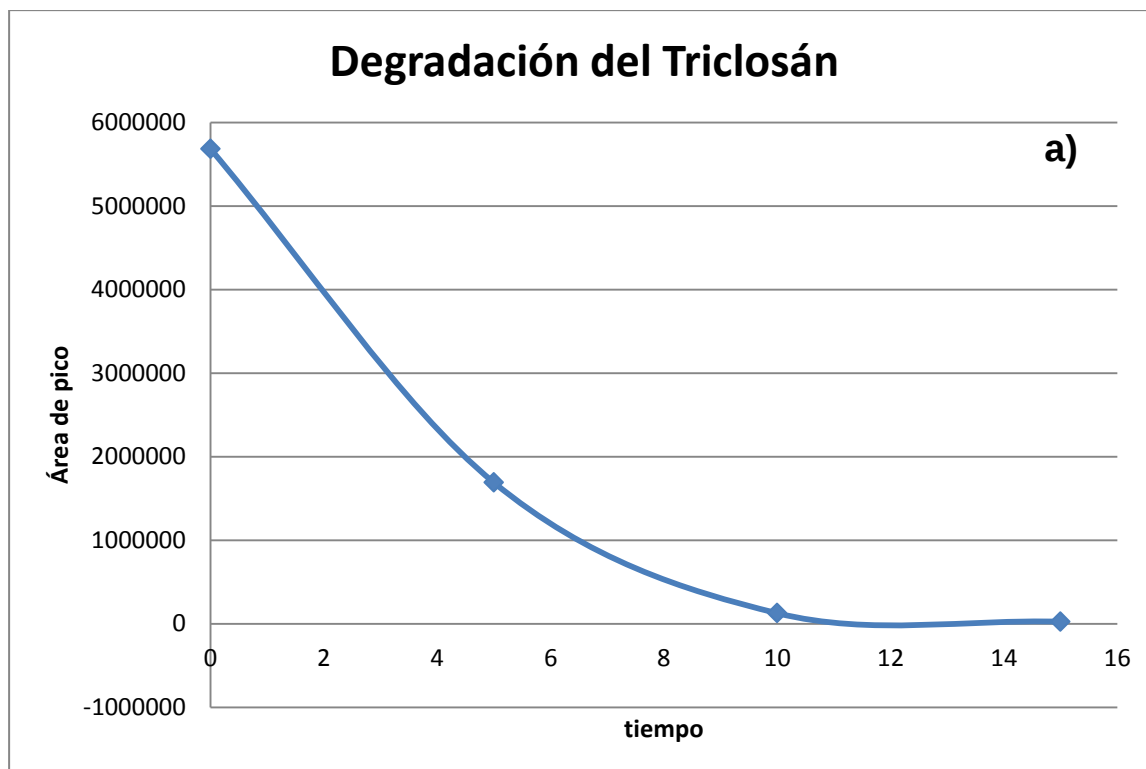


Figura 7. a) Degradación del Triclosán respecto al tiempo
b) EIC superpuestos de Triclosán ($m/z = 286.9439$) a diferentes tiempos de exposición UV en la que se observa la degradación del Triclosán

3.2.2. Triclocarbán.

Podemos ver la degradación del Triclocarbán en la **Figura 8**; en la **Figura 8 a)** se representan las áreas de pico del compuesto con respecto al tiempo de exposición a radiación UV, en la **Figura 8 b)** se representan las áreas de pico a diferentes tiempos de exposición UV con respecto al tiempo de retención de la sustancia, que en este caso es Triclocarbán= 11.13 minutos.

Podemos ver (**Figura 8 a)**) que el triclocarbán no se degrada con tanta facilidad como el triclosán, pues a los 5 min de exposición a radiación ultravioleta sólo se ha degradado un 10% del compuesto. En los primeros 40 min tiene un descenso del área de pico más fuerte, a partir de este momento el descenso del área de pico es más suave. No es hasta el minuto 120 aproximadamente en el que la degradación alcanza el 50%. A los 240 min el compuesto se ha degradado completamente.

En la **Figura 8 b)** podemos observar el cromatograma superpuesto del Triclocarbán de masa 312.9708, a un tiempo de retención de 11.13 minutos. En ella podemos ver la degradación del Triclocarbán conforme pasa el tiempo de exposición a luz UV.

Por tanto podemos verificar que la degradación mediante exposición del compuesto a radiación ultravioleta, es una tecnología bastante eficaz con los compuestos Triclosán y Triclocarbán, especialmente con el triclosán ya que en 10 min escasos de exposición del triclosán a radiación ultravioleta, se produce la completa degradación del compuesto.

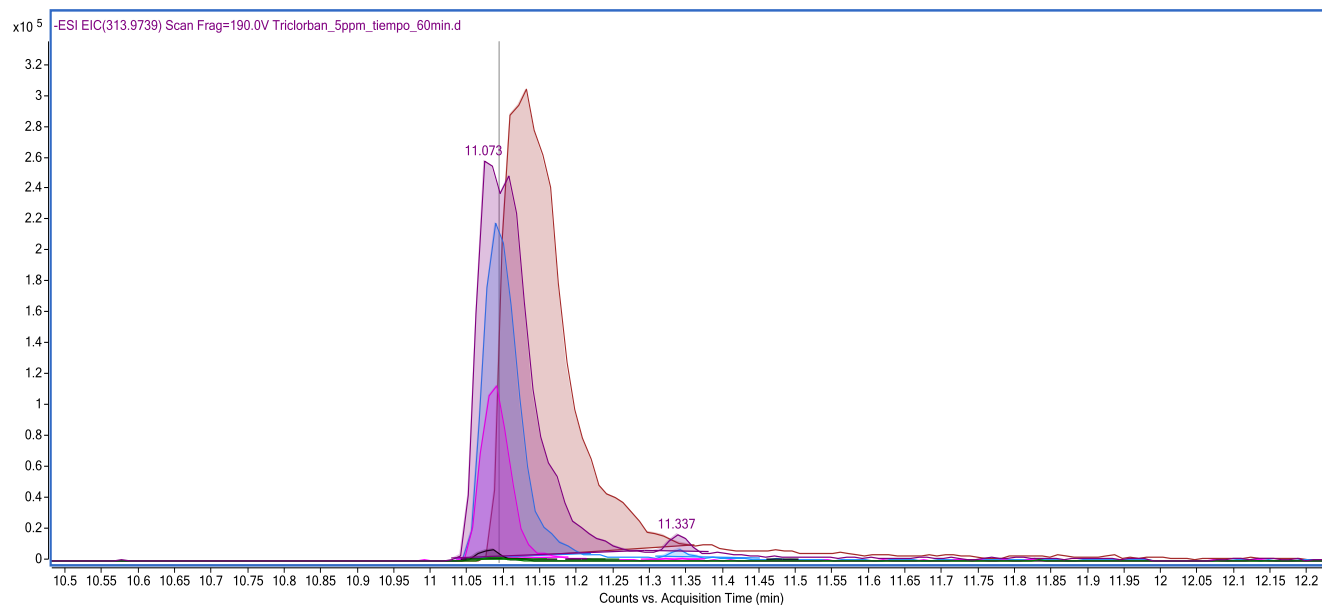
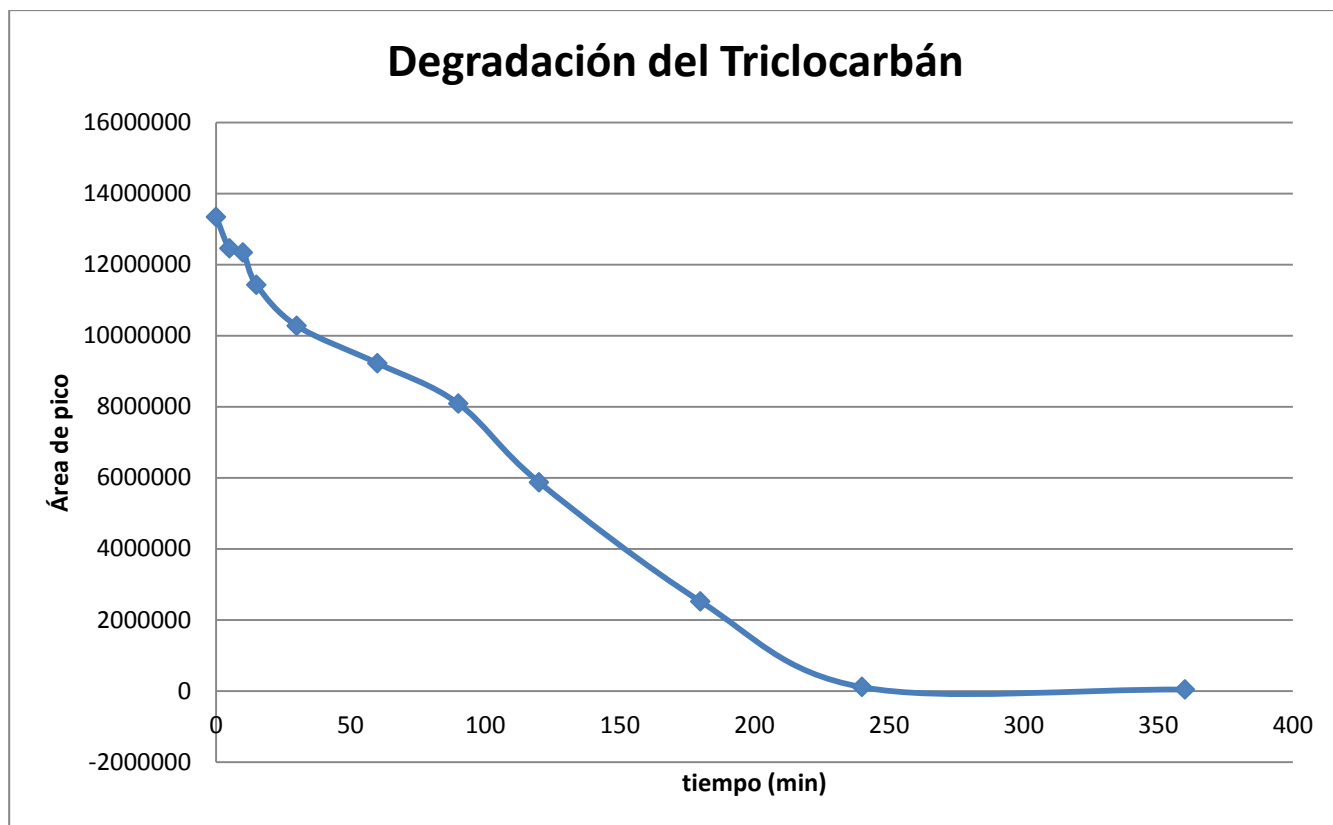


Figura 8. a) Degradación del Triclocarbán respecto al tiempo; b) EIC superpuestos de Triclocarbán ($m/z=312.9708$) a diferentes tiempos de exposición UV en la que se observa la degradación del Triclocarbán.

3.3. Identificación de los productos de transformación (durante la radiación UV)

Para la identificación de los PDs hay que ir observando cómo varían los cromatogramas totales de iones, qué picos aparecen en los diferentes tiempos de toma de muestra y su evolución a lo largo del tiempo.

En la **Figura 9** podemos ver un ejemplo de ello, se muestra t=0 en verde y t=30 minutos en rojo. Se puede observar que el pico de triclocarbán se reduce ligeramente, mientras que se pueden observar la aparición de nuevos picos en el cromatograma rojo indicando la formación de productos de transformación.

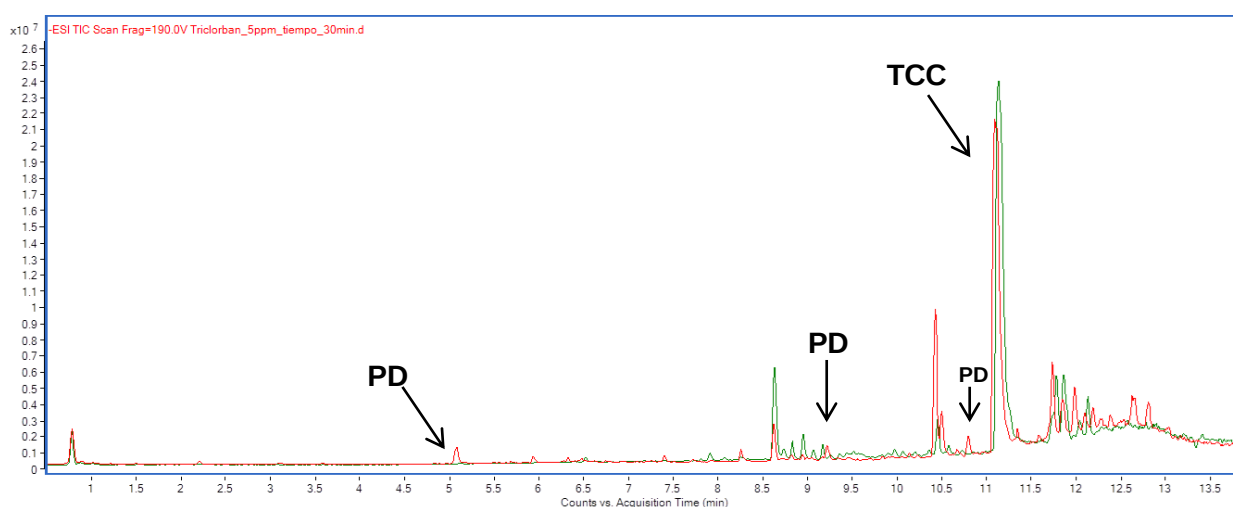


Figura 9. Cromatogramas totales de iones superpuestos del experimento de degradación del Triclocarbán.

3.3.1. Triclosán

El análisis de los productos de degradación (PDs) del Triclosán mediante LC-TOFMS, permitió la identificación de los PDs tal y como se observa en la **Tabla 10**, donde se muestran los tiempos de retención, la composición elemental de los PDs, las masa/carga teórica y las estructuras propuestas. Se han encontrado 12 Productos de Transformación para el compuesto del Triclosán, y se han ordenado según su tiempo de retención.

Tabla 10. Productos generados durante la exposición del triclosán a radiación ultravioleta.

PDs	t _R (min)	Composición elemental (M)	m/z teórico
TRICLOSÁN		C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂	286.9439
PD1	5.017	C ₁₂ H ₁₀ O ₄	217.0506
PD2	6.460	C ₁₂ H ₈ O ₄	215.0350
PD3	7.253	C ₁₂ H ₉ ClO ₄	251.0117
PD4	7.496	C ₁₂ H ₇ ClO ₄	248.9960
PD5	7.628	C ₁₂ H ₉ ClO ₃	235.0167
PD6	7.716	C ₁₂ H ₉ ClO ₃	235.0167
PD7	7.815	C ₁₂ H ₇ ClO ₄	248.9960
PD8	7.936	C ₁₂ H ₉ ClO ₄	251.0117
PD9	8.068	C ₁₂ H ₉ ClO ₃	235.0167
PD10	8.477	C ₁₁ H ₆ Cl ₂ O ₂	238.9672
PD11	9.842	C ₁₂ H ₈ Cl ₂ O ₂	252.9829
PD12	9.852	C ₁₃ H ₈ Cl ₂ O ₄	296.9727

Estudio de identificación de los **PDs** a través de los cromatogramas extraídos de cada una de las masas de todos los productos de transformación y las curvas de degradación de los mismos.

A modo de ejemplo podemos ver el cromatograma extraído de la masa del PD5, PD6 y PD9, siendo el de mayor intensidad correspondiente al PD6 (**Figura 10**); en el que se muestra el tiempo de retención del compuesto frente a la señal que da el PD6. Podemos ver como el PD6 de masa 235.0167 tiene un tiempo de retención de 7.716 minutos. Gracias a esto podemos identificar el compuesto y saber con certeza el tiempo que queda retenido en la columna.

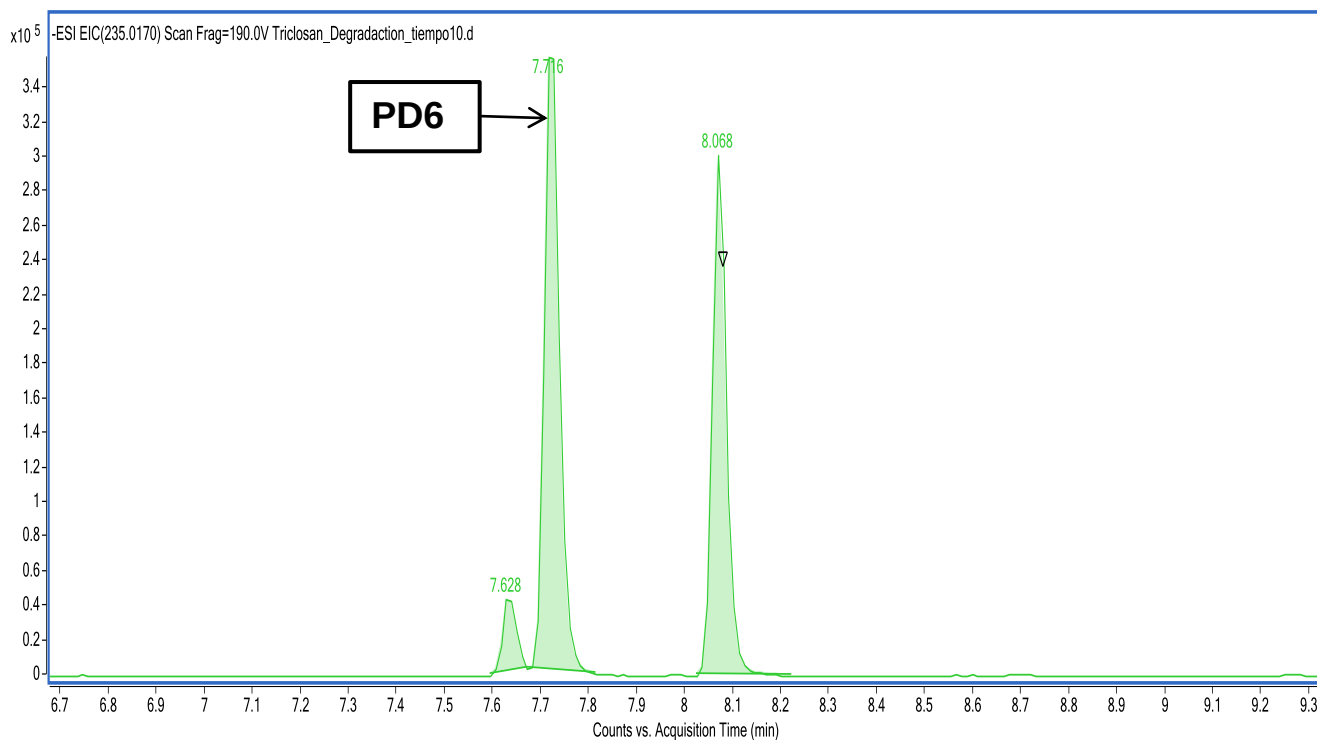


Figura 10. a) Cromatograma extraído de iones en el que aparecen los PDs de masa 235.0167 a diferentes tiempos de retención

Por su parte en las curvas de degradación, (**Figura 11**) se representan los tiempos de exposición UV frente al área de pico de cada uno de los productos de transformación, en ellas vemos cómo evoluciona la sustancia a lo largo del tiempo.

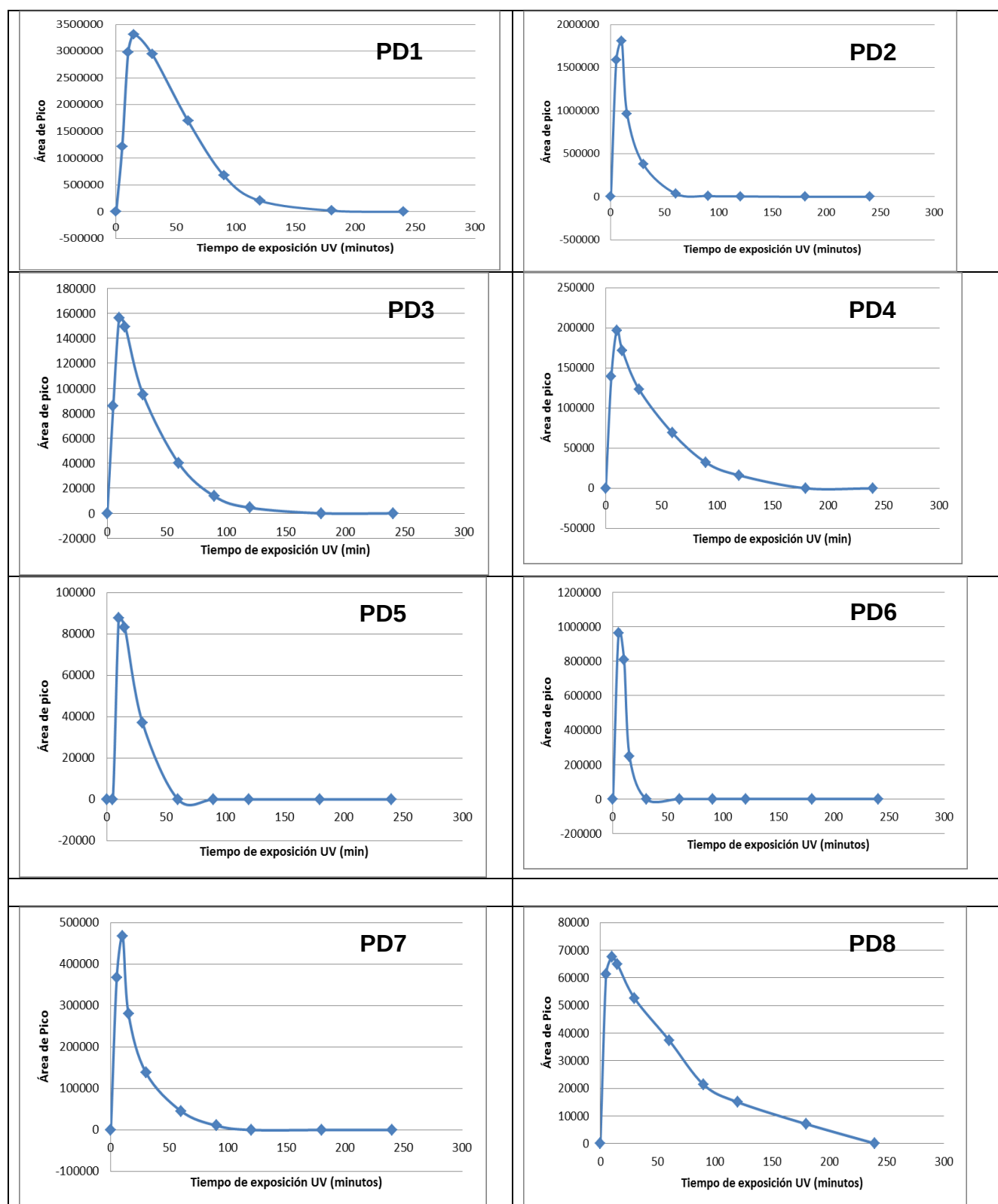


Figura 11. Curva degradación de los 12 Productos de transformación generados en el proceso de exposición del Triclosán a radiación UV.

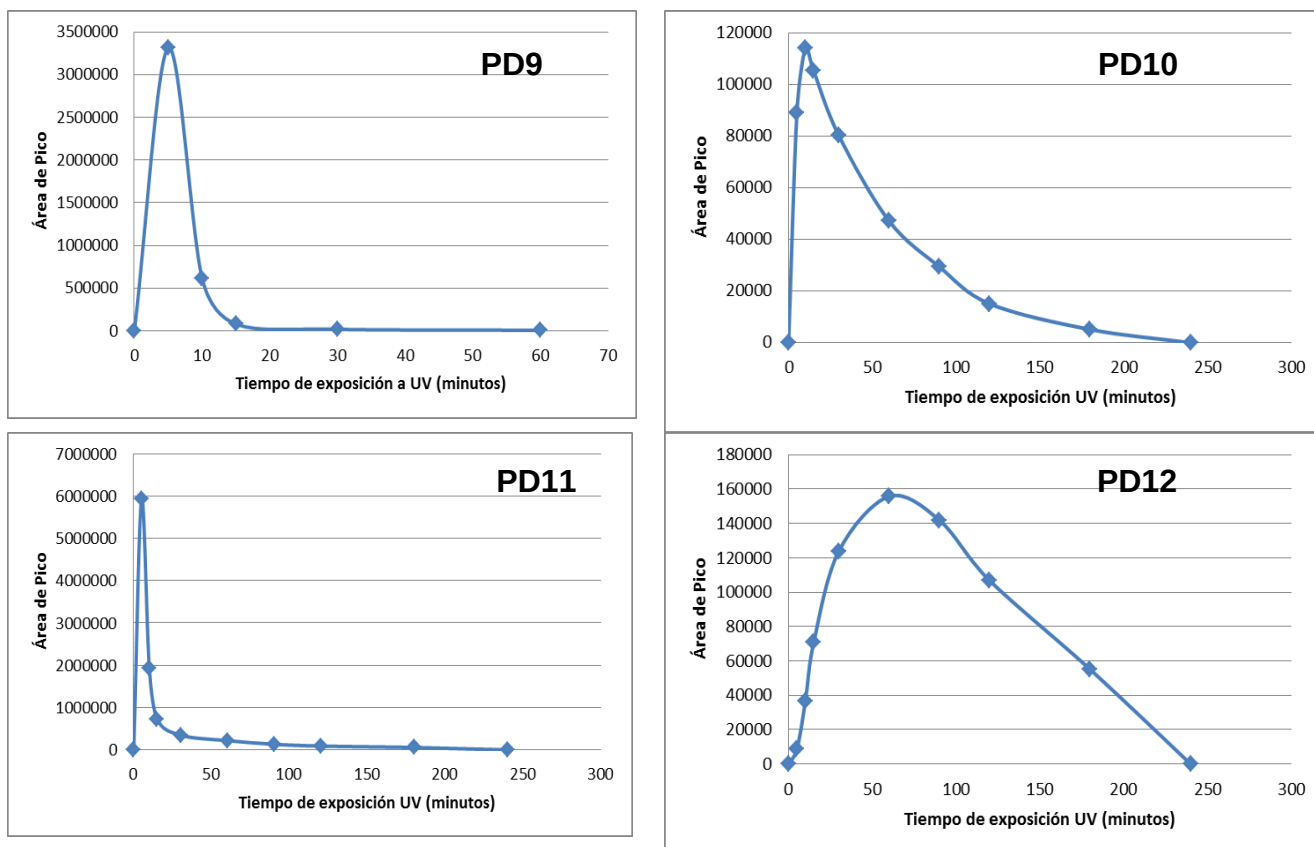


Figura 11. Curva degradación de los 12 Productos de transformación generados en el proceso de exposición del Triclosán a radiación UV (continuación).

Todos los PDs tienen en común varias cosas; a tiempo 0 su área de pico es mínima, después alcanzan un pico máximo y por último se degradan. Aunque algunos tarden más tiempo que otros en realizar estos tres pasos.

Algunos como el PD11 tienen una formación y una degradación muy rápida, es decir, se forma en los primeros minutos de exposición a radiación UV y se degrada antes de alcanzar los 20 minutos de exposición.

Sin embargo el PD12, se forma más lentamente que el resto de los productos y además se va degradando muy despacio de tal forma que hasta los 240 minutos de exposición a radiación UV no alcanza su mínimo valor.

3.3.2. Triclocarbán

El análisis de los productos de degradación (PDs) del Triclocarbán mediante LC-TOFMS, permitió la identificación de los PDs tal y como se observa en la **Tabla 11**, donde se muestran los tiempos de retención, la composición elemental de los PDs, las masa/carga teórica y las estructuras propuestas. En el caso del Triclocarbán, se han encontrado 25 productos de transformación resultado de la exposición del Triclocarbán a radiación UV. Estos PDs se han ordenado según su tiempo de retención.

Tabla 11. Productos generados durante la exposición del triclocarbán a radiación ultravioleta.

PDs	t _R (min)	Composición elemental (M)	m/z teórica	m/z experimental
TRICLOCARBÁN		C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O	313.98	
PD1	8.27	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₂ O ₂	261.0436	261.0440
PD2	8.34	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₂ O ₂	261.0436	261.0440
PD3	8.5	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₂ O ₂	261.0436	261.0440
PD4	8.56	C ₁₃ H ₁₀ ClN ₂ O ₂	261.0436	261.0440
PD5	8.99	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	295.0047	295.0045
PD6	9.19	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	295.0047	295.0045
PD7	9.45	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	295.0047	295.0045
PD8	9.66	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O ₂	328.9657	328.9655
PD9	9.84	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O ₂	328.9657	328.9655
PD10	9.90	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O ₂	328.9657	328.9655
PD11	10.066	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O ₂	328.9657	328.9655
PD12	10.13	C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O ₂	295.0047	295.0045
PD13	10.23	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₃ NO ₂	307.0047	307.0044
PD14	10.3	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₃ NO ₂	307.0047	307.0044

PD15	10.419	$C_{13}H_{10}Cl_2N_2O$	279.0097	279.0104
PD16	10.496	$C_{13}H_{10}Cl_2N_2O$	279.0097	279.0104
PD17	10.66	$C_{13}H_9Cl_3N_2O_2$	328.9657	328.9655
PD18	10.8	$C_{13}H_9Cl_3N_2O_2$	328.9657	328.9655
PD19	11.344	$C_{13}H_8Cl_2N_2O$	276.9941	276.9945
PD20	11.57	$C_{13}H_{18}Cl_3NO_7$	404.0076	404.0111
PD21	11.7	$C_{13}H_8Cl_4N_2O$	346.9318	346.9321
PD22	11.774	$C_{13}H_{18}Cl_3NO_7$	404.0076	404.0111
PD23	11.85	$C_{13}H_8Cl_4N_2O$	346.9318	346.9321
PD24	11.98	$C_{13}H_8Cl_4N_2O$	346.9318	346.9321
PD25	12.1	$C_{13}H_8Cl_4N_2O$	346.9318	346.9321

Estudio de identificación de los **PDs** a través de los Cromatogramas extraídos de cada una de las masas de todos los productos de transformación y las curvas de degradación de los mismos.

A modo de ejemplo podemos ver el cromatograma extraído de la masa del PD8, PD9, PD10, PD11, PD17 Y PD18 siendo el de mayor intensidad correspondiente al PD18 (**Figura 12 a**); en el que se muestra el tiempo de retención del compuesto frente a la señal que da el PD18. Podemos ver como el PD18 de masa 328.9657 tiene un tiempo de retención de 10.8 minutos. Gracias a esto podemos identificar el compuesto y saber con certeza el tiempo que queda retenido en la columna. En la **Figura 12 b**) podemos observar el espectro del PD18, extraído a un tiempo de retención de 10.8 minutos.

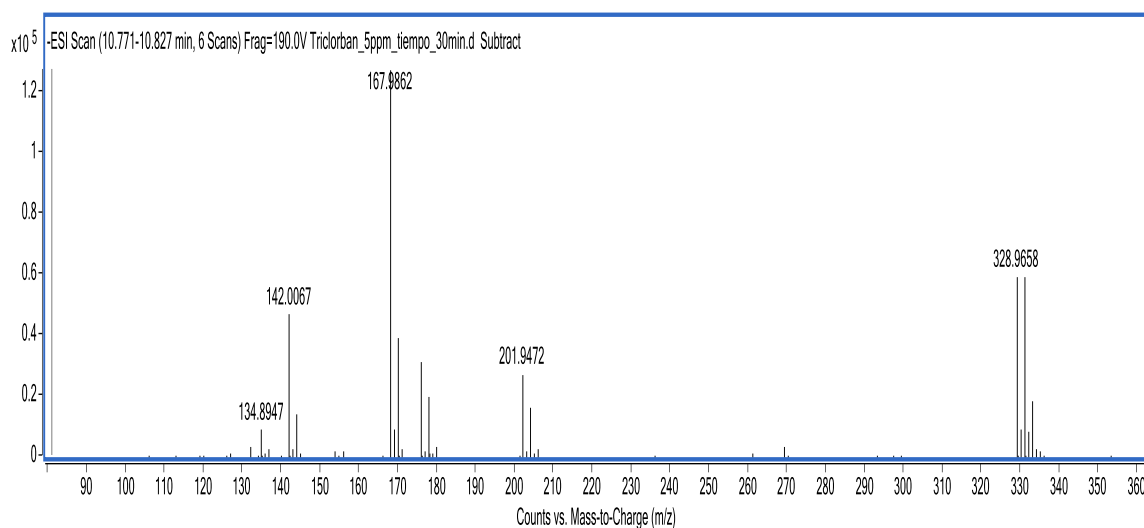
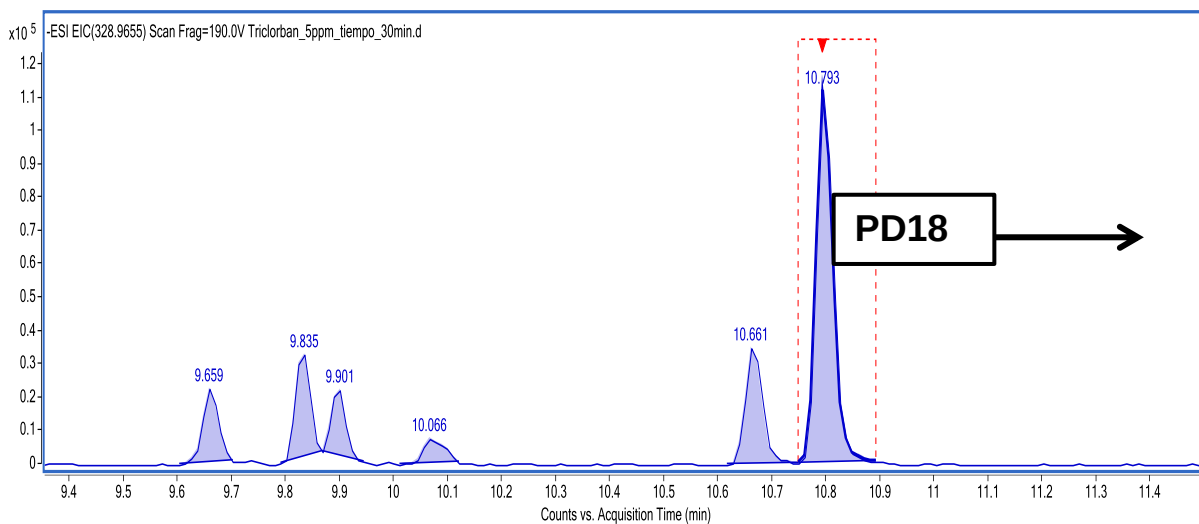


Figura 12. a) Cromatograma extraído de iones en el que aparecen los PDs de masa 328.9657 a diferentes tiempos de retención; b) Espectro MS del PD18, extraído a un tiempo de retención de 1.41 minutos, con una masa/carga de 328.9657.

Por su parte en las curvas de degradación, (**Figura 13**) se representan los tiempos de exposición UV frente al área de pico de cada uno de los productos de transformación, en ellas vemos cómo evoluciona la sustancia a lo largo del tiempo.

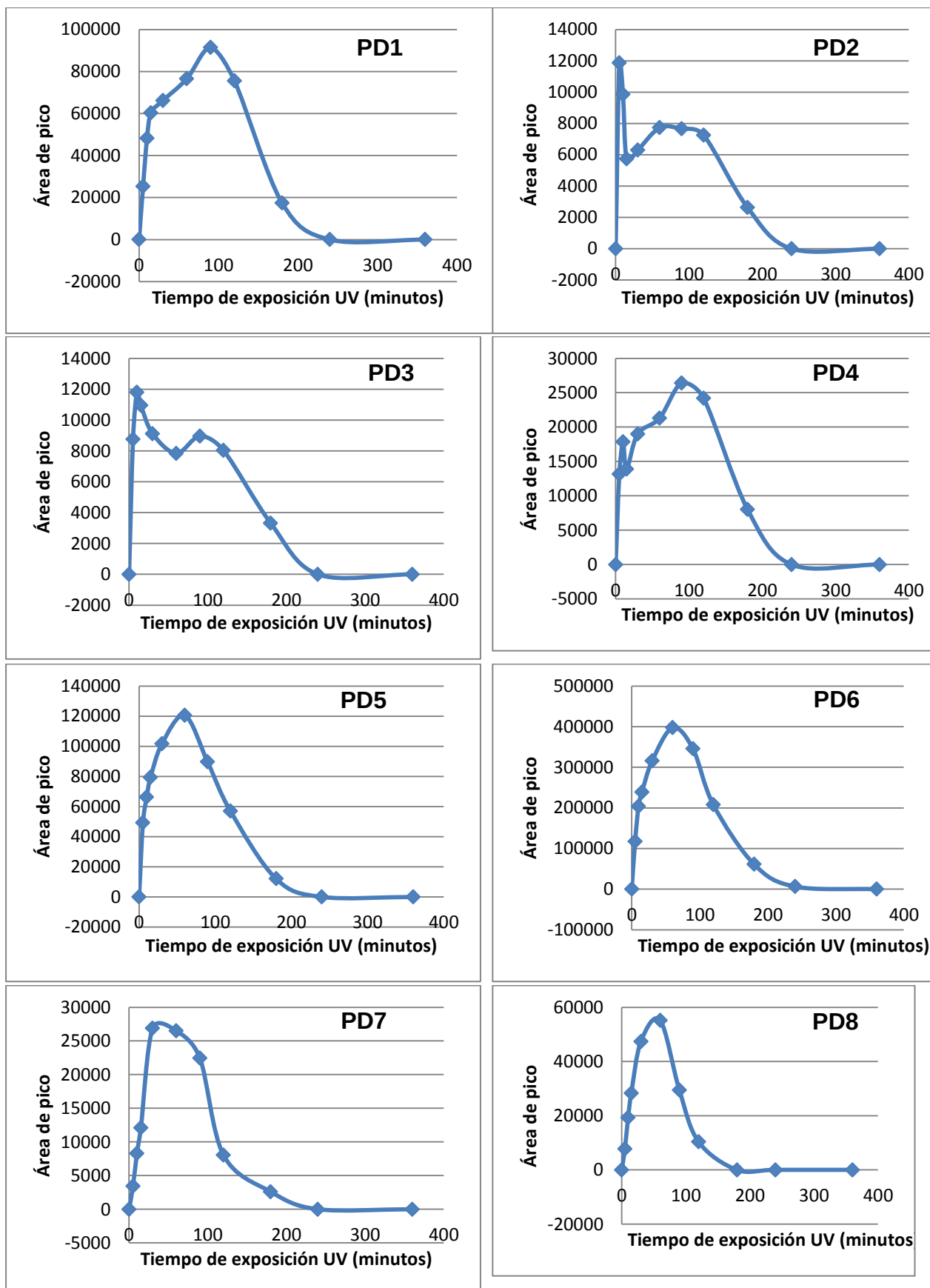


Figura 13. Curva degradación de los 25 productos de transformación generados en el proceso de exposición del Triclocarbán a radiación UV.

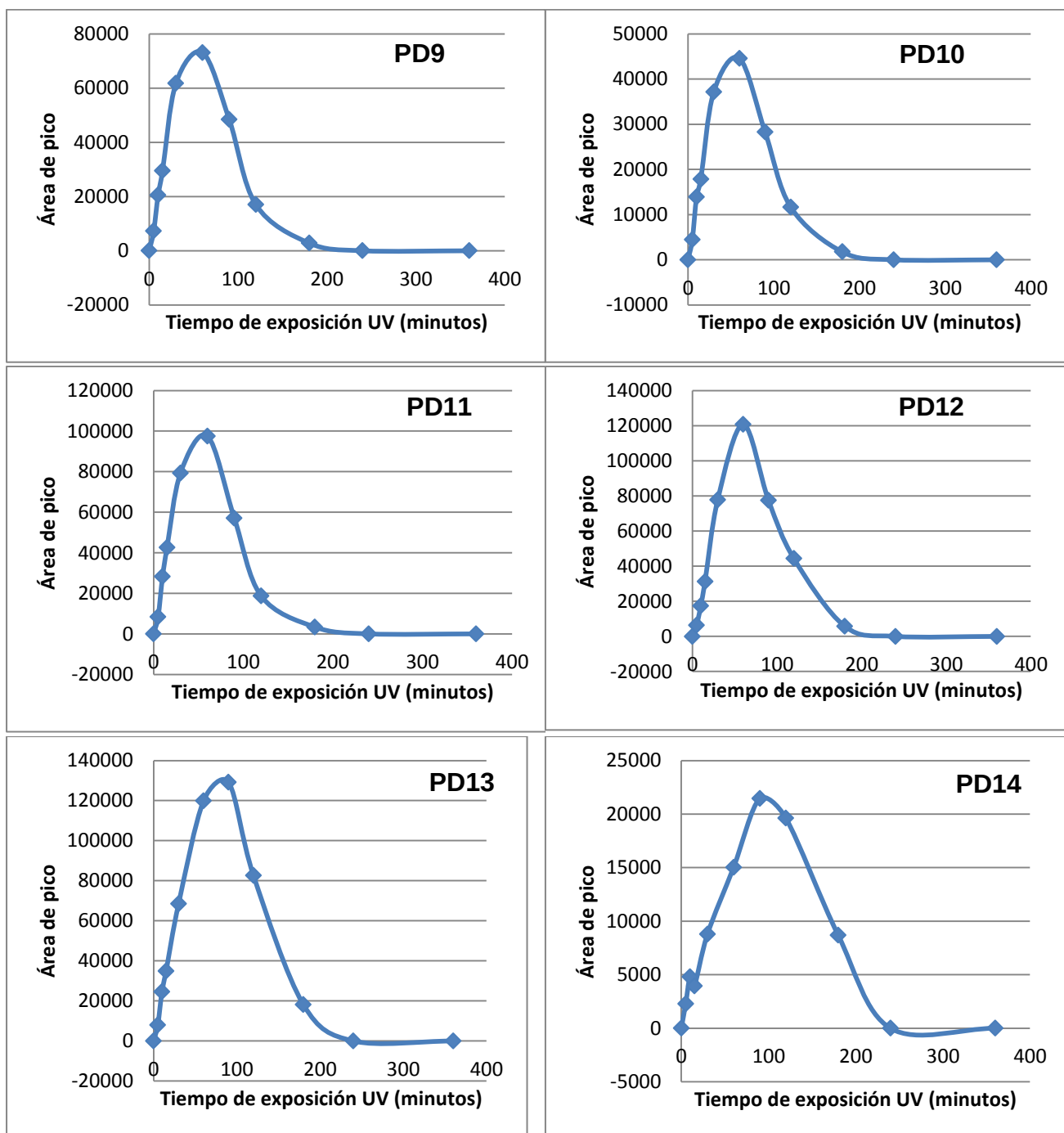


Figura 13. Curva degradación de los 25 productos de transformación generados en el proceso de exposición del Triclocarbán a radiación UV (continuación).

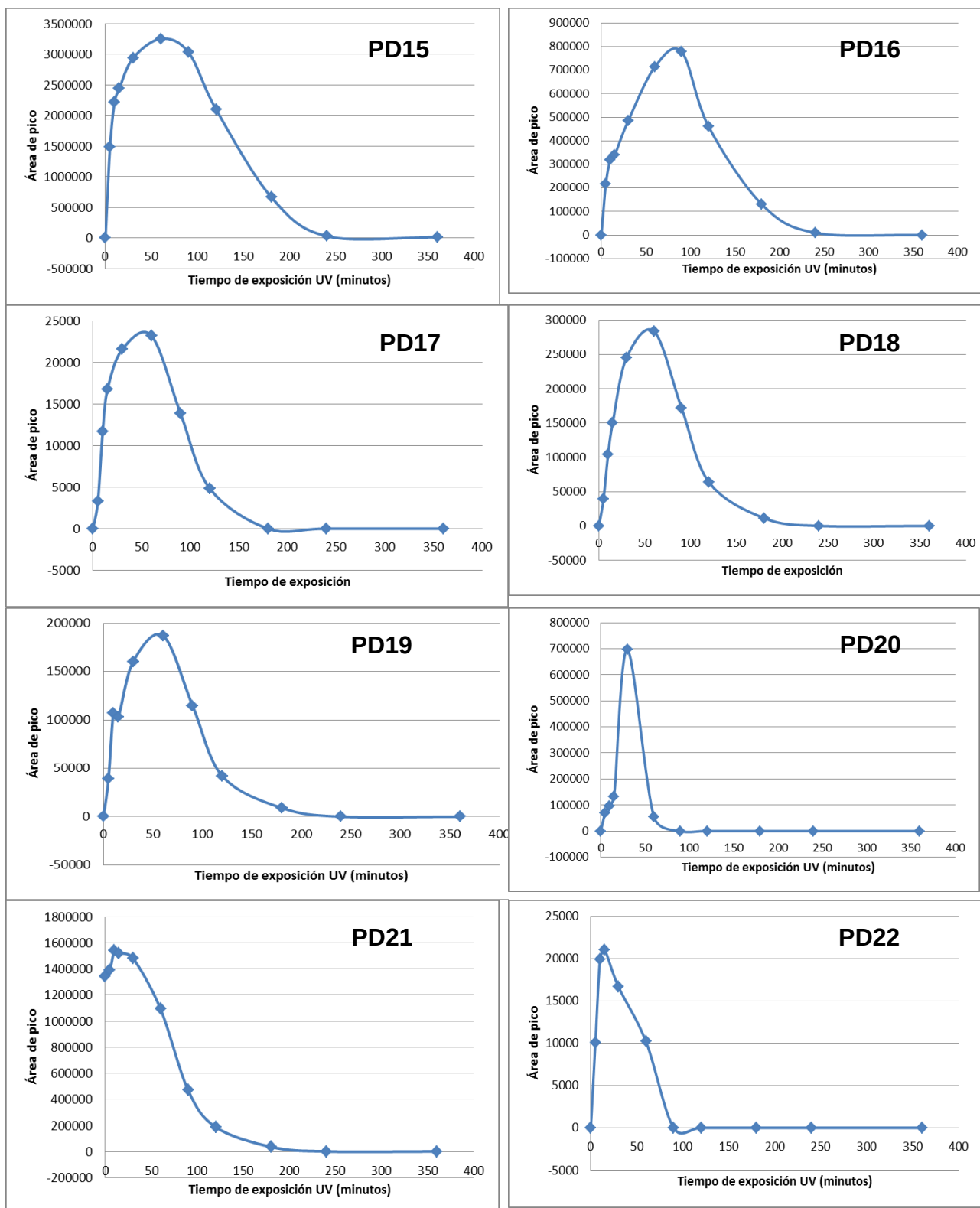


Figura 13. Curva degradación de los 25 productos de transformación generados en el proceso de exposición del Triclocarbán a radiación UV (continuación).

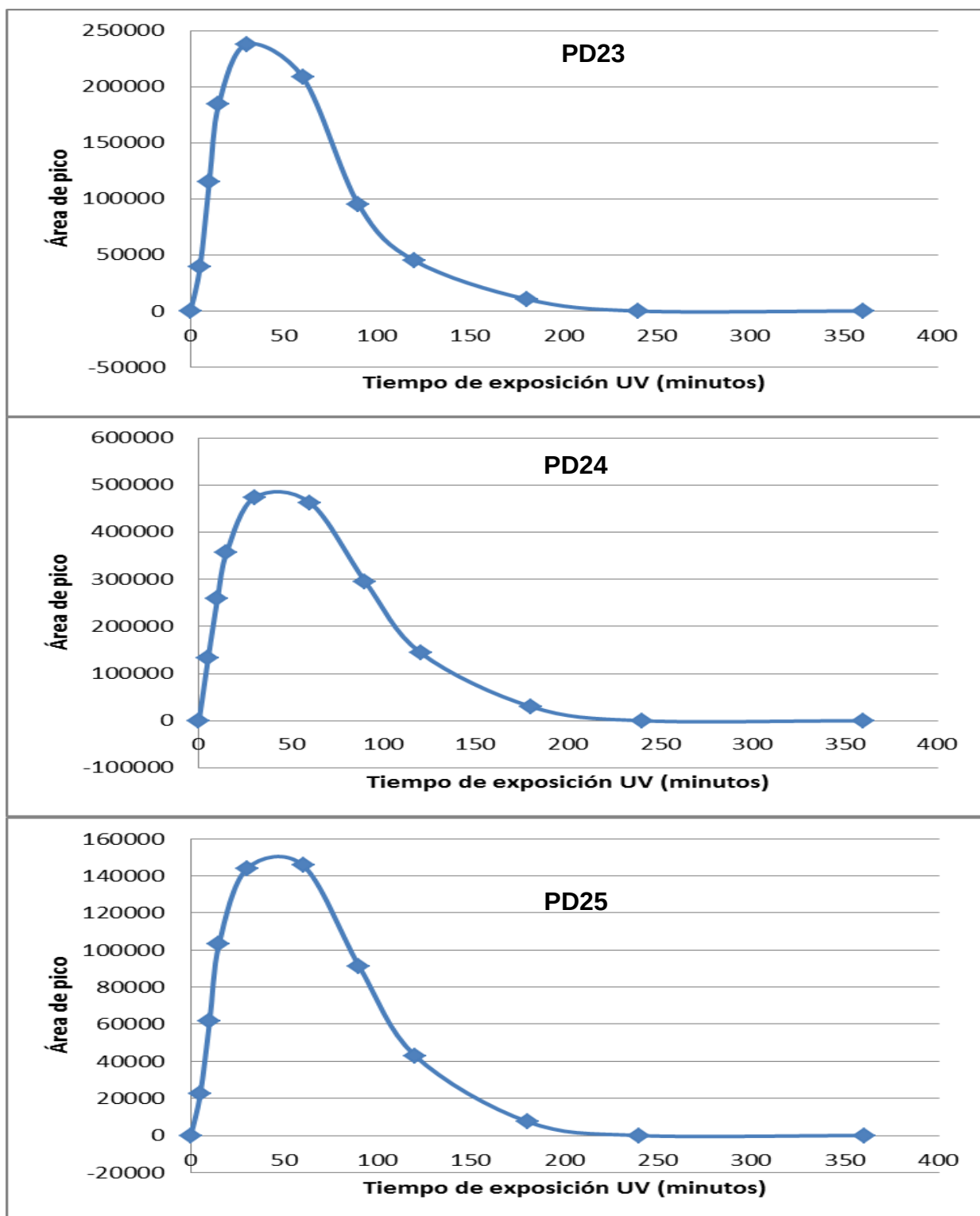


Figura 13. Curva degradación de los 25 productos de transformación generados en el proceso de exposición del Triclocarbán a radiación UV (continuación).

4. CONCLUSIONES

En este estudio, se ha examinado la fotodegradación de los antimicrobianos Triclosán y Triclocarbán en sistemas acuosos.

Los resultados muestran que la radiación ultravioleta es muy eficaz para la fotodegradación de ambos compuestos, siendo mayor la eficacia para el triclosán.

A los 11 minutos de exposición a la radiación UV vemos que el triclosán se degrada completamente mientras que el triclocarbán lo hace a los 250 minutos; esto nos demuestra que el triclocarbán es mucho más persistente en el medio ambiente que el triclosán pero acaba degradándose por completo y relativamente pronto, por tanto no debería ser peligroso para el medio ambiente.

Se identificaron varios productos de degradación formados a partir de la exposición de los antimicrobianos a radiación UV, 12 para el triclosán y 25 para el triclocarbán tales como $C_{12}H_9ClO_3$ y $C_{13}H_{10}ClN_2O_2$ identificados por HPLC-MS.

Casi todos los productos de transformación se forman y se degradan muy rápidamente; degradaciones desde los 15 minutos hasta los 250 minutos de los productos de transformación del triclosán y desde los 90 minutos a los 250 minutos que tardan en degradarse los productos de transformación del triclocarbán, por lo que tampoco serían perjudiciales para el medio ambiente estos productos de transformación aunque sean muchos. Por lo tanto vemos como a pesar de haber concentraciones más o menos altas de estos antimicrobianos en el medio ambiente, debemos estar tranquilos de que tratándolos con radiación UV podemos eliminarlos completamente.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Agüera, A., Fernandez-Alba, A.R., Piedra, L., Mezcuca, M., & Gómez, M.J. (2003). Evaluation of triclosan and biphenylol in marine sediments and urban wastewaters by pressurized liquid extraction and solid phase extraction followed by gas chromatography mass spectrometry and liquid chromatography mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 480(2), 193-205.
- Aranami, K., & Readman, J. W. (2007). Photolytic degradation of triclosan in freshwater and seawater. *Chemosphere*, 66(6), 1052-1056.
- Baranowska, I., Magiera, S., & Bortniczuk, K. (2010). Reverse-phase HPLC method for the simultaneous analysis of triclosan and triclocarban in surface waters. *Water Science and Technology: Water Supply*, 10(2), 173-180.
- Bokare, V., Murugesan, K., Kim, Y. -, Jeon, J. -, Kim, E. -, & Chang, Y. S. (2010). Degradation of triclosan by an integrated nano-bio redox process. *Bioresource Technology*, 101(16), 6354-6360.
- Brausch, J.M., & Rand, G.M. (2011). A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere* 82(11), 1518-1532.
- Buth, J.M., Ross, M.R., McNeill, K., & Arnold, W.A. (2011). Reprint of: Removal and formation of chlorinated triclosan derivatives in wastewater treatment plants using chlorine and UV disinfection. *Chemosphere*, 85(2), 284-289.
- Canosa, P., Morales, S., Rodríguez, I., Rubí, E., Cela, R., & Gómez, M. (2005). Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383(7-8), 1119-1126.
- Canosa, P., Rodriguez, I., Rubí, E., & Cela, R. (2005). Optimization of solid-phase microextraction conditions for the determination of triclosan and posible related compounds in water samples. *Journal of Chromatography*, 1072(1), 107-115.
- Carmona, E., Andreu, V., & Picó, Y. (2014). Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in turia river basin: From waste to drinking water. *Science of the Total Environment*, 484(1), 53-63.
- Chen, X., Richard, J., Liu, Y., Dopp, E., Tuerk, J., & Bester, K. (2012). Ozonation products of triclosan in advanced wastewater treatment. *Water Research*, 46(7), 2247-2256.
- Chen, Z., Cao, G., & Song, Q. (2010). Photo-polymerization of triclosan in aqueous solution induced by ultraviolet radiation. *Environmental Chemistry Letters*, 8(1), 33-37.
- Chen, Z., Ying, G., Lai, H., Chen, F., Su, H., Liu, Y., Peng, F., & Zhao, J. (2012). Determination of biocides in different environmental matrices by use of ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 404(10). 3175-88.
- Cheng, C., Wang, Y., Ding, W. (2011). Determination of Triclosan in Aqueous Samples Using Solid-phase Extraction Followed by On-line Derivatization Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Sciences* 27
- Conceptos fundamentales de cromatografía.

Ding, S. -, Wang, X. -, Jiang, W. -, Meng, X., Zhao, R. -, Wang, C., et al. (2013). Photodegradation of the antimicrobial triclocarban in aqueous systems under ultraviolet radiation. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5), 3195-3201.

Ferrer, I., Mezcua, M., Gómez, M. J., Thurman, E. M., Agüera, A., Hernando, M. D., et al. (2004). Liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometric analyses for the elucidation of the photodegradation products of triclosan in wastewater samples. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18(4), 443-450.

Fiss, EM., Rule KL., Vikesland PJ. (2007). Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by chlorination of triclosan-containing antibacterial products. *Environmental Science and Technology*, 41(7), 2387-94.

Fotouhi, L., Shahbaazi, H.R., Fatehi, A., & Heravi, M.M. (2010) Voltammetric determination of triclosan in waste water and personal care products. *International Journal of Electrochemical Science*, 5(9), 1390-1398.

Gangadharan Puthiya Veetil, P., Vijaya Nadaraja, A., Bhasi, A., Khan, S., & Bhaskaran, K. (2012). Degradation of triclosan under aerobic, anoxic, and anaerobic conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(6), 1603-1612.

Gao, Y., Ji, Y., Li, G., & An, T. (2014). Mechanism, kinetics and toxicity assessment of OH-initiated transformation of triclosan in aquatic environments. *Water Research*, 49, 360-370.

Gonzalez-Mariño, I., Quintana, J.B., Rodríguez, I., & Cela, R. (2009). Simultaneous determination of parabens, triclosan and triclocarban in water by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23, 1756-1766.

Guo, J.H., Li, X.H., Cao, X.L. Wang, X.Z. & Xu, X.B. (2009). Determination of triclosan, triclocarban and methyl-triclosan in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction combined with rapido liquid chromatography. *Journal of Chromatography* 1216(15), 3038-3043.

Halden, R.U. (2014). On the Need and Speed of Regulating Triclosan and Triclocarban in the United States. *Environmental Science & Technology*, 48(7), 3603-3611

Hao, Z., Parker, B., Knapp M. (2007). In vitro stability of triclosan in dentifrice under simulated use condition. *International Journal of Cosmetic Science*, 29(5), 353-9.

Jachero, L., Sepúlveda, B., Ahumada, I., Fuentes, E., & Richter, P.(2013). Rotating disk sorptive extraction of triclosan and methyl-triclosan from water samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405(24), 7711-7716.

Janet, M., Soto A., Usma J., & Gutiérrez O. (2012) Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + Limpia*, 7(2), 52-73.

Jia, Y., Tan, J., Xu, C., Tang, J., Wang, Y., & Xie, Q. (2014). Simultaneous determination of nine pharmaceuticals and personal care products in waters by solid phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Chinese Journal of Chromatography*, 32(3), 263-267.

Kawaguchi, M., Ito, R., Honda, H., Endo, N., Okanouchi, N., Saito, K., Seto, Y., & Nakazawa, H. (2008). *Journal of Chromatography*, 1206(2), 196-199.

Klein, D.R., Flannelly, D.F., & Schultz, M.M. (2010). Quantitative determination of triclocarban in wastewater effluent by stir bar sorptive extraction and liquid desorption-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 1217(11), 1742-1747.

Lee, D. G., Zhao, F., Rezenom, Y. H., Russell, D. H., & Chu, K. -. (2012). Biodegradation of triclosan by a wastewater microorganism. *Water Research*, 46(13), 4226-4234.

Liu, H., Cao, X., Liu, G., Wang, Y., Zhang, N., Li, T., et al. (2013). Photoelectrocatalytic degradation of triclosan on TiO₂ nanotube arrays and toxicity change. *Chemosphere*, 93(1), 160-165.

Martínez-Zapata, M., Aristizábal, C., & Peñuela, G. (2012). Photodegradation of the endocrine-disrupting chemicals 4n-nonylphenol and triclosan by simulated solar UV irradiation in aqueous solutions with Fe(III) and in the absence/presence of humic acids. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 251, 41-49.

Matsushima, H (1988). A selected ion monitoring assay for triclosan in medical waste water. *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry*, 16(1), 255-257.

Mezcua, M., Gómez, M. J., Ferrer, I., Agüera, A., Hernando, M. D., & Fernández-Alba, A. R. (2004). Evidence of 2,7/2,8-dibenzodichloro-p-dioxin as a photodegradation product of triclosan in water and wastewater samples. *Analytica Chimica Acta*, 524(1-2 SPEC. ISS.), 241-247.

Miao, H.H., Wang, X.K., & Guo, W.L.(2014) Extraction and determination of triclocarban in aquatic plants by homogenate extraction combined with HPLC-ESI-MS/MS. *Advance Materials Research*, 864-867, 343-346.

Miao, H.H., Wang, Y.N., Zhao, R.S., Guo, W.L., Wang, X., Shen, T.T., Wang, C., & Wang, X.K. (2014). Determination of triclocarban in aquatic plants by using SPE combined with HPLC-ESI-MS/MS. *Analytical Methods*, 6(7), 2227-2232.

Miller, T. R., Colquhoun, D. R., & Halden, R. U. (2010). Identification of wastewater bacteria involved in the degradation of triclocarban and its non-chlorinated congener. *Journal of Hazardous Materials*, 183(1-3), 766-772.

Murugesan, K., Bokare, V., Jeon, J. -, Kim, E. -, Kim, J. -, & Chang, Y. -. (2011). Effect of Fe-Pd bimetallic nanoparticles on *Sphingomonas* sp. PH-07 and a nano-bio hybrid process for triclosan degradation. *Bioresource Technology*, 102(10), 6019-6025.

Nosek, K., Styszko, K., & Golas, J. (2014). Combined method of solid-phase extraction and GC-MS for determination of acidic, neutral, and basic emerging contaminants in wastewater (Poland) (2014). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*.

Okomura, T., & Nishikawa, Y. (1996). Gas chromatography-mass spectrometry determination of triclosans in water, sediment and fish samples via methylation with diazomethane. *Analytica Chimica Acta*, 325(3), 175-184.

Olszewski, J.M., Lozano, N., Haines, C., Rice, C.P., Ramirez, M., & Torrents, A. (2013). The effect of liming on antibacterial and hormone levels in wastewater biosolids. *Journal of Environmental Science and Health*, 48(8), 862-870.

Quintana, J.B., & Reemtsma, T. (2004). Sensitive determination of acidic drugs and triclosan in surface and wastewater by ion-pair-reverse-phase liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18: 765-774.

Ryu, J., Oh, J., Snyder, S.A., & Yoon, Y. (2014). Determination of micropollutants in combined sewer overflows and their removal in a wastewater treatment plant (Seoul, South Korea). *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(5), 3239-3251.

Sanchez-Prado, L., Barro, R., Garcia-Jares, C., Llompart, M., Lores, M., Petrakis, C., Psillakis, E. (2008). Sonochemical degradation of triclosan in water and wastewater. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(5), 689-694.

Sanchez-Prado, L., Llompart, M., Lores, M., García-Jares, C., Bayona, J. M., & Cela, R. (2006). Monitoring the photochemical degradation of triclosan in wastewater by UV light and sunlight using solid-phase microextraction. *Chemosphere*, 65(8), 1338-1347.

Shen, J. Y., Chang, M. S., Yang, S. -, & Wu, G. J. (2012). Simultaneous determination of triclosan, triclocarban, and transformation products of triclocarban in aqueous samples using solid-phase microextraction-HPLC-MS/MS. *Journal of Separation Science*, 35(19), 2544-2552.

Shih, H.K., Lin, C.W., Ponnusamy, V.K., Ramkumar, A., & Jen, J.F. (2013). Rapid analysis of triclosan in water samples using an in-tube ultrasonication assisted emulsification microextraction coupled with gas chromatography-electron capture detection. *Analytical Mtehods*, 5(9), 2352-2359.

Sirés, I., Oturan, N., Oturan, M. A., Rodríguez, R. M., Garrido, J. A., & Brillas, E. (2007). Electro-fenton degradation of antimicrobials triclosan and triclocarban. *Electrochimica Acta*, 52(17), 5493-5503.

Son, H. -, Khim, J., & Zoh, K. -. (2010). Degradation of triclosan in the combined reaction of Fe²⁺ and UV-C: Comparison with the fenton and photolytic reactions. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, 29(4), 415-420.

Song, Z., Wang, N., Zhu, L., Huang, A., Zhao, X., & Tang, H. (2012). Efficient oxidative degradation of triclosan by using an enhanced fenton-like process. *Chemical Engineering Journal*, 198-199, 379-387.

Sun, J., Yi, C.L., Zhao, R.S., Wang, X., Jiang, W.Q., & Wang, X.K. (2012). Determination of trace triclosan in environmental water by microporous bamboo-activated charcoal solid-phase extraction combined with HPLC-ESI-MS. *Journal of Separation Science*, 35, 2781-2786.

Tema 2 de la Asignatura Evaluación de la Contaminación de Suelos y Aguas impartida en la Universidad de Jaen en el año 2013.

Thomas, P.M., & Foster, G.D.(2004). Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, caffeine, and triclosan in wastewater by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Environmental Science and Health*, 39(8), 1969-1978.

Tixier, C., Singer, H. P., Canonica, S., & Müller, S. R. (2002). Phototransformation of triclosan in surface waters: A relevant elimination process for this widely used biocide - laboratory studies, field measurements, and modeling. *Environmental Science and Technology*, 36(16), 3482-3489.

Tizaoui, C., Grima, N., & Hilal, N. (2011). Degradation of the antimicrobial triclocarban (TCC) with ozone. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(7), 637-643.

Wang, X., & Liu, X. (2014). Rapid determination of triclocarban in wastewater by using SPE-UHPLC. *Hydraulic Engineering- Procedings of the 2nd SREE Conference on Hydraulic Engineering, CHE 2013*, 161-165.

Wu, J. -, Lam, N. P., Martens, D., Kettrup, A., & Cai, Z. (2007). Triclosan determination in water related to wastewater treatment. *Talanta*, 72(5), 1650-1654.

www.abc.es/20120813/sociedad/abci-jabon-triclosan-antibacteriano-funcion-201208131859.html

www.amazings.com/ciencia/articulos/amenaza_oculta.html

www.herbogeminis.com/IMG/pdf/triclocarban.pdf

www.quiminet.com/articulos/el-triclocarban-excelente-agente-bacteriostatico-para-uso-exclusivo-en-jabones-desodorantes-13754.htm

es.wikipedia.org/wiki/Cromatograf%C3%ADa_de_alta_eficacia

Yi, C.L., Guo, W.L., & Wang, X.K. (2012). Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in environmental water by using SPE combined with HPLC-ESI-MS. *Advanced Materials Research*, 610-613, 268-271.

Yufra, V.M. (2013). Evaluacion del tratamiento con Radiacion UV para la eliminación de residuos de plaguicidas en aceite de oliva virgen (tesis doctoral).

Zhang, Q. -, Zhao, J. -, Liu, Y. -, Li, B. -, & Ying, G. -. (2013). Multimedia modeling of the fate of triclosan and triclocarban in the dongjiang river basin, south china and comparison with field data. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, 15(11), 2142-2152.

Zhao, R.S., Wang, X., Sun, J., Hu, C., & Wang, X.K. (2011). Determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples with ionic liquid/ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction prior to HPLC-ESI-MS/MS. *Microchimica Acta*, 174(1), 145-151.

Zhou, X.F., Zhou, S.B., Zhang, Y.L. & Shi, L. (2009). Determination of triclosan in wastewater using solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultra-violet detection. *3rd International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering*.