



Centro de Investigación en
Materiales Avanzados, S.C.



Universitat
de les Illes Balears

**ESTUDIO DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS Y
METALES TOTALES EN AGUA RESIDUAL Y LODO
DE DOS DEPURADORAS DE PALMA DE
MALLORCA, ESPAÑA**

TESIS

Para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AMBIENTAL
(CIMAV)**

MÁSTER EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUÍMICA (UIB)

Presenta:

Brenda Mejía Ortiz

Asesores:

Dra. Luz Olivia Leal Quezada (CIMAV)

Dra. Laura Ferrer Trovato (UIB)

Dr. Edwin Palacio (UIB)

Chihuahua, Chihuahua, noviembre de 2019

Agradecimientos

Agradezco al Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV) S.C. y a la Universitat de les Illes Balears (UIB, Islas Baleares, España), por haberme aceptado como alumna de maestría en el marco del convenio de doble titulación, lo cual hizo posible mi estancia en Palma de Mallorca, España.

Agradezco también al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México por el apoyo económico otorgado durante los dos años de maestría.

A Santander-Universidades en colaboración con la UIB por las ayudas brindadas durante mi estancia en España, enmarcadas en el programa de Ayudas para alumnos de doble titulación.

A la Empresa Municipal de Agua y Alcantarillado (EMAYA) de Palma de Mallorca, por proveer las muestras para la realización de este trabajo de Maestría.

A mis asesores, Dra. Luz Leal, Dra. Laura Ferrer y Dr. Edwin Palacio, por todo el apoyo y paciencia durante la maestría.

A mis padres por siempre estar para mí en todas y cada una de mis metas, por creer en mí, por apoyarme incluso con los miles de kilómetros de distancia, por atender llamadas, mensajes, por extrañarme y quererme. Gracias por ayudarme a crecer. A mi hermano por ser una inspiración para crecer cada día, por ser tú.

A mis amigos por darme esas palabras de aliento cuando eran necesarias, por ayudarme en momentos en los que necesitas sentir que eres capaz. A Andreu que estuvo en esos momentos en los que necesitaba un abrazo, hablar o no decir nada.

ÍNDICE

Índice de figuras	iii
Índice de tablas	v
Índice de abreviaturas	vi
Resumen	7
Abstract	8
CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Metales.....	10
1.2. Nanopartículas metálicas	11
1.2.1. Nanopartículas de ZnO.....	13
1.2.2. Nanopartículas de Ag	14
1.2.3 Nanopartículas de TiO ₂	15
1.2.4. Liberación de nanopartículas al medio ambiente.....	16
1.2.5. Técnicas de separación, detección y caracterización de NPs	17
1.2.5.1. Técnicas de separación/extracción	18
1.2.5.2. Técnicas de detección	20
1.2.5.3. Técnicas de caracterización	20
1.2.6. Estado del arte sobre NPs en muestras ambientales	21
1.3. El área de estudio	22
CAPÍTULO 2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	25
2.1. Hipótesis	26
2.2. Objetivo general	26
2.3. Objetivos específicos	26
CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA.....	27
3.1. Descripción de las plantas de tratamiento	28
3.2. Reactivos y material de laboratorio	31

3.3. Recolección y preservación de muestras.....	32
3.4. Metodología analítica	33
3.4.1 Fracciones metálicas analizadas en las muestras de agua residual.....	33
3.4.2. Protocolo analítico	34
3.4.3. Preparación de la muestra para metales en agua residual.....	34
3.4.4. Preparación de la muestra para metales en lodo residual	36
3.4.5. Fraccionamiento de NPs en agua residual	37
3.5. Instrumentación.....	38
CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1 Valores de pH y conductividad de las muestras de agua residual	42
4.2 Concentración de metales en muestras de agua residual	44
4.3 Metales totales en muestras de agua residual	48
4.4 Metales totales en muestras de lodo residual	56
4.5. NPs metálicas	62
4.5.1. Separación de la fracción de NPs.....	62
a) Extracción en punto nube (CPE).....	62
b) Ultrafiltración	63
c) Diálisis.....	67
d) Ultrafiltración y diálisis.....	69
4.5.2. Análisis de muestras.....	70
4.6. Microscopía electrónica de barrido-Análisis de lodo residual.....	73
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES.....	79
CAPÍTULO 6 RECOMENDACIONES	83
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
ANEXOS	91

Índice de figuras

Figura 1. Liberación de NPs a la biosfera y antroposfera (Fuente: Lead et al. (2018) [33]).	17
Figura 2. Sistema de diálisis para la separación de iones metálicos y sales de la muestra (Fuente: Kittler et al. (2018) [40]).	19
Figura 3. Evolución de pasajeros que arribaron por vía aérea a Mallorca, como indicador de la estacionalidad turística en la isla [46].	23
Figura 4. Ubicación de las PTAR: Planta de tratamiento de aguas residuales 1 y 2, de la ciudad de Palma de Mallorca, España.	28
Figura 5. Esquema de la secuencia de procesos de depuración de la PTAR 1. * Zonas en las que se realizó el muestreo.	29
Figura 6. Esquema de la PTAR 2. * Zonas en las que se realizó el muestreo.	30
Figura 7. Proceso analítico para la determinación de NPs, metales, metales totales en agua residual y metales totales en lodo residual.	35
Figura 8. Proceso de separación, digestión y cuantificación de NPs en muestras de agua residual.	37
Figura 9. Parámetros de influentes y efluentes de PTAR 1 y 2. (a) pH y (b) Conductividad eléctrica ($\mu\text{s cm}^{-1}$).	43
Figura 10. Distribución temporal de metales en PTAR 1. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	46
Figura 11. Distribución temporal de metales en PTAR 2. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	47
Figura 12. Distribución temporal de metales totales en PTAR 1. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	53
Figura 13. Distribución temporal de metales totales en PTAR 2. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	54
Figura 14. Coeficientes de correlación de Pearson para influentes de agua residual. (a) PTAR 1 y (b) PTAR 2.	55
Figura 15. Distribución temporal de metales totales en lodo residual. (a) As, Cd, Cr, Mo, Ni, Pb y V y (b) Ba, Cu y Mn. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	60
Figura 16. Distribución temporal de metales (a) plata total y (b) zinc total. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	61

Figura 17. Espectro UV-Vis de ZnO-NPs luego de la separación por CPE.....	63
Figura 18. Proceso de ultrafiltración para muestras acidificadas.....	64
Figura 19. Resultados obtenidos con proceso de ultrafiltración en muestras acidificadas. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	65
Figura 20. Proceso de ultrafiltración para muestras sin acidificar.....	66
Figura 21. Resultados obtenidos con proceso de ultrafiltración en muestras sin acidificar. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).	67
Figura 22. (a) Imagen correspondiente a NPs de TiO ₂ obtenida con SEM, (b) EDS de confirmación de la presencia de titanio.	68
Figura 23. (a) Imagen correspondiente a ZnO-NPs obtenida con SEM, (b) EDS de confirmación de la presencia de zinc.	69
Figura 24. Distribución de ZnO-NPs en influentes. (a) PTAR 1, (b) PTAR 2. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).....	72
Figura 25. (a) Imagen mediante SEM de una partícula de plata en lodo residual (b) EDS de confirmación de la presencia de plata.....	74
Figura 26. (a) Imagen mediante SEM de un aglomerado de TiO ₂ en lodo residual, (b) aumento de la imagen a, (c) EDS de confirmación de la presencia de titanio.	75
Figura 27. (a) Imagen mediante SEM de zinc en lodo residual, (b) EDS de confirmación de la presencia de zinc, (c) EDS de la matriz circundante sin la presencia de zinc.	77

Índice de tablas

Tabla 1. Principales fuentes antropogénicas que propician la liberación de metales.	11
Tabla 2. Identificación y cuantificación de NPs en muestras ambientales.	21
Tabla 3. Definiciones de las fracciones metálicas presentes en agua.	33
Tabla 4. Parámetros empleados en ICP-OES.	39
Tabla 5. Límites de detección y cuantificación para la determinación de metales en agua residual por ICP-OES.	44
Tabla 6. Porcentajes de recuperación del CRM SPS-WW2 para metales por ICP-OES. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar (n=3).	45
Tabla 7. Límites de detección y cuantificación para la determinación de metales totales en agua residual por ICP-OES.	48
Tabla 8. Porcentajes de recuperación del CRM SPS-WW2 sometido a un proceso de digestión. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar para (n=3).	49
Tabla 9. Ensayos de adición/recuperación en muestra de influente de agua residual de la PTAR 1. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar (n=3).	50
Tabla 10. Concentraciones de metales totales en agua residual.	52
Tabla 11. Límites de detección y cuantificación para la determinación de metales totales en lodo.	56
Tabla 12. Porcentajes de recuperación del CRM052. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar para (n=3).	57
Tabla 13. Concentración de metales totales en lodo residual.	59
Tabla 14. Conductividad previa y posterior al proceso de diálisis.	71

Índice de abreviaturas

AAS- Espectrometría de absorción atómica
AF4- Fraccionamiento asimétrico de flujo de campo
AFM- Microscopía de fuerza atómica
Ag-NPs- Nanopartículas de plata
CMC- Concentración micelar crítica
CPE- Extracción en punto nube
CRM- Material de referencia certificado
DLS- Dispersión de luz dinámica
EDS- Espectrometría de rayos X por dispersión en energía
EPA- Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos
FAAS- Espectrometría de absorción atómica en flama
FFF- Fraccionamiento de flujo de campo
GF-AAS- Espectrometría de absorción atómica con horno de grafito
HR-ICP-MS- Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado de alta resolución
ICP-MS- Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado
ICP-OES- Espectrometría óptica con plasma inductivamente acoplado
IUPAC- Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
kDa- Kilo Daltón
LC- Límite de cuantificación
LD- Límite de detección
L(E)C50- Concentración letal o efectiva media
ME- Microscopía electrónica
MWCO- Corte de peso molecular
NPs- Nanopartículas
PTAR- Planta de tratamiento de aguas residuales
SEM- Microscopía electrónica de barrido
SP-ICP-MS- Espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado en modalidad partícula simple
TEM- Microscopía electrónica de transmisión
TiO₂- NPs- Nanopartículas de dióxido de titanio
TXRF- Fluorescencia de rayos X por reflexión total
UV-Vis- Ultravioleta visible
US- Ultrasónico
USA- Estados Unidos de América
ZnO-NPs- Nanopartículas de óxido de zinc

Resumen

Las nanopartículas (NPs) metálicas son utilizadas ampliamente en diferentes actividades y productos de consumo, siendo las NPs de óxido de zinc (ZnO-NPs), dióxido de titanio (TiO₂-NPs) y de plata (Ag-NPs) las más utilizadas. Sus principales aplicaciones son en cosméticos, medicina, alimentos, prendas de vestir y remediación ambiental. El constante uso de las NPs ha propiciado una preocupación sobre su liberación al medio ambiente y se han identificado las Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) como importantes fuentes de NPs. Por tal motivo, el presente estudio evaluó la presencia de NPs metálicas (Ag-NPs, TiO₂-NPs y ZnO-NPs) y de metales totales (Ag, As, Au, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn) en agua residual y lodo de dos PTAR (PTAR 1 y PTAR 2) ubicadas en Palma de Mallorca, España.

El protocolo de análisis desarrollado para la determinación de NPs se basa en el uso de técnicas múltiples, en el cual se aplica ultrafiltración, diálisis, digestión ácida asistida por microondas y detección por Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES). Los metales totales fueron determinados mediante ICP-OES con previa digestión ácida de la muestra.

Las NPs fueron determinadas en muestras de agua residual recolectadas mensualmente desde agosto-2018 a junio-2019, obteniendo concentraciones de ZnO-NPs desde inferiores al límite de detección (<LD) hasta $123 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$ para PTAR 1 y de <LD hasta $66 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$ para PTAR 2. Las Ag-NPs no fueron detectadas en las muestras. La cuantificación de las TiO₂-NPs no pudo realizarse, sin embargo, se identificaron mediante la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

Los metales totales se determinaron en muestras de agua residual y lodo correspondientes a los meses de enero-2018 a junio-2019. En las muestras de agua residual no se detectaron Ag, As, Au, Be, Cd, Co, ni Mo. En los influentes de la PTAR 1 se encontraron tres máximos distintivos, en enero y agosto 2018 y en abril-2019, los metales con estos tres máximos son el Cr, Cu, Mn, Ni y Zn. En los influentes de la PTAR 2 se presentaron dos máximos, en enero-2018 y en abril-2019 para el Ba, Cu, Mn, Ni y Zn.

Abstract

Metallic nanoparticles (NPs) are widely used in several consumer products and activities, being the zinc oxide NPs (ZnO-NPs), titanium dioxide (TiO₂-NPs) and silver (Ag-NPs) the most used. Their main applications are in cosmetics, medicine, food industry, textiles and environmental restoration. Due to the constant use of NPs, there is an increasing concern about the release of NPs to the environment. The Wastewater Treatment Plants (WWTP) have been identified as important sources of NPs. Therefore, in this work, the presence of metallic NPs (Ag-NPs, TiO₂-NPs and ZnO-NPs) and total metals (Ag, As, Au, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, V and Zn) in wastewater and sewage sludge of two WWTP (WWTP 1 and WWTP 2) in Palma de Mallorca, Spain, have been evaluated.

The analysis protocol developed for the NPs determination is based in the use of multiple techniques, i.e. ultrafiltration, dialysis, microwave assisted acid digestion and detection exploiting Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). The total metal content was determined by ICP-OES in samples previously acid digested.

The NPs were determined in monthly samples of wastewater from august-2018 to June-2019, obtaining concentrations of ZnO-NPs from below of limit of detection (<LOD) to $123 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$ for WWTP 1 and from <LOD to $66 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$ for WWTP 2. The Ag-NPs were not detected in the samples. The quantification of TiO₂-NPs could not be performed; however, they were identified by scanning electron microscopy (SEM).

The total metal content was determined in samples of wastewater and sewage sludge, corresponding to January-2018 until June-2019. Ag, As, Au, Be, Cd, Co and Mo did not detect in wastewater samples. Three distinctive maximums were found in the influents of WWTP 1, corresponding to January and August-2018 and April-2019, the metals with these three maximums are Cr, Cu, Mn, Ni and Zn. In the influents of the WWTP 2 two maximums were presented, in January-2018 and in April-2019 for Ba, Cu, Mn, Ni and Zn.

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

1.1. Metales

Los metales pueden ser clasificados como esenciales y no esenciales según tengan o no una función biológica reconocida. Dentro de la lista de los metales considerados como esenciales se encuentran el calcio, cobalto, cobre, potasio, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, sodio y zinc. En el caso del arsénico, cromo, estaño, níquel y vanadio se cree que son esenciales a concentraciones traza para el ser humano; sin embargo, el Cr(VI) es considerado tóxico y cancerígeno. Dentro de los metales no esenciales están el bario, cadmio, litio, oro, plata y plomo. Tanto los metales esenciales como los no esenciales pueden generar efectos tóxicos a determinadas concentraciones [1,2].

También algunos de los metales se pueden clasificar como metales pesados. Esta clasificación se refiere a todos aquellos metales y metaloides que tienen una densidad superior a 4 g cm^{-3} [3], encontrando al As, Cd, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn, entre ellos [4].

La incorporación de metales al medio ambiente puede generarse de manera natural o antropogénica. Las principales fuentes naturales incluyen la meteorización de minerales, la actividad volcánica y la erosión, mientras que las antropogénicas incluyen un amplio rango de aplicaciones industriales en las que se usan los metales, por ejemplo la industria cosmética, la farmacéutica, y la automovilística, por lo que su ingreso al medio ambiente se realiza de manera constante [4]. En la Tabla 1 se muestran las principales actividades antropogénicas que propician la liberación de distintos metales al medio ambiente. Por estas razones, la contaminación causada por los metales es una preocupación a nivel mundial.

Es común que los metales se encuentren presentes en efluentes industriales y domésticos, lo que genera que las Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) sean continuas receptoras de metales [5]. Los metales en aguas residuales se distribuyen entre el lodo residual y los efluentes de la PTAR, y al ser regresados al medio ambiente pueden contaminar el suelo, el agua y, por consiguiente, la cadena alimenticia. La aplicación de lodo residual como abono de nutrientes en suelos

puede generar la liberación de metales en los ecosistemas acuáticos y en el agua subterránea [6].

Tabla 1. Principales fuentes antropogénicas que propician la liberación de metales.

Metal	Fuente	Referencias
Ag	Telas, desinfectantes, aplicaciones médicas	[7]
As	Conservación de madera, pesticidas	[4]
Cd	Plásticos, pinturas y pigmentos, galvanoplastia, fertilizantes fosfatados	[4]
Cr	Curtiembres, industria del acero	[4]
Cu	Pesticidas, fertilizantes, productos cosméticos	[4]
Ni	Generación de energía, industria automotriz, minería, galvanoplastia, fabricación de acero, industria del cemento, baterías de automóviles	[4], [8]
Pb	Combustibles con plomo, manufactura de baterías, herbicidas, insecticidas	[4]
Mn	Industria del acero, fabricación de cloro y desinfectantes, coloración de vidrio cerámica, colorantes, pigmentos, suplementos de suelo y alimentos, y medicina	[9]
Zn	Medicamentos, productos cosméticos, industria de metales, caucho, pigmentos	[4], [10]

1.2. Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas (NPs) están definidas como materiales que tienen una o más dimensiones en el rango de 1 - 100 nm. Las NPs pueden ser esféricas, tubulares o de formas irregulares, estando presentes en estado libre, en forma de aglomerados o agregados [11]. Generalmente pueden ser de origen natural (ej., partículas de suelo o biomoléculas), producirse accidentalmente (ej., hollín) o ser materiales manufacturados con características específicas [12]. Mientras las NPs de origen natural pueden disolverse fácilmente o agregarse a partículas de mayor tamaño, las NPs manufacturadas pueden persistir o presentar comportamientos y transformaciones diferentes debido a los recubrimientos que las estabilizan [13].

Las NPs pueden ser clasificadas con base en su componente principal: las NPs metálicas, entre las que encontramos las de Au y Ag, y las de óxidos metálicos como el TiO₂, ZnO, Fe₂O₃, SiO₂; las NPs de carbón, como los nanotubos o el grafeno; y aluminosilicatos, como las zeolitas [14].

En los últimos años, el interés en las NPs se ha incrementado considerablemente debido a que presentan propiedades fisicoquímicas únicas, como antimicrobianas, aditivos colorantes y filtros ultravioleta (UV) [14].

En el año 2016, se encontraban más de 1600 productos incorporados en el mercado con NPs [14] y se espera que para el 2022 la producción total anual de NPs alcance las 58,000 toneladas [15]. Las aplicaciones de NPs más comunes son en cosméticos (TiO₂, ZnO), medicina (Au, CeO₂), alimentos (Ag, TiO₂, SiO₂, Fe), prendas de vestir (Ag), para remediación ambiental (Fe, TiO₂), aditivos de combustible y energía (CeO₂), entre otras [14,16].

Con el incremento de las aplicaciones de las NPs en productos de consumo, éstas pueden ser liberadas al medio ambiente durante la producción, transporte, uso y disposición de los mismos, por lo que existe un gran interés en los posibles impactos que las NPs pueden causar en el medio ambiente y en la salud humana [16,17]. Las NPs no se encuentran reguladas, por lo que están incluidas en las listas de contaminantes emergentes [18], definidos como aquellos contaminantes que en la mayoría de los casos no se encuentran legalizados y que son candidatos a una reglamentación futura, dependiendo de las investigaciones sobre sus efectos potenciales a la salud y los datos sobre su presencia y distribución en el medio ambiente [19].

La presencia de NPs en el medio ambiente es preocupante por dos razones: en primera instancia no existen técnicas analíticas cuantitativas que puedan medir la cantidad de NPs presentes en los sistemas acuáticos, y segundo, que es complejo discernir entre la concentración real del metal proveniente de NPs de óxidos metálicos y la concentración del metal disuelto, por lo que se podría sobreestimar la concentración de NPs [20].

1.2.1. Nanopartículas de ZnO

Las NPs de óxido de zinc (ZnO-NPs) se encuentran dentro de las más utilizadas, con una producción mundial estimada en 550 toneladas por año y 55 toneladas por año en Europa [21].

Las ZnO-NPs tienen gran capacidad de absorción de radiación UV y excelentes propiedades reflectivas, por lo que en los últimos años se ha incrementado su aplicación en distintos bienes de consumo [22]. Entre las principales aplicaciones de las ZnO-NPs se encuentran en productos cosméticos, incluidos los filtros solares para protección UV, textiles, plásticos, pigmentos, pinturas, sistemas optoelectrónicos, sensores, productos para restauración y análisis ambiental, materiales para empaque de alimentos, y catálisis, entre otros [15,20,21,23,24].

De la producción total de ZnO-NPs, alrededor del 70% se utiliza para cremas solares con protección ultravioleta, siendo éste su principal uso [20,21]. En el caso de su aplicación en pinturas, textiles y plásticos, normalmente se utilizan en forma de recubrimiento con funciones antimicrobianas [15].

El uso de ZnO-NPs en cosméticos para protección UV se considera una fuente difusa de ZnO-NPs, ya que pueden ser liberadas directamente al medio ambiente por las actividades de recreación [22], generando un continuo ingreso a las PTAR. Se estima que las concentraciones de Zn proveniente de NPs en PTAR se encuentra en valores de 61 y 3.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, en influentes y efluentes, respectivamente [25].

Cabe mencionar que las ZnO-NPs son descritas como uno de los materiales nanoparticulados más tóxicos [26,27]. Su toxicidad ha sido reportada con concentraciones efectivas medias máximas (L(E)C50) para diferentes organismos con rangos entre las decenas de $\mu\text{g L}^{-1}$ hasta algunos mg L^{-1} [27]. Entre las principales problemáticas del ingreso de ZnO-NPs a PTAR es la inhibición de las actividades bacterianas, lo que afecta directamente a los tratamientos biológicos secundarios de aguas residuales; adicionalmente, la presencia de ZnO-NPs afecta la sedimentación de los lodos activados, lo que decrece la remoción de nitrógeno y

fósforo [28]. Se han reportado impactos de ZnO-NPs presentes en tratamientos de aguas residuales con fangos activados, que muestran que a una concentración de 5.0 mg L^{-1} se inhibe de manera significativa la actividad de nitrificación bacteriana, lo que reduce la remoción de $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ [29].

1.2.2. Nanopartículas de Ag

Las NPs de plata (Ag-NPs) se encuentran entre los nanomateriales más empleados en productos de consumo, principalmente por las funciones antimicrobianas de la plata. Adicionalmente, sus propiedades fisicoquímicas, como una alta conductividad eléctrica y térmica, han propiciado su incorporación en aplicaciones microelectrónicas y en medicina. Las principales aplicaciones de las Ag-NPs son: filtros de agua, pinturas, desodorantes, cosméticos, textiles, empaquetamiento de alimentos, plásticos, dispositivos electrónicos, detergentes, biosensores, entre otros. En el 2012, el consumo medio de Ag-NPs se encontraba en un rango de 55 toneladas por año y se estima que para el 2025 se puede alcanzar un consumo de entre 360-450 toneladas por año [30].

El continuo uso de Ag-NPs sugiere su ingreso al medio ambiente, el cual se puede generar durante cualquier etapa del ciclo de vida de las NPs, desde la síntesis, distribución, uso de productos de consumo o disposición final. Generalmente, las Ag-NPs son liberadas al medio ambiente mediante efluentes de agua residual, sin embargo, gran parte de las Ag-NPs ingresadas a las PTAR quedan retenidas en los lodos residuales. Se estima que la concentración de Ag-NPs en aguas superficiales en Europa se encuentra entre 0.59 y 2.16 ng L^{-1} , mientras que en USA entre 0.09 y 0.43 ng L^{-1} [30]; en suelo las concentraciones esperadas son entre 0.02 y $0.43 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1}$ [31].

Estudios toxicológicos han indicado que las Ag-NPs pueden causar efectos adversos en distintos organismos. Se ha reportado que las Ag-NPs pueden dañar el ADN causando la muerte de diferentes tipos de células de mamíferos [31]. Por otro lado, la disolución de las Ag-NPs a iones de plata puede conducir a un

incremento en sus efectos tóxicos [30]. La principal preocupación respecto a la liberación de Ag-NPs al medio ambiente, es el impacto potencial en las bacterias esenciales para los ciclos biogeoquímicos o de aquellas implicadas en los tratamientos biológicos de las aguas residuales. Las comunidades bacterianas se ven expuestas a las Ag-NPs en aguas superficiales y en las PTAR. Otros estudios han indicado que las Ag-NPs pueden afectar la estructura y función de las comunidades bacterianas, incluso llegando a suprimir el crecimiento de las bacterias nitrificantes autótrofas de una PTAR, a una concentración de 1 mg L^{-1} [32].

1.2.3 Nanopartículas de TiO_2

Las NPs de dióxido de titanio (TiO_2 -NPs) son consideradas como el nanomaterial más ampliamente utilizado alrededor del mundo, alcanzando una producción de entre 7,800 y 38,000 toneladas por año en USA [21] y de 10,000 toneladas por año en Europa [33].

Las TiO_2 -NPs son utilizadas en una gran variedad de aplicaciones, tales como la industria alimenticia y farmacéutica; en procesos de degradación mediante fotocatalisis; en productos cosméticos, incluyendo pasta dental y cremas solares [34]; en pinturas, pigmentos, textiles, cerámicas, vidrios [35] y en materiales de construcción [33].

Las concentraciones de TiO_2 -NPs en aguas superficiales se encuentran en el rango de ng L^{-1} hasta pocos $\mu\text{g L}^{-1}$ [34]. Sin embargo, las concentraciones en aguas residuales se encuentran en órdenes de $\mu\text{g L}^{-1}$ a mg L^{-1} . Choi et al. (2017) reportaron concentraciones de TiO_2 -NPs en aguas residuales de dos PTAR en USA, de 0.1 a 1 mg L^{-1} [36], mientras que Westerhoff et al. (2009) reportaron concentraciones de TiO_2 -NPs entre $10 \mu\text{g L}^{-1}$ a 10 mg L^{-1} , en una PTAR en Arizona, USA [37].

Se ha demostrado que a concentraciones del orden de mg L^{-1} las TiO_2 -NPs son tóxicas para ciertas comunidades bacterianas [34]. Además, Wang et al. (2016)

encontraron que agregados de TiO₂-NPs son capaces de atrapar células de algas marinas, causando efectos negativos como daños a la pared celular [17].

1.2.4. Liberación de nanopartículas al medio ambiente

Conocer el destino y el comportamiento de las NPs es fundamental para comprender sus posibles efectos medioambientales. La estructura general del flujo de NPs durante su ciclo de vida se muestra en la Figura 1 (esquema modificado de Lead et al. (2018), [38]).

Generalmente, las NPs son liberadas directamente a las PTAR, y de allí comienzan a interactuar con plantas incineradoras de residuos, vertederos y procesos de reciclado, y posteriormente se transfieren de la antroposfera a la biosfera incluyendo aire, agua, suelo y sedimentos. Distintos estudios del ciclo de vida de las NPs han identificado a las PTAR como una vía de exposición significativa para los ecosistemas acuáticos y terrestres [38]. Al ingresar a las PTAR, gran parte de las NPs son retenidas en los lodos residuales. Este lodo residual es comúnmente utilizado como abono en agricultura, el cual a través de la escorrentía de los suelos, puede liberar NPs que serán transferidas a sistemas acuáticos [30].

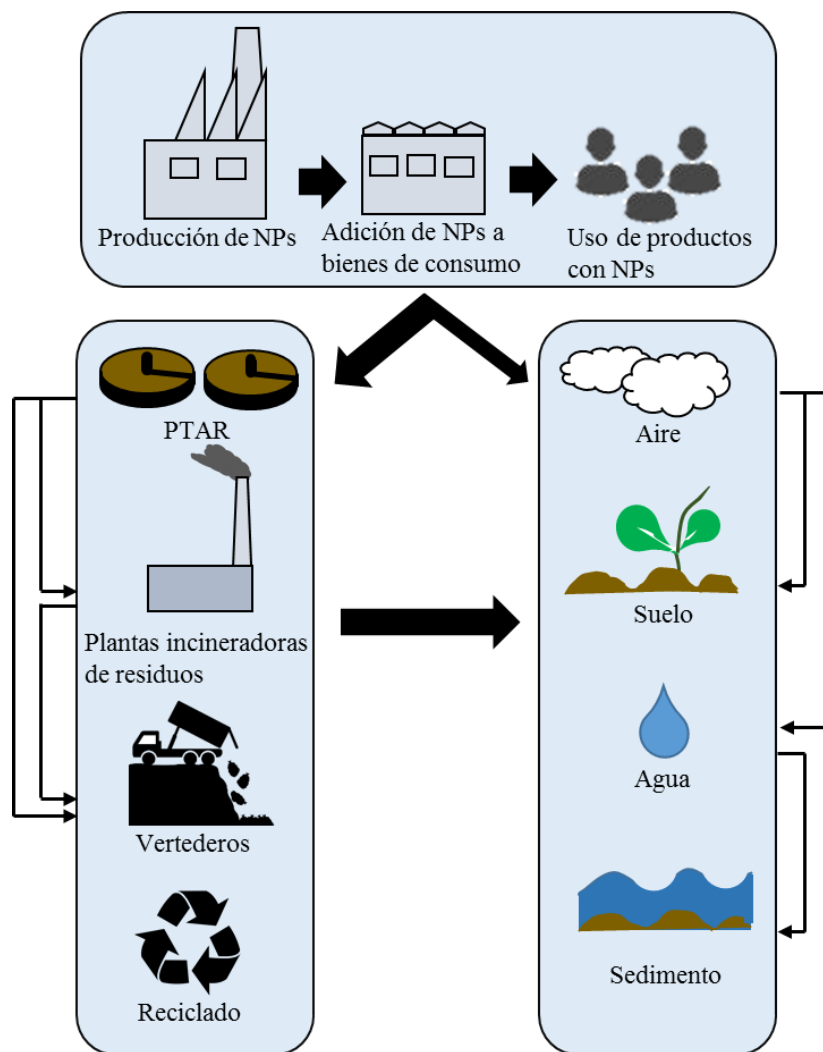


Figura 1. Liberación de NPs a la biosfera y antroposfera (Fuente: Lead et al. (2018) [33]).

1.2.5. Técnicas de separación, detección y caracterización de NPs

Debido a la escasez de datos sobre la presencia de NPs en muestras ambientales, y a la gran variabilidad que presentan sus concentraciones, son necesarios estudios que aporten resultados con vistas a su futura regulación [34]. La adecuada detección y cuantificación de NPs en muestras complejas continúa siendo un reto para la química analítica, por lo que se requiere el desarrollo de métodos adecuados no solo al tipo de NP metálica, sino a la matriz de la muestra [30,34].

El muestreo y la preparación de la muestra son cruciales para la cuantificación y caracterización de las NPs en muestras ambientales. A pesar de los esfuerzos, no existe un protocolo o metodología estandarizada para el muestreo y para la manipulación de la muestra y almacenamiento, así como tampoco para la preparación de las muestras para determinar NPs [13].

Generalmente, los procesos implicados en la determinación de NPs en muestras ambientales incluyen técnicas de fraccionamiento de NPs, como, por ejemplo, ultrafiltración, extracción en punto nube (CPE, por sus siglas en inglés: Cloud Point Extraction); técnicas cromatográficas; técnicas de cuantificación de metales (ICP-OES, AAS, ICP-MS) y técnicas para la caracterización de NPs, ya sea en tamaño o composición (microscopía electrónica).

Existen técnicas adicionales que permiten realizar el fraccionamiento y caracterización de tamaño de las NPs de manera simultánea, un ejemplo es el Fraccionamiento de Flujo de Campo (FFF) o el Fraccionamiento Asimétrico del Flujo de Campo (AF4). Por otro lado, el ICP-MS, usando la modalidad de partícula simple (SP-ICP-MS), permite una determinación de tamaño de partícula y cuantificación del contenido metálico en las muestras, diferenciando entre las especies disueltas o en forma de NP [13]. No obstante, a pesar de los beneficios que pueden presentar estas técnicas, son costosas, poco accesibles y requieren personal altamente calificado para su uso.

1.2.5.1. Técnicas de separación/extracción

Una de las principales complicaciones en la determinación de NPs en muestras ambientales es la diferenciación entre las NPs metálicas y las especies disueltas de metales. Durante los procesos de separación de NPs, la naturaleza dispersa o agregada de las NPs en la muestra puede verse afectada. Los procesos de separación/extracción se realizan previamente a la cuantificación de NPs [13].

Distintas técnicas pueden ser empleadas para la separación de NPs, entre ellas se encuentran las técnicas cromatográficas de exclusión, la extracción en fase sólida, la extracción en fase líquida, la extracción en punto nube, la ultracentrifugación, la

ultrafiltración y la diálisis [13]. A continuación, se describen brevemente las que se han utilizado en esta tesis.

a) Ultrafiltración y diálisis

La ultrafiltración separa las NPs en base a su tamaño, por lo que permite el fraccionamiento y purificación de la muestra. Majedi et al. (2016) han reportado que las membranas con un corte de peso molecular (MWCO, Molecular weight cut-off,) entre 10 y 100 kDa pueden separar NPs con diámetros entre 1 y 5 nm [13], mientras que Fabricius et al. (2014) indican que 10 kDa corresponden aproximadamente a diámetros de partículas entre 1 – 2 nm [39]. Por otro lado, la diálisis permite la separación de las NPs de los iones y sales disueltos. La diálisis se basa en el principio de difusión, donde las especies disueltas son capaces de atravesar la membrana debido a gradientes de concentración y presión osmótica [13]. La Figura 2 muestra el proceso descrito adaptado de Kittler et al. (2010) [40].

b) Extracción en punto nube

La extracción en punto nube es una técnica en la que se adiciona un surfactante no iónico a la solución acuosa. Si la concentración del surfactante es superior a la concentración micelar crítica (CMC), la solución se vuelve turbia y se separa en dos fases isotrópicas al cambiar una condición externa (temperatura, pH, presión). La solución de surfactante se vuelve turbia porque alcanza el punto de nube (es decir, solubilización incompleta). En este punto, los analitos hidrofóbicos son encapsulados en las micelas de la fase del surfactante [41].

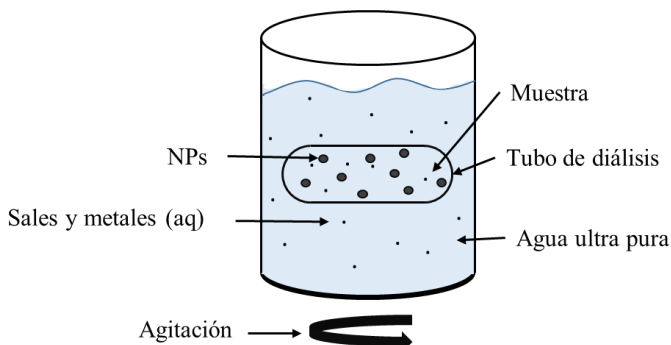


Figura 2. Sistema de diálisis para la separación de iones metálicos y sales de la muestra (Fuente: Kittler et al. (2018) [40]).

1.2.5.2. Técnicas de detección

Para la detección de metales en muestras ambientales se utilizan técnicas espectroscópicas como Espectrometría de Masas con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-MS), Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Inductivamente Acoplado (ICP-OES) y Espectrometría de Absorción Atómica (AAS). En el caso de la AAS puede ser empleada con horno de grafito (GF-AAS), obteniendo mejores límites de detección en comparación a la absorción atómica con flama (FAAS). Para utilizar estas técnicas de detección es necesaria la preparación de la muestra con el fin de solubilizar los analitos de interés, entre las técnicas más comunes están la digestión ácida asistida por microondas y la digestión en placa caliente [6,13].

Además, el contenido total elemental se puede determinar mediante Fluorescencia de Rayos-X por reflexión Total (TXRF) [42].

1.2.5.3. Técnicas de caracterización

La caracterización de la distribución de tamaños de NPs se puede llevar a cabo con técnicas de Microscopia Electrónica (ME), Microscopia de Fuerza Atómica (AFM) o con Dispersión de Luz Dinámica (DLS), siendo la ME la técnica más ampliamente utilizada, ya sea usando la técnica de barrido (SEM) o de transmisión (TEM).

En SEM se genera una imagen mediante el escaneo de la superficie de la muestra con un haz de electrones de baja energía. Se requiere una preparación de la muestra previamente al análisis, puesto que no es posible introducir muestras líquidas. Generalmente, el SEM se encuentra acoplado a un espectrómetro de rayos X por dispersión de energía (EDS), lo que permite un análisis elemental, basándose en que los rayos X emitidos por los elementos en la muestra son específicos. El SEM permite una caracterización de la forma, tamaño, composición y estado de agregación de NPs [30].

1.2.6. Estado del arte sobre NPs en muestras ambientales

Hasta la fecha, no se ha desarrollado una metodología ideal para el análisis de NPs en muestras ambientales, ya que cada técnica tiene sus ventajas y sus limitaciones. Sin embargo, existe un enfoque en el que varios métodos conforman un protocolo de análisis para obtener mayor información [43]. Los métodos utilizados para el análisis de NPs en muestras ambientales requieren de tiempo y destreza por parte del analista, de un arduo trabajo de laboratorio, y son costosos [13]. La Tabla 2 muestra un resumen sobre algunos métodos aplicados para la determinación de NPs en muestras ambientales y las concentraciones encontradas.

Tabla 2. Identificación y cuantificación de NPs en muestras ambientales.

NPs	Muestra	Pre-tratamiento	Detección	Concentración	Ref.
TiO₂-NPs ZnO-NPs	Influyente y efluente de PTAR	Diálisis, oxidación, digestión ácida, centrifugación	ICP-OES, SEM	Ti: 0.1-1 mg L ⁻¹ Zn: 0.1-1 mg L ⁻¹	[36]
Ag-NPs	Efluente de PTAR	CPE	GF-AAS	7.0-11.8 ng L ⁻¹	[44]
TiO₂-NPs Au-NPs	Agua de río	Ultrafiltración, digestión ácida con HF	HR-ICP-MS, SEM	Ti : 0.2-0.35 µg L ⁻¹ Au ~ 0.1 µg L ⁻¹	[25]
TiO₂-NPs	Influyente y efluente de PTAR	Digestión ácida con HNO ₃ + H ₂ SO ₄	ICP-OES, SEM	10 µg L ⁻¹ -10 mg L ⁻¹	[37]
ZnO-NPs	Influyente y efluente de PTAR	CPE, digestión ácida con HNO ₃ + H ₂ O ₂	ICP-MS, TEM, UV-Vis	Influyente :1.34 ± 0.74 µg L ⁻¹ Efluente: 1.58 ± 0.59 µg L ⁻¹	[15]
Ag-NPs	Influyente, efluente de PTAR, agua de río y de lago	CPE, digestión ácida con método EPA 3052	ICP-MS, SEM, UV-Vis	1.27-2.89 µg L ⁻¹	[45]

Generalmente, se utilizan varias técnicas combinadas para la determinación de NPs. En la mayoría de los casos se requiere una digestión ácida, ya que la cuantificación de las NPs metálicas se lleva a cabo cuantificando el metal presente en esa fracción.

En el caso de realizar el fraccionamiento con CPE y la cuantificación del metal con GF-AAS, no es indispensable realizar una digestión ácida previa a la cuantificación, ya que el horno de grafito (GF) permite la introducción de solventes orgánicos [44].

Cabe mencionar que, realizar procesos de fraccionamiento de NPs previamente a la digestión ácida es recomendable para no sobreestimar la concentración real de NPs [36]. La concentración de NPs reportadas en muestras ambientales se puede encontrar en rangos de ng L^{-1} hasta mg L^{-1} .

1.3. El área de estudio

Las PTAR donde se obtuvieron las muestras reciben las aguas residuales de la ciudad de Palma de Mallorca y alrededores. Las Islas Baleares (España) en general, y Mallorca en particular, son un destino turístico bien establecido desde hace décadas, sin embargo, la afluencia de turismo en los últimos años se ha incrementado significativamente. Según datos oficiales publicados por el Gobierno de las Islas Baleares, en 2018 arribaron a Mallorca más de 13 millones de personas considerando sólo las entradas en avión [46]. Como puede verse en la Figura 3, es notable la marcada estacionalidad turística en los meses de verano.

Se estima que la ciudad de Palma de Mallorca, que tiene una población estable de 440,561 habitantes según el último censo de 2018 [47], aumenta su población en los meses de verano hasta un 50%. Si bien no hay datos específicos para la ciudad de Palma, la estimación se basa en los datos de la isla de Mallorca, que, con una población estable de 859,289 habitantes según el último censo, ha llegado a registrar 1,379,953 habitantes (2014) en un día de verano. Es decir, en Mallorca el

turismo incrementa un 60% más el número de personas que las que marca el padrón de residentes.

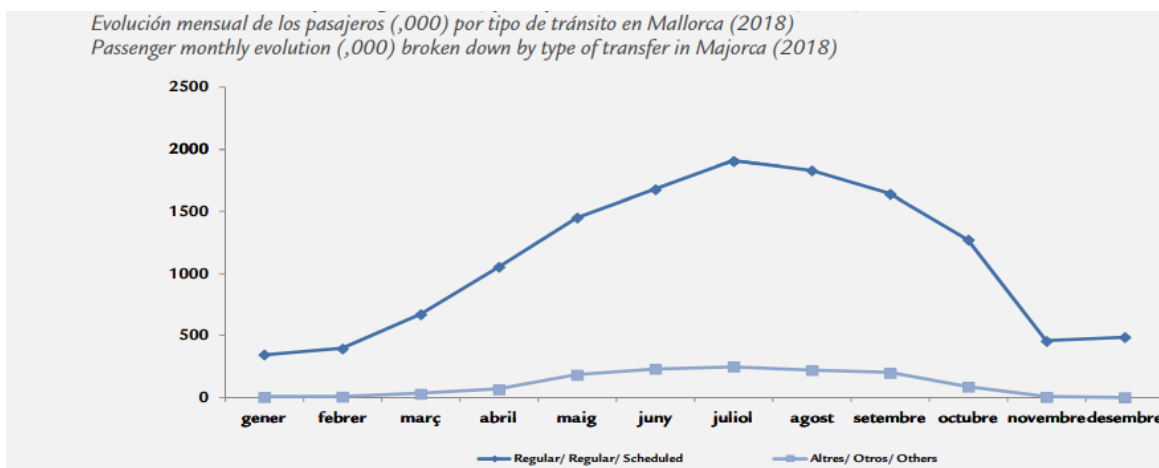


Figura 3. Evolución de pasajeros que arribaron por vía aérea a Mallorca, como indicador de la estacionalidad turística en la isla [46].

En este contexto, el conocimiento sobre el impacto que ocasiona el turismo sobre el aumento de la concentración de NPs metálicas y de metales totales, es limitado. Por lo tanto, la presente investigación pretende aportar información sobre los patrones de ocurrencia de NPs metálicas y metales totales, en aguas residuales de entrada y salida de dos PTAR, así como de los lodos de las mismas, ubicadas en Palma de Mallorca, España.

CAPÍTULO 2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

Los metales tales como Ag, As, Au, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn, así como las nanopartículas metálicas de Ag, Ti y Zn, están presentes en agua residual y lodos de las plantas de tratamiento ubicadas en Palma de Mallorca, España.

Es posible desarrollar un proceso analítico para el fraccionamiento, caracterización y detección de nanopartículas metálicas en dichas matrices.

2.2. Objetivo general

Determinar el contenido de nanopartículas metálicas y metales totales en los influentes, efluentes y lodos de dos plantas de tratamiento de aguas residuales de Palma de Mallorca, España.

2.3. Objetivos específicos

1. Optimizar los parámetros para la determinación de metales totales en las muestras de agua residual y lodos: a) en la digestión ácida asistida por microondas y b) en la técnica de detección a utilizar (ICP-OES).
2. Establecer la metodología para la adecuada separación de la fracción de NPs metálicas de las muestras de agua residual.
3. Determinar las concentraciones de metales totales (Ag, As, Au, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn) en el agua residual y en el lodo.
4. Determinar las concentraciones de metales en la fracción de NPs (Ag-NPs, TiO₂-NPs y ZnO-NPs) presentes en las muestras de agua residual y realizar su caracterización en lodos.

CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA

3.1. Descripción de las plantas de tratamiento

Las muestras se tomaron en dos plantas de tratamiento de agua residual de la ciudad de Palma de Mallorca, España cuya ubicación se muestra en la Figura 4. La PTAR 1 es una planta que incluye tratamiento terciario, con una capacidad de procesamiento de 50,000 m³/día, y que produce 68,402 kg/día de lodos. Recibe aguas residuales de la zona del aeropuerto de Son Sant Joan, y de una parte de la ciudad con gran capacidad hotelera (Playas de Palma). La PTAR 1 cuenta con tratamiento biológico secundario y tratamiento terciario basado en coagulación, floculación y filtración. Por su lado, la PTAR 2 cuenta con capacidad para procesar 48,000 m³/día, tratando aquellas aguas que no han sido tratadas por la PTAR 1.



Figura 4. Ubicación de las PTAR: Planta de tratamiento de aguas residuales 1 y 2, de la ciudad de Palma de Mallorca, España.

El pretratamiento del agua residual que ingresa en la PTAR 1 consiste en un sistema de cribado para retirar los objetos gruesos del agua. El agua residual se hace pasar por un proceso de desarenado y desengrasado, para eliminar la materia en suspensión (del tamaño de micras); posteriormente es conducida al tratamiento primario, que consiste en un sistema de decantación, para eliminar el material

coloidal (tamaño de nanómetros). En la decantación primaria se generan lodos residuales que son extraídos del decantador mediante bombas. Luego de la decantación primaria, el agua residual es conducida a un tratamiento biológico secundario, donde se remueven nutrientes y materia orgánica disueltos mediante el uso de microorganismos. Al finalizar el tratamiento secundario, el agua se transfiere al decantador secundario. En este segundo proceso de decantación, se generan lodos residuales secundarios, de los cuales una parte es recirculada al tanque de aireación y otra parte es mezclada con los lodos procedentes de la decantación primaria. Finalmente, se realiza el tratamiento terciario, en el cual se emplean procesos de floculación y coagulación con sales de Fe^{+3} ; posteriormente, el agua se somete a un sistema de desinfección mediante cloración y finalmente, se lleva a cabo el proceso de filtrado a través de arena de sílice y antracita. La muestra correspondiente al influente de la PTAR 1 se realiza luego de la remoción de objetos gruesos y la del efluente se toma posterior a la cloración. En la Figura 5 se presenta un diagrama de flujo de los procesos implicados en la depuración, indicando con un asterisco las zonas de toma de las muestras.

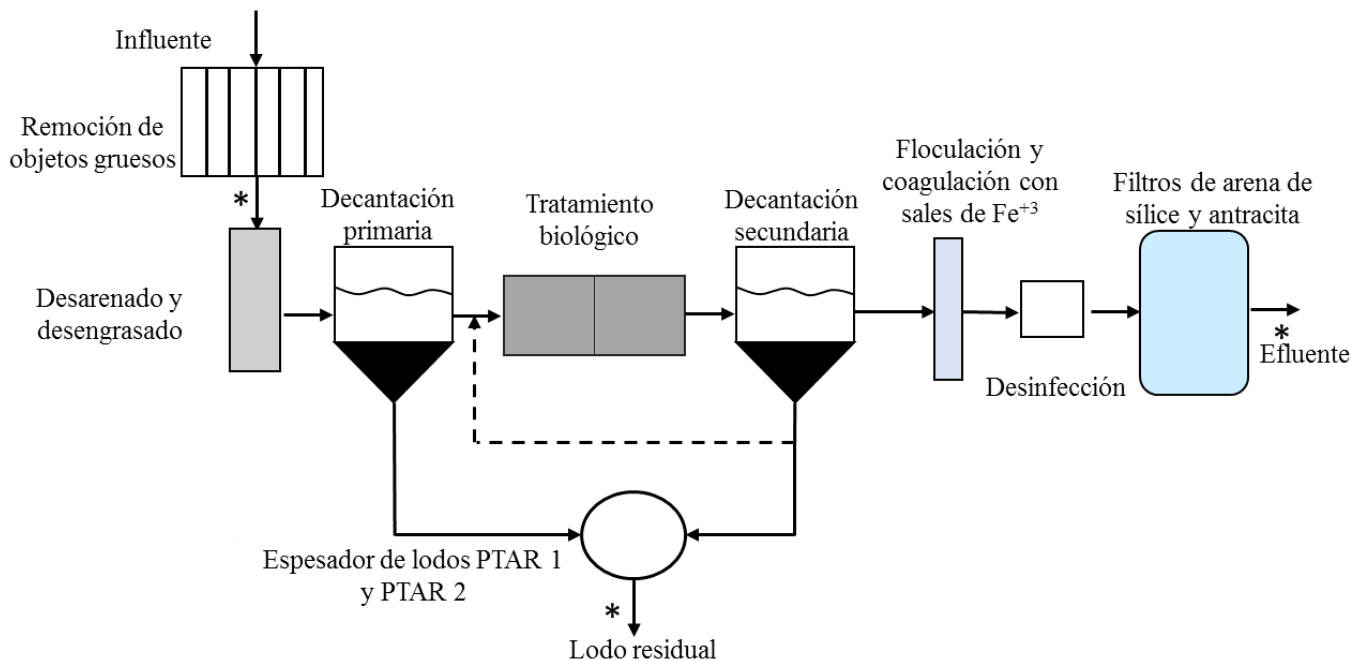


Figura 5. Esquema de la secuencia de procesos de depuración de la PTAR 1. * Zonas en las que se realizó el muestreo.

La PTAR 2 cuenta con un tratamiento biológico secundario, un tratamiento secundario avanzado y uno terciario. Al ingresar las aguas residuales pasan por el sistema de cribado para remoción de objetos gruesos. Posteriormente, el agua es dirigida al decantador primario. Luego se realiza el tratamiento biológico secundario y se lleva el agua al decantador secundario, para posteriormente realizar los tratamientos secundarios avanzados y terciarios. La toma de muestra de agua residual correspondiente al influente de la PTAR 2, se realiza previamente a la remoción de los objetos gruesos y la muestra del efluente se corresponde a una muestra proveniente del tratamiento secundario. Al igual que en la PTAR 1, los decantadores primarios y secundarios de la PTAR 2 generan lodos residuales, en este caso los lodos residuales mixtos (primarios y secundarios) son conducidos a la PTAR 1. Allí, se mezclan y homogenizan los lodos provenientes de ambas plantas, para proceder a su tratamiento. La muestra de lodos se toma en el tanque de mezcla de ambas plantas. El esquema del funcionamiento de la PTAR 2 se muestra en la Figura 6.

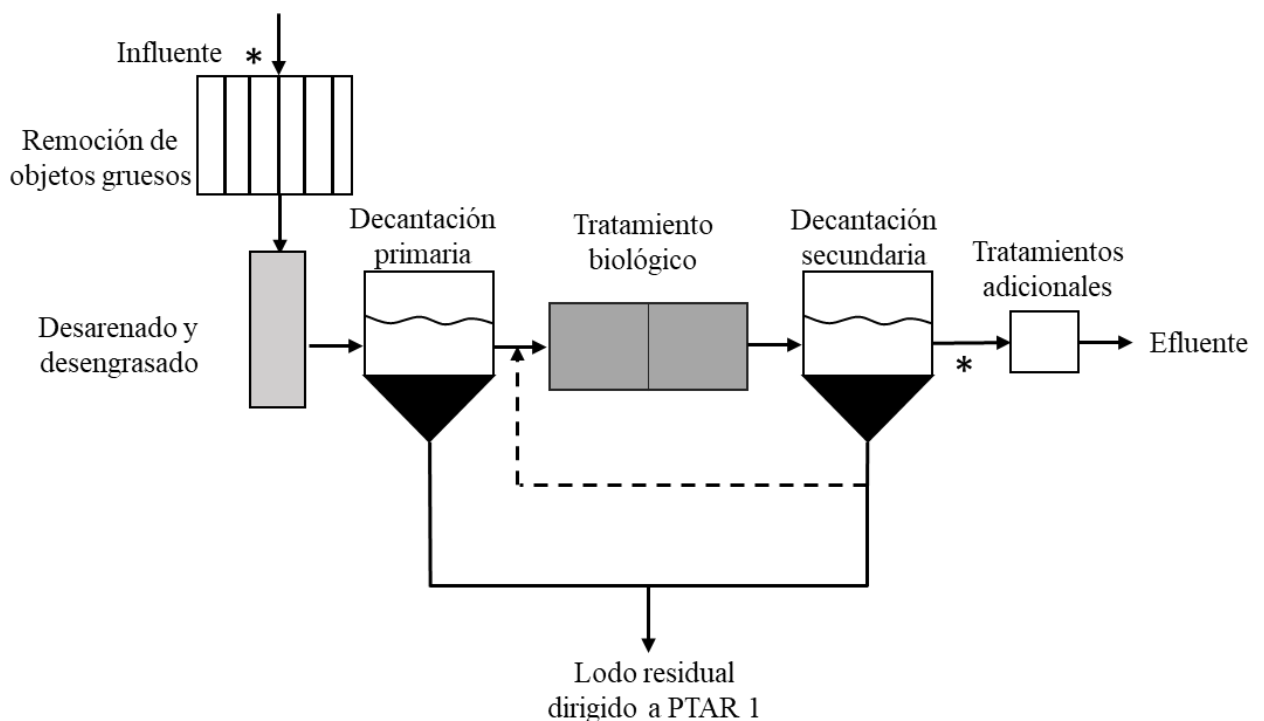


Figura 6. Esquema de la PTAR 2. * Zonas en las que se realizó el muestreo.

3.2. Reactivos y material de laboratorio

En todos los casos, para la preparación de las diferentes disoluciones se utilizó agua desionizada calidad Milli-Q, obtenida con un equipo Millipore Direct 8. Todos los reactivos fueron de calidad analítica:

- HNO_3 69.5 %, Scharlab, España
- HCl 37%, Scharlab, España
- HF 48%, Scharlab, España
- H_2O_2 30%, Scharlab, España
- Triton X-114, Sigma-Aldrich
- EDTA, Scharlab, España
- Filtros de jeringa de nylon, 0.45 μm de tamaño de poro, Scharlab, España
- Filtros de jeringa de nylon, 0.22 μm de tamaño de poro, Scharlab, España
- Filtros Whatman © Anotop, 0.10 μm de tamaño de poro, Ge Healthcare Life Sciences, Alemania.
- Tubos de diálisis de celulosa sin costuras (MCWO de 12.4 kDa), Sigma-Aldrich
- TiO_2 (nano polvo de óxido de titanio), Sigma-Aldrich
- ZnO (dispersión al 40% en etanol), Sigma-Aldrich
- H_3BO_3 , Scharlab, España
- Solución estándar multielemental X, 26 elementos para ICP, Scharlab, España
- Solución estándar de plata para ICP, Scharlab, España
- Solución estándar de oro para ICP, Scharlab, España
- Solución estándar de itrio para ICP, Scharlab, España

Todo el material de vidrio y de teflón utilizado se lavó en baño de ácido nítrico al 10% durante al menos 12 h, y se enjuagó con agua Milli-Q previo a su utilización.

3.3. Recolección y preservación de muestras

Las muestras de las plantas de tratamiento fueron recolectadas mensualmente desde el 25 de enero de 2018 hasta el 24 de julio de 2019, tomando muestras del influente, efluente y lodo residual de la PTAR 1 y muestras del influente y efluente de la PTAR 2. Las muestras de agua residual fueron muestras compuestas, es decir, que se recolectaron durante un periodo de 24 h, mientras que las muestras de lodo residual corresponden a lodo mixto (primario y secundario) de ambas PTAR.

El procedimiento de preservación y toma de muestra se realizó de manera similar al reportado por Markus et al. (2018) [25]. De esta forma, de cada influente y efluente se tomó una muestra de aproximadamente 1.5 L en contenedores de plástico, que no fueron utilizados previamente, y una muestra de aproximadamente 0.5 L en contenedores de vidrio color ámbar, previamente lavados en baño de ácido nítrico y enjuagados con agua Milli-Q.

El día de la toma de muestra se llevaron a cabo los siguientes procedimientos con cada muestra:

- Las muestras del contenedor de vidrio color ámbar se acidificaron al 2% con $\text{HNO}_3_{\text{conc}}$ para preservar la muestra a $\text{pH} < 2$.
- De las muestras provenientes del contenedor de plástico, se filtraron aproximadamente 100 mL, con filtros de nylon para jeringa de $0.45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro, y seguidamente, 50 mL del filtrado se filtró nuevamente con filtros de nylon para jeringa con tamaño de poro de $0.22 \mu\text{m}$. Este procedimiento se comenzó a realizar a partir de las muestras tomadas el 28 de agosto de 2018.
- Medición de la conductividad y el pH de las muestras del influente y efluente de las PTAR.

Las muestras de agua acidificadas, los filtrados y las muestras de lodo se mantuvieron a 4°C hasta su análisis.

3.4. Metodología analítica

3.4.1 Fracciones metálicas analizadas en las muestras de agua residual

Los metales se analizaron en diferentes fracciones del agua residual, con el fin de conocer su distribución en la muestra. Para ello, desde el momento de la toma de muestra, las sub-muestras fueron tratadas siguiendo dos protocolos distintos. En la Tabla 3 se presentan las definiciones y nomenclatura de las fracciones analizadas, de acuerdo a la Instrucción Técnica Complementaria Sobre Determinaciones Químicas y Microbiológicas Para el Análisis de las Aguas (ITC-MMA.EECC-1/06) [48]. Para separar la fracción de metales disueltos (Me DIS) de la fracción de metales asociados a material particulado en suspensión (Me SS), se procedió a filtrar las muestras sin acidificar inmediatamente después de su toma, usando un filtro de 0.45 μm .

Tabla 3. Definiciones de las fracciones metálicas presentes en agua.

Fracción	Definición
Metal disuelto [Me] _{DIS}	Metal presente en una muestra de agua filtrada a través de una membrana de 0.45 μm .
Metal [Me] _{DIS} + [Me] _{SS'}	Metal disuelto y metal acumulado en los sólidos en suspensión re-disueltos al acidificar la muestra (SS'). La muestra se estabiliza con ácido a pH <2 y se filtra por membrana de 0.45 μm .
Metal total [Me] _{DIS} + [Me] _{SS}	Metal determinado sobre una <u>muestra no filtrada</u> tras un proceso de digestión.
Metal en los SS [Me] _{SS}	Metal presente en una muestra de agua que queda retenida en un filtro de membrana de 0.45 μm .

En el caso de la sub-muestra que se acidifica con $\text{HNO}_{3\text{conc}}$ inmediatamente después de su recolección, y que se filtra por un filtro de $0.45\ \mu\text{m}$ antes del análisis, el filtrado contiene la suma del metal disuelto originalmente más el metal re-disuelto al acidificar la muestra (Me SS'), proveniente del material particulado en suspensión, y compone la fracción de metales.

Por último, si la muestra no se filtra y se trata con una digestión ácida, sin importar si ha sido o no acidificada, la fracción se denomina de metales totales, siendo la suma de los metales disueltos más los que están asociados al material particulado en suspensión.

3.4.2. Protocolo analítico

En la Figura 7 se muestra el protocolo analítico seguido para el análisis de las muestras de agua residual y lodo.

Se tomaron 2 sub-muestras de agua residual, una de ellas fue acidificada para determinar metales y metales totales. La fracción de agua que no se acidificó fue utilizada para determinar NPs. El lodo residual se utilizó para determinar metales totales utilizando un procedimiento de digestión para Ag, y otro para el resto de los metales.

3.4.3. Preparación de la muestra para metales en agua residual

La determinación de metales de las muestras del influente y efluente de las PTAR 1 y 2, se llevó a cabo según el protocolo presentado en la Fig. 7. Las muestras analizadas fueron las acidificadas con $\text{HNO}_{3\text{conc}}$, el día de la toma de muestra, por lo que el contenido de metales en estas muestras se corresponde a la suma del metal disuelto más el metal proveniente de los sólidos en suspensión que fueron re-disueltos al acidificar la muestra (Tabla 3). Posteriormente, las muestras fueron filtradas con filtros de nylon de tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$ y el análisis se realizó con el ICP-OES, utilizando un nebulizador concéntrico.

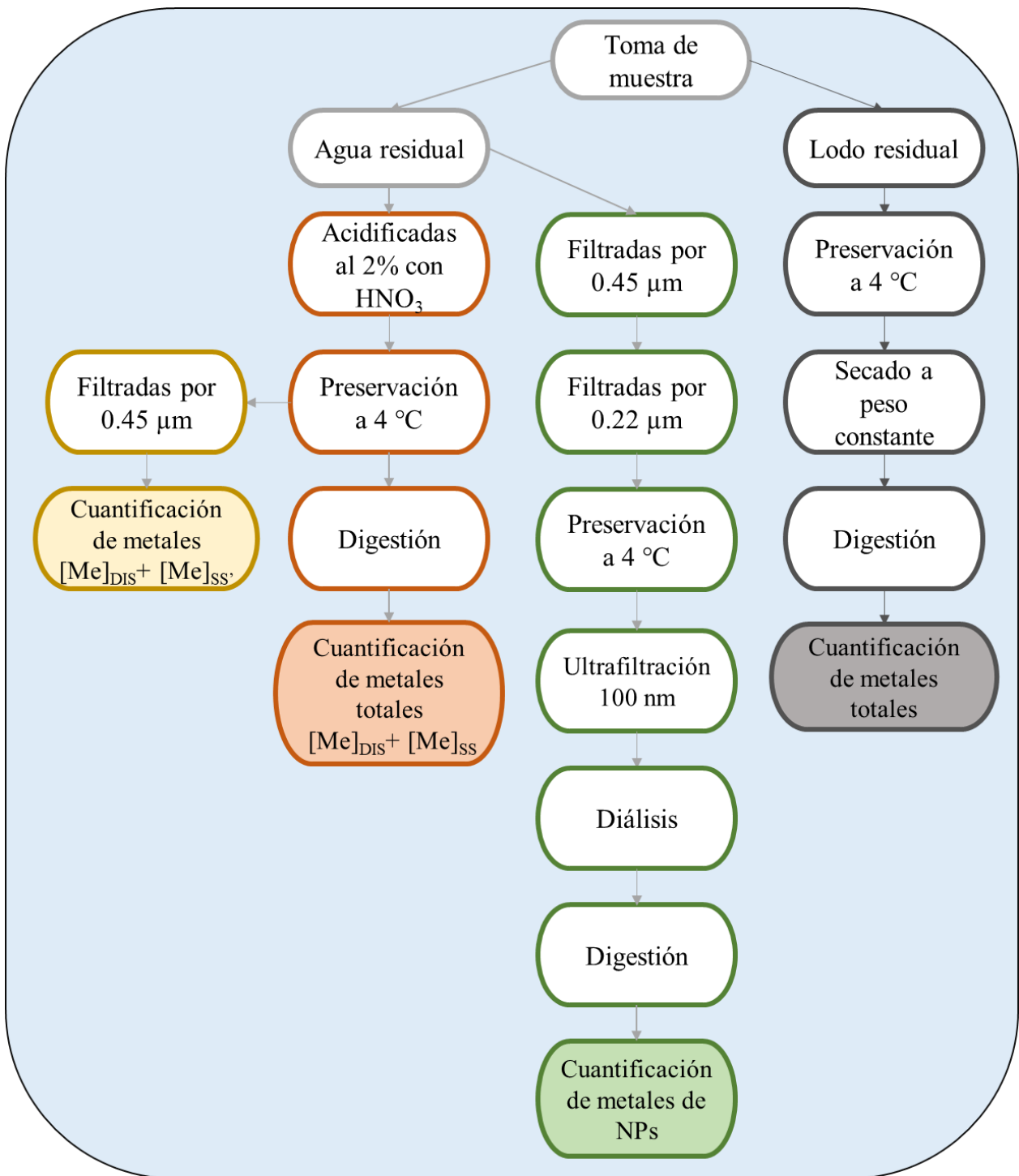


Figura 7. Proceso analítico para la determinación de NPs, metales, metales totales en agua residual y metales totales en lodo residual.

Además, se realizó la determinación de metales totales en las muestras de influentes y efluentes de agua residual, para lo cual las muestras acidificadas fueron digeridas (Tabla 3). Para la digestión de la muestra se siguió una versión modificada del método de “Digestión ácida asistida por microondas para matrices silíceas y orgánicas” de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (Método EPA 3052). Para ello, se tomaron 4 mL de muestra de agua residual y se transfirieron a vasos de teflón para microondas, se agregaron 2 mL de HNO_3 conc y 0.4 mL de HF_{conc} , que se sometieron a un proceso de digestión asistida por microondas en el cual se aumentó la temperatura a 180°C en 10 min y se mantuvo por 9.3 min. Luego de la digestión, los vasos se enfriaron en campana de extracción hasta temperatura ambiente y se agregaron 6 mL de H_3BO_3 al 4% para neutralizar el HF residual. Se introdujeron los vasos al microondas nuevamente y se aumentó la temperatura hasta 170°C en 15 min y se mantuvo durante otros 15 min. La muestra digerida se aforó en matraces de 20 mL. El análisis se realizó con ICP-OES utilizando una cámara Scott. Todos los análisis se realizaron por duplicado.

3.4.4. Preparación de la muestra para metales en lodo residual

Para la determinación de metales totales en lodos residuales se utilizó una versión modificada del método EPA 3052. Se tomaron aproximadamente 0.5 g de lodo previamente secado a peso constante, se adicionaron 8 mL de HNO_3 conc, 1 mL HF_{conc} y 1 mL H_2O_2 . Se sometió la muestra a digestión en microondas (temperatura y tiempo descrito previamente), y se neutralizó el HF residual con 15 mL de H_3BO_3 al 4%. La solución se filtró con filtros de jeringa de nylon de $0.45\ \mu\text{m}$ y se llevó para su análisis mediante ICP-OES con cámara Scott. Las muestras se analizaron por duplicado.

Para la determinación de Ag en muestras de lodo se empleó el método de “Digestión ácida asistida por microondas para sedimentos, lodos, suelos y aceites” (EPA 3051). Se tomaron aproximadamente 0.5 g de lodo seco y se adicionaron 9 mL de HNO_3 conc, 3 mL HCl_{conc} y 1 mL H_2O_2 , se colocaron en el digestor de microondas y se aumentó la temperatura hasta 170°C en 10 min y se mantuvo durante otros 10 min.

Posteriormente a la digestión se filtró con un tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$ y se llevó para su análisis mediante ICP-OES con nebulizador ultrasónico. Las muestras se analizaron por duplicado.

3.4.5. Fraccionamiento de NPs en agua residual

Para la determinación de NPs en las muestras de agua residual se utilizaron las muestras filtradas por $0.22\ \mu\text{m}$. Primero, se realizó un proceso de ultrafiltración con filtros de jeringa de $100\ \text{nm}$ de tamaño de poro, con el objetivo de remover las partículas superiores a $100\ \text{nm}$. Posteriormente, las muestras se colocaron en un tubo de diálisis con MCWO de $12.4\ \text{kDa}$, con el fin de remover sales e iones disueltos; el proceso de diálisis se realizó durante $6\ \text{h}$ con 1.5 litros de agua ultra pura, agitación a $500\ \text{rpm}$ y realizándose un cambio de $50\ \text{mL}$ de agua. Luego del proceso de diálisis, la muestra se transfirió a tubos de teflón para microondas y se realizó el proceso de digestión mencionado en el apartado 3.4.3. Las muestras se analizaron por duplicado mediante ICP-OES con cámara Scott. El diagrama del proceso se muestra en la Figura 8.

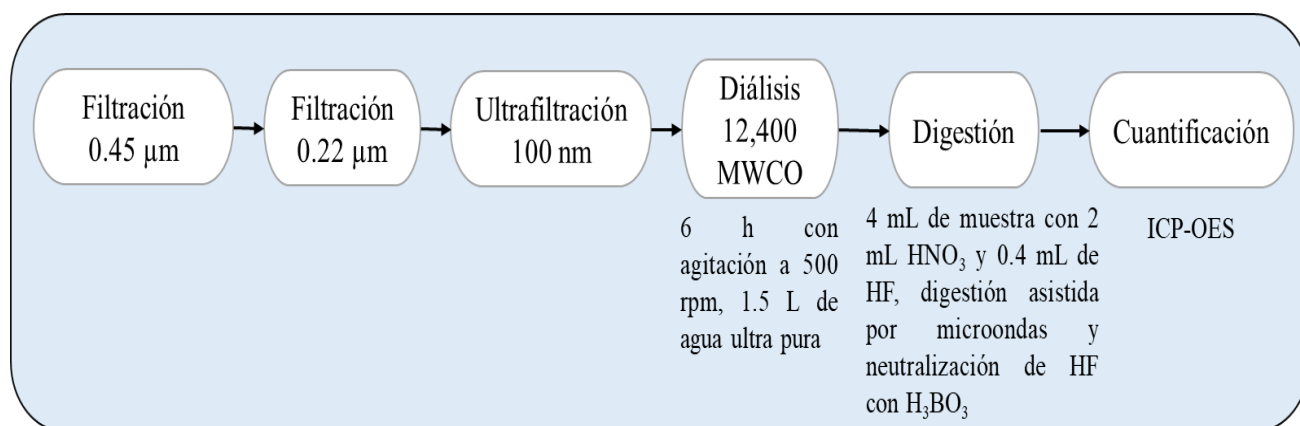


Figura 8. Proceso de separación, digestión y cuantificación de NPs en muestras de agua residual.

3.5. Instrumentación

Un horno de microondas Multiwave Go (Anton Paar) se utilizó para la digestión de las muestras de agua residual y de lodo.

El pH de las muestras se midió con un pHmetro Crison modelo microPH 2002 y la conductividad con un conductímetro Crison modelo GLP 32.

Para el análisis cualitativo de la extracción del ZnO-NPs con CPE se empleó un espectrofotómetro de arreglo de diodos UV-Vis Hewlett Packard, modelo 8453 (G1103A).

Para la cuantificación analítica se utilizó un espectrómetro de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP-OES) Perkin Elmer, Optima 5300 DV. El sistema de introducción de muestra se modificó durante los experimentos: para las muestras que fueron digeridas utilizando HF_{conc} (metales totales y NPs) se utilizó una cámara de tipo Scott con nebulizador tipo PFA, para no dañar el equipo en caso de HF remanente, mientras que para las muestras en las que únicamente se acidificó con $\text{HNO}_{3\text{conc}}$ (metales) se empleó un nebulizador de tipo concéntrico convencional, y en el caso de digestión con $\text{HNO}_{3\text{conc}}$ y HCl_{conc} (Ag en lodo residual) se utilizó el nebulizador ultrasónico, para aumentar la señal analítica.

En la Tabla 4 se muestran los parámetros instrumentales utilizados para la medición en el ICP-OES. Las líneas utilizadas para cada uno de los analitos son las siguientes: Ag 328.068 nm, As 188.979 nm, Au 242.795 nm, Ba 230.425 nm, Be 313.042 nm, Cd 214.044, Co 230.786 nm, Cr 205.560 nm, Cu 324.752, Li 670.784 nm, Mn 257.610 nm, Mo 202.031 nm, Ni 231.604 nm, Pb 220.353 nm, V 292.402 nm, Zn 206.200 nm. El estándar interno utilizado fue itrio, de modo que se trabajó siempre verificando la señal analítica del itrio, comparando el área de las muestras y corroborando que no se presente una desviación mayor al 5% del promedio de señal analítica obtenida para el día de análisis.

La comprobación de la adecuada separación de las NPs de origen metálico y su composición química, se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido

(SEM). Además, la técnica SEM se usó para verificar la presencia de nanopartículas metálicas y su composición en el lodo residual. Se empleó un Hitachi S-3400N equipado con un sistema para microanálisis RX-EDS QUANTAX. El proceso de toma de imagen se realizó a un voltaje de 15 kV.

Tabla 4. Parámetros empleados en ICP-OES.

Parámetros instrumentales	Con cámara Scott	Con nebulizador concéntrico	Con nebulizador ultrasónico
Poder de radiofrecuencia	1300 W	1300 W	1300 W
Flujo de plasma	15 L min ⁻¹	15 L min ⁻¹	15 L min ⁻¹
Flujo de gas auxiliar	0.2 L min ⁻¹	0.2 L min ⁻¹	0.2 L min ⁻¹
Flujo de nebulizador	0.65 L min ⁻¹	0.7 L min ⁻¹	0.7 L min ⁻¹
Flujo de toma de muestra	1.5 mL min ⁻¹	1.5 mL min ⁻¹	2.5 mL min ⁻¹
Equilibrio de descarga	15 s	0 s	30 s
Retraso de toma de muestra	30 s	15 s	60 s
Tiempo de lectura	5 s	2 s	5 s
Tiempo de lavado	30 s	15 s	60 s

CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Valores de pH y conductividad de las muestras de agua residual

En la Figura 9 se muestran el (a) pH y (b) la conductividad de las muestras del influente y efluente de ambas PTAR.

El pH varió en un rango entre 6.2 y 8.4 para influentes y 6.6 y 8.4 para efluentes, a excepción de una muestra que presentó un valor de pH de 4.0. Los valores normales de pH en aguas residuales municipales se encuentran en rangos de 6.5 a 8.5 [49], y en Turquía se reportaron valores de pH para agua residual urbana, entre 7.86 a 8.13 [50].

En general, las muestras del influente de la PTAR 2 presentaron una disminución en el pH durante los meses de verano, más específicamente en la muestra correspondiente a agosto-2018. Una bajada de pH puede relacionarse a procesos de contaminación, generalmente debidos a la presencia de ácidos débiles como H_2PO_4^- , CO_2 , H_2S , proteínas, ácidos grasos y algunos iones metálicos ácidos, particularmente el Fe^{3+} . Adicionalmente, la acidez es generada por la presencia de CO_2 [51]. El uso de vehículos es la principal fuente móvil de emisión de CO_2 , mientras que el humano es una fuente natural [52], por lo que la presencia del turismo podría estar estrechamente relacionada a la disminución del pH en el agua residual.

Por otro lado, se observó un aumento en la conductividad en las muestras del influente y efluente de la PTAR 1 de agosto-2018 y de julio-2019, temporada en la que se presenta una gran afluencia turística en Mallorca. La conductividad es considerada un parámetro de calidad de agua, viéndose afectada por la presencia de sólidos inorgánicos disueltos como cloruros, nitratos, sulfatos, fosfatos y por cationes como sodio, magnesio, calcio, hierro y aluminio. Cambios significativos en la conductividad pueden indicar alguna fuente de contaminación o la intrusión de agua salada [53]. La presencia de cationes puede incrementarse por el aumento de la población, en el caso del sodio y el calcio se presentan en gran cantidad de alimentos, mientras que el magnesio y el aluminio son utilizados en cosméticos [54].

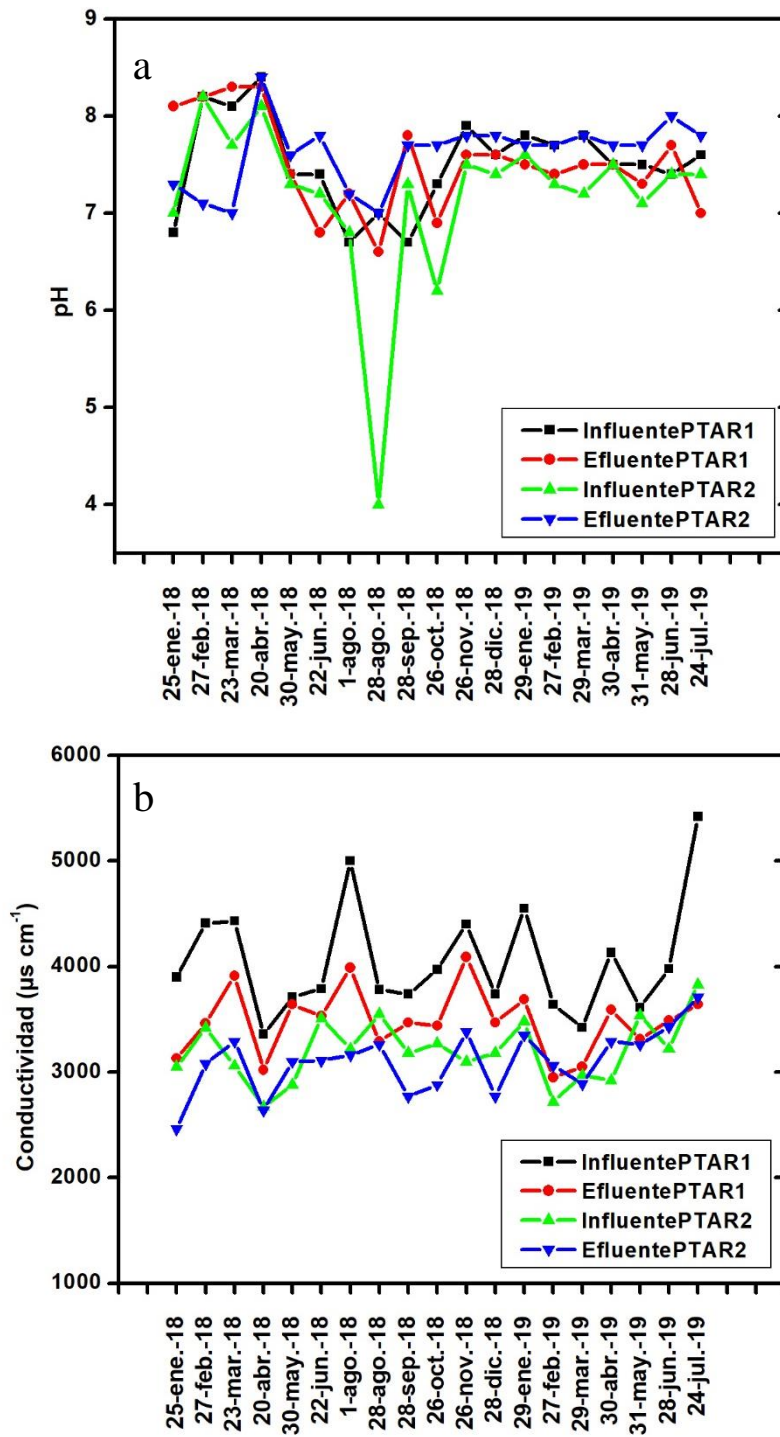


Figura 9. Parámetros de influentes y efluentes de PTAR 1 y 2. (a) pH y (b) Conductividad eléctrica ($\mu\text{s cm}^{-1}$).

4.2 Concentración de metales en muestras de agua residual

Se realizó una determinación de metales en las muestras del influente y efluente de agua residual correspondiente a los meses de enero-2018 a agosto-2018, con el objetivo de obtener un primer panorama de la distribución temporal de metales. Los metales determinados por ICP-OES en esta primera etapa fueron Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Ni, Pb, V y Zn.

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) fueron calculados siguiendo el criterio de la IUPAC, que establece tres y diez veces la desviación estándar de mediciones repetidas e independientes del blanco ($n=10$), sobre la pendiente de la curva de calibración, para el LD y el LC, respectivamente [6]. Los blancos para la determinación de metales en agua residual se corresponden a blancos con HNO_3 al 2%. En la Tabla 5 se muestran los LD y LC para la determinación de metales en agua residual.

Tabla 5. Límites de detección y cuantificación para la determinación de metales en agua residual por ICP-OES.

Elemento	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LC ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ag	5.2	17.3
As	13.2	44.1
Cd	0.6	1.9
Co	0.9	2.9
Cr	0.9	3.1
Cu	1.2	4.1
Li	0.5	1.8
Mn	0.6	2.0
Ni	2.7	9.1
Pb	5.4	17.8
V	1.6	5.5
Zn	6.8	22.7

Como parte de la validación del método empleado, y con el objetivo de evaluar la exactitud, se realizó el análisis de un material de referencia certificado (CRM) de agua residual, SPS-WW2 batch 106 por ICP-OES. Los porcentajes de recuperación se muestran en la Tabla 6. Se observa que los metales presentes en el CRM SPS-

WW2 fueron cuantificados de manera satisfactoria, obteniendo porcentajes de recuperación superiores al 96% en todos los casos.

Tabla 6. Porcentajes de recuperación del CRM SPS-WW2 para metales por ICP-OES. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar (n=3).

Elemento	Valor certificado $\mu\text{g L}^{-1}$	Valor encontrado $\mu\text{g L}^{-1}$	% Recuperación
As	500 \pm 3	510 \pm 30	102
Co	300 \pm 2	296 \pm 5	99
Cd	100.0 \pm 0.5	102 \pm 2	102
Cr	1000 \pm 5	990 \pm 40	99
Cu	2000 \pm 10	1922 \pm 18	96
Mn	2000 \pm 10	1958 \pm 7	98
Ni	5000 \pm 25	4940 \pm 50	99
Pb	500 \pm 3	506 \pm 6	101
V	500 \pm 3	500 \pm 3	100
Zn	3000 \pm 15	3165 \pm 10	105

Para el análisis, las muestras fueron acidificadas con $\text{HNO}_{3\text{conc}}$ y filtradas con filtros de nylon con tamaño de poro de 0.45 μm . Los analitos se determinaron por ICP-OES (sección 3.4.2.). En la Figura 10 y 11 se muestran los resultados de ambas PTAR y en el Anexo I se presentan las tablas con los datos.

La Ag no fue detectada en las muestras analizadas, debido a que los límites de detección y cuantificación del método (Tabla 5) no son lo suficientemente bajos para determinar este analito en matrices ambientales. Un ejemplo son las concentraciones de Ag reportadas en los influentes de 9 PTAR en Alemania, con una concentración máxima de 3.05 $\mu\text{g L}^{-1}$ [55].

El Cd, Co y el As tampoco fueron detectados en ninguna de las muestras de agua residual.

En términos generales, la concentración de los metales en las aguas residuales fue superior en la PTAR 1, con excepción del Cr. Particularmente, los influentes de la PTAR 1 mostraron las concentraciones más elevadas de Cr, Li, Mn, Ni, V y Zn en la muestra de agosto-2018 (Figura 10a). Cabe mencionar que durante el 2018, la

mayor afluencia turística en Mallorca fue en el periodo Julio-Agosto, según los datos estadísticos del Institut d'Estadística de les Illes Balears [46].

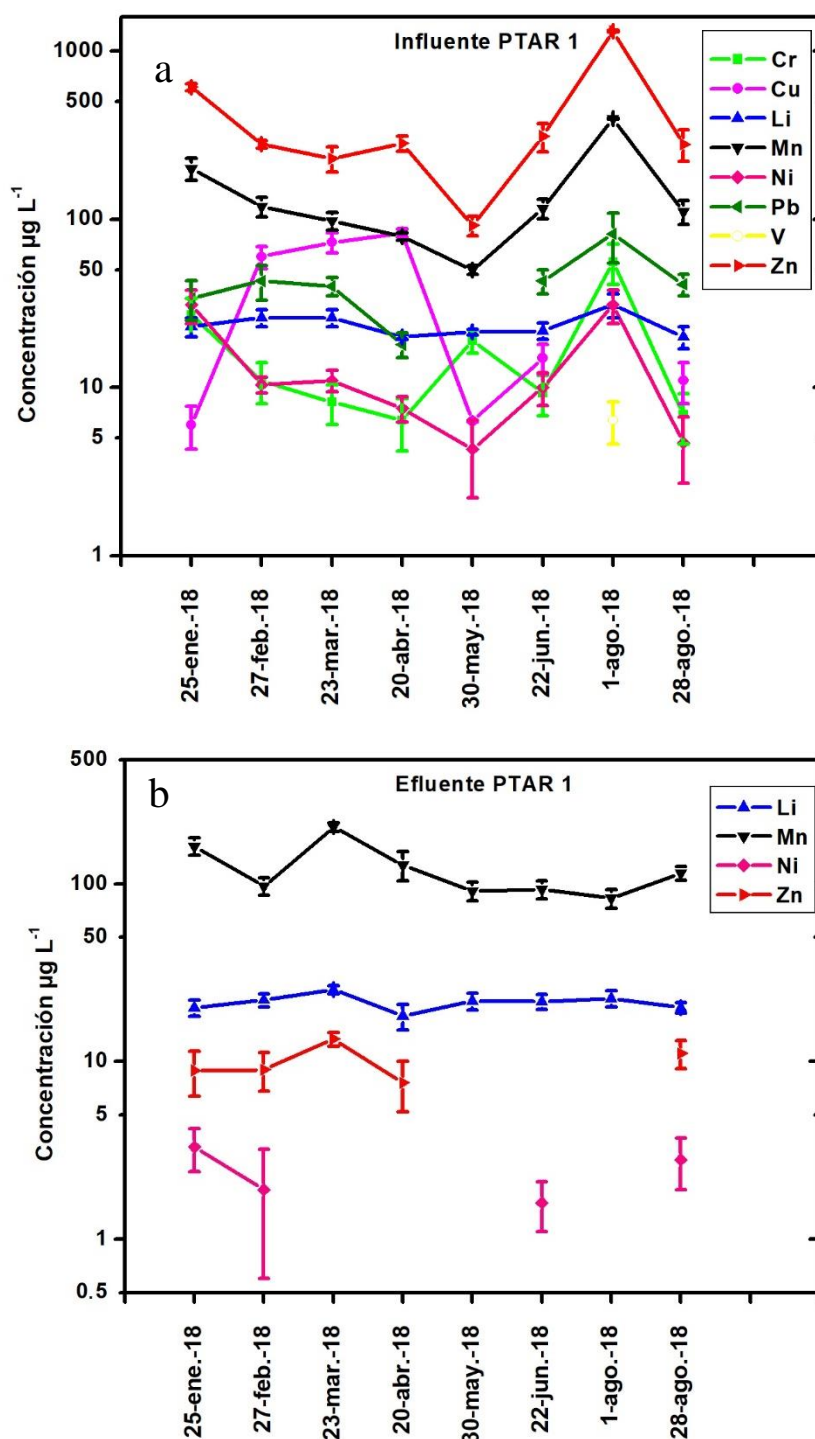


Figura 10. Distribución temporal de metales en PTAR 1. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar ($n=2$).

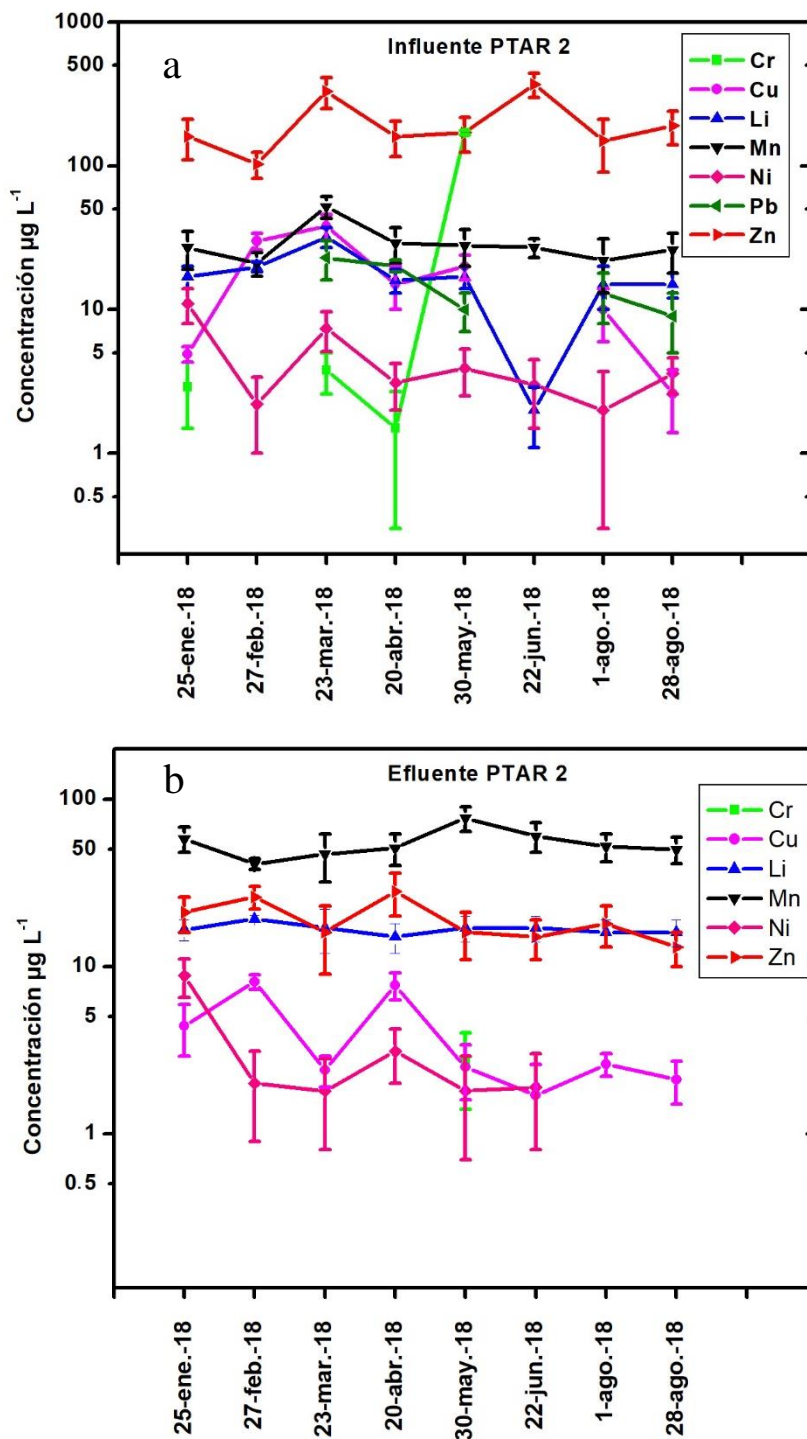


Figura 11. Distribución temporal de metales en PTAR 2. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).

4.3 Metales totales en muestras de agua residual

La determinación de metales totales se realizó de enero-2018 hasta junio-2019. Este análisis se llevó a cabo por ICP-OES para todos los metales incluidos en los objetivos: Ag, As, Au, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn.

Los LD y LC se calcularon siguiendo el criterio de la IUPAC y los blancos utilizados fueron sometidos al mismo tratamiento que la muestra: digestión con HF_{conc} y HNO_{3conc}. En la Tabla 7 se muestran los LD y LC para metales totales en agua residual.

Tabla 7. Límites de detección y cuantificación para la determinación de metales totales en agua residual por ICP-OES.

Elemento	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LC ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Ag	0.9	3.0
As	6.8	22.8
Au	1.3	4.2
Ba	0.9	2.9
Be	0.1	0.4
Cd	0.1	0.5
Co	0.8	2.6
Cr	0.4	1.2
Cu	0.6	2.0
Li	0.05	0.16
Mn	0.4	1.3
Mo	0.5	1.8
Ni	1.0	3.5
Pb	2.3	7.7
V	0.3	1.0
Zn	4.5	14.9

El material de referencia certificado (CRM) de agua residual SPS-WW2 batch 106 fue empleado para la validación de los métodos utilizados y para evaluar la exactitud de su protocolo de análisis. El tratamiento de muestra consistió en una digestión ácida asistida por microondas del agua residual con el método EPA 3052 (Sección

3.4.3). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 8, donde puede observarse que se obtuvieron recuperaciones satisfactorias, entre un 80 y 96%.

Tabla 8. Porcentajes de recuperación del CRM SPS-WW2 sometido a un proceso de digestión. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar para (n=3).

Elemento	Valor certificado $\mu\text{g L}^{-1}$	Valor encontrado $\mu\text{g L}^{-1}$	% Recuperación
As	500 \pm 3	420 \pm 4	84
Cd	100.0 \pm 0.5	87.4 \pm 2.4	87
Co	300 \pm 2	276 \pm 9	92
Cr	1000 \pm 5	940 \pm 50	94
Cu	2000 \pm 10	1910 \pm 10	95
Mn	2000 \pm 10	1833 \pm 7	92
Ni	5000 \pm 25	4809 \pm 3	96
Pb	500 \pm 3	400 \pm 6	80
V	500 \pm 3	470 \pm 10	94
Zn	3000 \pm 15	2784 \pm 4	93

Adicionalmente, se realizaron ensayos de adición/recuperación de los metales de interés en una muestra de influente de agua residual de la PTAR 1. La Tabla 9 muestra los resultados obtenidos. Los porcentajes de recuperación se encuentran entre el 90 y 103%, con excepción del As, con un porcentaje de recuperación del 85%.

Las Figuras 12 y 13 muestran los resultados para metales totales en agua residual de la PTAR 1 y PTAR 2, respectivamente. Los datos se encuentran en el Anexo II.

Los metales Ag, As, Au, Be, Cd, Co y Mo no fueron detectados en ninguna muestra de agua residual. En la Figura 12a se muestran los metales encontrados en los influentes de la PTAR 1, donde se pueden visualizar tres máximos distintivos para el Cr, Cu, Mn, Ni y Zn, correspondientes a las muestras de enero-2018, agosto-2018 y de abril-2019, mientras que el Ba, Mn y V únicamente presentaron dos máximos incluyendo la muestra de agosto-2018. Todos los metales detectados, con excepción del Mn, presentaron su máximo más prominente en verano 2018 (01-gosto-2018). En los efluentes de la PTAR 1 únicamente se detectaron el Li y el Mn (Figura 12b).

Tabla 9. Ensayos de adición/recuperación en muestra de influente de agua residual de la PTAR 1. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar (n=3).

Elemento	Concentración añadida $\mu\text{g L}^{-1}$	Valor encontrado $\mu\text{g L}^{-1}$	% Recuperación
Ag	0	0	
	100	96.6 \pm 0.9	97
As	0	0	
	100	85 \pm 30	85
Au	0	0	
	100	98 \pm 3	98
Ba	0	41 \pm 6	
	100	139 \pm 5	97
Be	0	0	
	100	90 \pm 5	90
Cd	0	0	
	100	93 \pm 2	93
Co	0	0	
	100	91.0 \pm 0.9	91
Cr	0	0	
	100	95.3 \pm 2.5	95
Cu	0	0	
	100	96 \pm 7	96
Li	0	18.7 \pm 0.4	
	100	112.2 \pm 1.0	94
Mn	0	213 \pm 7	
	100	309.5 \pm 1.2	97
Mo	0	0	
	100	94 \pm 7	94
Ni	0	0	
	100	94.5 \pm 1.3	95
Pb	0	0	
	100	90 \pm 12	90
V	0	0	
	100	99.1 \pm 0.7	99
Zn	0	180 \pm 9	
	100	283 \pm 5	103

Para verificar que los metales en los influentes de la PTAR 1 presentan comportamientos similares, se evaluaron los coeficientes de correlación de Pearson

y se evaluó su significancia, encontrándose correlación significativa para todos los metales, con un 95% de confianza. En la Figura 14a se muestran los coeficientes de correlación para los diferentes metales de los influentes de la PTAR 1. Se presentaron correlaciones superiores a 0.80 para el Zn con Ba, Cr, Cu, Mn, Ni y V; para el V con Cr, Ni y Pb; para el Pb con el Cr; para el Ni con el Ba, Cr y Cu; para el Mn con el Cu; para el Cu con el Ba y Cr y para el Ba con el Cr.

En la Figura 13a, se muestran las concentraciones de metales de los influentes de la PTAR 2. Se puede observar que, de manera general, presentaron menores concentraciones que los influentes de la PTAR 1. La PTAR 2 presentó dos máximos de concentraciones para el Ba, Cu, Mn, Ni y Zn, correspondientes a las muestras de enero-2018 y marzo-2019 o abril-2019. En el influente de la PTAR 2 no se detectó Pb ni V. En el caso del Cr y el Li, la concentración máxima de las muestras analizadas se presentó mayo-2018 y enero-2018, respectivamente. Los metales detectados en los efluentes (Figura 13b) fueron el Li, Mn y ocasionalmente el Zn.

De igual manera que en los influentes de la PTAR 1, se evaluó la correlación de Pearson para los diferentes metales de influentes de la PTAR 2, encontrándose significativas las superiores al 0.5, con un 95% de confianza. En la Figura 14b se muestran los coeficientes de correlación para los metales de influentes de la PTAR 2. Las correlaciones significativas se presentaron para el Zn con el Ba, Cu, Mn y Ni; para el Ni con el Ba, Cu, Li y Mn y para el Mn con el Ba.

En el Anexo II se muestran los valores obtenidos de los coeficientes de correlación de Pearson para ambas PTAR.

Las concentraciones encontradas en los influentes y efluentes de ambas PTAR se encuentran en los órdenes de magnitud reportados por otros autores. En el presente estudio, el Zn presentó concentraciones de influentes de ambas PTAR en un rango de 90 a 1409 $\mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en el norte de Italia, Turquía y Tailandia las concentraciones de influentes de PTAR para Zn son de 1698 $\mu\text{g L}^{-1}$, 387-1036 $\mu\text{g L}^{-1}$ y 58.05-1569 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente [5,50,56]. En los efluentes estudiados las concentraciones de Zn se encontraron entre <LD a 77 $\mu\text{g L}^{-1}$, las reportadas para Tailandia están en un rango de 31.71 a 331.90 $\mu\text{g L}^{-1}$ [56].

Como se mencionó anteriormente, la Ag no se detectó en ninguna de las muestras de agua residual. Los valores de Ag reportados por Lingxiangyu et al. (2013) para influentes de 9 PTAR ubicadas en Alemania, oscilan entre 0.32 y 3.05 $\mu\text{g L}^{-1}$ [55], que se encuentran cerca del LD del método empleado.

En la Tabla 10 se muestran las concentraciones obtenidas para distintos metales en influentes y efluentes de agua residual, en PTAR en Tailandia, Turquía, Alemania y el presente estudio.

Tabla 10. Concentraciones de metales totales en agua residual.

Rangos de concentración $\mu\text{g L}^{-1}$								
Influente						Efluente		
Ref.	Chanpiwat et al. (2019), Tailandia [56]	Üstün et al. (2009), Turquía (2002) [50]	Üstün et al. (2009), Turquía (2007) [50]	Lingxiangyu et al. (2013), Alemania ^a [55]	Presente estudio, Mallorca, España	Chanpiwat et al. (2019), Tailandia [56]	Presente estudio, Mallorca, España	
Ag	---	---	---	0.32-3.05	ND	---	ND	
As	---	---	---	---	ND	---	ND	
Au	---	---	---	---	ND	---	ND	
Ba	---	---	---	---	22-290	---	ND	
Be	---	---	---	---	ND	---	ND	
Cd	ND-17.16	0-10	0-137	---	ND	ND-1.81	ND	
Co	---	---	---	---	ND	---	ND	
Cr	2.87-72.54	742-1171	174-2120	---	ND-221	0.65-23.98	ND	
Cu	13.99-5657	9-400	12-179	---	ND-223	3.91-614.90	ND	
Li	---	---	---	---	14.6-25.6	---	13.6-19.4	
Mn	75.68-508.5	42-139	97-217	---	19.3-438	18.46-361.90	32.9-212	
Mo	1.06-21.52	---	---	---	ND	0.78-6.32	ND	
Ni	4.88-116.60	0-202	59-202	---	ND-46	3.36-51.53	ND	
Pb	2.93-79.33	1-47	6-358	---	ND-160	0.70-17.45	ND	
V	---	---	---	---	ND-15.7	---	ND	
Zn	58.05-1569	204-1036	303-982	---	93.3-1409	31.71-331.90	ND-77	

^aRango de nueve PTAR.
 ND: No detectado
 ---Sin datos

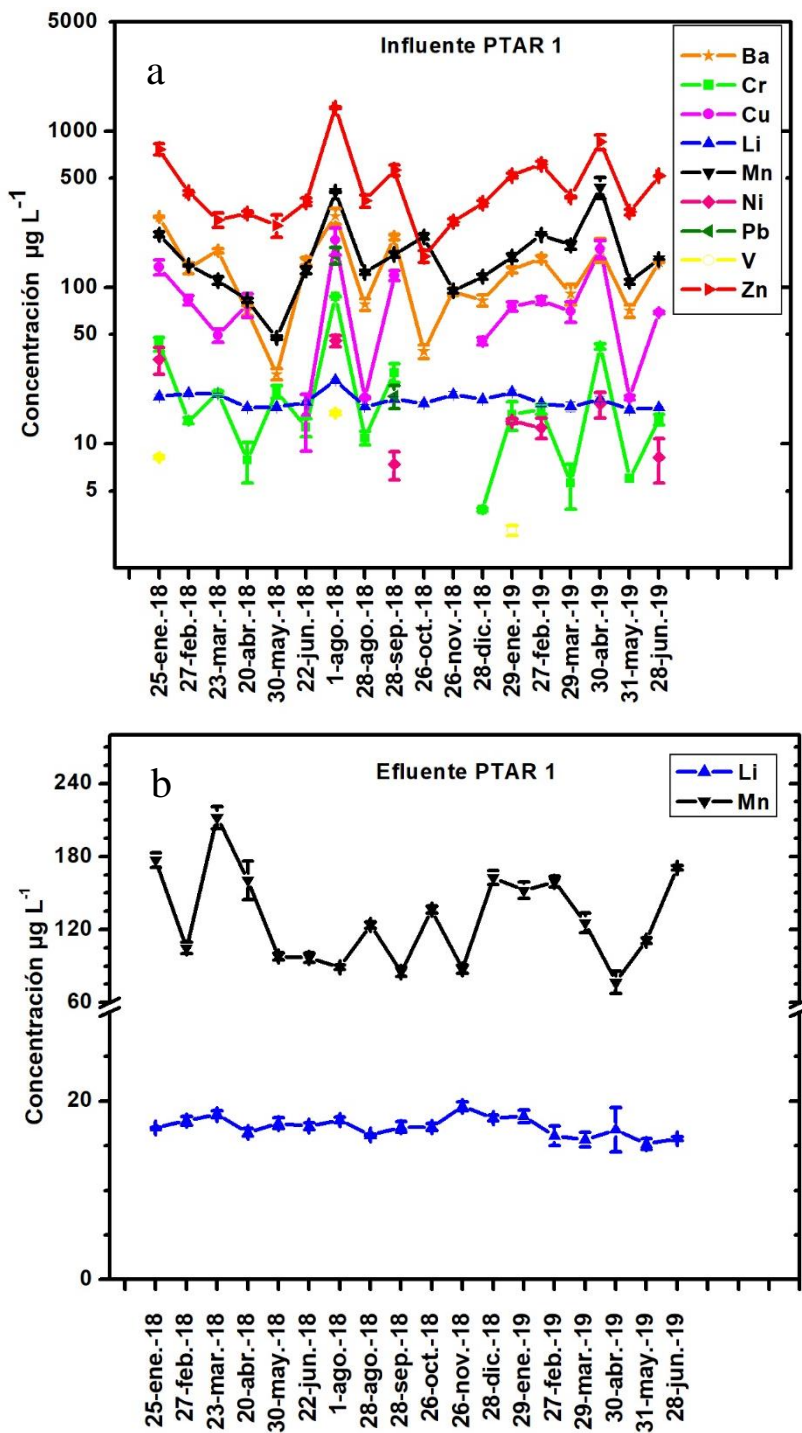


Figura 12. Distribución temporal de metales totales en PTAR 1. (a) Influentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).

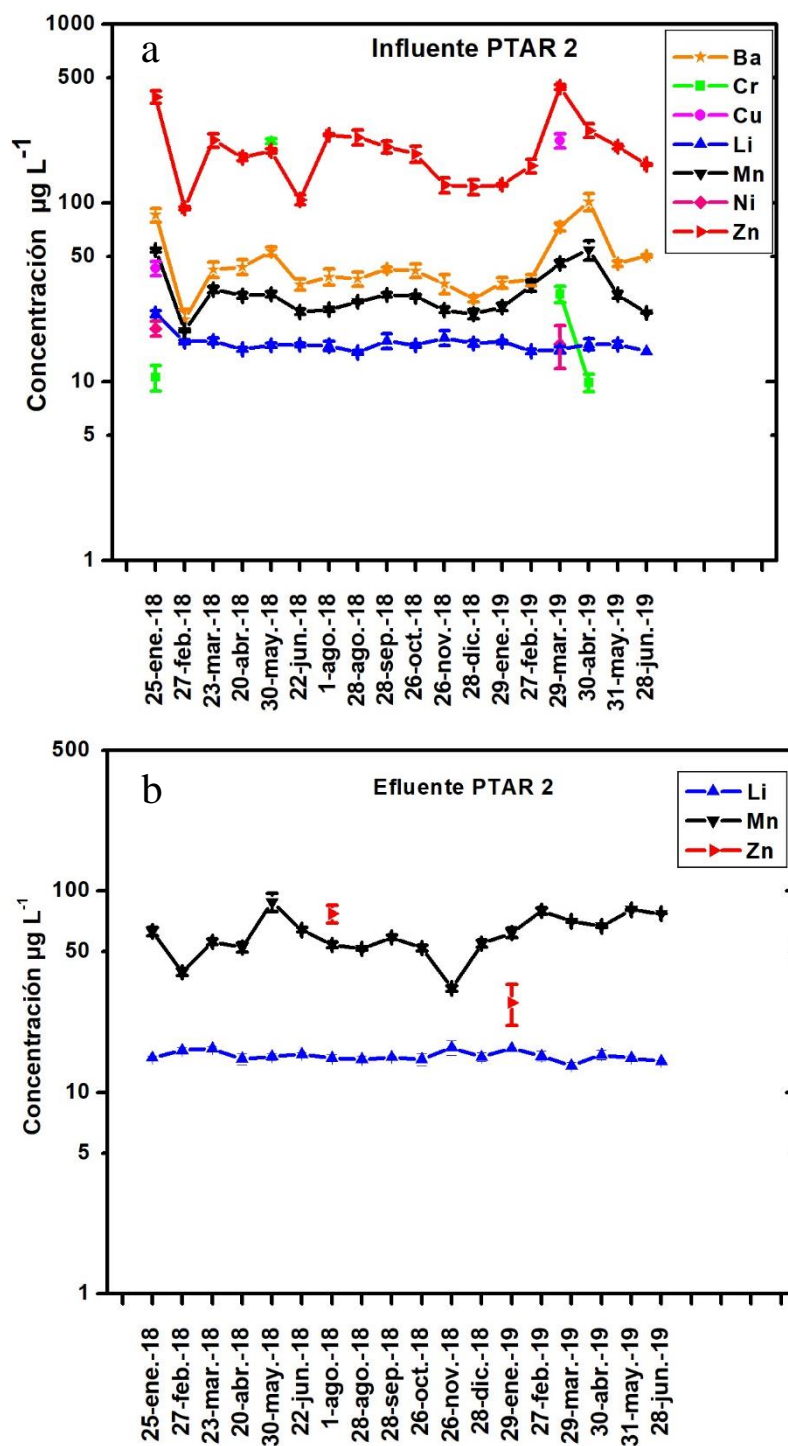


Figura 13. Distribución temporal de metales totales en PTAR 2. (a) Influyentes y (b) Efluentes. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).

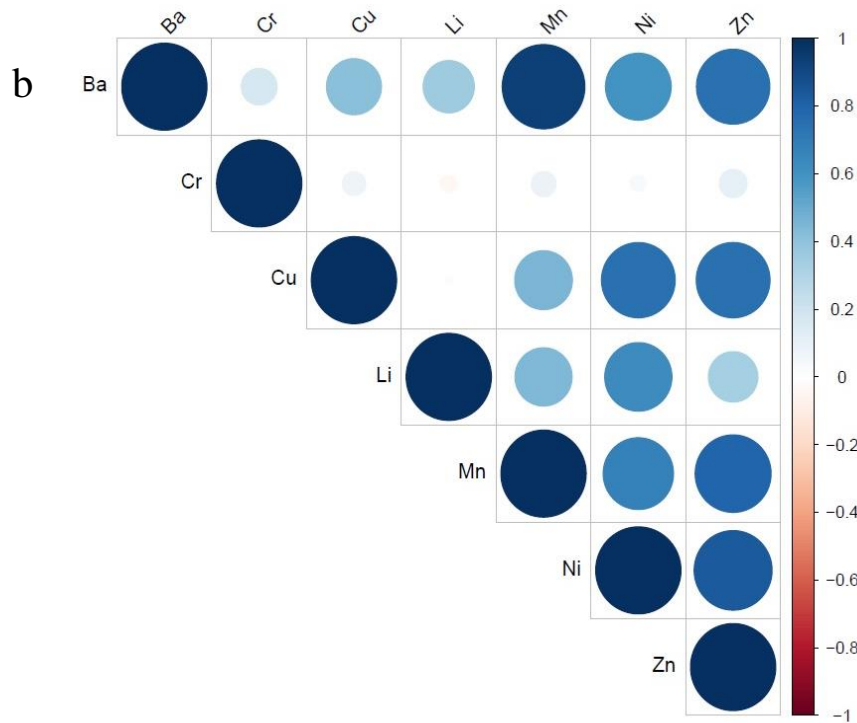
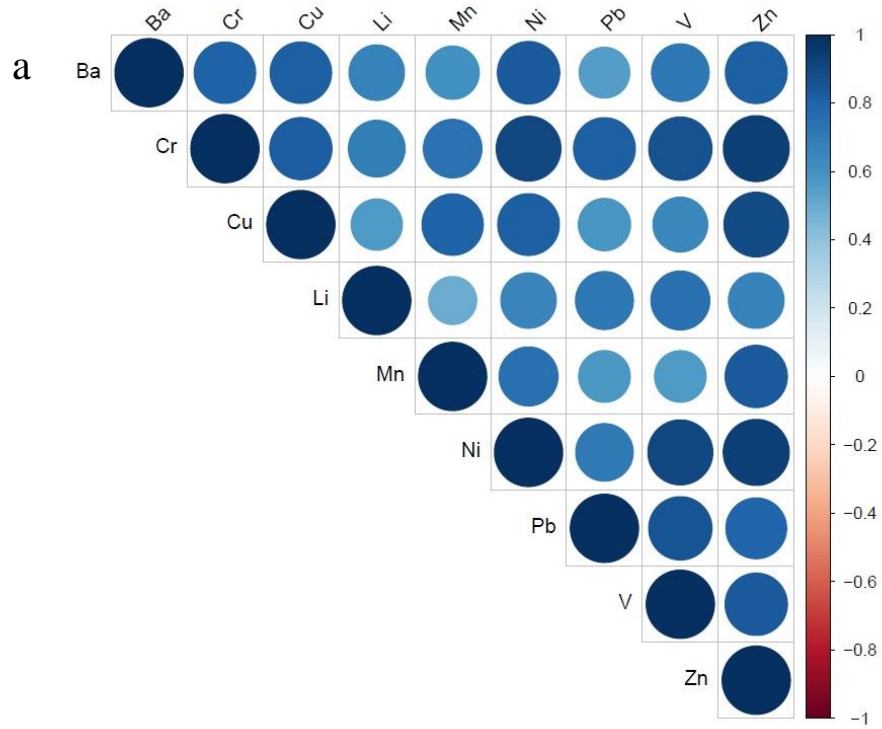


Figura 14. Coeficientes de correlación de Pearson para influentes de agua residual. (a) PTAR 1 y (b) PTAR 2.

4.4 Metales totales en muestras de lodo residual

Los metales totales fueron determinados en las muestras de lodo residual seco. Las muestras utilizadas fueron tomadas desde enero-2018 a julio-2019 con excepción de septiembre-2018, mes en el cual no se obtuvo muestra. El análisis se llevó a cabo para todos los metales incluidos en el objetivo general: Ag, As, Au, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn.

Los LD y LC se calcularon con el criterio de la IUPAC, siendo los blancos utilizados sometidos al mismo pretratamiento que las muestras: digestión con HF_{conc} (metales totales) y digestión con HCl_{conc} (Ag). Los LD y LC se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Límites de detección y cuantificación para la determinación de metales totales en lodo.

Elemento	LD $\mu\text{g L}^{-1}$	LC $\mu\text{g L}^{-1}$
Ag*	1.3	4.3
As	4.9	16.2
Au	0.7	2.4
Ba	1.1	3.7
Be	0.2	0.7
Cd	0.2	0.6
Co	0.4	1.5
Cr	1.2	4.0
Cu	0.7	2.2
Mn	0.7	2.5
Mo	0.8	2.7
Ni	0.8	2.6
Pb	2.5	8.3
V	0.4	1.4
Zn	5.82	19.40

*Valor obtenido con nebulizador ultrasónico y digestión con HCl.

El material de referencia certificado para la validación de los procedimientos de digestión asistida por microondas fue el suelo *Loamy Clay* CRM052. Este suelo se sometió al mismo protocolo de análisis que las muestras, obteniéndose porcentajes de recuperación entre 90 y 110%, que se consideran satisfactorios (Tabla 12).

Tabla 12. Porcentajes de recuperación del CRM052. Los resultados se expresan como la concentración media \pm la desviación estándar para (n=3).

Elemento	Valor certificado mg kg⁻¹	Valor encontrado mg kg⁻¹	% Recuperación
Ag*	49.7 \pm 1.12	51.3 \pm 1.2	103
As	227 \pm 4.54	207 \pm 5	91
Ba	238 \pm 6.33	263 \pm 6	110
Be	105 \pm 2.93	93.5 \pm 0.8	90
Cd	256 \pm 6.81	253 \pm 5	99
Cr total	334 \pm 4.32	375 \pm 3	112
Co	67.9 \pm 2.21	72.9 \pm 2.2	107
Cu	131 \pm 2.75	117 \pm 3	90
Pb	108 \pm 2.35	97.5 \pm 1.4	90
Mn	572 \pm 39.1	580 \pm 70	101
Mo	174 \pm 6.03	177.6 \pm 2.0	102
Ni	395 \pm 9.56	411 \pm 8	104
V	279 \pm 4.23	317.7 \pm 1.4	114
Zn	519 \pm 11	502 \pm 13	97

*Valor obtenido con nebulizador ultrasónico y digestión con HCl.

Las Figuras 15 y 16 muestran los resultados para metales totales en lodo residual y los datos se encuentran en el Anexo III. En este caso, el lodo analizado para la determinación de metales corresponde a un lodo residual mixto, es decir, proveniente de la decantación primaria y secundaria.

De los metales analizados, Au, Be y Co no fueron detectados en el lodo residual. Por el contrario, Ag, Ba, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn fueron detectados en todas las muestras de lodo, mientras que el As únicamente en 3 muestras.

Las concentraciones obtenidas para los metales restantes coinciden con concentraciones reportadas por otros autores. Los valores reportados para el Cd en lodo residual para diferentes PTAR se encuentran en rangos de <LD hasta 5.99 mg kg⁻¹ [57], mientras que, en el presente estudio, se encontraron concentraciones entre 1.626 y 2.22 mg kg⁻¹. El Cr presentó un rango de concentraciones de 27.91 a 36 mg kg⁻¹, este rango de valores está dentro del reportado por Liu et al. (2013) [57], en el cual se muestran concentraciones de Cr entre 15.5 y 121 mg kg⁻¹ para seis PTAR. Kudakwashe et al. (2015) reportaron concentraciones para el Cu en

seis PTAR de Limpopo, África, abarcando un rango entre 80.80 y 626 mg kg⁻¹ [58], mientras que en el presente estudio los valores están entre 235 y 350 mg kg⁻¹.

En el caso de la Ag, se encontraron concentraciones entre 2.88-6.13 mg kg⁻¹, que coinciden con un estudio realizado en Limpopo, donde reportaron concentraciones entre 0.22 y 21.93 mg kg⁻¹ [58]. Adicionalmente, la EPA publicó un informe de análisis estadístico de agua residuales en 2009, donde reporta las concentraciones de plata en muestras de lodo residual de 74 PTAR en USA, donde las concentraciones reportadas varían entre 1.94 y 856 mg kg⁻¹ [59].

Por otro lado, varios autores han reportado concentraciones de Zn entre 303 y 3033 mg kg⁻¹ en lodo residual [56,57,58], rango donde se encuentran las reportadas en el presente estudio, entre 800 y 1100 mg kg⁻¹.

Sin embargo, cabe destacar que la mayor cantidad de metales presentes en los influentes de una PTAR son sedimentados en los lodos de la decantación primaria, por lo que un lodo mixto no proporciona la información suficiente para determinar si existe una temporalidad de metales presentes en dicho lodo. Esto podría explicarse considerando que el volumen de lodo mixto se mantiene constante en el reactor, para mantener la concentración de microorganismos adecuada en el tanque de aireación (tratamiento biológico secundario). Este motivo podría explicar que la concentración de metales encontrada se mantenga constante a lo largo del periodo estudiado.

En la Tabla 13 se presentan los valores reportados por otros autores en el análisis de lodo residual y su comparación con el presente estudio.

Tabla 13. Concentración de metales totales en lodo residual.

Rangos de concentración en mg kg⁻¹					
Ref.	Chanpiwat et al. (2019), Tailandia [56]	Liu et al. (2013), China ^a [57]	Kudakwashe et al. Limpopo ^b [58]	Kim et al. (2010), USA ^c [59]	Presente estudio, Mallorca, España
Ag	---	---	0.22-21.93	1.94-856	2.88-6.13
As	6.24-35.4	---	---	---	ND-2.1
Au	---	---	---	---	ND
Ba	---	---	---	---	220-260
Be	---	---	---	---	ND
Cd	ND-2.34	ND-5.99	0.32-3.10	---	1.626-2.22
Co	---	---	---	---	ND
Cr	91.53-1132.60	15.5-121	35.07-134.48	---	27.91-36
Cu	241.19-21,883.30	93-4567	80.80-626	---	235-350
Mn	303.72-4343.84	161-1844	---	---	188-305
Mo	ND-8.46	---	---	---	1.48-5.6
Ni	52.80-488.24	51-148	18.89-51.43	---	16.5-22.5
Pb	74.91-321.13	ND-104	17.96-171.87	---	39.7-72
V	---	---	---	---	10.2-15.86
Zn	710.34-3033.10	509-987	303.83-1732	---	804-1060

^aRango de seis PTAR

^b Rango de seis PTAR

^cRango de 74 muestras de lodo residual, reportado por la U.S. EPA

ND: No detectado

---Sin datos

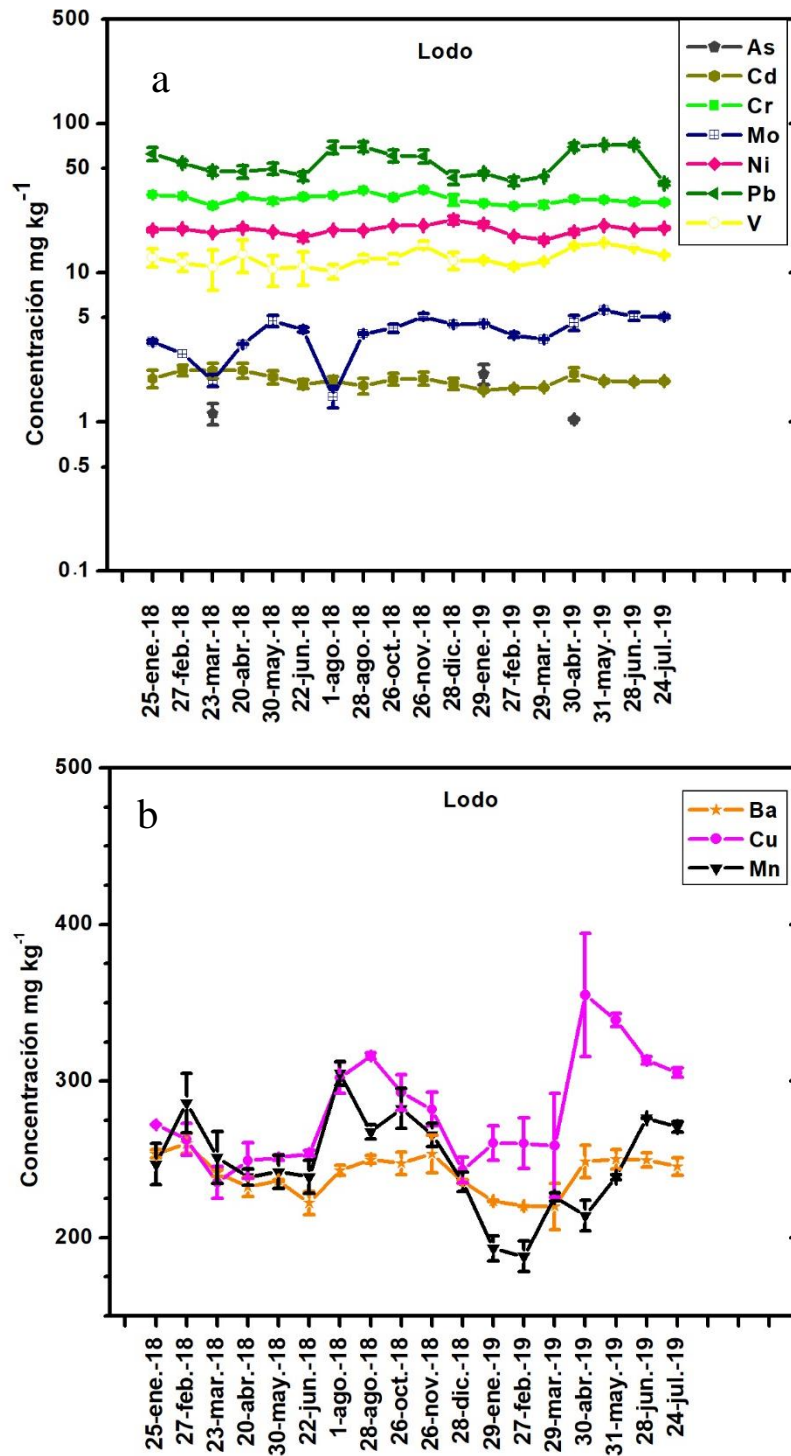


Figura 15. Distribución temporal de metales totales en lodo residual. (a) As, Cd, Cr, Mo, Ni, Pb y V y (b) Ba, Cu y Mn. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar ($n=2$).

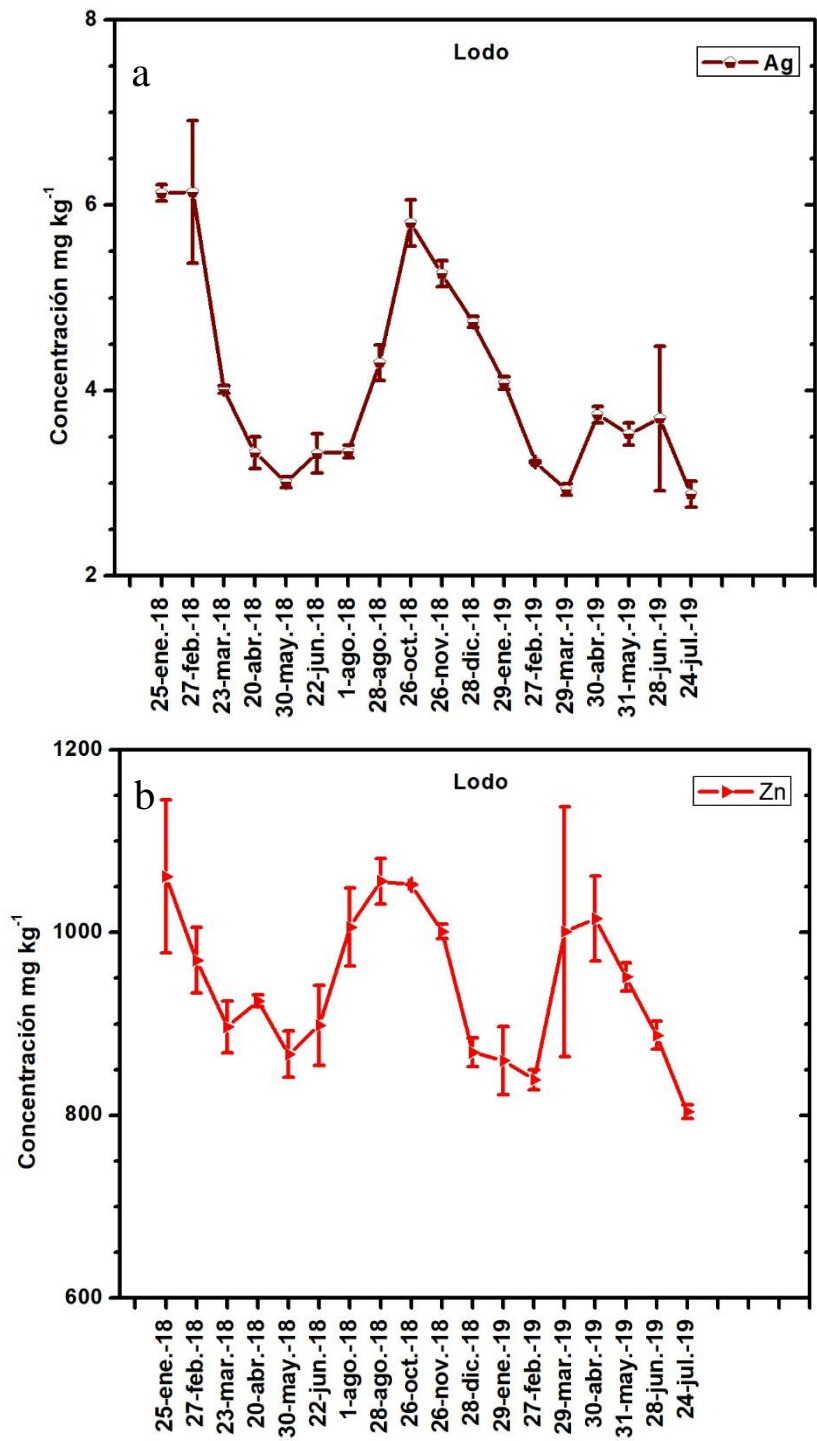


Figura 16. Distribución temporal de metales (a) plata total y (b) zinc total. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).

4.5. NPs metálicas

Para la determinación del contenido metálico proveniente de NPs, se optimizó un proceso para el fraccionamiento de NPs en las muestras de agua residual. Para ello, distintas técnicas fueron evaluadas: CPE, ultrafiltración, diálisis y digestión ácida. Una vez que se estableció un protocolo de separación de NPs, se analizaron las muestras correspondientes.

4.5.1. Separación de la fracción de NPs

En la Tabla 2 (Apartado 1.2.6.) se muestran algunos de los trabajos que se han reportado para la determinación de NPs en muestras ambientales incluyendo técnicas como CPE, diálisis, ultrafiltración y digestión ácida. Para el desarrollo del presente trabajo se experimentó con diferentes técnicas hasta establecer un método adecuado para el fraccionamiento de NPs.

a) Extracción en punto nube (CPE)

En este trabajo se realizó la extracción de ZnO-NPs usando la técnica de punto nube en muestras de agua residual. El procedimiento analítico fue el propuesto por Majedi et al. (2012) [15], en el que se filtraron 7 mL de muestra (influyente) sin acidificar a través de un filtro de tamaño de poro de 0.45 μm , para luego ajustar el pH a 10. La muestra se llevó a un baño ultrasónico y posteriormente se añadieron 200 μL de Triton X-114 al 0.25% (surfactante) y 200 μL de EDTA a 0.005 mol L⁻¹, se agitó la mezcla durante 1 min y se incubó en baño termostático durante 30 min a 45 °C. Finalmente, se centrifugó a 1000 rpm durante 5 min y se diluyó con metanol. En la parte inferior del vial se obtiene la fase rica en surfactante, en donde se encuentran las NPs. Las muestras fueron fortificadas con 10 mg L⁻¹ de ZnO-NPs para realizar estos experimentos.

Al contar con la fase rica en surfactante diluida en metanol, se procedió a realizar un análisis cualitativo con UV-Vis. Las ZnO-NPs tienen la máxima absorbancia en

la longitud de onda de entre 360-370 nm [15]. En la Figura 17 se muestra el pico de absorción de las ZnO-NPs.

Luego de varios experimentos se decidió no usar la extracción en punto nube para la separación de las NPs en muestras de agua residual, puesto que el método permite separar concentraciones muy superiores a las encontradas en muestras ambientales.

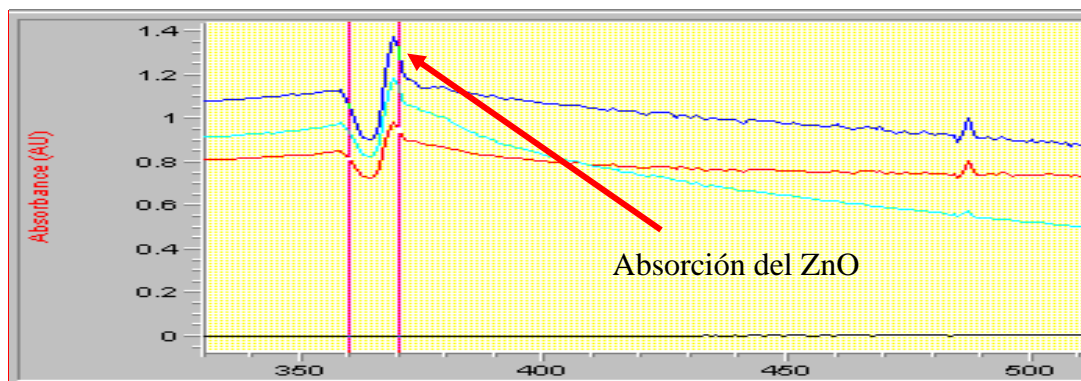


Figura 17. Espectro UV-Vis de ZnO-NPs luego de la separación por CPE.

b) Ultrafiltración

La ultrafiltración ha sido aplicada como una técnica para la separación de NPs de diferentes tamaños. Benn et al. (2008) utilizaron la ultrafiltración para separar Ag-NPs de las especies iónicas de plata en solución acuosa con tamaños de poro de 0.4, 0.1 y 0.02 μm [60], Badawy et al. (2011) emplearon procesos de ultrafiltración con MWCO de 10 kDa para purificar Ag-NPs en agua pura [61] y Markus et al. (2018) [25] utilizaron procesos de ultrafiltración para separar NPs de oro, titanio, zinc y cerio en muestras provenientes del río Dommel en los Países Bajos. La técnica fue aplicada en muestras acidificadas el día de toma de muestra, así como en muestras sin acidificar.

En el presente estudio se realizaron distintos experimentos para analizar NPs metálicas, utilizando como técnica de fraccionamiento la ultrafiltración. Este proceso fue aplicado a muestras de agua residual con diferentes pre-tratamientos: acidificando el día de toma de la muestra y en muestras filtradas sin acidificar.

En el primer caso, la muestra se acidificó al 2% de $\text{HNO}_3_{\text{conc}}$ el día de la toma de muestra y se mantuvo a 4°C hasta su análisis. Posteriormente, se sometió a un proceso de filtración, en el que primero se filtra con un tamaño de poro de $0.45\ \mu\text{m}$ y consecutivamente se filtró con un tamaño de poro de $0.22\ \mu\text{m}$. Finalmente, se sometió a ultrafiltración por $0.10\ \mu\text{m}$. Los diferentes filtrados se llevaron al ICP-OES para su análisis con nebulizador ultrasónico (US). El diagrama del proceso se muestra en la Figura 18.

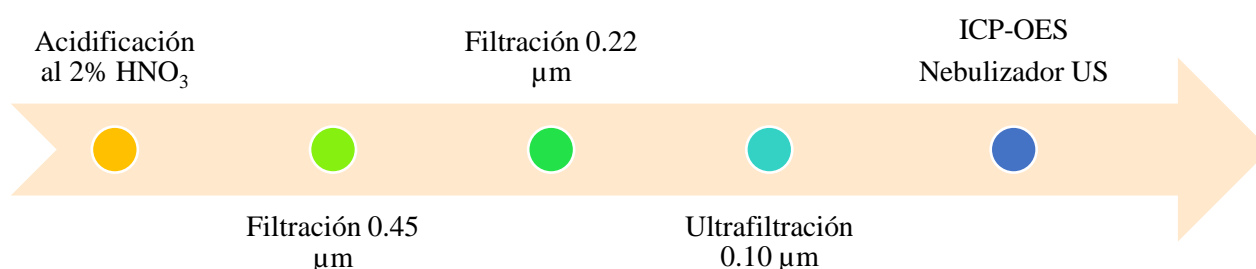


Figura 18. Proceso de ultrafiltración para muestras acidificadas.

Para evaluar el proceso descrito anteriormente se analizaron dos muestras, los influentes correspondientes a los meses de febrero y agosto de 2018 de la PTAR 1, utilizando el óxido de titanio (TiO_2) como NPs de referencia. Posterior a cada proceso de filtrado, la muestra fue analizada en el ICP-OES. Los resultados se muestran en la Figura 19. Las concentraciones de Ti en las distintas fracciones variaron entre 9 y $12\ \mu\text{g L}^{-1}$. El comportamiento del Ti respecto al tamaño de poro de los filtros es similar al reportado por otros autores.

A pesar de que el proceso de ultrafiltración en muestras acidificadas ya ha sido empleado por Markus et al. (2018) [25], existe una gran posibilidad de sobreestimar la concentración de las NPs de origen metálico si se realiza una acidificación de muestra de manera previa al fraccionamiento de las NPs presentes en la muestra, por la contribución de partículas gruesas y de los iones metálicos presentes [36].

Por lo tanto, se decidió que la separación de NPs debe realizarse previamente a la acidificación de la muestra. De este modo, se optó por realizar el proceso de ultrafiltración en muestras que no fueron acidificadas.

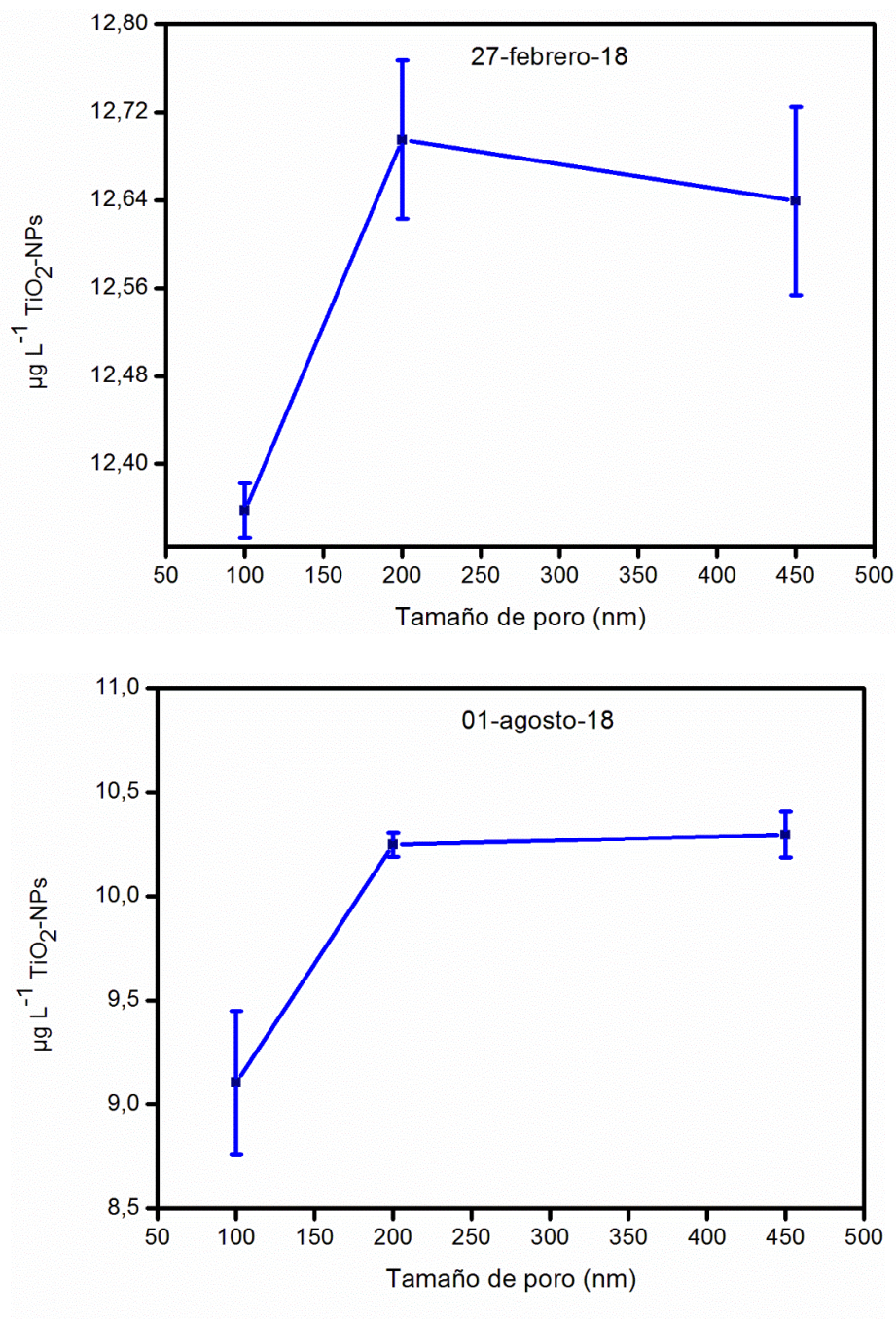


Figura 19. Resultados obtenidos con proceso de ultrafiltración en muestras acidificadas. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).

Posteriormente al fraccionamiento de las NPs, las muestras deben ser sometidas a un proceso de digestión para solubilizar las NPs presentes en la muestra [13]. El proceso de digestión propuesto fue el reportado por Markus et al. (2018) [25], para el cual se tomó un volumen de 10 mL de muestra, se le adicionaron 0.1 mL de HF _{conc.}, 0.45 mL de HNO_{3 conc} y se realizó un proceso ligero de digestión, en el que la muestra se deja toda la noche a 70 °C. Posteriormente, la muestra es llevada a sequedad y se reconstituye con HNO₃ al 2%. La cuantificación del contenido metálico se realizó por ICP-OES con nebulizador ultrasónico. El diagrama del proceso propuesto se muestra en la Figura 20.

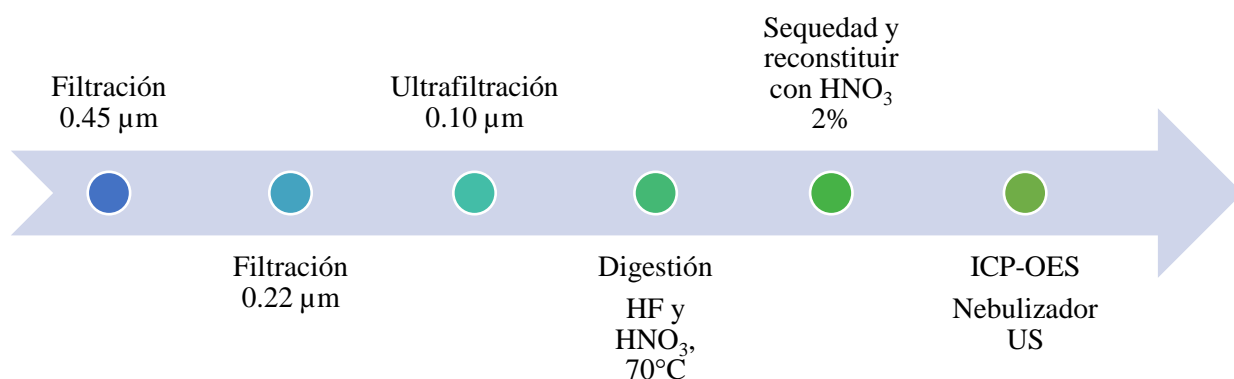


Figura 20. Proceso de ultrafiltración para muestras sin acidificar.

El proceso mostrado en la Figura 20 fue aplicado a la muestra de febrero-2018, donde las concentraciones de Ti obtenidas se encontraron entre 2.6 y 3.5 µg L⁻¹ (Figura 21).

Este análisis se realizó en una muestra que no fue filtrada el día de toma de muestra, lo que podría provocar que las NPs se agreguen en la materia orgánica presente en las muestras, por lo cual la concentración sería subestimada [43]. De modo que, se decidió que el procedimiento para el fraccionamiento de NPs fuera llevado a cabo mediante ultrafiltración en muestras que no hayan sido acidificadas, filtrando por 0.45 µm y 0.22 µm inmediatamente después de su recolección para prevenir la posible agregación de las NPs.

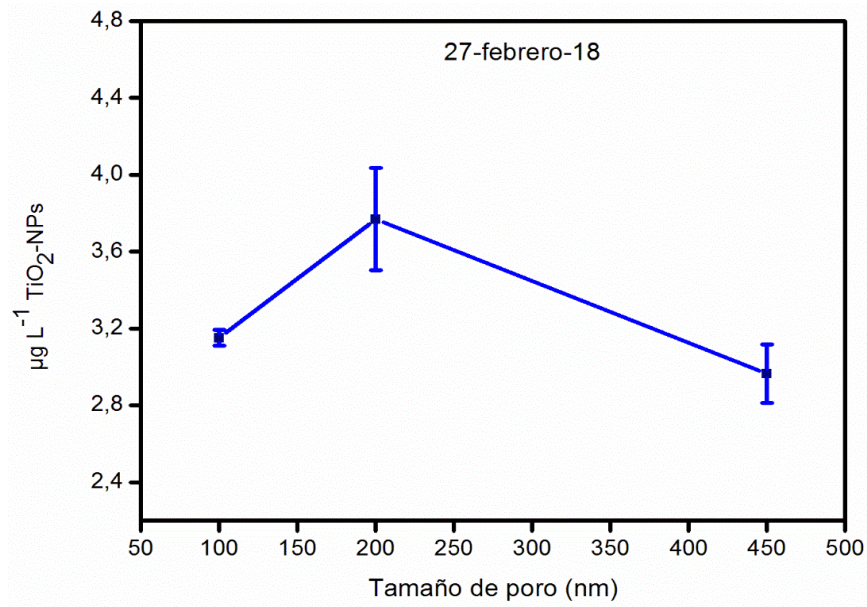


Figura 21. Resultados obtenidos con proceso de ultrafiltración en muestras sin acidificar. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar (n=2).

c) Diálisis

El proceso de diálisis ha sido empleado para la separación de nanopartículas metálicas de los metales de la fracción disuelta. Mediante la diálisis se consigue remover los iones metálicos disueltos y las sales [36,62]. Al someter las muestras a un proceso de diálisis durante 6 h con 1.5 L de agua ultra pura, con un cambio de 50 mL de agua a 500 rpm, la conductividad de las muestras disminuye más del 90%.

Para comprobar que las NPs no atraviesan el tubo de diálisis, se realizaron dos experimentos: i) se fortificó agua ultra pura con 52.5 mg L⁻¹ de TiO₂ (nano polvo de óxido de titanio) y ii) se fortificó agua ultra pura con 10 mg L⁻¹ de ZnO-NPs (dispersión al 40% en etanol). Se colocaron ambas muestras por separado en un tubo de diálisis y se dializó durante un periodo de 6 h con agitación continua. Posteriormente, se tomaron 100 µL de la muestra dializada y se colocaron en un porta muestras de aluminio para SEM, se permitió que la muestra se secase y el

proceso se repitió un par de veces. La muestra fue recubierta con oro para realizar el análisis mediante SEM.

En la Figura 22a se aprecian las NPs de TiO_2 con un tamaño aproximado de 40 nm presentes en la muestra dializada. Para comprobar que las NPs observadas corresponden al TiO_2 , se realizó un microanálisis por EDS y el espectro obtenido se muestra en la Figura 22b. De igual manera en la Figura 23a se aprecian las ZnO-NPs, en este caso, los tamaños están entre 65 y 80 nm. Se realizó un microanálisis por EDS y se verificó la presencia de Zn (Figura 23b).

Con esto se concluye que las NPs metálicas con un tamaño entre 40 y 80 nm no atraviesan el tubo de diálisis.

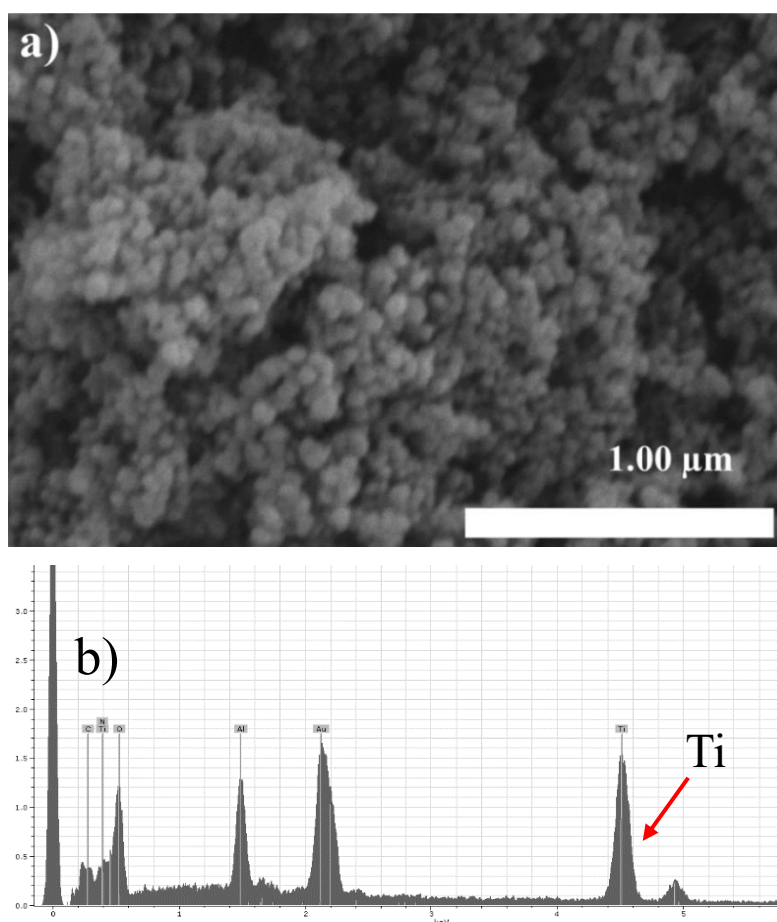


Figura 22. (a) Imagen correspondiente a NPs de TiO_2 obtenida con SEM, (b) EDS de confirmación de la presencia de titanio.

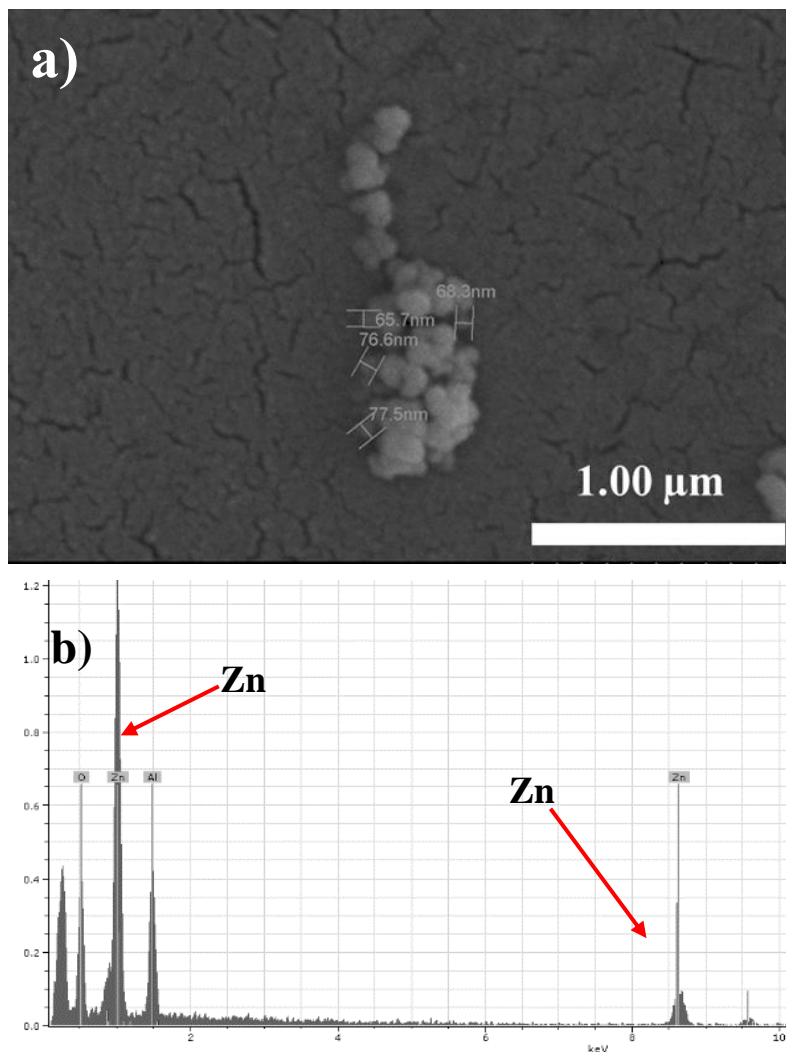


Figura 23. (a) Imagen correspondiente a ZnO-NPs obtenida con SEM, (b) EDS de confirmación de la presencia de zinc.

d) Ultrafiltración y diálisis

Se desarrolló un proceso de fraccionamiento de NPs en muestras ambientales, aplicando un proceso de ultrafiltración para remover partículas superiores a 100 nm, seguido de un proceso de diálisis para remover iones y sales disueltos; posteriormente se realizó una digestión ácida asistida por microondas para disolver el metal proveniente de NPs y se cuantificó el contenido metálico por ICP-OES con cámara Scott.

4.5.2. Análisis de muestras

Una vez realizada la determinación de metales en agua residual, se seleccionaron para la determinación de NPs en agua residual, únicamente las muestras de influentes.

Las Ag-NPs no fueron determinadas debido a que el elevado límite de detección del método utilizado no permite cuantificar la Ag en agua residual.

Las TiO₂-NPs no se pudieron cuantificar en las muestras de agua residual, ya que, al analizar los blancos de reactivos, estos presentaron altos valores de titanio y no fue posible confirmar el origen de estas concentraciones.

Por lo tanto, solo se cuantificó el Zn proveniente de las ZnO-NPs. Las muestras analizadas para la determinación de las NPs son aquellas que fueron filtradas el día de toma de muestra.

Para verificar que el proceso de diálisis se realizó correctamente, se midió la conductividad de las muestras antes y después del proceso. En la Tabla 14 se muestra la conductividad inicial (previamente a la diálisis) y final (posterior a la diálisis) de las muestras de influentes de las PTAR. Los datos indican que, en todas las muestras analizadas, un proceso de diálisis durante 6 h permitió que la conductividad disminuyera en más del 90%, indicando que la mayor parte de iones disueltos son eliminados de la fracción de interés.

En la Figura 24 se muestran las concentraciones de ZnO-NPs de los influentes de la (a) PTAR 1 y (b) PTAR 2, como se aprecia, las concentraciones de la PTAR 1 se encontraron en un rango de <LD hasta $123 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$, mientras que en la PTAR 2 las concentraciones oscilaron entre <LD y $66 \pm 4 \mu\text{g L}^{-1}$. El porcentaje de ZnO-NPs en comparación con los influentes de Zn total, fue de entre 8 y 14% para la PTAR 1 y entre 14 y 48% para la PTAR 2, considerando únicamente los influentes en los que se encontraron ZnO-NPs.

Tabla 14. Conductividad previa y posterior al proceso de diálisis.

Muestra	PTAR 1		PTAR 2	
	Conductividad inicial ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	Conductividad final ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	Conductividad inicial ($\mu\text{s cm}^{-1}$)	Conductividad final ($\mu\text{s cm}^{-1}$)
28-ago-18	4010	116	3690	102
28-sep-18	4090	100	3460	100
26-oct-18	4180	124	3510	95
26-nov-18	4160	124	3130	110
28-dic-18	3980	101	3140	91
29-ene-19	4510	138	3500	117
27-feb-19	3620	107	2880	107
29-mar-19	3350	104	3970	98
30-abr-19	4150	101	3180	96
31-may-19	3720	101	3640	112
28-jun-19	4010	282	3400	116
24-jul-19	5630	167	3860	123

Las concentraciones de ZnO-NPs encontradas son similares a las reportadas por otros autores. Choi et al. (2017) reportaron concentraciones de ZnO-NPs en influentes de una PTAR entre 100 y 200 $\mu\text{g L}^{-1}$ [36]. En otra investigación Choi et al. (2018) informaron que las concentraciones de ZnO-NPs para influentes de PTAR se encuentran en el rango de 20 a 212 $\mu\text{g L}^{-1}$ [62]; no obstante, Markus et al. (2018) indicaron que las concentraciones de ZnO-NPs estimadas en influentes de PTAR son de 61 $\mu\text{g L}^{-1}$ [25].

El método de fraccionamiento de NPs permite la determinación de ZnO-NPs de una manera sencilla y económica. Los procesos de filtración y ultrafiltración remueven las partículas superiores a 100 nm, mientras que la diálisis remueve iones y sales disueltos, por lo cual el contenido de la muestra a analizar se encuentra en un rango de tamaño aproximado de 5-100 nm, lo cual concuerda con la definición de NPs. Adicionalmente, la digestión de la muestra permite solubilizar los metales, para una adecuada cuantificación mediante ICP-OES.

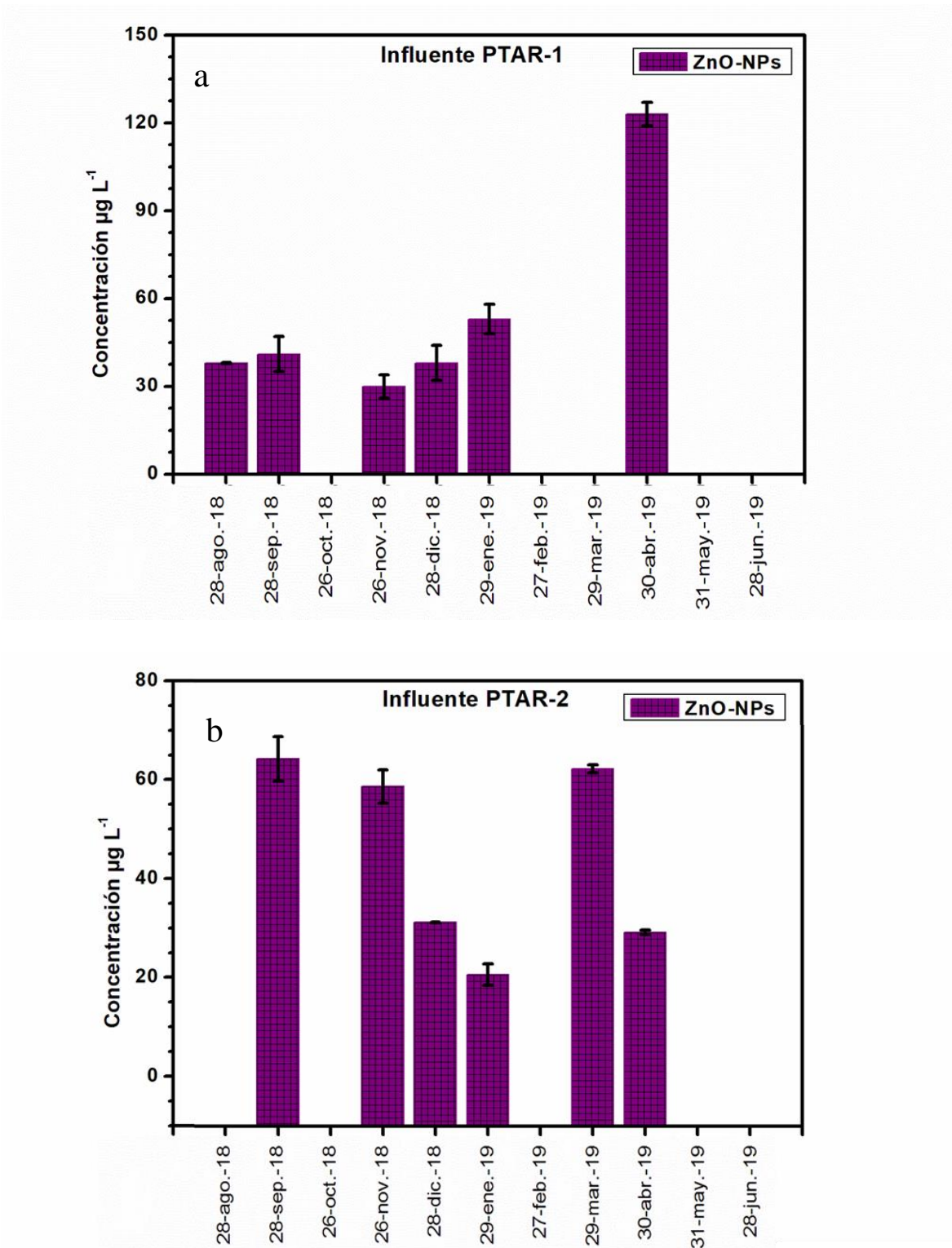


Figura 24. Distribución de ZnO-NPs en influentes. (a) PTAR 1, (b) PTAR 2. Los resultados están expresados como la concentración media, correspondiendo las barras de error a la desviación estándar ($n=2$).

Es importante mencionar que los métodos empleados cuentan con limitaciones. Para comenzar, los límites de detección obtenidos por el método (i.e. digestión de muestra y cuantificación por ICP-OES con cámara Scott), no son lo suficientemente bajos para determinar ZnO-NPs en todas las muestras de influente y efluente de agua residual. En segundo lugar, se encuentra el proceso de ultrafiltración, para que sea eficiente se debería considerar que las NPs no se encuentren formando agregados antes de proceder a la filtración, como lo discuten Markus et al. (2018), quienes indican que uno de los principales inconvenientes de los procesos de ultrafiltración es que las NPs presentes en agregados o coloides no son capaces de atravesar las membranas de filtrado [25]. Adicionalmente, el método de ultrafiltración con un alto contenido de materia orgánica provoca la constante obturación de los filtros.

4.6. Microscopía electrónica de barrido-Análisis de lodo residual

Se utilizó SEM-EDS como un método independiente para confirmar la presencia de NPs en las muestras de lodo residual. Se evaluaron distintos procesos de preparación de muestra, con el fin de permitir una mejor visualización de las NPs. En el primer experimento se analizó la muestra de lodo de agosto-2018. Para ello, se tomaron 0.5 g de lodo seco y se añadieron 5 mL de agua ultra pura, se llevó a baño ultrasónico durante 1 h y se colocaron 100 µL del sobrenadante en un porta muestra de aluminio; la muestra se secó durante 24 h para su análisis mediante SEM-EDS. La superficie de la muestra fue analizada de manera manual para la localización de NPs en el modo de electrones retrodispersados, mediante el cual los electrones de mayor peso molecular tienen un color más brillante en la imagen.

En la Figura 25a se muestra la imagen obtenida mediante SEM. Se puede apreciar en el centro una partícula brillante, la cual corresponde a Ag, aunque no fue posible apreciar si corresponde a una única partícula o a un aglomerado de NPs. La partícula se sometió a un microanálisis por EDS, y el espectro se encuentra en la Figura 25b, que indica la presencia de Ag.

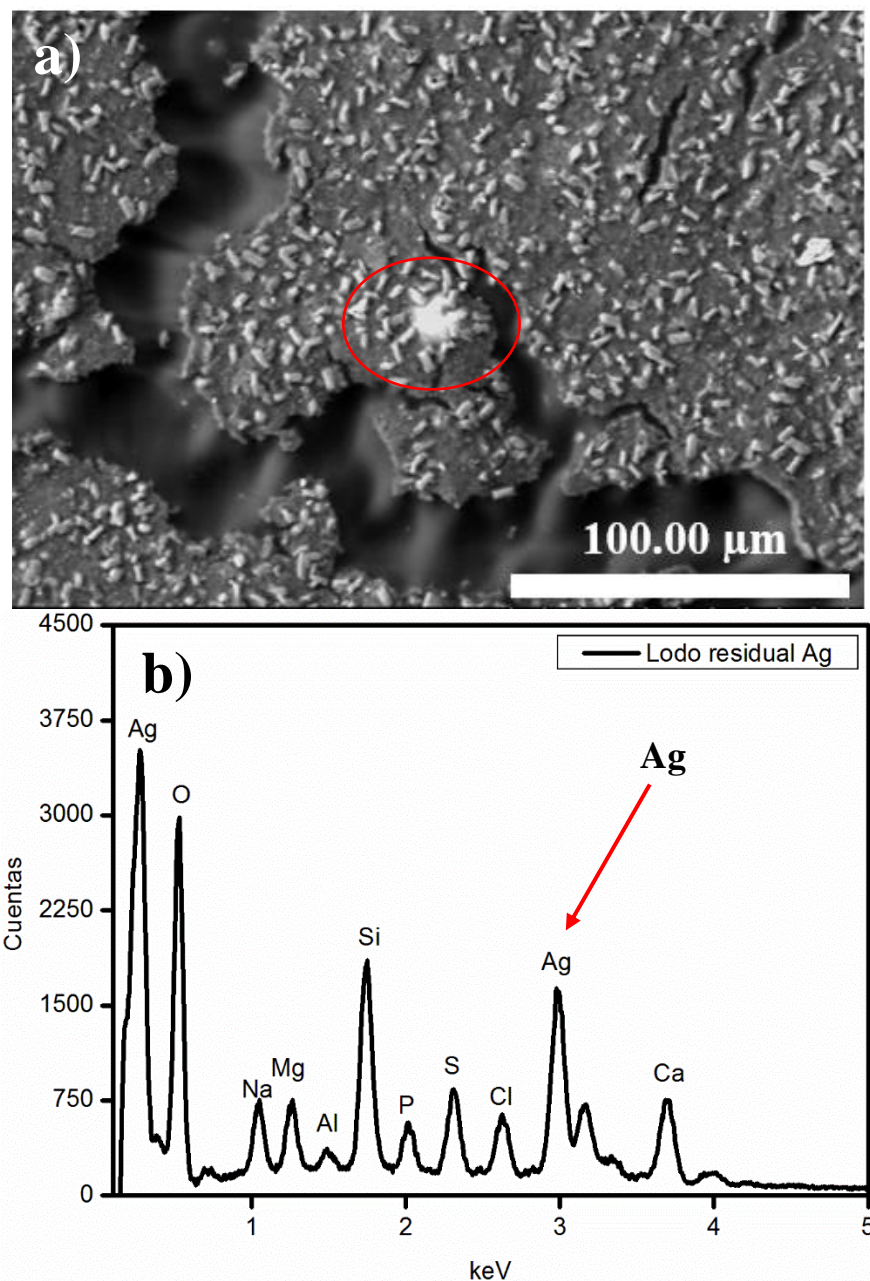


Figura 25. (a) Imagen mediante SEM de una partícula de plata en lodo residual (b) EDS de confirmación de la presencia de plata.

En un segundo experimento, se analizó lodo residual tomado en abril-2019. Se tomaron 0.5 g de lodo previamente seco, se añadieron 10 mL de agua y se llevó la muestra al ultrasonido por 1 h. Posteriormente, se oxidó la materia orgánica con 3 mL de H_2O_2 en placa caliente a 80 °C. Del sobrenadante se tomaron 50 μL y se

colocaron en un porta muestra de aluminio, dejándose secar durante 24 h. En la Figura 26 se muestran los resultados obtenidos

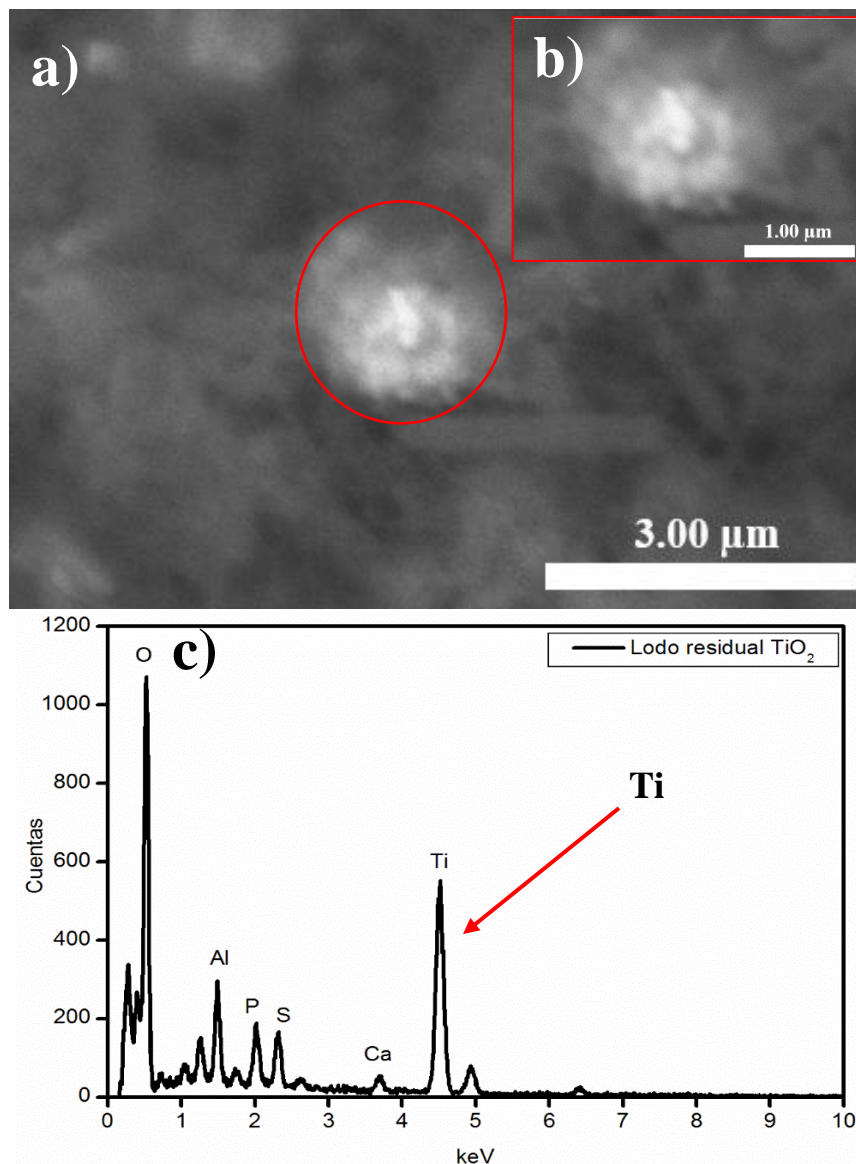


Figura 26. (a) Imagen mediante SEM de un aglomerado de TiO_2 en lodo residual, (b) aumento de la imagen a, (c) EDS de confirmación de la presencia de titanio.

Se identificó la presencia de Ti en esta muestra de lodo residual, donde se aprecia un aglomerado incrustado en la materia orgánica de aproximadamente 1 μm de diámetro (Figura 26a). Las partículas individuales que lo conforman se encuentran entre 100 y 300 nm (Figura 26b), tamaño que coincide con NPs de TiO_2 reportadas

por otros autores [25]. El EDS (Figura 26c) presenta un incremento en las señales del Ti y del O, lo cual confirma que el aglomerado encontrado corresponde a TiO_2 .

Finalmente, se realizó otro experimento para confirmar la presencia de Zn en las muestras de lodo residual. El procedimiento se realizó de una manera similar al reportado por Choi et al. (2017) [36], se tomaron 0.5 g de lodo seco obtenido en la muestra agosto-2018, se mezclaron con 10 mL de agua ultra pura y se sometieron a un proceso de diálisis durante 24 h. Al finalizar la diálisis, la muestra fue digerida con 10 mL de H_2O_2 en placa caliente a 80 °C y agitación a 400 rpm, luego se puso en un baño ultrasónico por 15 min. Se analizó la superficie de la muestra de manera manual con modo de electrones retrodispersados. Los resultados se muestran en la Figura 27.

En la Figura 27a se puede observar en el círculo rojo una serie de puntos brillantes que corresponden a la presencia de zinc, lo cual se confirmó mediante el espectro de EDS (Figura 27b). Debido a las limitaciones del equipo utilizado, no fue posible realizar un mayor acercamiento de la muestra para determinar el tamaño. Para confirmar la presencia de zinc, se realizó un microanálisis con EDS de la matriz circundante a las partículas de zinc encontradas; en este caso, es posible apreciar en la Figura 27c, que no se detecta señal en la zona correspondiente a Zn.

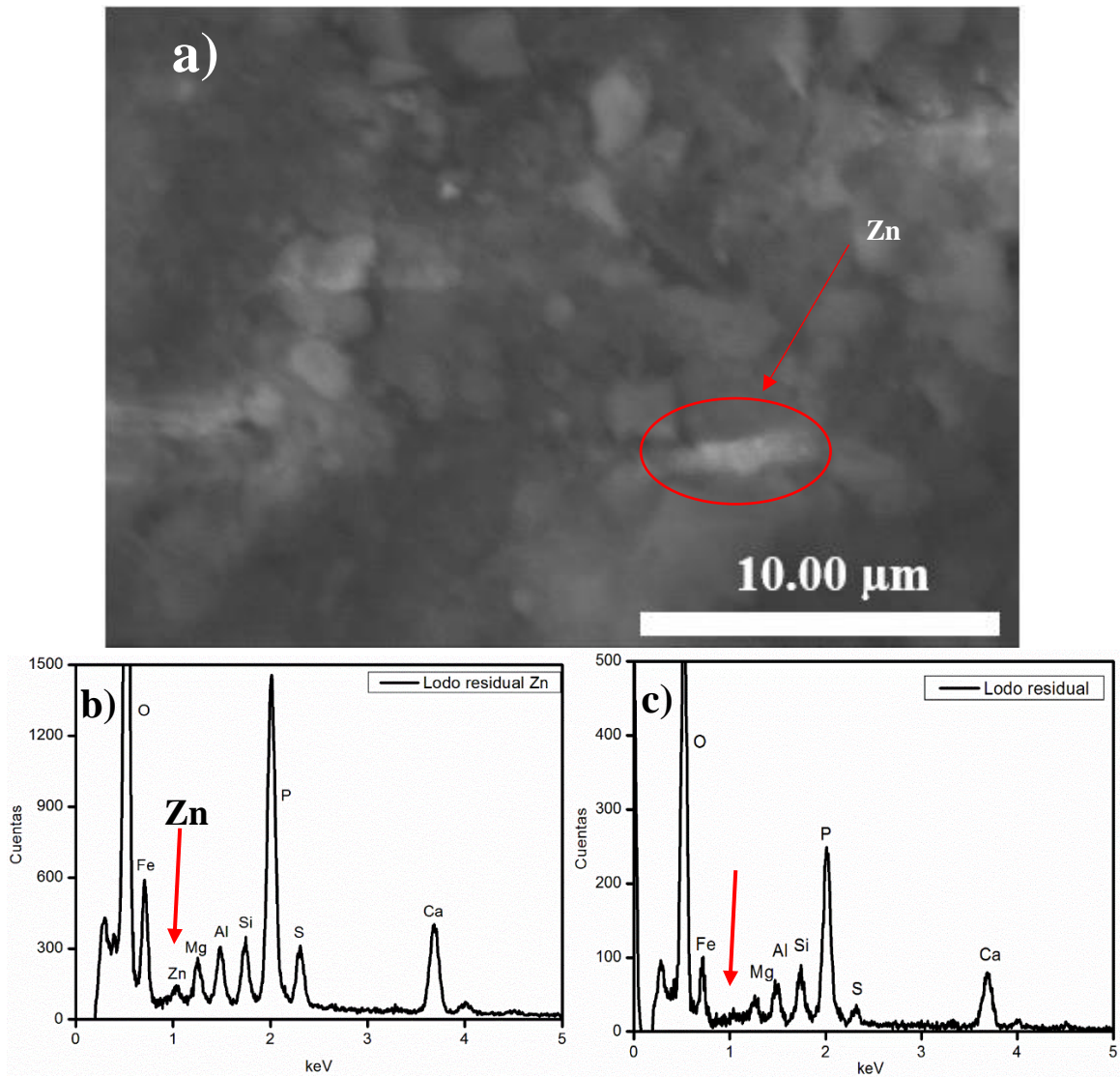


Figura 27. (a) Imagen mediante SEM de zinc en lodo residual, (b) EDS de confirmación de la presencia de zinc, (c) EDS de la matriz circundante sin la presencia de zinc.

CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES

Se determinaron las concentraciones de metales totales en agua y lodo residual mixto de ambas PTAR. Para la determinación de metales totales se analizaron 18 muestras mensuales de agua residual compuesta de influente, 18 de efluente y 18 muestras mensuales de lodo mixto, éste último proveniente de ambas PTAR.

El tratamiento de muestra mediante digestión ácida asistida por microondas se optimizó obteniendo porcentajes de recuperación del CRM SPS-WW2 batch 106 (agua residual) y del CRM *Loamy Clay* CRM052 (lodo), superiores al 80 y 90%, respectivamente.

En la optimización de la técnica de cuantificación ICP-OES, se emplearon tres diferentes modalidades (nebulizador concéntrico, nebulizador ultrasónico y cámara Scott), lo que permitió el uso de diferentes mezclas de ácidos, aumentando la señal analítica.

En el análisis de las muestras de agua residual, los metales Ag, As, Au, Be, Cd y Co no fueron detectados.

En los influentes de la PTAR 1 se encontró Ba, Cr, Cu, Li, Mn, Ni, V y Zn y se presentó al menos un máximo distintivo en la muestra de agosto-2018 (Ba, Cr, Cu, Li, Ni, Pb, V y Zn). Las correlaciones entre los metales resultaron todas estadísticamente significativas, denotando una misma tendencia de distribución temporal de los metales analizados en el influente. En el caso de los influentes de la PTAR 2, los metales detectados fueron el Ba, Cr, Cu, Li, Mn, Ni y Zn, observándose tres máximos enero-2018 (Li y Ni), marzo-2019 (Cu y Zn) y abril-2019 (Ba y Mn).

En el caso de los efluentes, se encontró Mn y Li en todas las muestras de ambas PTAR y esporádicamente el Zn, en los efluentes de la PTAR 2. Las concentraciones para Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb y Zn son del orden de magnitud de las reportadas por otros autores para agua residual.

Se observó que las concentraciones más elevadas para distintos metales se dieron en agosto-2018 en muestras de agua residual del influente de la PTAR 1, fecha que concuerda con la temporada de alta afluencia turística en Mallorca.

En la totalidad de muestras de lodo analizadas se cuantificaron la mayoría de los elementos estudiados (Ag, Ba, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, V y Zn) con excepción del Au, As, Be y Co. Las concentraciones encontradas en lodo para Ag, As, Cd, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb y Zn concuerdan con las reportadas por otros autores.

En el caso de los lodos analizados, no se observó ninguna variación estacional, probablemente debido a que estos corresponden a lodos mixtos.

Se estableció un protocolo para el fraccionamiento de NPs metálicas en muestras de agua residual basado en ultrafiltración y diálisis. Mediante ultrafiltración se retiraron todas las partículas superiores a 100 nm y a través de un proceso de diálisis se eliminó gran parte de iones y sales disueltas. La cuantificación del contenido metálico se realizó con ICP-OES.

La adecuada separación de ZnO-NPs se verificó mediante SEM. La concentración de ZnO-NPs en la PTAR 1 y en la PTAR 2 se encuentran en el rango de lo reportado por otros autores.

Se identificaron TiO₂-NPs en una muestra de lodo residual mediante SEM/EDS.

No se observó ninguna variación estacional en las muestras analizadas para NPs.

CAPÍTULO 6

RECOMENDACIONES

Contemplar técnicas adicionales a la ultrafiltración para el fraccionamiento de NPs, ya que, debido a su potencial aglomeración, pueden quedar retenidas en el filtro de 100 nm (ultrafiltración), subestimando la concentración de los metales provenientes de las mismas.

Para la evaluación de metales totales en lodos se deberían considerar los lodos provenientes de la decantación primaria y no los mixtos, lo que permitiría estudiar la estacionalidad de los metales en lodos.

Ampliar el estudio para abarcar otras NPs metálicas en agua residual y lodos, tales como TiO₂-NPs y Au-NPs.

Mejorar las técnicas de preparación de muestra para la caracterización de NPs mediante SEM/EDS en muestras ambientales.

Este estudio puede ser un punto de partida para un análisis a profundidad de la estacionalidad turística y sus efectos en el medio ambiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] M. A. Zoroddu, J. Aaseth, G. Crisponi, S. Medici, M. Peana, and V. M. Nurchi, "The essential metals for humans: a brief overview," *J. Inorg. Biochem.*, vol. 195, no. November 2018, pp. 120–129, 2019.
- [2] P. . Harrison and R. . Hoare, "The essential metals and their evolution," in *Metals in Biochemistry*, Springer, 1980, pp. 7–13.
- [3] J. P. Vareda, A. J. M. Valente, and L. Durães, "Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review," *J. Environ. Manage.*, vol. 246, no. December 2018, pp. 101–118, 2019.
- [4] H. Ali, E. Khan, and M. A. Sajad, "Phytoremediation of heavy metals-Concepts and applications," *Chemosphere*, vol. 91, no. 7, pp. 869–881, 2013.
- [5] G. Carletti, P. Pavan, D. Bolzonella, and C. Cavinato, "Occurrence and removal of heavy metals from industrial and municipal wastewater: a comparison between MBR and conventional activated sludge processes (CAS)," *Chem. Eng. Trans.*, vol. 11, 2007.
- [6] K. M. Dimpe, J. C. Ngila, N. Mabuba, and P. N. Nomngongo, "Evaluation of sample preparation methods for the detection of total metal content using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) in wastewater and sludge," *Phys. Chem. Earth*, vol. 76–78, no. 2014, pp. 42–48, 2014.
- [7] J. F. Liu, S. J. Yu, Y. G. Yin, and J. B. Chao, "Methods for separation, identification, characterization and quantification of silver nanoparticles," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 33, pp. 95–106, 2012.
- [8] B. Shahzad *et al.*, "Nickel; whether toxic or essential for plants and environment - A review," *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 132, no. September, pp. 641–651, 2018.
- [9] G. F. Pearson and G. M. Greenway, "Recent developments in manganese speciation," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 24, no. 9, pp. 803–809, 2005.
- [10] I. Daigo, S. Osako, Y. Adachi, and Y. Matsuno, "Time-series analysis of global zinc demand associated with steel," *Resour. Conserv. Recycl.*, vol. 82, pp. 35–40, 2014.
- [11] R. Grillo, A. H. Rosa, and L. F. Fraceto, "Engineered nanoparticles and organic matter: A review of the state-of-the-art," *Chemosphere*, vol. 119, pp. 608–619, 2015.
- [12] K. Tiede, A. B. A. Boxall, S. P. Tear, J. Lewis, H. David, and M. Hassellöv, "Detection and characterization of engineered nanoparticles in food and the environment," *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, vol. 25, no. 7, pp. 795–821, 2008.
- [13] S. M. Majedi and H. K. Lee, "Recent advances in the separation and quantification of metallic nanoparticles and ions in the environment," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 75, pp. 183–196, 2016.
- [14] I. De la Calle, M. Menta, and F. Séby, "Current trends and challenges in sample preparation for metallic nanoparticles analysis in daily products and environmental samples: A review," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 125, pp. 66–96, 2016.
- [15] S. M. Majedi, H. K. Lee, and B. C. Kelly, "Chemometric analytical approach for the cloud point extraction and inductively coupled plasma mass spectrometric determination of zinc oxide nanoparticles in water samples," *Anal. Chem.*, vol.

- 84, no. 15, pp. 6546–6552, 2012.
- [16] L. Goswami *et al.*, “Engineered nano particles: Nature, behavior, and effect on the environment,” *J. Environ. Manage.*, vol. 196, pp. 297–315, 2017.
- [17] Y. Wang *et al.*, “TiO₂ nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae *Phaeodactylum tricornutum*,” *Sci. Total Environ.*, vol. 565, pp. 818–826, 2016.
- [18] S. Pérez, M. la Farré, and D. Barceló, “Analysis, behavior and ecotoxicity of carbon-based nanomaterials in the aquatic environment,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 28, no. 6, pp. 820–832, 2009.
- [19] D. Barceló, “Emerging pollutants in water analysis,” *Trends Anal. Chem.*, vol. 22, 2003.
- [20] A. A. Markus, J. R. Parsons, E. W. M. Roex, G. C. M. Kenter, and R. W. P. M. Laane, “Predicting the contribution of nanoparticles (Zn, Ti, Ag) to the annual metal load in the Dutch reaches of the Rhine and Meuse,” *Sci. Total Environ.*, vol. 456–457, pp. 154–160, 2013.
- [21] F. Piccinno, F. Gottschalk, S. Seeger, and B. Nowack, “Industrial production quantities and uses of ten engineered nanomaterials in Europe and the world,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 14, no. 9, 2012.
- [22] Y. Ju-Nam and J. R. Lead, “Manufactured nanoparticles: An overview of their chemistry, interactions and potential environmental implications,” *Sci. Total Environ.*, vol. 400, no. 1–3, pp. 396–414, 2008.
- [23] X. Jiang, M. Tong, R. Lu, and H. Kim, “Transport and deposition of ZnO nanoparticles in saturated porous media,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 401, pp. 29–37, 2012.
- [24] M. Amde, Z. Q. Tan, and J. Liu, “Separation and size characterization of zinc oxide nanoparticles in environmental waters using asymmetrical flow field-flow fractionation,” *Talanta*, vol. 200, no. March, pp. 357–365, 2019.
- [25] A. A. Markus *et al.*, “Determination of metal-based nanoparticles in the river Dommel in the Netherlands via ultrafiltration, HR-ICP-MS and SEM,” *Sci. Total Environ.*, vol. 631–632, pp. 485–495, 2018.
- [26] M. Tan, G. Qiu, and Y. P. Ting, “Effects of ZnO nanoparticles on wastewater treatment and their removal behavior in a membrane bioreactor,” *Bioresour. Technol.*, vol. 185, pp. 125–133, 2015.
- [27] O. Bondarenko, K. Juganson, A. Ivask, K. Kasemets, M. Mortimer, and A. Kahru, “Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: A critical review,” *Arch. Toxicol.*, vol. 87, no. 7, pp. 1181–1200, 2013.
- [28] N. Q. Puay, G. Qiu, and Y. P. Ting, “Effect of Zinc oxide nanoparticles on biological wastewater treatment in a sequencing batch reactor,” *J. Clean. Prod.*, vol. 88, pp. 139–145, 2015.
- [29] L. Hou, J. Xia, K. Li, J. Chen, X. Wu, and X. Li, “Removal of ZnO nanoparticles in simulated wastewater treatment processes and its effects on COD and NH₄⁺-N reduction,” *Water Sci. Technol.*, vol. 67, no. 2, pp. 254–260, 2013.
- [30] E. McGillicuddy *et al.*, “Silver nanoparticles in the environment: Sources, detection and ecotoxicology,” *Sci. Total Environ.*, vol. 575, pp. 231–246, 2017.
- [31] I. Rezić, “Determination of engineered nanoparticles on textiles and in textile wastewaters,” *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 30, no. 7, pp. 1159–1167,

- 2011.
- [32] J. Fabrega, S. N. Luoma, C. R. Tyler, T. S. Galloway, and J. R. Lead, "Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment," *Environ. Int.*, vol. 37, no. 2, pp. 517–531, 2011.
- [33] N. Bossa *et al.*, "Environmental exposure to TiO₂ nanomaterials incorporated in building material," *Environ. Pollut.*, vol. 220, pp. 1160–1170, 2017.
- [34] A. P. Gondikas, F. Von Der Kammer, R. B. Reed, S. Wagner, J. F. Ranville, and T. Hofmann, "Release of TiO₂ nanoparticles from sunscreens into surface waters: A one-year survey at the old danube recreational lake," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 48, no. 10, pp. 5415–5422, 2014.
- [35] B. Kim, M. Murayama, B. P. Colman, and M. F. Hochella, "Characterization and environmental implications of nano- and larger TiO₂ particles in sewage sludge, and soils amended with sewage sludge," *J. Environ. Monit.*, vol. 14, no. 4, pp. 1129–1137, 2012.
- [36] S. Choi, M. V. Johnston, G. S. Wang, and C. P. Huang, "Looking for engineered nanoparticles (ENPs) in wastewater treatment systems: Qualification and quantification aspects," *Sci. Total Environ.*, vol. 590–591, pp. 809–817, 2017.
- [37] P. Westerhoff, M. A. Kiser, T. Benn, Y. Wang, J. Pérez-Rivera, and K. Hristovski, "Titanium nanomaterial removal and release from wastewater treatment plants," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 43, no. 17, pp. 6757–6763, 2009.
- [38] J. R. Lead *et al.*, "Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects—An updated review," *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 37, no. 8, pp. 2029–2063, 2018.
- [39] A. L. Fabricius, L. Duester, B. Meermann, and T. A. Ternes, "ICP-MS-based characterization of inorganic nanoparticles-sample preparation and off-line fractionation strategies," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 406, no. 2, pp. 467–479, 2014.
- [40] S. Kittler, C. Greulich, J. Diendorf, M. Köller, and M. Eppele, "Toxicity of silver nanoparticles increases during storage because of slow dissolution under release of silver ions," *Chem. Mater.*, vol. 22, no. 16, pp. 4548–4554, 2010.
- [41] I. Hagarová, "Separation and quantification of metallic nanoparticles using cloud point extraction and spectrometric methods: A brief review of latest applications," *Anal. Methods*, vol. 9, no. 24, pp. 3594–3601, 2017.
- [42] K. Leopold, A. Philippe, K. Wörle, and G. E. Schaumann, "Analytical strategies to the determination of metal-containing nanoparticles in environmental waters," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 84, pp. 107–120, 2016.
- [43] F. Xu, "Review of analytical studies on TiO₂ nanoparticles and particle aggregation, coagulation, flocculation, sedimentation, stabilization," *Chemosphere*, vol. 212, pp. 662–677, 2018.
- [44] G. Hartmann, C. Hutterer, and M. Schuster, "Ultra-trace determination of silver nanoparticles in water samples using cloud point extraction and ETAAS," *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 28, no. 4, pp. 567–572, 2013.
- [45] J. F. Liu *et al.*, "Cloud point extraction as an advantageous preconcentration approach for analysis of trace silver nanoparticles in environmental waters," *Anal. Chem.*, vol. 81, no. 15, pp. 6496–6502, 2009.
- [46] G. de les I. B. (Ed) Vicepresidencia i Conselleria de Innovació, Recerca i

- Turisme, “El turismo a les Illes Balears,” *Anuari 2017*, 2018. [Online]. Available: http://www.caib.es/sites/estadistiquesdelturisme/es/anuarios_de_turismo-22816/. [Accessed: 02-Sep-2019].
- [47] J. i D. C. A. de P. (Ed) Equip de Gestió de la Diversitat Cultural Àrea d'Igualtat, “La població de Palma per nacionalitat i sexe 1-1-2017,” 2018. [Online]. Available: https://www.palma.cat/portal/PALMA/RecursosWeb/DOCUMENTOS/1/0_12_4842_1.pdf. [Accessed: 02-Sep-2019].
- [48] M. de M. Ambiente, “Instrucción Técnica Complementaria Sobre Determinaciones Químicas y Microbiológicas para el Análisis de las Aguas ITC-MMA.EEC-1/06,” 2006.
- [49] N. S. for peace and S. S. E. Security, *The Role of Ecological Chemistry in Pollution Research and Sustainable Development*. Springer International Publishing, 2008.
- [50] G. E. Üstün, “Occurrence and removal of metals in urban wastewater treatment plants,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 172, no. 2–3, pp. 833–838, 2009.
- [51] S. E. Manahan, *Fundamentals of Environmental Chemistry*, 2nd Editio. 2001.
- [52] S. C. Peter, “Reduction of CO₂ to Chemicals and Fuels: A Solution to Global Warming and Energy Crisis,” *ACS Energy Lett.*, vol. 3, no. 7, pp. 1557–1561, 2018.
- [53] F. R. Spellman, *Water and Wastewater Handbook of Treatment Plant Operations*. 2003.
- [54] M. G. Volpe, M. Nazzaro, R. Coppola, F. Rapuano, and R. P. Aquino, “Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA,” *Microchem. J.*, vol. 101, pp. 65–69, 2012.
- [55] L. Li, G. Hartmann, M. Döblinger, and M. Schuster, “Quantification of nanoscale silver particles removal and release from municipal wastewater treatment plants in Germany,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 47, no. 13, pp. 7317–7323, 2013.
- [56] P. Chanpiwat, S. Sthiannopkao, and K. W. Kim, “Metal content variation in wastewater and biosludge from Bangkok’s central wastewater treatment plants,” *Microchem. J.*, vol. 95, no. 2, pp. 326–332, 2010.
- [57] J. Y. Liu and S. Y. Sun, “Total concentrations and different fractions of heavy metals in sewage sludge from Guangzhou, China,” *Trans. Nonferrous Met. Soc. China (English Ed.)*, vol. 23, no. 8, pp. 2397–2407, 2013.
- [58] K. K. Shamuyarira and J. R. Gumbo, “Assessment of heavy metals in municipal sewage sludge: A case study of Limpopo Province, South Africa,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 11, no. 3, pp. 2569–2579, 2014.
- [59] B. Kim, C.-S. Park, M. Murayama, and M. F. Hochella, “Discovery and Characterization of Silver Sulfide Nanoparticles in Final Sewage Sludge Products,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 19, pp. 7509–7514, 2010.
- [60] T. M. Benn and P. Westerhoff, “Nanoparticle silver released into water from commercially available sock fabrics (Environmental Science and Technology (2008) 42, (4133-4139)),” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 42, no. 18, pp. 7025–7026, 2008.

- [61] A. M. El Badawy, R. G. Silva, B. Morris, K. G. Scheckel, M. T. Suidan, and T. M. Tolaymat, "Surface charge-dependent toxicity of silver nanoparticles," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, no. 1, pp. 283–287, 2011.
- [62] S. Choi, M. Johnston, G. S. Wang, and C. P. Huang, "A seasonal observation on the distribution of engineered nanoparticles in municipal wastewater treatment systems exemplified by TiO₂ and ZnO," *Sci. Total Environ.*, vol. 625, pp. 1321–1329, 2018.

ANEXOS

ANEXO I. Concentración de metales en agua residual.

Tabla 1A. Concentración de metales en influentes y efluentes de agua residual de PTAR 1 por ICP-OES.

		Metales en agua residual PTAR 1					
		Concentración $\mu\text{g L}^{-1} \pm$ desviación estándar					
Influente	Muestra	Ag	As	Cd	Co	Cr	Cu
	25/01/18	ND	ND	ND	ND	27 ± 7	6.0 ± 1.7
	27/02/18	ND	ND	ND	ND	11 ± 3	61 ± 9
	23/03/18	ND	ND	ND	ND	8.2 ± 2.2	73 ± 10
	20/04/18	ND	ND	ND	ND	6.4 ± 2.2	83 ± 5
	30/05/18	ND	ND	ND	ND	19 ± 3	6.33 ± 0.09
	22/06/18	ND	ND	ND	ND	9.3 ± 2.5	15 ± 3
	1/08/18	ND	ND	ND	ND	56 ± 15	ND
	28/08/18	ND	ND	ND	ND	6.9 ± 2.3	11 ± 3
	Muestra	Li	Mn	Ni	Pb	V	Zn
	25/01/18	23 ± 3	200 ± 30	31 ± 7	34 ± 9	ND	610 ± 30
	27/02/18	26 ± 3	119 ± 16	10.4 ± 1.1	43 ± 10	ND	280 ± 15
	23/03/18	26 ± 3	98 ± 12	11.0 ± 1.6	40 ± 5	ND	230 ± 40
	20/04/18	20 ± 0.7	79 ± 4	7.5 ± 1.3	18 ± 3	ND	280 ± 30
	30/05/18	21.4 ± 0.8	50 ± 3	4.3 ± 2.1	ND	ND	92 ± 12
	22/06/18	21.7 ± 2.4	116 ± 15	10.0 ± 2.2	43 ± 7	ND	310 ± 60
	1/08/18	31 ± 5	397 ± 4	31 ± 7	80 ± 30	6.4 ± 1.8	1315 ± 14
28/08/18	20 ± 3	111 ± 18	4.7 ± 2.0	41 ± 6	ND	280 ± 60	
Efluente	Muestra	Ag	As	Cd	Co	Cr	Cu
	25/01/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	27/02/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	23/03/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	20/04/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	30/05/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	22/06/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Muestra	Li	Mn	Ni	Pb	V	Zn
	25/01/18	20.1 ± 2.1	163 ± 18	3.3 ± 0.9	ND	ND	8.9 ± 2.5
	27/02/18	22.2 ± 1.9	97 ± 11	1.9 ± 1.3	ND	ND	9.0 ± 2.2
	23/03/18	25.4 ± 1.3	209 ± 12	ND	ND	ND	13.4 ± 1.2
	20/04/18	18 ± 3	128 ± 24	ND	ND	ND	7.6 ± 2.4
	30/05/18	21.9 ± 2.4	91 ± 11	ND	ND	ND	ND
	22/06/18	21.7 ± 2.1	93 ± 11	1.6 ± 0.5	ND	ND	ND
	1/08/18	22.7 ± 2.4	83 ± 10	ND	ND	ND	ND
28/08/18	20.1 ± 1.4	115 ± 10	2.8 ± 0.9	ND	ND	11.1 ± 2.0	

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

Tabla 2A. Concentración de metales en influentes y efluentes de agua residual de PTAR 2 por ICP-OES.

		Metales en agua residual PTAR 2					
		Concentración $\mu\text{g L}^{-1} \pm$ desviación estándar					
Influente	Muestra	Ag	As	Cd	Co	Cr	Cu
	25/01/18	ND	ND	ND	ND	2.9 ± 1.4	4.9 ± 0.6
	27/02/18	ND	ND	ND	ND	ND	29 ± 4
	23/03/18	ND	ND	ND	ND	3.8 ± 1.2	38 ± 8
	20/04/18	ND	ND	ND	ND	1.5 ± 1.2	15 ± 5
	30/05/18	ND	ND	ND	ND	170 ± 6	20 ± 4
	22/06/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	10 ± 4
	28/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	2.6 ± 1.2
	Muestra	Li	Mn	Ni	Pb	V	Zn
	25/01/18	17 ± 3	27 ± 8	11 ± 3	ND	ND	160 ± 50
	27/02/18	19.8 ± 1.6	21 ± 4	2.2 ± 1.2	ND	ND	103 ± 21
	23/03/18	32 ± 5	52 ± 9	7.4 ± 2.3	23 ± 7	ND	330 ± 80
	20/04/18	16 ± 3	29 ± 8	3.1 ± 1.1	20.1 ± 1.9	ND	160 ± 40
	30/05/18	17 ± 3	28 ± 8	3.9 ± 1.4	10 ± 3	ND	170 ± 50
	22/06/18	2.0 ± 0.9	27 ± 4	3.0 ± 1.5	ND	ND	370 ± 70
	1/08/18	15 ± 5	22 ± 9	2.0 ± 1.7	13 ± 5	ND	150 ± 60
	28/08/18	15 ± 3	26 ± 8	3.6 ± 1.0	9 ± 4	ND	190 ± 50
Efluente	Muestra	Ag	As	Cd	Co	Cr	Cu
	25/01/18	ND	ND	ND	ND	ND	4.4 ± 1.5
	27/02/18	ND	ND	ND	ND	ND	8.1 ± 0.8
	23/03/18	ND	ND	ND	ND	ND	2.4 ± 0.5
	20/04/18	ND	ND	ND	ND	ND	7.7 ± 1.4
	30/05/18	ND	ND	ND	ND	2.7 ± 1.3	2.5 ± 0.9
	22/06/18	ND	ND	ND	ND	ND	1.7 ± 0.9
	1/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	2.6 ± 0.4
	28/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	2.1 ± 0.6
	Muestra	Li	Mn	Ni	Pb	V	Zn
	25/01/18	16.6 ± 2.4	58 ± 10	8.8 ± 2.3	ND	ND	21 ± 5
	27/02/18	19.2 ± 0.9	41 ± 3	2.0 ± 1.1	ND	ND	26 ± 4
	23/03/18	17 ± 5	47 ± 15	1.8 ± 1.0	ND	ND	16 ± 7
	20/04/18	15 ± 3	51 ± 11	3.1 ± 1.1	ND	ND	28 ± 8
	30/05/18	17 ± 3	77 ± 13	1.8 ± 1.1	ND	ND	16 ± 5
	22/06/18	17 ± 3	59 ± 12	1.9 ± 1.1	ND	ND	15 ± 4
	1/08/18	16 ± 3	52 ± 10	ND	ND	ND	18 ± 5
	28/08/18	16 ± 3	50 ± 9	ND	ND	ND	13 ± 3

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

ANEXO II. Concentración de metales totales en agua residual.

Tabla 3A. Concentración de metales totales en influentes de agua residual de PTAR 1 por ICP-OES.

Metales Totales en influente de agua residual PTAR 1						
Concentración $\mu\text{g L}^{-1} \pm$ desviación estándar						
Muestra	Ag	As	Au	Ba	Be	Cd
25/01/18	ND	ND	ND	282.7 \pm 1.7	ND	ND
27/02/18	ND	ND	ND	133 \pm 10	ND	ND
23/03/18	ND	ND	ND	172 \pm 6	ND	ND
20/04/18	ND	ND	ND	71 \pm 5	ND	ND
30/05/18	ND	ND	ND	28.0 \pm 2.4	ND	ND
22/06/18	ND	ND	ND	147 \pm 8	ND	ND
1/08/18	ND	ND	ND	290 \pm 30	ND	ND
28/08/18	ND	ND	ND	78 \pm 7	ND	ND
28/09/18	ND	ND	ND	210 \pm 8	ND	ND
26/10/18	ND	ND	ND	39 \pm 4	ND	ND
26/11/18	ND	ND	ND	94 \pm 5	ND	ND
28/12/18	ND	ND	ND	83 \pm 7	ND	ND
29/01/19	ND	ND	ND	130 \pm 6	ND	ND
27/02/19	ND	ND	ND	153 \pm 7	ND	ND
29/03/19	ND	ND	ND	91 \pm 14	ND	ND
30/04/19	ND	ND	ND	170 \pm 30	ND	ND
31/05/19	ND	ND	ND	71 \pm 6	ND	ND
28/06/19	ND	ND	ND	145.4 \pm 1.1	ND	ND
Muestra	Co	Cr	Cu	Li	Mn	Mo
25/01/18	ND	44 \pm 4	135 \pm 15	20.1 \pm 0.6	218 \pm 8	ND
27/02/18	ND	14.1 \pm 0.6	83 \pm 6	21.02 \pm 0.16	138.4 \pm 1.3	ND
23/03/18	ND	21.1 \pm 0.6	49 \pm 5	20.8 \pm 0.4	111 \pm 6	ND
20/04/18	ND	7.9 \pm 2.3	78 \pm 13	17.1 \pm 0.3	83 \pm 3	ND
30/05/18	ND	21.6 \pm 2.0	ND	17.2 \pm 0.3	47.6 \pm 1.3	ND
22/06/18	ND	12.8 \pm 1.7	15 \pm 6	18.4 \pm 0.6	129 \pm 6	ND
1/08/18	ND	87.4 \pm 0.3	200 \pm 40	25.6 \pm 0.3	409 \pm 3	ND
28/08/18	ND	10.9 \pm 1.1	19.8 \pm 0.2	17.3 \pm 0.6	125 \pm 3	ND
28/09/18	ND	29 \pm 4	119 \pm 9	19.3 \pm 0.7	163 \pm 7	ND
26/10/18	ND	ND	ND	18.2 \pm 0.4	211 \pm 9	ND
26/11/18	ND	ND	ND	21 \pm 1	95 \pm 3	ND
28/12/18	ND	3.84 \pm 0.07	45 \pm 3	19.2 \pm 0.3	117 \pm 4	ND
29/01/19	ND	15 \pm 3	76 \pm 5	21.4 \pm 0.8	157 \pm 8	ND
27/02/19	ND	16.7 \pm 1.2	83 \pm 5	18.12 \pm 0.13	217.1 \pm 0.8	ND
29/03/19	ND	5.6 \pm 1.8	71 \pm 11	17.3 \pm 1.3	186 \pm 11	ND
30/04/19	ND	42.0 \pm 1.7	176 \pm 24	19.3 \pm 0.8	438 \pm 68	ND
31/05/19	ND	5.98 \pm 0.01	19.7 \pm 0.6	16.6 \pm 0.3	109 \pm 4	ND
28/06/19	ND	14.3 \pm 1.1	69.2 \pm 1.4	17.10 \pm 0.11	151.4 \pm 0.5	ND
Muestra	Ni	Pb	V	Zn		

25/01/18	35 ± 7	ND	8.19±0.17	770 ± 60
27/02/18	ND	ND	ND	404 ± 14
23/03/18	ND	ND	ND	270 ± 30
20/04/18	ND	ND	ND	298 ± 11
30/05/18	ND	ND	ND	250 ± 40
22/06/18	ND	ND	ND	352 ± 19
1/08/18	46 ± 4	160±19	15.7±0.4	1409 ± 16
28/08/18	ND	ND	ND	360 ± 30
28/09/18	7.4±1.5	20 ±3	ND	560 ± 50
26/10/18	ND	ND	ND	158 ± 14
26/11/18	ND	ND	ND	264 ± 12
28/12/18	ND	ND	ND	346 ± 14
29/01/19	14.0 ± 0.5	ND	2.79±0.19	520 ± 19
27/02/19	12.7 ± 1.9	ND	ND	610 ± 30
29/03/19	ND	ND	ND	379 ± 5
30/04/19	18 ± 3	ND	ND	850 ± 90
31/05/19	ND	ND	ND	304 ± 13
28/06/19	8 ± 3	ND	ND	518 ± 3

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

Tabla 4A. Concentración de metales totales en efluentes de agua residual de PTAR 1 por ICP-OES.

Metales Totales en efluente de agua residual PTAR 1							
Concentración µg L ⁻¹ ± desviación estándar							
Muestra	Ag	As	Au	Ba	Be	Cd	
Efluente	25/01/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	27/02/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	23/03/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	20/04/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	30/05/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	22/06/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/09/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	26/10/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	26/11/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/12/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	29/01/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	27/02/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	29/03/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	30/04/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	31/05/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28/06/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	

Muestra	Co	Cr	Cu	Li	Mn	Mo
25/01/18	ND	ND	ND	17.0 ± 0.1	177 ± 6	ND
27/02/18	ND	ND	ND	17.8 ± 0.5	105 ± 5	ND
23/03/18	ND	ND	ND	18.5 ± 0.4	212 ± 9	ND
20/04/18	ND	ND	ND	16.5 ± 0.4	161 ± 16	ND
30/05/18	ND	ND	ND	17.5 ± 0.6	98 ± 3	ND
22/06/18	ND	ND	ND	17.2 ± 0.4	97 ± 4	ND
1/08/18	ND	ND	ND	17.9 ± 0.3	89.0 ± 1.7	ND
28/08/18	ND	ND	ND	16.18 ± 0.13	124 ± 3	ND
28/09/18	ND	ND	ND	17.1 ± 0.6	85 ± 4	ND
26/10/18	ND	ND	ND	17.1 ± 0.4	136 ± 3	ND
26/11/18	ND	ND	ND	19.4 ± 0.5	87 ± 3	ND
28/12/18	ND	ND	ND	18.1 ± 0.3	163 ± 6	ND
29/01/19	ND	ND	ND	18.3 ± 0.7	152 ± 7	ND
27/02/19	ND	ND	ND	16.1 ± 1.1	160 ± 4	ND
29/03/19	ND	ND	ND	15.7 ± 0.8	126 ± 8	ND
30/04/19	ND	ND	ND	16.8 ± 2.5	77 ± 9	ND
31/05/19	ND	ND	ND	15.2 ± 0.6	111 ± 2.5	ND
28/06/19	ND	ND	ND	15.82 ± 0.21	170.8 ± 2.0	ND
Muestra	Ni	Pb	V	Zn		
25/01/18	ND	ND	ND	ND		
27/02/18	ND	ND	ND	ND		
23/03/18	ND	ND	ND	ND		
20/04/18	ND	ND	ND	ND		
30/05/18	ND	ND	ND	ND		
22/06/18	ND	ND	ND	ND		
1/08/18	ND	ND	ND	ND		
28/08/18	ND	ND	ND	ND		
28/09/18	ND	ND	ND	ND		
26/10/18	ND	ND	ND	ND		
26/11/18	ND	ND	ND	ND		
28/12/18	ND	ND	ND	ND		
29/01/19	ND	ND	ND	ND		
27/02/19	ND	ND	ND	ND		
29/03/19	ND	ND	ND	ND		
30/04/19	ND	ND	ND	ND		
31/05/19	ND	ND	ND	ND		
28/06/19	ND	ND	ND	ND		
24/07/19	ND	ND	ND	ND		

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

Tabla 5A. Concentración de metales totales en influentes de agua residual de PTAR 2 por ICP-OES.

Metales Totales en influente de agua residual PTAR 2							
Concentración $\mu\text{g L}^{-1} \pm$ desviación estándar							
Muestra	Ag	As	Au	Ba	Be	Cd	
Influente	25/01/18	ND	ND	ND	86 \pm 8	ND	ND
	27/02/18	ND	ND	ND	22 \pm 3	ND	ND
	23/03/18	ND	ND	ND	42 \pm 4	ND	ND
	20/04/18	ND	ND	ND	44 \pm 4	ND	ND
	30/05/18	ND	ND	ND	54 \pm 3	ND	ND
	22/06/18	ND	ND	ND	35 \pm 3	ND	ND
	1/08/18	ND	ND	ND	39 \pm 4	ND	ND
	28/08/18	ND	ND	ND	38 \pm 4	ND	ND
	28/09/18	ND	ND	ND	42.7 \pm 1.2	ND	ND
	26/10/18	ND	ND	ND	42 \pm 4	ND	ND
	26/11/18	ND	ND	ND	35 \pm 4	ND	ND
	28/12/18	ND	ND	ND	29.1 \pm 1.8	ND	ND
	29/01/19	ND	ND	ND	35.7 \pm 2.4	ND	ND
	27/02/19	ND	ND	ND	37 \pm 3	ND	ND
	29/03/19	ND	ND	ND	74 \pm 4	ND	ND
	30/04/19	ND	ND	ND	101 \pm 11	ND	ND
	31/05/19	ND	ND	ND	45.8 \pm 1.7	ND	ND
	28/06/19	ND	ND	ND	50.5 \pm 0.8	ND	ND
	Muestra	Co	Cr	Cu	Li	Mn	Mo
	25/01/18	ND	10.6 \pm 1.7	43 \pm 4	24 \pm 1.0	54.5 \pm 1.3	ND
27/02/18	ND	ND	ND	16.8 \pm 0.3	19.3 \pm 0.3	ND	
23/03/18	ND	ND	ND	16.9 \pm 0.6	32.8 \pm 1.3	ND	
20/04/18	ND	ND	ND	15.2 \pm 0.4	30.3 \pm 1.1	ND	
30/05/18	ND	221 \pm 7	ND	16.0 \pm 0.5	30.9 \pm 1.1	ND	
22/06/18	ND	ND	ND	16.1 \pm 0.3	24.6 \pm 0.9	ND	
1/08/18	ND	ND	ND	16 \pm 1	25.4 \pm 0.6	ND	
28/08/18	ND	ND	ND	14.6 \pm 0.3	27.95 \pm 0.25	ND	
28/09/18	ND	ND	ND	16.9 \pm 1.6	30.6 \pm 0.8	ND	
26/10/18	ND	ND	ND	16.1 \pm 0.3	30.0 \pm 0.7	ND	
26/11/18	ND	ND	ND	17.6 \pm 1.7	25.2 \pm 0.9	ND	
28/12/18	ND	ND	ND	16.4 \pm 0.6	23.9 \pm 1.4	ND	
29/01/19	ND	ND	ND	16.78 \pm 0.25	26.2 \pm 1.2	ND	
27/02/19	ND	ND	ND	14.8 \pm 0.4	34.6 \pm 2.5	ND	
29/03/19	ND	31 \pm 3	223 \pm 21	15.1 \pm 0.6	45.9 \pm 1.8	ND	
30/04/19	ND	10.0 \pm 1.1	ND	16.2 \pm 1.2	55 \pm 7	ND	
31/05/19	ND	ND	ND	16.2 \pm 0.6	30.7 \pm 1.3	ND	
28/06/19	ND	ND	ND	14.78 \pm 0.01	24.34 \pm 0.12	ND	
Muestra	Ni	Pb	V	Zn			

25/01/18	19.8 ± 1.9	ND	ND	390 ± 30
27/02/18	ND	ND	ND	93.3 ± 1.8
23/03/18	ND	ND	ND	224 ± 20
20/04/18	ND	ND	ND	180 ± 7
30/05/18	ND	ND	ND	196 ± 6
22/06/18	ND	ND	ND	104 ± 7
1/08/18	ND	ND	ND	240 ± 3
28/08/18	ND	ND	ND	233 ± 23
28/09/18	ND	ND	ND	206 ± 16
26/10/18	ND	ND	ND	188 ± 20
26/11/18	ND	ND	ND	126 ± 12
28/12/18	ND	ND	ND	123 ± 12
29/01/19	ND	ND	ND	126.4 ± 2.3
27/02/19	ND	ND	ND	161 ± 14
29/03/19	16 ± 5	ND	ND	445 ± 13
30/04/19	ND	ND	ND	254 ± 23
31/05/19	ND	ND	ND	207 ± 6
28/06/19	ND	ND	ND	164.3 ± 2.0

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

Tabla 6A. Concentración de metales totales en efluentes de agua residual de PTAR 2 por ICP-OES.

Metales Totales en efluente de agua residual PTAR 2							
Concentración µg L ⁻¹ ± desviación estándar							
Muestra	Ag	As	Au	Ba	Be	Cd	
Efluente	25/01/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	27/02/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	23/03/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	20/04/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	30/05/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	22/06/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	1/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/08/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/09/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	26/10/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	2/11/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	28/12/18	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	29/01/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	27/02/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	29/03/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	30/04/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	31/05/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND
28/06/19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	

Muestra	Co	Cr	Cu	Li	Mn	Mo
25/01/18	ND	ND	ND	14.9 ± 0.3	63 ± 3	ND
27/02/18	ND	ND	ND	16.2 ± 0.5	39.6 ± 1.6	ND
23/03/18	ND	ND	ND	16.5 ± 0.4	56.1 ± 1.8	ND
20/04/18	ND	ND	ND	14.7 ± 1.0	53 ± 3	ND
30/05/18	ND	ND	ND	15.1 ± 0.6	88 ± 9	ND
22/06/18	ND	ND	ND	15.6 ± 0.3	64.2 ± 1.7	ND
1/08/18	ND	ND	ND	14.8 ± 0.6	54.1 ± 1.8	ND
28/08/18	ND	ND	ND	14.6 ± 0.6	51.7 ± 0.8	ND
28/09/18	ND	ND	ND	15.00 ± 0.10	58.9 ± 1.5	ND
26/10/18	ND	ND	ND	14.6 ± 1.1	52.2 ± 1.8	ND
2/11/18	ND	ND	ND	16.7 ± 1.4	32.9 ± 1.1	ND
28/12/18	ND	ND	ND	15.0 ± 0.8	54.9 ± 2.3	ND
29/01/19	ND	ND	ND	16.600 ± 0.022	62 ± 3	ND
27/02/19	ND	ND	ND	15.2 ± 0.9	80 ± 3	ND
29/03/19	ND	ND	ND	13.6 ± 0.5	70.8 ± 1.1	ND
30/04/19	ND	ND	ND	15.4 ± 0.8	70.0 ± 0.8	ND
31/05/19	ND	ND	ND	14.8 ± 0.4	80.8 ± 0.8	ND
28/06/19	ND	ND	ND	14.30 ± 0.22	77.29 ± 0.22	ND
Muestra	Ni	Pb	V	Zn		
25/01/18	ND	ND	ND	ND		
27/02/18	ND	ND	ND	ND		
23/03/18	ND	ND	ND	ND		
20/04/18	ND	ND	ND	ND		
30/05/18	ND	ND	ND	ND		
22/06/18	ND	ND	ND	ND		
1/08/18	ND	ND	ND	77 ± 8		
28/08/18	ND	ND	ND	ND		
28/09/18	ND	ND	ND	ND		
26/10/18	ND	ND	ND	ND		
2/11/18	ND	ND	ND	ND		
28/12/18	ND	ND	ND	ND		
29/01/19	ND	ND	ND	28 ± 6		
27/02/19	ND	ND	ND	ND		
29/03/19	ND	ND	ND	ND		
30/04/19	ND	ND	ND	ND		
31/05/19	ND	ND	ND	ND		
28/06/19	ND	ND	ND	ND		

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

Tabla 7A. Coeficientes de correlación de Pearson para metales totales en los influentes de la PTAR 1.

	Ba	Cr	Cu	Li	Mn	Ni	Pb	V	Zn
Ba	1								
Cr	0.809	1							
Cu	0.810	0.829	1						
Li	0.660	0.690	0.562	1					
Mn	0.606	0.736	0.806	0.493	1				
Ni	0.834	0.900	0.818	0.662	0.745	1			
Pb	0.552	0.819	0.585	0.720	0.573	0.711	1		
V	0.712	0.860	0.644	0.748	0.569	0.906	0.859	1	
Zn	0.817	0.931	0.898	0.664	0.831	0.934	0.793	0.833	1

Tabla 8A. Coeficientes de correlación de Pearson para metales totales en los influentes de la PTAR 2.

	Ba	Cr	Cu	Li	Mn	Ni	Zn
Ba	1						
Cr	0.176	1					
Cu	0.415	0.071	1				
Li	0.363	-0.039	0.012	1			
Mn	0.938	0.081	0.458	0.451	1		
Ni	0.592	0.032	0.747	0.621	0.680	1	
Zn	0.741	0.102	0.748	0.339	0.793	0.835	1

ANEXO III. Concentración de metales totales en lodo residual.

Tabla 9A. Concentración de metales totales en lodo residual mixto por ICP-OES.

Metales totales en lodo					
Concentración mg kg ⁻¹ ± desviación estándar					
Muestra	Ag	As	Au	Ba	Be
25/01/18	6.13 ± 0.09	ND	ND	253 ± 3	ND
27/02/18	6.1 ± 0.8	ND	ND	260 ± 6	ND
23/03/18	4.01 ± 0.04	1.14 ± 1.19	ND	241.4 ± 2.4	ND
20/04/18	3.33 ± 0.17	ND	ND	232 ± 6	ND
30/05/18	3.01 ± 0.06	ND	ND	236.4 ± 0.6	ND
22/06/18	3.33 ± 0.21	ND	ND	222 ± 7	ND
1/08/18	3.34 ± 0.07	ND	ND	243 ± 3	ND
28/08/18	4.30 ± 0.19	ND	ND	250 ± 3	ND
26/10/18	5.81 ± 0.25	ND	ND	247 ± 7	ND
26/11/18	5.30 ± 0.14	ND	ND	253 ± 12	ND
28/12/18	4.74 ± 0.06	ND	ND	235.9 ± 1.3	ND
29/01/19	4.08 ± 0.07	2.1 ± 0.3	ND	223.4 ± 0.4	ND
27/02/19	3.234 ± 0.006	ND	ND	220.21 ± 0.19	ND
29/03/19	2.93 ± 0.06	ND	ND	220 ± 15	ND
30/04/19	3.74 ± 0.09	1.035 ± 0.007	ND	249 ± 10	ND
31/05/19	3.53 ± 0.12	ND	ND	250 ± 6	ND
28/06/19	3.7 ± 0.8	ND	ND	250 ± 5	ND
24/07/19	2.88 ± 0.14	ND	ND	245 ± 6	ND
Muestra	Cd	Co	Cr	Cu	Mn
25/01/18	1.9 ± 0.3	ND	33.36 ± 0.05	272.21 ± 0.14	247 ± 13
27/02/18	2.22 ± 0.20	ND	32.53 ± 0.09	263 ± 10	286 ± 19
23/03/18	2.2 ± 0.3	ND	28.1 ± 0.7	235 ± 10	251 ± 16
20/04/18	2.2 ± 0.3	ND	32.3 ± 0.8	249 ± 11	239 ± 5
30/05/18	2.0 ± 0.20	ND	30.2 ± 1.1	251.1 ± 1.7	242 ± 11
22/06/18	1.79 ± 0.12	ND	32.2 ± 0.9	253.9 ± 1.8	239 ± 11
1/08/18	1.88 ± 0.14	ND	33.0 ± 0.3	302 ± 10	305 ± 8
28/08/18	1.75 ± 0.21	ND	35.6 ± 0.5	316.0 ± 2.0	268 ± 5
26/10/18	1.93 ± 0.18	ND	31.9 ± 0.5	293 ± 11	282 ± 13
26/11/18	1.95 ± 0.20	ND	35.9 ± 1.0	282 ± 11	266 ± 7
28/12/18	1.80 ± 0.15	ND	31 ± 3	243 ± 8	236 ± 6
29/01/19	1.626 ± 0.023	ND	29.1 ± 0.4	260 ± 11	193 ± 8
27/02/19	1.683 ± 0.012	ND	27.91 ± 0.20	260 ± 16	188 ± 10
29/03/19	1.699 ± 0.010	ND	28.6 ± 1.4	260 ± 30	226 ± 3
30/04/19	2.10 ± 0.21	ND	31.1 ± 1.0	350 ± 40	214 ± 10
31/05/19	1.88 ± 0.03	ND	30.79 ± 0.18	338 ± 4	238.7 ± 1.8
28/06/19	1.855 ± 0.006	ND	29.8 ± 0.9	313 ± 2.4	276.35 ± 0.08
24/07/19	1.880 ± 0.009	ND	29.6 ± 0.6	305 ± 3	271 ± 3
Muestra	Mo	Ni	Pb	V	Zn

25/01/18	3.45 ± 0.07	19.4 ± 0.5	63 ± 6	12.7 ± 1.8	1060 ± 80
27/02/18	2.851 ± 0.003	19.7 ± 0.5	54.5 ± 1.9	11.7 ± 1.6	970 ± 40
23/03/18	1.90 ± 0.18	18.56±0.19	48 ± 3	11 ± 3	900 ± 30
20/04/18	3.315 ± 0.021	20.0 ± 0.6	48 ± 5	13 ± 3	925 ± 6
30/05/18	4.8 ± 0.4	18.81±0.14	50 ± 4	10.6 ± 2.5	867 ± 25
22/06/18	4.16 ± 0.13	17.3 ± 1.0	44 ± 3	11 ± 3	900 ± 40
1/08/18	1.48 ± 0.24	19.27±0.21	70 ± 7	10.2 ± 1.1	1010 ± 40
28/08/18	3.89 ± 0.03	19.23±0.20	70 ± 5	12.5 ± 0.6	1056 ± 25
26/10/18	4.2 ± 0.3	20.67±0.23	61 ± 6	12.4 ± 0.9	1052.3 ± 0.3
26/11/18	5.10 ± 0.23	20.74±0.03	60 ± 6	15.3 ± 1.0	1001 ± 8
28/12/18	4.497 ± 0.022	22.5 ± 1.5	43 ± 5	12.0 ± 1.5	869 ± 15
29/01/19	4.57 ± 0.04	21.0 ± 1.0	46.4 ± 1.4	12.16 ± 0.25	860 ± 40
27/02/19	3.82 ± 0.13	17.6 ± 0.3	41 ± 3	11.0 ± 0.3	839 ± 11
29/03/19	3.581 ± 0.010	16.5 ± 0.6	44.20±0.16	11.90±0.18	1000 ± 140
30/04/19	4.6 ± 0.5	18.8 ± 0.8	70 ± 4	15.1 ± 0.3	1020 ± 50
31/05/19	5.615 ± 0.015	20.76±0.15	71.9 ± 0.7	15.86±0.13	951 ± 15
28/06/19	5.1 ± 0.3	19.41±0.13	72.0 ± 2.4	14.53 ± 0.03	887 ± 16
24/07/19	5.07 ± 0.10	19.9 ± 0.4	39.7 ± 1.3	13.09 ± 0.10	804 ± 8

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado

ANEXO IV. Concentración de ZnO-NPs en influentes de agua residual.

Tabla 10A. Concentración de ZnO-NPs en los influentes de PTAR 1 y PTAR 2 por ICP-OES.

	Muestra	Concentración $\mu\text{g L}^{-1} \pm$ desviación estándar
PTAR 1	28/08/18	37.85 ± 0.18
	28/09/18	41 ± 6
	26/10/18	ND
	26/11/18	30 ± 4
	28/12/18	38 ± 6
	29/01/19	53 ± 5
	27/02/19	ND
	29/03/19	ND
	30/04/19	123 ± 4
	31/05/19	ND
	28/06/19	ND
	PTAR 2	28/08/18
28/09/18		66 ± 4
26/10/18		ND
26/11/18		61 ± 3
28/12/18		36.63 ± 0.04
29/01/19		27.2 ± 1.9
27/02/19		ND
29/03/19		64.2 ± 0.7
30/04/19		34.8 ± 0.4
31/05/19		ND
28/06/19		ND

Formato de fecha: DD/MM/YY

ND: No detectado