



Escola de Camins
Escola Tècnica Superior d'Enginyeria de Camins, Canals i Ports
UPC BARCELONATECH

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AGUA RESIDUAL REGENERADA PARA LA RECARGA ARTIFICIAL DE ACUÍFEROS

Treball realitzat per:

Ana Julia Acuña Barrantes

Dirigit per:

M. Silvia Díaz Cruz

Alejandro Josa García-Tornel

Màster en:

Enginyeria Ambiental

Barcelona, **Junio 2017**

Departament de Química Ambiental

TREBALL FINAL DE MÀSTER

Aprobada por:

Dra. M. Silvia Díaz-Cruz
Institut de Diagnòstic Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDAEA)
Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

RESUMEN

El agua es un recurso natural escaso indispensable para la vida humana y el sostenimiento del medio ambiente que se ha visto afectado en los últimos años por el elevado uso de productos farmacéuticos y de cuidado personal, entre otros químicos. Se ha documentado que estos compuestos acceden al medio acuático principalmente por medio de los efluentes de las estaciones de tratamiento de aguas residuales (EDARs), y tienen potencial de bioacumulación y ecotoxicidad para el medio receptor. La reutilización de las aguas residuales ha cobrado gran importancia debido a las crecientes demandas de recursos hídricos, especialmente para el regadío y la recarga de acuíferos, por lo que, un tratamiento complementario terciario es necesario para adecuar la calidad de las aguas regeneradas para el uso seguro al que se destinan.

Este proyecto de Máster se ha realizado en el marco del proyecto JPI financiado por la Comisión Europea y el Ministerio de Economía, Empresa y Competitividad de España, ACWAPUR (Accelerated Water Purification During Artificial Recharge of Aquifers - a Tool to Restore Drinking Water Resources) El principal objetivo de este proyecto es desarrollar herramientas y técnicas innovadoras para restaurar la calidad de los recursos hídricos para la recarga de acuíferos. En primer lugar, la tesis pretende determinar la presencia de residuos químicos antropogénicos derivados del consumo de productos farmacéuticos y de cuidado personal en aguas residuales. En segundo lugar, pretende aportar una visión global del rendimiento de la EDAR donde se realiza el estudio y la bondad de los procesos que se llevan a cabo para el tratamiento de agua considerando como objetivo la eliminación de los contaminantes orgánicos.

SUMMARY

Water is a scarce, natural resource indispensable for human life and environmental sustainability. It has been affected in recent years by the high use of pharmaceuticals and personal care products, amongst other chemicals. It has been documented how these compounds both access the aquatic environment, primarily through effluents from wastewater treatment plants (WWTPs), and their potential for bioaccumulation and ecotoxicity to the environment. The reuse of wastewater has become very important due to the higher demand of water resources, especially for the irrigation and the recharge of aquifers. A complementary tertiary treatment is necessary to adapt the quality of the regenerated waters for their intended use.

This master's project has been carried out within the framework of the JPI project financed by the European Commission and the Spanish Ministry of Economy, Enterprise and Competitiveness, ACWAPUR (Accelerated Water Purification During Artificial Recharge of Aquifers - a Tool to Restore Drinking Water Resources). The main objective of this project is to develop innovative tools and techniques to restore the quality of water resources for the recharge of aquifers. Firstly, the thesis aims to determine the presence of anthropogenic chemical residues derived from the consumption of pharmaceuticals and personal care products in wastewater. Secondly, it aims to provide an overview of the performance of the WWTP, where the study was undertaken, and the quality of the processes used in wastewater treatment and elimination of organic pollutants.

AGRADECIMIENTOS

A mi tutora, Dra. Silvia Díaz-Cruz, por su tiempo, su conocimiento, sus consejos, y principalmente por su confianza y apoyo para dejar que desarrollase el tema de investigación con su grupo de trabajo en el CSIC-IDAEA. Gracias por compartir su pasión por la investigación, ha sido una gran inspiración para mí como persona y profesional.

A Cristina Valhondo, por su tiempo y soporte para poder llevar a cabo este proyecto, y por los interminables viajes a la zona de estudio.

Al Consorcio de Aguas de la Costa Brava y a la Empresa Mixta d'Aigües de la Costa Brava, por dejar que desarrollase la investigación en sus instalaciones, por su tiempo y sus conocimientos

A la Comisión Europea (JPI-Horizon 2020) y al Ministerio de Economía, Empresa y Competitividad de España por la subvención económica al proyecto.

Al Dr. Roberto Parra, por ser mi tutor en México quien me dio la confianza y el apoyo para el logro de esta meta y motivarme a explorar la investigación en el tema medioambiental.

A Theo Laverty, mi compañero de vida, mi mejor amigo, por apoyarme desde el inicio del Máster, gracias por creer siempre en mí y motivarme a ser una mejor persona. Sin ti, este logro no hubiera sido posible.

A mi madre Elena Barrantes, a mi hermana Beatriz Acuña y a mi abuelita Julieta Velarde, por todo su amor, apoyo y ejemplo. Por ser las tres mosqueteras, todo lo que soy se lo debo a ustedes.

A mis amigos de máster, en especial al grupo de FdP con quienes compartí cada etapa de los estudios hasta finalizarlos, por su paciencia, comprensión y apoyo en todo momento.

A todos mis queridos amigos, por estar presentes en esta etapa tan importante de mi vida, por su amistad y apoyo incondicional.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS Y TÉRMINOS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. OBJETIVO.....	15
3. PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL Y FÁRMACOS (PPCPs)	
3.1. Productos de Cuidado Personal (PCP)	17
3.1.1. Propiedades físico-químicas y funciones.....	18
3.1.2. Presencia de los PCPs en el medio ambiente.....	23
3.1.3. Mecanismos naturales de degradación de PCPs, metabolitos y otros productos de transformación	27
3.1.4. Efectos de los PCPs en el medio ambiente.....	28
3.2. Fármacos.....	29
3.2.1. Propiedades físico-químicas y funciones.....	30
3.2.2. Presencia de fármacos en el medio ambiente.....	38
3.2.3. Mecanismos naturales de degradación de fármacos, metabolitos y otros productos de transformación.....	43
3.2.4. Efectos de los fármacos en el medio ambiente.....	44
3.3. Determinación analítica de los PPCPs en el medio acuático.....	46
4. ESTUDIOS PREVIOS	
4.1. Presencia de PPCPs en aguas residuales y tasas de eliminación en EDARs.....	47
5. NORMATIVA: EUROPA Y ESPAÑA.....	52
6. CASO DE ESTUDIO	
6.1. Situación geográfica.....	54
6.2. Características de la región y población.....	55
6.3. Descripción de la EDAR.....	56
7. TOMA DE MUESTRAS.....	57
8. ANÁLISIS MEDIANTE ON-LINE SPE-HPLC-MS	
8.1. Compuestos PPCPs seleccionados.....	58
8.2. Estándares y reactivos.....	58
8.3. Pre-tratamiento de las muestras.....	59
8.4. Análisis instrumental	
8.4.1. Extracción en fase sólida (SPE) on-line	60
8.4.2. Análisis HPLC-MS/MS.....	60
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
9.1. Validación del método HPLC-MS/MS.....	63
9.2. Presencia de PPCPs en muestras de aguas de la EDAR.....	65
9.3. Comparación con la presencia de PPCPs en otros estudios.....	71
9.4. Resistencia bacteriana.....	72
9.5. Bondad de los procesos y proyecto ACWAPUR.....	73
10. CONCLUSIONES.....	75
11. BIBLIOGRAFÍA.....	77
12. ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS Y TÉRMINOS

AnMBR	Reactor Biológico de Membrana Anaerobio
API	Ingredientes Farmacéuticamente Activos
ARG	Genes de Resistencia a Antibióticos
BOE	Boletín Oficial de Estado
BNR	Eliminación de Nutrientes Biológicos
CAS	Tratamiento Convencional de Aguas Residuales
CE	Contaminantes Emergentes
CNR	Consejo Nacional de Investigación
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas
DBO	Demanda biológica de oxígeno
DMA	Directiva Marco del Agua
EC ₅₀	Concentración efectiva media
ECDC	Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales (WWTP, siglas en inglés)
EPA	Agencia Europea del Medioambiente (Environmental Protection Agency)
FA	Filtro de Arenas
GC	Cromatografía de Gases
HPLC	Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento
IDAEA	Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua
IDESCAT	Instituto de Estadística de Cataluña
IRSA	Instituto de Investigación del Agua
K _{ow}	Coefficiente de Reparto Octanol-Agua
LC	Cromatografía Líquida
LOD	Límite de Detección
LOQ	Límite de Cuantificación
MBR	Reactor Biológico de Membrana Aerobio
M.M.	Masa Molecular
MS/MS	Espectrometría de Masas en Tándem
MO	Materia Orgánica
OD	Zanja de Oxidación
PCP	Productos de Cuidado Personal
PPCP	Fármacos y Productos de Cuidado Personal

RE%	Tasas de Eliminación
RSD	Desviación Estándar Relativa
SNS	Sistema Nacional de Salud
SPE	Extracción en Fase Sólida
SS	Sólidos en Suspensión
STAMPA	Asociación Nacional de Perfumería y Cosmética
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico
UE	Unión Europea
UF	Ultrafiltración
UV F	Filtros Ultravioleta

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de los PCPs estudiados

Tabla 2. Presencia de filtros UV en muestras de aguas residuales (influyente y efluente)

Tabla 3. Propiedades físico-químicas de los fármacos estudiados

Tabla 4. Propiedades físico-químicas de los antibióticos estudiados

Tabla 5. Presencia de APIs en muestras de aguas residuales (influyente y efluente)

Tabla 6. Tasas de eliminación de PPCPs en diferentes niveles de tratamiento de aguas residuales

Tabla 7. Lista de vigilancia (Watch List) publicada en la Directiva 2015/495/UE

Tabla 8. Datos oficiales estadísticos de municipios de la comarca del Baix Empordà

Tabla 9. Lista de PPCPs analizados

Tabla 10. Condiciones experimentales de las transiciones monitorizadas para cada uno de los compuestos PPCPs en el análisis por HPLC-ESI-MS/MS

Tabla 11. Parámetros de calidad del método *online* SPE-LC-MS/MS para el análisis de PPCPs en muestras de agua residual

Tabla 12. Resultados de PPCPs en la primera campaña de muestreo

Tabla 13. Resultados de PPCPs en la segunda campaña de muestreo

Tabla 14. Resultados de ARGs presentes en efluentes de la EDAR de estudio

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Fuentes de entrada y destino de los PCPs en el medio ambiente
- Figura 2.** Fuentes de entrada y destino de los fármacos en el medio ambiente
- Figura 3.** Esquema del metabolismo de los fármacos en el hígado para incrementar su polaridad
- Figura 4.** Vista aérea de la EDAR de Palamós
- Figura 5.** Diagrama del proceso de la EDAR de Palamós para el tratamiento de aguas residuales
- Figura 6.** Concentración (ng L^{-1}) de los PPCPs presentes en las muestras de aguas residuales tratadas en diferentes etapas del proceso de la EDAR
- Figura 7.** MS/MS cromatograma reconstruido de la muestra puntual del efluente secundario de lunes mañana (1ra. campaña de muestreo)
- Figura 8.** MS/MS cromatograma reconstruido de la muestra puntual efluente secundario (2da. campaña de muestreo)
- Figura 9.** Materia orgánica utilizada para las barreras porosas reactivas avanzadas
- Figura I.1.** Barreras porosas reactivas avanzadas en la EDAR
- Figura II.1.** Pretratamiento del agua residual
- Figura II.2.** Tratamiento primario
- Figura II.3.** Tratamiento biológico
- Figura II.4.** Decantación secundaria
- Figura II.5.** Tratamiento terciario (FA)
- Figura II.6.** Línea de Fangos
- Figura II.7.** Desodorizante del gas de línea de fangos
- Figura III.1.** Etiqueta de identificación de muestras para el proyecto ACWAPUR
- Figura III.2.** Área de muestreo dentro de la EDAR de estudio
- Figura V.1.** MS/MS cromatogramas de una mezcla estándar de PPCPs a 700 ng L^{-1}

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural escaso, indispensable para la vida humana y el sostenimiento del medio ambiente, que en los últimos años debido al desarrollo revolucionario de los recursos y las tecnologías ha sufrido un alarmante deterioro como consecuencia del aumento del número de compuestos identificados como potencialmente amenazantes para el medio ambiente (Barceló, 2007; Bolong, 2009).

El término contaminantes emergentes (CE) habitualmente se utiliza para referirse a compuestos de distinto origen y naturaleza química, que son emitidos al medio ambiente y pueden causar en él efectos nocivos. Estos contaminantes pueden tener su origen en emisiones antiguas, pero no haber sido detectado hasta ahora gracias al desarrollo en la instrumentación analítica, o porque se produjeron en procesos de muy larga duración, o son productos de nueva invención o derivado a consecuencia de nuevas tecnologías de tratamientos de residuos. Estos contaminantes se encuentran normalmente a nivel de trazas, en el rango de nanogramos (ng) o microgramos (mg) por litro (mg L^{-1}) (Gil et al., 2012). Este tipo de contaminantes, a diferencia de los contaminantes prioritarios, no están regulados en la normativa ambiental existente, y por lo general se desconocen sus posibles efectos ecotoxicológicos (Gago Ferrero, 2013).

Los CE comprenden una amplia variedad de sustancias químicas debido a su uso masivo en la vida cotidiana con diferentes propósitos. Dentro de los grupos más reconocidos se encuentran los productos farmacéuticos y de cuidado personal (PPCPs), plastificantes, retardantes de llama, plaguicidas, agentes tensioactivos, drogas ilegales, subproductos de desinfección y aditivos de gasolina. Además, estos grupos no están incluidos en el monitoreo actual de programas de tratamiento de aguas residuales, razón por la cual, la mayoría de las investigaciones centran sus estudios en la presencia de estos contaminantes en aguas superficiales, de río, residuales con tratamiento biológico, y agua potable (de consumo humano), entre otras, ya que éstas son las más susceptibles de contener concentraciones mayores de CE que las aguas subterráneas (Gil et al., 2012).

Los PPCPs son un grupo diverso de productos químicos que incluyen fármacos humanos y veterinarios, suplementos alimenticios y otros productos químicos utilizados en cosméticos y otros productos de cuidado e higiene personal. Estos compuestos acceden al medio acuático por vía directa, a través de actividades recreativas acuáticas y uso en animales, y por vía indirecta a través de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (EDARs) donde no son completamente eliminados. Algunos de estos compuestos son biodegradados o quedan retenidos en el fango mediante los procesos convencionales de tratamiento de aguas residuales. Sin embargo, la mayoría de los estos compuestos son polares, y escasamente biodegradables por lo cual logran superar el paso por la EDAR sin ser completamente eliminados/transformados y son liberados a través de los efluentes en los medios acuáticos receptores (Gracia-Lor et al., 2012).

En las zonas áridas y semiáridas del Mediterráneo, la reutilización de las aguas residuales ha cobrado gran importancia debido a las crecientes demandas de recursos hídricos para diversos usos, principalmente para el riego de jardines, calles, etc. y para la recarga de acuíferos a fin de aumentar las reservas de agua.

Según el informe de Sostenibilidad en España (2016), en el 2015 operaban un total de 2.940 EDARs. El 11% del agua tratada se reutiliza para diversos usos; el 75% se destina a agricultura, el 12% al riego de campos de golf y jardines y el 4% a recarga de acuíferos, entre otros usos, por lo que todavía existe un gran margen para potenciar la reutilización dentro de la misma industria que ha consumido el agua en origen o a través de simbiosis industriales (Alfonso et al., 2016; Callao, 2016).

Entre las causas de la escasa reutilización, cabe mencionar que no existe regulación para los contaminantes emergentes en el tratamiento de aguas residuales, ni criterios claros en la elección de tecnologías para tratamientos avanzados que permitan establecer las ventajas económicas y sociales de la reutilización y el coste del agua reutilizada (De Bustamante et al., 2010). Según el Real Decreto 1620/2007, las aguas regeneradas son las aguas residuales depuradas que, en su caso, han sido sometidas a un proceso de tratamiento adicional o complementario que permite adecuar su calidad al uso al que se destinan.

Así pues, la presencia de los CE plantea una constante revisión de los criterios de calidad del agua regenerada para la recarga de acuíferos y de los tratamientos más adecuados para su control, lo que proyecta desafíos para los diseñadores de las futuras plantas de tratamiento y la metodología relacionada para su eliminación (Tsuchihashi et al., 2002; Bolong, 2009).

La recarga de acuíferos puede tener varios objetivos, por una parte, el acuífero puede actuar como método adicional de tratamiento del agua residual parcialmente regenerada, por otra, puede servir como sistema de almacenaje de agua sin necesidad de infraestructuras superficiales y por último puede servir como método de transporte de agua. Es por eso que, dadas las características especiales de las aguas subterráneas, se requiere que la calidad de las aguas tratadas y usadas en recarga no comprometan la calidad del agua de los acuíferos ni sus posibilidades de uso posterior (Salgot, 2001).

2. OBJETIVO

El objetivo de esta Tesis de Máster es determinar la presencia y grado de eliminación de los residuos químicos antropogénicos derivados del consumo de PPCPs, a través del análisis de las aguas residuales con diferentes grados de regeneración provenientes de la EDAR de estudio, ubicada en la Costa Brava, Cataluña (España).

Esta tesis contribuye en parte al proyecto de “Purificación Acelerada de Agua mediante Recarga Artificial de Acuíferos – Una herramienta para restaurar los recursos hídricos” (ACWAPUR), financiado por la Unión Europea Horizon 2020-JPI, en el cual participa el Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudios del Agua (IDAEA-CISIC). Este proyecto tiene como objetivo desarrollar técnicas innovadoras, herramientas y directrices de gestión para evitar el aporte de organismos patógenos, nutrientes inorgánicos y contaminantes orgánicos emergentes a los acuíferos durante el proceso de recarga. Dicho proyecto, se está llevando a cabo en la EDAR de Palamós, mediante la construcción de barreras porosas reactivas avanzadas (ver **Anexo I, Figura I.1**), que por una parte promueven la adsorción de contaminantes orgánicos y por otra facilitan la creación de diferentes condiciones redox para acelerar los procesos de degradación anaeróbica.

Específicamente, la tesis pretende aportar una visión global del rendimiento de la EDAR y la bondad de los procesos que se llevan a cabo en ella para el tratamiento de agua considerando la eliminación de los contaminantes orgánicos. Además de determinar el grado de eliminación de los contaminantes también se pretende determinar de entre las aguas tratadas, cuál de ellas sería la óptima para ser utilizada en la recarga artificial de acuíferos una vez regenerada por las barreras reactivas.

Para alcanzar estos objetivos generales, es necesario llevar a cabo una serie de tareas, que incluyen:

- Búsqueda bibliográfica sobre los PPCPs: características y propiedades físico-químicas, consumos, métodos analíticos utilizados para su identificación, presencia en diferentes medios acuáticos y porcentajes de eliminación reportados en EDARs.
- Desarrollo y validación de la metodología de análisis, en concreto de un método automatizado *online* para la extracción, purificación, separación y detección de los compuestos objetivo mediante extracción en fase sólida acoplada a cromatografía de líquidos con detección de espectrometría de masas en tándem (*Online-SPE-HPLC-MS/MS*).
- Determinación de concentraciones de los PPCPs objeto de estudio, presentes en las muestras de agua residual de la EDAR de estudio con diferentes grados de regeneración, permitiendo identificar el proceso que permita minimizar su presencia para la potencial agua de recarga de acuífero.

- Comparación de los resultados obtenidos en el presente estudio con otros reportados en literatura en otras áreas geográficas.
- Determinación del rendimiento de la EDAR de Palamós considerando la eliminación de PPCPs

3. PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL Y FÁRMACOS (PPCPs)

3.1. Productos de Cuidado Personal (PCPs)

El término de Productos de Cuidado Personal (PCPs) describe a un grupo de compuestos químicos orgánicos que incluye los filtros UV, conservantes, antimicrobianos, fragancias, repelentes de insectos, entre otros químicos utilizados en cosméticos, suplementos alimenticios, champús, pastas dentífricas, protectores solares, antisépticos, etc. Entre ellos, los filtros UV se consideran de mayor relevancia (Gracia-Lor et al., 2012).

Los PCPs se utilizan principalmente para mejorar la calidad de la vida diaria, siendo generalmente productos de aplicación directa sobre la piel o a través de ingesta que, tras su aplicación, los ingredientes activos pueden ser absorbidos por el organismo y posteriormente ser excretados o lavados (Champagne, 2009).

Los PCPs y sus metabolitos acaban en las aguas residuales que son tratadas en las EDARs. Mediante los tratamientos aplicados parte de estos compuestos son eliminados y la porción restante es devuelta al medio ambiente a través de la descarga de las aguas ya tratadas. Las cantidades que entran en el medio ambiente son particularmente importantes porque, a diferencia de muchos otros contaminantes emergentes, los PCPs tienen un flujo incontrolado al ambiente receptor, a través de actividades como duchas, baños, pulverización directa, excreción y uso que terminan evitando los sistemas de tratamiento convencionales (Champagne, 2009). El uso continuo y su liberación al medio ambiente hace que los PCPs se consideren como “pseudo-persistentes” (Ebele et al., 2016). Este término es aplicable a todos los productos químicos que son continuamente vertidos al medio ambiente, porque se convierten en persistentes incluso aunque sus vidas medias sean cortas ya que su suministro se repone continuamente.

Según la Asociación Nacional de Perfumería y Cosmética (STANPA), España es una de las principales potencias del mundo en la producción y exportación de cosméticos, y el mercado español es el 5º de la UE en términos de consumo. Las ventas de productos de cuidado personal en España durante el año 2015 alcanzaron los 6.450 millones de euros, lo que supone un crecimiento de 1,5% por año (STANPA, 2016). Las principales categorías de PCP con mayor participación en el mercado, son los productos para el cuidado de la piel, que incluyen las cremas para el rostro, cuerpo y manos, seguidos por los productos de cuidado de cabello, fragancias y cosméticos (López, 2013).

3.1.1. Propiedades físico-químicas y funciones

La clasificación de los PCPs se hace con arreglo a las propiedades que presenta cada compuesto y a la función que lleva a cabo en el producto. En esta sección se explicará brevemente la familia más relevante de PCPs: los filtros UV, en los cuales se enfoca el estudio de este proyecto.

Los filtros ultravioletas (UV F) son compuestos químicos que mitigan los efectos nocivos de la luz solar en personas y son añadidos a los materiales para evitar la degradación de los polímeros y pigmentos. Estos compuestos individualmente o mezclados con otros filtros protegen de la radiación solar (UVA 320-400 nm y UVB 280-320 nm) y se utilizan cada vez más en los productos de cuidado personal (p. ej., lápices labiales, champús y aerosoles para el cabello, etc.) como resultado de una creciente preocupación por el cáncer de piel causado por la exposición a la luz solar (Díaz-Cruz et al., 2008).

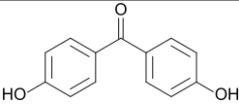
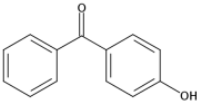
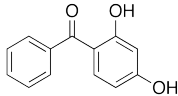
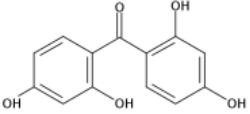
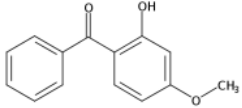
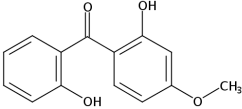
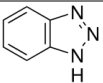
En función del mecanismo utilizado por los filtros para atenuar la radiación UV, existen dos tipos: *inorgánicos* y *orgánicos*. Los *inorgánicos* o físicos (p. ej. ZnO y TiO₂) son aquellos que reflejan una gran parte de la radiación UV que les llega. Mientras que, los *orgánicos* o químicos son aquellos que absorben la radiación UV, incluyendo los derivados de la benzofenona, benzotriazoles, alcanfores, salicilatos, ácido p-amino benzoico (PABA) y derivados, entre otros. (Gago-Ferrero, 2013).

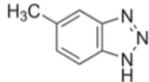
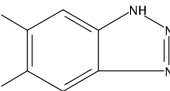
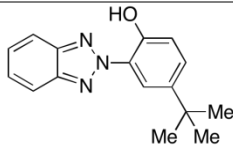
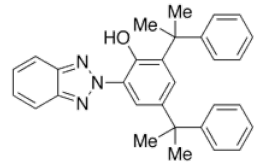
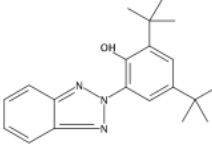
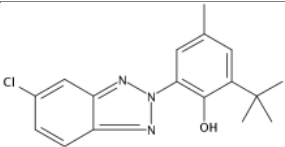
Los filtros UV tienen propiedades normalmente lipofílicas y, por lo tanto, pueden ser acumulados en el cuerpo humano y en el medio ambiente. Los filtros UV más comunes son las benzofenonas.

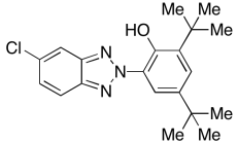
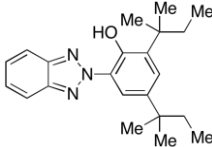
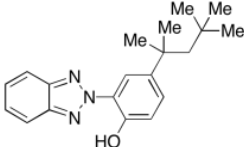
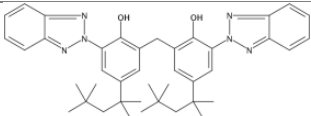
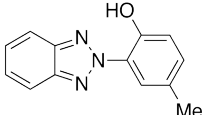
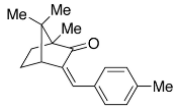
La **Tabla 1** muestra los PCPs que se seleccionaron para investigar en este proyecto de Tesis de Master, así como algunas de sus características físico-químicas más relevantes.

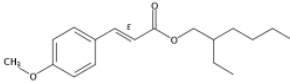
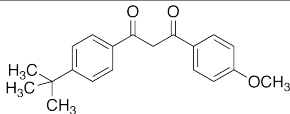
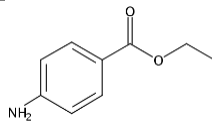
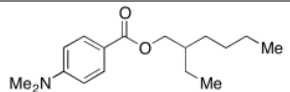
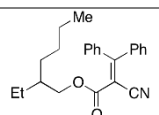
El coeficiente de reparto octanol-agua ($\log K_{ow}$) expresa la relación de la concentración de un producto químico en octanol (sustituto de la materia orgánica natural) y agua en equilibrio a una temperatura específica. $\log K_{ow}$ se usa generalmente para predecir el comportamiento y destino de los contaminantes orgánicos en el medio ambiente y por lo general, los compuestos con menor $\log K_{ow}$ se supone son más móviles que los de mayor $\log K_{ow}$ (lipofílicos). Los compuestos más lipofílicos suelen tener una alta capacidad de adsorción especialmente sobre la materia orgánica, sedimentos o tejidos grasos de la biota (Pestotnik et al., 2014).

Tabla 1. Propiedades físico-químicas de los PCPs estudiados

Familia	Compuesto	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
<i>Benzofenonas</i>						
	4,4-dihidroxiacetofenona	611-99-4	4DHB		214.22	2.55
	4-hidroxiacetofenona	1137-42-4	4HB		198.22	3.02
	Benzofenona-1	131-56-6	BP1		214.22	3.17
	Benzofenona-2	131-55-5	BP2		246.22	3.09
	Benzofenona-3 (Oxybenzone)	131-57-7	BP3		228.24	3.79
	Benzofenona-8	131-53-3	BP8		244.25	4.31
<i>Benzotriazoles</i>						
	1-H-benzotriazol	95-14-7	BZT		119.12	1.23

<i>(continuación)</i>						
Familia	Compuesto	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	5-metil-1-H-benzotriazol	136-85-6	MeBZT		133.154	1.80 ⁽³⁾
	5,6-dimetil-1H-benzotriazol monohidrato	4184-79-6	DMBZT		165.19	2.27
	2-(5-tert-butil-2-hidroxifenil)-benzotriazol	3147-76-0	TBHBT		267.33	3.24
	2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(1-metil-1-feniletil) fenol	70321-86-7	UV-234		447.58	7.67
	2-(3,5-di-tert-butil-2-hidroxifenil)-2H	3846-71-7	UV-320		325.43	5.30
	2-(5-cloro-2-benzotriazolil)-6-tert-butil-p-cresol	3896-11-5	UV-326		315.8	7.20

<i>(continuación)</i>						
Familia	Compuesto	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	2-(3,5-di-tert-butil-2-hidroxi-fenil)-5-clorobenzotriazol	3864-99-1	UV-327		357.88	6.60
	2-(3,5-di-tert-amil-2-hidroxifenil) benzotriazol	25973-55-1	UV-328		351.49	7.80
	2-(2-hidroxi-5-tert-octilfenil)-benzotriazol	3147-75-9	UV-329		323.43	6.21
	2,2-metillenebis[6-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-(1,1,3,3-tetrametilbutil) fenol]	103597-45-1	UV-360		658.87	14.48
	2-(2-benzotriazolil)-p-cresol	2440-22-4	UV-P		225.25	4.30
<i>Alcanfores</i>						
	3-(4-metilbenzilidene) alcanfor	36861-47-9	4MBC		254.37	4.95

<i>(continuación)</i>						
Familia	Compuesto	No. CAS ⁽¹⁾	Acónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
<i>Cinamatos</i>						
	2-etilhexil-4-metoxicinamato	5466-77-3	EHMC		290.41	5.92
<i>Derivados del Dibenzoilmetano</i>						
	Avobenzona	70356-09-1	AVO		310.39	4.19
<i>Derivados del Ácido p-aminobenzoico (PABA)</i>						
	Etil 4-aminobenzoato	94-09-7	EtPABA		165.19	1.86
	2-etilhexil 4-(dimetil-amino) benzoato	21245-02-3	ODPABA		277.41	6.15
<i>Crilenos</i>						
	Octocrileno	6197-30-4	OC		361.49	7.53

⁽¹⁾ Chemical Abstracts Service

⁽²⁾ Valores calculados utilizando el Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02

⁽³⁾ Valores generados utilizando el software de US Environmental Protection Agency's EPISuite™

3.1.2. Presencia de los PCPs en el medio ambiente

Como se ha mencionado anteriormente, la presencia de los filtros UV en el medio acuático es debida principalmente a través de la fuente indirecta de las aguas residuales provenientes de las EDARs. Sin embargo, su uso continuo a través de los productos cosméticos y de cuidado personal permite, además, que estos compuestos accedan al medio de manera incontrolada por vía directa a través de las actividades recreativas acuáticas, como el baño y la natación. En España el uso de estos compuestos es especialmente alto en la costa mediterránea, donde se llevan a cabo gran cantidad de actividades recreativas acuáticas, sobre todo en temporada de verano (Gago-Ferrero, 2013).

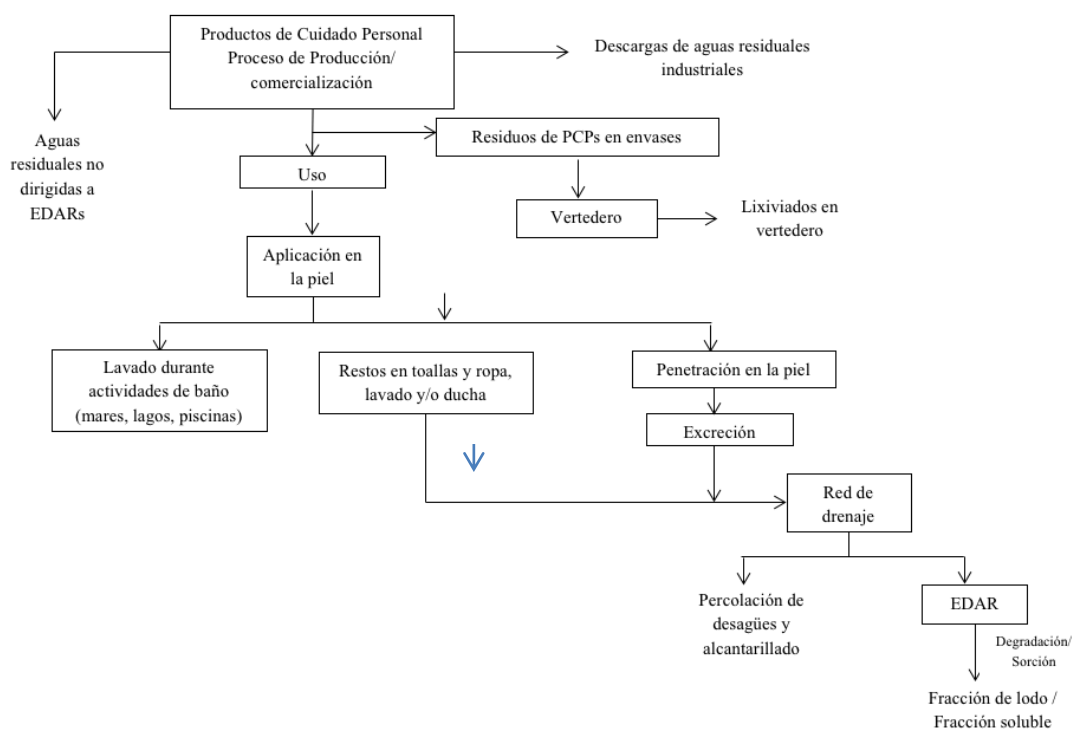


Figura 1. Fuentes de entrada y destino de los PCPs en el medio ambiente

Aunque las concentraciones ambientales son generalmente mucho más bajas que los niveles de aplicación, la amenaza potencial para la salud humana y ambiental es un tema de creciente preocupación dado que muchos PCPs son hidrófobos y estables. En numerosas investigaciones, se ha detectado su presencia en influentes y efluentes de aguas residuales, aguas superficiales, aguas subterráneas, agua potable, sedimentos y lodos de aguas residuales.

Kasprzyk-Hordern et al. (2008), destaca que la concentración y el destino de estos productos en el medio acuático varían y dependen de varios parámetros, como:

- ubicación geográfica
- la fracción que entra y sale del usuario sin cambios o como conjugado y termina en las aguas residuales
- la eficiencia del tratamiento de aguas residuales y la proximidad a EDARs
- el volumen de la masa de agua
- los procesos de adsorción y degradación en el medio ambiente
- y las condiciones meteorológicas

Otro aspecto importante de la presencia de los PCPs en el medio ambiente es la capacidad de detectarlos en sus concentraciones ambientales, generalmente a nivel traza. Para ello, es necesario disponer de técnicas analíticas de vanguardia que sean muy sensibles y selectivas para el estudio de estos compuestos, las cuales se discuten más adelante en el presente trabajo.

La mayoría de métodos analíticos solo consideran los PCPs originales, no sus productos de transformación, por lo que puede darse el caso de que un compuesto parezca que se degrade totalmente cuando en realidad solo ha sufrido una transformación (Gago-Ferrero, 2013).

Los niveles de PCPs en muestras de agua varían sus concentraciones dependiendo de la época del año en que se toman las muestras. En aguas, las concentraciones máximas reportadas se esperan que correspondan a mediodía en los cálidos días de verano, debido a que la radiación UV es más fuerte y el uso de protectores solares es mayor (Díaz-Cruz et al., 2008).

En la **Tabla 2** se resumen algunas concentraciones reportadas en estudios que han evaluado la presencia de estos compuestos en muestras de influentes y efluentes de EDARs en España y otras áreas geográficas. Se puede observar que los compuestos más estudiados son los derivados de las benzofenonas, específicamente el BP3. BP3 ha sido reportado en numerosas publicaciones con concentraciones máximas en el influente de hasta 7800 ng L⁻¹ por Balmer et al. (2005), en un estudio realizado en EDARs de Suiza; en España se han reportado concentraciones algo inferiores, entre los 75.6-306 ng L⁻¹ (Gago-Ferrero et al., 2013). En el efluente, BP3 ha sido reportado por Balmer et al. (2005), a concentraciones máximas de 700 ng L⁻¹ en Suiza, y en España a concentraciones máximas de 200 ng L⁻¹ reportadas por Pintado-Herrera et al. (2013) en una EDAR de Cádiz.

Tabla 2. Presencia de filtros UV en muestras de aguas residuales (influyente y efluente)

Familia Compuesto	Muestra	Concentración (ng L ⁻¹)	Referencia
<i>Benzofenonas</i>			
BP1	EDAR influente	306 47-155 31-148 131-245 43-448 152.4-722	Kasprzyk-Hordern et al., 2008 Pedrouzo et al., 2009 Negreira et al., 2009a Negreira et al., 2009b Wick et al., 2010 Gago-Ferrero et al., 2013
	EDAR efluente	32 11 11-13 41 12 <LOQ-31.1	Kasprzyk-Hordern et al., 2008 Pedrouzo et al., 2009 Negreira et al., 2009a Negreira et al., 2009b Wick et al., 2010 Gago-Ferrero et al., 2013
BP2	EDAR influente	25 35-93	Kasprzyk-Hordern et al., 2008 Wick et al., 2010
	EDAR efluente	1 14	Kasprzyk-Hordern et al., 2008 Wick et al., 2010
BP3	EDAR influente	700-7800 97-722 31-168 971 300-2300 184-429 216-462 234 11-286 17-222 195-518 32-551 100 6-163 75.6-306 32-85	Balmer et al., 2005 Li et al., 2007 Rodil et al., 2008 Kasprzyk-Hordern et al., 2008 Trenholm et al., 2008 Negreira et al., 2009a Negreira et al., 2009b Rodil y Moeder, 2009 Pedrouzo et al., 2009 Negreira et al., 2010 Wick et al., 2010 Magi et al., 2012 Pintado-Herrera et al., 2013 Magi et al., 2013 Gago-Ferrero et al., 2013 Subedi et al., 2017
	EDAR efluente	<10-700 42-54 143 1-13 77.84 13-44 18-45 20-100 10-58 96 5-20 200 5-28 7.71-34 n.d.-29	Balmer et al., 2005 Rodil y Moeder, 2008 Kasprzyk-Hordern et al., 2008 Trenholm et al., 2008 Negreira et al., 2009a Negreira et al., 2009b Rodil y Moeder, 2009 Pedrouzo et al., 2009 Negreira et al., 2010 Wick et al., 2010 Magi et al., 2012 Pintado-Herrera et al., 2013 Magi et al., 2013 Gago-Ferrero et al., 2013 Subedi et al., 2017
<i>Alcanfores</i>			
4MBC	EDAR influente	600-6500 475-2128 122 278 7-153 <LOQ-48.3	Balmer et al., 2005 Li et al., 2007 Rodil et al., 2008 Rodil y Moeder, 2009 Pedrouzo et al., 2009 Gago-Ferrero et al., 2013
	EDAR efluente	60-2700 23-51 38 30-62 66-94 n.d.-23.8	Balmer et al., 2005 Rodil et al., 2008 Rodil y Moeder, 2008 Rodil y Moeder, 2009 Pedrouzo et al., 2009 Gago-Ferrero et al., 2013

<i>(continuación)</i>			
Familia Compuesto	Muestra	Concentración (ng L⁻¹)	Referencia
<i>Derivados Cinamato</i>			
EHMC	EDAR influente	500-1900	Balmer et al., 2005
		54-116	Li et al., 2007
		1732	Rodil y Moeder, 2009
		51-124	Negreira et al., 2010
		23	Magi et al., 2012
EDAR efluente	23-68	Magi et al., 2013	
	10-100	Balmer et al., 2005	
<i>Derivados Ácido p-aminobenzoico</i>			
ODPABA	EDAR influente	103	Pedrouzo et al., 2009
		25	Pedrouzo et al., 2010
		4	Magi et al., 2013
	EDAR efluente	2-7	Rodil y Moeder, 2008
		19	Pedrouzo et al., 2009
		55	Pedrouzo et al., 2010
EiPABA	EDAR influente	17.22-120.9	Gago-Ferrero et al., 2013
<i>Crílenos</i>			
OC	EDAR influente	5322	Rodil y Moeder, 2009
		100-12000	Balmer et al., 2005
		1300	Pintado-Herrera et al., 2013
	EDAR efluente	<LOQ-179	Rodil y Moeder, 2009
		<10-300	Balmer et al., 2005
		200	Pintado-Herrera et al., 2013

LOQ: Límite de cuantificación; n.d.: no detectado
Adaptación de tabla de Gago-Ferrero, 2013

3.1.3. Mecanismos naturales de degradación, metabolitos y otros productos de transformación y eliminación

A pesar de que los filtros UV deben de ser estables ante la exposición a la luz solar, las reacciones fotoquímicas inducidas por la luz son los principales procesos abióticos que sufren productos químicos orgánicos en las aguas superficiales (Díaz-Cruz et al., 2008). La fotólisis consiste en la disociación de la molécula absorbente por efecto de la interacción con uno o más fotones.

La degradación de los filtros UV en el medio acuático en general está influenciada por varios factores como la temperatura, intensidad y duración de la luz solar, pH y los componentes presentes en el agua, como la materia orgánica disuelta (MOD), nitratos, cloruros y bicarbonatos, entre otros. En la capa superficial de los sistemas acuáticos se pueden encontrar dos procesos de fotólisis: *fotólisis directa* y *fotólisis indirecta* (Santos et al., 2012; Díaz-Cruz et al., 2008). La *fotólisis directa* comprende la absorción directa de la luz por el compuesto seguido de la reacción química correspondiente, sin ninguna participación de otras sustancias químicas. En los procesos de *fotólisis indirecta*, la energía de la luz es absorbida por otros componentes del agua y es o bien transmitida a un compuesto cercano o bien permite la formación de especies reactivas como radicales hidroxilos, que reaccionan con el filtro UV y lo transforman (Díaz-Cruz et al., 2008). Además, la mezcla de diferentes filtros UV en un mismo producto añade una mayor complejidad a las reacciones fotoquímicas.

Otro de los procesos que pueden sufrir estos compuestos bajo radiación UV es el fenómeno de la *fotoisomerización*. Este proceso ocurre cuando se irradia una molécula con un doble enlace con luz a determinada longitud de onda, y se observa una transformación del isómero *trans* al *cis*, o viceversa. Los compuestos comerciales generalmente son 100% isómeros *trans* y se isomerizan a la forma *cis* ante la exposición de la radiación UV. Sin embargo, estos cambios en la isomerización de los compuestos pueden no presentar ninguna diferencia en las propiedades físico-químicas de los filtros UV, pero pueden diferir en su comportamiento y efectos (Díaz-Cruz et al., 2008).

Los UV F también pueden sufrir *degradación* por reacción con agentes desinfectantes, como el cloro utilizado en piscinas. En los sistemas de tratamiento de agua potable, los desinfectantes más utilizados son el cloro, el dióxido de cloro y el ozono, mientras que, para la desinfección de los efluentes de las EDAR suele limitarse a la utilización del cloro (Díaz-Cruz et al., 2008). El cloro reacciona con la materia orgánica (natural y sintética) presente en el agua, produciendo una variedad de compuestos orgánicos clorados conocidos como subproductos de desinfección (disinfection by-products), de los cuales algunos ya han sido asociados con efectos adversos para la salud (Lakind et al., 2010).

En la actualidad se han identificado más de 100 subproductos de desinfección en piscinas, y la exposición a estos subproductos se ha relacionado con el aumento del riesgo de asma y otras enfermedades respiratorias, así como el cáncer de vejiga (Richardson et al., 2010).

3.1.4. Efectos de los PCPs en el medio ambiente

Los PCPs acceden principalmente al medio acuático a través de los efluentes de las plantas EDAR. A pesar de que las concentraciones detectadas en los efluentes de aguas residuales oscilan entre niveles bajos de ng L^{-1} a varios $\mu\text{g L}^{-1}$ (Fedorova, et al., 2014), su uso continuo hace que se consideren como contaminantes persistentes o pseudo-persistentes induciendo a un riesgo ecotoxicológicos a largo plazo dada la exposición continua de los organismos vivos a estos compuestos. Los organismos acuáticos son los más susceptibles a sufrir los efectos nocivos ya que se encuentran dentro del ambiente receptor sin la posibilidad de evitar la exposición continua durante toda su vida (Daughton y Ternes, 1999).

Daughton et al. (2004), señala tres principales características de los compuestos que pueden resultar más ecotóxicos para los organismos que habitan los ambientes receptores:

1. Estabilidad estructural: baja degradabilidad, lo que da como resultado una larga persistencia o vida en el medio.
2. Propiedades lipofílicas: el compuesto tenderá a tener una mayor concentración y acumulación en lípidos y grasas, generando bioacumulación.
3. Propiedades de toxicidad aguda y crónica en especies objetivo y no objetivo, que si no son letales puede originar cambios sutiles en la especie que pueden pasar desapercibidos a corto plazo, pero evidentes a muy largo plazo.

En estudios recientes, los filtros UV han sido determinados a concentraciones relevantes en diferentes matrices ambientales como lo lodos de EDARs (Gago-Ferrero et al., 2011a), sedimentos (Gago-Ferrero et al., 2011b; Barón et al., 2013) y biota (Gago-Ferrero et al., 2012), indicando que la bioacumulación de los filtros UV es un hecho que juega un papel importante en su potencial biomagnificación (Alonso et al., 2015). Gago-Ferrero et al. (2012) define la bioacumulación como la acumulación neta de un compuesto químico por un organismo debido a su exposición combinada al agua, alimento y sedimento. Así pues, las especies con un nivel más alto dentro de la cadena trófica se encuentran expuestas a todos los compuestos químicos que acumulan todas las especies de menor nivel de las que se alimenta.

Dado que los filtros UV son compuestos mayoritariamente con propiedades lipofílicas y pueden ser acumulados en los tejidos de los organismos acuáticos y terrestres, su potencial de ecotoxicidad se ha evaluado en muchas especies de peces, moluscos, crustáceos, pájaros y roedores (Gago-Ferrero et al., 2012). Como resultado, se ha encontrado que la mayoría tiene capacidad de disrupción endocrina (Schlumpf et al., 2004; Kunz et al., 2006; Calafat et al., 2008; Blüthgen et al., 2013), y efectos adversos sobre la fecundidad y reproducción en peces y roedores (Calafat et al., 2008; Kunz et al., 2009). Así mismo, la exposición a niveles altos de los derivados de benzofenonas pueden estar asociados a enfermedades dependientes de los estrógenos como la endometriosis en las mujeres (Kunisue et al., 2012).

3.2.Fármacos

Los fármacos (a veces llamados ingredientes farmacéuticamente activos o APIs, por sus siglas en inglés) son moléculas complejas con diferentes funcionalidades y propiedades físico-químicas y biológicas, que se utilizan en gran volumen para la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de enfermedades en humanos y animales (Kümmerer, 2009; Zhang et al., 2008). Los fármacos son diseñados para causar una respuesta determinada en el organismo, y que una vez excretados pueden mantener toda o parte de esa actividad en función del grado en que haya sido metabolizado, pudiendo causar efectos adversos en especies no objetivo (García-Galán et al., 2012).

A nivel mundial no existen datos sobre el uso total de los productos farmacéuticos ya que éstos pueden variar considerablemente de un país a otro. Una de las razones, es que algunos fármacos se venden sin receta médica en ciertos países, mientras que en otros sólo están disponibles con receta médica (Kümmerer, 2009). En España los grupos terapéuticos más consumidos según el Sistema Nacional de Salud (SNS) son los analgésicos, antihistamínicos y los antidepresivos (SNS 2015). Se estima que el consumo medio anual de una persona adulta de productos farmacéuticos por año en el mundo es de unos 15 gr y en países industrializados el valor se sitúa entre 50 y 150 g (Alder et al., 2007).

Entre los productos farmacéuticos, los antibióticos han sido ampliamente utilizados en la medicina humana y veterinaria, la agricultura y la acuicultura, estimándose su consumo mundial entre 100 000 toneladas y 200 000 toneladas (García-Galán et al., 2010). Entre ellos, las sulfamidas representan una de las familias más comúnmente utilizadas en la medicina veterinaria.

Debido al amplio uso de los fármacos, los APIs y sus metabolitos se encuentran presentes en las aguas residuales de las EDAR. Además, de que la administración de antibióticos a animales constituye una de las principales fuentes de liberación de estos antibióticos en los medios naturales debido a que en muchas ocasiones no se siguen prácticas adecuadas de gestión de residuos. Como resultado, algunos compuestos no logran ser eliminados efectivamente por los sistemas de tratamiento convencionales, lo que lleva a que posteriormente encuentren su camino hacia el ecosistema.

3.2.1. Propiedades físico-químicas y funciones.

Los productos farmacéuticos pueden clasificarse de acuerdo con su propósito y actividad biológica, como: antibióticos, analgésicos y antiinflamatorios, diuréticos, antihistamínicos, reguladores de lípidos, drogas psiquiátricas, drogas esteroides, drogas cardiovasculares, estimulantes, entre otros (Papageorgiou et al., 2016; Kümmerer, 2009). De éstos, los antibióticos son considerados los API de mayor interés ya que se producen en grandes cantidades, son biológicamente muy activos y muchos de ellos son resistentes a la biodegradación y pueden ser bioacumulables (García-Galán et al., 2012). La mayoría de los compuestos farmacéuticamente activos son polares, y en algunos casos, pueden variar sus propiedades físico-químicas y también su actividad biológica en función del pH del medio receptor (Kümmerer, 2009; Cunningham et al., 2008).

La clasificación de las moléculas APIs por su estructura química se utiliza principalmente para las sustancias activas dentro de subgrupos de medicamentos, es decir, dentro del grupo de antibióticos se encuentran los β -lactámicos, quinolonas, tetraciclinas, macrólidos y sulfamidas, entre otros.

La mayoría de los antibióticos son producidos de manera natural por diferentes comunidades de eubacterias y mohos, y suelen ser modificados antes de su utilización para eliminar sus efectos tóxicos. En la actualidad se conocen unos 5500 antibióticos, de los que tan solo alrededor de unos 100 son sintéticos (García-Galán et al., 2012).

La **Tabla 3** resume los compuestos APIs de acuerdo con su clasificación por actividad biológica y propósito, mientras que la **Tabla 4** muestra los antibióticos considerando su clasificación por su estructura química. Ambas tablas muestran el grupo al que pertenecen, el número CAS, la estructura química, la masa molecular y el coeficiente de reparto octanol-agua (Log Kow, que se describe en el apartado 4.1.1) de los compuestos que se seleccionaron como objeto de estudio en este proyecto de Tesis.

Tabla 3. Propiedades físico-químicas de los fármacos estudiados

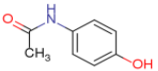
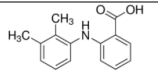

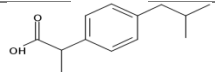
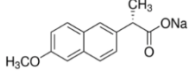
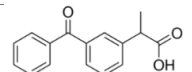
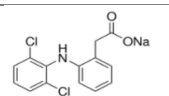
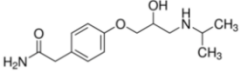
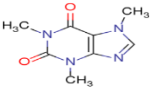
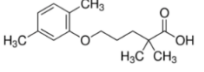
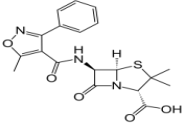
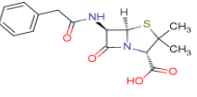
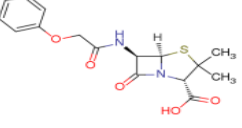
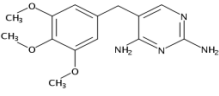
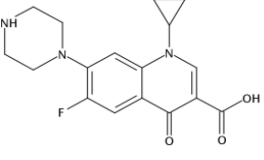
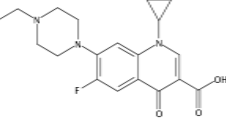
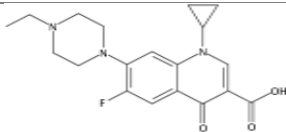
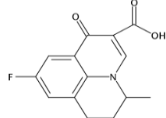
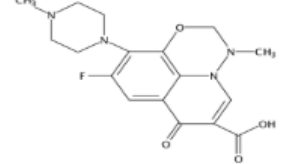
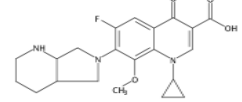
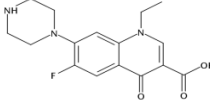
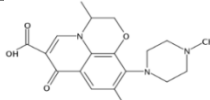
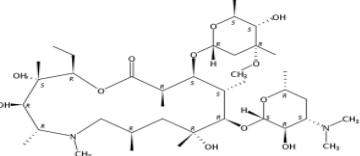
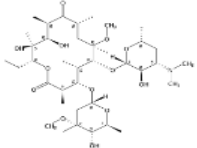
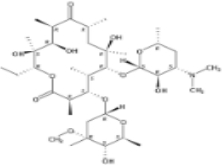
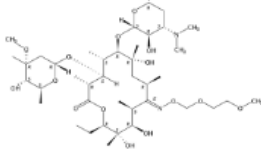
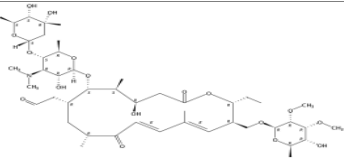
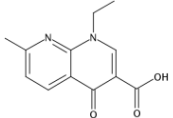
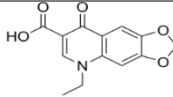
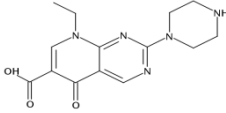
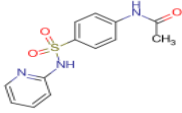
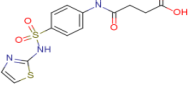
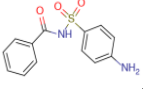
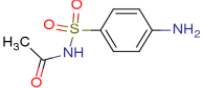
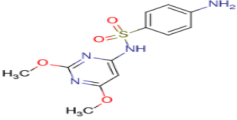
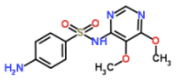
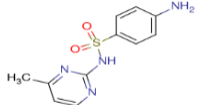
Grupo Terapéutico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
<i>Analgésico e Anti-inflamatorio</i>						
	Acetaminofén	103-90-2	PAR		151.16	1.29
	Ácido mefenámico	61-68-7	MA		241.29	5.12
	Ácido salicílico	69-72-7	AS		138.12	2.26
	Ibuprofeno	15687-27-1	IBU		206.28	3.20
	Naproxeno	22204-53-1	NAP		252.24	2.80
	Ketoprofeno	22071-15-4	KTP		254.28	2.99
	Diclofenaco	15307-79-6	DCF		318.13	4.40
<i>Droga cardiovascular</i>						
	Atenolol	29122-68-7	ATEN		266.34	0.16
<i>Estimulante</i>						
	Cafeína	58-08-2	CAF		194.19	-0.62
<i>Regulador de lípidos</i>						
	Gemfibrozil	25812-30-0	GF		250.33	4.77

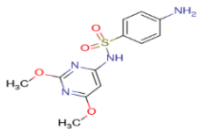
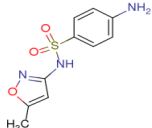
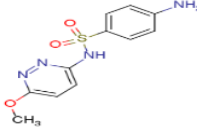
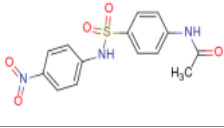
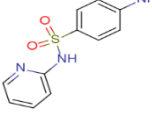
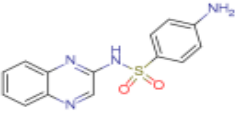
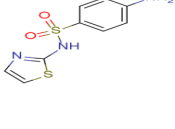
Tabla 4. Propiedades físico-químicas de los antibióticos estudiados

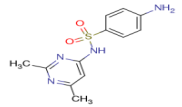
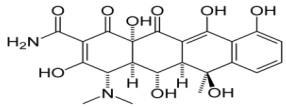
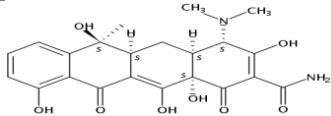
Grupo Antibiótico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
<i>β-lactámicos</i>						
	Oxacilina	66-79-5	OXA		401.44	2.54
	Penicilina G	61-33-6	PEN		334.39	1.91
	Penicilina V	87-08-1	PENV		350.39	1.93
<i>Derivados de la trimetoxibenzilpirimidina</i>						
	Trimetoprima	738-70-5	TMP		290.32	0.59
<i>Fluoroquinolonas</i>						
	Ciprofloxacino	85721-33-1	CPX		331.34	1.62
	Enoxacina	74011-58-8	ENX		320.32	1.58

<i>(continuación)</i>						
Grupo Antibiótico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	Enrofloxacin	93106-60-6	ENR		359.39	2.30
	Flumequina	42835-25-6	FLU		261.25	0.88
	Marbofloxacin	115550-35-1	MBX		362.36	-0.64
	Moxifloxacin	354812-41-2	MXF		401.43	2.82
	Norfloxacin	70458-96-7	NOR		319.33	1.74
	Ofloxacin	82419-36-1	OFX		361.37	1.85
<i>Macrólidos</i>						
	Azitromicina	83905-01-5	AZI		748.98	2.58

<i>(continuación)</i>						
Grupo Antibiótico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	Claritromicina	81103-11-9	CLR		747.95	2.80
	Eritromicina	114-07-8	ERY		733.93	1.90
	Roxitromicina	80214-83-1	ROX		837.05	2.84
	Tilosina	1401-69-0	TYL		916.1	0.62
<i>Quinolonas</i>						
	Ácido Nalidíxico	389-08-2	NAL		232.24	0.025
	Ácido Oxolínico	14698-29-4	OXO		261.23	-0.38

<i>(continuación)</i>						
Grupo Antibiótico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	Ácido Pipemídico	51940-44-4	PIP		303.32	-0.194
<i>Sulfamidas</i>						
	N ⁴ -acetylsulfapyridine	19077-98-6	AcSPY		291.331	0.76
	Succinylsulfatiazol	116-43-8	SST		355.389	0.19
	Sulfabenzamida	127-71-9	SBZ		276.316	1.73
	Sulfacetamida	144-80-9	SCT		214.245	-0.96
	Sulfadimetoxina	122-11-2	SDM		310.334	0.72
	Sulfadoxina	2447-57-6	SDX		310.33	0.7
	Sulfamerazina	127-79-7	SMR		264.308	0.107

<i>(continuación)</i>						
Grupo Antibiótico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	Sulfametizol	144-82-1	SMT		270.336	0.52
	Sulfametoxazol	723-46-6	SMX		253.282	0.65
	Sulfametoxipiridazina	80-35-3	SMP		280.307	0.32
	Sulfanitran	122-16-7	SNT		335.34	2.43
	Sulfapiridina	144-83-2	SPY		249.293	0.46
	Sulfaquinoxalina	59-40-5	SQX		300.341	1.42
	Sulfatiazol	72-14-0	STZ		255.321	0.05

<i>(continuación)</i>						
Grupo Antibiótico	Fármaco	No. CAS ⁽¹⁾	Acrónimo	Estructura	M.M. (g/mol)	Log K _{ow} ⁽²⁾
	Sulfisomidin	515-64-0	SFM/SSD		278.335	0.57
<i>Tetraciclinas</i>						
	Oxitetraciclina	79-57-2	OTC		460.43	0.47
	Tetraciclina	60-54-8	TET		444.43	0.61

⁽⁴⁾ Chemical Abstracts Service

⁽⁵⁾ Valores calculados utilizando Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02

3.2.2. Presencia de fármacos en el medio ambiente

En algunas investigaciones llevadas a cabo en Austria, Brasil, Canadá, Croacia, Inglaterra, Alemania, Grecia, Italia, España, Suiza, Holanda y Estados Unidos, se han detectado más de 80 compuestos farmacéuticos y metabolitos de fármacos en el medio acuático (Fent et al., 2006), con concentraciones que varían de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$, y su presencia varía mucho entre regiones y estaciones del año.

Normalmente, los fármacos son absorbidos por un organismo después del consumo y son sometidos a reacciones metabólicas, tales como hidroxilación, y conjugación. El 85% de los antibióticos y/o sus metabolitos son excretados por el organismo a través de la orina o las heces y, por lo tanto, están presentes en las aguas residuales (Tao et al., 2014; Ortiz de García, 2015). El resto, pueden quedar adsorbidos en los tejidos.

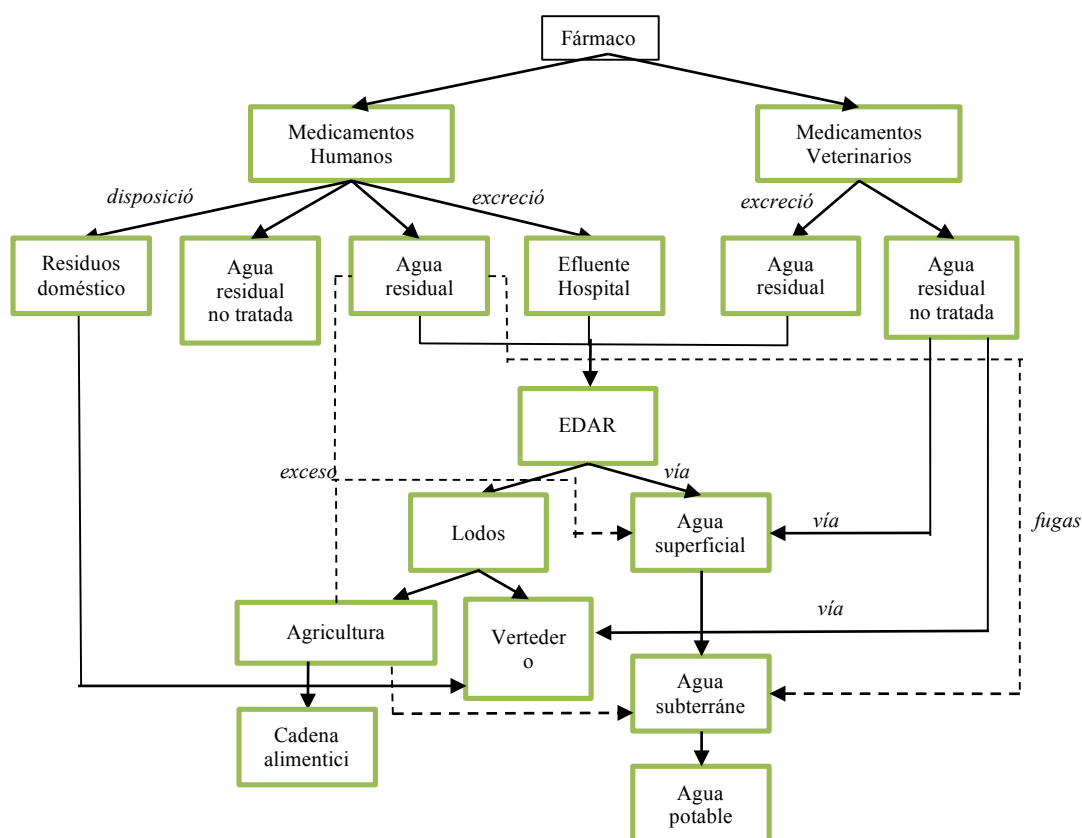


Figura 2. Fuentes de entrada y destino de los fármacos en el medioambiente

Los APIs pueden acceder al medio ambiente por diferentes vías: contaminación de fuentes puntuales y contaminación difusa. La contaminación de fuentes puntuales incluye:

1. Efluentes EDAR. Descarga de aguas residuales municipales y principal fuente de APIs en el medio acuático.
2. Efluentes industriales. Provenientes de las instalaciones de producción farmacéutica.
3. Efluentes hospitalarios. Las concentraciones de los APIs son más altas que en las aguas residuales municipales, sin embargo, la dilución de las aguas hospitalarias en aguas municipales es más de 100 veces.
4. Lodos EDAR. Se utilizan con frecuencia como fertilizante en tierras agrícolas.
5. Disposición de los hogares. Las formulaciones tópicas o las medicinas no utilizadas se descartan a través del lavabo / inodoro.
6. Medicamentos veterinarios. Aplicación directa al suelo de estiércol como fertilizante.
7. Fármacos utilizados en acuicultura. Sus metabolitos y productos de degradación son descargados directamente a las aguas superficiales o marinas.

Por el contrario, en el caso de la contaminación difusa, es difícil identificar el emplazamiento de las emisiones porque se produce a través de amplias escalas geográficas. La contaminación difusa incluye escorrentías agrícolas de desechos y estiércol, escorrentía de residuos domésticos y fugas de los sistemas de tratamiento de residuos y plantas de producción (Ortiz de García, 2015; Santos et al., 2010). Ver **Figura 2**.

El interés en la aparición de los APIs en el medio acuático es cada vez mayor, y el número de estudios sobre estos compuestos en el medio ambiente está en crecimiento. En la **Tabla 5** se resumen algunas concentraciones reportadas en estudios que han evaluado la presencia de estos compuestos en muestras de aguas residuales (influyente y efluente).

Tabla 5. Presencia de APIs en muestras de aguas residuales (influyente y efluente)

Clase terapéutica Compuesto	Muestra	Concentración (ng L ⁻¹)	Referencia		
<i>Antiinflamatorios</i>					
MA	EDAR influente	1600	Taxe-Wuersch et al., 2005		
		200	Roberts y Thomas, 2006		
		n.d.-3800	Subedi et al., 2017		
		101-220	Rosal et al., 2010		
		<20-1269	Kasprzyk-Hordern et al., 2009		
		221	Kimura et al., 2005		
	EDAR efluente	40-50	Bueno et al., 2009		
		800	Taxe-Wuersch et al., 2005		
		340	Roberts y Thomas, 2006		
		250-750	Subedi et al., 2017		
		87-163	Rosal et al., 2010		
		<5-222	Kasprzyk-Hordern et al., 2009		
		62	Kimura et al., 2005		
		DFC	EDAR influente	200-3600	Gómez et al., 2007
21-148	Hernando et al., 2006				
n.d.-4869	Papageorgiou et al., 2016				
3000	Heberer, 2002				
1000 ^a	Roberts y Thomas, 2006				
1300	Metcalfe et al., 2003				
EDAR efluente	1200		Pintado-Herrera et al., 2013		
	140-2200		Gómez et al., 2007		
	890-1440		Bueno et al., 2009		
	n.d.-2668		Papageorgiou et al., 2016		
	2500		Heberer, 2002		
	290		Roberts y Thomas, 2006		
	n.d.		Metcalfe et al., 2003		
	240		Pintado-Herrera et al., 2013		
IBU	EDAR influente	34000-168000	Gómez et al., 2007		
		37-860	Hernando et al., 2006		
		38700 ^a	Metcalfe et al., 2003		
		28000 ^a	Roberts y Thomas, 2006		
		<LOQ-2800	Subedi et al., 2017		
		6620	Pintado-Herrera et al., 2013		
	EDAR efluente	240-28,000	Gómez et al., 2007		
		100-340	Bueno et al., 2009		
		4000 ^a	Metcalfe et al., 2003		
		3000 ^a	Roberts y Thomas, 2006		
		270-1940	Subedi et al., 2017		
		150	Pintado-Herrera et al., 2013		
		KTP	EDAR influente	131	Hernando et al., 2006
				n.d.-793	Papageorgiou et al., 2016
550	Metcalfe et al., 2003				
460	Pintado-Herrera et al., 2013				
<LOQ-801	Rosal et al., 2010				
940	Benz et al., 2005				
EDAR efluente	<4-119		Kasprzyk-Hordern et al., 2009		
	900		Khan y Ongerth, 2005		
	979		Kimura et al., 2005		
	1830 ^a		Santos et al., 2009		
	n.d.-220		Papageorgiou et al., 2016		
	180		Metcalfe et al., 2003		
	100		Pintado-Herrera et al., 2013		
	277-539		Rosal et al., 2010		
NAP	EDAR influente	330	Benz et al., 2005		
		<3-33	Kasprzyk-Hordern et al., 2009		
		590	Khan y Ongerth, 2005		
		445	Kimura et al., 2005		
		840 ^a	Santos et al., 2009		
		200 ^a	Ternes et al., 1998		
	EDAR efluente	109-455	Hernando et al., 2006		
		n.d.-648	Papageorgiou et al., 2016		
		8600	Pintado-Herrera et al., 2013		
		n.d.	Papageorgiou et al., 2016		
		3100	Pintado-Herrera et al., 2013		

<i>(continuación)</i>			
Clase terapéutica Compuesto	Muestra	Concentración (ng L ⁻¹)	Referencia
PAR	EDAR influente	29000-246000 62.5-2452 2900-11000	Gómez et al., 2007 Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017
	EDAR efluente	<32-4300 n.d.-305 <LOQ-1200	Gómez et al., 2007 Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017
<i>Drogas psicoactivas</i>			
	EDAR influente	102-5597 16,000-120,000	Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017
	EDAR efluente	810-4400	Subedi et al., 2017
<i>Fibratos</i>			
GF	EDAR influente	n.d. 700 3900	Papageorgiou et al., 2016 Metcalfe et al., 2003 Pintado-Herrera et al., 2013
	EDAR efluente	470-3550 1300 1600	Bueno et al., 2009 Metcalfe et al., 2003 Pintado-Herrera et al., 2013
<i>Droga cardiovascular</i>			
ATEN	EDAR influente	n.d.-2346 1200-3800	Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017
	EDAR efluente	<LOQ-7100	Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017
<i>Antibióticos</i>			
AZI	EDAR influente	1800 160-1866	Inanová et al., 2017 Ghosh et al., 2016
	EDAR efluente	919	Inanová et al., 2017
CPX	EDAR influente	n.d.-591 1910	Papageorgiou et al., 2016 Inanová et al., 2017
	EDAR efluente	n.d.-591 96	Papageorgiou et al., 2016 Inanová et al., 2017
CLR	EDAR influente	2750 1129-3077	Inanová et al., 2017 Ghosh et al., 2016
	EDAR efluente	684 536-583	Inanová et al., 2017 Ghosh et al., 2016
ERY	EDAR influente	n.d.-320 <LOQ-2310 242-6755	Papageorgiou et al., 2016 Rosal et al., 2010 Kasprzyk-Hordern et al., 2009
	EDAR efluente	n.d. <LOQ-760 292-2841	Papageorgiou et al., 2016 Rosal et al., 2010 Kasprzyk-Hordern et al., 2009
ROX	EDAR influente	n.d.<LOQ	Papageorgiou et al., 2016
	EDAR efluente	n.d.	Papageorgiou et al., 2016
AcSPY	EDAR influente	1.71-244	García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	10.1-522	García-Galán et al., 2012
SBZ	EDAR influente	0.4-1.17	García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	29.9	García-Galán et al., 2012
SMR	EDAR influente	2.13-7.37	García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	0.205-1.93	García-Galán et al., 2012
SMX	EDAR influente	n.d.-507 89 17.4-665	Papageorgiou et al., 2016 García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	n.d.-80 12.4-302 10.8-284	Papageorgiou et al., 2016 García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
SNT	EDAR influente	32.1-62.3	García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	17-512	García-Galán et al., 2012
SDX	EDAR influente	181 1	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	104 0.1-0.47	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
SQX	EDAR influente	3.81-210	García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	0.246-14.6	García-Galán et al., 2012

<i>(continuación)</i>			
Clase terapéutica Compuesto	Muestra	Concentración (ng L ⁻¹)	Referencia
SMZ	EDAR influente	3.36-145	García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	14.7- 18 0.458-36.4	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
SDM	EDAR influente	20.1 0.35-4.92	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	10 0.08-1.58	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
SMT	EDAR influente	247 2.92-33.7	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	1.06-70.7	García-Galán et al., 2012
STZ		2-5	Meyer et al., 2011
	EDAR influente	37.5 3.71-142	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
	EDAR efluente	5.12-9.21 0.7-73	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012
SPY	EDAR influente	2.5-855 12.2-3270 26-5763	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012 Kasprzyk-Hordern et al., 2009
	EDAR efluente	8.53-113 3.35-177 127-378	García-Galán et al., 2010 García-Galán et al., 2012 Kasprzyk-Hordern et al., 2009
TMP	EDAR influente	<LOQ-200 <LOQ-400 78-197 80 464-6726 1578	Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017 Rosal et al., 2010 Bendz et al., 2005 Kasprzyk-Hordern et al., 2009 Ghosh et al., 2016
	EDAR efluente	n.d.-95.8 n.d.-29 <LOQ-148 40 625-3052	Papageorgiou et al., 2016 Subedi et al., 2017 Rosal et al., 2010 Bendz et al., 2005 Kasprzyk-Hordern et al., 2009

^a Solo la concentración media fue reportada en el estudio correspondiente; n.d: no detectado

3.2.3. Mecanismos naturales de degradación, metabolitos y otros productos de transformación y eliminación

La mayoría de los fármacos son detoxificados en el hígado en dos pasos: Fase I y Fase II, como se muestra en la **Figura 3**. La primera fase consiste en hacer la molécula más polar o hidrofílica, incluyendo reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis que modifican la estructura molecular de los APIs originales. En la Fase II, las moléculas se conjugan con sustratos endógenos para aumentar aún más su solubilidad en agua, facilitando así la excreción (Ortiz de García, 2015; Santos et al., 2010).



Figura 3. Esquema del metabolismo de los fármacos en el hígado para incrementar su polaridad.

Fuente: García-Galán, 2012.

Al igual que con el metabolismo, la estructura química puede ser cambiada por biotransformación, biodegradación y transformación no biótica, como fototransformación e hidrólisis. Como resultado de tal cambio estructural, se da un cambio en sus propiedades fisicoquímicas y farmacéuticas, que normalmente se supone que conducen a una menor toxicidad de los APIs y sus metabolitos, sin embargo, en algunos casos conduce a compuestos más activos (Kümmerer, 2009).

Por otro lado, la desaparición de una sustancia no indica degradación biológica o fotoquímica. Una vía importante para la eliminación es la sorción de los APIs. La sorción de tales compuestos depende no solo del log Kow que es la lipófila de la molécula sorbida, si no también se rige por el pH, el potencial redox, la estructura estereo química y la naturaleza química de la molécula sorbente y sorbida (Kümmerer, 2009).

3.2.4. Efectos de los fármacos en el medio ambiente.

Los efectos ecotoxicológicos a bajas concentraciones de los productos farmacéuticos pueden afectar a organismos no objetivo a diferentes niveles tróficos (es decir, algas, zooplancton, otros invertebrados, peces, etc.)(Rehman et al., 2015).

Hasta el momento, los bioensayos de ecotoxicidad de los APIs sólo proporcionan indicios de los efectos *in vivo* en organismos de diferentes niveles tróficos tras una exposición a corto plazo (toxicidad aguda) y muy pocos tras exposiciones a más largo plazo (toxicidad crónica) (Santos et al., 2010). Estudios *in vitro*, utilizando células de peces han demostrado la citotoxicidad de una amplia gama de productos químicos y parecen ser adecuados para el primer cribado de toxicidad aguda de los fármacos dada la alta reproducibilidad de los resultados y su correlación positiva con los ensayos *in vivo* (Schnell et al., 2009).

Estos datos se relacionan con los niveles ambientales para evaluar el riesgo potencial ambiental de las diferentes clases de fármacos. Es importante mencionar, que los estudios de riesgo se basan en compuestos individuales, raramente estudiando los metabolitos del fármaco (Kümmerer, 2009). Es decir, los productos farmacéuticos no se presentan como sustancias puras aisladas en el medio ambiente, sino que están presentes en mezclas de múltiples compuestos, por lo que las mezclas pueden desarrollar diferentes efectos a los de un solo compuesto, se puede dar un incremento de la toxicidad (sinergismo) o una disminución (antagonismo).

Según datos de la literatura, la comunidad científica ha centrado la atención al estudio del potencial ecotoxicológicos de los antiinflamatorios, los reguladores de lípidos, las hormonas sexuales y los antibióticos (Santos et al., 2010). Los compuestos más estudiados son el diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y el acetaminofén.

Tribskorn et al. (2004) y Hoeger et al. (2005), han reportado cambios citológicos en el hígado, los riñones y branquias en truchas después de 20 días de exposición al fármaco diclofenaco. Así mismo, se ha reportado la bioacumulación del diclofenaco en el hígado, los riñones, las branquias y el músculo de algunas especies de trucha (Schwaiger et al., 2004). Por otro lado, Zurita et al. (2007), demostró en un estudio las propiedades tóxicas del fármaco gemfibrozil, pudiendo actuar como disruptor endocrino.

Resistencia bacteriana

La presencia de antibióticos en el medio ambiente es especialmente preocupante ya que se asocia al desarrollo de cepas bacterianas resistentes después de una exposición prolongada a un antibiótico en cuestión. Carvalho y Santos et al. (2016), definen la resistencia a los antibióticos como un rasgo genético adaptativo propio o adquirido por las subpoblaciones de bacterias, que les permite sobrevivir y crecer en presencia del agente antibiótico a una concentración terapéutica que normalmente inhibiría o destruiría el microorganismo. A pesar de ser un fenómeno natural, avances recientes demuestran que el uso excesivo e inapropiado de antibióticos son factores que agravan la exposición crónica, incluso a muy bajas concentraciones (Auberttheau et al., 2017; García-Galán et al., 2012).

La resistencia adquirida se puede transmitir los genes de resistencia (ARGs) de manera vertical y horizontal. En la horizontal se transfieren los ARGs tanto a miembros de nuevas generaciones como a otras especies de bacterias, de modo que éstas pueden adquirir la resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con ellos (Guerra et al., 2000).

Según informes del Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC), más de 25,000 personas mueren anualmente a causa de bacterias resistentes en Europa (ECDC, 2016). A nivel mundial, una estimación conservadora sugiere que 700.000 personas mueren cada año debido a la resistencia a antibióticos, y se prevé que aumentará (Carvalho y Santos et al., 2016).

3.3. Determinación analítica de los PPCP en medio acuático

Dado que los PPCPs y sus metabolitos se encuentran en el medio acuático a bajas concentraciones ($\mu\text{g L}^{-1}$ o ng L^{-1}), el desarrollo de métodos sensibles y selectivos ha sido crucial para el análisis de estos compuestos. Actualmente la mayoría de las metodologías avanzadas para la detección y análisis de los PPCPs en el medio acuático, se basan en la cromatografía líquida – espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) y cromatografía de gases – espectrometría de masas en tándem (GC-MS/MS) después de la extracción y purificación de la muestra y preconcentración de los analitos por extracción en fase sólida (SPE) (Santos et al., 2010).

En la literatura existente para el análisis de PPCPs, se sugiere normalmente la centrifugación de la muestra y filtración a través de filtros de lana de vidrio antes de la preconcentración para eliminar la materia en suspensión y aumentar las eficiencias de extracción. Mientras que, la técnica de extracción se usa comúnmente con el objetivo de aislar y concentrar los analitos de interés a un nivel detectable, siendo SPE la técnica preferida para muestras acuosas debido a su extracción y concentración satisfactoria para muchos compuestos que difieren en polaridad y propiedades fisicoquímicas (Carvalho y Santos et al., 2016).

La eficiencia de la SPE para cada compuesto analizado depende principalmente del tipo de sorbente y del disolvente de elución; ambos parámetros deben ser probados para optimizar la extracción simultánea de diferentes clases de PPCPs. El copolímero de divinilbenceno y vinilpirrolidona, comercializado con el nombre Oasis HLB por Waters, es una de las fases estacionarias más ampliamente utilizadas para preconcentrar las muestras acuosas que contienen diferentes PPCPs. La elución de los analitos retenidos en los cartuchos se lleva a cabo habitualmente mediante disolventes orgánicos, como por ejemplo metanol (MeOH) y acetonitrilo (ACN) (Carvalho y Santos et al., 2016).

La necesidad de minimizar la preparación de las muestras, mejorar el rendimiento de la extracción y reducir el coste del análisis, ha originado que el método SPE se pueda realizar de manera *online* en combinación de LC-MS/MS lo cual permite la preparación y análisis de la muestra en una sola ejecución. La SPE *online*, además de lo ya mencionado ofrece ventajas como la utilización de un pequeño volumen de muestra (5-10 ml), ahorro de tiempo y disolventes, y mayor precisión y sensibilidad (García-Galán et al., 2010; Fedorova et al., 2014).

4. ESTUDIOS PREVIOS

4.1. Tasas de eliminación de los PPCPs en las EDAR

En las EDAR, las aguas residuales pueden someterse a varios niveles de tratamiento que conducen a la degradación y eliminación de contaminantes, patógenos y otras sustancias antes de ser descargadas en el medio receptor.

De acuerdo con Peake et al. (2016) el tratamiento llevado a cabo en las EDAR consiste en:

- *Tratamiento preliminar*: proceso de tratamiento físico en el cual se pasa el agua residual. el influente, a través de una serie de filtros para eliminar las partículas. Incluye los procesos de desarenado, desengrasado y filtro de gruesos.
- *Tratamiento primario*: proceso de tratamiento físico en el que el material grueso en suspensión se elimina mediante sedimentación y/o flotación. Se lleva a cabo en tanques de sedimentación durante 3-5 h en condiciones de reposo para eliminar 40-60% de los sólidos suspendidos (SS).
- *Tratamiento secundario*: proceso de tratamiento biológico que implica la eliminación de la materia orgánica (MO) de los efluentes del tratamiento primario mediante el uso de microorganismos. Combinados, el tratamiento primario y secundario típicamente reduce los SS y la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO) en el agua residual tratada en un 80-90%. Existen varios tipos de procesos secundarios incluyendo: lodos activados (CAS del inglés, conventional activated sludge) (tratamiento más utilizado), zanjas de oxidación, procesos biológicos de película fija y cuencas aireadas.
- *Tratamiento terciario*: proceso de tratamiento físico y/o químico complementario para reducir los contaminantes y/o materia orgánica potencialmente nocivos en aguas residuales tratadas. Es particularmente importante si el efluente o el sistema acuático en el que se descarga, se utiliza posteriormente como fuente para el consumo humano. Los contaminantes eliminados son: SS, material inorgánico disuelto, compuestos orgánicos disueltos (p ej. PPCPs). Existen varios tipos de procesos terciarios incluyendo: filtración por membranas, adsorción por carbón activado y procesos de oxidación avanzados, filtro de arena, entre otros.

La bioconversión aeróbica / anaeróbica que ocurre durante la digestión de los lodos activos en la EDAR, parece ser el proceso más eficiente para eliminar los contaminantes químicos del medio ambiente. Por lo general, los mejores resultados de biodegradación se obtienen cuando el tratamiento de lodos activos se lleva a cabo a través de un aumento del tiempo de retención hidráulico (TRH) y el uso de lodos maduros.

Sin embargo, se debe tener en cuenta que, si no se detecta un contaminante en particular en un efluente de la EDAR, no implica que haya sido eliminado, ya que, en algunas ocasiones, puede ser degradado y/o transformado y dar lugar a metabolitos que

posteriormente pueden contaminar las aguas superficiales. Por otra parte, los compuestos más lipofílicos quedan retenidos en los lodos, que posteriormente pueden ser utilizados como fertilizante en agricultura.

La estimación de las tasas de eliminación (RE%) en las diferentes fases del tratamiento y la determinación de los niveles de concentración en aguas de salida se han convertido en fuentes de información imprescindibles para evaluar el impacto ambiental de los efluentes sobre la salud de los ecosistemas fluviales receptores o suelos y los humanos (Peake et al., 2016).

En la **Tabla 6**, se muestran algunos valores de tasas de eliminación en diferentes niveles de tratamiento para los PPCPs estudiados. Sin embargo, estas RE% no siempre se pueden calcular, ya que el PPCPs en cuestión puede que no se detecte en aguas de entrada y salida, o bien no estén presentes en todas las depuradoras investigadas, haciendo difícil llegar en ocasiones a conclusiones claras.

Ortiz de García et al. (2013) han reportado tasas de eliminación del tratamiento primario desde 0.26-0.27% para PAR y algunos antibióticos como la MXF, SMX y el TMP, mientras que los valores más altos reportados se estiman en un 20% de eliminación para el DCF. Además, se ha encontrado que los procesos de tratamiento CAS, llevados a cabo por la sedimentación primaria y lodo activado secundario, puede eliminar o degradar hasta el 90% o más de los fármacos más frecuentes en el agua residual doméstica, incluyendo, el PAR, IBU, NAP, CAF, entre otros. Mientras que, los antibióticos y otros fármacos, parecen requerir un tratamiento complementario para eliminar una proporción significativa en el agua residual. Estos tratamientos incluyen ozonización, ultrafiltración, desinfección con radiación ultravioleta y cloración. Dentro del nivel de tratamientos terciarios, los procesos de oxidación avanzada como la ozonización han resultado ser muy eficaces en la eliminación de fármacos y filtros UV, pero su utilización en las EDAR es aún muy limitada.

Los reactores biológicos de membrana (MBR) aerobios y anaerobio (AnMBR) son una prometedora alternativa al CAS para mejorar la eliminación de los PPCPs. El proceso consiste en integrar la biodegradación aerobio/anaerobia y la separación por membranas, como la ultrafiltración o microfiltración para separar el líquido de los lodos. Los estudios reportan RE% mayores a 60% para algunos de los fármacos más frecuentes (Verlicchi et al., 2012).

Tabla 6. Tasas de eliminación de PPCPs en diferentes niveles de tratamiento de aguas residuales

Clase PPCP objetivo	Tratamiento en EDAR	Eliminación (%)	Referencia
<i>Antiinflamatorios</i>			
PAR	Primario	0.26 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	>99	Radjenovic et al., 2009
		97	Blair et al., 2015
	MBR	>99	Kim et al., 2007
	AnMBR	88	Dutta et al., 2014
86		Wijekoon et al., 2015	
DCF	Primario	20	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	22	Ke et al., 2014
		22	Radjenovic et al., 2009
		60	Ortiz de García et al., 2013
	MBR	63-66	Ke et al., 2014
		-120	Kim et al., 2007
	AnMBR	3	Wijekoon et al., 2015
		31	Dutta et al., 2014
	BNR	39-75	Samarasa et al., 2013
		44	Monsalvo et al., 2014
	Filtro de arena	-113	Zorita et al., 2009
Ozonización	80-100	Wert et al., 2009	
IBU	Primario	16.48 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	100	Blair et al., 2015
		99	Ke et al., 2014
		>99	Radjenovic et al., 2009
	MBR	99	Ke et al., 2014
		>99	Kim et al., 2007
	AnMBR	25	Wijekoon et al., 2015
	BNR	100	Samarasa et al., 2013
16		Monsalvo et al., 2014	
Filtro de arena	>99	Zorita et al., 2009	
KTP	CAS	55	Ke et al., 2014
		85.1	Radjenovic et al., 2007
		<20	Rosal et al., 2010
		54.6	Radjenovic et al., 2009
		52-78	Santos et al., 2009
	MBR	44	Ke et al., 2014
		91.9	Radjenovic et al., 2007
		44	Radjenovic et al., 2009
	AnMBR	27	Wijekoon et al., 2015
	BNR	83-89	Samarasa et al., 2013
		19	Monsalvo et al., 2014
65		Bendz et al., 2005	
MA	CAS	29.4	Radjenovic et al., 2007
		<20	Rosal et al., 2010
		70	Kimura et al., 2005
	MBR	74.8	Radjenovic et al., 2007
		90	Kimura et al., 2005
35.5-40	Radjenovic et al., 2009		
NAP	Primario	10	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	96	Blair et al., 2015
		72	Ke et al., 2014
	MBR	91-92	Ke et al., 2014
	AnMBR	75	Wijekoon et al., 2015
BNR	91-95	Samarasa et al., 2013	
<i>Drogas psicoactivas</i>			
CAF	CAS	99	Blair et al., 2015
	AnMBR	90	Wijekoon et al., 2015
	BNR	99	Monsalvo et al., 2014
<i>Fibratos</i>			
GF	CAS	51	Blair et al., 2015
		<10	Ke et al., 2014
	MBR	33-42	Ke et al., 2014
AnMBR	12	Wijekoon et al., 2015	

<i>(continuación)</i>			
Clase PPCP objetivo	Tratamiento en EDAR	Eliminación (%)	Referencia
<i>Droga cardiovascular</i>			
ATEN	CAS	63	D'Alessio et al., 2015
		61	Ke et al., 2014
		61	Radjenovic et al., 2009
	AnMBR	70-77	Ke et al., 2014
	BNR	37	D'Alessio et al., 2015
	Ozonización	80-100	Wert et al., 2009
OD	77	D'Alessio et al., 2015	
<i>Antibióticos</i>			
AZI	Primario	17.84 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	30 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
CLR	Primario	-26- 55	Göbel et al., 2007
	CAS	3.51 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
ERY	Primario	-45-20	Göbel et al., 2007
	CAS	2.87	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	35	Radjenovic et al., 2009
		10	Gros et al., 2007
		23.8	Radjenovic et al., 2007
		<20	Rosal et al., 2010
		35.4	Radjenovic et al., 2009
		-22-6	Göbel et al., 2007
	MBR	9	Kim et al., 2007
		67.3	Radjenovic et al., 2007
		25.2-43	Radjenovic et al., 2009
		59	Dutta et al., 2014
MXF	Primario	0.27 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	1.88	Ortiz de García et al., 2013
NOR	Primario	0.25 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	66	Kosjek et al., 2009
OFX	CAS	-124 ^a	Blair et al., 2015
		83	D'Alessio et al., 2015
		76	Ke et al., 2014
	MBR	91-95	Ke et al., 2014
	BNR	42	Monsalvo et al., 2014
	Ozonización	88	D'Alessio et al., 2015
ROX	Primario	75	D'Alessio et al., 2015
	CAS	1.56 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
SDM	CAS	10	Esplugas et al., 2007
	CAS + Cloro	-18-38	Göbel et al., 2007
	Ozonización	93	Choi et al., 2007
SMT	CAS	57	Yang et al., 2005
	Ozonización	98	Lin et al., 2009
	CAS	32	Blair et al., 2015
		90	Garoma et al., 2010
	Primario	0.27 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	-279-66	Clara et al., 2005
		57-67	Carballa et al., 2004
		18-100	Karthikeyan et al., 2006
		20	Brown et al., 2006
		93	Choi et al., 2007
		-107-60	Göbel et al., 2007
		55.6	Radjenovic et al., 2007
61.5		Nakada et al., 2007	
30-92	Gros et al., 2007		
SMX	CAS	25	Watkinson et al., 2007
		48	Chang et al., 2010
		74	Ke et al., 2014
	-36 ^b	Blair et al., 2015	
	CAS+UV/Cloro	35-65	Xu et al., 2007
	81	Yang et al., 2005	

<i>(continuación)</i>			
Clase PPCP objetivo	Tratamiento en EDAR	Eliminación (%)	Referencia
SMX	MBR	78-81	Huber et al., 2003
		73.380.8	Radjenovic et al., 2007
		60.5	Radjenovic et al., 2007
		95-100	Senta et al., 2011
		90-99	Ke et al., 2014
	AnMBR	100	Wijekoon et al., 2015
	BNR	36	Monsalvo et al., 2014
	Filtro de arena	26.9	Nakada et al., 2007
	Ozonización	87.4	Nakada et al., 2007
	OD	98	Lin et al., 2009
STZ	CAS	26	Gao et al., 2012
		49	Blair et al., 2015
	MBR	98	Choi et al., 2007
		85-100	Senta et al., 2011
SMR	CAS + Cloro	90-99	Huber et al., 2003
		98	Peng et al., 2011
SPY	CAS	-107-72	Göbel et al., 2007
		90-100	Senta et al., 2011
	MBR	90-99	Huber et al., 2003
		23	Monsalvo et al., 2014
	Ozonización	93.9	Nakada et al., 2007
TMP	Primario	0.27 ⁺	Ortiz de García et al., 2013
	CAS	-53 ^a	Blair et al., 2015
		40	Ke et al., 2014
		85	Watkinson et al., 2007
		40	Radjenovic et al., 2009
		10	Esplugas et al., 2007
		<20	Rosal et al., 2010
		40.4	Radjenovic et al., 2009
	MBR	-40-17	Göbel et al., 2007
		48-67	Ke et al., 2014
		-33-47	Kim et al., 2007
	AnMBR	47.5-66.7	Radjenovic et al., 2009
		98	Wijekoon et al., 2015
87		Dutta et al., 2014	
BNR	49	Bendz et al., 2005	

^a Indicaba que la concentración del PPCP en el efluente era mayor que la del afluente, + Estimado con STPWINTM (US EPA, 2009)
CAS: fangos activados convencional; BNR: eliminación de nutrientes biológicos (nitrógeno y fosforo); OD: Zanja de oxidación;
MBR: Biorreactor de membranas; AnMBR: Biorreactor de membranas anaerobio; UF: Ultrafiltración; UV: Desinfección UV.
Adaptación de Sui et al., 2015; Ortiz de García et al., 2013; Wang y Wang, 2016; Peake et al., 2016).

5. NORMATIVA: EUROPA Y ESPAÑOLA

Aun no existen límites legales para la descarga de contaminantes emergentes al medio ambiente, aunque se han publicado algunos reglamentos.

En el año 2000, se identificó una lista inicial de 33 sustancias prioritarias (de alto riesgo, no contaminantes emergentes) en virtud de la Directiva Marco del Agua (DMA) 2000/60/CE, con el objetivo de su utilización como medida de control para los próximos 20 años. La DMA establece las bases de la regulación para preservar, proteger y mejorar la calidad y el uso sostenible del agua y la ecología acuática.

En el año 2013, la Directiva de la Unión Europea 2013/39/UE recomendó que se presentara atención a las opciones de monitorización y tratamiento para una lista de 45 sustancias prioritarias (no contaminantes emergentes), que cubriera la protección de las aguas superficiales y biota en toda la UE debido a su uso generalizado y sus altas concentraciones en ríos, lagos, aguas transitorias y costeras. En dicha Directiva se recomendó que se incluyera una lista de vigilancia (*watch list*, en inglés), incluyendo, dos productos farmacéuticos, el diclofenaco y la hormona sintética (EE2), y una hormona natural (E2). La lista de vigilancia establece las sustancias que pueden presentar un riesgo significativo para el medio ambiente acuático en la UE, pero los datos disponibles son insuficientes para concluir sobre el riesgo real.

En la reciente Directiva 2015/495/UE del 20 de marzo de 2015, se modificó la lista de vigilancia de sustancias para el seguimiento a escala UE. Se incluyeron sustancias o grupos de sustancias, tales como, tres antibióticos macrólidos (azitromicina, claritromicina y eritromicina) junto con otras hormonas naturales (E1), algunos plaguicidas, un filtro UV (EHMC) y un antioxidante comúnmente utilizado como aditivo alimentario (BHT). Ver **Tabla 7**, referente a la lista de vigilancia emitida por la Directiva 2015/495/UE. La Directiva 2006/118/CE relativa a la protección de las aguas subterráneas con relación a la contaminación y deterioro, no incluye actualmente normas para los PPCPs.

En España, la norma que regula la reutilización del agua es el Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de aguas depuradas. El RD 1620/2007 contempla los usos admitidos para las aguas regeneradas y los criterios de calidad de las mismas, así como, los criterios de calidad que se deben de cumplir para la recarga de acuíferos por percolación localizada a través del terreno, donde no se incluyen valores máximos admisibles para ninguno de los PPCPs.

En general, la identificación de los PPCPs como sustancias de interés prioritario requiere de pruebas de su riesgo intrínseco, en particular de su ecotoxicidad acuática y toxicidad humana a través de las vías de exposición medioambiental. En este contexto, son fundamentales los programas para vigilar su presencia en el medio acuático y su amenaza potencial para la salud humana y de los ecosistemas.

Tabla 7. Lista de vigilancia (Watch List) emitida por la Directiva 2015/495/UE

Compuesto	Número CAS (1)	Método analítico indicado (2)(3)(4)	Máximo límite de detección del método aceptable (ng/l)
17-alfa-Etinilestradiol (EE2)	57-63-6	SPE-LC-MS/MS	0.35
17-beta-estradiol (E2)	50-28-2	SPE-LC-MS/MS	0.4
Estrona (E1)	53-16-7		
Diclofenaco	15307-86-5	SPE-LC-MS/MS	10
2,6-di- <i>terc</i> -Butil-4-metilfenol (BHT)	128-37-0	SPE-GC-MS	3 160
4-Metoxicinamato de 2- etilhexilo	5466-77-3	SPE-LC-MS/MS o GC-MS	6 000
<i>Antibióticos macrólidos</i>		SPE-LC-MS/MS	90
Azitromicina	83905-01-5		
Claritromicina	81103-11-9		
Eritromicina	114-07-8		
Metiocarb	2032-65-7	SPE-LC-MS/MS o GC-MS	10
<i>Neonicotinoides</i>		SPE-LC-MS/MS	9
Acetamiprid	135410-20-7		
Clotianidina	210880-92-5		
Imidacoprid	105827-78-9		
Tiacloprid	111988-49-9		
Tiametoxam	153719-23-4		
Oxadiazón	19666-30-9	LLE/SPE- GC-MS	88
Triatato	2303-17-5	LLE/SPE- GC-MS o LC- MS/MS	670

⁽⁶⁾ Chemical Abstracts Service⁽⁷⁾ Para garantizar la comparabilidad de los resultados de los diferentes Estados miembros, todas las sustancias serán objeto de seguimiento en toda la muestra de agua.⁽⁸⁾ Métodos de extracción:

LLE – extracción líquido-líquido

SPE – extracción de fase sólida

Métodos analíticos

GC-MS – cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

LC-MS/MS – cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem con triple cuádruplo

⁽⁹⁾ Para el seguimiento del 4-metoxicinamato de 2-etilhexilo en partículas en suspensión (SPM) o los sedimentos (tamaño >63 µm) se impone el siguiente método analítico: SLE (extracción sólido-líquido) – GC-MS, con un límite máximo de detección de 0.2 mg/kg.Fuente: Adaptación del Anexo de la Directiva 2015/495/UE – Lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión, de conformidad con el artículo 8 *ter* de la Directiva 2008/105/CE

6. CASO DE ESTUDIO

6.1. Situación geográfica

El estudio se ha llevado a cabo en la Estación Depuradora de Aguas Residuales de Palamós (Girona) localizada en las coordenadas $41^{\circ}52'40''\text{N}$ $3^{\circ}8'46''\text{E}$, con una superficie de 3.3 Ha. La EDAR trata las aguas de ocho municipios de la zona: Palafrugell, Montràs, Palamós, Vall-Llobrega, Calonge, Castell-Platja d'Aro, Santa Cristina d'Aro y Sant Feliu de Guíxols, con tratamiento biológico convencional por fangos activados y tratamiento final a través de filtro de arenas.



Figura 4. Vista aérea de la EDAR Palamós. Fuente: www.aiguescb.com

6.2. Características de la región y población.

Los municipios Palafrugell, Montràs, Palamós, Vall-Llobrega, Calonge, Castell-Platja d'Aro, Santa Cristina d'Aro y Sant Feliu de Guíxols, a los cuales se les brinda el servicio de la EDAR de Palamós, forman parte de la comarca del Baix Empordà situado en la provincia de Girona (Cataluña) y es una de las regiones más turísticas de España. La población, superficie y localización de cada municipio se encuentra en la **Tabla 8**, con datos actualizados del año 2016 por el Instituto de Estadística de Cataluña (IDESCAT).

Tabla 8. Datos oficiales estadísticos de municipios de la comarca del Baix Empordà.

Municipio	Habitantes	Superficie (km ²)	Altitud (m)	Longitud (°)	Latitud
Calonge	10.709	33,6	22	3.076506	41.861647
Castell-Platja d'Aro	10.567	21,8	5	3.068206	41.818556
Montràs	1.690	12,3	88	3.144078	41.907067
Palafrugell	22.868	26,9	64	3.165206	41.918294
Palamós	17.677	14,0	12	3.131300	41.850339
Sant Feliu de Guíxols	21.760	16,2	4	3.029783	41.783986
Santa Cristina d'Aro	5.128	67,5	30	3.003300	41.817206
Vall-Llobrega	922	5,5	49	3.127147	41.882317
Total habitantes	91.321				

Fuente: IDESCAT

Los municipios forman parte de la zona de la Costa Brava, la cual tiene una climatología típicamente mediterránea y se caracteriza por la dominancia de los vientos fuertes más frecuentes en invierno. El ciclo anual de temperatura del aire, muestra unos valores de temperatura media comprendidos entre 14°C y 20°C. Las temperaturas mínimas de la región varían alrededor de los 16°C y las máximas alrededor de los 35°C. Los meses más calurosos son julio y agosto, noviembre el más lluvioso y de diciembre a febrero son los meses más fríos.

Según la declaración ambiental de los Servicios de Salud Integrada del Baix Empordà del año 2015, parte de las aguas residuales que van a parar a la EDAR de Palamós son provenientes del Hospital de Palamós, el centro de atención primaria de Palamós y Palafrugell y el Palamós GG. El Hospital del Palamós cuenta con el sistema de gestión ambiental basado en la norma ISO 140001:2004 y el reglamento (CE) N° 761/2001 (EMAS) a través del cual se desarrollan actividades para el control de la contaminación generada por el vertido de aguas residuales, es decir, trata sus aguas residuales antes de verterlas al sistema de saneamiento

6.3. Descripción de la EDAR

La EDAR de Palamós entró en funcionamiento en 1985 y está diseñada para una población de 165.450 habitantes equivalentes y un caudal de 33.000 m³/día. Durante la temporada de invierno se tienen caudales entre 12.000-14.000 m³/día y durante el verano caudales entre 25.000-30.000 m³/día. El tiempo de retención hidráulico de todo el proceso CAS es de 24 horas.

El proceso de la EDAR de Palamós (**Figura 4**) cuenta con:

- *Pretratamiento del agua*: 2 líneas de pretratamiento ambos con elementos de rejillas y canal desarenador (ver **Anexo II. Figura II.1**), donde se retienen alrededor de 80-90 ton/año de residuos provenientes de las aguas residuales. Durante el verano, se dosifica Cloruro Férrico (FeCl₃) al 40% antes del desbaste para la reducción de olores y ayudar a la sedimentación en el tratamiento primario.
- *Tratamiento primario*: incluye 3 decantadores circulares para el proceso de sedimentación, de los cuales se utilizan 2 en invierno y los 3 durante el verano (ver **Anexo II. Figura II.2**)
- *Tratamiento secundario biológico*: consiste en 3 fagos activados convencionales con recirculación de fangos por medio de bombeo (4 anuales, 2 en invierno y 2 en verano). El tiempo de retención hidráulico es de 4-5 horas en verano y 2 horas en invierno (ver **Anexo II. Figura II.3**)
- *Decantación secundaria*: incluye 3 decantadores circulares para el proceso (ver **Anexo II. Figura II.4**)
- *Tratamiento terciario*: tiene un caudal de diseño de 600 m³/día, y se lleva a cabo a través de filtración de arena (FA) que opera de manera intermitente durante 10-20 minutos dependiendo del caudal (ver **Anexo II. Figura II.5**). No se utilizan reactivos y el lavado es llevado a cabo por contra lavado con agua del efluente secundario.
- *Línea de tratamiento de fangos*: con capacidad para tratamiento de 24.000 m³ de fangos (ver **Anexo II. Figura II.6**). Se añade en el tanque FeCl₃ al 40% para ayudar a la desodorización y posteriormente se utiliza corteza de pino para desodorizar el gas proveniente de la línea (ver **Anexo II. Figura II.7**)

El carácter estacional de la planta provoca calidades de agua diferentes a lo largo del año. Los fangos se destinan a la agricultura mientras que el efluente se descarga en el al Mar Mediterráneo a través de un emisario situado a 4 Km de la costa. El uso del agua regenerada que no se vierte a los mares es principalmente para el riego de espacios verdes de la propia EDAR.

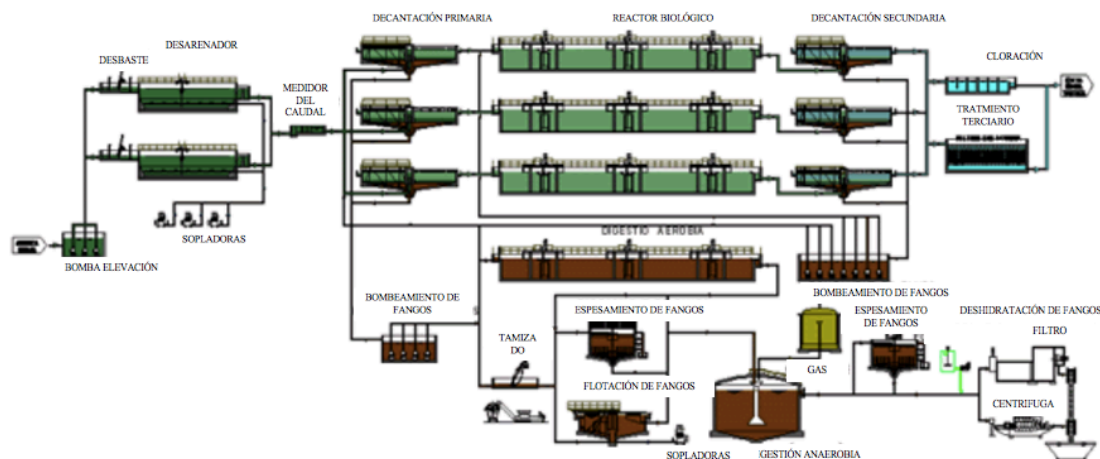


Figura 5. Diagrama del proceso de la EDAR de Palamós para el tratamiento de aguas residuales.

Fuente: www.aiguescb.com

7. TOMA DE MUESTRAS

Para conocer la eficiencia de los sistemas, se llevaron a cabo dos campañas de muestreo durante los meses de noviembre 2016 y abril 2017. Durante el primer muestreo, se tomaron 7 muestras de agua en días alternos en los puntos de muestreo indicados a continuación:

- 5 muestras del efluente secundario procedentes del sistema de lodos activados
- 1 muestra del efluente procedente del sistema de filtración por FA
- 1 muestra integrada del efluente secundario.

Durante la segunda campaña de muestreo se tomaron 5 muestras de agua en días consecutivos del mes de abril, para cumplir con el tiempo de retención hidráulico (24 h) del tratamiento CAS, en los puntos de muestreo indicados a continuación:

- 1 muestra del influente después del pretratamiento
- 1 muestra del efluente primario procedente del tratamiento primario
- 1 muestra del efluente secundario procedente del sistema de lodos activados
- 1 muestra del influente para el sistema de filtración por FA
- 1 muestra del efluente procedente del sistema de filtración por FA

Las muestras de agua necesarias para realizar los análisis se han tomado en botellas color ámbar de 1L, esterilizadas por autoclave. Las botellas se etiquetaron y fueron transportadas en frío en nevera portátil al laboratorio. En el laboratorio se congelaron las muestras en la oscuridad a -20°C hasta el pretratamiento. En el **Anexo III**, la **Figura III.1** muestra el etiquetado correspondiente utilizado para cada una de las botellas, mientras que la **Figura III.2** muestra las áreas de muestreo dentro de la EDAR.

8. ANALISIS MEDIANTE *ONLINE* SPE-HPLC-MS/MS

8.1. Compuestos PPCPs seleccionados

En la **Tabla 9** se presentan los PPCPs que fueron analizados con la metodología desarrollada y validada que será descrita posteriormente.

Tabla 9. Lista de PPCPs analizados

Familia Compuesto PPCP	No. CAS	Familia Compuesto PPCP	No. CAS
<i>Benzo[<i>f</i>]fenonas</i>		<i>Quinolonas</i>	
4DHB	611-99-4	NAL	389-08-2
4HB	1137-42-4	OXO	14698-29-4
BP1	131-56-6	PIP	51940-44-4
BP3	131-57-7	<i>Sulfamidas</i>	
BP8	131-53-3	AcSPY	127-73-1
<i>Alcanfores</i>		SB	127-71-9
4MBC	36861-47-9	SDM	122-11-2
<i>Derivados del PABA</i>		SDX	2447-57-6
EtPABA	94-09-7	SMR	127-79-7
OD-PABA	21245-02-3	SMT	144-82-1
<i>Benzotriazoles</i>		SPM	80-35-3
UVP	2440-22-4	SNT	122-16-7
DMBZT	4184-79-6	SPY	144-83-2
<i>Macrólidos</i>		SQX	59-40-5
AZI	83905-01-5	STZ	72-14-0
CLR	81103-11-9	SFM	515-64-0
ERY	114-07-8	<i>Analgesicos y antiinflamatorios</i>	
ROX	80214-83-1	KTP	22071-15-4
TYL	1401-69-0	MA	61-68-7
<i>Flouroquinolonas</i>		<i>Derivados de la trimetoxibenzilpirimidina</i>	
FLU	42835-25-6	TMP	738-70-5

8.2. Estándares y reactivos

BP1, BP3, BP8, 4DHB, 4HB, EtPABA, OD-PABA, DMBZT, el fármaco MA, los antibióticos CLR, ERY, ROX, TYL, NAL, OXO, FLU, TMP, AcSPY, SB, SDM, SDX, SMR, SMT, SPM, SNT, SPY, SQX, STZ, SFM y el patrón interno AllyBZT eran de alta pureza (>95%) y fueron obtenidos de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania); 4MBC (99% de pureza) fue suministrado por Dr. Ehrenstorfer (Augsburgo, Alemania); PIP (>95% de pureza) fue obtenido de Santa Cruz Biotechnology (Dallas, USA). Los patrones marcados isotópicamente 4MBC-d₄, BP3-d₅ se obtuvieron de CDN isotopos (Quebec, Canadá) y sulfametazine-d₄, flumequine ¹³C₃, clarithromycin-N-metil-d₃, erithromycin-N, N-dimetil-¹³C se obtuvieron de Toronto Research Chemicals (Ontario, Canadá). El fármaco KTP (>98% de pureza) fue obtenido de Jescuder (Rubí, España). UVP (>98% de pureza) fue proporcionado por TCI (Zwijndrecht, Bélgica).

Los reactivos de MeOH, ACN, agua de grado HPLC, acetona y etanol (EtOH) fueron suministrados por J.T. Backer (Deventer, Países Bajos). El gas N₂ (99% de pureza) utilizado para evaporar las muestras fue adquirido en Air Liquide (Barcelona, España). Los filtros de membrana de nylon de 0,45 μm y de microfibra de vidrio de 1 μm, utilizados en la etapa de pre-tratamiento de la muestra, suministrados por Whatman International Ltd (Maidstone, Reino Unido). En la **Tabla 1**, **Tabla 3** y **Tabla 4**, se muestran las estructuras y propiedades fisico-químicas de los compuestos estudiados.

Se prepararon patrones y soluciones de patrón interno en MeOH a una concentración de 200 mg/L. Las soluciones estándar se almacenaron a -20°C en la oscuridad. A partir de estas soluciones, se prepararon soluciones estándar de mezcla con los antibióticos, productos de cuidado personal y resto de fármacos, en metanol a una concentración de 20 mg/L. Se prepararon soluciones de trabajo por dilución apropiada a la solución patrón de mezcla en metanol justo antes del análisis.

8.3.Pre-tratamiento de las muestras

Para realizar el pretratamiento de las muestras, se descongelaron a temperatura ambiente el día anterior y se filtraron con vacío a través de filtros de membrana de nylon de 0,45 μm (Whatman, Maidstone, UK) y seguidamente con filtros de microfibra de vidrio de 1 μm, grado GF/B (Whatman, Maidstone, UK), para eliminar la materia en suspensión y evitar la obstrucción del adsorbente utilizado para la etapa de extracción (SPE). Después, las muestras se congelaron nuevamente a -20°C hasta su análisis.

8.4. Análisis instrumental

8.4.1. Extracción en fase sólida *online* (SPE)

Una vez filtradas las muestras se añadieron los estándares internos para poder ser analizadas. Para la pre-concentración de las muestras y la separación cromatográfica, se utilizó un instrumento automatizado *online* SPE-HPLC Symbiosis™ Pico (Emmen, Holanda).

La base del sistema de Symbiosis™ Pico es un sistema HPLC de alta eficacia con un inyector de alto rendimiento que maneja volúmenes de muestras de 10 µL hasta 10 ml totalmente automatizados. Este equipo también cuenta con el muestreador automático Alias™ que incluye presión de espacio de cabeza positiva, rutinas de lavado extensas y dos modos de inyección SPE: fuera de línea (*offline*) y en línea (*online*).

Para este análisis, en el procedimiento optimizado de SPE *online* se cargaron 5 ml de las muestras, el estándar acuoso y los blancos a un caudal de 1 ml min⁻¹ a través de los cartuchos Oasis HLB (copolímero de divinilbenceno / vinilpirrolidona de 60 mg) de Waters previamente acondicionados con 1 ml de MeOH, 1 ml de agua HPLC y 1 ml de acetona en este orden (5 ml min⁻¹). Después de la carga de la muestra, se llevó a cabo un lavado posterior del cartucho con 0,5 ml de agua HPLC a 5 ml min⁻¹ para eliminar interferencias y completar la transferencia de muestra.

Tras la finalización del protocolo SPE *online*, que tiene lugar en la abrazadera izquierda del Symbiosis™ Pico, el cartucho se traslada hacia la derecha donde los compuestos retenidos son eluidos a la columna HPLC en el cromatógrafo por medio de la fase móvil. Mientras tanto, se coloca un nuevo cartucho en la abrazadera izquierda y se realiza la carga de la siguiente muestra.

8.4.2. Análisis instrumental mediante HPLC-MS/MS

El instrumento HPLC-MS conectado en serie con el Symbiosis™ Pico, es a un 4000 Q TRAP™ Applied Biosystems-Sciex (Foster City, California, EE.UU.) que se controla mediante el software Analyst 1.4.2., Applied Biosystems-Sciex (Foster City, California, EE.UU.).

La separación cromatográfica de los fármacos y productos de cuidado personal se realizó en una columna LiChorCART® Purospher® STAR® RP- 18 endcapped (125 mm x 2.0 mm, 5 µm) de Merck, precedido por una precolumna de LiChorCART® Purospher® STAR® RP-18 (5 µm).

La elución de los compuestos al sistema HPLC se llevó a cabo con un flujo de 0,3 ml min⁻¹ de la fase móvil, que consistía en una mezcla de agua calidad HPLC y ACN (ambas con 0,1% ácido fórmico). El tiempo de análisis por muestra es de 25 min. Para la separación cromatográfica, el gradiente de elución de inicia con un 5% de ACN y 95% de fase acuosa, incrementando hasta alcanzar un 75% en 7 min., y luego a 100% de ACN en los siguientes 3 min. Se mantuvo constante el 100% de fase orgánica durante 5 min. y después se alcanzaron las condiciones iniciales en los 2 min. siguientes.

En la detección por MS/MS para los PPCPs se trabajó en modo de ionización por electrospray en positivo (ESI+) y bajo monitorización de reacciones seleccionadas (SRM) en un espectrómetro de masas híbrido de cuadrupolo y trampa lineal de iones (QqLIT). Se seleccionaron dos transiciones con el fin de incrementar la selectividad y sensibilidad del método; la transición más intensa fue utilizada para la cuantificación y la siguiente más intensa para la confirmación.

Las condiciones experimentales generales optimizadas fueron: voltaje capilar, 5000 V; temperatura de la fuente, 700 °C, gas de cortina, 30 psi; gas de fuente de iones 1,50 psi, gas de fuente de iones 2,60 psi; potencial de entrada 10 V.

En la **Tabla 10**, se presentan las condiciones experimentales particulares para cada transición monitorizada.

Tabla 10. Condiciones experimentales de las transiciones monitorizadas para cada uno de los PPCPs seleccionados en el análisis por HPLC-ESI-MS/MS

Compuesto PPCP	Ion precursor	Rt (min)	Transiciones	DP (V)	C.E. (eV)	CxP (eV)	Patrón Interno
<i>Benzofenonas</i>							
4HB	[M+H] ⁺	7,60	199>121 199>105	40 41	25 27	8 8	BP3-d ₅
4DHB	[M+H] ⁺	6,37	215>121 215>93	15 45	27 45	8 6	BP3-d ₅
BP1	[M+H] ⁺	8,03	215>137 215>105	40 40	27 29	10 6	BP3-d ₅
BP3	[M+H] ⁺	9,78	229>151 229>105	40 40	25 22	12 16	BP3-d ₅
BP8	[M+H] ⁺	8,64	245>151 245>121	43 43	27 29	12 8	BP3-d ₅
<i>Alcanfores</i>							
4MBC	[M+H] ⁺	11,20	255>212 255>105	61 61	41 29	14 6	4MBC-d
<i>Derivados PABA</i>							
EtPABA	[M+H] ⁺	7,18	166>138 166>120	41 41	20 25	10 28	4MBC-d
OD-PABA	[M+H] ⁺	12,28	278>166 278>151	86 86	43 27	42 40	4MBC-d
<i>Benzotriazoles</i>							
UVP ¹	[M+H] ⁺	10,90	226>120 226>107	46 46	25 19	10 18	BZT-d ₄
DMBZT	[M+H] ⁺	6,48	148>77 148>93	56 56	39 27	2 6	BZT-d ₄

<i>(continuación)</i>							
Compuesto PPCP	Ion precursor	Rt (min)	Transiciones	DP (V)	C.E. (eV)	CxP (eV)	Patrón Interno
<i>Macrólidos</i>							
AZI	[M+H] ⁺	7,32	750>591 750>83	131 131	29 81	22 8	Clarithromycin-N-methyl-d ₃
CLR ²	[M+H] ⁺	8,04	749>158 749>83	76 76	39 84	10 5	Clarithromycin-N-methyl-d ₃
ERY	[M+H] ⁺	6,18	734>158 734>576	46 46	27 49	18 8	Erithromycin-N, N-dimethyl- ¹³ C
ROX ²	[M+H] ⁺	8,20	838>158 838>680	111 111	45 35	12 12	Clarithromycin-N-methyl-d ₃
TYL ²	[M+H] ⁺	6,20	917>174 917>773	106 106	53 43	10 12	Clarithromycin-N-methyl-d ₃
<i>Flouroquinolonas</i>							
FLU	[M+H] ⁺	7,13	262>244 262>202	51 51	29 45	14 10	Flumequine- ¹³ C ₃
<i>Quinolonas</i>							
NAL	[M+H] ⁺	4,33	233>187 233>215	61 61	37 19	12 14	Erithromycin-N, N-dimethyl- ¹³ C
OXO	[M+H] ⁺	6,19	262>244 262>216	36 36	25 41	12 16	Diclofenac-d ₄
PIP	[M+H] ⁺	4,02	304>217 304>189	66 66	29 45	20 16	BZT-d ₄
<i>Sulfamidas</i>							
AcSPY	[M+H] ⁺	4,72	292>134 292>198	70 70	30 30	8 8	BZT-d ₄
SB ²	[M+H] ⁺	6,45	277>156 277>92	56 56	17 41	10 6	Clarithromycin-N-methyl-d ₃
SDM	[M+H] ⁺	6,53	311>156 311>92	76 76	31 31	8 6	Diclofenac-d ⁴
SDX ²	[M+H] ⁺	6,50	311>156 311>92	46 46	29 45	12 5	Clarithromycin-N-methyl-d ₃
SMR ³	[M+H] ⁺	4,85	265>156 265>92	61 61	27 47	8 6	Sulfamethazine-d ₄
SMT ³	[M+H] ⁺	5,30	271>156 271>108	56 56	25 27	10 10	BZT-d ₄
SPM ³	[M+H] ⁺	5,21	281>156 281>126	66 66	27 27	14 12	Sulfamethazine-d ₄
SNT	[M+H] ⁺	7,05	336>156 336>198	66 66	17 29	12 14	Flumequine- ¹³ C ₃
SPY ³	[M+H] ⁺	5,20	250>156 250>92	51 51	28 31	12 6	Sulfamethazine-d ₄
SQX	[M+H] ⁺	6,49	301>156 301>92	76 76	25 47	10 12	Flumequine- ¹³ C ₃
STZ ³	[M+H] ⁺	4,51	256>156 256>92	40 40	25 25	14 10	Sulfamethazine-d ₄
SFM ³	[M+H] ⁺	5,09	279>186 279>124	76 76	23 33	14 8	Sulfamethazine-d ₄
<i>Derivados de la trimetoxibenzilpirimidina</i>							
TMP ³	[M+H] ⁺	4,37	291>230 291>123	86 86	37 31	10 20	Sulfamethazine-d ₄
<i>Analgésicos y antiinflamatorios</i>							
KTP	[M+H] ⁺	7,28	255>105 255>209	66 66	33 25	18 10	Erithromycin-N, N-dimethyl- ¹³ C
MA	[M+H] ⁺	9,11	242>224 242>209	46 46	23 41	22 14	BP3-d ₅

¹ En el primer análisis de HPLC-MS/MS se utilizó como patrón interno AllyBZT

² En el primer análisis de HPLC-MS/MS se utilizó como patrón interno diclofenac-d₄

³ En el primer análisis de HPLC-MS/MS se utilizó como patrón interno BZT-d

Rt: tiempo de retención

Método utilizado de una adaptación desarrollada por el grupo de trabajo investigación por Gago-Ferrero et al., 2013 y García-Galán et al., 2012 correspondiente al análisis de filtros solares y sulfamidas en el agua, respectivamente.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1. Validación del método

El proceso de validación consiste en la determinación de varios parámetros tales como el rango de linealidad, sensibilidad límites de detección y cuantificación), precisión expresada como desviación standard relativa para n=6 y n=4 (número de réplicas) (intradía, interdía, respectivamente) y los efectos de matriz. Los parámetros de calidad para todos los compuestos seleccionados se presentan en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Parámetros de calidad del método *online* SPE-LC-MS/MS para el análisis de PPCPs en muestras de agua residual

Compuesto PPCP	Linealidad (ng/L)	r ²	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)	Intradía (%RSD) N=6	Interdía (%RSD) N=4
<i>Benzofenonas</i>						
4HB	5-500	0.9991	0.8	2.6	13	25
4DHB	5-500	0.9972	0.7	2.3	3	5
BP1	10-500	0.9994	0.4	1.4	5	6
BP3	1-700	0.9998	0.53	1.8	3	6
BP8	1-500	0.9988	0.5	1.8	10	11
<i>Alcanfores</i>						
4MBC	1-700	0.9992	0.7	2.2	3	6
<i>Derivados PABA</i>						
EtPABA	1-700	0.9988	0.7	2.2	12	15
OD-PABA	1-700	0.9988	0.2	0.6	5	7
<i>Benzotriazoles</i>						
DMBZT	1-500	0.9989	0.4	1.3	1	11
UVP	1-500	0.9964	0.2	0.7	9	12
<i>Macrólidos</i>						
AZI	5-700	0.9997	0.4	1.3	9	14
CLR	5-700	0.9992	0.3	1.0	3	15
ERY	5-500	0.9987	0.7	2.3	8	18
ROX	1-500	0.9997	0.4	1.2	4	13
TYL	1-500	0.9997	0.2	0.7	5	6
<i>Flouroquinolonas</i>						
FLU	1-700	0.9995	0.7	2.3	3	8
<i>Quinolonas</i>						
NAL	3-500	0.9959	0.6	2.1	4	16
O XO	1-700	0.9997	0.4	1.4	-	-
PIP	5-500	0.9972	1.5	4.8	-	-
<i>Sulfamidas</i>						
AcSPY	1-350	0.9979	0.5	1.5	4	7
SB	1-500	0.9987	0.7	2.4	9	19
SDM	1-700	0.9995	0.1	0.2		
SDX	1-700	0.9995	0.3	1.0	3	17
SMR	1-700	0.9996	1.6	5.3	5	16
SMT	1-500	0.9989	0.3	0.9	10	14
SPM	1-500	0.9997	0.6	1.9	4	8
SNT	3-700	0.9880	3.0	10.0	8	19
SPY	1-500	0.9993	0.5	1.7	1	10
SQX	1-700	0.9998	2.7	9.0	8	12
STZ	1-700	0.9997	0.7	2.3	8	10
SFM	1-700	0.9993	0.7	2.3	3	9
<i>Derivados de la trimetoxibenzilpirimidina</i>						
TMP	10-500	0.9921	1.0	3.4	6	16
<i>Analgésicos y antiinflamatorios</i>						
KTP	3-700	0.9986	1.5	4.8	6	14
MA	1-700	0.9936	0.6	2.0	8	20

LOD: Límite de detección; LOQ: Límite de cuantificación; RSD: Desviación estándar relativa; - no se pudieron calcular en el experimento.

Como se muestra en la **Tabla 11**, el método presenta un amplio intervalo de linealidad para todos los compuestos y coeficientes de correlación (r^2) superiores a 0.995, excepto para los compuesto TMP ($r^2=0.9921$) y MA ($r^2=0.9936$). Es un método sensible, cuyo límite de detección (LOD) varía desde 0.1 a 3.0 ng L⁻¹. El LOD es definido como la menor concentración de un analito que puede ser detectado con fiabilidad con una relación de señal / ruido de fondo de 3. Mientras que, el límite de cuantificación (LOQ), que es definido como la mínima concentración de un analito presente en la muestra que se puede cuantificar bajo las condiciones experimentales descritas con una relación señal / ruido de fondo de 10 (Compañó y Ríos, 2002), varía desde 0.2 a 10 ng L⁻¹. La precisión intradía varió entre 1 y 13% de la desviación estándar relativa (RSD) y la precisión del interdía registró valores entre 5 y 25% de RSD.

En el presente trabajo no se han calculado las recuperaciones del método, ya que se trata de un método con extracción *online*. Como todos los patrones internos y los compuestos de la recta de calibrado sufren los mismos procesos que los analitos y patrones internos de las muestras, cualquier cosa que afecta a las muestras afectará también a la recta, y por lo tanto quedará corregido directamente (Serra-Roig et al., 2016).

La confirmación de los hallazgos positivos se llevó a cabo calculando las relaciones del área de pico entre las transiciones de cuantificación (q1) y confirmación (q2). La detección se consideró como verdadera positiva cuando el tiempo de retención del analito en la muestra era ± 2.5 % del tiempo de retención en comparación con el del patrón interno de referencia. La cuantificación se llevó a cabo mediante patrón interno marcado isotópicamente (dilución isotópica).

9.2. Presencia de PPCPs en muestras de aguas de la EDAR

Tabla 12. Resultados de PPCPs de la primera campaña de muestreo

Compuesto PPCP	Miércoles Integrada ¹ (ng/L)	Miércoles puntual tarde ¹ (ng/L)	Miércoles puntual efluente FA (ng/L)	Viernes puntual Tarde ¹ (ng/L)	Sábado Puntual Mañana ¹ (ng/L)	Sábado puntual Tarde ¹ (ng/L)	Lunes Puntual Mañana ¹
<i>Benzofenonas</i>							
4HB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
4DHB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
BP1	n.d.	n.d.	132	n.d.	n.d.	n.d.	184
BP3	11.2	2.14	n.d.	n.d.	< LOQ	< LOQ	27.5
BP8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Alcanfores</i>							
4MBC	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Derivados PABA</i>							
EtPABA	3.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	<LOQ	10.3
ODPABA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Benzotriazoles</i>							
DMBZT	n.d.	29.4	13.6	99	24.8	8.63	52.8
<i>Macrólidos</i>							
AZI	n.d.	22.1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	174
CLR	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6.43	17	256
ERY	n.d.	n.d.	n.d.	19.7	50.3	46.1	n.d.
FLU	n.d.	n.d.	27.3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
ROX	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
TYL	n.d.	n.d.	8.72	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Quinolonas</i>							
OXO	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PIP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Sulfamidas</i>							
AcSPY	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SDX	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SDM	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SMR	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SMT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SPM	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SPY	n.d.	n.d.	4.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SQX	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
STZ	n.d.	n.d.	40.7	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SFM	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>Derivados de la trimetoxibenzilpirimidina</i>							
TMP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	96.6
Σ PPCPs	14.36	31.54	145.6	99	24.8	8.63	274
Σ ATB	n.d.	22.1	80.88	19.7	56.73	53.1	526.6
Σ PPCPs	14.36	53.64	226.48	118.7	81.53	71.73	801.2

¹ Efluentes del tratamiento secundario procedente del sistema de lodos activados

Los resultados de la primera campaña del muestreo efectuada en la EDAR de Palamós durante el mes de noviembre se muestran en la **Tabla 12**. Estos resultados indicaron que, del global de las muestras, la tomada el lunes por la mañana resultó con diferencia la más contaminada, con una carga total de PPCPs superior a los 800 ng/L (ver **Figura 7**). En esta muestra, la concentración total de PCPs fue de 274.6 ng L⁻¹, siendo DMBZT 52.8 ng L⁻¹, EtPABA 10.3 ng L⁻¹, BP3 27.5 ng L⁻¹ y BP1 184 ng L⁻¹. De entre los PCPs, el DMBZT fue el compuesto más frecuentemente detectado (6/7), seguido de la BP3 (5/7). Sin embargo, el BP1 fue el filtro UV con mayor concentración. Esta misma muestra también presentó las concentraciones más altas de ATBs (526 ng L⁻¹), incluyendo CLR 256 ng L⁻¹, AZI 174 ng L⁻¹ y TMP 96.6 ng L⁻¹.

Además, se determinaron las concentraciones de los compuestos presentes en el efluente proveniente del filtro de arenas, cuantificando valores para BP1 132 ng L⁻¹, DMBZT 13.6 ng L⁻¹, STZ 40.7 ng L⁻¹, SPY 4.16 ng L⁻¹, TYL 8.72 ng L⁻¹ y FLU 27.3 ng L⁻¹. Así mismo, se identificó la presencia de la ERY en tres de las muestras analizadas, con concentraciones en el rango de 19.7 ng L⁻¹ a 50.3 ng L⁻¹.

Durante esta campaña no se consideró en el análisis fármacos distintos a los antibióticos. Por otra parte, tampoco se pudo disponer del influente de la EDAR. Los resultados, además, indicaban que la carga total de PPCPs a la salida del filtro de arenas (Miércoles puntal efluente FA) era superior a la de entrada. Por todo ello, estos resultados por sí solos no ofrecían confianza para llegar a una conclusión clara sobre la presencia y tasas de eliminación de los PPCPs en la EDAR de estudio, por lo que se decidió llevar a cabo una segunda campaña de toma de muestras de las aguas residuales considerando las diferentes etapas de tratamiento dentro de la planta, así como los tiempos de retención hidráulico y del ciclo de carga y descarga del filtro de arenas.

De la segunda campaña de muestreo de las aguas residuales de la EDAR de Palamós llevada a cabo en el mes de abril, se pudieron determinar las concentraciones de los PPCPs, así como la eficiencia de eliminación (RE%) de cada compuesto en función de los niveles del sistema de tratamiento (calculado explicado más adelante en resultados), se muestran en la **Tabla 13**.

Tabla 13. Resultados de PPCPs en la segunda campaña de muestreo

Compuesto PPCP	EDAR influente (ng/L)	EDAR efluente primario (ng/L)	EDAR efluente secundario (ng/L)	EDAR efluente FA (ng/L)	RE (%)	RE _{FA} (%) ¹
<i>Benzofenonas</i>						
4HB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
4DHB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
BP3	n.d.	35.3	64.4	n.d.	n.a.	n.a.
BP8	n.d.	n.d.	125.0	n.d.	n.a.	n.a.
<i>Derivados PABA</i>						
EtPABA	n.d.	51.1	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
<i>Benzotriazoles</i>						
UVP	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
DMBZT	n.d.	n.d.	40.1	n.d.	n.a.	n.a.
<i>Macrólidos</i>						
CLR	94.4	200	42.5	n.d.	55	~100
ERY	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
ROX	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
TYL	n.d.	n.d.	27.3	n.d.	n.a.	n.a.

<i>(continuación)</i>						
Compuesto PPCP	EDAR influyente (ng/L)	EDAR efluente primario (ng/L)	EDAR efluente secundario (ng/L)	EDAR efluente FA (ng/L)	RE (%)	RE _{FA} (%) ¹
<i>Quinolonas</i>						
NAL	n.d.	n.d.	142	64.7	n.a.	n.a.
<i>Sulfamidas</i>						
SB	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
SDX	1.37	n.d.	3.04	n.d.	-122	~100
SMR	20.5	n.d.	n.d.	n.d.	~100	~100
SMT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
SPM	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
SNT	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
SPY	31.5	10.5	n.d.	n.d.	~100	~100
SQX	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
STZ	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
SFM	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.
<i>Derivados de la trimetoxibenzilpirimidina</i>						
TMP	154	54.4	n.d.	n.d.	~100	~100
<i>Analgésicos y antiinflamatorios</i>						
KTP	51.3	n.d.	n.d.	n.d.	~100	~100
MA	n.d.	9.29	117	n.d.	n.a.	n.a.
Σ PCPs	n.d.	86.4	229.5	n.d.		
Σ ATB	301.77	264.9	214.84	64.7		
Σ Fármacos	51.3	9.3	117	n.d.		
Σ PPCPs	353.1	360.6	561.3	64.7		

¹ RE_{FA} Eliminación con la etapa final de filtro de arenas (FA).

n.d. – no detectado; n.a. – no aplicable

Como se puede ver en la **Tabla 13**, en el influente de la EDAR se halló que la mayor concentración de contaminantes orgánicos emergentes es debida a la presencia de antibióticos, principalmente por el TMP 154 ng L⁻¹ y el antibiótico macrólido CLR 94.4 ng L⁻¹. El TMP es un antibiótico bacteriostático de uso en tratamientos de infecciones urinarias, mientras que la CLR se utiliza para infecciones tales como neumonía, bronquitis e infecciones de los oídos, senos nasales, piel y garganta. Además, se determinaron las concentraciones de las sulfamidas SDX 1.37 ng L⁻¹, SMR 20.5 ng L⁻¹, y SPY 31.5 ng L⁻¹, y del fármaco KTP 51.3 ng L⁻¹.

Por el contrario, en el efluente secundario de la EDAR se pudo observar que la mayor concentración es debida a la presencia de los PCPs con 229.5 ng L⁻¹, principalmente por los compuestos BP8 125 ng L⁻¹ y BP3 64.4 ng L⁻¹, pertenecientes a la familia de las benzofenonas. BP8 se atribuye como posible derivado de los mecanismos de transformación y degradación del BP3 35.3 ng L⁻¹ encontrado en el efluente primario. Sin embargo, la mayor concentración hallada en el efluente secundario fue debida al antibiótico NAL 142 ng L⁻¹ utilizado para el tratamiento de infecciones urinarias causadas por organismos gram negativos.

De manera general, se observó los resultados que la concentración de PPCPs en el influente 353.1 ng L^{-1} fue menor que en el efluente 561.3 ng L^{-1} , lo que sugiere una eliminación ineficiente durante el tratamiento convencional. Las concentraciones del efluente se atribuyen a la presencia de metabolitos o conjugados de los compuestos PPCPs, no incluidos en el ámbito del presente estudio, y que pueden transformarse en el compuesto original durante el tratamiento, explicando así esas elevadas concentraciones (García-Galán, 2012).

Por el contrario, al aplicar el tratamiento con filtro de arenas se encontró una concentración de PPCPs de 64.3 ng L^{-1} , indicando una eliminación más eficiente para los compuestos excepto para el antibiótico NAL.

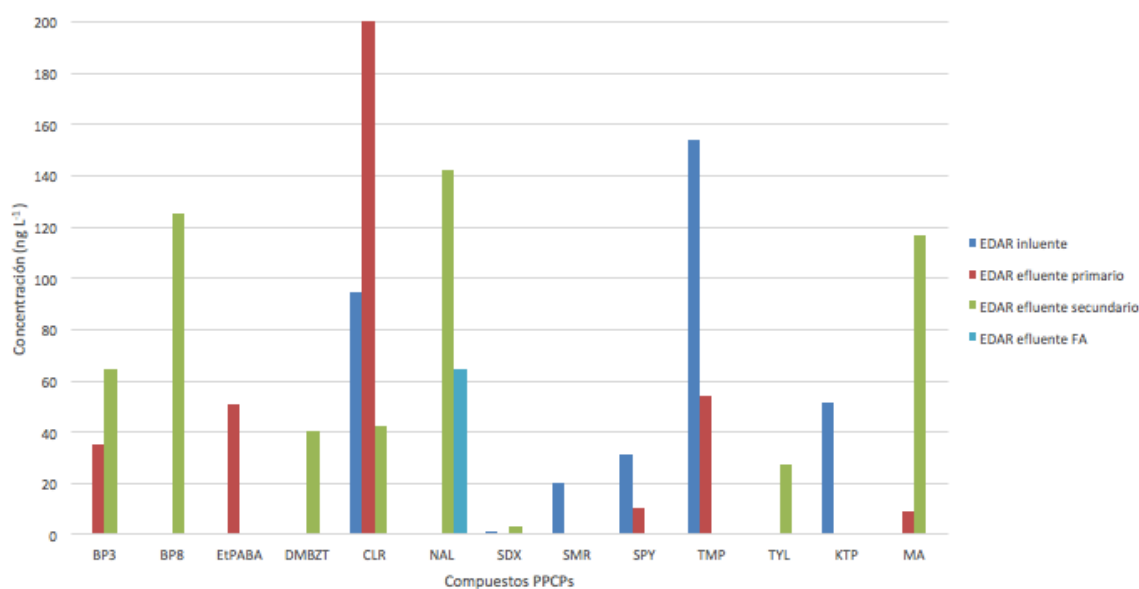


Figura 6. Concentración (ng L^{-1}) de los PPCPs presentes en las muestras de aguas residuales tratadas en diferentes etapas del proceso de la EDAR

En la **Figura 5** se puede ver claramente que la concentración de la claritromicina (CLR) es la más alta reportada en la investigación, procedente de la muestra del efluente primario con 200 ng L^{-1} . Así mismo, se halló que la muestra con mayor cantidad de PPCPs encontrados fue la procedente del efluente secundario, encontrándose 8 compuestos (BP3, BP8, DMBZT, CLR, TYL, NAL, SDX y MA).

La tasa de eliminación (RE%) es la conversión de los compuestos PPCPs en una sustancia distinta del compuesto original por el proceso de tratamiento de aguas residuales. Se puede calcular mediante las siguientes ecuaciones, considerando que los caudales permanecen constantes en la EDAR:

$$\%RE = 100 \times \left(1 - \frac{L_{\text{efl}}}{L_{\text{infl}}}\right) \quad (1)$$

donde L_{infl} y L_{efl} son las cargas diarias de influente y efluente ($g d^{-1}$), calculados con las siguientes ecuaciones:

$$L_{infl} = V \times C_{infl} \quad (2)$$

$$L_{efl} = V \times C_{efl} \quad (3)$$

donde V es el caudal medio de agua por día ($L d^{-1}$) y C_{infl} y C_{efl} son las concentraciones de cada compuesto ($ng L^{-1}$) detectadas en el influente y efluente de las muestras de la EDAR.

Las tasas de eliminación se lograron reportar para 6 PPCPs de los 25 compuestos analizados durante la 2a campaña de muestreo. Así, la %RE procedente del tratamiento CAS para el compuesto CLR fue de 55%, mientras que, con el tratamiento terciario, para la mayoría de los compuestos, fue de $\approx 100\%$ considerando que si el compuesto no es detectado en el efluente del tratamiento se estima que la eliminación ha sido del 100%.

Así pues, en este caso, considerando los tiempos del ciclo de carga del filtro de arenas, se ve que éste favorece la eliminación de los contaminantes, probablemente por procesos de adsorción. En términos generales se observa que en el tratamiento biológico se generan productos como consecuencia de la acción de las bacterias sobre los enlaces relativamente débiles de los productos de conjugación, es decir, de los metabolitos de Fase II excretados por los organismos, para revertirlos en el compuesto libre. Ello es más evidente cuando se obtienen eliminaciones negativas, tal es el caso de SDX, el cual se reporta con una %RE de -122% con solo el tratamiento CAS, aunque posteriormente con el tratamiento FA alcance un %RE de $\approx 100\%$. Este razonamiento también es aplicable a BP3, BP8, DMBZT, TYL, NAL y MA.

Como ejemplo, en la **Figura 6** y **7** se muestran los cromatogramas de las muestras más contaminadas del efluente secundario, el primero de la primera campaña de la toma puntual del lunes por la mañana y el segundo de la segunda campaña, respectivamente. Los cromatogramas permiten una clara ilustración de los compuestos que se presentan en ambos, que son DMBZT, BP3 y CLR.

Los BZT, específicamente DMBZT, pueden ocurrir en los efluentes de la EDAR debido a que no tienen tendencia a adsorberse a los lodos activados ($\log K_{ow}$ por debajo de 2) o debido a que su degradación no es lo suficientemente rápida como para ser completada dentro del TRH en la que opera la planta.

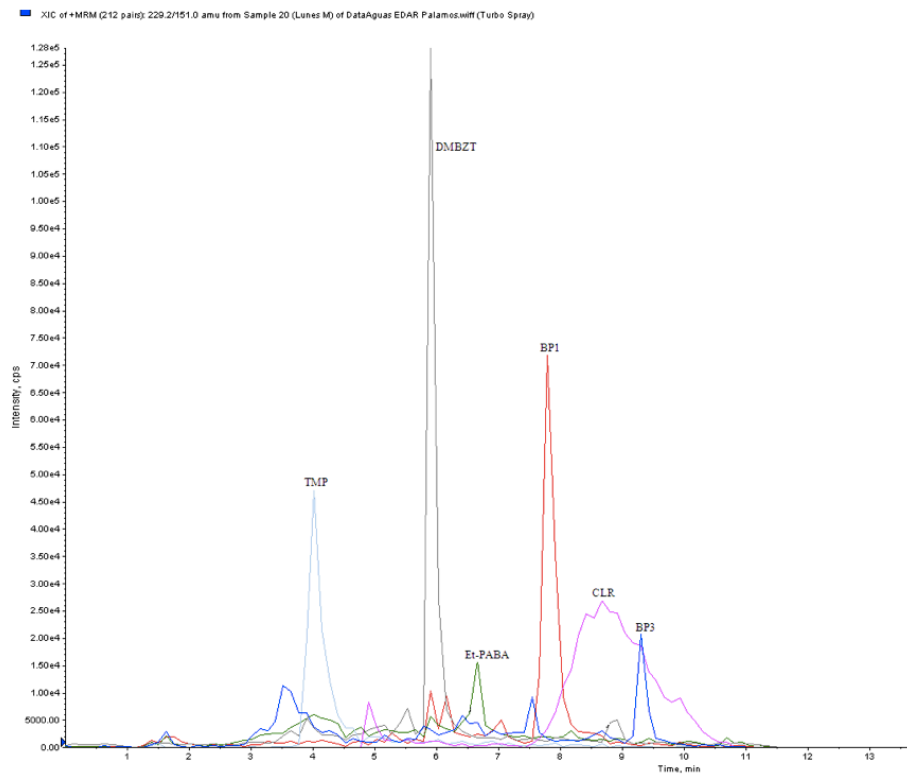


Figura 7. MS/MS cromatograma reconstruido de la muestra puntual efluente secundario de lunes mañana (1a. campaña muestreo)

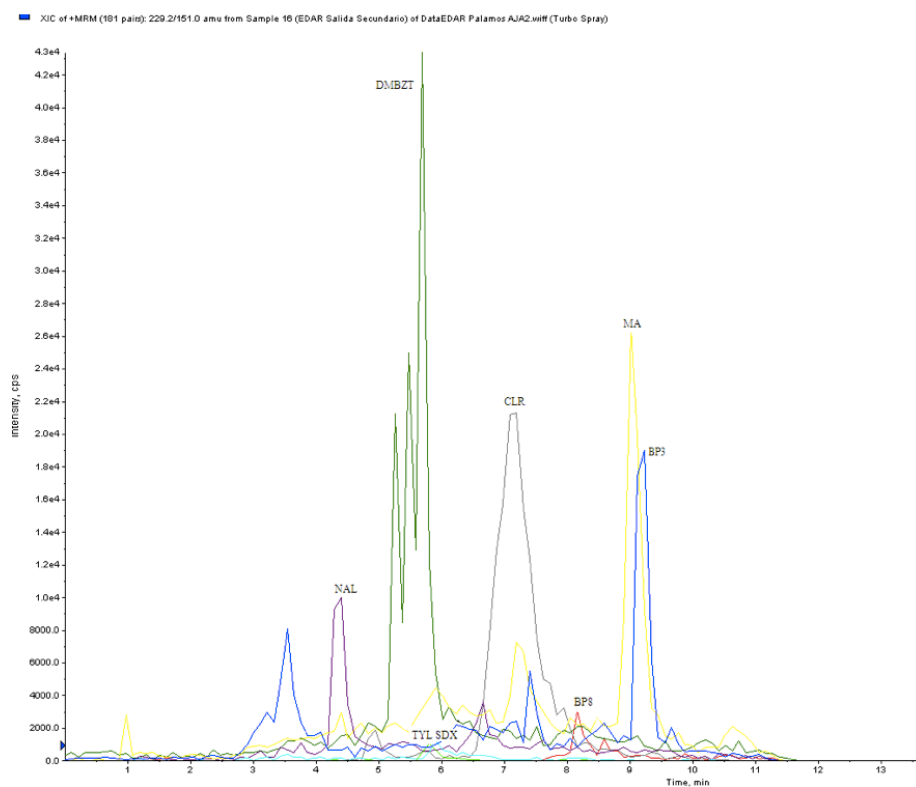


Figura 8. MS/MS cromatograma reconstruido de la muestra puntual efluente secundario (2da. campaña muestreo)

9.3. Comparación con la presencia de PPCPs en otros estudios

Para este estudio, se quiso también comparar los niveles de presencia y tasas de eliminación obtenidos para los PPCPs seleccionados dentro de la EDAR de estudio, con valores reportados en la literatura en otros países.

Los valores de las muestras de agua del influente tuvieron una variación diferente para CLR, reportada por Inanová et al. (2017) en concentraciones de 2750 ng L⁻¹ en EDARs de Eslovaquia; y SMR determinada por García-Galán et al. (2012) en EDARs de la costa de Cataluña en concentraciones en el rango de 2.13-7.37 ng L⁻¹; mientras que los valores similares reportados fueron para: SDX con una variación semejante a la encontrada por García-Galán et al. (2012) en EDARs de la costa de Cataluña, en concentración media de 1 ng L⁻¹; SPY reportado por García-Galán et al. (2010) con rangos de 8.53-113 ng L⁻¹; TMP está dentro del rango encontrado por Papageorgious et al. (2016) en EDARs de Grecia central con rangos de <LOQ-200 ng L⁻¹ y las reportadas por Subedi et al. (2017) en EDARs del sur de India con rangos de <LOQ-400 ng L⁻¹; y KTP similar a rangos reportados por Papageorgious et al. (2016) en el rango de n.d.-793 ng L⁻¹.

Las concentraciones reportadas para efluentes en las EDARs han tenido un comportamiento similar en España y el resto de países, BP3 ha sido determinado por Pedrouzo et al. (2009) en EDARs de la costa de Cataluña en el rango de 20-100 ng L⁻¹, así como Trenholm et al. (2008), en el occidente de Estados Unidos con concentraciones de 1-13 ng L⁻¹; CLR y AZI en aguas de EDARs de Eslovaquia en concentración media de 684 ng L⁻¹ y 919 ng L⁻¹ por Inanová et al. (2017); MA en el sur de la India en un rango de 250-750 ng L⁻¹ por Subedi et al. (2017) y en aguas de EDARs de la costa Mediterránea de España con concentraciones de 40-50 ng L⁻¹ por Bueno et al. (2009); SPY y STZ en aguas de efluentes de EDARs de Cataluña con concentraciones de 3.35-177 ng L⁻¹ y 0.7-73 ng L⁻¹ por García-Galán et al. (2012); mientras que otros compuestos no reportan valores similares a los encontrados en literatura, como el BP8 reportado por Negreira et al. (2009b) en concentraciones debajo del límite de cuantificación en EDARs de España; BP1 en las EDARs de la costa de Cataluña teniendo rangos de <LOQ-31.1 por Gago-Ferrero et al. (2013) y SDX por García-Galán et al. (2012) en concentraciones de 0.1-0.47 en España.

Las %RE encontradas fueron escasas para los resultados obtenidos. En el caso de la CLR, se encontró la %RE solo para el tratamiento primario con un valor positivo, diferente al obtenido en este estudio (negativo), con 3.51% reportado por Ortiz de García et al. (2013). Por el contrario, el SDX reportó un valor negativo de RE% y no se encontraron datos en literatura al respecto. KTP tuvo una tasa de recuperación diferente a la reportada por Ke et al. (2014) en el tratamiento CAS de una EDAR de Shanghai con un valor %RE de 55.

9.4. Resistencia bacteriana

Hoy en día, el aumento significativo de la dificultad en las terapias antibióticas convencionales es una preocupación creciente en el sector público debido a la presencia de resistencia bacteriana. El uso frecuente, humano y veterinario, de antibióticos como las tetraciclinas, sulfamidas y ampicilina, ha hecho necesaria la eliminación efectiva de las bacterias resistentes a los antibióticos en las aguas residuales. Sin embargo, a pesar de que la transferencia de ARGs es un fenómeno natural, no queda claro si el sistema de tratamientos de aguas residuales reduce o promueve la propagación de las bacterias resistentes a los antibióticos.

Es por eso que, en este estudio se investigó la abundancia de ARGs en el agua residual tratada saliente del efluente secundario y del filtro de arenas de la EDAR de estudio, por el grupo de Investigación Italian National Council of Research (CNR-IRSA), parte del consorcio del proyecto ACWAPUR. Los resultados de las muestras de agua se muestran en la **Tabla 14**.

Tabla 14. Resultados de ARGs presentes en efluentes de la EDAR de estudio. Datos tomados de Levantesi et al. (En preparación)

ARGs	Miércoles Integrada ¹	Miércoles puntual tarde ¹	Miércoles puntal efluente FA
Tetraciclinas			
<i>tetA</i>	+	-	-
<i>tetO</i>	-	-	-
<i>tetW</i>	-	-	-
Sulfamidas			
<i>sul1</i>	+	+	+
<i>sul2</i>	-	-	+
MLSB			
<i>ermB</i>	-	-	-
Vancomicina			
<i>vanA</i>	-	-	-
β-Lactámicos			
<i>mecA</i>	+	+	+
<i>ampC</i>	+	+	+
<i>bla-CTX-MI</i>	-	-	+
<i>bla-SHV</i>	+	-	-
<i>bla-TEM</i>	+	+	+

¹ Efluente del tratamiento secundario procedente de lodos activados; MLSB: Macrólidos-Linconsamide-Streptogramin; + presencia positiva; - presencia negativa

Como se observa, se encontró la presencia de los ARGs en las salidas del efluente secundario, principalmente para las sulfamidas y los β-lactámicos. Estudios demuestran que los ARGs disminuyen después del tratamiento aeróbico a través de lodos activados (Zhang et al., 2009; Tao et al., 2014), y su %RE puede estar asociado con la exposición a la luz solar (Engemann et al., 2006); por lo que, aumentar el tiempo de procesamiento en la unidad aeróbica podría ayudar a reducir la liberación de bacterias resistentes a los antibióticos en los ambientes acuáticos. Por el contrario, el tratamiento anaeróbico, indispensable para la biodegradación, puede facilitar el crecimiento de bacterias resistentes y aumentar la posibilidad de propagación de las bacterias insensibles a los antibióticos (Tao et al., 2014).

9.5. Bondad de los procesos y proyecto ACWAPUR

De acuerdo con los resultados anteriores, se considera que el efluente secundario es el más apropiado para realizar los ensayos del proyecto ACWAPUR, donde se estudia la efectividad de diferentes tipos de barreras reactivas porosas para mejorar la calidad química y ecológica de las aguas residuales que se vayan a utilizar para aumentar las masas de aguas subterráneas mediante la recarga artificial de acuíferos (Ver **Anexo I Figura I.1**).

En los efluentes secundarios se detectó una amplia variedad de compuestos PPCPs (BP1, BP8, EtPABA, MA, AZI, ERY, TMP, NAL, SDX) y algunos de ellos presentes durante ambas campañas, como fueron: BP3, DMBZT, CLR, TYL. Además, de encontrarse la presencia de los ARGs de las tetraciclinas, sulfamidas y β -lactámicos. Es importante contar con un efluente con una extensa diversidad de PPCPs y ARGs, para poder valorar mejor el alcance de las mejoras introducidas con el tratamiento con las barreras reactivas.

Por otro lado, la filtración con arena como sistema de tratamiento terciario, parece no ser completamente eficaz para eliminar los compuestos PPCPs, debido a la variación de resultados durante las campañas realizadas en la EDAR. Estas observaciones sugieren que la hidrofobicidad es probable que sea un factor de control para las %RE. En la literatura revisada, Nakeda et al. (2007) destaca que compuestos con $\log K_{ow} < 3$, presentan %RE menores a 50%, mientras que compuestos hidrófobos ($\log K_{ow} > 3$) tienen mayores eficiencias. Además, en el proceso de filtración las partículas en suspensión son reducidas drásticamente, lo que seguramente favorecerá su percolación rápida a través de las barreras porosas e impediría o minimizaría el establecimiento de los procesos biológicos naturales que los componentes orgánicos de las barreras puedan originar aumentando la eficacia en la biodegradación de los contaminantes.

Con lo anterior, el proyecto ACWAPUR propone desarrollar barreras porosas reactivas avanzadas como medida de gestión para evitar la lixiviación de los organismos patógenos, nutrientes inorgánicos y contaminantes orgánicos a los acuíferos durante el proceso de recarga. La única forma práctica de recuperar los acuíferos sobreexplotados es rellenando el agua del acuífero por recarga gestionada o artificial, una tecnología de reciclado de agua de bajo consumo y bajo costo capaz de utilizarse en todo el mundo.

Las barreras porosas reactivas avanzadas, contendrán capas de materia orgánica (ver **Figura 9**) que, además de lo anterior, facilitan la creación de diferentes condiciones redox para acelerar los procesos de degradación anaeróbica mediante:

1. La estimulación de bacterias oxidantes de amonio, para facilitar la degradación co-metabólica de contaminantes
2. El suministro de bacterias o nutrientes específicos
3. La adición de carbono orgánico fácilmente degradable para facilitar la eliminación del nitrógeno por desnitrificación
4. El recubrimiento de los sedimentos con óxidos de hierro para facilitar la adsorción de bacterias patógenos y,
5. La introducción de plantas (fitoremediación) y seguimiento de su ciclo de vida para prevenir la colmatación y aportar carbono orgánico

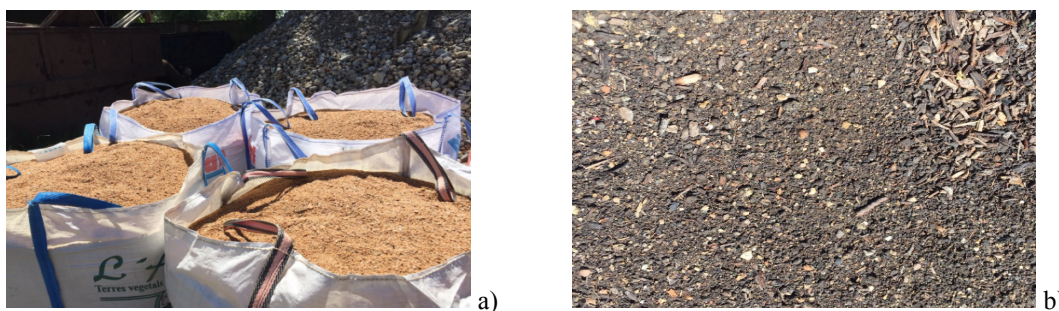


Figura 9. Materia orgánica utilizada para las barreras porosas reactivas avanzadas; a) grava de la costa mediterránea, b) compost vegetal (restos de madera, poda, entre otros)

10. CONCLUSIONES

Las conclusiones de la tesis se resumen a continuación:

- La revisión bibliográfica llevada cabo demuestra que el aumento del consumo del agua ha provocado la reutilización de aguas residuales, principalmente para regadío y recarga de acuíferos sobreexplotados. Esto requiere de la utilización de tecnologías avanzadas capaces de eliminar los micro contaminantes emergentes no regulados, bajo un enfoque de desarrollo sostenible.
- Los PPCPs son un grupo diverso de productos químicos que incluyen fármacos humanos y veterinarios, y productos utilizados en cosméticos, fragancias y agentes de protección solar. Estos compuestos tienen un amplio rango de propiedades físico-químicas lo que hace que algunos tengan tendencia a permanecer en la columna de agua, mientras que otros se adsorben en los sedimentos, suelos y fangos, y otros se acumulan en los tejidos de los organismos vivos. Además, estos compuestos presentan actividad biológica, siendo algunos disruptores endocrinos.
- Actualmente no existe legislación con valores máximos admisibles para los PPCPs, en cuanto a criterios de calidad del agua regenerada para su re-utilización p.ej. en la recarga artificial de acuíferos. La Directiva 2015/495/UE establece una lista de vigilancia para las sustancias que pueden presentar un riesgo significativo para el medio acuático, incluyendo tres antibióticos y un filtro solar de los estudiados en este trabajo; AZI, CLR, ERY, EHMC.
- Los PPCPs se han detectado con frecuencia en los efluentes de las EDARs, y aunque sus concentraciones son bajas, esto sugiere que el proceso convencional de tratamiento de aguas residuales no puede eliminar los contaminantes emergentes completamente. Por lo tanto, se necesita de procesos complementarios eficaces para tratar las aguas residuales que los contienen. En el caso del proyecto ACWAPUR, la caracterización de la EDAR de estudio constituye un requisito previo para investigar la entrada y destino de los PPCPs en el medio ambiente. Los datos obtenidos permitirán identificar los aspectos hidroquímicos de interés, y en especial para posteriormente evaluar los procesos que tendrán lugar en las barreras reactivas, la columna de agua y el suelo.

La parte experimental del proyecto, análisis del influente y efluente de una EDAR localizada en la Costa Mediterránea, permitió llegar a las siguientes conclusiones:

- El método experimental analítico de determinación multiresiduo de PPCPs en muestras de aguas residuales, SPE-HPLC-MS/MS *online*, desarrollado y validado resultó ser adecuado en términos de parámetros de calidad; sensible, selectivo, rápido y preciso para realizar el análisis de 34 compuestos fármacos y filtros solares UV.

- Se detectó la presencia de una amplia variedad de compuestos PPCPs, en el efluente de la EDAR de estudio: BP1 (184 ng L⁻¹), BP8 (125 ng L⁻¹), EtPABA (3.16-10.3 ng L⁻¹), MA (117 ng L⁻¹), AZI (22.1-174 ng L⁻¹), ERY (19.7-50.3 ng L⁻¹), TMP (96.6 ng L⁻¹), NAL (142 ng L⁻¹), SDX (3.04 ng L⁻¹) y algunos de ellos presentes en las muestras tomadas en las dos campañas de toma de muestra, como fueron: BP3 (2.14-64.4 ng L⁻¹), DMBZT (8.63-99 ng L⁻¹), CLR (6.43-256 ng L⁻¹) y TYL (8.72-27.3 ng L⁻¹).
- En el análisis de las aguas se determinó la presencia de ARGs en el efluente secundario y efluente del filtro de arenas, específicamente: *tetA*, *sull*, *mecA*, *ampC*, *bla-CTX-M1*, *bla-SHV*, *bla-TEM*, lo cual contribuye a la resistencia bacteriana.

En base a los datos obtenidos, se considera que el efluente secundario es el óptimo para utilizarse en la recarga artificial de las barreras reactivas porosas del proyecto ACWAPUR. El método puesto a punto en este trabajo será el aplicado para el análisis de PPCPs en todos los experimentos llevados a cabo en el marco del proyecto ACWAPUR.

11. BIBLIOGRAFÍA

- Aigües de la Costa Brava. "Fitxa de descripció sistemes de sanejament: Palamós". Consultado: 24 de febrero, 2017. http://www.aiguescb.com/web/fitxesTecniques/FT13_palamos.pdf
- Alder AC, Bruchet A, Carballa M, Clara M, Joss A, Löffler D, et al. *Consumption and occurrence. In: Ternes TA, Joss A, editors. Human pharmaceuticals, hormones and fragrances. The challenge of micro pollutants in urban water management.* London: IWA Publishing; 2007. p. 20.
- Alfonso, C., J. Avellaner, R. Estévez, A. Garcia, J. Martínez, F. Prieto, y J. Santamarta. 2016. *Sostenibilidad en España 2016: Cumplimiento de los objetivos de Desarrollo Sostenible de Naciones Unidas.* Madrid: Observatorio de la sostenibilidad, 201-240.
- Alonso, Mariana; Feo, M.L., Corcellas, C., Gago-Ferrero, P., Bertozzi, C., Marigo, Juliana., Flach, L., Meirelles, A.C., Carvalho, V., Azevedo, A., Torres, J., Lailson-Brito, J., Malm, O., Eljarrat, E., Diaz-Cruz, S., Barceló, D., *Toxic heritage: Maternal transfer of pyrethroid insecticides and sunscreen insecticides and sunscreen agents in dolphins from Brazil.* Environmental Pollution (2015) 207: p. 391-402
- Asociación Nacional de Perfumería y Cosmética (STANPA). *El consumo de perfumes y cosméticos en España creció al 1,5% en 2015.* Publicado: 15 de marzo de 2016. Madrid.
- Arbertheau, E., Stalder, T., Mondamert, L., Ploy, M.C., Dagot, C., Labanowski, J., *Impact of wastewater treatment plant discharge on the contamination of river biofilms by pharmaceutical and antibiotic resistance.* Science of the Total Environment 579 (2017) 1387-1398.
- Balmer, M.E., Buser, H.-R., Müller, M.D., Poiger, T. *Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters, and in fish from Swiss lakes.* Environmental Science and Technology 39 (2005) 953-962.
- Barceló, D. y López, M. J. *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. En: Panel Científico Técnico de seguimiento de la política de aguas.* Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales-CSIC. Barcelona (2007).
- Barón, E., Gago-Ferrero, P., Gorga, M., Rudolph, I., Mendoza, G., Zapata, A.M., Díaz-Cruz, M.S., Barra, R., Ocampo-Duque, W., Páez, M., Darbra, R.M., Eljarrat, E., Barceló, D. «*Occurrence of hydrophobic organic pollutants (BRFs and UV-filters) in sediments from South America.*» Chemosphere 92 (2013): 309-316.
- Bendz D, Paxeus NA, Ginn TR, Loge FJ. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, case study: Hoje River in Sweden. J Hazard Mater 2005;122: 195-204.
- Blair, B., A. Nikolaus, C. Hedman, et al., *Evaluating the degradation, sorption, and negative mass balances of pharmaceuticals and personal care products during wastewater treatment,* Chemosphere 134 (2015) 395e401.
- Blüthgen, N., Zucchi, S., Fent, K. «*Effects of the UV filter benzophenone-3 (oxybenzone) at low concentrations in zebrafish (Danio rerio).*» Toxicol. Appl. Pharmacol. 263 (2013): 184-194.
- Bolong, N., A.F. Ismail, M.R. Salim, y T. Matsuura. «*A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal.*» Desalination (2009) 239: 229-246.
- Brown, K. D., Kulis, J., Thomson, B., Chapman, T. H. and Mawhinney, D. B. (2006). *Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico.* Science of The Total Environment 366 (2-3): 772-783.
- Bueno, M.J.M., A. Agüera, M.D. Hernando, M.J. Gómez, A.R. Fernández-Alba, *Evaluation of various liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap- mass spectrometry operation modes applied to the analysis of organic pollutants in wastewaters,* J. Chromatogr. A 1216 (2009) 5995-6002.
- Calafat, A.M., Wong, L.Y., Ye, X., Reidy, J.A., Needham, L.L. «*Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004.*» Environ. Health Perspect. 116 (2008): 893-897.
- Callao, Carmen. 2016. «*Reutilización del agua: hoja de ruta en Europa y situación en España.*» RETAMA. Publicado: 29 de agosto del 2016. Visitado: 14 de marzo del 2017. <http://www.retema.es/>
- Carballa, M., F. Omil, J.M. Lema, M. Llompart, C. Garcia-Jares, I. Rodríguez, M. Gómez, T. Ternes, *Behaviour of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant,* Water Res. 38 (2004) 2918-2926.
- Carvalho, I., Santos, L., *Antibiotics in the aquatic environments: A review of the European Scenario.* Environment International 94 (2016) 736-757.
- Centro Europeo para la prevención y el control de Enfermedades (ECDC). *Reporte Técnico: El reto de las bacterias: tiempo de reaccionar.* (2016). Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/>

- Champagne, P. *Contaminants of emerging environmental concern: Chapter 4- Personal Care Products*. American Society of Civil Engineers (2009).
- Chang, X., Meyer, M. T., Liu, X., Zhao, Q., Chen, H., Chen, J. a., Qiu, Z., Yang, L., Cao, J. and Shu, W. (2010). *Determination of antibiotics in sewage from hospitals, nursery and slaughter house, wastewater treatment plant and source water in Chongqing region of Three Gorge Reservoir in China*. Environmental Pollution 158 (5): 1444-1450.
- Choi, K. J., Kim, S. G., Kim, C. w. and Kim, S. H. (2007). *Determination of antibiotic compounds in water by on-line SPE-LC/MSD*. Chemosphere 66 (6): 977-984.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N. and Kroiss, H. (2005). *Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants*. Water Research 39 (19): 4797-4807.
- Compañó Beltrán, R., Ríos Castro, A., *Garantía de calidad en los laboratorios analíticos*, Editorial Síntesis, 2002.
- Cunningham, V., 2008. *Special characteristics of pharmaceuticals related to environmental fate*. In: Kümmerer, K. (Ed.), *Pharmaceuticals in the Environment. Sources Fate Effects and Risks*, third ed. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 23-34.
- D'Alessio, M., B. Yoneyama, M. Kirs, et al., *Pharmaceutically active com- pounds: their removal during slow sand filtration and their impact on slow sand filtration bacterial removal*, Sci. Total. Environ. 524e525 (2015) 124-135.
- Daughton, C.G. «*Non-regulated water contaminants: emerging research.*» Environmental Impact Assessment Review 24 (2004): 711-732.
- Daughton, C.G., Ternes, T.A. «*Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?*» Environ. Health Perspect. 107 (1999): 907-938.
- De Bustamante, I., Cabrera, M.C., Candela, L., Lillo, J. y Palacios, MP. «*La reutilización de aguas regeneradas en España: Ejemplos de aplicación en el marco del proyecto CONSOLIDER-TRAGUA.*» AQUA-LAC. Vol. 2 (1) (2010): 1-17.
- Díaz-Cruz, M. Silvia., Llorca, M., Barcelò, D. «*Organic UV filters and their photodegradates, metabolites and disinfection by-products in the aquatic environment.* » Trends in Analytical Chemistry 27 (10) (2008): 873- 887.
- Directiva Marco del agua (DMA) 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por lo a que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas. Disponible en: eur-lex.europa.eu
- Directiva 2006/118/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de diciembre de 2006 relativa a la protección de aguas subterráneas contra la contaminación y deterioro. Disponible en: eur-lex.europa.eu
- Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013 por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de política de aguas. Disponible: boe.es
- Directiva 2015/495/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de marzo de 2015 por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo. Disponible en: eur-lex.europa.eu
- Dutta, K., Lee, M.Y., et al., 2014. *Removal of pharmaceuticals and organic matter from municipal wastewater using two-stage anaerobic fluidized membrane bioreactor*. Bioresour. Technol. 165, 42-49.
- Ebele, A.J., Abdallah, M.A., Harrad, S. «*Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment.* » Emerging Contaminants (2016): 1-16.
- Engemann CA, Adams L, Knapp CW, Graham DW. *Disappearance of oxytetracycline resistance genes in aquatic systems*. FEMS Microbiol Lett (2006); 263:176-82.
- Esplugas S, Bila DM, Krause GT, Dezotti M. *Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents*. J Hazard Mater 2007; 149:631-42.
- Fedorova, G., Golovko, O., Randak, T., Grabic, R. «*Storage effect on the analysis of pharmaceuticals and personal care products in wastewater.*» Chemosphere (2014) 111: 55-60.
- Fent, K., Weston, A., Caminada, D., *Ecotoxicology of human pharmaceuticals*. Aquatic Toxicology 76 (2006) 122-159.
- Gago-Ferrero, Pablo. *Estudio de la presencia, destino y degradación de filtros solares orgánicos en el ecosistema acuático*. Tesis Doctoral (2013), Barcelona: CSIC-UB.
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. «*Occurrence of multiclass UV filters in treated sewage sludge from wastewater treatment plants.*» Chemosphere 84 (2011a): 1158-1165.

- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. «Fast pressurized liquid extraction with in-cell purification and analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of UV filters and their degradation products in sediments.» *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 400 (2011b): 2195-2204.
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. «An overview of UV-absorbing compounds (organic UV filters) in aquatic biota.» *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 (2012): 2597-2610.
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. «Multi-residue method for trace level determination of UV filters in fish based on pressurized liquid extraction and liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry.» *Journal of Chromatography A* 1286 (2013): 93-101.
- García- Galán, M.J. *Estudio de la presencia y comportamiento de las sulfamidas en el medio ambiente*. Tesis Doctoral (2012), Barcelona: CSIC-UB
- García- Galán, M.J., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., *Determination of 19 sulfonamides in environmental water samples by automated on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-LC-MS/MS)*. *Talanta* 81 (2010): 355-366
- García- Galán, M.J., González, S., López, R., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., *Ecotoxicity evaluation and removal of sulfonamides an their acetylated metabolites during conventional wastewater treatment*. *Science of the Total Environment* 437 (2012): 403-412
- Gao, L.H., Shi, Y.L., et al., 2012. *Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China*. *Chemosphere* 86 (6), 665–671.
- Garoma, T., Umamaheshwar, S. K. and Mumper, A. (2010). *Removal of sulfadiazine, sulfamethizole, sulfamethoxazole, and sulfathiazole from aqueous solution by ozonation*. *Chemosphere* 79 (8): 814-820.
- Ghosh, G.C., Hanamoto, S., Yamashita, N., Huang, X., Tanaka, H. *Antibiotics Removal in Biological Sewage Treatment Plants*. *Pollution* 2016; 2: 131-139
- Gil, M. J., Soto, A.M., Usma, J., Gutiérrez, O. «Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos.» *Producción + Limpia* 7 (2) (2012): 52-73.
- Göbel, A., McArdell, C., Joss, A., Siegrist, H., Giger, W., 2007. *Fate of sulphonamides, macrolides, and trimethoprim in different waste water treatment technologies*. *Sci. Total Environ.* 372, 361–371.
- Gómez, M.J., M.J. Martínez Bueno, S. Lacorte, A.R. Fernández-Alba, A. Agüera, *Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast*, *Chemosphere* 66 (2007) 993–1002.
- Gracia-Lor, E., M. Martínez, J. V. Sancho, G. Peñuela, y F. Hernández. «Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem mass spectrometry.» *Talanta* (2012) 99: 1011-1023.
- Gros, M., Petrović, M. and Barceló, D. (2007). *Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro river basin (Northeast Spain)*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (8): 1553-1562.
- Guerra B, Soto S, Cal S and MC., M. *Antimicrobial resistance and spread of class I integrons among Salmonella serotypes*. *Antimicrob Agents Chemother* 44 (2000 8): 2166- 2169.
- Heberer, T., *Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data*, *Toxicol. Lett.* 131 (2002) 5–17.
- Hernando, M.D., E. Heath, M. Petrovic, D. Barceló, *Trace-level determination of pharmaceuticals residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot- survey study*, *Anal. Bioanal. Chem.* 385 (2006) 985–991.
- Hoeger, B., Kollner, B., Dietrich, D.R., Hitzfeld, B., 2007. *Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (Salmo trutta f. Fario)*. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1405–1416.
- Huber, M. M., Canonica, S., Park, G. Y. and Von Gunten, U. (2003). *Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes*. *Environmental Science and Technology* 37 (5): 1016-1024.
- Inanová, L., Feberová, M., Mackulák T., Gabric, R., Bodik, I. *Estimation of amount of selected pharmaceuticals sorbed onto digested sludge from wastewater treatment plant Bratislava*. *Environmental Research* 155 (2017) 31-35.
- Institut d'Estadística de Catalunya (IDESCAT). Vall – Llobrega (172095). Disponible en: <http://www.idescat.cat/emex/?id=172095&lang=en>
- Kanan, A., Karanfil, T., *Formation of disinfection by-products in indoor swimming pool water: the contribution from filling water natural organic matter and swimmer body fluids*. *Water Research* 45 (2) (2011): 926-932.

Karthikeyan, K. G. and Meyer, M. T. (2006). *Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA*. Science of the Total Environment 361 (1-3): 196-207.

Kasprzyk-Hordern, B., R.M. Dinsdale, A.J. Guwy. «*Multiresidue methods for the analysis of pharmaceuticals, personal care products and illicit drugs in surface water and wastewater by solid-phase extraction and ultra-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry.*» Anal. Bioanal. Chem. A 391 (2008): 1293-1308.

Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale RM, Guwy AJ. *The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters*. Water Res (2009); 43:363–80. .

Ke, R.H., Y.L. Jiang, Q.H. Huang, et al., *Investigative screening of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant in Shanghai*, Asian J. Ecotoxicol. 9 (2014) 1146-1155 (in Chinese).

Khan SJ, Ongerth JE. *Occurrence and removal of pharmaceuticals at an Australian sewage treatment plant*. Water 2005:35–9.

Kim, S.D., Cho, J., et al., *Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters*. Water Res. 41 (2007) 5, 1013–1021.

Kimura, K., Hara, H., Watanabe, Y., *Removal of pharmaceutical compounds by submerged membrane bioreactors (MBRs)*. Desalination (2005) 178: p. 135-140.

Kosjek T, Andersen HR, Kompare B, Ledin A, Heath E. *Fate of carbamazepine during water treatment*. Environ Sci Technol (2009) 43: 6256–61.

Kümmerer, K. *The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use-present knowledge and future challenges*. Journal of Environmental Management 90 (2009): 2354-2366

Kunisue, T., Chen, Z., Buck, G.M., Sundaram, R., Hediger, M.L., Sun, L., Kannan, K. «*Urinary concentrations of benzophenone-type UV filters in U.S. women and their association with endometriosis.*» Environ. Sci. Technol. 46 (2012): 4624-24632.

Kunz, P.Y., Fent, K. «*Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of in vivo and in vitro estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish.*» Aquat. Toxicol. 79 (2006): 305-324.

Kunz, P.Y., Fent, K. «*Estrogenic activity of ternary UV filter mixtures in fish (Pimephales promelas)- an analysis with nonlinear isobolograms.*» Aquat. Toxicol. 234 (2009): 77-88.

Lakind, J.S., Richardson, S.D., Blount, B.C., 2010. *The good, the bad, and the volatile: can we have both healthy pools and healthy people?* Environmental Science & Technology 44 No. 9 (2010): 3205-3210.

Li W., Ma Y., Guo C., Hu W., Liu K., Wang Y. and Zhu T., *Occurrence and behaviour of four of the most used sunscreen UV filters in a wastewater reclamation plant*. Water Research 41 (2007) 3506-3512.

Lin, A.Y.C., Yu, T.H., et al., 2009. *Removal of pharmaceuticals in secondary wastewater treatment processes in Taiwan*. J. Hazard. Mater. 167, 1163–1169.

López, K. *Oportunidades para cosméticos y productos de cuidado personal en la Unión Europea*. Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica (PROCOMER) (2013). Costa Rica.

Magi E., Di Carro M., Scapolla C. y Nguyen K.T.N. *Stir bar sorptive extraction and LC-MS/MS for trace analysis of UV filters in different water matrices*. Journal of Chromatography 75 (2012) 973-982.

Magi E., Scapolla C., Di Carro M., Rivaro P. y Ngoc Nguyen K.T. *Emerging pollutants in aquatic environments: Monitoring of UV filters in urban wastewater treatment plants*. Analytical Methods 5 (2013) 428-433.

Metcalfe, C.D., X.-S. Miao. *Determination of pharmaceuticals in aqueous samples using positive and negative voltage switching microbore liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry*, J. Mass Spectrom. 38 (2003) 27–34.

Meyer, B., Pailler, J. Y., Guignard, C., Hoffmann, L. and Krein, A. (2011). *Concentrations of dissolved herbicides and pharmaceuticals in a small river in Luxembourg*. Environmental Monitoring and Assessment 180 (1-4): 127-146.

Ministerio de Sanidad, Servicios sociales e Igualdad. *Informe anual del Sistema de Salud 2015-2014* Disponible en: <http://www.msssi.gob.es>

Monsalvo, V.M., J.A. McDonald, S.J. Khan, et al., *Removal of trace organics by anaerobic membrane bioreactors*, Water Res. 49 (2014) 103e112.

Nakada, N., Shinohara, H., Murata, A., Kiri, K., Managaki, S., Sato, N. and Takada, H. (2007). *Removal of selected pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine-disrupting chemicals (EDCs) during sand filtration and ozonation at a municipal sewage treatment plant*. Water Research 41 (19): 4373-4382.

- Negreira N., Rodríguez I., Ramil M., Rubí E. and Cela R., «*Solid-phase extraction followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of hydroxylated benzophenone UV absorbers in environmental water samples.*» Anal. Chem. A 654 (2009a) 162-170.
- Negreira N., Rodríguez I., Ramil M., Rubí E. and Cela R., «*Sensitive determination of salicylate and benzophenone type UV filters in water samples using solid-phase micro extraction, derivatization and gas chromatography tandem mass spectrometry.*» Anal. Chem. A 638 (2009b) 36-44.
- Negreira N., Rodríguez I., Rubí E. and Cela R. «*Dispersive liquid-liquid micro extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for the rapid and sensitive determination of UV filters in environmental water samples.*» Analytical and Bioanalytical Chemistry 398(2010): 995-1004.
- Ortiz de García, Sheyla. *Ocurrencia y efectos de compuestos activos farmacéuticos y de higiene personal: nuevas contribuciones en modelos predictivos, evaluación de riesgos potenciales y clasificaciones de peligro.* Tesis Doctoral (2015), Universidad de Valladolid.
- Ortiz de García, S., Pinto, G., García, Pedro., Irusta, Rubén. *Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain.* Science of the Total Environment 444 (2013): 451-465
- Papageorgiou, M., Kosma, C., Lambropoulou, D., *Seasonal occurrence, removal, mass loading and environmental risk assessment of 55 pharmaceuticals and personal care products in a municipal wastewater treatment plant in Central Greece.* Science of the Total Environment 543 (2016): 547-569
- Peake, B.M., R. Braund, Alfred Tong, Louis Tremblay. *The life-cycle of pharmaceuticals in the environment: chapter 6: degradation of pharmaceuticals.* Woodhead Publishing (2016): 153-201
- Pedrouzo M., Borrull F., Marcé R.M. and Pocurull E., «*Ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for determining the presence of 11 personal care products in surface and wastewaters.*» Journal of Chromatography A 1216 (2009) 6994-7000.
- Pedrouzo M., F. Borrull, R.M. Marcé, E. Pocurull. «*Stir-bar-sorptive extraction and ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous analysis of UV filters and antimicrobial agents in water samples.*» Anal. and Bioanal. Chem. 397 (2010): 2833-2839.
- Peng, X., Zhang, K., Tang, C., Huang, Q., Yu, Y. and Cui, J. (2011). *Distribution pattern, behavior, and fate of antibacterials in urban aquatic environments in South China.* Journal of Environmental Monitoring 13 (2): 446-454.
- Pestotnik, K., Kosjek, T., Heath, E. «*Transformation products of personal – care products: UV filters case studies.*» Environmental Chemistry (2014).
- Pintado-Herrera M.G., González-Mazo E. and Lara-Martín P.A., *Environmentally friendly analysis of emerging contaminants by pressurized hot water extraction-stir bar sorptive extraction-derivatization and gas chromatography-mass spectrometry.* Anal. and Bioanal. Chem. 405 (2013) 401-411.
- Radjenovic, J., Petrovic, M. and Barceló, D. (2007). *Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor.* Analytical and Bioanalytical Chemistry 387 (4): 1365-1377.
- Radjenovic, J., Petrovic, M. and Barceló, D. (2009). *Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (CAS) and advanced membrane bioreactor (MBR) treatment.* Water Research 43 (3): 831-841.
- Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas. BOE núm. 294. Ministerio de la Presidencia.
- Rehman, M.S., Rashid, N., Ashfaq, M., Saif, A., Ahmad, N., Han, J.I., *Global risk of pharmaceutical contamination from highly populated developing countries.* Chemosphere 138 (2015): 1045-1055.
- Richardson, S.D., DeMarini, D.M., Kogevinas, M., Fernandez, P., Marco, E., Lourencetti, C., Ballesté, C., Heederik, D., Meliefste, K., McKague, A.B., Marcos, R., Font-Ribera, L., Grimalt, J.O., Villanueva, C.M. *What's in the pool? A comprehensive identification of disinfection by-products and assessment of mutagenicity of chlorinated and brominated swimming pool water.* Environmental Health Perspectives 118 No.11 (2010): 1523-1530.
- Roberts, P.H., K.V. Thomas, *The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment,* Sci. Total Environ. 356 (2006) 143-153.
- Rodil R. and Moeder M. «*Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry.*» Journal of Chromatography A 1179 (2008) 81-88.
- Rodil, R., Quintana, J.B., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D. «*Multiclass Determination of Sunscreen Chemicals in water samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry.*» Anal. Chem. 80 (2008) 1307-1315.
- Rodil R., Schrader S. and Moeder M. «*Non-porous membrane-assisted liquid-liquid extraction of UV filter compounds from water samples.*» Journal of Chromatography A 1216 (2009): 4887-4894.

- Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera, A., Fernández, A. *Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation*. *Water Research* 44 (2010): 578-588
- Salgot, M. *Hygienic aspects of DESAR: water circuits. Chapter 24 in Decentralised Sanitation and Reuse: concepts, systems and implementation*. P. Lens, G. Zeeman and G. Lettinga (eds.). IWA Publishing, London (2001).
- Samarasa, V.G., A.S. Stasinakisa, D. Mamais, et al., *Fate of selected pharmaceuticals and synthetic endocrine disrupting compounds during wastewater treatment and sludge anaerobic digestion*, *J. Hazard. Mater.* 244e245 (2013) 259-267.
- Santos, A.J.M., M.S. Miranda, J.C.G. Esteves da Silva. *The degradation products of UV filters in aqueous and chlorinated aqueous solutions*. *Water research* 46 (2012): 3167-3176.
- Santos, L., A.N. Araújo, A. Fachini, A. Peña, C. Delerue-Matos, M.C. Montenegro. *Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment*. 2010.
- Santos JL, Aparicio I, Callejon M, Alonso E. *Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewater from four wastewater treatment plants in Seville (Spain)*. *J Hazard Mater* 2009; 164:1509–16.
- Schlumpf, M., Schmid, P., Durrer, S., Conscience, M., Maerkel, K., Henseler, M., Gruetter, M., Herzog, I., Reolon, S., Ceccatelli, R., Faass, O., Stutz, E., Jarry, H., Wuttke, W., Lichtensteiger, W. «*Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters- an update.*» *Toxicology* 205 (2004): 113-122.
- Schnell, S., Bols, N., Barata, C., Porte, C., *Single and combined toxicity of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on the rainbow trout liver cell line RTL-W1*. *Aquatic Toxicology* 93 (2009): p. 244-252.
- Schwaiger, J., Ferling, H., Mallow, U., Wintermayr, H., Negele, R.D., 2004. *Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout*. *Aquat. Toxicol* 68, 141–150.
- Senta, I., Matosic, M., K., J. H., Terzic, S., Curko, J., Mijatovic, I. and Ahel, M. (2011). *Removal of antimicrobials using advanced wastewater treatment*. *Journal of Hazardous Materials* 192 (1): 319-328.
- Serra Roig, M.P. *Análisis automatizado de residuos de filtros solares y parabenos en aguas salinas por HPLC-MS/MS*. Tesis de Máster. Universidad de Barcelona, Julio 2016.
- Subedi, B., Balakrishna, K., Ian, D. *Mass loading and removal of pharmaceuticals and personal care products including psychoactives, antihypertensives, and antibiotics in two sewage treatment plants in southern India*. *Chemosphere* 167 (2017): 429-437.
- Sui, Q., Cao, X., Lu, S., Zhao, W., et al., *Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater*. *Emerging Contaminants* 1 (2015) 14-24. .
- Tao, Chi-Wei, Hsu, B.M., Ji, W., Hsu, T.K., Kao, P., Hsu, C., Shen., S., Shen, T., Wan, T., Huang, Y., *Evaluation of five antibiotic resistance genes in wastewater treatment systems of swine farms by real-time PCR*. *Science of the Total Environment* 496 (2014) 116-121.
- Tauxe-Wuersch, A., L.F. De Alencastro, D. Grandjean, J. Tarradellas, *Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment*, *Water Res.* 39 (2005) 1761–1772.
- Ternes TA. *Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers*. *Water Res* 1998; 32:3245–60.
- Trenholm R.A., Vanderford B.J., Drewes J.E. and Snyder S.A. *Determination of household chemicals using gas chromatography and liquid chromatography with tandem mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A* 1190 (2008) 253-262.
- Triebkorn, R., Casper, H., Heyd, A., Eikemper, R., Kohler, H.R., Schwaiger, J., 2004. *Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part II: cytological effects in liver, kidney, gills and intestine of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss)*. *Aquat. Toxicol* 68, 151–166.
- Tsuchihashi, R., Asano, T., y Sakaji, R.H. *Health aspects of groundwater recharge with reclaimed water. In Management of Aquifer Recharge for Sustainability*, P.J. Dillion (ed.). A.A. Balkema Publishers Lisse, the Netherlands (2002), pp. 11-20.
- Verlicchi, P., Al Aukidy, M., Galletti, A., et al., *Hospital effluent: Investigation of the concentrations and distribution of pharmaceuticals and environmental risk assessment*. *Sci. Total Environ.* 430 (2012), 109–118.
- Wang, J., Wang, S., *Removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) from wastewater: A review*. *Journal of Environmental Management* 182 (2016) 620-640.
- Wert, E.C., Rosario-Ortiz, F.L., et al., 2009. *Effect of ozone exposure on the oxidation of trace organic contaminants in wastewater*. *Water Res.* 43 (4), 1005–1014.

- Watkinson, A.J., Murby, E.J., et al., 2007. *Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: implications for environmental discharge and wastewater recycling*. Water Res. 41 (18), 4164–4176.
- Wick A., Fink G. and Ternes T.A. *Comparison of electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization for multi-residue analysis of biocides, UV-filters and benzotriazoles in aqueous matrices and activated sludge by liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A 1217 (2010): 2088-2103.
- Wijekoon, K.C., J.A. McDonald, S.J. Khan, et al., *Development of a predictive framework to assess the removal of trace organic chemicals by anaerobic membrane bioreactor*, Bioresour. Technol. 189 (2015) 391-398.
- Xu, W., Zhang, G., Li, X., Zou, S., Li, P., Hu, Z. and Li, J. (2007). *Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), South China*. Water Research 41 (19): 4526-4534.
- Yang, S., Cha, J. and Carlson, K. *Simultaneous extraction and analysis of 11 tetracycline and sulfonamide antibiotics in influent and effluent domestic wastewater by solid- phase extraction and liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry*. Journal of Chromatography A 1097 (2005): 40-53.
- Zhang, Y., Geiben, S., Gal, C., *Carbamazepine and diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies*. Chemosphere 73 (2008): 1151-1161
- Zhang XX, Zhang T, Zhang M, Fang HHP, Cheng SP. *Characterization and quantification of class 1 integrons and associated gene cassettes in sewage treatment plants*. Appl Microbiol Biotechnol (2009); 82:1169–77.
- Zorita, S., Mårtensson, L., Mathiasson, L., 2009. *Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden*. Sci. Total Environ. 407, 2760–2770.
- Zurita, J.L., G. Repetto, A. Jos, M. Salguero, M. López-Artigues, A.M. Cameán, *Toxicological effects of the lipid regulator gemfibrozil in four aquatic systems*. Aquat. Toxicol. 81 (2007) 106–115.

ANEXO I



a)



b)



c)

Figura I.1. Barreras porosas reactivas avanzadas. a) 6 canales (barreras) construidas de hormigón para el estudio ACWAPUR, b) Canales rellenos de arena procedente de la zona de estudio, c) parte de recarga de acuíferos artificiales.

ANEXO II



Figura II.1. Pretratamiento del agua residual



Figura II.2. Tratamiento primario

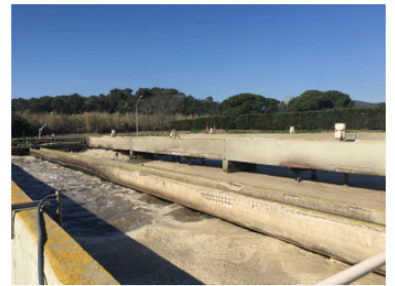


Figura II.3. Tratamiento biológico



Figura II.1. Decantación secundaria



Figura II.5. Tratamiento terciario (FA)



Figura II.6. Línea de fangos



Figura II.7. Desodorizante del gas de línea de fangos

ANEXO III

 <p>MINISTERIO DE ECONOMÍA Y COMPETITIVIDAD</p>	 <p>CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS</p> <p>INSTITUTO DE DIAGNÓSTICO AMBIENTAL Y ESTUDIOS DEL AGUA (IDAEA)</p>
<p>MUESTRA PROYECTO ACWAPUR PLANTA EDAR PALAMÓS</p>	
<p>FECHA: _____</p>	
<p>HORA: _____</p>	
<p>TOMADA POR: _____</p>	
<p>OBSERVACIONES:</p>	
<p>Destinatario: Silvia Díaz</p>	 <p>JORDI GIRONA, 18 08034 BARCELONA, ESPAÑA TEL: (34) 93 400 61 00 FAX: (34) 93 204 59 04</p>

Figura III.1. Etiqueta de identificación de muestras para el proyecto ACWAPUR.

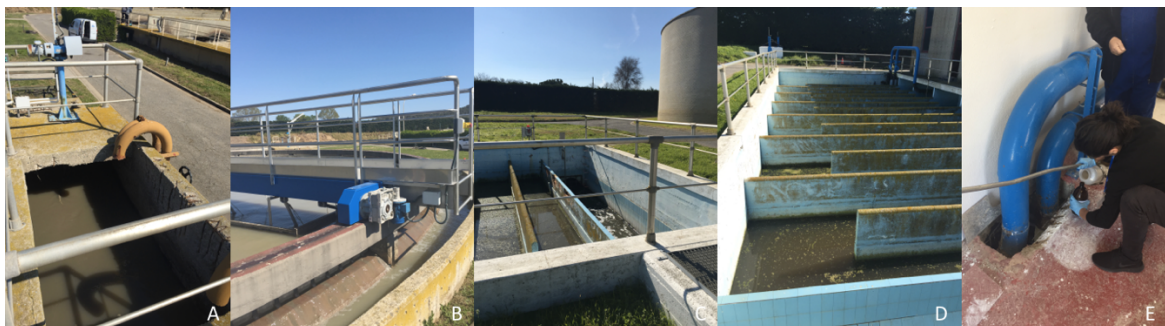
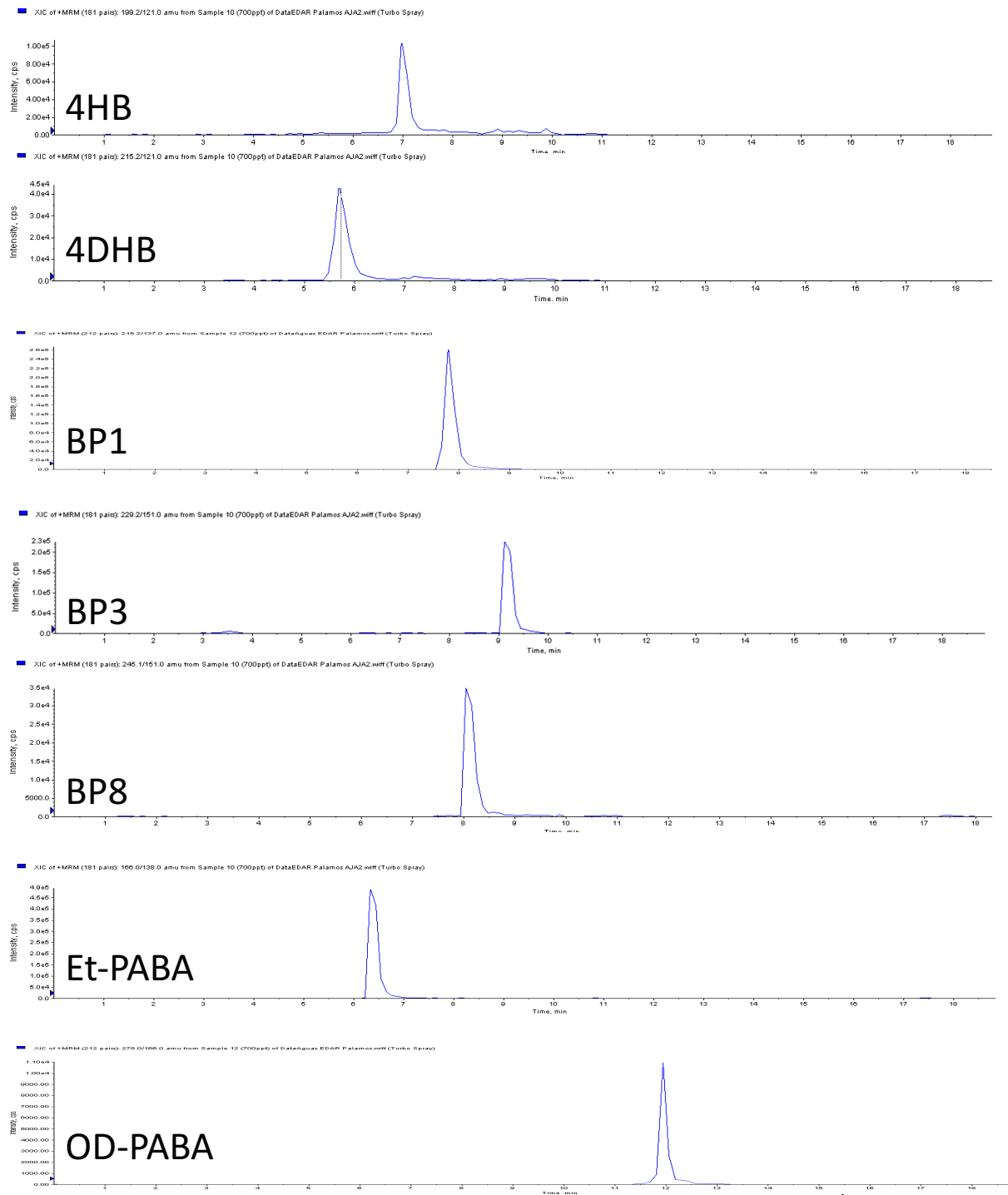


Figura III.2. Áreas de muestreo dentro de la EDAR Palamós. A) Influyente después del pretratamiento B) Efluente del tratamiento primario C) Efluente secundario procedente del tratamiento de fangos activados D) Influyente del tratamiento terciario por FA E) Efluente procedente del FA.

ANEXO IV

Figura V.1 MS/MS cromatograma de una mezcla estándar de PPCPs a 700 ng L^{-1}

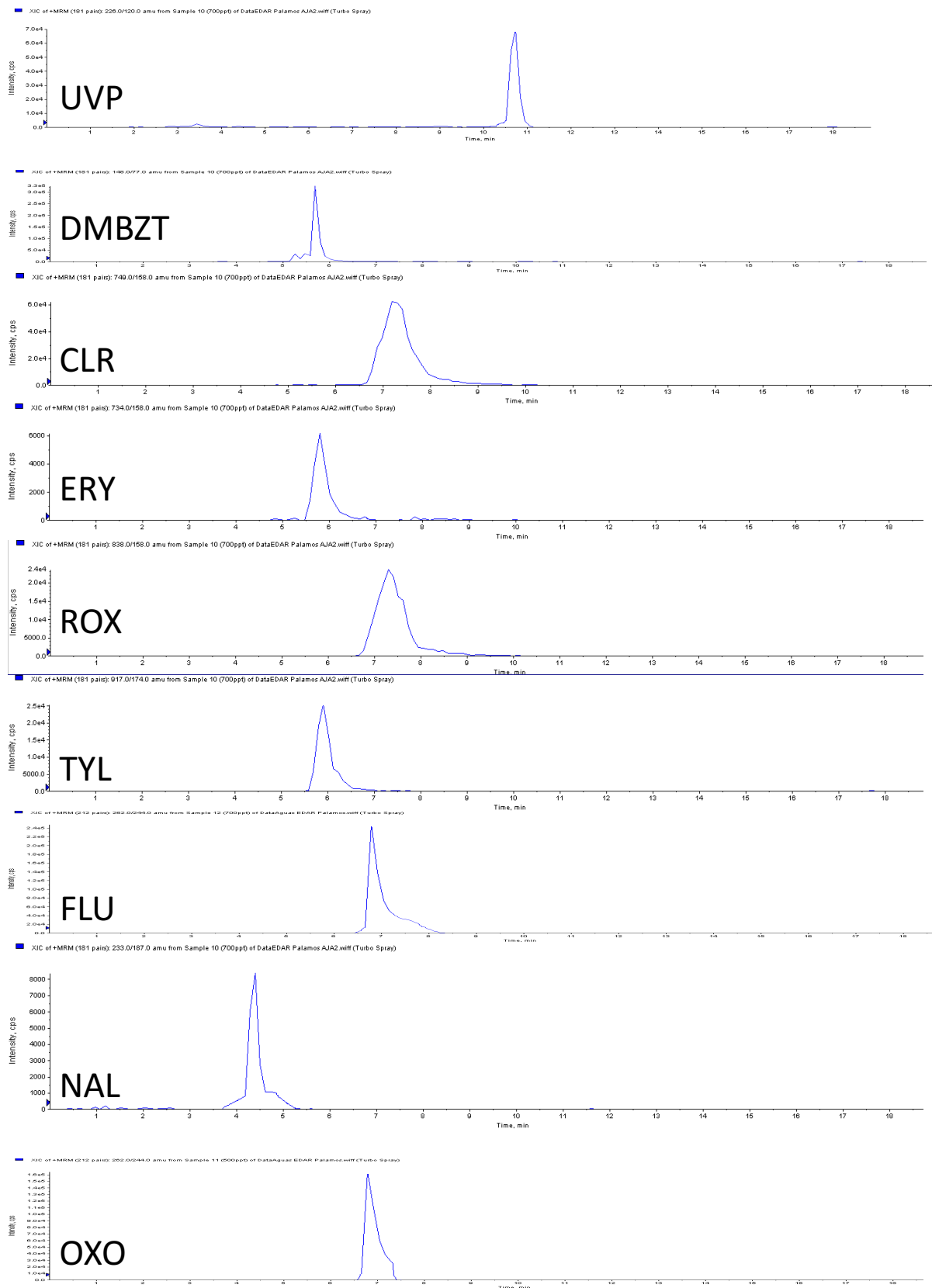


Figura V.1 Continuación

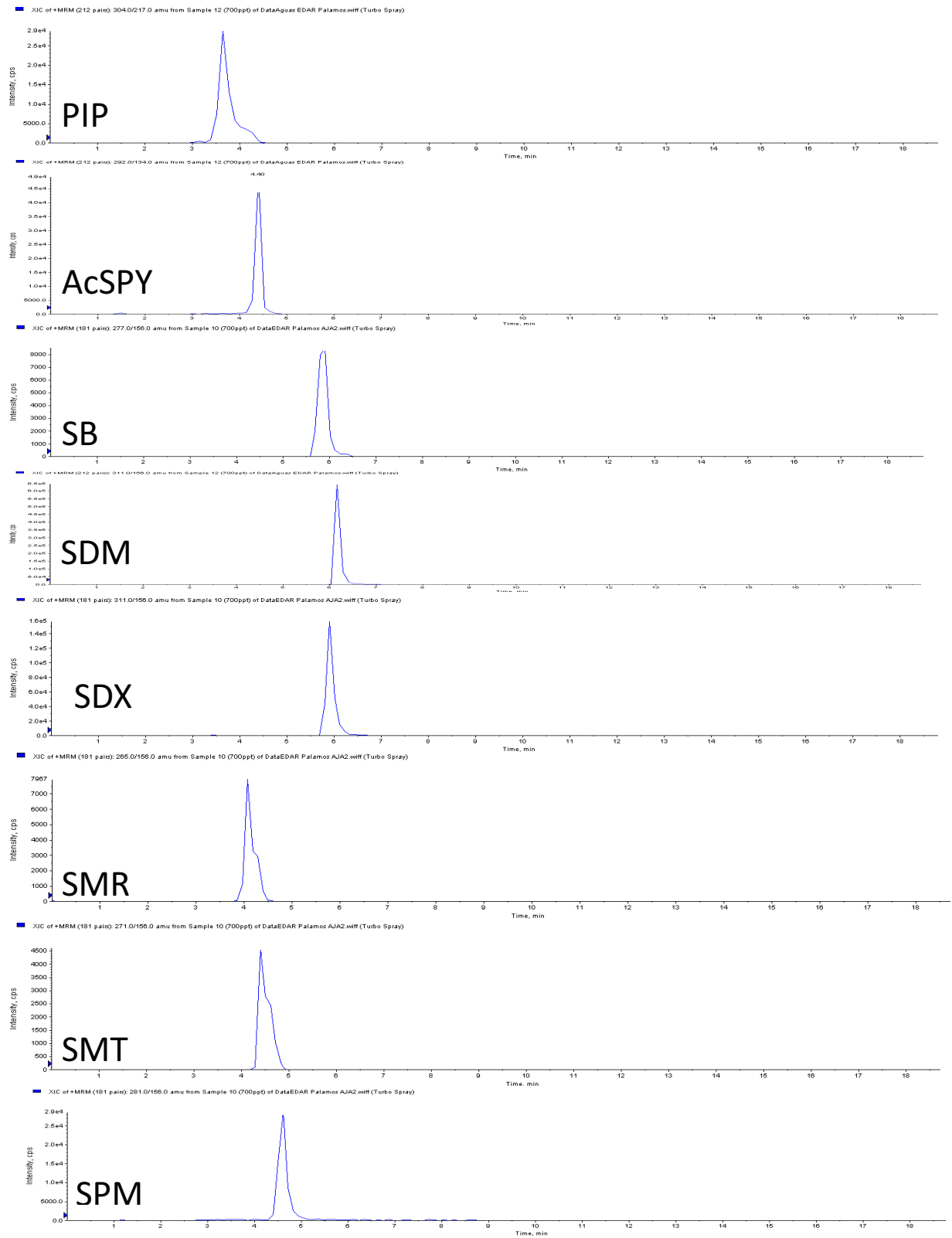


Figura V.1 Continuación

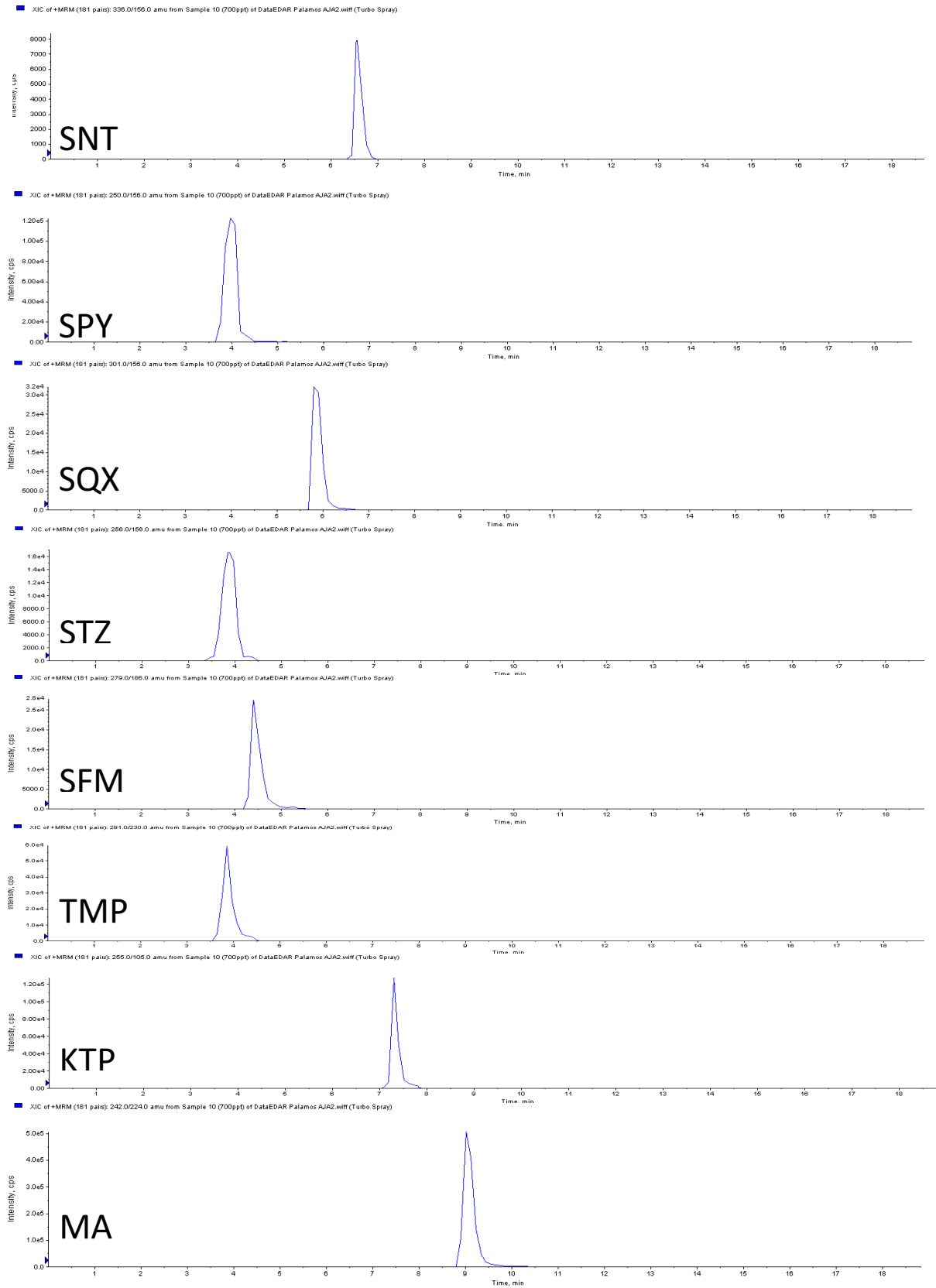


Figura V.1 Continuación