



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Tecnologías de la
Computación e Ingeniería Ambiental

Analysis of pharmaceutical compounds in WWTP of the
Region of Murcia and its ecotoxicological effects in the
Guadalentín River

Autor:

D. José Manuel Guillén Navarro

Directores:

Dra. Dña. Carmen Fernández López

Dr. D. John Robert Parsons

Murcia, septiembre de 2018



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Tecnologías de la
Computación e Ingeniería Ambiental

Analysis of pharmaceutical compounds in WWTP of the
Region of Murcia and its ecotoxicological effects in the
Guadalentín River

Autor:

D. José Manuel Guillén Navarro

Directores:

Dra. Dña. Carmen Fernández López

Dr. D. John Robert Parsons

Murcia, septiembre de 2018



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

AUTHORIZATION OF THE DIRECTOR OF THE THESIS
FOR SUBMISSION

Prof. Dr. Carmen Fernández López and Prof. Dr. John Robert Parsons as directors of the doctoral thesis "Analysis of pharmaceutical compounds in WWTP of the Region of Murcia and its ecotoxicological effects in the Guadalentín River" by Mr. José Manuel Guillén Navarro in the department of polytechnical sciences, **authorizes for submission** since it has the conditions necessary for his defence.

Sign, to comply with the Royal Decrees 99/2001, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, in Murcia, 28th September 2018

Prof. Dr. Carmen Fernández López

Prof. Dr. John Robert Parsons

DEDICATORIA

A Miguel Ángel, mi padre

... por los años que me educaste desde aquí,
y por los años que me cuidaste desde arriba.

In memoriam

A Blanca, mi madre

... por su amor demostrado durante toda su
vida y por su dedicación con toda la familia.

Gracias

Dla Anny, mojej dziewczyny

...i przyszłej żony. Dziękuję za te lata
z Tobą, w trakcie których stałaś się
fundamentem mojego życia. Jesteś cudowna
i niezwykle piękna. Bardzo cię kocham.

AGRADECIMIENTOS

Durante estos años en los que he ido desarrollando los estudios y los análisis realizados, han habido muchas personas que han pasado y colaborado, de manera directa o indirecta, a la conclusión de la presente tesis.

En primer lugar quisiera agradecer a mi familia, y en especial a mis hermanos, todo su apoyo y por haberme hecho sentir el verdadero valor de la unidad familiar. A todos mis amigos que durante este tiempo de elaboración de la tesis siempre han tenido palabras de aliento para poder finalizarla. A mis hermanos de comunidad, por sus oraciones para que este trabajo pudiese llevarse a cabo. Gracias a Dios, por ser la luz y la senda en mi vida, y por mostrarme cuál es la Verdad.

También quiero mencionar y agradecer a Jennifer, Miguel Ángel, Natalia, José Javier y, en especial, a Patricia, mi gran compañera de estudios y trabajo. Todos juntos pusimos las bases de este proyecto que, finalmente, he tenido yo el privilegio de concluir con esta tesis.

Thanks to the University of Amsterdam for its great reception during my days there, where I could develop my knowledge about this area. I would also like to thank the workers there and especially Rick, for their teaching hours and his patience with me on the HPLC. I do not want to forget about the friends that I left and that they made my stay more comfortable there, en especial al spanish team que conformamos Estela, Julio, Saioa y Julián.

Agradecer a toda la gente del laboratorio de la UCAM. Rebeca, Estefanía, Manuel,

Teresa, María, Julia, Sara y un largo etcétera de personas que hemos conformado y trabajado en el laboratorio de investigación, con los que he compartido confidencias y que han hecho que el trabajo de laboratorio fuera más ameno. De igual forma agradecer a los jefes del laboratorio, a José Manuel por tu ayuda y colaboración, y por supuesto gracias especiales a Gabi, has estado desde el principio y sin ti en el laboratorio esto hubiera imposible.

También quisiera agradecer a las empresas que han colaborado en que los muestreos y análisis fueran posible. En primer lugar, a la Entidad de Saneamiento de la Región de Murcia por apostar por la investigación de estos nuevos compuestos emergentes con nosotros, en especial a D. Agustín Lahora, por su disponibilidad y sus facilidades para poder realizar los muestreos. Agradecimiento al SAIT (Cartagena) con Alberto y María José y al CEBAS-CSIC con José Enrique por el uso de sus instalaciones y por su aporte de sabiduría para poder desmembrar ciertos problemas que se fueron presentando.

Agradecer a la UCAM por la apuesta por mí para la realización de esta tesis, a mi director de departamento de Ingeniería Civil, D. Pedro de los Santos por su confianza mostrada durante estos años, y a los compañeros que componemos el departamento por sus palabras de apoyo y consejos. Agradecimiento especial a Isa, por estos años de trabajo y por tu ayuda para realizar todo lo conseguido.

And finally, special thanks to my directors, to John for helping me in this thesis with all your knowledge during my stay in Amsterdam. Y por supuesto, a Carmen por tu dirección, por todos los contratos obtenidos para esta tesis, por tu ayuda y por tu comprensión durante este tiempo... simplemente, gracias por todo.

“Los caminos fueron hechos para hacer viajes,
no para quedarse en ellos.”

Confucio

RESUMEN

Durante muchos años, el flujo del agua se ha ido utilizando como punto de vertidos de las diferentes industrias y de los propios núcleos de población. Debido a estos hechos, se han desarrollado una serie de enfermedades por la baja calidad del agua creada a consecuencia de estos vertidos. La conciencia social sobre la protección del agua ha aumentado como consecuencia de esta baja calidad y unida a su escasez en las condiciones necesarias para las necesidades humanas

Del mismo modo, la sociedad ha evolucionado, desarrollando nuevos compuestos que permiten actualmente una mayor esperanza de vida. Enfermedades que hace unos años podrían no tener remedio, hoy en día sí que lo tienen. La industria farmacológica ha avanzado hacia soluciones que hacen que la calidad de vida que hoy disfrutamos sea mayor.

El aumento en la producción de compuestos farmacéuticos debido a la mayor y mejor tecnología ha conducido a que éstos hayan llegado a los diversos hogares de forma más sencilla. Una vez consumidos, los humanos y los animales excretamos la totalidad de los compuestos que ingerimos bien en un porcentaje del compuesto consumido, bien en forma de metabolitos. Estos desechos acaban llegando de diversas maneras a las estaciones de depuración y, a posteriori, a los cursos de agua con la consecuente problemática que esto supone, sobretodo en lugares donde el agua es un bien muy valioso.

En dicho contexto, tenemos regiones como la Región de Murcia la cual se considera semiárida, que requieren de agua reutilizada como recurso debido a sus altas sequías. La intrusión de los nuevos compuestos farmacéuticos en el ciclo del agua ha supuesto un nuevo problema a la hora de depurar las aguas ya que el actual parque de sistemas de depuración de aguas residuales no es capaz de realizar una eliminación completa de los mismos.

Esta tesis se ha enfocado en las estaciones depuradoras de la Región de

Murcia las cuales tienen la necesidad de intentar obtener un agua más purificada que en otros lugares, ya que su reutilización está garantizada debido a la alta demanda que existe en esta región por parte del sector hortofrutícola.

El parque de depuradoras de la Región de Murcia consta de múltiples tipos de tratamiento que han sido diseñadas principalmente para la clase de aguas que van a recibir, así como para el caudal que van a recibir según la cantidad de población. Uno de los propósitos de la presente tesis es determinar qué tipo de estación depuradora consigue un mejor ratio de eliminación de los compuestos farmacéuticos.

De igual modo, y sabiendo que las depuradoras trabajan con determinados tiempos de retención hidráulicos, la tesis se propone seguir el comportamiento de los compuestos farmacéuticos seleccionados (carbamazepina, ketoprofeno, naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno), incluyendo su sorción al lodo y su ratio de degradación, durante su paso por las estaciones depuradoras con mayor implementación dentro del parque de depuradoras regional.

Por tanto, y dado que nos encontramos en una región semiárida, también se ha procedido a la monitorización del río Guadalentín para observar los efectos ecotoxicológicos de los compuestos en el medio ambiente en un río considerado temporal, debido a que su caudal depende de la estación del año. Este río recibe diversas descargas entre las cuales se encuentran las descargas puntuales de diversas estaciones depuradoras que trabajan cerca de su cauce.

Los resultados obtenidos muestran la presencia de dichos compuestos farmacéuticos en los efluentes de las plantas depuradoras, demostrando que estos tratamientos no consiguen su completa eliminación. Las plantas con mayor tiempo de retención son capaces de degradar mejor los compuestos naproxeno, ketoprofeno e ibuprofeno, mientras que el diclofenaco no seguía un patrón de degradación y la carbamazepina mostró un aumento de su composición a su paso por las depuradoras.

La investigación de éstos compuestos a lo largo del río Guadalentín demostró su existencia, y aunque actualmente con las concentraciones detectadas no existe un riesgo ecotoxicológico evidente, sí que habrá que vigilar la presencia de dichos compuestos en los ríos debido al incremento de su uso.

Palabras clave: compuestos farmacéuticos, estación de depuración de aguas residuales, riesgo ecotoxicológico, sorción del fango.

ABSTRACT

For many years, the water flow has been used as a dumping point for different industries and for cities also. Due to the high number of diseases that were contracted due to low quality water joined to its high lack due to the fact that actually is required with more quality in the new industrial processes, a social conscience has been acquired regarding the importance of a good recovery of water for its reuse.

In the same way, society has evolved, developing new compounds that currently allow a longer life expectancy. Illnesses that had no remedy in the past, nowadays they do. The pharmacological industry had investigated a lot about disease and they achieved good solutions which allow our society to live longer and for that, this industry has also advanced towards solutions that make that we can enjoy more of our quality of life.

The increase of production of pharmaceutical compounds is being due to a great and better technology which lead us to the chance to obtain these compounds cheaper. After their consumption by humans and animals, they are totally excreted by different ways. The percentage could vary depending of compound due to some are excreted as that we ingest percentage of parent compound and another as metabolite of it. These compound and their metabolites arrive to the wastewater treatment plant and after that to the water cycle. And it is a big problem for those countries where they have water as a good really valuable because of its scarcity.

In that context, we have regions like Region of Murcia which are considered semi-arid that require a water renovation as a resource because of their high droughts. The intrusion of new pharmaceutical compounds in the water cycle has been a new problem to purify the water because of the current waste treatment plants are not able to eliminate it completely.

This thesis has focused on the wastewater treatment plants of the Region of Murcia, which have the need to obtain a purer water than in other places because its reuse is guaranteed due to the high demand that exists in this region by the fruit and vegetable sector.

The depuration park of the Region of Murcia has a several types of treatment that normally was built depending of the kind of water that they receive and also of the flow which they receive according to their population. One of the purposes of the present thesis is to determine what type of treatment plant achieves a better elimination ratio of the pharmaceutical compounds.

Similarly, and knowing that the treatment plants work with a hydraulic retention time, the thesis analyses the behaviour of the selected pharmaceutical compounds (carbamazepine, ketoprofen, naproxen, diclofenac and ibuprofen), including their sorption to the mud, when they cross through the depuration plants more important within the regional park.

Similarly, and because we are in a semi-arid region, monitoring of the Guadalentín River has been observed in order to know the ecotoxicological effects of the compounds in the environment on a temporal river because its flow depends on the season of the year. This river receives some discharges in which we can find punctual discharges from the wastewater treatment plants which work close to this river.

The results show the presence of these pharmaceutical compounds in the treatment plants which are not able to remove these. Plants with higher hydraulic retention time can be better removing the compounds naproxen, ketoprofen and ibuprofen when diclofenac does not have a degradation pattern and carbamazepine show an increase in its composition when it crossed through the treatment plants.

The investigation of pharmaceutical compound along the Guadalentín River proved its existence and although with the concentrations detected currently there is no exists ecotoxicological risk, it has been necessary to monitor the presence of compounds in rivers due to their increased use.

Key words: pharmaceutical compounds, sewage treatment plant, ecotoxicological risk, sludge sorption.

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ÍNDICE GENERAL

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ANEXOS

I – INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	35
1.1. INTRODUCCIÓN.....	37
1.2. MOTIVACIÓN Y OBJETIVO DE LA TESIS	39
II – ESTADO DEL ARTE	43
2.1. CONTAMINANTES EMERGENTES	45
2.1.1. Fármacos presentes en el medio ambiente.....	51
2.1.2. Proceso de metabolización	53
2.1.3. Degradación de los compuestos emergentes.....	54
2.2. LEGISLACIÓN AMBIENTAL EN AGUAS	59
2.2.1. Normativas españolas.....	62
2.2.2. Normativa europea	64
2.3. ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES	72
2.3.1. Pretratamiento.....	75
2.3.2. Tratamiento primario.....	76
2.3.3. Tratamiento secundario.....	77
2.3.4. Tratamiento terciario	79
2.4. SISTEMA DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA	82
2.5. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN	85
III – METODOLOGÍA	93
3.1. ÁREA DE ESTUDIO	95

3.2. CRITERIO DE SELECCIÓN DE FÁRMACOS.....	95
3.3. METODOLOGÍA DEL MUESTREO	97
3.4. MATERIALES EMPLEADOS DURANTE LA EXTRACCIÓN	98
3.5. LÍMITES DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN DE LOS CROMATÓGRAFOS LÍQUIDOS DE ALTA PRESIÓN EMPLEADOS.....	104
3.6. CONTROL DE CALIDAD	106
IV – COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA....	
4.1. INTRODUCCIÓN.....	111
4.2. MUESTREO Y ANÁLISIS DE 12 EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA	114
4.2.1. Desglose de las EDAR seleccionadas.....	114
4.2.2. Muestreo y extracción de las 12 EDAR muestreadas	117
4.2.3. Análisis de las muestras extraídas.....	118
4.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS 12 EDAR.....	119
4.3.1. Aparición de los compuestos farmacéuticos en las aguas residuales	119
4.3.2. Eficiencia de eliminación de los compuestos.....	121
4.3.3. Comparación de las eficiencias de eliminación de los sistemas de tratamiento de las EDAR	124
4.4. BALANCE DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS.....	126
V – EVALUACIÓN MEDIOAMBIENTAL Y DESTINO DE 5 COMPUESTOS FARMACÉUTICOS EN EL RÍO GUADALENTÍN	
5.1. INTRODUCCIÓN.....	131
5.2. MUESTREO Y ANÁLISIS DEL RÍO GUADALENTÍN.....	134
5.2.1. Descripción del área de estudio y selección de los puntos de muestreo	134
5.2.2. Recogida de las muestras y pretratamiento de las muestras	137
5.2.3. Métodos analíticos realizados.....	138
5.2.4. Análisis de cromatografía líquida	140
5.2.5. Cálculo de la evaluación del riesgo ambiental	140
5.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS MUESTREOS REALIZADOS AL RÍO GUADALENTÍN Y LAS EDAR.....	142
5.3.1. Niveles de concentración fármacos en los efluentes de las EDAR.....	142

5.3.2. Niveles de concentración de fármacos de las aguas superficiales y los sedimentos del río Guadalentín.....	143
5.3.3. Evaluación del riesgo ambiental por la presencia de productos farmacéuticos en aguas y sedimentos.....	145
5.4. BALANCE DE LOS RESULTADOS EXTRAÍDOS.....	147
VI – COMPARACIÓN ENTRE UN REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS ESTACIONES TEMPORALES DISTINTAS.....	
6.1. INTRODUCCIÓN.....	151
6.2. DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LAS 2 EDAR MUESTREADAS	152
6.2.1. Plantas de aguas residuales muestreadas	152
6.2.2. Muestreo y análisis de las EDAR de Alcantarilla y Mula	153
6.2.3. Análisis estadístico para las correlaciones entre los compuestos farmacéuticos	155
6.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EDAR DE ALCANTARILLA Y MULA.....	155
6.3.1. Análisis estacional de las depuradoras	155
6.3.2. Análisis según la tipología de las depuradoras	160
6.4. BALANCE DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS.....	163
VII - ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE 5 COMPUESTOS FARMACÉUTICOS A TRAVÉS DE 3 EDAR CON REACTOR BIOLÓGICO DE FLUJO PISTÓN.....	
7.1. INTRODUCCIÓN.....	167
7.2. ANALISIS DE LAS 3 ESTACIONES DEPURADORAS Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	168
7.2.1. Estaciones de depuración de aguas residuales muestreadas.....	168
7.2.2. Localización y fecha del muestreo	169
7.2.3. Extracción de fármacos.....	172
7.2.4. Determinación de los fármacos	172
7.2.5. Control de calidad	172
7.3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS SEGÚN LOS FÁRMACOS INVESTIGADOS	173
7.3.1. Ibuprofeno	173

7.3.2. Ketoprofeno	175
7.3.3. Naproxeno.....	177
7.3.4. Diclofenaco.....	179
7.3.5. Carbamazepina.....	182
7.4. BALANCE SOBRE LOS RESULTADOS CONSEGUIDOS.....	183
VIII – DEGRADACIÓN BIOLÓGICA, SORCIÓN Y DETERMINACIÓN DEL BALANCE DE MASAS EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CONVENCIONAL DE FANGOS ACTIVOS	
8.1. INTRODUCCIÓN.....	189
8.2. MUESTREO Y ANÁLISIS EN LA EDAR DE ROLDÁN.....	190
8.2.1. Lugar de muestreo y recolección	190
8.2.2. Preparación y análisis de las muestras recogidas	192
8.2.3. Modelos cinéticos aplicados	193
8.2.4. Balance de masas y porcentajes de degradación	194
8.3. DISCUSIÓN Y CÁLCULOS SOBRE LOS RESULTADOS EN LA EDAR DE ROLDÁN	196
8.3.1. Fármacos en líquidos y en lodos	196
8.3.2. Cálculo de la degradación biológica y de la sorción al lodo de los fármacos calculados.....	208
8.3.3. Balance de masas y porcentaje de eliminación de los compuestos farmacéuticos en las EDAR.....	210
8.4. BALANCE DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EDAR DE ROLDÁN	214
IX – CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	
9.1. RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	217
9.2. CONTRIBUCIÓN DE ESTA TESIS	219
9.3. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	221
X – BIBLIOGRAFIA	
XI – ANEXOS.....	
	261

SIGLAS Y ABREVIATURAS

AINE	Antiinflamatorio no esteroideo
C	Coagulación
CAS	Sistema convencional de lodo activo
CAS-DS	Sistema convencional de lodo activo de doble etapa
CAS-EA	Sistema convencional de lodo activo de aireación prolongada
CBZ	Carbamazepina
CHS	Confederación Hidrográfica del Segura
DAD	Espectrómetro de matriz de diodos
DBO ₅	Demanda biológica de oxígeno
DCF	Diclofenaco
DMA	Directiva Marco del Agua
DQO	Demanda química de oxígeno
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
ERA	Evaluación de riesgo ambiental
ESAMUR	Entidad de saneamiento de la Región de Murcia
F	Floculación
GC	Cromatógrafo de gases
HPLC	Cromatógrafo líquido de alta presión
IBU	Ibuprofeno
K _{biol}	Constante de degradación biológica
K _d	Constante de sorción
KTP	Ketoprofeno
L	Laminación
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
MBR	Reactor biológico de membranas

MEC	Concentración Ambiental de medida
MLSS	Sólidos en suspensión del licor mezcla
MS	Espectrómetro de masas
MTBE	Metil tert-butil éter
NOEC	No concentración de efecto observado
NPX	Naproxeno
OPR	Estándar de precisión y recuperación
PNEC	Concentración prevista de no efecto
PPCP	Productos de uso personal
QTOF	Espectrómetro de tiempo de vuelo
SF	Filtros de arenas
SPE	Extracción en fase sólida
TRH	Tiempo de retención hidráulico
UE	Unión Europea
UPLC	Cromatógrafo líquido de ultra rendimiento

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo antropogénico del agua tras su paso por las principales fuentes de consumo.

Figura 2. Recorrido general seguido por los fármacos tras su producción.

Figura 3. Esquema de funcionamiento del desarenador-desengrasador en la fase de pretratamiento.

Figura 4. Esquema de funcionamiento de un decantador primario.

Figura 5. Vista de un reactor biológico de fangos activos de flujo pistón y un reactor biológico de fangos activos en carrusel.

Figura 6. Instalación de casetes de membranas de ultrafiltración.

Figura 7. Esquema de funcionamiento del filtro de arenas en el tratamiento terciario de una EDAR.

Figura 8. Efluente de las aguas tras su paso por las bancadas con lámparas de radiación ultravioletas.

Figura 9. Tomamuestras automático de 24 horas en el influente de la planta y muestreo puntal de las muestras en el efluente

Figura 10. Muestra de los patrones naproxeno, carbamazepina e ibuprofeno utilizados para su detección en el cromatógrafo.

Figura 11. Patrones internos de la carbamazepina, ibuprofeno y diclofenaco para determinar la pérdida debido al proceso de extracción.

Figura 12. Filtros utilizados para la retención de las partículas que obturarían el proceso de extracción en fase sólida.

Figura 13. Muestra de los químicos metanol, MTBE, ácido fórmico y acetona empleados durante el proceso de extracción.

Figura 14. Liofilizador y evaporador de nitrógeno utilizados durante el tratamiento de las muestras.

Figura 15. Esquema de la estructura básica de un cartucho de extracción.

Figura 16. Etapa de extracción en fase sólida de las muestras a través de los cartuchos con la bomba de vacío.

Figura 17. Esquema del funcionamiento del sistema de cromatografía líquida

de alta eficiencia.

Figura 18. Columna de HPLC utilizada para el análisis de las muestras.

Figura 19. Inyección de la muestra a través de la columna de HPLC en tiempo 0.

Figura 20. Inyección de la muestra transcurridos unos minutos.

Figura 21. Esquema de detección del equipo HPLC.

Figura 22. Mapa de la localización de las 12 EDAR muestreadas.

Figura 23. Concentraciones promedio de compuestos farmacéuticos en los influentes de las EDAR estudiadas. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95%.

Figura 24. Concentraciones promedio de compuestos farmacéuticos en los efluentes de las EDAR estudiadas. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95%.

Figura 25. Eficiencias de eliminación de las diferentes tecnologías usadas (por sistemas) en las EDAR

Figura 26. Eliminación de compuestos farmacéuticos versus tiempo de retención hidráulico.

Figura 27. Localización del área de muestreo en el río Guadalentín. EDAR1: EDAR de La Hoya-Lorca; EDAR2: EDAR de Alhama de Murcia; EDAR3: EDAR de Alcantarilla. P1: Punto de muestreo 1; P2: Punto de muestreo 2; P3: Punto de muestreo 3; P4: Punto de muestreo 4; P5: Punto de muestreo 5.

Figura 28. Evaluación de riesgo ecotoxicológico en agua y sedimentos.

Figura 29. Puntos de recogida en la EDAR de Molina. La numeración representa 1: Influyente; 2: Reactor biológico zona anóxica; 3: Reactor biológico zona aerobia inicial; 4: Reactor biológico zona aerobia final; 5: Efluente.

Figura 30. Puntos de recogida en la EDAR de Roldán. La numeración representa 1: Influyente; 2: Reactor biológico zona aerobia inicial; 4: Reactor biológico zona aerobia final; 5: Efluente.

Figura 31. Puntos de recogida en la EDAR de Alcantarilla. La numeración representa 1: Desarenador-desengrasador; 2: Reactor biológico primario; 3: Reactor biológico zona anóxica; 4: Reactor biológico zona aerobia inicial; 5: Reactor

biológico zona aerobia final; 6: Tanque de laminación.

Figura 32. Resultados del ibuprofeno a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

Figura 33. Resultados del ketoprofeno a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

Figura 34. Resultados del naproxeno a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

Figura 35. Comportamiento del diclofenaco a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

Figura 36. Comportamiento de la carbamazepina a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

Figura 37. Puntos de recogida en la EDAR de Roldán. La numeración representa 1: Influyente; 2: Reactor biológico fase anóxica (R.B.1); 3: Reactor biológico fase anaeróbico (R.B.2); 4: Reactor biológico fase aeróbico (R.B.3); 5: Efluente; 6: Lodo recirculado; 7: Lodo deshidratado/seco.

Figura 38. Concentración de carbamazepina en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 39. Concentración de carbamazepina en las muestras de lodo obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 40. Concentración de diclofenaco en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 41. Concentración de diclofenaco en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 42. Concentración de ibuprofeno en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 43. Concentración de ibuprofeno en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 44. Concentración de ketoprofeno en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 45. Concentración de ketoprofeno en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 46. Concentración de naproxeno en las muestras de aguas obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 47. Concentración de naproxeno en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Figura 48. Eficiencia de eliminación de compuestos farmacéuticos en el agua.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de excreción de los fármacos según diversos autores.

Tabla 2. Fármacos investigados y sus posibles metabolitos

Tabla 3. Normativa relacionada con la política de aguas en cuanto a contaminantes emergentes y/o prioritarios.

Tabla 4. Campos de aplicación de la extracción en fase sólida.

Tabla 5. Límites de detección y cuantificación del HPLC-DAD Shimadzu SPD-M10Avp.

Tabla 6. Límites de detección y cuantificación del HPLC-MS/MS Shimadzu LC-20AD XR.

Tabla 7. Límites de detección y cuantificación del UPLC-QTOF Acquity I-Class para las muestras de agua.

Tabla 8. Límites de detección y cuantificación del UPLC-QTOF Acquity I-Class para las muestras de lodo.

Tabla 9. Propiedades de las aguas del río Guadalentín (proporcionados por CHS, 2017). Conductividad eléctrica (CE); Sólidos en suspensión (SS); Demanda biológica de oxígeno (DBO₅); Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Tabla 10. Concentración prevista sin efectos (Ginebreda y col., 2010; Martín y col., 2012) utilizada para el cálculo de ERA.

Tabla 11. Rango de fármacos encontrados en los efluentes de las EDAR que se encuentran cerca de la cuenca del Guadalentín (ng/L).

Tabla 12. Rango de los compuestos farmacéuticos encontrados en las aguas del río muestreado (ng/L).

Tabla 13. Rango de los compuestos farmacéuticos encontrados en los sedimentos del río muestreado (ng/g).

Tabla 14. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de invierno en la EDAR Alcantarilla (µg/L).

Tabla 15. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de invierno en la EDAR de Mula (µg/L).

Tabla 16. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de

primavera en la EDAR Alcantarilla ($\mu\text{g/L}$).

Tabla 17. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de primavera en la EDAR Mula ($\mu\text{g/L}$).

Tabla 18. Correlaciones positivas encontradas entre fármacos en los muestreos realizado en el EDAR de Alcantarilla.

Tabla 19. Correlaciones positivas encontradas entre fármacos en los muestreos realizado en el EDAR de Mula.

Tabla 20. Incremento estacional producido de las concentraciones de los compuestos farmacéuticos en cada punto de muestreo.

Tabla 21. Constantes de biodegradación (K_{bio}) y de equilibrio de sorción en el lodo (K_a) para los diferentes compuestos estudiados.

Tabla 22. Balance de masas de los compuestos farmacéuticos a través de las diferentes etapas en el tratamiento de la EDAR (mg/d)

Tabla 23. Pérdida de masa de los compuestos farmacéuticos (m_{sor}) y (m_{bio}) y porcentaje de eliminación debido a la biodegradación (R_{bio}) y la sorción (R_{sor}).

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Criterio de mención internacional en el título de doctor.

I – INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

I- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1. INTRODUCCIÓN

El agua es el mayor patrimonio para cualquier tipo de vida ya que es indispensable y necesario para la misma. Es un material muy abundante, pero con las cualidades necesarias para el consumo humano y para el equilibrio del medio ambiente, lo hallamos en muy escasa proporción. Esta carencia de agua se debe a una mala gestión, ya que sin haber previsto las limitaciones que este bien posee, se ha usado este medio sin el control adecuado. Además, la dinámica evolución de la civilización ha contribuido en su perjuicio.

La consecuencia de este prolongado proceso en los años, es que las aguas superficiales han sido usadas como vertedero para grandes cantidades de sustancias nocivas y tóxicas tanto en ambientes doméstico, industrial o agrícola y sin haber tenido en cuenta los posibles efectos.

Entre los efectos que conlleva esta contaminación incontrolada de los recursos hídricos podemos destacar:

- Acción tóxica y cancerígena.
- Incidencia en la productividad de alimentos.
- Restricciones en el uso del agua con fines recreativos.
- Disminución de las posibilidades para su uso industrial y agropecuario.
- Reducción de la concentración de oxígeno necesaria para la vida acuática.

Los países han ido introduciendo restricciones a estos vertidos a medida que el desarrollo de los mismos lo ha ido permitiendo. Estas leyes han conseguido paliar moderadamente los efectos de la contaminación, aunque el rápido avance que se ha experimentado en nuestra sociedad, ha traído como consecuencia la producción de nuevos componentes no investigados los cuáles siguen contaminando las aguas y de los que aún no se tienen limitaciones al no saber su grado de incidencia en el medio ambiente.

Dentro de estos nuevos compuestos aparecen los contaminantes emergentes, que se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales, cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de la misma. Estos compuestos se encuentran en las líneas de investigación prioritarias de los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medioambiental, tales como la Organización Mundial de la Salud, la Agencia para la protección del Medio Ambiente, o la Comisión Europea.

Entre los contaminantes emergentes encontramos los fármacos y productos de uso personal (PPCPs), que han experimentado un aumento del consumo en el mundo debido a las nuevas y diferentes terapias farmacéuticas. Éstos se pueden encontrar en las aguas de consumo y en aquellas usadas para producción, y están directamente relacionadas con la seguridad y salud humana debido a su entrada en el ciclo del agua. La distribución y acumulación medioambientales de éstos nuevos compuestos no se encuentran bien establecidas, por lo que no existe una valoración adecuada de los riesgos para el medioambiente y los humanos. (De García y col., 2014; Du y col., 2014; Mendoza y col. 2015; Pereira y col., 2015).

Las plantas de tratamiento de aguas residuales (EDAR) son las encargadas de transformar las aguas procedentes del saneamiento de las aguas domésticas y/o de aguas industriales en aguas aptas para su introducción en el medio ambiente. En general, las plantas de depuración se encuentran sobrecargadas en su uso o bien, obsoletas una vez finalizada su construcción debido a que no se han instalados los elementos óptimos de depuración en ese momento (Basile y col., 2011). La no

modernización de las EDAR, implica que éstas no se encuentren preparadas para depurar estos nuevos componentes. Por lo tanto, es necesaria una investigación de nuevas metodologías o la adaptación de las mismas, para propiciar su eliminación y proceder a la recuperación del agua, devolviéndola así al curso del agua y creando un ciclo del agua sostenible.

1.2. MOTIVACIÓN Y OBJETIVO DE LA TESIS

A lo largo de los años, los investigadores han dedicado sus esfuerzos a la investigación de los miles de compuestos farmacéuticos que existen actualmente y que son consumidos por millones de personas. Este consumo genera un ciclo de los fármacos el cual está unido al ciclo del agua y a su proceso de degradación natural.

La sociedad actual está dejando paulatinamente el mundo rural y se va concentrando en las grandes ciudades, con lo que la masificación del consumo de compuestos se da en las ciudades y en los hospitales que, por lo general, se encuentran cercanos a ellos. Las estaciones depuradoras de las ciudades realizan su función de degradación y eliminación de las aguas altamente cargadas de materia orgánica, pero, aun así, los fármacos son devueltos a los cursos de los ríos o a riego por medio de los efluentes de las EDAR ya que no consiguen eliminarlos en su totalidad.

La Región de Murcia tiene un déficit hídrico anual de unos 400 hm³, incluyendo el trasvase del Tajo. Este dato nos indica que el agua es muy escasa ya que los aportes que tenemos como son la lluvia con un valor medio anual entorno a los 330 L/m², el propio trasvase de cuenca del río Tajo que aportan 3,3 hm³, los pantanos realizados en la cabecera del río Segura para tener un almacén de agua, los pozos nuevos que han tenido que abrir desde confederación hidrográfica del Segura para paliar la grave sequía de la comunidad y a las desaladoras existentes que generan agua pero a un precio demasiado caro para los regantes, son insuficientes para atender a todas las necesidades.

Por ello, y para tratar de recuperar hasta la última gota de agua de las aguas negras generadas en la población, fue creada la Entidad de Saneamiento de la Región de Murcia (ESAMUR) por la ley 3/2000 de la Región de Murcia con la función de recaudar y administrar el canon de saneamiento, de explotar y mantener las instalaciones de depuración de aguas residuales y de controlar los resultados de la explotación de las plantas de tratamiento de aguas residuales.

Actualmente, el parque regional consta de un total de 115 plantas depuradoras, de las cuales al menos una por municipio (de los 45 existentes en la Región) tiene sistema de tratamiento terciario de depuración. Esto da lugar a que el agua de los efluentes de las depuradoras pueda ser reutilizada para otros usos (el 98% del agua tratada está siendo actualmente reutilizada), y que en el caso de la Región es aproximadamente el 92,8% para el riego de los cultivos, ya sea por utilización directa, o bien indirecta al recogerla de los cauces de los ríos. Esto genera un beneficio hídrico a la cuenca del Segura y a sus regantes de 105 hm³. Dentro de este volumen de aguas se debe evitar en la medida de lo posible la aparición de los compuestos farmacéuticos para que éstos no lleguen a los cultivos.

La precisión tecnológica actual permite detectar compuestos a muy baja escala, de modo que pueda definirse bien el comportamiento de estos nuevos contaminantes emergentes lo que nos ayudará a determinar la mejor forma de eliminarlos a través de las aguas residuales. Entre estos métodos encontramos el sistema de extracción en fase sólida, que permite la retención de los compuestos farmacéuticos existentes en las aguas para su posterior análisis mediante el sistema de cromatografía líquida de alta eficacia para la cuantificación de los compuestos.

Estos elementos invitan a la investigación de estos compuestos debido a su gran efectividad para reportarnos las concentraciones de las aguas. Si bien, esta tecnología está siendo usada desde hace tiempo para la detección de compuestos en muchas investigaciones a lo largo del mundo, en nuestra Región no estaba siendo ampliamente utilizada para la detección en las diversas estaciones depuradoras, de forma que se pudieran tener un seguimiento de las mismas.

Por ello, dentro del objetivo principal de esta tesis se encuentra el enfoque para la detección de los compuestos farmacéuticos en las EDAR de la Región, el impacto que tienen los compuestos en el medio ambiente y el análisis del comportamiento de los compuestos en las plantas depuradoras de forma que se puedan obtener unas aguas más puras en los efluentes de las depuradoras.

En base a las observaciones declaradas anteriormente, los objetivos secundarios de esta tesis son:

- Realizar un estudio preliminar de varias depuradoras de la Región de Murcia con diversas tecnologías, de forma que se pueda establecer una comparativa influente-efluente para determinar la tecnología más eficiente para eliminar éstos compuestos mediante su análisis con cromatografía líquida de alta presión con un detector de matriz de diodos.
- Estudiar la distribución espacial de los compuestos farmacéuticos a lo largo del río Guadalentín en tres periodos, en los que se identificarán los compuestos en las aguas y en los sedimentos en su cauce de forma que se pueda trazar su distribución espacial a lo largo del río, así como, calcular el riesgo eco-toxicológico de los contaminantes emergentes investigados en las aguas del río.
- Evaluación de los dos tipos de tratamientos más usuales dentro de las depuradoras de la Región de Murcia, que son aquellas que tienen un reactor biológico de fangos activos convencionales en flujo pistón y en carrusel, así como, el estudio del comportamiento de ellas en dos diferentes estaciones del año para determinar cuál es la tecnología que mejor funciona para éstos compuestos.
- Seguimiento de los compuestos farmacéuticos dentro las plantas depuradoras con reactor biológico de flujo pistón para determinar la degradación que tienen los compuestos farmacéuticos a su paso por cada

punto de tratamiento de la planta, cogiendo como referencia su tiempo de retención hidráulico.

- Estudio de la degradación biológica en el reactor biológico de una EDAR con la tecnología de fangos activos en flujo pistón para estimar la sorción a los lodos de los compuestos, así como, hacer un balance de masas sobre la degradación de los compuestos en la planta.

II – ESTADO DEL ARTE

II – ESTADO DEL ARTE

2.1. CONTAMINANTES EMERGENTES

Los contaminantes emergentes se pueden definir como sustancias químicas naturales o artificiales que no están monitorizadas, y que tienen alta capacidad de entrar en el medioambiente y producir causas adversas para la ecología y para la salud humana (Baran y col., 2011). Una exposición en el agua de cualquiera de los compuestos emergentes, entre los que encontramos disruptores endocrinos, puede dar lugar a alteraciones en el comportamiento de los organismos vivos, la reproducción y el crecimiento. Una de las consecuencias mejor documentadas y más alarmantes es la feminización en organismos acuáticos superiores (Corcoran y col., 2010; Sánchez y col., 2011).

Si bien, los efectos de muchos de los compuestos farmacéuticos encontrados en el ambiente sobre los organismos vivos no son completamente conocidos y aún menos, cuando estos actúan de forma conjunta, si se ha reconocido que algunas especies acuáticas se han visto afectadas por la presencia de fármacos, ya que han desarrollado algunos cambios en su fisiología como enrollamiento intestinal anormal, edema, malformaciones de la cabeza de microcefalia y disminución de la longitud corporal debido a la intoxicación (van den Brandhof y Montforts, 2010; Hedgespeth y col., 2014; Flint y col., 2012).

Estos compuestos farmacéuticos se utilizan continuamente en los seres humanos y los animales para diferentes cuidados médicos. El consumo de productos farmacéuticos per cápita y por año se estima en alrededor de 15 g, y en los países industrializados se espera que el valor esté entre 50 y 150 g (Alder y col., 2006). Por ejemplo, los volúmenes de compuestos farmacéuticos consumidos a nivel mundial como carbamazepina y diclofenaco se estiman en 1014 toneladas y 940 toneladas por año, respectivamente (Zhang y col., 2008).

Tanto en el ámbito doméstico como en el industrial, la relación de

contaminantes emergentes incorpora una extensa variedad de productos de uso diario. A consecuencia de las investigaciones realizadas y la detección de estos compuestos, las actuales leyes van incorporado estas sustancias en una lista prioritaria de vigilancia. En esta lista aparecen compuestos tales como detergentes de tipo alquifenol etoxilado y sus derivados, y las parafinas cloradas o como retardantes de llama difenil éteres polibromados. Dentro de esta lista también tenemos los pesticidas que, aunque ya estaban sujetos a legislación en el agua, el hallazgo de nuevos productos de degradación que continúan siendo tóxicos, ha renovado el interés por los mismos. Otros casos son más actuales, como el de los detergentes perfluorados, o los fármacos, cuya toma de conciencia del riesgo que ocasiona su presencia en el medio ambiente es relativamente reciente.

Otras de las sustancias emergentes son las farmacológicamente activas. Entre las más representativas encontramos:

- Antiinflamatorios y analgésicos no esteroideos (AINE). Se utilizan generalmente para combatir el dolor. Estos fármacos en su mayor parte tienen también propiedades antipiréticas y analgésicas. Actúa como respuesta a la inflamación producida inhibiendo la síntesis de compuestos. Dentro de este grupo, los compuestos más utilizados son el ácido acetilsalicílico, diclofenaco, ibuprofeno y paracetamol.

- Antidepresivos. Son fármacos que producen somnolencia, descenso en la ansiedad y relajación de los músculos. Las benzodiazepinas son las más frecuentes. Este compuesto produce un aumento de la actividad de ciertos neurotransmisores inhibidores, reduciendo así, el funcionamiento de ciertas áreas del cerebro.

- Antiepilépticos. El cerebro y los nervios están formados por un gran número de células nerviosas, que se comunican entre sí a través de impulsos eléctricos. Para evitar el cúmulo excesivo, rápido y repetitivo de estos impulsos, manteniendo normal la actividad cerebral, el fármaco más usado es la carbamazepina.

- Antineoplásicos. Son fármacos usados para el tratamiento del cáncer, entre los que aparecen el ciclofosfamidás, bisulfán, etc.
- Hipolipemiantes. Se utiliza fundamentalmente para reducir los niveles de colesterol en sangre en personas con arterioesclerosis. Los compuestos más frecuentes son estatinas y fibratos (derivados del ácido fíbrico). Las estatinas son más efectivas sobre las lipoproteínas de baja densidad (LDL), mientras que los fibratos aumentan los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y reducen los niveles de triglicéridos.
- Betabloqueantes. Consiguen disminuir la fuerza de contracción del corazón, disminuir la necesidad de oxígeno del corazón, reducir la contracción de los vasos sanguíneos y reducir el ritmo cardíaco bloqueando los receptores beta del corazón. Están aconsejados para combatir la hipertensión, angina de pecho, arritmias arteriales, cardíacas, etc. Los más utilizados son el propanolol, atenolol, metoprolol, etc.
- Estrógenos. Provocan la liberación celular sobre los órganos, principalmente los femeninos, entre los que se incluye las hormonas sexuales que induce procesos de maduración. También tienen cierto efecto preventivo de enfermedades en el cerebro vascular y sobre el endometrio.
- Antiulcerosos y antihistamínicos. Son compuestos que bloquean la producción de ácido que se genera cuando tenemos una unión entre la histamina y los receptores H1 y H2 que se encuentran en unas células que recubren el estómago. También se emplean contra la acidez de estómago, úlceras y otras alteraciones estomacales (Ej: famotidina, ranitidina).
- Antibióticos. Entre los antibióticos más destacados se encuentran las fluoroquinolonas, sulfonamidas, tilosina, cloranfenicol, y trimetopina.

- Otras sustancias. Incluimos en este apartado aquellas drogas de abuso como por ejemplo el alcohol, marihuana, metadona, cocaína, barbitúricos, anfetaminas, heroína, LSD (dietilamina del ácido lisérgico) y la PCP (fenilciclidina) y otros narcóticos, ya que tiene la capacidad de una alteración de la mente sin la necesidad de prescripción médica.

La detección de una mayor cantidad de compuestos, que no eran hallados porque estaban a concentraciones menores de las detectables, se debe a una mejora en las tecnologías de análisis y un progreso en las técnicas de extracción.

En consecuencia, se han realizado múltiples estudios sobre estos compuestos a lo largo del mundo, y en varios de los llevados a cabo en Europa y en algunas partes de América, ha sido reportada la existencia de fármacos emergentes en el influente y efluente de las muestras de las depuradoras en concentraciones superiores al $\mu\text{g/L}$ (Guerra y col., 2013; Nosek y col. 2014; Acuña y col., 2015; Subedi y col 2015; Patrolecco y col., 2015). Estas descargas que en muchos casos se hacen del efluente de las depuradoras a aguas superficiales, acarrear la aparición en otros estudios de concentraciones en ng/L en puntos de muestreo lejos de las estaciones depuradoras (Wu y col., 2014; Meierjohann y col., 2016; Bussan y col., 2017). Esto ha contribuido a que actualmente se tenga una mayor concienciación del problema medioambiental actual.

La presencia de estos compuestos no sólo se encuentra vinculada a los países desarrollados con economías emergentes y estabilizadas, sino que, se ha reportado información sobre la existencia de nuevos contaminantes en regiones del mundo que menos prósperas (K'Ojere y col., 2016). La evaluación de las concentraciones en medios acuáticos para estas regiones y la determinación de los potenciales efectos en las distintas partes del mundo se hace prioritario, teniendo en cuenta el actual crecimiento de la población y por tanto el mayor consumo de los mismos (Silva y col., 2014).

Dentro de la amplia variedad de compuestos con sus distintas propiedades,

la mayoría de los principios activos farmacéuticos (fármacos, fitoterapéuticos y productos biotecnológicos), son ionizables y están incorporados en matrices complejas para asegurar su estabilidad y conservar así su actividad biológica. Estos compuestos, que son consumidos, se transforman en los seres vivos (tanto humano como animal) para dar productos más polares y solubles, como conjugados glucurónicos y ácido sulfúrico o metabolitos (Loos y col., 2013; Tanoue y col., 2014).

Los nuevos fármacos son obtenidos por síntesis orgánica pero este hecho no garantiza su total biotransformación cuando se realiza su paso por sistemas biológicos. De hecho, estos compuestos farmacéuticos y los PPCPs presentan grandes dificultades para ser eliminados en las estaciones depuradoras y en las plantas potabilizadoras debido a su carácter hidrofílico. En el cuerpo, es el hígado el que realiza la importante labor de conseguir eliminarlos a casi todos, aunque muchos de ellos son transformados y en consecuencia se provocan bioacumulaciones en ciertos niveles de la cadena trófica que son causa alteraciones ambientales.

Las formulaciones complejas de cada uno de los productos farmacéuticos y sus co-ayudantes generan productos de transformación los cuales se relacionan con la materia orgánica. Estos productos son más bioacumulables bajo los estados propios del ecosistema y por tanto constituirse como productos potencialmente más tóxicos (E. Gracia-Lor y col., 2012).

Los productos farmacéuticos no eran valorados como contaminantes ambientales debido a que su acumulación era desconocida, así como la de sus productos de transformación en aguas, suelos, tejidos vegetales y tejidos animales. Es por ello que solo al final del siglo pasado, comenzaron a cuantificarse las concentraciones en las matrices ambientales en las aguas ya que anteriormente se encontraba indeterminado.

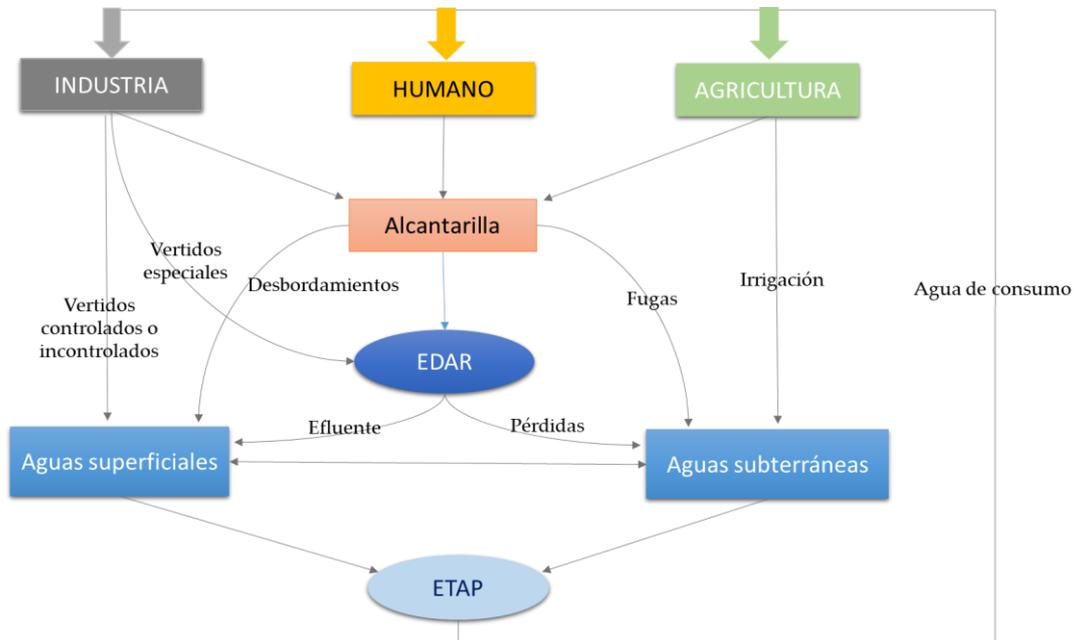


Figura 1. Ciclo antropogénico del agua tras su paso por las principales fuentes de consumo.

Fuente: Ternes y Joss, 2006

El ciclo del agua (Figura 1) inicia su curso a través de su uso en la industria, la agricultura o el consumo humano. Posteriormente, estas aguas son descargadas a través de la red de saneamiento para llegar a las depuradoras para ser tratadas en el caso que sea posible, o bien se vierten por irrigación o vertidos a las aguas superficiales o subterráneas. El último paso antes de ser reutilizada e iniciarse de nuevo el ciclo, es ser potabilizada en las plantas de tratamiento construidas para tal efecto.

Como se puede comprobar, el ciclo del agua está prácticamente ligado al de los contaminantes, éstos se pueden encontrar en aguas superficiales de todo el mundo ya que estos se diseminan por el medio ambiente: África (K'oreje y col., 2016; Agunbiade y col., 2015), Europa (Fernández y col., 2010; Paiga y col., 2016), Asia (Dai y col., 2014; Subedi y col., 2017) o Australia (Cardenas y col., 2016; Al Aukidy y col., 2017) o aguas subterráneas en Europa (Teijon y col., 2010), África (Olaitan y col., 2014) o América del Norte (Phillips y col., 2015).

2.1.1. Fármacos presentes en el medio ambiente

Los compuestos farmacéuticos llegan al medio ambiente a través de varias fuentes, como hogares, granjas de ganado, hospitales y fábricas de productos farmacéuticos entre otros (Sim y col., 2011).

Los fármacos de uso veterinario y humano son vertidos de forma continuada al medio ambiente debido a los miles de toneladas que se consumen. El uso mayoritario de éstos es en alimentos para crecimiento del ganado y en las piscifactorías, así como para prevenir las enfermedades en medicina veterinaria y en humanos. Estos compuestos, los cuáles están diseñados para funcionar a bajas dosis, se han extendido y en consecuencia han dejado un efecto específico biológico en el medio ambiente incluso a esas bajas concentraciones, lo cual podría plantear un riesgo en la producción de agua potable (Furlong y col., 2017; Glassmeyer y col., 2017) y en el ecosistema (Bouissou-Schurtz y col., 2014; Gavrilesco y col., 2015).

Las principales vías de salida son en forma de excreción o aquellos que directamente se desechan antes de su uso por defectos de fabricación o por caducidad (Braund y col., 2009; Vatovec y col., 2016). Los vertidos de la industria farmacéutica, la disposición inadecuada de fármacos caducados o no utilizados, los residuos hospitalarios, y los vertidos de instituciones para el desarrollo de fármacos e investigación son las principales fuentes de entrada de los productos farmacológicos a las aguas superficiales.

Su extensión en el ciclo del agua es alta debido a los diversos puntos a través de los que pueden ser liberados (KWR, STOWA, 2013; Pal y col., 2014; Trautwein y col., 2014; Jekel y col., 2015). Numerosos estudios demuestran que estos fármacos se encuentran omnipresentes en el medio ambiente acuático (Fatta-Kassinou y col., 2011; Vulliet y col., 2011; Bueno y col. 2012 Wang y col., 2012; Li, 2014).

El efecto que puede llegar a producir en el medio acuático, ha hecho que se incremente el interés de los investigadores y de las autoridades por estos nuevos

compuestos que generan este problema medioambiental. También crece el interés de estos compuestos debido a la acumulación de fármacos que se produce – incluidas drogas de abuso – y de los PPCPs que provienen de la presión antropogénica en aguas (Vázquez-Roig y col., 2012 a, b; Boxall y col., 2012; Zenker y col., 2014).

Las concentraciones de fármacos en las zonas a investigadas suelen obedecer de diferentes pautas. Esos criterios son:

- 1) La cantidad de fármaco que es consumida en el sector de captación del agua (van der Aa y col., 2013).
- 2) Los fragmentos sin cambios o en forma conjugada que deja el usuario (humano o animal) y las que terminan en las aguas residuales.
- 3) Proceso de degradación y sorción de lodos en la estación de tratamiento de aguas residuales (Blair y col., 2015).
- 4) La magnitud de la masa de agua del área tratada.
- 5) Sorción y evolución de la degradación en el medio ambiente (Lin y col., 2011).

El consumo de los compuestos farmacéuticos está en continuo crecimiento en todo el mundo. Solo en España, cerca de 902 millones de recetas fueron expedidas en 2016. También se incrementó al doble el gasto en fármacos del curso 2015 al 2016. Esto ha llevado a un incremento en la conciencia por los posibles riesgos ecológicos que generan los fármacos vertidos en el medio ambiente (Deblonde y col., 2013).

En este entorno, se han reportado diversos artículos en los cuales se miden una gran gama de fármacos en las muestras de aguas con las metodologías más frecuentes de análisis para la búsqueda de contaminantes emergentes (Camacho-Muñoz y col., 2009; Paillet y col., 2009; Baker y Kasprzyk-Hodern, 2011; Jelic y col., 2011; Ferrer y Thurman, 2012). Los distintos efectos toxicológicos que en algunos casos son aún desconocidos, hacen necesaria una determinación más profunda de

estos compuestos farmacéuticos y a su vez una campaña de prevención en la introducción de estos micro-contaminantes en el medio ambiente, en la cuál sea obligatoria la eliminación de muchas de estas sustancias mediante la mejora de las estaciones de depuración junto con un posterior tratamiento de los lodos (Rivera-Utrilla y col., 2013).

2.1.2. Proceso de metabolización

La metabolización es el conjunto de procesos físico-químicos y reacciones bioquímicas que ocurren en una célula y en el organismo, por lo que también es el procedimiento por el cual el organismo consigue obtener sustancias no activas de aquellas que son activas. Esta fase es realizada en los seres humanos por medio de las enzimas localizadas en el hígado. Generalmente, el objetivo para las drogas psicoactivas es eliminar su capacidad de pasar a través de las membranas de lípidos.

Por el metabolismo se renuevan las diversas sustancias del organismo mediante los diferentes procesos y transformaciones químicas. El mecanismo se activa después de la digestión, y se fundamenta en la reabsorción y en la transformación de las sustancias alimenticias. El metabolismo tiene dos elementos constituyentes: El primero es el anabolismo (creación de sustancias), que es el proceso de síntesis por el cual se crean sustancias indispensables para el funcionamiento del organismo, y que son continuamente renovadas. El segundo es el catabolismo (destrucción de sustancias) en el que se genera energía - calorías - mediante el fraccionamiento o rotura de otras sustancias. El organismo libera una cantidad variable de energía durante el proceso de metabolización.

Dentro de las diferentes fases, la primera de ellas podemos encontrar las reducciones, oxidaciones o hidrólisis que producen en la estructura creada un grupo reactivo que lo transforma en químicamente más activo (funcionalización).

En la fase segunda, generalmente encontramos reacciones de conjugación

que inactivan al fármaco. Actúan, principalmente, sobre el grupo reactivo generado en la fase primera (con metilos, con ácido glucurónico, amino ácidos, con sulfatos, acetatos, o glutatión).

Las complejas mezclas que se generan en estos compuestos junto los residuos de los metabolitos, son continuamente introducidos en el medio. Tales productos llegan a los sistemas acuáticos de forma directa a través del desecho de los medicamentos caducados (no utilizados), después de la excreción humana a la red de alcantarillado, o bien a través de las descargas de los efluentes de las plantas depuradoras (Marín-Morales y col., 2016).

2.1.3. Degradación de los compuestos emergentes

La principal vía de contaminación es a través de la excreción inalterada en orina y heces, aunque se deben asumir otros mecanismos antropogénicos como: metabolismo post consumo; compuestos de diagnóstico (medios de contraste de rayos X); eliminación doméstica de productos farmacéuticos no utilizados y vencidos; el uso de lodos de EDAR en la agricultura; medicamentos veterinarios y acuícolas; instalaciones de fabricación farmacéutica que pueden provocar descargas en el medio ambiente.

Mediante la excreción y/o los desechos (eliminación por fármacos caducados o de los no usados o directamente de descargas farmacológicas) los fármacos son introducidos tanto en su forma nativa, como en sus metabolitos en la red de saneamiento (Brandt y col., 2013; Gurke y col., 2015).

La excreción es un proceso fisiológico, que permite al organismo depurar las sustancias excedentes, conservando la composición de la sangre y otros fluidos corporales en equilibrio. Por tanto, la denominación de excreción de fármacos se refiere a la salida de éstos y de sus metabolitos desde el sistema circulatorio al exterior del organismo.

Las vías más importantes de excreción son el riñón, el pulmón, las glándulas sudoríparas y el sistema hepático (a través del hígado-estómago). De los mencionados, el órgano el más importante para la excreción de la mayoría de los fármacos es el riñón; también podemos afirmar que, para los gases y fármacos volátiles, el pulmón se considera igual de importante que el riñón, pero al no ser expulsado a la red de saneamiento, carece de importancia para esta investigación.

Las sustancias excretadas mediante heces son generalmente fármacos ingeridos no absorbidos en el tubo intestinal. Otras vías de menor importancia son el estómago, las glándulas salivales, el colon, el intestino, las glándulas lagrimales, las mamas, la piel y el pelo.

Por lo descrito anteriormente, la excreción renal cuyo órgano principal es el riñón, es el encargado de metabolizar principalmente estos compuestos activos cuya glándula está destinada para ello. Las glándulas destinadas a realizar esta función son altamente particulares, ya que, la disolución de los compuestos farmacológicos, tanto inalterados como en metabolitos, adquiere mayores concentraciones que las propias del plasma sanguíneo.

De los otros tipos de excreción importantes, la pulmonar se enfoca sobre todo para compuestos volátiles como son los anestésicos generales (éter, halotano, óxido nitroso, etc.) y que son eliminados siguiendo las leyes de los gases. También tenemos los excretados en el tubo digestivo por las glándulas salivales, el sistema hepático, el estómago y el colon. Entre ellos, el segundo en importancia tras del riñón es el sistema hepático en el que, como para la excreción, los compuestos pasan a la circulación en la bilis, concentrándose de forma activa. La excreción por el estómago, el intestino y el colon sigue los principios generales de transporte por membranas.

La excreción de los distintos medicamentos en el hombre puede ser sin metabolizar o en forma de metabolitos activos (sustancias farmacológicamente activas de diversos grupos). Para poder determinar la cantidad de fármaco

inalterado puede llegar a las aguas residuales, es importante conocer qué porcentaje de fármaco ingerido no consigue ser metabolizado y es, por tanto, excretado por las diferentes vías cómo fármaco parental del compuesto consumido.

La excreción de estos fármacos no es exclusiva de los humanos, también puede darse en fármacos veterinarios consumidos por el ganado. En este caso, es el estiércol de los animales, usado para fertilizar la tierra, el que puede llegar al curso de las aguas superficiales mediante escorrentía o por infiltración a las aguas subterráneas (Lapen y col., 2008).

Los porcentajes de excreción de los distintos compuestos emergentes inalterados es una cifra inexacta que según distintos autores puede variar. En la tabla 1, podemos encontrar los porcentajes de excreción a los fármacos escogidos según diferentes autores.

Tabla 1. Porcentaje de excreción de los fármacos según diversos autores

Fármaco	% Excreción		
	Nakada y col., (2006)	Ter Laak y col., (2014)	de García y col., (2013)
Carbamazepina	3	26	12
Diclofenaco	-	16	15
Ibuprofeno	10	30	10
Ketoprofeno	2,7	55	-
Naproxeno	10	10	3

Tras la excreción, los compuestos farmacológicos llegan en su mayoría a través de la red de alcantarillado a las estaciones depuradoras, las cuáles están diseñadas para eliminar sólo los compuestos orgánicos, principalmente sólidos y nutrientes, por lo que no están capacitadas para eliminar los compuestos farmacológicos.

En los análisis realizados en los efluentes tras su paso por ellas, se han detectado fármacos que van directamente a las aguas superficiales y subterráneas. La gran parte de estos compuestos son degradados por procesos químicos o biológicos durante el proceso de tratamiento en la línea de aguas por la absorción en fase sólida, como son los lodos (Salgado y col., 2012).

Una vez los fármacos llegan a las aguas superficiales, éstos pueden ser transformados principalmente vía fotodegradación y biodegradación o, también, pueden absorberse sobre las partículas suspendidas en el agua (Koumaki y col., 2016; Lindholm-Lehto y col., 2016; Meierjohann y col., 2016). La biodegradación ha sido investigada para algunos fármacos como el gemfibrozil y naproxeno (Grenni y col., 2012).

Como se observa en la Figura 2, la vía principal de entrada es a través de las aguas residuales urbanas de forma metabolizada, y por lo que, en mayor o menor medida son provenientes de la orina y de las heces.

Durante el ciclo del agua, y concretamente en el paso por las plantas depuradoras, muchos de estos compuestos no consiguen degradarse completamente, aunque éstos lleguen absorbidos y metabolizados por el organismo después de su ingesta y su posterior excreción.

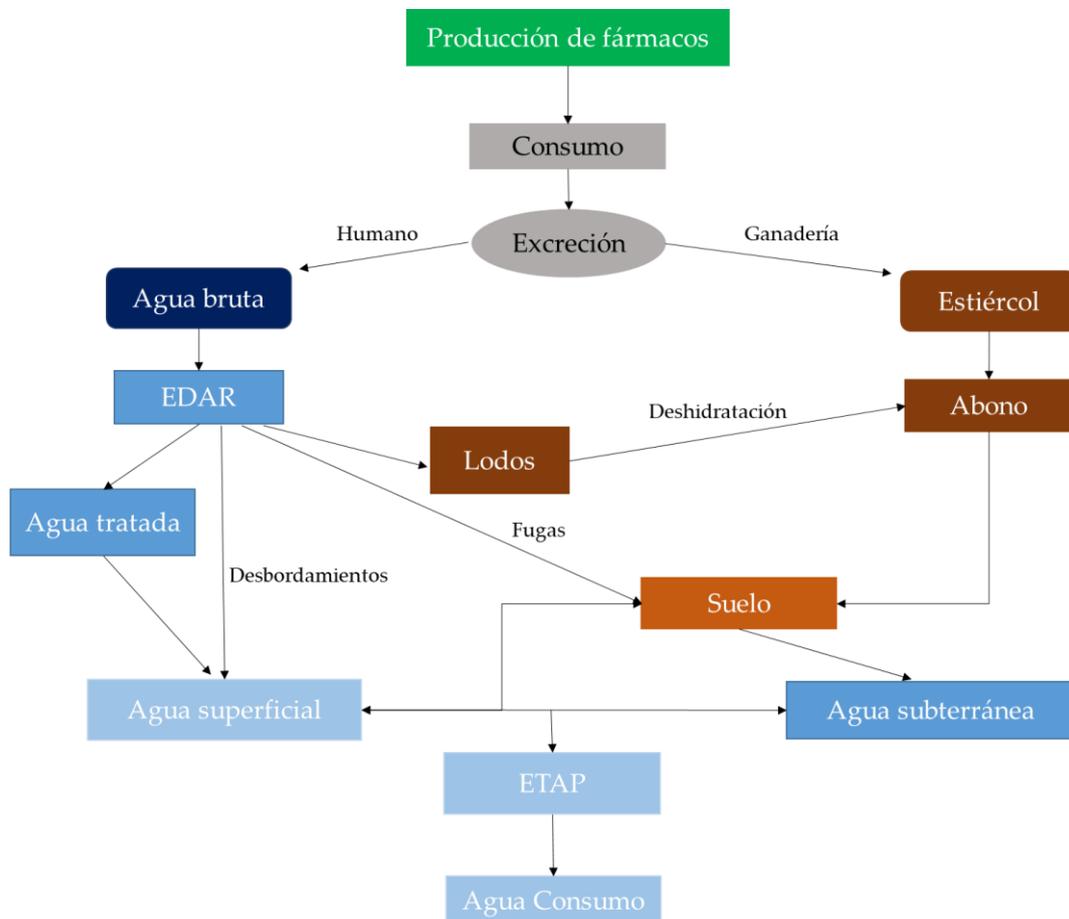


Figura 2. Recorrido general seguido por los fármacos tras su producción.
Fuente: Elaboración propia, 2015

Las vías principales para la ingestión de los medicamentos son la oral, parenteral y rectal. En la gran mayoría de las ocasiones, la ingestión es a través de la forma oral. Esta clase de toma genera la transformación a través de los procesos de digestión, es sustancial para la salud y es parte de la raíz de la contaminación farmacológica. A modo de estimación podemos afirmar que la mitad de los fármacos ingeridos se encontrarán posteriormente metabolizados.

La gran mayoría de los medicamentos consumidos son excretados a través de la orina, aunque existen variaciones según el fármaco que se trate. La tabla 2 muestra los posibles metabolitos que pueden tener cada uno de los fármacos

investigados debido a la degradación que se puede producir en los compuestos en forma metabolito o como la sustancia activa en sí.

Tabla 2. Fármacos investigados y sus posibles metabolitos

Fuentes: Varias

Fármaco	Metabolitos
Carbamazepina (<i>Bahlmann y col., 2014</i>)	10,11-dihydro-10,11-dihydroxy-CBZ (DiOH-CBZ) 10,11-dihydro-10-hydroxy-CBZ (10-OH-CBZ) 10,11-epoxy-10,11-dihydro-CBZ 2-hydroxy-CBZ 3-hydroxy-CBZ
Diclofenaco (<i>Stülten y col., 2008</i>)	4-Hydroxy-diclofenac (4-OHD) 5-Hydroxy-diclofenac (5-OHD) 3 -Hydroxy-diclofenac (3 -OHD) 3 -Hydroxy-4 -methoxy-diclofenac (3 -OH-4 - OmeD) 4 ,5-Dihydroxy-diclofenac (4 ,5-(OH)2D)
Ibuprofeno (<i>Magiera y col., 2014</i>)	1-hydroxyibuprofen 2-hydroxyibuprofen 3-hydroxyibuprofen carboxyibuprofen
Ketoprofeno (<i>Larsson y col., 2014</i>)	Dihidroketoprofen
Naproxeno (<i>Brozinski y col., 2011</i>)	6-O-desmethylnaproxen

2.2. LEGISLACIÓN AMBIENTAL EN AGUAS

El agua como recurso natural imprescindible, debe preservarse de una mala utilización o de una privatización por parte de colectivos o de individuales. En el año 1879 se establecía la "Ley de Aguas" que fue derogada posteriormente por la entrada en vigor de la Ley 25/1985, de 2 de agosto (BOE núm. 189, de 8 de agosto de 1985), en la cual se deja por escrito que "el agua es un recurso natural escaso, indispensable para la vida y para el ejercicio de la inmensa mayoría de las

actividades económicas, es irremplazable, no ampliable por la mera voluntad del hombre, irregular en su forma de presentarse en el tiempo y en el espacio, fácilmente vulnerable y susceptible de usos sucesivos”.

Desde la publicación de la Ley de Aguas, de 2 de agosto de 1985 y con la incorporación de España a la Unión Europea (UE), las medidas legislativas adoptadas han sido múltiples. Dentro de un rango normativo, las medidas que se han ido adoptando progresivamente, han sido con la finalidad de proteger los recursos hídricos existentes y de compaginar nuestra legislación con la europea.

La vigente normativa en materia de aguas está contenida en una amplia y, a la vez, dispersa variedad de herramientas legislativas que muestran “los distintos niveles de competencia - europeo (directivas), nacional (reales decretos, órdenes, etc.) o autonómico (leyes, decretos legislativos) -, así como los ámbitos de aplicación (aguas de consumo humano, aguas destinadas a la producción de agua potable, aguas subterráneas, etc.), y los aspectos a regular (frecuencias de muestreo, parámetros de calidad, análisis, etc.)”.

Para conservar las masas de agua en un buen estado y consolidar su calidad química y ecológica, la legislación divide los compuestos entre sustancias prioritarias y sustancias peligrosas prioritarias, y ordena que se apliquen todas las medidas necesarias para reducir de forma progresiva la contaminación procedente de sustancias prioritarias e interrumpir o suprimir gradualmente las emisiones, los vertidos, o las pérdidas de sustancias peligrosas prioritarias.

Los aspectos recogidos en la tabla 3, tratan sobre las diversas normativas vigentes en cuanto a la política de aguas respecto a los contaminantes emergentes y/o prioritarios.

Tabla 3. Normativa relacionada con la política de aguas en cuanto a contaminantes emergentes y/o prioritarios.

Fuente: Elaboración propia

Directiva 2000/60/EC , Directiva Marco del Agua (DMA), por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.
Real Decreto Legislativo 1/2001 , de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas.
Real Decreto 140/2003 , de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.
Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE
Directiva 2009/90/CE de la Comisión de 31 de julio de 2009 por la que se establecen, de conformidad con la Directiva 2000/60/CE, las especificaciones técnicas del análisis químico y del seguimiento del estado de las aguas
Real Decreto 60/2011 , de 21 de enero, sobre las Normas de Calidad Ambiental en el ámbito de la Política de Aguas.
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 la política de aguas.

Cabe destacar que en la actualidad aún no existe en ninguna ley con valores límites de concentración fijados para los contaminantes emergentes como fármacos, ni en aguas naturales, ni en aguas residuales. La Directiva 2013/39/UE recoge que la Comisión “establecerá una lista de observación de sustancias sobre las que deben recabarse datos de seguimiento a nivel de la Unión para que sirvan de base a futuros ejercicios de asignación de prioridad”. En dicha relación se incluye fármacos como Diclofenaco, 17-beta-estradiol (E2) y 17-alpha-ethinylestradiol (EE2). En la Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión de 20 de marzo de 2015 en la cual se aumenta el número de sustancias de la lista de observación a efecto de seguimiento.

2.2.1. Normativas españolas

2.2.1.1. Real Decreto 140/2003

Este Real Decreto establece unos criterios de calidad en las aguas de consumo para preservar la salud humana. La presente Ley adjudica el control a las Administraciones públicas de los productos y actividades con el fin de evitar los efectos negativos para la salud, así como las mejoras sanitarias necesarias para modernizar los sistemas de abastecimiento de aguas.

Las pautas que se marcan en esta Ley, serán de uso en todas las aguas que provengan de las redes de distribución, de las cisternas o depósitos y también de la industria alimentaria, indistintamente sea su origen y del tratamiento recibido de potabilización.

Los valores fijados son en su gran mayoría los aportados por la Organización Mundial de la Salud, y en el resto se siguen los criterios de precaución en tal modo que se asegure a la población un nivel alto de protección. Estos valores son los que han de cumplirse en el punto donde el agua de consumo se dispone para consumir.

Los planes para el control del agua de consumo están adecuados a los requisitos que cada uno requiera, sin que ello interfiera en el cumplimiento de calidad que se establece en esta Ley.

Se regulará mediante otras normativas aquellas sustancias usadas para potabilizar el agua, así como, aquellas instalaciones interiores y construcciones anexas al abastecimiento que interfieran en la calidad y salubridad del agua. De igual modo esas normativas no irán en perjuicio de la presente norma.

También se establece la investigación en caso de un incumplimiento en los criterios de calidad marcados, así como, garantizar la aplicación de las disposiciones correctoras y preventivas para asegurar los índices de protección de

salud de las áreas abastecidas. Se conceden excepciones en caso de que no puedan abastecerse esas áreas por ningún otro cauce, y siempre que no supongan un gran riesgo para la salud de los que la consumen.

Es obligatorio mantener informado a los consumidores de la calidad de las aguas a las que tienen acceso, de las situaciones anómalas, de las medidas preventivas y de correcciones tomadas, así como todo aquello que influya en el abastecimiento de las aguas y que suponga un riesgo para el área suministrada.

2.2.1.2. Real Decreto 60/2011

Este Real Decreto traspone los aspectos incluidos en la Directiva 2008/105/CE, así como, los requisitos técnicos para análisis químicos y del seguimiento de la Directiva 2009/90/CE. La finalidad es conseguir una completa y efectiva lucha contra el incremento en la contaminación de las aguas.

De este modo ambos textos legislativos quedan incorporados al ordenamiento interno español la regulación de las sustancias prioritarias, sustancias peligrosas prioritarias y otros contaminantes, con la finalidad de alcanzar una calidad ambiental manteniendo las aguas superficiales en un buen estado químico.

La unión de ambas directivas, ha sido aprovechada para incorporar las necesidades mínimas en la metodología de análisis y mejorar, así, la parte de la legislación que trata sobre la contaminación generada por diversas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático dentro de la Unión Europea.

La refundición simplifica su contenido, consolidando los objetivos de calidad y estableciendo una normativa sobre los vertidos de componentes peligrosos de la tierra al mar. En nuestro país, se seleccionaron las sustancias preferentes para la mejora de calidad ambiental que pudieran generar un riesgo en las aguas

superficiales como consecuencia de su alta persistencia, su bioacumulación, su especial toxicidad o bien por su simple presencia en el medio acuático.

La presente norma define las normas para las sustancias preferentes con riesgo estatal, mientras que la DMA establece las nuevas normas de calidad en cada demarcación hidrográfica para las sustancias prioritarias y su riesgo dentro del ámbito europeo.

Las autoridades competentes puedan generar nuevas normas de calidad para proteger los sedimentos o la biota como incorporar las especificaciones para su seguimiento, su análisis y la determinación de la metodología óptima para un buen estado de las aguas. Ello servirá para evaluar las tendencias en la concentración y vigilar el impacto en la actividad a largo plazo.

Tal y como contempla la Directiva 2008/105/CE, se permite a las autoridades competentes la designación de zonas de mezclas próximas a los puntos de vertido en las cuáles se consienta la superación de los niveles establecidos siempre y cuando no se vea afectada la masa de agua adyacente al nuevo punto de vertido.

2.2.2. Normativa europea

2.2.2.1. Directiva 2000/60/EC

Esta Directiva promulgada por el Parlamento Europea es la conocida Directiva Marco del Agua. En ella, se regula el marco comunitario de actuación para las aguas con el fin de asegurar la protección de las mismas y conseguir un uso perdurable que permita la utilización de estos recursos naturales durante un mayor tiempo.

La necesidad de tener el agua como un medio de vida para los organismos que en ella viven y no como un simple recurso, es lo que impulsó a la Unión Europea a instaurar esta Directiva. Por ello, la DMA introduce las normativas

necesarias para la protección de aguas de transición, costeras, continentales y subterráneas con el fin de obtener el/la:

- Protección y desarrollo de los medios acuáticos
- Fomento de los usos adecuados del agua
- Disposición de una protección y mejor del ecosistema acuático, de los ecosistemas terrestres asociados y el acondicionamiento del deterioro adyacente.
- Mitigación de las consecuencias producidas por sequías o inundaciones
- Disminución de la contaminación en aguas subterráneas
- Certeza del buen estado de las aguas tanto para el suministro superficial como subterráneo

La instauración de esta Directiva es en su práctica un desafío para los países de la Unión Europea ya que cada miembro tiene una ley propia de aguas y la aplicación de esta directiva requiere una homogeneidad entre países, la actuación coordinada entre ellos y la interpretación de los conceptos de esta norma de la misma forma. Para lograr este objetivo, se instaura la Estrategia Común de Implantación como mecanismo para obtener las respuestas derivadas de la normativa, si bien, éste no es vinculante para las decisiones finales. Las actividades del mismo se centran en:

- Mejora de las guías técnicas
- Cambio recíproco de información
- Información y dirección de datos
- Aplicación, verificación y validación

La Directiva Marco del Agua fija la demarcación hidrográfica como entidad principal para aquellas necesidades de gestión. Viene establecida como la zona marítima y terrestre adjunta que comprende una o varias cuencas hidrográficas con sus aguas subterráneas y costeras asociadas.

2.2.2.2. *Directiva 2008/105/EC*

La presente Directiva establece “normas de calidad ambiental para las sustancias prioritarias y para otros contaminantes, según lo dispuesto en la DMA, con el objeto de conseguir un buen estado químico de las aguas superficiales”. La finalidad es “reducir o eliminar los efectos tales como toxicidad aguda y crónica para la salud humana, así como para los organismos acuáticos, su acumulación en el ecosistema y la pérdida de hábitats y de biodiversidad”. La política comunitaria de medio ambiente se basa en la máxima de: “quien contamina, paga”, siguiendo siempre el principio de cautela, acción preventiva y de corrección.

La DMA busca la identificación de las causas y un desarrollo equilibrado y eficaz de sus regiones y que cada comunidad tiene sus condiciones medioambientales y su desarrollo económico y social. Se han establecido una lista de 33 sustancias en las que encontramos sustancias peligrosas prioritarias, para las que los Estados miembros deben aplicar las medidas de protección medioambiental para suprimir gradualmente las emisiones tanto en aplicación como en la revisión de los instrumentos vigentes.

Para la regulación óptima, se establecen normas para proporcionar protección a largo plazo, y concentraciones máximas admisibles para la protección a corto plazo, las cuales clasifican las sustancias prioritarias a escala comunitaria y se permite a los Estados instaurar normativas propias para el resto de los contaminantes. Se adoptarán métodos estadísticos para garantizar la comparabilidad y alcanzar así un nivel aceptable de confianza y precisión mediante reglas detalladas.

Los valores de las normas se limitaron a las aguas superficiales, aunque aquellos que dispongan de una mayor flexibilidad podrán establecer normas más estrictas. Aunque sea estatal, para los sedimentos o la biota se establece una normativa transparente para asegurar un grado de protección a las normas comunitarias sin perjuicio de aquellos requieran normas más estrictas.

Se permite el uso de las zonas de mezcla cerca de los vertidos puntuales y su extensión será proporcionada y limitada a la cercanía del vertido, sin que ello afecte a las normas correspondientes, ya que la contaminación es normalmente superior a la de otras partes.

Cada demarcación hidrográfica establece un inventario de emisiones, vertidos y pérdidas el cual se recogerá creando un registro europeo de emisiones y transferencias de contaminantes evitando así duplicaciones en la información recogida.

Los países que compartan masas de agua superficiales se coordinarán las operaciones de control para obtener una protección completa de las aguas superficiales. Para armonización de los métodos utilizados, se generarán inventarios de emisiones, vertidos y pérdidas. En caso de contaminación transfronteriza, los Estados no incumplirían sus obligaciones si se ven afectados por fuentes situadas fuera de su jurisdicción nacional.

Las conclusiones de este examen, así como los últimos avances tecnológicos para la reducción de la contaminación, se comunicarán al Parlamento Europeo y al Consejo para las medidas de prevención y control de la contaminación. Los cuadros propios tienen como objetivo la concordancia entre directrices para poder lograr una mejor armonización de acuerdo con el principio de subsidiariedad a nivel comunitario.

2.2.2.3. Directiva 2009/90/EC

La presente Directiva establece “especificaciones técnicas del análisis químico y del seguimiento del estado de las aguas, y fija criterios de funcionamiento mínimos de los métodos de análisis que deberán aplicar los Estados miembros en su seguimiento del estado de las aguas, sedimentos y seres vivos, así como, normas dirigidas a demostrar la calidad de los resultados analíticos”.

Debe garantizarse la calidad y la comparabilidad de los resultados analíticos por las autoridades competentes para efectuar el seguimiento químico del agua mediante métodos validados. Para el cumplimiento de estos métodos validados, se deben cumplir unos criterios mínimos de funcionamiento entre los que se incluyen las medidas sobre la incertidumbre y límites de cuantificación de la metodología. La definición de estos criterios debe ser consensuada para garantizar la comparabilidad.

En caso de no existir criterios mínimos para el funcionamiento, se aplicarán las mejores técnicas disponibles, sin que ello acarree unos costes excesivos. Las normas que se establezcan serán sobre el cálculo de los valores medios considerando las mediciones inferiores al límite de cuantificación.

Para garantizar la comparabilidad y la calidad de las operaciones técnicas de los resultados analíticos, se seguirán las prácticas aceptadas internacionalmente para una gestión de calidad, con vistas a sincronizar las prácticas a escala de la unión europea. Los laboratorios que se dediquen a los análisis deberán demostrar su capacidad de actuación mediante la participación en las diversas pruebas disponibles. El resultado de la evaluación del mismo será mediante un criterio general, el cuál sea reconocido internacionalmente.

2.2.2.4. Directiva 2013/39/UE

La presente directiva modifica las Directivas 2000/60/CE y la 2008/105/CE en

cuanto a las sustancias prioritarias dentro de la política de aguas. Los objetivos principales de la misma son:

- Cumplimiento de las normas de calidad ambiental para sustancias prioritarias y el resto de contaminantes establecidos para conseguir un estado químico bueno de las aguas superficiales.

- Identificación de las nuevas sustancias emergentes para desarrollar la lista de sustancias prioritarias e iniciar las acciones prioritarias a nivel europeo.

Tras la revisión de la lista de sustancias prioritarias con arreglo a la DMA, se llegó a la conclusión de que era necesaria la modificación de la lista de sustancias prioritarias tras la identificación de los nuevos contaminantes. Se requirieron la revisión de las normas de calidad de algunas sustancias a nivel europeo, la incorporación de las normas para la biota de algunas sustancias prioritarias, tanto existentes como recién identificadas, y las acciones demandadas a escala de la Unión Europea.

La lista de sustancias prioritarias fue apoyada tras una extensa consulta con expertos de las diversas partes implicadas. Las sustancias de carácter prioritario establecidos son 45, los cuáles son recogidos en el anexo I de la presente Directiva modificando así el anexo II de la Directiva 2008/105/CE.

Los planes hidrológicos de cuenca que se promulguen entre el 2015 y el 2021 incluirán las normas revisadas en las que se incluyan las nuevas sustancias prioritarias. El estado químico de las aguas quedó establecido en el año 2015 según el plazo establecido en la DMA mediante normas de calidad previstas en la Directiva 2008/105/CE en el caso de que éstas fueran las más restrictivas.

Como puntos destacados de la presente Directiva, el punto 15 nos recuerda “la problemática medioambiental emergente debido a la contaminación de aguas y

suelos debido a la acumulación de residuos farmacéuticos. Por ello, la Comisión debe estudiar los efectos negativos derivados de los medicamentos para proporcionar la pertinente y eficaz evaluación, así como el control dentro del marco legislativo que se debe ejercer al medio acuático para alcanzar los objetivos medioambientales”.

En el punto 27 se insta a “obtener datos de gran calidad sobre los efectos toxicológicos y ecotoxicológicos para conseguir un buen seguimiento y poder así lograr una buena evaluación de riesgo de las nuevas sustancias prioritarias”. De igual manera, “se incita al seguimiento de los contaminantes emergentes, que son aquellos que no están incluidos en las listas de seguimientos pero que implican un grave riesgo y, por tanto, conllevarán una regulación según sus efectos y los niveles en que se encuentren en el medio acuático”.

El reto que genera esta Directiva, es dar a la Comisión aquella información que fuera necesaria sobre las nuevas sustancias emergentes en el medio con una calidad contrastada, de tal forma que se pueda generar una tendencia y una evaluación del riesgo del medio acuático. Para mantener un seguimiento bajo unos costes razonables, el mecanismo se centrará en unas sustancias limitadas y que temporalmente se incluirán en una lista de observación. De igual modo, se limitarán los lugares de seguimiento, pero escogidos de tal manera que sea representativos para toda la comunidad europea.

Esta lista será activa, por lo que tendrá un tiempo hasta caducidad, de tal manera que responda de forma renovada a la información actualizada de los nuevos riesgos potenciales que se planteen y, del mismo modo, evitar el seguimiento de sustancias más tiempo del necesario para agilizar y disminuir los costes.

- Lista de observación (Artículo 8 ter)

En el presente artículo, se precisa “una lista de observación para el que se ha

de recabar la información necesaria a nivel de la Unión para que sirva de base a la hora de la asignación de prioridad”.

“La primera lista diseñada para su observación contenía un máximo de 10 sustancias o grupo de sustancias”, en las cuáles “se indica las directrices de seguimiento para estos compuestos y la metodología de análisis que ha de seguirse para evitar costes excesivos”. Las sustancias seleccionadas serán incluidas “en una lista de observación, tras haberse requerido la información necesaria de las mismas y constatar que puedan suponer un riesgo su presencia en el medio acuático en la Unión”. También se incluirán “aquellas cuyos datos de seguimiento sean insuficientes”.

Los compuestos diclofenaco (CAS 15307-79-6), 17-beta-estradiol (E2) (CAS 50-28-2) y 17-alpha-ethinylestradiol (EE2) (CAS 57-63-6) se incluirán en esta lista de observación.

- Disposiciones específicas para sustancias farmacéuticas (Artículo 8 quater)

Tras el resultado de los estudios e informes realizados relativo a los riesgos medioambientales que generan los medicamentos, la Comisión gestionó, en un plazo de dos años, “el diseño del enfoque estratégico más adecuado para los nuevos contaminantes farmacéuticos. Este planteamiento incluirá propuestas para que el impacto que generan estos compuestos farmacológicos sea considerado de manera más eficaz a la hora de ser comercializados”. La Comisión dentro de este enfoque, propondrá “medidas para los Estados miembros”, de tal manera que “se puedan tratar las consecuencias medioambientales derivadas de los fármacos, en especial las mencionadas en el artículo 8 ter, con el fin de disminuir las emisiones, descargas y pérdidas que se introducen en el medio acuáticos. En el mismo orden, se tendrán en cuenta la relación coste/eficacia de las proposiciones, así como, las necesidades de salud pública”.

2.3. ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES

La necesidad de la depuración de las aguas surge desde el mismo instante en el que el agua consumida se usa como elemento para eliminar los desechos producidos por los humanos, convirtiéndose, por tanto, en aguas no aptas para uso, generando a su vez una contaminación que afecta tanto a la flora y fauna como a los propios humanos.

Debido a la evolución de la sociedad y de las constantes mejoras conseguidas, el nivel de contaminación fue creciendo en paralelo. La red de alcantarillado para sólo evacuar las aguas fecales quedó insuficiente y, por ello, se hizo necesaria la investigación de una infraestructura que fuera capaz de reducir los niveles de concentración de los nuevos contaminantes.

Las plantas de tratamiento de aguas residuales aparecen para encargarse de la transformación las aguas procedentes del saneamiento de las aguas domésticas y/o de las aguas industriales, en aguas más limpias para una reintegración más sostenible al ciclo del agua.

A principios del S. XIX, el proceso de industrialización estaba muy avanzado y los problemas de contaminación eran graves. Por ello, los investigadores descubrieron lo que es la base principal de la mayoría de los parques de depuración actuales: los fangos activos. Con este sistema se consigue la eliminación de la materia orgánica y las partículas sólidas coloidales mediante procesos biológicos.

Para conseguir una gran eficiencia en las plantas de depuración a la hora de eliminar fármacos hay que tener en cuenta sus propiedades físico-químicas, ya que debido a su composición cada compuesto responderá de una forma diferente según el tratamiento que se le dé. Los contaminantes orgánicos cambian en la fase acuosa por medio de la biotransformación, hidrólisis y la sorción de los lodos primarios y secundarios (Le-Minh y col., 2010), pero esto no consigue eliminar la totalidad de los contaminantes emergentes.

Cada planta de depuración tiene una tipología específica de funcionamiento que es fija y que se elige a la hora de diseñarla. A parte del tipo elegido, hay que añadir las variables especiales, que pueden cambiar dependiendo del momento. Entre estos factores que pueden cambiar podemos encontrar la composición de las aguas residuales (industrial, doméstica, hospital, etc.), las variaciones estacionales que pueden alterar la actividad bacteriana, los tratamientos biológicos (sorción y biodegradación/biotransformación), condiciones de operación (tipo de lodo, tiempo de retención de los fangos, tiempo de retención hidráulico, biomasa, etc.), temperatura y pH (Gracia-Lor y col., 2012; Kosma y col., 2014; Oller y col., 2014). El hecho de que en una misma planta o plantas semejantes pueda tener diferentes tipos de retención implica que las eficiencias de eliminación puedan variar significativamente (Sun y col., 2014).

Las nuevas tecnologías, que se han ido desarrollando a lo largo de los años, se están introduciendo también a las estaciones depuradoras para obtener mejores rendimientos, como son el foto-Fenton, la oxidación o la fotocatalisis, los cuales se han demostrado efectivos para la eliminación de los fármacos (Sirtori y col., 2009; De la Cruz y col., 2012; Rodríguez y col., 2013; Kanakaraju y col., 2014), sin embargo, todavía no ha tenido gran aceptación para su introducción a las EDAR existentes debido a que su coste de implementación es todavía elevado y pueden generar también subproductos peligrosos.

Otra tecnología, que está dando buenos resultados para la eliminación de fármacos, es el filtro de membranas (Reif y col., 2008). La degradación producida por este sistema puede deberse a las propias membranas o bien al alto tiempo de retención de lodos que se produce en esta clase de depuradoras (Kreuzinger y col., 2004; Sipma y col., 2010).

Clara y col., (2005) concluyeron que las plantas de tratamiento de aguas residuales que trabajaban con reactores de membrana biológica ofrecían más ventajas que los sistemas convencionales, ya que lograban menores emisiones gracias a sus membranas las cuales permiten la detención de partículas. Sin embargo, incluso con el uso de las membranas de ultrafiltración, éstos no logran

retener los compuestos farmacéuticos porque el tamaño estos contaminantes son más pequeños. Göbel y col., (2007) tampoco observaron diferencias de eliminación de sulfonamidas, macrólidos y trimetoprima cuando se compararon reactores biológicos de membrana con reactores convencionales de lecho fijo.

De forma general, las plantas depuradoras se pueden dividir en hasta tres partes dependiendo de la tipología de la planta. De esta manera, tenemos la línea de aguas, la línea de fangos y, en algunos casos, la línea de gases. Dentro de la línea de aguas encontramos los siguientes apartados:

- Pretratamiento: Tiene por objetivo eliminar, del agua residual, la mayor parte de partículas divisibles del agua como pueden ser grandes sólidos, aceites, grasas o arenas.

- Tratamiento primario: Consta principalmente de un decantador que tiene la función de decantar los sólidos en suspensión que queden tras el paso por el pretratamiento.

- Tratamiento secundario: Consta de un reactor biológico el cual persigue la transformación de la materia orgánica coloidal y disuelta que no es separable por operaciones físico-químicas en materia celular decantable para su posterior eliminación en un decantador.

- Tratamiento terciario: Es el tratamiento más novedoso y, aún, muchas estaciones depuradoras carecen de él. Persigue la eliminación o la inactivación de gérmenes mediante filtros (arenas o anillas), radiación ultravioleta o tratamientos químicos como pueden ser la cloración, ozonización, cambio iónico etc.

2.3.1. Pretratamiento

Las depuradoras, generalmente, emplean un sistema de pretratamiento previo a la depuración. Es la obra que encontramos a la llegada y consiste en una arqueta que se sitúa en la cabecera de la planta depuradora y su fin es la concentración de todas las tuberías de agua negras y grises que llegan para ser depuradas. Para evitar posibles desbordamientos por caudales punta, se disponen de vertederos y by-passes de seguridad dentro de la obra de llegada.

Otra fase en el pretratamiento es el pozo de gruesos, sobre todo para aquellas depuradoras que tengan asignadas una gran población a la que asistir, ya que pueden verterse material de gran volumen que en muchos casos debe enviarse directamente a la planta de residuos urbanos.

Tras el paso del agua por el pozo de gruesos, ésta llega al proceso de desbaste en el cual se hace un tamizado más fino del agua mediante rejas, o bien, a través de tamices antes de llegar a las fases de depuración bacteriológica. En estos procesos descritos anteriormente, los fármacos no sufren ninguna clase de transformación o retención ya que el tamaño de las partículas es muy inferior a los que éstos pueden alcanzar.

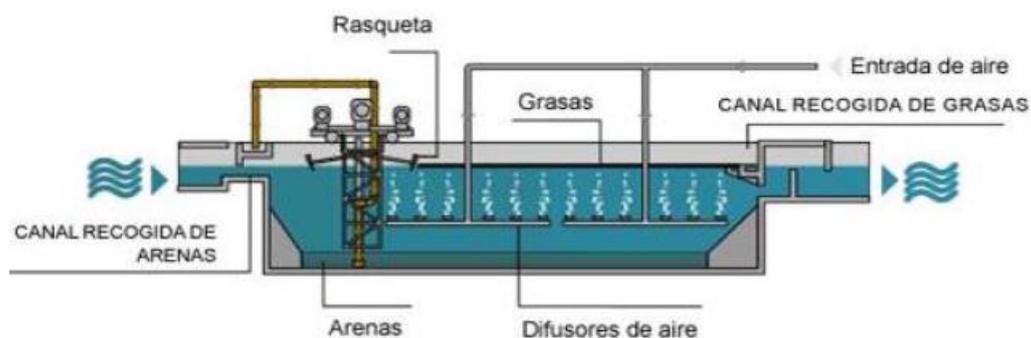


Figura 3. Esquema de funcionamiento del desarenador-desengrasador en la fase de pretratamiento.

Fuente: contenidos.educarex.es, 2018

Como última zona de pretratamiento, encontramos el desarenador-desengrasador (Figura 3) en el cual se quitan las arenas y las grasas que contienen las aguas residuales. En este proceso se podría tener un inicio de degradación las muestras ya que se utiliza aire para emulsionar las grasas, al igual que se reduce la velocidad del flujo para favorecer la decantación de las arenas.

2.3.2. Tratamiento primario

Esta parte de las plantas depuradoras puede llegar a ser omitida en aquellas depuradoras pequeñas, tanto en lo que se refiere al decantador primario como el reactor biológico primario en aquellas depuradoras que tengan un reactor de doble etapa.

En el recorrido del agua a través de la planta, la primera construcción, en caso de ser una estación con reactor doble etapa, es el reactor biológico primario. Esta primera cuba se coloca ya que existen determinados municipios que pueden tener descargas industriales con fuertes cargas biológicas y químicas, y que precisan de este primer tratamiento con un período de oxigenación corto que rebaje su contenido gracias al desarrollo de microorganismos que favorecen los flóculos con propiedades adsorbente, y que son resistentes a sustancias tóxicas y a estas cargas elevadas.

Tras este paso, nos encontramos con el decantador primario (Figura 4) que también puede estar o no, y que es independiente de que una planta tenga doble etapa. Consiste en un gran pozo que, generalmente, es circular en planta y de forma tronco-cónica en el perfil para recoger los sedimentos que caen al fondo.

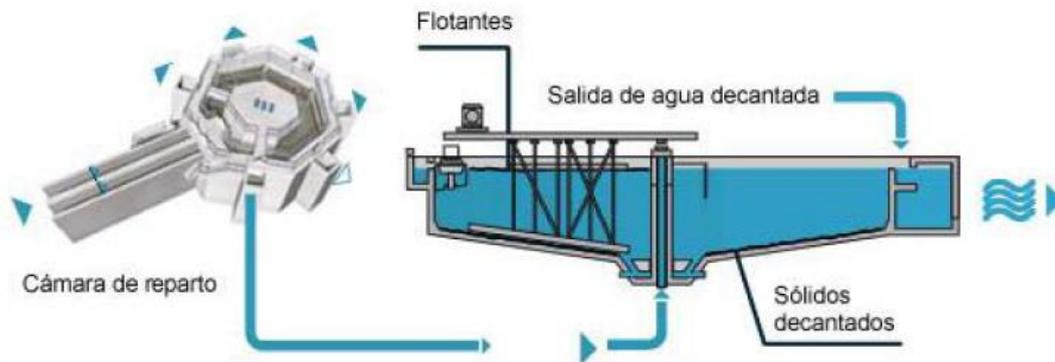


Figura 4. Esquema de funcionamiento de un decantador primario.

Fuente: contenidos.educarex.es, 2018

El fin de estos decantadores es la reducción de los sólidos en suspensión de las aguas por medio de la acción de la gravedad. Es por ello que únicamente los materiales flotantes y los sólidos sedimentables pueden ser eliminados durante esta fase. Generalmente se consigue una eliminación del 50-65% de los sólidos en suspensión con respecto al agua que entra a la depuradora. Esta reducción lleva complementada una disminución de entre el 30 y 35% de la demanda biológica de oxígeno (DBO_5).

2.3.3. Tratamiento secundario

La gran mayoría de las plantas con un tamaño medio tienen este tratamiento. Se trata de un sistema similar al tratamiento primario, pero con mayor importancia ya que el reactor biológico principal se puede decir que es el motor de la planta depuradora ya que las partículas sólidas y materia orgánica, que no han sido eliminados anteriormente, se depuran en esta zona a través de los procesos biológicos mediante la transformación en materia decantable de aquella materia orgánica disuelta y coloidal que no es posible extraer mediante operaciones físico-químicas. Esto se consigue mediante el crecimiento en el reactor biológico de

microorganismos que se unen a la materia orgánica e inorgánica, de forma que se creen elementos insolubles que puedan ser retirados en el decantador secundario como fango.

A través del reactor biológico se producen muchas fases de transformación que afectan a los fármacos como la nitrificación-desnitrificación, la eliminación de fósforo o la degradación de la materia orgánica mediante el uso de diferente volumen de oxígeno disuelto y que dan lugar a distintos tipos de bacterias dentro del reactor.



Figura 5. Vista de un reactor biológico de fangos activos de flujo pistón y un reactor biológico de fangos activos en carrusel.

Fuente: iagua.es, 2017

Aunque el reactor pueda estar construido de diversas formas, los más habituales son los reactores de flujo pistón y los de carrusel (Figura 5), aunque en todos ellos se producen, de mayor o menor manera, todos los procesos descritos en el párrafo anterior.

Tras su paso por el reactor biológico, el agua llega a un nuevo decantador dónde los flóculos formados anteriormente decantan y son retirados por la parte inferior, mientras que por la parte superior se obtiene un efluente libre de sólidos en suspensión y, por tanto, clarificado. Este decantador secundario es omitido en

aquellas plantas depuradoras que posteriormente tengan un reactor de membranas (MBR).



Figura 6. Instalación de casetes de membranas de ultrafiltración.

Fuente: directindustry-china.cn, 2017

El MBR (Figura 6) se puede considerar tanto como tratamiento secundario ya que se queda con los fangos del reactor biológico, como tratamiento terciario ya que utiliza membranas de ultrafiltración. Actualmente este sistema está teniendo una gran aceptación ya que se consiguen buenos clarificados. En lo que se refiere a los compuestos farmacéuticos, las membranas de ultrafiltración no suponen, en principio, una barrera para el paso de los fármacos ya que el tamaño de los compuestos es inferior que las membranas de filtración. Sin embargo, los altos tiempos de retención de lodos que se producen en esta fase, sí que puede afectar a la degradación de los compuestos farmacéuticos.

2.3.4. Tratamiento terciario

Este sistema es parcialmente nuevo, ya que muchas de los parques de depuración no tienen este tratamiento final, aunque actualmente todas las plantas con un volumen medio de aguas se construyen con este sistema para conseguir un

buen efluente.

Dentro del tratamiento terciario, el agua es depurada mediante procesos físicos, mediante radiación y mediante químicos. Las plantas depuradoras pueden elegir entre tener todos los procesos o solo alguno de ellos. Con ello se busca la desinfección de las aguas previamente a ser vertidas a algún cauce, o a ser reutilizadas para riego en áreas con escasez de agua (Malchi y col., 2014; Christou y col., 2017).

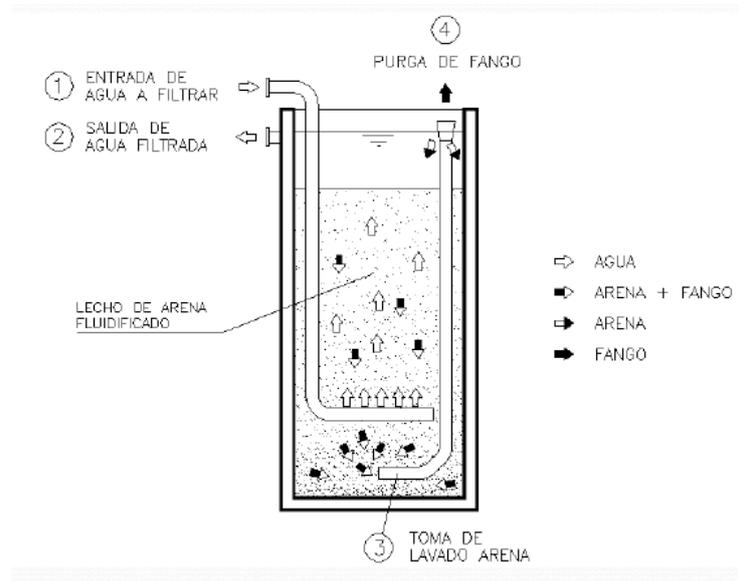


Figura 7. Esquema de funcionamiento del filtro de arenas en el tratamiento terciario de una EDAR.

Fuente: Sistema de tratamiento del agua, 2016

En cuanto a los procesos físicos, nos encontramos los filtros de anillas, los filtros de discos o los filtros de arenas (Figura 7) que son los más empleados. Tienen como misión eliminar los sólidos en suspensión y los coloides que pudieran quedar en las aguas. También con este sistema se pueden eliminar gérmenes si se ejecuta una estrategia de retención del agua en este punto. Si bien, este proceso al ser un paso por filtros, y al igual que sucede con los MBR, los compuestos farmacéuticos tienen un tamaño más pequeño que estos filtros.

Respecto a los procesos de radiación, tenemos las bancadas de ultravioletas (Figura 8) como sistema más utilizado para la desinfección de las aguas. Este sistema al ser de radiación, sí que afecta llega a las cadenas de los compuestos, aunque sus periodos de retención sean muy cortos. Entre otros sistemas de radiación que todavía están en desarrollo, y que aún no se han implementado de forma regular en las plantas, tenemos el plasma no térmico o la electrodiálisis reversible.

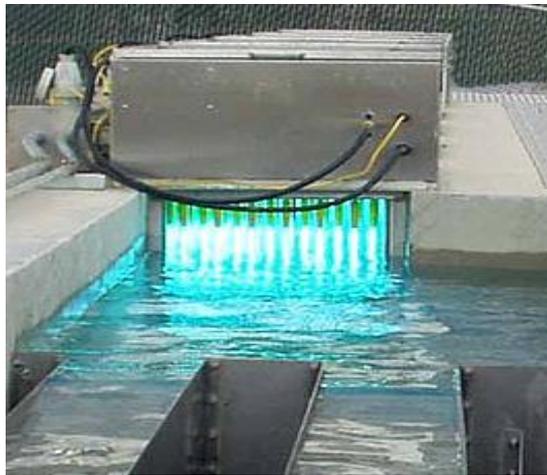


Figura 8. Efluente de las aguas tras su paso por las bancadas con lámparas de radiación ultravioleta.

Fuente: aguasindustriales.es, 2017

Por último, encontramos los procesos químicos, el más extendido es la cloración del agua previa al vertido. Con ello, se consigue la inactivación de la mayoría de los gérmenes, si bien, debe ser usado en las dosis adecuadas ya que es peligroso para la naturaleza al igual que es altamente corrosivo. Al igual que en los procesos de radiación, se están desarrollando nuevos procesos como la fotocatalisis con dióxido de titanio o el uso de ozono, pero actualmente su uso está limitado por los costos.

2.4. SISTEMA DE EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

La extracción en fase sólida (SPE) es una herramienta simple en cuanto a técnica empleada y potente en cuanto los resultados que puede generar. Entre otras características podemos destacar que es rápida y económica. Un cartucho SPE es un tubo desechable que consta de una capa de partículas gruesas adsorbente y que esta mantenido entre dos discos porosos. Este sistema permite, con un riesgo mínimo contaminación o de pérdida, la pre-concentración de la muestra. Los compuestos que desean ser analizados, resultan retenidos mientras que los contaminantes de la matriz se eluyen.

El método prepara, de forma rápida, las muestras mediante la concentración y la purificación de los fármacos buscados, antes de proceder a su análisis por técnicas cromatográficas como HPLC, GC-MS o HPLC-MS. Durante las últimas dos décadas, la SPE ha aumentado firmemente su aceptación entre la comunidad analítica, y ha reemplazado rápidamente a métodos tradicionales como la extracción líquido-líquido (LLE) (Huetos, 2004).

Además, la extracción en fase sólida (SPE) no sólo evita las dificultades que se generan en otros métodos, sino que también reduce considerablemente el uso de disolventes orgánicos. Aun así, la etapa de extracción puede considerarse como otro punto crítico del análisis, ya que la falta de automatización hace que esta etapa sea la que consume mayor tiempo, pudiendo superar el 60% del tiempo total del análisis.

Los químicos utilizados en la fase de extracción sólida son materiales similares al HPLC. El proceso de SPE realizado, llevado a la situación extrema, se asemeja a la cromatografía de baja resolución en dos disposiciones: mínima retención adquirida durante la retención y máxima contención durante el paso de la muestra de los analitos.

El formato más común consiste en columnas fabricadas principalmente de

propileno. El adsorbente se mantiene fijo gracias a dos discos porosos que normalmente son partículas gruesas de polipropileno sintetizadas. El tamaño de las partículas, entre 40 y 60 μm de diámetro, es tal que permite el paso de líquidos con una succión mediante vacío. Este método conlleva esperas si el volumen de muestra es elevado, o si contiene excesivas partículas en suspensión, es por ello, que se realiza el antes de la extracción se realiza un pretratamiento de las muestras para evitar esta obturación.

La SPE, comparada con otras metodologías, se puede reproducir, tiene un gasto bajo de disolventes orgánico y permite ser selectiva. La eficiencia demostrada durante el proceso de extracción depende de muchos factores, pero la capacidad de absorber y la cualidad de retener los fármacos, son los más importantes. Esta herramienta permite utilizar diferentes clases de adsorbentes sin embargo, para conseguir retener contaminantes emergentes de matrices acuosas se utilizan los más genéricos. Entre los más utilizados, encontramos los de sílice enlazado (C-18 o C8) y los poliméricos (Isolute 101[®], LiChrolut[®] EN, Isolute ENV+[®], Oasis HLB[®], StrataX[®]) (Robles y col., 2011).

En casos como el del presente trabajo, el relleno del cartucho de todos los análisis es de octadecil-sílice (C18, también conocido como fase reversa, con gran afinidad hacia sustancias hidrófobas),

Los cartuchos utilizados tienen estructura básica como la de figura 15:

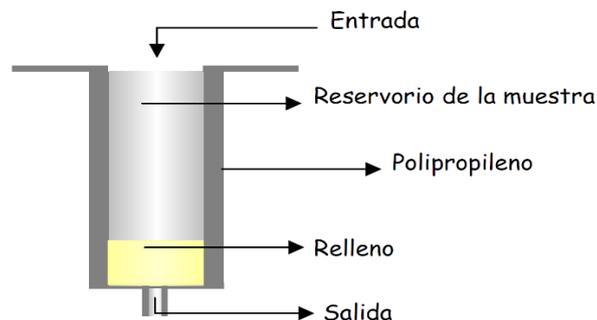


Figura 15. Esquema de la estructura básica de un cartucho de extracción.

Fuente: (Huetos, 2004).

Los campos en los que se aplican estas técnicas de purificación de muestras, enriquecimiento de trazas y procedimiento rápido de separación son los que se muestran en la tabla 4:

Tabla 4. Campos de aplicación de la extracción en fase sólida.

Fuente: (Peteiro, 2011)

Fármaco	Clínica	Alimentación y agricultura	Medio ambiente
-Extracción de componentes activos. -Análisis farmacéuticos -Péptidos -Preparativo de muestras farmacéuticas	-Drogas terapéuticas y de abuso -Ciclosporina, esteroides, metabolitos de la vitamina D, lípidos, catecolaminas, triglicéridos, etc.	-Limpieza de muestras complejas -Extracción en petroquímica, ácidos, bases, aceites de pescado, tejidos vegetales y otro analitos químicos y biológicos	-Sedimentos -Vegetales -Tejidos animales y sueros -Análisis de aguas residuales y superficiales -Residuos de pesticidas, herbicidas y contaminantes

En la figura 16, se muestra una fotografía de uno de los dispositivos utilizados en el laboratorio para el procedimiento de extracción, que consiste en una cámara de vidrio en la que se puede realizar un vacío gracias a una bomba capaz de impulsar las disoluciones y la muestra a través de los cartuchos de extracción.



Figura 16. Etapa de extracción en fase sólida de las muestras a través de los cartuchos con la bomba de vacío.

Fuente: Elaboración propia, 2017

2.5. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESIÓN

La cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es un tipo de cromatografía en columna que es usada, frecuentemente, en química y bioquímica analítica. También se la denomina como cromatografía líquida de alta presión o de alta resolución. El HPLC es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.

La tecnología para la detección de estos compuestos ha ido evolucionando a lo largo de los años. En los inicios, se podían analizar estos compuestos en rangos de ug/L con el cromatógrafo líquida de alta presión acoplado a un detector con matriz de diodos, o bien, por ultravioleta (Camacho-Muñoz y col., 2009). La siguiente generación de detectores permite llegar hasta concentraciones de ng/L

mediante los espectrómetros de masas (Yang y col., 2011). Actualmente, se puede poner acoplado al HPLC un detector magneto nuclear, para garantizar que el elemento detectado es el compuesto original mediante una imagen 3D del mismo (Maggio y col., 2014). La tendencia de detección nos va a llevar a conseguir concentraciones del orden de partes por trillón (Bravo y col., 2013).

Se trata un método fiable y de bajo costo para determinar de manera simultánea los compuestos farmacéuticos más comunes, de acuerdo con varias revistas, tanto en efluente como influente de las estaciones depuradoras, usando este equipo HPLC acoplado a un conjunto de diodos, a un detector fluorescente o a un espectrómetro de masas (Göbel y col., 2007; Fent y col., 2006; Klavarioti y col., 2009; Heberer, 2002a; Nikolaou y col., 2007).

Entre las razones de su popularidad encontramos la facilidad de adaptarse a determinaciones cuantitativas exactas, la gran sensibilidad que ofrece, la idoneidad y la gran aplicación para extracción de compuestos a bajo cantidad y especies volátiles. La necesidad de encontrar sustancias de primordial interés para la sociedad, los diversos campos de la ciencia y en la industria, hacen esta herramienta realmente importante (Skoog, 1998).

La técnica separa los componentes de una mezcla que se basa en las diferentes interacciones químicas existentes entre las sustancias buscadas y la columna cromatográfica seleccionada. Básicamente, es un sistema compuesto de una fase móvil, bomba, inyector, columna de separación y detector (Figura 17).

Mediante su bombeo a alta presión se introduce la muestra que pasa mediante su fase estacionaria a través de la columna cromatográfica. Dependiendo de las interacciones físicas o químicas que se producen en la fase estacionaria, los componentes, que se introducen en pequeñas cantidades, se retrasan (Peteiro, 2011).

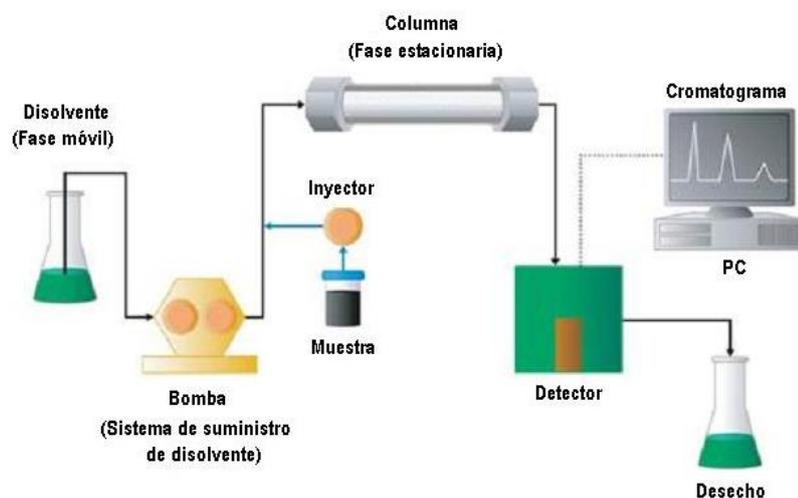


Figura 17. Esquema del funcionamiento del sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia.

Fuente: Adaptación de Waters Corporation, 2015

Según la materia del compuesto analizado y de los componentes de las fases estacionaria y móvil, el grado de retención de la muestra varía significativamente. El tiempo retención de una muestra es el tiempo que necesita un compuesto para pasar por la columna y esta propiedad, dependiendo de la fase móvil y estacionaria, se considera una característica identificativa. El uso de alta presión en esta clase de cromatografías reduce la diseminación de la muestra dentro de la columna, obteniendo, así, una mayor resolución en los cromatogramas, e incrementa, del mismo modo, la velocidad lineal dentro de la columna de los compuestos. El metanol, el agua y el acetonitrilo son los disolventes más empleados.

La columna, que interviene como fase estacionaria, y que lleva el relleno cromatográfico está hecho de acero inoxidable (Figura 18), la mayoría de las veces, ya que también se pueden encontrar de vidrio. Su diámetro está entre 2 y 10 mm aunque pueden llegar a los 50 mm en los de vidrio. Por otra parte, la longitud está en el entorno de 10 a 30 cm.

Existen varias maneras de conservar las columnas. Una de ellas es con la ubicación de una columna previa (precolumna) que elimine los materiales en suspensión de anteriores usos, al igual que los contaminantes de los disolventes y los componentes de las muestras anteriores que se adhieren. Otro método para la limpieza de las columnas del HPLC es el lavado de la misma con metanol para arrastrar fuera los residuos que pudiesen quedar. Éste último método fue el usado por el equipo para la limpieza de la columna.



Figura 18. Columna de HPLC utilizada para el análisis de las muestras.

Fuente: Elaboración propia, 2015

Otro apartado transcendental es el relleno, que puede ser de diferentes tipos como son el gel de sílice, gel de polímeros u otros geles. En nuestro caso, el relleno es de gel de sílice el cual es el más empleado. El gel de sílice, dióxido de silicio (SiO_2) es una forma granular y porosa. Se han desarrollado tamaño de partículas más pequeñas. La principal línea y la más común, en cuanto a tamaño de partícula, es la de $5 \mu\text{m}$, pero las hay de tamaño aún más pequeño como las de $1.5 \sim 3 \mu\text{m}$ que también pueden usarse. Los geles más pequeños se envasan en una cobertura de columna más pequeña lo que hace disminuir el tiempo de análisis.

El grupo funcional más frecuentemente utilizado es el octadecilo el cual es una cadena recta de 18 carbonos. A menudo también se llama columna C18. Un gran número de esta cadena de hidrocarburo se encuentra ligada en la superficie

del gel de sílice. Además, estas cadenas también se encuentran, incluso, en el interior de los poros del gel de sílice.

En el proceso de separación, el fluido que atraviesa la fase fija (columna), es la fase móvil. Tras las específicas interacciones que se producen entre las dos fases, estacionaria y móvil, mediante sus moléculas, se obtiene la separación cromatográfica en HPLC.

El HPLC es idóneo para separar productos lábiles naturales, macromoléculas y especies iónicas, materiales poliméricos y una gran variedad de otros grupos polifuncionales de alto peso molecular mediante una fase móvil líquida interactiva en adición a una fase estacionaria activa.

Los compuestos analizados son introducidos mediante la fase estacionaria por la columna (figura 19). Esta columna, generalmente, es un cilindro en el que interiormente tiene unas partículas redondas pequeñas con unas características químicas particulares. El funcionamiento se efectúa mediante el paso de la fase móvil a alta presión debido al bombeo empleado. Este sistema funciona mediante la introducción de la muestra a pequeñas cantidades. Las muestras, a su paso por la columna, se van retrasando dependiendo de las interacciones, químicas y/o físicas, anteriormente mencionadas.



Figura 19. Inyección de la muestra a través de la columna de HLPC en tiempo 0.

Fuente: Adaptación de Waters Corporation, 2015

Pasado un tiempo, (Figura 20) la fase móvil, que sigue fluyendo de forma continua y constante a través del material de la columna, se va separando en diferentes bandas a diferentes velocidades. La diferente velocidad de separación se debe a una distinta afinidad entre la fase móvil y la fase estacionaria para cada uno

de los compuestos.

En la figura 20, la banda de colorante amarillo es la menos afín con la fase estacionaria, es menos retenida por ésta, por lo que sale antes de la columna, a una velocidad de elución más cercana a la de la fase móvil.

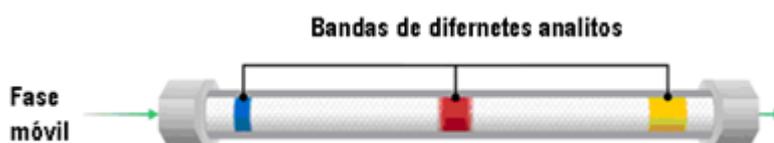


Figura 20. Inyección de la muestra transcurridos unos minutos.

Fuente: Adaptación de Waters Corporation, 2015

Dado que cada compuesto se mueve a una velocidad diferente, es posible separar por cromatografía y posteriormente identificar cada compuesto de la mezcla, como el caso de los fármacos en una muestra de agua residual.

La cromatografía líquida de alta resolución se le acoplan con diversos detectores los cuales aumentan su sensibilidad y exactitud en determinaciones cuantitativas y, también, su capacidad para la separación de compuestos polares, no volátiles y termolábiles, lo que las hace aplicables a un gran número de contaminantes ambientales de interés. La utilización de HPLC con detectores permite un fácil y rápido seguimiento de la cinética de degradación de uno o varios compuestos.

Los detectores contienen una celda de flujo que detecta cada banda de compuesto separado al hacerle incidir algún tipo de radiación electromagnética. El compuesto, entonces, experimenta un fenómeno de absorción de esta radiación que resulta en una señal eléctrica que es recogida y procesada, dando lugar a un cromatograma, que es la representación gráfica de la separación (Figura 21).

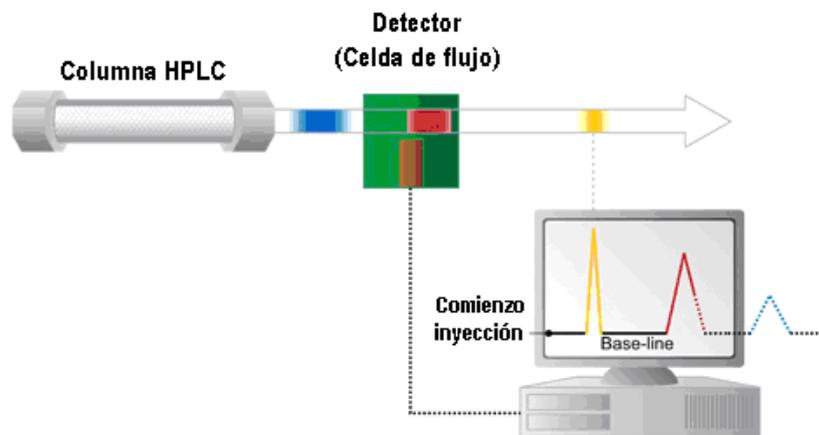


Figura 21. Esquema de detección del equipo HPLC.

Fuente: Adaptación de Waters Corporation, 2015

III – METODOLOGÍA

III – METODOLOGÍA

3.1. ÁREA DE ESTUDIO

La Región de Murcia se localiza en el sureste de España, con una superficie total de 11.313 km². Entre las ciudades más importantes de esta región encontramos Murcia, Cartagena y Lorca cuyos municipios superan los 100.000 habitantes.

Tal como se ha explicado en el apartado 1.2 del capítulo 1, esta región se enmarca dentro del clima mediterráneo seco que ofrece unos inviernos templados con lluvias puntuales, unos veranos calurosos y unas primaveras y otoños variables. Esto provoca que el régimen hídrico dentro de este sistema sea bajo.

Por ello, dentro de la Región de Murcia se apostó por la reutilización de las aguas para usarlas mayoritariamente como aguas de riego tras la depuración de las mismas en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Se escogió esta región, para realizar el análisis de estos nuevos compuestos emergentes en el ciclo del agua, ya que es un área donde es muy importante el agua y se requiere una calidad mínima para poder reutilizarlas.

El estudio específico de cada área y de cada estación depuradora de aguas residuales escogida se desarrolla en los capítulos posteriores, en los cuales se realizaron los análisis de las aguas y el balance de los resultados obtenidos.

3.2. CRITERIO DE SELECCIÓN DE FÁRMACOS

En esta tesis, se han estudiado cinco compuestos farmacéuticos, aunque en el primer análisis (capítulo 4) sólo se investigaron cuatro compuestos debido a interferencias obtenidas en el análisis del ibuprofeno. Entre los compuestos seleccionados, uno es un antiepiléptico y cuatro son antiinflamatorios no esteroideos (AINE). La selección de los fármacos se basó en los criterios que se

muestran a continuación:

- Fármacos que en la sociedad estén presentes y tengan un uso continuo. También se ha previsto que, para conseguir una evaluación más óptima sobre el comportamiento, los compuestos sean de una misma familia.
- Fármacos que se encuentren en el foco dentro de la normativa Europea y para los que se pida un control especial.
- Fármacos que anteriormente hayan sido detectados en otras investigaciones (Camacho-Muñoz y col., 2009) y que se haya demostrado que generalmente están presentes en el medio ambiente y en las aguas residuales (Sipma y col., 2010).
- Fármacos que sean de amplio uso y que sirvan de elemento diferenciador con los fármacos escogidos dentro de la misma familia.

Con los criterios mencionados en el párrafo anterior, se pueden concluir la siguiente lista de cinco fármacos para el comienzo de la investigación y la cual se compone de los compuestos carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y ketoprofeno.

Entre el diclofenaco, 17-beta-estradiol (E2) y 17-alpha-ethinylestradiol (EE2), que se proponen dentro de la normativa europea, por su mayor consumo y uso dentro de los fármacos, se ha elegido el diclofenaco.

El fármaco seleccionado (diclofenaco), se encuentra incluido dentro de la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Fármacos ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno (Camacho-Muñoz y col., 2009), se encuentran también dentro de esa familia del mismo modo que son fármacos ampliamente investigados y usados.

Por su amplio uso e importancia para la epilepsia, la carbamazepina es la

elegida como el otro medicamento a analizar. Este compuesto ha sido objeto de diversas investigaciones y se encuentra también regulado por los diversos organismos sanitarios (Stamatelatou y col., 2003; Santos y col., 2005).

3.3. METODOLOGÍA DEL MUESTREO

El muestreo de las aguas, fangos y sedimentos en los distintos puntos que se proponen, se describirán en los capítulos posteriores. Las aguas pueden ser recogidas mediante una cazoleta (con pértiga, en caso de ser necesario) si el muestreo realizado es puntual, o bien, se puede usar un tomamuestras el cual recoge una cantidad de agua cada hora durante 24 horas. Con esto conseguimos un muestreo integral y se podrá emplear en el caso que sea posible (figura 9). Cada caso empleado se describe de forma detallada en cada capítulo en el que se describa una analítica.



Figura 9. Tomamuestras automático de 24 horas en el influente de la planta y muestreo puntual de las muestras en el efluente.

Fuente: Elaboración propia, 2015

La forma de recogida de las muestras de agua y de sedimentos, así como, la forma de traslado hasta el laboratorio y su posterior tratamiento, vienen recogidas

puntualmente en cada uno de los capítulos que se describen posteriormente.

3.4. MATERIALES EMPLEADOS DURANTE LA EXTRACCIÓN

Una vez que se realizan los muestreos en los lugares establecidos, se inician los procesos de tratamiento del agua para su mantenimiento y el posterior análisis de la misma. Para la ejecución de tales procesos, son necesarios una serie de instrumentos para la obtención de los resultados.

Para el análisis y la detección de los compuestos, es necesario contar con los patrones de los compuestos que se están investigando con una alta pureza para realizarles el mismo proceso de extracción que las muestras recogidas, pero en su caso con agua ultrapura y, también, para realizarles un análisis directo con el cromatógrafo líquido de alta presión para su calibración y para poder obtener una recta patrón, con la cual poder sacar la concentración de cada compuesto tras su análisis.

Los fármacos estándar adquiridos (figura 10) para realizar estas funciones fueron ibuprofeno (pureza > 98%), carbamazepina (pureza > 98%), naproxeno (pureza > 99%), ketoprofeno (pureza > 98%) y diclofenaco (pureza > 98%) y fueron proporcionados por Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania). Se realizaron stocks individuales de cada fármaco que fueron preparados en 500 µg/mL y se almacenaron a -20 °C en la oscuridad.



Figura 10. Muestra de los patrones naproxeno, carbamazepina e ibuprofeno utilizados para su detección en el cromatógrafo.

Fuente: Elaboración propia, 2017

Por otra parte, es necesario el uso de patrones internos para saber las pérdidas que se ocasionan debido al proceso de extracción. Su utilización se hace imprescindible ya que durante el proceso se puede producir la degradación de las muestras analizadas debido al tiempo o, por su parte, pueden quedarse retenidos en los filtros usados o en los cartuchos de extracción.

Como a las muestras tomadas no se les pueden añadir los fármacos estándar, ya que se solaparían con las concentraciones propias del muestreo haciendo imposible una diferenciación, se utilizan unos patrones internos que tienen marcados uno de los isótopos de los fármacos.

El comportamiento de estos compuestos modificados es idéntico al parental, por lo que las pérdidas que sufra durante la extracción, será la degradación que tenga el compuesto que estamos buscando. Los isótopos marcados suelen ser con un átomo más de carbono o hidrógeno o nitrógeno.

La ventaja de estos patrones es que no se mezclan, una vez echados, a las muestras con las concentraciones y, por tanto, se pueden diferenciar una vez que es analizado por el cromatógrafo líquido de alta presión acoplado al menos con

sistema de masas. En cromatógrafos que tengan un detector de matriz de diodos o ultravioletas no pueden realizar dicha diferenciación ya que los resultados aparecerán mezclados, por lo que directamente se utilizan los patrones estándar.

Una vez obtenido el resultado de las concentraciones del muestreo y de la concentración final obtenida de los patrones marcados, habrá que ajustar esos datos con la concentración inicial para saber las pérdidas ocasionadas por el proceso de extracción.

Los patrones internos marcados (figura 11) utilizados fueron carbamazepina-D₁₀ en solución 100 µg/mL en metanol, diclofenaco-(anillo acetofenil -¹³C₆) cloruro de sodio 4,5-hidratado VETRANAL con un grado de pureza > 98%, e ibuprofeno-d₃, fueron adquiridos a Sigma-Aldrich, (Steinheim, Germany). Para el ajuste de los fármacos ketoprofeno y naproxeno se usaron los patrones internos diclofenaco e ibuprofeno ya que sus estructuras químicas son muy similares y el comportamiento es el mismo. Se preparó una solución intermedia de cada patrón interno a una concentración de 2,5 µg/mL, en una solución de metanol y almacenándose a -20°C para evitar su degradación.



Figura 11. Patrones internos de la carbamazepina, ibuprofeno y diclofenaco para determinar la pérdida debido al proceso de extracción.

Fuente: Elaboración propia, 2017

Para recoger las muestras, se utilizaron botellas de cristal ámbar de 2 litros ya

que se favorece la preservación de los compuestos farmacéuticos debido a que, sin esta protección, aumentaría la fotodegradación durante el traslado, lo cual sería una pérdida que no podríamos cuantificar. En caso de volúmenes de muestreo que requirieran de mucha capacidad, se utilizaron recipientes de plástico de polietileno de alta densidad.

En cuanto a material fungible, encontramos dos clases filtros (figura 12). Para evitar la obturación de los cartuchos fueron utilizados filtros de microfibras de vidrio de borosilicato (GMFF) con tamaño de poro de $0,7\ \mu\text{m}$ y 47mm de diámetro que fueron comprados a Scharlau (Barcelona, España). Por otro lado, para evitar posibles alteraciones en los cromatógrafos por partículas grandes que se hubiesen podido introducir, se utilizaron filtros de nylon de $0,45\ \mu\text{m}$ de tamaño de poro y 25 mm de diámetro que fueron suministrados por análisis vinícolas S.A. (Tomelloso, España).



Figura 12. Filtros utilizados para la retención de las partículas que obturarían el proceso de extracción en fase sólida.

Fuente: Elaboración propia, 2017

Para la presente tesis, se utilizó en primaria instancia cartuchos de extracción ExtraBond® NH2 500mg-6 mL que se obtuvieron de Scharlab (Barcelona, España). Debido a la evolución en los análisis y para una mayor precisión se pasaron a usar cartuchos de extracción Oasis HLB (60 mg, 3 mL) y fueron suministrados de Waters

Corporation (Dublín, Irlanda).

El agua ultrapura (gradiente HPLC) fue utilizada para las muestras en blanco, las cuales se usan para garantizar que durante el proceso de extracción de las muestras no existen agentes externos que hagan que aumenten la concentración real de las muestras. De igual modo, se usan para la recuperación de los estándares y para la activación y el lavado de los cartuchos. Fue comprada a Scharlau (Barcelona, España).

Como disolventes, durante el proceso de extracción, se utilizaron metanol (grado HPLC), acetona (grado HPLC), metil tert-butil éter (MTBE, grado HPLC) y n-hexano (grado de reactivo 96%) de Scharlau (Barcelona, España). Los disolventes (figura 13) fueron usados de distintas formas, como se exponen en los sucesivos capítulos de la presente tesis, pero de forma breve, se usaron para la activación, el lavado, la elución o la reconstitución de las muestras, así como, para el lavado de los materiales.

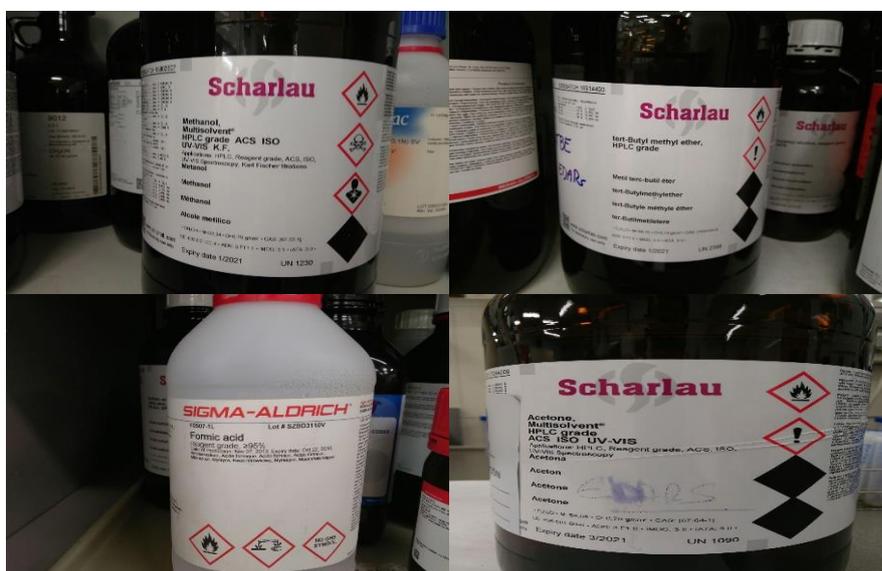


Figura 13. Muestra de los químicos metanol, MTBE, ácido fórmico y acetona empleados durante el proceso de extracción.

Fuente: Elaboración propia, 2017

Para acidificar las muestras de las aguas muestreadas, para mantenerlas y que los procesos biológicos se detengan, se usó en los primeros muestreos ácido sulfúrico (95-97%) o ácido acético, que se adquirieron en Scharlab (Barcelona, España). Debido a interferencias que surgieron en el UHLC, se pasó a acidificar con ácido fórmico con pureza < 95% (figura 13) para rebajar el pH obteniéndose de Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania).

Para proceder con el tratamiento de las muestras sólidas, los diferentes métodos exigen que la muestra esté completamente seca para su extracción. La humedad se puede quitar mediante el aumento de la temperatura, pero en este sentido los fármacos que se pretenden analizar podrían ser degradados. Por ello, y previa congelación de las muestras, se usó la liofilización durante 24 horas, a -52°C con una presión de 0,045 atmósferas con el liofilizador Christ alpha 1-2 / LD plus (figura 14) para extraer la humedad de las muestras sólidas.

En cuanto a los sedimentos y residuos secos, que se muestrearon, también se tuvieron que dejar en desecadores ya que el proceso no puede tener humedad. Para ello se usó gel de sílice con un indicador de humedad (tamaño: 2,5-6 mm) comprado a Scharlab (Barcelona, España).



Figura 14. Liofilizador y evaporador de nitrógeno utilizados durante el tratamiento de las muestras.

Fuente: Elaboración propia, 2017

Para la evaporación de los eluyentes obtenidos, los cuales posteriormente son reconstituidos para su análisis final, se utilizó el evaporador TurboVap LV (figura 14) que utiliza una corriente de nitrógeno que acelera el proceso de evaporación de las muestras con la ventaja de que no degrada los fármacos por su contacto.

3.5. LÍMITES DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN DE LOS CROMATÓGRAFOS LÍQUIDOS DE ALTA PRESIÓN EMPLEADOS

En la presente tesis se han empleado tres cromatógrafos, en diferentes momentos de la investigación, para la obtención de los resultados que se detallan en los siguientes capítulos.

El primer cromatógrafo usado fue Shimadzu SPD-M10Avp, equipado con un detector de matriz de diodos UV SPD-M10AVP (DAD) y un detector de exploración de fluorescencia RF-10AXL (Fl) conectados en línea. Los límites de detección y cuantificación de este cromatógrafo se reflejan en la tabla 5.

Tabla 5. Límites de detección y cuantificación del HPLC-DAD Shimadzu SPD-M10Avp.

Fuente: Elaboración propia

Fármaco	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
<i>Carbamazepina</i>	60	150
<i>Ketoprofeno</i>	90	310
<i>Naproxeno</i>	80	280
<i>Diclofenaco</i>	60	170

El siguiente cromatógrafo utilizado fue el facilitado por la universidad de Ámsterdam, con el cual se rebajaron los límites para la identificación de los fármacos. La marca del cromatógrafo fue cromatógrafo Shimadzu LC-20AD XR, con un espectrómetro acoplado 4000 Q TRAP MS / MS. La tabla 6 define los límites

de detección y cuantificación de este aparato.

Tabla 6. Límites de detección y cuantificación del HPLC-MS/MS Shimadzu LC-20AD XR.

Fuente: Elaboración propia

Fármaco	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
<i>Carbamazepina</i>	20	40
<i>Ketoprofeno</i>	10	20
<i>Naproxeno</i>	50	70
<i>Diclofenaco</i>	50	80
<i>Ibuprofeno</i>	20	40

El último de los cromatógrafos utilizados para la presente tesis fue UPLC Acquity I-Class acoplado con un sistema HR-QTOF-MS maXis Series. Este sistema es una mejora en los tiempos respecto al cromatógrafo anterior.

Tabla 7. Límites de detección y cuantificación del UPLC-QTOF Acquity I-Class para las muestras de agua.

Fuente: Elaboración propia

Fármaco	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
<i>Carbamazepina</i>	1	4
<i>Diclofenaco</i>	10	80
<i>Ibuprofeno</i>	60	400
<i>Ketoprofeno</i>	20	30
<i>Naproxeno</i>	30	200

Éste cromatógrafo es capaz de trabajar con presiones superiores (Ultra performance liquid chromatography), de igual forma que el acople utilizado como

detector, el “quadrupole-time of flight”, es un paso más adelante que el detector de masas a la hora de analizar estos compuestos. En la tabla 7 y 8, se reflejan los límites de detección y cuantificación de esta máquina según el muestreo fuera de agua o de fango.

Tabla 8. Límites de detección y cuantificación del UPLC-QTOF Acuity I-Class para las muestras de lodo.

Fuente: Elaboración propia

Fármaco	LOD (ng/kg)	LOQ (ng/kg)
<i>Carbamazepina</i>	10	60
<i>Diclofenaco</i>	110	900
<i>Ibuprofeno</i>	450	1940
<i>Ketoprofeno</i>	50	500
<i>Naproxeno</i>	380	1000

3.6. CONTROL DE CALIDAD

Los estudios de calidad y recuperación de las muestras que finalmente se analizaban con un cromatógrafo acoplado a una matriz de diodos (HPLC-DAD), se realizaron por triplicado añadiendo alícuotas con los compuestos farmacéuticamente activos a un nivel de concentración de 5 µg/L. Se aplicó el procedimiento de preparación de muestras descrito en la sección de preparación de muestras. Las recuperaciones se calcularon comparando las áreas de los picos obtenidos de las muestras enriquecidas con las áreas de los picos de las mismas muestras sin adición de solución estándar (blancos) y, finalmente, con las áreas obtenidas por inyección directa de una solución estándar al nivel de concentración esperado después de la muestra tratamiento.

Las recuperaciones de extracción para los compuestos analizados por el HPLC-MS/MS o por el UPLC-QTOF se determinaron para diferentes matrices

(agua y sedimento) mediante el enriquecimiento de muestras ($n = 3$) a 100 ng/mL. Para cada tipo de muestras de agua y sedimentos, las recuperaciones se determinaron comparando una muestra repetida, que se añadió antes del procedimiento de SPE, y la otra muestra inyectada después del procedimiento de SPE, y se calculó mediante la calibración con el patrón interno. Las réplicas de las muestras no enriquecidas con el patrón también se analizaron para determinar sus concentraciones.

Se analizaron tres muestras en blanco con cada lote de muestreos para demostrar la libertad de contaminación. Además, se utilizaron tres muestras con agua ultrapura junto con los estándares de los fármacos (denominado análisis del estándar de precisión y recuperación (OPR)) para revelar que el sistema analítico era fiable y reproducible.

La precisión del método se determinó calculando la desviación estándar relativa (% RSD) de las muestras triplicadas enriquecidas con el patrón interno. La cuantificación de los analitos de los compuestos, en función del área del pico, se logró mediante los estándares internos, y los resultados se corrigieron para la recuperación. Las curvas de calibración se produjeron usando análisis de regresión lineal, con lo que se determinaron los límites de detección (LOD) y los límites de cuantificación (LOQ) que se detallaran más adelante.

**IV – COMPARACIÓN DE LAS
EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE
PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN
EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA**

IV – COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA

4.1. INTRODUCCIÓN

Los hábitos de consumo actuales de nuestra sociedad están generando una amplia gama de contaminantes para los cuales, hasta hace pocos años, no había suficiente información disponible sobre su presencia en el medio ambiente. Estas sustancias conocidas como contaminantes emergentes representan un problema ambiental que, aún muy paulatinamente, están siendo introducidos en los marcos regulatorios para el control y la prevención de la contaminación ambiental.

Entre los contaminantes emergentes se incluyen compuestos biológicamente activos como productos farmacéuticos, productos de cuidado personal y productos de consumo de origen doméstico, agrícola e industrial, los cuales han sido liberados en el medio ambiente, independientemente de las consecuencias. Una característica importante de estos contaminantes es que no necesitan ser persistentes en el ambiente para causar efectos adversos, ya que, sus tasas de eliminación se compensan con su introducción continua en el medio ambiente (Robles, 2011). De todos los contaminantes emergentes de uso actual, los compuestos que probablemente sean más preocupantes son los fármacos. Los compuestos farmacéuticos activos, que incluyen medicamentos recetados, medicamentos sin receta, medicamentos utilizados en hospitales y medicamentos veterinarios, han sido detectados en el ciclo del agua (Boxall y col., 2012).

Varios estudios en Europa y Estados Unidos indican que muchos de estos compuestos están presentes en los efluentes de aguas residuales, aguas superficiales y aguas subterráneas (Puijker y Mons, 2004). Desde finales de la década de 1990, varios estudios reportaron que las concentraciones de compuestos farmacéuticos en los ecosistemas acuáticos varían en un rango entre ng/L a mg/L

(Halling-Sorensen y col., 1998; Daughton y Ternes, 1999). Como los productos farmacéuticos están diseñados para tener efectos biológicos específicos a bajos niveles de concentración, su presencia en el medio ambiente, incluso a esas bajas dosis, crearía un riesgo para los ecosistemas (Fong, 1998; Schmitt y col., 2006) y para la producción de agua potable (Ternes y col., 2002; Snyder y col., 2003). Estos compuestos pueden afectar los ecosistemas fluviales y pueden tener un efecto adverso sobre la biodiversidad (Boxall y col., 2012).

Aunque hay pocos estudios sobre los efectos directos de la presencia de estas sustancias en el medio ambiente, se observaron problemas en algunas especies de peces que podrían deberse a la presencia de fármacos antidepresivos en las aguas superficiales. La acumulación de componentes activos de los antidepresivos, en el cerebro, hígado y músculos en tres tipos diferentes de peces en los ríos en los que se vierten los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, ha alterado el comportamiento y la fisiología de los insectos, la inhibición o estimulación del crecimiento de plantas acuáticas y algas, y el desarrollo de resistencia a antibióticos de bacterias (Heberer, 2002 b; Halling-Sørensen y col., 1998; Daughton y Ternes, 1999; Cortacans, 2007).

Los compuestos farmacéuticos pueden ingresar al medio acuático por varias rutas, principalmente a través de la excreción humana y animal o la escorrentía de los campos agrícolas. Éstos, generalmente, se metabolizan en mayor o menor grado después de la ingestión humana. Tras ello, los compuestos se excretan por medio de la orina y las heces y viajan desde el sistema de alcantarillado a la planta de tratamiento de aguas residuales (Lienert y col., 2007). Actualmente, las plantas no están diseñadas específicamente para eliminar los productos farmacéuticos de las aguas residuales (Camacho y col., 2009). Por lo tanto, los compuestos no serán eliminados por las plantas de tratamiento y se emitirán directamente al medio ambiente.

En los últimos años, se han desarrollado y optimizado métodos analíticos para la determinación de compuestos farmacéuticos con el fin de mejorar la sensibilidad y precisión para poder cuantificar bajas concentraciones en muestras

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 113

ambientales (Camacho y col., 2009). La monitorización de fármacos en el medio ambiente se encuentra restringida por la dificultad del análisis o la ausencia de protocolos analíticos adecuados. Los criterios de selección para controlar estos fármacos se basan, a menudo, en la elección de los compuestos analizados en estudios anteriores.

En un estudio sobre diversos compuestos farmacológicos en cinco EDAR en Cataluña (España), se detectaron las siguientes concentraciones medias en aguas efluentes: analgésicos y antiinflamatorios entre 108 y 2102 ng/L; estatinas entre 10 a 120 ng/L; antiepilépticos (carbamazepina) entre 410 y 620 ng/L; antibióticos entre 96 y 390 ng/L; y betabloqueantes entre 167 y 395 ng/L (Petrovic y col., 2005).

Las plantas de tratamiento de aguas residuales emplean, generalmente, sistemas convencionales de lodo activado (CAS) que consisten en una sedimentación primaria seguida de tratamiento secundario y sedimentación final. Los contaminantes orgánicos pueden transformarse de la fase acuosa, por hidrólisis, biotransformación o sorción, a lodos primarios y secundarios. Sin embargo, la eficacia de eliminación es variable ya que se ve muy afectada por la afinidad del compuesto por permanecer en la fase acuosa del efluente tratado (productos farmacéuticos hidrófilos) o por ser adsorbido a lodos (productos químicos hidrófobos). Por otra parte, el tratamiento terciario o los procesos de tratamiento avanzados, como la filtración por membrana, carbón activado o procesos oxidativos (cloración, ozonización e irradiación ultravioleta), parecen ser más eficientes cuando trabajan bajo condiciones óptimas (Gracia-Lor y col., 2012).

La mayoría de las EDAR en la Región de Murcia, consisten en un sistema convencional de lodo activado (CAS) con aireación extendida (EA) o doble etapa (DS), donde se produce la eliminación biológica de fosfato y la eliminación de nitrógeno a través de la nitrificación / desnitrificación. Solo unos pocos casos de ellos consisten en un sistema de lodos activados convencionales (CAS) operados en paralelo con un reactor de membrana (MBR). El agua residual pasa por clarificadores primarios, tanque anaeróbico, tanque de desnitrificación, tanque de

nitrificación y clarificadores secundarios con filtración de arena (SF), laminación (L), coagulación (C) y floculación (F) como tratamientos posteriores. Como procesos de tratamiento terciario se utilizan ultravioleta (UV) y cloración (Cl) para reducir el número de microorganismos en el agua que se descargarán al medio ambiente para su uso posterior (generalmente riego). El lodo primario y secundario es digerido en digestores de lodo mesófilos, y el lodo digerido se centrifuga para eliminar el exceso de agua.

4.2. MUESTREO Y ANÁLISIS DE 12 EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA

4.2.1. Desglose de las EDAR seleccionadas

Las EDAR muestreadas están ubicadas en la Región de Murcia, sureste de España (figura 22). Las plantas de tratamiento de aguas residuales seleccionadas para este estudio se eligieron para poder representar las diferentes etapas de tratamiento y tecnologías con alguna duplicación para mejorar las comparaciones. También se escogieron estas depuradoras ya que recogen las aguas de grandes núcleos de población dentro de la Región de Murcia.

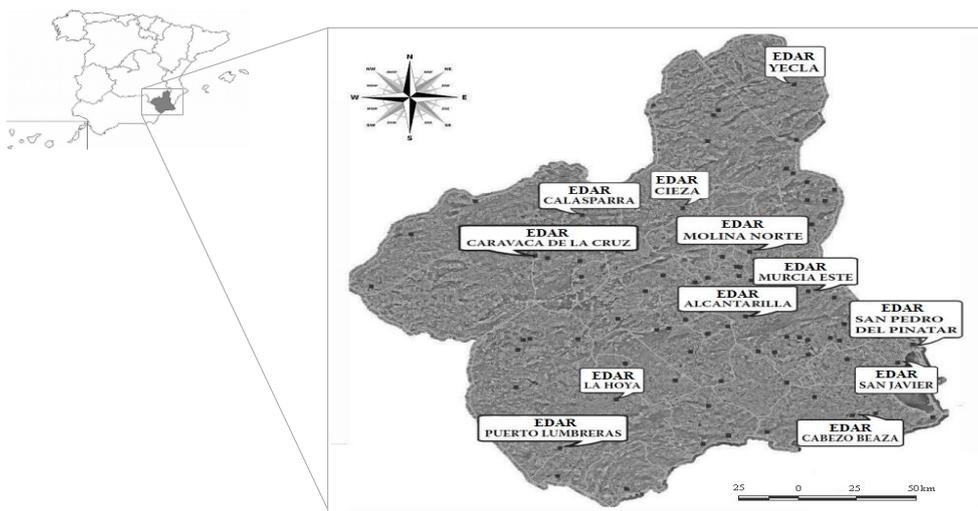


Figura 22. Mapa de la localización de las 12 EDAR muestreadas.

Fuente: Elaboración propia

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 115

Los productos farmacéuticos estudiados fueron carbamazepina (antiepiléptico), diclofenaco, ketoprofeno y naproxeno (AINEs) en 12 EDAR de la Región de Murcia.

La EDAR Cabezo Beaza (W 0°57'8"; N 37°37'58"), situada en el municipio de Cartagena, consta de un pretratamiento, decantación primaria, reactor biológico de fangos activos (flujo pistón), sedimentación secundaria y cloración como tratamiento terciario. La población que sirve a esta estación es de aproximadamente 180.983 habitantes con un caudal diario de 23.671,86 m³/d. El tiempo de retención de esta planta fue de 0,78 días.

La EDAR de Cieza (W 1°24'23"; N 38°14'49") sirve a una población de 34.657 habitantes con un caudal medio de 5.995,06 m³/d. Esta depuradora consta de un pretratamiento fuera del conjunto de la estación el cuál bombea el agua tras su pretratamiento a un reactor biológico de fangos activos con aireación extendida (en carrusel), decantación secundaria (coagulación-floculación), filtro de arenas, radiación ultravioletas y cloración. El tiempo de retención de la planta alcanza los 3,48 días.

La EDAR Murcia-Este (W 1°3'49"; N 37°59'54"), sirve a la ciudad de Murcia y sus pedanías, consta de un pretratamiento, decantación primaria, reactor biológico con aireación extendida (flujo-pistón con aireación modificada), sedimentación secundaria y cloración como tratamiento terciario. El caudal medio es de 114.801,32 m³/d para una población de 328.057 habitantes con un tiempo de retención diario de 0,39.

La EDAR de Caravaca de la Cruz (W 1°49'18"; N 38°6'43") sirve a 36.123 habitantes con un caudal medio de 4.567,11 m³/d. La planta consta de un pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos con aireación prolongada (en carrusel), decantador secundario (coagulación-floculación), filtro de arenas y radiación ultravioletas. El tiempo de retención de esta estación es 2,25 días.

La EDAR de Puerto Lumbreras (W 1°45'49"; N 37°32'51") consta de una zona de pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos con aireación prolongada (en carrusel), sedimentación secundaria (coagulación-floculación), filtros de arena y bancadas de ultravioletas. Esta estación sirve a una población aproximada de 36.123 habitantes con un caudal medio de 1.351,5 m³/d para un tiempo de retención de la planta total de 3,76 días.

La EDAR de San Javier (W 0°49'19"; N 37°46'58") sirve a una población aproximada de 26.622 habitantes con un caudal medio de 7.915,29 m³/d. La planta trabaja con un pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos con aireación prolongada (en flujo pistón), decantador secundario (coagulación-floculación), filtro de arenas y radiación de ultravioletas. El caudal medio de esta planta es de 3,11 días.

La EDAR de Yecla (W 1°5'10"; N 38°36'22") trabaja con un pretratamiento, reactor biológico en aireación prolongada (en carrusel), decantador secundario (coagulación-floculación) y un tratamiento terciario que consta de filtro de arenas y bancadas de ultravioletas. La población servida aproximada de esta planta es de 34.265 habitantes con un caudal medio de 46.309,72 m³/d para un tiempo de retención de la planta de 4,33 días.

La EDAR de Molina de Segura (W 1°13'24"; N 38°7'4") funciona con un caudal diario de 14.135,34 m³/d para una población de 61.077 habitantes con un tiempo de retención diario de 0,96. La planta trabaja con un pre-tratamiento, primer reactor biológico, sedimentación primaria, reactor biológico de fangos activos (doble etapa en flujo pistón), decantador secundario (laminación-coagulación-floculación), filtro de arenas y bancadas de ultravioletas.

La EDAR de Alcantarilla (W 1°14'24"; N 37°55'38") funciona con pre-tratamiento, reactor biológico primario, sedimentación primaria, reactor biológico de fangos activos (doble etapa en flujo pistón), sedimentación secundaria (laminación-coagulación-floculación), filtros de arena y ultravioleta. Esta EDAR

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 117

tuvo un flujo diario de 6.997,85 m³/d para una población de 83.998 habitantes. El tiempo de retención de esta planta es de 1,13 días.

La EDAR de La Hoya-Lorca (W 1°36'20"; N 37°41'17") sirve a la ciudad de Lorca y sus pedanías recogiendo con un caudal diario de 8.295,02 m³/d para una población aproximada de 82.857 habitantes con un tiempo de retención de 1,30 días. La planta trabaja con un pre-tratamiento, reactor biológico primario, sedimentación primaria, reactor biológico de fangos activo (doble etapa en flujo pistón), decantador secundario (laminación-coagulación-floculación), filtro de arenas y radiación ultravioleta.

La EDAR de Calasparra (W 1°41'50"; N 38°13'50") consta de un pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos (en carrusel) que posteriormente tiene un reactor de membranas y radiación ultravioleta para desinfectar. La estación sirve a una población aproximada de 10.345 habitantes con un tiempo de retención de 2,06 días para un caudal medio de 1.793,29 m³/d.

La EDAR de San Pedro del Pinatar (W 0°46'35"; N 37°50'14") sirve a una población estimada de 23.194 habitantes con un caudal medio diario de 8.488,55 m³/d con un tiempo de retención de la planta de 2,31 días. La estación consta de un pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos (flujo-pistón) añadido a un reactor biológico de membranas y al sistema de desinfección mediante bancadas de ultravioletas.

4.2.2. Muestreo y extracción de las 12 EDAR muestreadas

Las muestras agrupadas de los influentes y de los efluentes se recogieron durante un período de 24 horas en muestreadores automáticos. Los volúmenes de aguas residuales recolectados cada hora fueron proporcionales a los flujos de influentes y efluentes. El muestreo se llevó a cabo en dos campañas de forma semanal durante cuatro semanas consecutivas desde el 3 al 28 de junio y desde el 2

hasta el 25 de septiembre 2013. Todas las muestras se almacenaron a 4°C tras su recogida en las plantas.

Para la extracción de las muestras se siguió lo descrito por Camacho-Muñoz y col. (2009), en el cuál las aguas (500 ml de agua residual influente y 1000 ml de agua residual efluente) se filtraron a través de un filtro de membrana de fibra de vidrio de 1,2 μm (Whatman, Mainstone, Reino Unido). Debido a la alta probabilidad de que los cartuchos se pudieran bloquear debido a partículas orgánicas, se usaron 500 mL de muestras de influentes. Los cartuchos de SPE se activaron con 3 mL de acetona, 3 mL de metanol y 3 mL de agua ultrapura acidificada a pH 2 con ácido sulfúrico. Las muestras se filtraron a través de los cartuchos usando un sistema colector de vacío conectado a una bomba de vacío. Los cartuchos cargados se lavaron con 3 mL de una mezcla de metanol / agua (5:95 v / v) y 3 mL de n-hexano. La elución de las muestras se realizó con 3 mL de acetona y después de eso se evaporaron a sequedad mediante una corriente de nitrógeno. Los residuos se reconstituyeron en 1 mL de metanol, se filtraron a través de un filtro de nylon de 0,45 μm .

4.2.3. Análisis de las muestras extraídas

Los análisis de las muestras se realizaron con el cromatógrafo líquido de alta presión Shimadzu SPD-M10Avp, equipado con una bomba binaria FCU-10L, un inyector automático SIL-10ADVP, un desgasificador OGU-14AL, un compartimento de columna termo-estabilizada CTO-10ACVP, un detector de matriz de diodos UV SPD-M10AVP (DAD) y un detector de exploración de fluorescencia RF-10AXL (FI) conectados en línea.

Se usó un gradiente binario para la fase móvil que consistió en una solución en agua ultrapura de dihidrógeno fosfato potásico al 25mM (A) y metanol (B) a un caudal de 1 mL/min. El gradiente fue el siguiente: comenzó con 2% de B y aumentó linealmente hasta 32% de B en 30 minutos. El crecimiento continuó hasta el minuto 40 con la inyección del 40% de B. Sigue el crecimiento lineal hasta el 95% de B en el

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 119

minuto 50. Disminución lineal hasta el 2% de B en el minuto 55. Se estabiliza en 2% de B hasta el minuto 65 para dar paso a la siguiente muestra. El paso de equilibrio se usó al comienzo de cada ejecución. Se utilizó un volumen de inyección de 10 μ L para todos los análisis. La temperatura del horno fue de 30°C, mientras que el espectro de análisis utilizado por el detector estuvo entre 220-520nm

Los límites de detección instrumentales se calcularon como la concentración observable más baja con una relación S/N de 3:1, mientras que los límites de cuantificación instrumentales se calcularon como la concentración resultante en una relación S/N de 10:1 (se utilizó la relación entre la intensidad máxima y la intensidad del ruido).

Las curvas de calibración se construyeron en los rangos de concentración esperados para cada compuesto en aguas residuales de acuerdo con los niveles de concentración informado por Ternes, (2001). Estas curvas se generaron mediante regresión lineal de las áreas pico de las soluciones estándar contra sus respectivas concentraciones. Los resultados de estos límites de detección y cuantificación se encuentran en el apartado 3.5 del capítulo 3.

4.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS 12 EDAR

4.3.1. Aparición de los compuestos farmacéuticos en las aguas residuales

Las concentraciones promedio de carbamazepina, ketoprofeno, naproxeno y diclofenaco determinadas en los influentes y efluentes de las diferentes EDAR se muestran en las figuras 23 y 24.

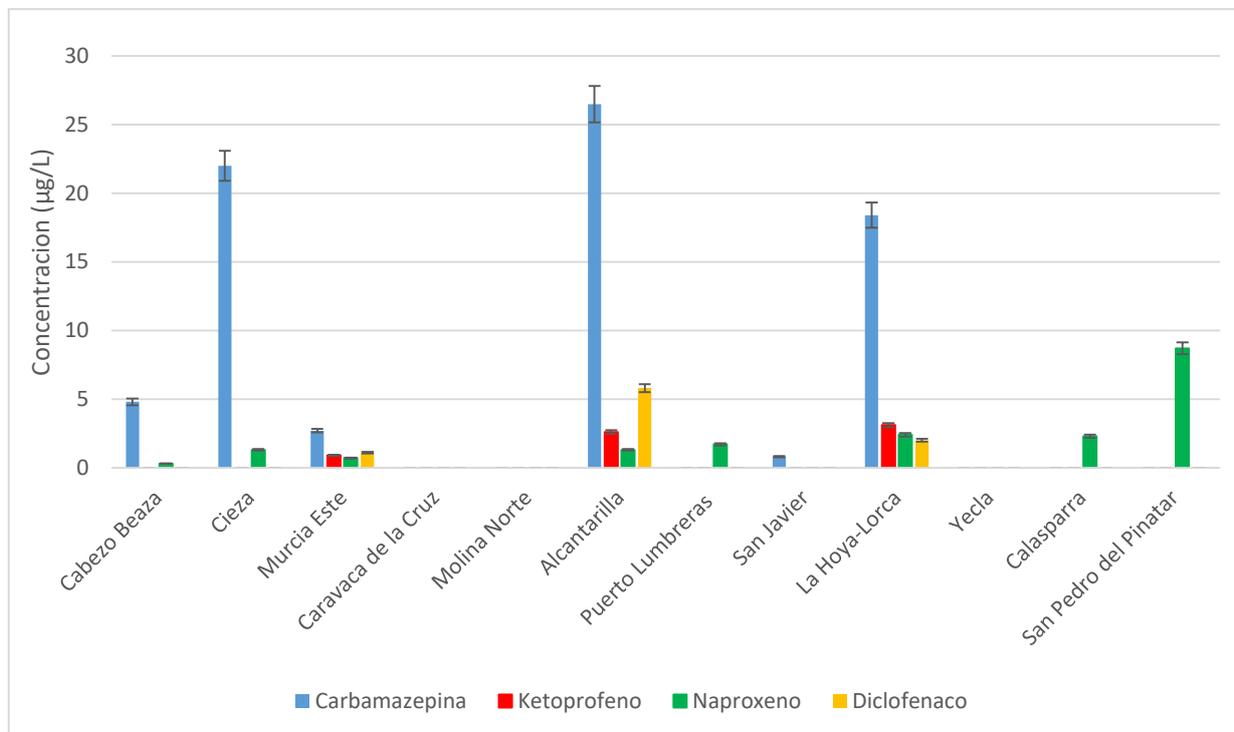


Figura 23. Concentraciones promedio de compuestos farmacéuticos en los influentes de las EDAR estudiadas. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95%.

Los compuestos estuvieron presentes en el rango de 0,34-26,52 µg/L. Los dos compuestos farmacéuticos abundantes fueron carbamazepina y naproxeno en rangos de 0,56-26,52 µg/L y 0,36-8,92 µg/L, respectivamente. Estos valores fueron similares a otros autores (Santos y col., 2007; Clara y col., 2005), aunque en algunas de las EDAR fueron concentraciones más altas que las determinadas por Verlicchi y col., (2012). Ketoprofeno y diclofenaco se detectaron en los rangos de 0,34 a 3,39 µg/L y 0,39 a 5,78 µg/L.

Estos resultados concuerdan con otros autores que reportaron sobre la presencia de compuestos farmacéuticos en aguas residuales (Pereira y col., 2015; Salgado y col., 2010; Santos y col., 2009). Estos valores en cambio, son significativamente más altos que los reportados anteriormente por Carmona y col., (2014) en la cuenca del río Turia y por Tixier y col., (2003).

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 121

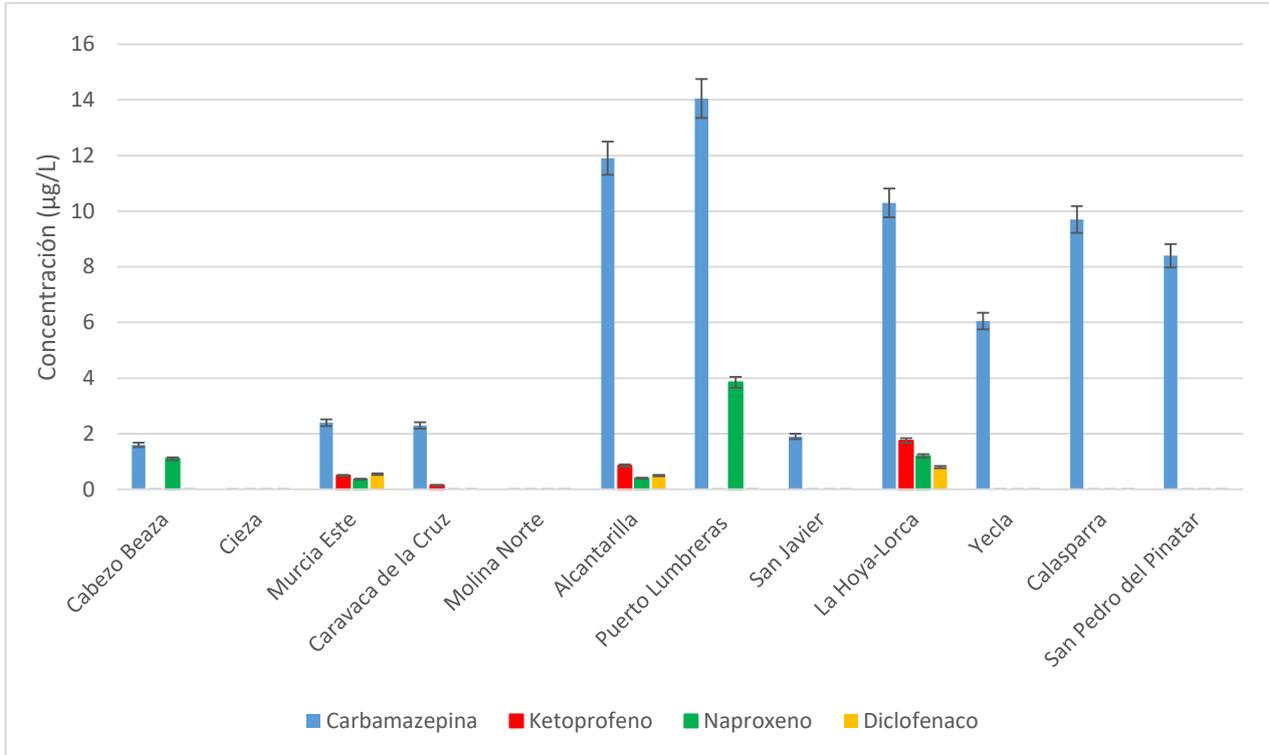


Figura 24. Concentraciones promedio de compuestos farmacéuticos en los efluentes de las EDAR estudiadas. Las barras de error representan intervalos de confianza del 95%.

4.3.2. Eficiencia de eliminación de los compuestos

Teniendo en cuenta que los productos farmacéuticos tienen características físico-químicas bastante diferentes, se espera que su eliminación durante el tratamiento sea diversa. La figura 25 muestra las eficiencias de eliminación calculadas a partir de las muestras de influente y efluente en las cinco tecnologías diferentes estudiadas.

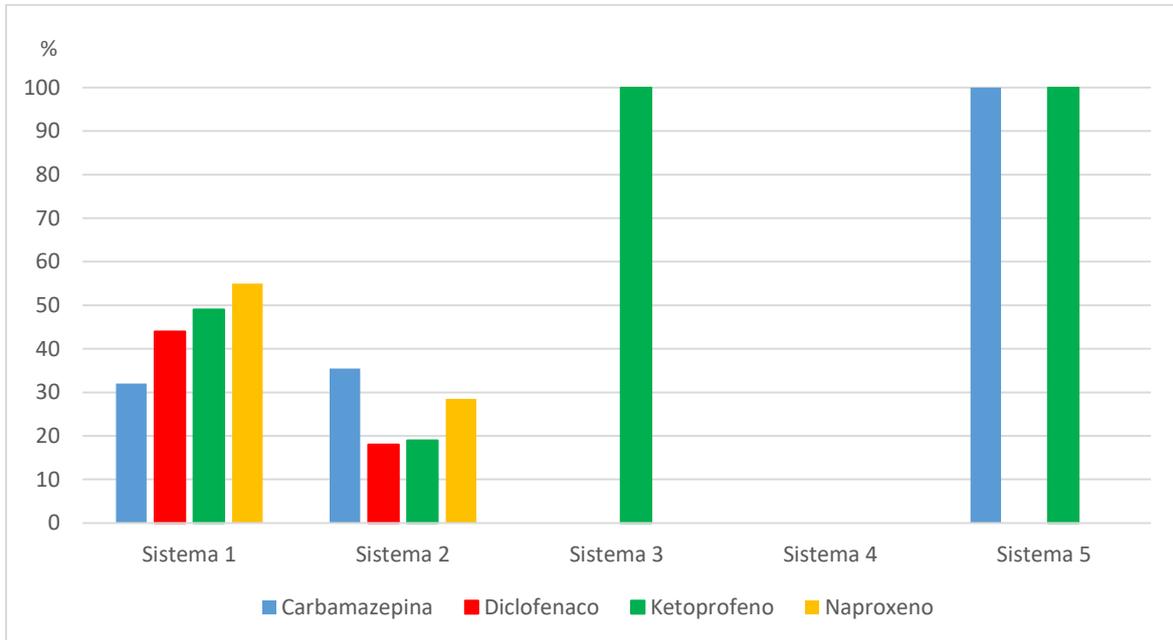


Figura 25. Eficiencias de eliminación de las diferentes tecnologías usadas (por sistemas) en las EDAR.

En algunas EDAR, no se pudieron calcular las eficiencias de eliminación de los compuestos farmacéuticos. Esto se debe a que en estas EDAR no se detectaron los compuestos en los influentes o en los efluentes. En otros casos, las concentraciones detectadas fueron más altas en las muestras de efluentes que en las muestras de influentes, lo que indica una tasa de eliminación negativa.

Las tasas negativas de eliminación de estos compuestos están de acuerdo con estudios previos de otros autores (Jelic y col., 2011; Gracia-Lor y col., 2012; Jelic y col., 2012). Entre las razones por las que esto sucede se incluye el incorrecto diseño de la dinámica de fluidos de una EDAR, compuestos conjugados no detectados en el influente los cuales pueden retransformarse en el compuesto original debido a procesos biológicos de desorción de los lodos activos. Durante el proceso de tratamiento secundario los fármacos están encerrados en partículas fecales y son liberados de ellos cuando las heces son descompuestas por los microbios (Göbel y col., 2007), y / o los metabolitos de fármacos no detectados se vuelven a transformar

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 123

en el compuesto original a través de la actividad microbiana (Salgado y col., 2012; Verlicchi y col., 2012) para posteriormente ser devueltos por medio de los efluentes.

Se puede observar (figura 25) que el sistema 1 trabaja con un sistema de fangos activos convencionales, con un tanque de aireación doble, laminación, coagulación-floculación y como tratamiento terciario se utilizan filtros de arena y bancadas de ultravioleta (CAS-DS + L + C + F + SF + UV) con unas eficiencias de eliminación con valores promedio entre 32 y 55%. El sistema 2 trabaja con sistemas de fangos activos convencionales y con un tratamiento terciario se utilizan sistemas de cloración (CAS-Cl). Todos los compuestos farmacéuticos estudiados en estas EDAR fueron eliminados con un promedio entre 18-35%.

Se observa una eliminación completa del ketoprofeno para el sistema 3 que consiste en un sistema de reactor biológico de membrana y bancadas ultravioleta (MBR + UV). De igual modo, en el sistema 5 que trabaja con un reactor de fangos activos con aireación prolongada, coagulación-floculación, filtración de arena y de tratamiento terciario, sistemas de ultravioleta y cloración (CAS-EA + C + F + SF + UV + Cl) se obtuvo un 100% de eliminación en todas las EDAR para el ketopofreno.

Las concentraciones de carbamazepina en el influente fueron, en general, similares a las encontradas en el efluente, con valores promedio de eliminación del 32% para el sistema 1 (CAS-DS + L + C + F + SF + UV) y 35% en el sistema 2 (CAS-Cl). Miao y col., (2005) muestran en sus estudios una eliminación similar de carbamazepina (29%). Esto podría explicarse por la alta persistencia de este fármaco que, en general, parece pasar por las EDAR sin sufrir una transformación / degradación significativa. De hecho, en algunas EDAR la concentración de carbamazepina fue más alta en el efluente que en el influente.

Este tipo de comportamiento de la carbamazepina se ha informado anteriormente en varios estudios (Gao y col., 2012) y se ha atribuido a la escisión enzimática del conjugado glucurónico de la carbamazepina y la liberación del

compuesto original en la planta de tratamiento (Vieno y col., 2007). Otros estudios concuerdan con las tasas de eliminación de estos productos farmacéuticos en los procesos de tratamiento (Jelic y col., 2011; Gao y col., 2012; Jelic y col., 2012). El ketoprofeno y el diclofenaco muestran unos porcentajes de eliminación entre 18 y 48%. Existe una gran diferencia en el porcentaje de eliminación de diclofenaco (0-69%) según las fuentes consultadas en la literatura (Chen y col., 2011)

4.3.3. Comparación de las eficiencias de eliminación de los sistemas de tratamiento de las EDAR

Los sistemas 1 y 2 mostraron la reducción de las cantidades de todos los compuestos farmacéuticos en este estudio con valores entre 18 y 55% (figura 25). En las EDAR con sistema 1, la eliminación más baja se encontró para la carbamazepina con una eliminación del 32% y la más alta se encontró para el naproxeno con una eliminación del 55%. En los sistemas CAS-Cl (sistema 2), se encontraron eficiencias de eliminación de 35% para carbamazepina y 27% para naproxeno. Zhou y col., (2016) informaron que el uso de la cloración al final de los tratamientos de aguas residuales como desinfección, puede transformar la carbamazepina en subproductos como ácido dicloroacético, ácido tricloroacético, dicloroacetónitrilo o tricloronitrometano.

En las plantas de tratamiento de aguas residuales con cloración y radiación ultravioleta como tratamientos de desinfección (figura 25), la carbamazepina y el naproxeno se redujeron aproximadamente un 100%. Para las EDAR con sistemas 3 (MBR + UV) y con sistemas 5 (CAS-EA + C + F + SF + UV + Cl), la eficacia de eliminación de ketoprofeno también fue de aproximadamente 100%. Desafortunadamente, no fue posible calcular las eficiencias de eliminación para el sistema 4 (CAS-EA + C + F + SF + UV) por los motivos descritos anteriormente. La mayoría de estos resultados están dentro de los rangos de otros autores que ya han comparado la eficiencia de eliminación en reactores de fango activo convencionales y tratamiento con MBR (Sipma y col., 2010; Verlicchi y col., 2012).

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 125

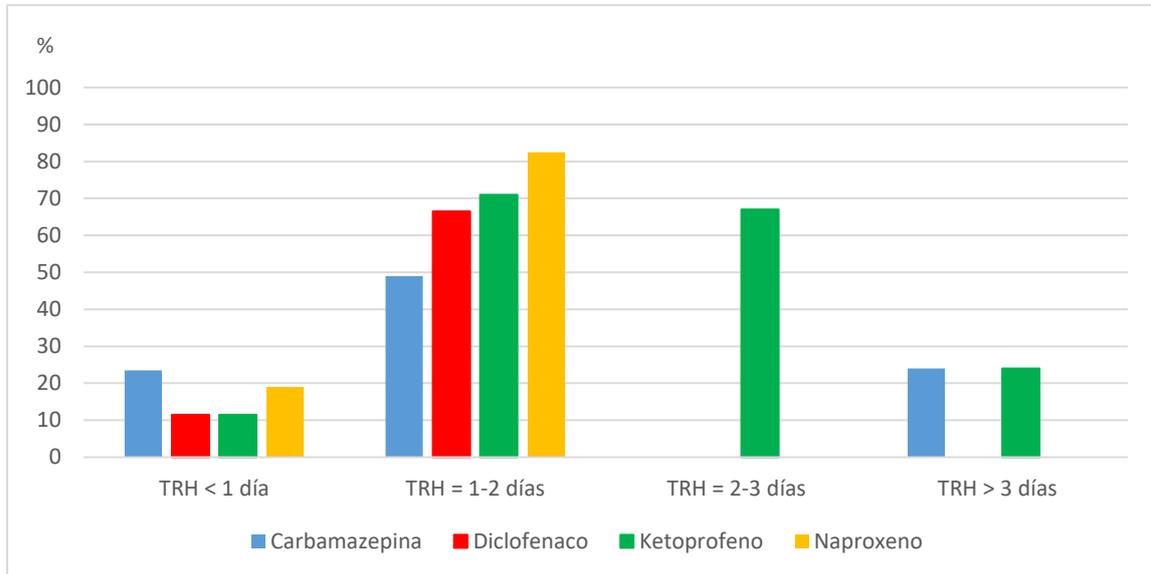


Figura 26. Eliminación de compuestos farmacéuticos versus tiempo de retención hidráulico.

El tiempo de retención hidráulico es el tiempo de permanencia del agua en una planta depuradora y se considera un factor significativo que afecta la eliminación de compuestos farmacéuticos. Maureret y col., (2007) encontraron que los tiempos de retención y el diseño del reactor fueron responsables de la variación que se pueden observar en cuanto a las eficiencias de eliminación de una EDAR a otra. En nuestro caso, las EDAR con un tiempo de retención entre 1 y 2 días (figura 26) parecían eliminar todos los compuestos estudiados entre un 50 y un 80%. Las plantas de tratamiento de aguas residuales con un tiempo de retención superior a 3 días mostraron la eliminación más alta de carbamazepina (25%) y ketoprofeno (25%), aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Los resultados de este estudio muestran que algunos productos farmacéuticos no se eliminaron completamente en las EDAR y, por lo tanto, se descargaron como contaminantes en las aguas receptoras. Estas descargas pueden entrar en las aguas superficiales y pueden provocar efectos indeseables en los

ecosistemas acuáticos. Estas descargas también pueden filtrarse a través del subsuelo ya que también se han detectado en varias muestras de agua subterránea, e incluso se han detectado productos farmacéuticos a niveles de trazas en muestras de agua potable. (Heberer, 2002 a, b).

4.4. BALANCE DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS

Los productos farmacéuticos se detectaron a niveles de $\mu\text{g/L}$ usando el cromatógrafo líquido de alta presión con detector de diodos en las muestras del influente y efluente de 12 EDAR, que utilizan cinco sistemas de tratamiento diferentes. Los dos compuestos farmacéuticos más abundantes en las muestras de influentes fueron la carbamazepina y el naproxeno en los rangos 0,56-26,52 $\mu\text{g/L}$ y 0,36-8,92 $\mu\text{g/L}$, respectivamente. También se detectaron ketoprofeno y diclofenaco en los rangos de 0,34-3,39 $\mu\text{g/L}$ y 0,39-5,78 $\mu\text{g/L}$, respectivamente.

Los sistemas de EDAR, clasificados desde el más efectivo hasta el menos efectivo para cada compuesto estudiado, fueron:

- Sistema 5 (CAS-EA + C-F + SF + UV + Cl) > sistema 2 (CAS-Cl) > sistema 1 (CAS-DS + L-C-F + SF + UV) para carbamazepina
- Sistema 1 (CAS-DS + L-C-F + SF + UV) > sistema 2 (CAS-Cl) para diclofenaco
- Sistema 5 (CAS-EA + C-F + SF + UV + Cl) > sistema 3 (MBR + UV) > sistema 1 (CAS-DS + L-C-F + SF + UV) > sistema 2 (CAS-Cl) para ketoprofeno
- Sistema 1 (CAS-DS + L-C-F + SF + UV) > sistema 2 (CAS-Cl) para naproxeno

Las concentraciones de carbamazepina y diclofenaco fueron mayores en el efluente que en el influente para los sistemas 3 (MBR + UV) y 4 (CAS-EA + C-F + SF + UV).

IV - COMPARACIÓN DE LAS EFICIENCIAS DE ELIMINACIÓN DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS EN EDAR DE LA REGIÓN DE MURCIA 127

La influencia de los efectos de los tiempos retención (TRH), de mayor a menor eficacia en la eliminación para cada compuesto estudiado, fueron:

- (TRH 1-2 días) > (TRH > 3 días) > (TRH < 1 día) para la carbamazepina.
- (TRH 1-2 días) > (TRH < 1 día) para diclofenaco.
- (TRH 1-2 días) > (TRH 2-3 días) > (TRH > 3 días) > (TRH < 1 día) para ketoprofeno.
- (TRH 1-2 días) > (TRH < 1 día) para naproxeno.

**V – EVALUACIÓN
MEDIOAMBIENTAL Y DESTINO DE
5 COMPUESTOS FARMACÉUTICOS
EN EL RÍO GUADALENTÍN**

V – EVALUACIÓN MEDIOAMBIENTAL Y DESTINO DE 5 COMPUESTOS FARMACÉUTICOS EN EL RÍO GUADALENTÍN

5.1. INTRODUCCIÓN

La idea de que los cauces de los ríos depuran toda la basura que se le echa, ha convivido con nosotros hasta el último siglo (Hoskins y col., 1927). A partir de ese momento, se tiene la capacidad de analizar las aguas y, se comprueba el alto nivel de toxicidad que tienen para el ser humano (Litterst y col., 1971; Louria y col., 1972), lo que hace que las aguas de los cauces no pudieran ser reutilizadas.

Desde hace algunos años, los compuestos farmacéuticamente activos se han convertido en un motivo de mayor preocupación debido a su presencia en el medio ambiente como contaminante y al descubrimiento de algunos efectos ecotoxicológicos (Sousaa y col., 2012).

Tal como se observa de los resultados del capítulo anterior, la distribución de estos contaminantes dentro del ciclo urbano del agua, desde aguas residuales, aguas superficiales y subterráneas hasta el agua potable, es complicado y tanto las autoridades del agua como las compañías de agua potable, son las responsables de luchar contra este tipo de contaminantes (Fisher y col., 2017).

La llegada al medio ambiente, a través del ciclo del agua, de estos compuestos por sus descargas continuadas y los efectos potenciales que estos nuevos emergentes generan en el ecosistema natural (Ebele y col., 2017; Gorito y col., 2017) han acrecentado el interés por el estudio de las mismas. Dentro de estos nuevos compuestos emergentes, las investigaciones de Frédéric e Yves, (2014), Mendoza y col., (2015) y Daouk y col., (2016) han demostrado que algunos compuestos farmacéuticos pueden ser peligrosos para el medio ambiente.

En España, han sido identificados en varios estudios. Afonso-Olivares y col.,

(2017) cuantificaron la aparición y el impacto ambiental de los residuos farmacológicos de las EDAR de las Islas Canarias (España). Una vez que éstos alcanzan y se diseminan en el medio ambiente, pueden alcanzar tanto las aguas superficiales como las aguas subterráneas. Acuña y col., (2015) estudiaron la aparición y la atenuación a lo largo del curso de los compuestos farmacéuticos derivados de aguas residuales en ríos ibéricos. Se observó que la atenuación era muy variable entre los productos y en cada uno de los segmentos fluviales estudiados. Esto podría deberse a que ninguna de las propiedades moleculares y físico-químicas puedan ser relevantes para determinar las tasas medias de atenuación de la corriente. En otro estudio, se hallaron hasta 20 compuestos emergentes en agua de mar y 14 en sedimentos en aguas marinas, y en sedimentos de una laguna costera del Mediterráneo (Moreno-González y col., 2015).

En otro estudio realizado en España por Camacho-Muñoz y col., (2013), se observaron altas concentraciones de compuestos farmacéuticos como diclofenaco, ácido salicílico y cafeína en sedimentos del Parque Nacional de Doñana y sus alrededores ya que están recibiendo el agua del río Guadalquivir que se encuentra contaminada (Martín y col., 2011). Estos autores evaluaron el riesgo ambiental debido a la presencia de estos compuestos en el medio ambiente, y concluyeron que existe un posible riesgo para los ecosistemas debido a la presencia de estos compuestos farmacéuticos en los sedimentos durante un corto y largo período de exposición por lo que, en consecuencia, la fauna local y las especies migratorias se ven afectadas.

La región mediterránea seca se caracteriza por un clima que generalmente se mueve desde temporadas húmedas a temporadas semiáridas. Ante tales condiciones climáticas, es frecuente encontrar ríos que tienen un caudal temporal o muy pequeño a lo largo del año. Estas ramblas experimentan de forma general una fase seca recurrente de duración variable (Uys y O'Keeffe, 1997). Durante los períodos secos, la escasez de agua en los cauces se debe a una serie de factores tales como una precipitación baja o intermitente, alta evapotranspiración, altas pérdidas por infiltración a través de las grabas del lecho del río y bombeo directo de agua para satisfacer las demandas de riego. En este sentido, los efectos de la descarga de

la primera precipitación son muy importantes ya que afecta de manera directa a la morfología del río y a la calidad del agua (Hooke y Mant, 2002). El problema de las ramblas es que se encuentran raramente monitorizadas ya que se requiere un flujo constante para ello. Por tanto, para estos tipos de cauces se desconocen los efectos ecológicos a corto y largo plazo de los productos farmacéuticos de ecosistemas fluviales efímeros que plantean desafíos científicos a quienes los supervisan.

El río Guadalentín es un afluente del Río Segura (uno de los ríos más largos de la cuenca de Mediterráneo localizado en el sureste de España). La cuenca río Segura es una de las más complejas de la Unión Europea ya que tiene diversas peculiaridades como la competición de uso, sobreexplotación de los acuíferos, contaminación en las aguas subterráneas, desalinización, transferencias, reutilización de las aguas, entre otras (Pellicer-Martínez y Martínez-Paz, 2016). Estas particularidades, así como, la presa de Puentes en el inicio del río y la presa de El Romeral en la parte central del curso del río, han transformado el río Guadalentín en un río con un flujo de agua efímero.

En las décadas pasadas, el río Segura (incluyendo el Guadalentín) había experimentado el incremento de descargas de aguas residuales inadecuadamente tratadas durante los períodos de bajo caudal y un uso intensivo del agua. La situación se tornó en tan crítica que el Gobierno Regional presentó el Plan General para la recuperación de aguas durante un período de 10 años, que consiguió la mejora de la calidad y la disponibilidad del agua en el río Segura (Ródenas y Albacete, 2014). Sin embargo, la alta presión humana en la cuenca del Guadalentín gestada por la extensa urbanización y la agricultura intensiva han generado estrés ambiental a la cuenca.

Como resultado se han detectado en este río mucha contaminación de metales pesados tales como cobre (Cu) y cromo (Cr) en sus aguas y sus sedimentos (Nieman y col., 2009; Rosales y col., 2016). Los compuestos farmacéuticos pueden tener el efecto a largo plazo sobre la biota acuática no objetivo tales como biopelículas en las corrientes (alga, hongos, bacterias y materia orgánica que se

desarrollan en sustratos orgánicos o minerales). La presencia de lo expuesto puede conducir a cambios en la composición de especies microbianas que inducen al cambio en las funciones del ecosistema (Proia y col., 2013; Rosi-Marshall y col., 2013).

5.2. MUESTREO Y ANÁLISIS DEL RÍO GUADALENTÍN

5.2.1. Descripción del área de estudio y selección de los puntos de muestreo

La demarcación del Segura se considera que tiene unas condiciones climáticas semiáridas, con una precipitación media anual de 330 mm de acuerdo con la serie histórica que data desde 1940 por parte de Confederación Hidrográfica del Segura (CHS). A lo largo de la cuenca del Segura, su hidrología es cambiante, según nos encontremos en la parte alta, en la zona media o en la zona baja, debido a los desequilibrios espaciales que existen en las precipitaciones. La cuenca del Guadalentín se caracteriza por un fondo de valle casi plano con una serie de abanicos aluviales bien desarrollados.

El acuífero del Alto Guadalentín está confinado al noreste y al sureste por sistemas de fallas de la cuenca. Desde los años 60, este acuífero de la cuenca del Guadalentín ha sido intensamente explotado, especialmente debido a los extensos periodos de sequía que han reducido la recarga natural y aumentó el bombeo en la cuenca del Guadalentín (González y Fernández, 2011).

Este río no genera un caudal de flujo constante desde que la presa situada aguas arriba del río regula el flujo. Generalmente esta presa almacena el agua para la agricultura, de forma que pueda ser usada durante la estación seca. Las características de las aguas de río se pueden encontrar en la tabla 9. Mucha de esta agua del río proviene de las descargas de las industrias próximas al río, que son permitidas, y verificadas por la CHS.

Tabla 9. Propiedades de las aguas del río Guadalentín (proporcionados por CHS, 2017). Conductividad eléctrica (CE); Sólidos en suspensión (SS); Demanda biológica de oxígeno (DBO₅); Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Fuente: Confederación Hidrográfica del Segura, 2017

Físicos	Químicos	
CE 9780 μ S/cm	pH 7,5	Nitratos 11,4 mg/L
Turbidez 3,77 NTU	DBO ₅ 2,60 mg O ₂ /L	Fosfatos <2,5 mg PO ₄ /L
SS 13 mg/L	DQO 282 mg O ₂ /L	Fluoruros 2,90 mg/L

Cerca de la ribera del río podemos encontrar 3 EDAR (figura 27) que descargan sus efluentes a balsas de riego y que pueden llegar al Guadalentín de forma indirecta. La primera forma, por la que puede llegar, es a través del riego, usando las aguas del efluente de estas EDAR que previamente han sido almacenadas para ser usadas en los campos. En esta vía, se puede también introducir aquellos compuestos que llegan a través del compostaje ya sea de depuradora o de origen animal (Kurwadkar y col., 2013). La segunda vía es que las balsas de riego estén al máximo de su capacidad o que la depuradora por una punta de caudal tenga que evacuar el exceso de efluente hasta el río Guadalentín.

Se escogieron 5 puntos (figura 27) a lo largo del curso del Guadalentín para ser muestreados. El punto 1 (W 1°39'46"; N 37°40'28") fue elegido ya que representa el primer punto donde existe la descarga de una industria. Esta agua proviene de una industria de curtido, lo que implica que tales vertidos contienen un alto contenido en tintes los cuáles han sido usados para los cueros. También, hay que contar con que muchos de los compuestos farmacéuticos pueden estar contenidos en la piel animal (Godin y Toutilou, 2007) y pueden ser recogidos en el agua durante el proceso de limpieza de las pieles. El punto 2 (W 1°38'27"; N 37°40'22") y el punto 3 (W 1°36'13"; N 37°41'14") fueron tomados para determinar la degradación de los contaminantes emergentes río abajo. El punto 4 (W 1°22'58"; N 37°48'10") fue tomado antes de la presa de El Romeral, de forma que es un punto intermedio a lo largo del cauce del río y proporcionará una buena comparación con los otros

puntos. El punto de muestreo 5 (W 1°11'06"; N 37°56'20") fue tomado ya que es el final del río y existe una tubería que lleva el agua hasta la desembocadura del Segura.

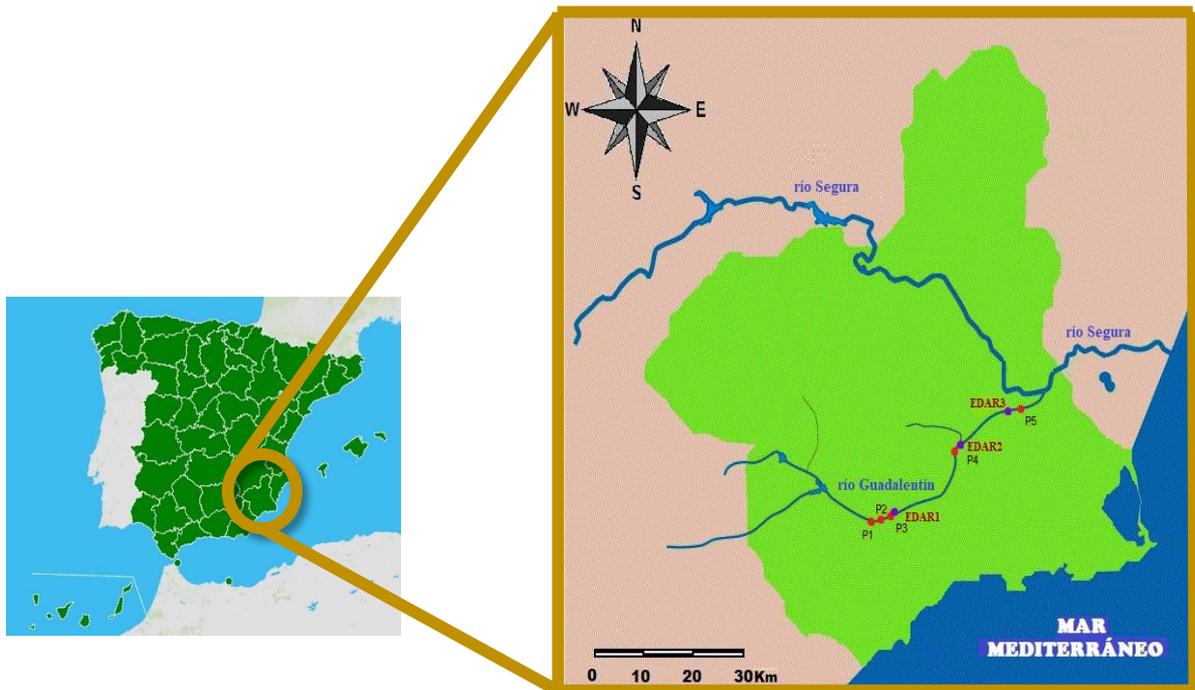


Figura 27. Localización del área de muestreo en el río Guadalentín. EDAR1: EDAR de La Hoya-Lorca; EDAR2: EDAR de Alhama de Murcia; EDAR3: EDAR de Alcantarilla. P1: Punto de muestreo 1; P2: Punto de muestreo 2; P3: Punto de muestreo 3; P4: Punto de muestreo 4; P5: Punto de muestreo 5.

Las depuradoras muestreadas de La Hoya-Lorca, Alhama de Murcia y Alcantarilla contienen aguas provenientes del uso doméstico e industrial. Las EDAR de La Hoya-Lorca y Alcantarilla están detalladas en el apartado 4.2.1 del capítulo 4, con la diferencia de que para este año la planta de La Hoya-Lorca servía a una población aproximada de 92.299 habitantes con un caudal medio de 8712,36 m³/d, mientras que la población para la EDAR de Alcantarilla aumentó hasta los 86.573 habitantes con un caudal medio estimado de 7.323,71 m³/d.

Por otra parte, la EDAR de Alhama de Murcia (W 1°23'45"; N 37°49'31") sirve a una población estimada de 17.557 habitantes con un caudal medio de 2796,64 m³/d. La estación consta de un pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos (en carrusel), decantador secundario, filtros de arena y radiación ultravioleta. El tiempo de retención de la planta es de 1,78 días.

Las estaciones depuradoras tienen la importante labor de recuperar las aguas para dejarlas aptas para ser usadas para riego. De hecho, China es uno de los países que están desarrollando más tecnología capaz de depurar mejor el agua, por esto, la producción de agua reutilizada en sus EDAR se incrementó de 1,3 billones de toneladas en 2011 a 2,4 billones de toneladas en 2013 (Lyu y col., 2016).

5.2.2. Recogida de las muestras y pretratamiento de las muestras

La campaña de muestreo fue llevada a cabo en tiempos representativos de las condiciones climáticas del área de estudio (en Junio 2016, en Enero 2017 y en Marzo 2017). En cada punto, de los 5 escogidos a lo largo del río Guadalentín, se recogieron muestras del agua superficial y el correspondiente sedimento del área.

También se tomaron muestras de los efluentes de las depuradoras de La Hoya-Lorca, Alhama de Murcia y Alcantarilla en el muestreo de Marzo de 2017. Las muestras recogidas fueron integradas con la ayuda de un tomamuestras automático que recogía las aguas durante 24 horas.

Tanto las aguas del río como las del efluente de las EDAR fueron recogidas en botellas de cristal ámbar, que previamente habían sido enjuagadas con agua destilada. Las muestras se mantuvieron frías a 4°C durante recolección y el periodo hasta llegar a laboratorio y, en algunos casos, fueron congeladas en su recepción y almacenadas a -20°C hasta sus análisis.

Los sedimentos fueron recogidos en botes de polietileno de alta densidad.

Posteriormente, fueron liofilizados para extraer la humedad que pudieran tener las muestras. Tras esto, las muestras fueron almacenadas en el desecador con gel de sílice a temperatura ambiente y en oscuridad.

5.2.3. Métodos analíticos realizados

5.2.3.1. Aguas

El método utilizado para la identificación y cuantificación de estos compuestos son los referidos a la metodología utilizada por Vanderford y col., (2003). De forma breve, el proceso que consistió en acondicionar la zona de trabajo a 20°C y acidificar las muestras de agua a pH 2 con ácido fórmico. Esta acidificación fue para estabilizar las propiedades de las muestras, permitiendo que nuestro análisis se pudiera alargar en el tiempo.

Inicialmente, y al tener las muestras por triplicado, se introduce en la primera de ellas el patrón interno de los compuestos ([D₁₀]-carbamazepina, [¹³C₆]-diclofenac, [D-₃]-ibuprofen) a una concentración de 2,5 µg/mL para conseguir una concentración final por dilución hasta 100 ng/mL, como concentración medible por el HPLC para tener como referencia. Tras ello, las muestras fueron filtradas a través de unos filtros de microfibras de vidrio de borosilicato para eliminar el material en suspensión y evitar que las impurezas pudieran dejar los cartuchos (SPE) obturados.

Para la extracción en fase sólida (SPE), los cartuchos (Oasis HLB) fueron pre-acondicionados con 5 mL de metil tert-butil éter (MTBE) seguido de 5 mL de metanol y 5 mL de agua ultrapura rebaja a pH 2 con ácido fórmico. Las muestras (1000 mL por cada réplica) se pasaron a través de los cartuchos con un flujo de paso de 10 mL/min, posteriormente se lavaron los cartuchos con 5 mL de agua ultrapura. Los cartuchos se dejaron secar durante 15 minutos para evitar que alguna gota de agua llegue al eluyente final. Tras esto, se procedió a la elución y se realizó usando en primer lugar una mezcla de 5 mL de metanol y MTBE (10:90 v/v) y luego 5 mL

de metanol. El eluyente obtenido se evaporó hasta sequedad mediante una corriente de nitrógeno a una temperatura entre 40-50°C. El residuo se reconstituyó en 1 mL de metanol. En este momento, en la segunda réplica de las tres se le introdujeron los patrones internos a 2,5 µg/mL ([D₁₀]-carbamazepina, [¹³C₆]-diclofenaco, [D-₃]-ibuprofeno) para llegar a una concentración por dilución 100 ng/mL. Todas las muestras se pasaron por último a través de filtro de nylon de 0,45 µm antes del análisis instrumental mediante el cromatógrafo UPLC Acquity I-Class (Milford, MA, EE.UU., Waters).

5.2.3.2. Sedimentos

El método utilizado se basó en la metodología utilizada por Martín y col., (2010). Se congelan los sedimentos -40°C para posteriormente liofilizarlos. De las muestras liofilizadas, se extrajeron 2 gramos de muestras de sedimento (homogeneizadas usando un mortero de vidrio) con 5 mL y 2 mL de metanol y 2 mL de acetona sucesivamente. En la primera de las tres replicas se introdujeron los patrones internos a una concentración de 2,5 µg/L de ([D₁₀] -carbamazepina, [¹³C₆] -diclofenaco, [D-₃] -ibuprofeno). Cada etapa de extracción consistió en la agitación de las muestras durante 30 segundos, su introducción en ultrasonidos durante 15 minutos (temperatura del agua: 20 °C) y una posterior centrifugación a 4000 rpm durante 20 min. Los sobrenadantes obtenidos de cada etapa de extracción se combinaron y se evaporaron hasta 0,2 mL bajo una corriente de nitrógeno. El extracto obtenido se diluyó con 250 mL con agua ultrapura acidificada a pH 2 con ácido fórmico. Los cartuchos de SPE se acondicionaron con 3 mL de acetona, 3 mL de metanol y 3 mL de agua ultrapura acidificada a pH 2 con ácido fórmico con un flujo de 3 mL/min. Las muestras se filtraron a través de los cartuchos a un caudal de 15 mL/min usando un sistema colector de vacío. Los cartuchos con la carga se lavaron con 6 ml de metanol / agua (5:95 v / v) y 3 mL de n-hexano a un flujo de 1 mL/min. La elución se realizó con tres alícuotas de 1 mL de acetona a una velocidad de flujo semejante a la de lavado. Las alícuotas combinadas se evaporaron hasta sequedad mediante una corriente de nitrógeno. Posteriormente los extractos se llevaron a un volumen final de 1 mL usando metanol y la segunda réplica de las tres recibió una concentración 2,5 µg/L de los patrones internos ([D₁₀] -

carbamazepina, [¹³C₆] -diclofenaco, [D-₃] -ibuprofeno). Todas las muestras se pasaron finalmente a través de un filtro de nylon de 0,45 μm antes del análisis en el sistema UPLC Acquity I-Class y en la serie HR-QTOF-MS maXis (Waters, Milford, MA, EE. UU.).

5.2.4. Análisis de cromatografía líquida

Se utilizó un sistema UPLC Acquity I-Class y HR-QTOF-MS maXis Series (Bruker Daltonik GmbH, alemán) para los análisis de las muestras. Todos los analitos se separaron usando una columna ACQUITY UPLC BEH C18 con (50 x 2,1 mm, tamaño de partícula de 1,7 μm, Waters, Milford, MA, EE. UU.). Durante la extracción en la columna, se utilizó un gradiente binario de la fase móvil que consiste en 0,1% de ácido fórmico (v / v) en agua (A) y 100% de metanol (B) a un caudal de 700 μL/min. El gradiente fue el siguiente: 5% de B se mantuvo durante 3,5 min, y aumentó linealmente hasta el 80% durante 10 min y se mantuvo durante 3 min en este porcentaje. Posteriormente aumentó hasta el 100% y se mantuvo durante 8 min. Se disminuyó durante 9 minutos hasta el 5% de B llegando a equilibrio, que es el comienzo de cada ciclo, con el fin de que el tiempo de ejecución total por muestra fuera de 30 min. Se utilizó un volumen de inyección de 10 μL en todos los análisis. Los límites de detección y cuantificación de este análisis vienen reflejados en el apartado 3.5 del capítulo 3.

5.2.5. Cálculo de la evaluación del riesgo ambiental

La Evaluación de Riesgo Ambiental (ERA) tiene como objetivo evaluar el impacto potencial de las sustancias individuales en el medio ambiente mediante el examen de las exposiciones y los efectos sobre el ecosistema (EC, 2003).

El cálculo de ERA se estimó utilizando el cociente de riesgo de la ecuación (1), que se define como la relación entre la Concentración Ambiental Medida (MEC) de los diferentes compuestos farmacéuticos analizados en agua y sedimentos y su toxicidad crónica que, generalmente, es expresada como la No Concentración de

efecto observado (NOEC), o como la concentración prevista de no efecto (PNEC).

$$ERA_{ij} = MEC_{ij} / PNEC_{ij} \quad (1)$$

Donde MEC_{ij} es la concentración de compuesto j en la muestra i y PNEC_j es el predicho.

Concentración sin efecto para el compuesto j, como se describe a continuación en la ecuación (2):

$$PNEC_j = EC_{50j} / 1000 \quad (2)$$

En este caso estamos utilizando la EC₅₀ (50% efecto de la concentración) usada por Ginebreda y col., (2010) para agua y, directamente, la PNEC para suelos según lo descrito por Martín y col., (2012) (Tabla 10).

Tabla 10. Concentración prevista sin efectos (Ginebreda y col., 2010; Martín y col., 2012) utilizada para el cálculo de ERA.

Compuestos	Organismos	Tests	PNEC agua (ng/L) ¹
Carbamazepina	D. Magna	EC ₅₀	76,3
Diclofenaco	D. Magna	EC ₅₀	22,0
Ibuprofeno	D. Magna	EC ₅₀	9,02
Ketoprofeno	D. Magna	EC ₅₀	248
Naproxeno	D. Magna	EC ₅₀	15,0
Compuestos	Organismos	Tests	PNEC sedimentos (ng/L) ²
Carbamazepina	D. Magna	EC ₅₀	347.000
Diclofenaco	V. fischeri	EC ₅₀	1.595.000
Ibuprofeno	H. attenuata	EC ₅₀	256.000
Ketoprofeno	V. fischeri	EC ₅₀	140.000
Naproxeno	V. fischeri	EC ₅₀	189000

5.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS MUESTREOS REALIZADOS AL RÍO GUADALENTÍN Y LAS EDAR

5.3.1. Niveles de concentración fármacos en los efluentes de las EDAR

Los rangos de concentraciones de los compuestos farmacéuticos analizados en los efluentes de las EDAR seleccionadas se pueden encontrar en la Tabla 11. La carbamazepina con 89,6 ng/L fue el compuesto farmacéutico encontrado en las EDAR con una mayor concentración. Esto puede deberse al comportamiento recalcitrante de este compuesto que hace difícil su eliminación en las EDAR, y que da como resultado, que se puedan encontrar concentraciones más altas en los efluentes que en los influentes de las EDAR (Gao y col., 2012; Jelic y col., 2012).

Tabla 11. Rango de fármacos encontrados en los efluentes de las EDAR que se encuentran cerca de la cuenca del Guadalentín (ng/L).

EDAR	CBZ	DFC	IBU	KTP	NPX
Alcantarilla	57,0-66,1	5,8-15,2	n.d.	n.d.-1,95	n.d.
Alhama de Murcia	70,1-80,5	n.d.-4,45	n.d.	n.d.-6,5	n.d.
La Hoya-Lorca	74,9-89,6	15,6-19,5	n.d.-32,5	n.d.-7,8	n.d.

Otros autores (Meyer y col., 2016) obtuvieron concentraciones similares en los efluentes de EDAR alemanas, con concentraciones de carbamazepina de 84-790 ng/L, y Choi y col., (2008) detectaron, en efluentes secundarios de cuatro plantas de tratamiento de Corea, concentraciones de carbamazepina que variaban entre < 5 y 451 ng/L, similares a las concentraciones encontradas en este estudio.

El siguiente fármaco con mayor concentración detectada fue ibuprofeno con un máximo de 32,5 ng/L, seguido del diclofenaco con una concentración de 19,5 ng/L. Estas concentraciones de ibuprofeno y diclofenaco fueron similares a las encontradas por Yan y col., (2014).

Las concentraciones de ketoprofeno y naproxeno encontradas en las EDAR (Tabla 13) también estuvieron en el mismo orden que las reportadas por Behera y col., (2011), con concentraciones de 18,9 y 11,5 ng/L, respectivamente.

Para todas las EDAR estudiadas, la concentración máxima de productos farmacéuticos siempre se encontró en la EDAR de La Hoya-Lorca.

5.3.2. Niveles de concentración de fármacos de las aguas superficiales y los sedimentos del río Guadalentín.

Para las aguas del río, las concentraciones máximas de los diferentes productos farmacéuticos evaluados variaron entre los puntos de muestreo. La concentración más alta de carbamazepina en el río Guadalentín (Tabla 12) se encontró en SP5 (61,2 ng/L). Para el diclofenaco, la concentración más alta fue en SP3 (12,5 ng/L). Para el ibuprofeno, el más alto fue en SP2 (79,2 ng/L) mientras que el ketoprofeno fue más alto en SP3 (0,98 ng/L) y para el naproxeno, la concentración más alta fue en SP3 (12,9 ng/L).

Tabla 12. Rango de los compuestos farmacéuticos encontrados en las aguas del río muestreado (ng/L).

Código	CBZ	DFC	IBU	KTP	NPX
SP1	n.d.	n.d.	19,5-49,0	n.d.	n.d.
SP2	n.d.	n.d.	33,5-79,2	n.d.	n.d.-4,51
SP3	n.d.	n.d.-12,5	n.d.-76,7	n.d.-0,98	n.d.-12,9
SP4	n.d.	n.d.	n.d.-20,0	n.d.	n.d.-5,9
SP5	n.d.-61,2	n.d.-6,92	n.d.-29,7	n.d.	n.d.-3,9

Estos valores concuerdan con los encontrados por otros en las aguas de los ríos españoles, como el río Segre (Huerta y col., 2016), donde las concentraciones máximas de carbamazepina, diclofenaco e ibuprofeno fueron de 38,6 ng/L, 29,1 ng/L y 193 ng/L, respectivamente. Collado y col., (2014) no encontraron

concentraciones de carbamazepina o ibuprofeno en el río Ter, pero sí que encontraron concentraciones de diclofenaco cercanos a 83 ng/L, mientras que de ketoprofeno y de naproxeno se detectaron concentraciones de hasta 102 ng/L cada uno. Da Silva y col., (2011) encontraron concentraciones para carbamazepina de hasta 53,8 ng/L, diclofenaco hasta 148 ng/L, ibuprofeno hasta 73,2 ng/L, ketoprofeno hasta 132 ng/L y naproxeno tenía una concentración máxima de 87,4 ng/L en su muestreo en el río Ebro. Todas estas concentraciones fueron similares a las encontradas en el río Guadalentín.

En el caso de los sedimentos, puede apreciarse en la Tabla 13 que la concentración máxima de la carbamazepina en el SP2 fue 2,24 ng/g, mientras que la concentración máxima de diclofenaco se encontró en el SP5 fue 14,4 ng/g, y la concentración más alta de ibuprofeno fue 2,56 ng/g en SP5. Para el ketoprofeno, la concentración más alta se encontró en el SP5 con 1,85 ng/g y para el naproxeno con 1,52 ng/g fue la concentración más alta y se encontró en el SP2.

Tabla 13. Rango de los compuestos farmacéuticos encontrados en los sedimentos del río muestreado (ng/g).

Código	CBZ	DFC	IBU	KTP	NPX
SP1	n.d.	n.d.-4,53	n.d.-1,00	n.d.-0,31	n.d.
SP2	n.d.-2,24	n.d.-3,32	n.d.-1,03	n.d.-1,85	n.d.-1,52
SP3	n.d.	n.d.	n.d.-0,31	n.d.	n.d.
SP4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
SP5	n.d.-1,75	n.d.-14,4	n.d.-2,56	n.d.	n.d.

Estos resultados concuerdan con los encontrados por Carmona y col., (2014) en sedimentos del río Tuna, donde no se detectaron ni carbamazepina ni ketoprofeno, mientras que diclofenaco tenía una concentración de 15 ng/g, ibuprofeno de 30 ng/g y naproxeno tenía una concentración de 13 ng/g. Otros autores que estudiaron el río Ebro (da Silva y col., 2011), detectaron concentraciones de carbamazepina que llegaron hasta los 2,68 ng/g, de diclofenaco hasta los 2,65 ng/g, de ibuprofeno hasta los 20,6 ng/g, de ketoprofeno hasta los 3,34 ng/g y de naproxeno, los resultados se encontraron por debajo del límite de cuantificación

del método.

Jiménez y col., (2017), analizó la degradación de un compuesto farmacéutico en el agua del río en condiciones de laboratorio. Este compuesto farmacéutico se degradó durante la evolución a largo plazo debido a la irradiación de la luz solar. En nuestros resultados, el ibuprofeno también se degrada a lo largo del río en cada muestreo y esto puede explicarse por la evolución de estos compuestos.

Meyer y col., (2016) estudiaron la relación de las concentraciones farmacéuticas obtenidas en los ríos alemanes tras la diseminación de los efluentes secundarios de las EDAR. En esa investigación, descubrieron que las concentraciones de la mayoría de fármacos aguas abajo eran marcadamente más altas que las concentraciones aguas arriba (anteriores al vertido de las EDAR) correspondientes en los ríos. El mismo comportamiento se observó en el estudio de Choi y col., (2008), donde las muestras de aguas superficiales recolectadas aguas arriba de las EDAR generalmente estaban por debajo del límite de detección, o con niveles muy bajos en comparación con las muestras aguas abajo. Sin embargo, en nuestro caso de estudio, la discontinuidad en el flujo de agua y la contribución de las descargas de agua de diferentes industrias a lo largo de diferentes puntos del río, dificultan la observación de efectos de atenuación o aumento de los contaminantes farmacéuticos a lo largo del río.

5.3.3. Evaluación del riesgo ambiental por la presencia de productos farmacéuticos en aguas y sedimentos

La evaluación del riesgo ambiental relacionada con la presencia de compuestos farmacéuticos en la cuenca del Guadalentín se estimó a partir de la concentración encontrada en agua y sedimentos mediante el método descrito por Martín y col., (2012). En aguas, como se puede observar en la figura 28 que el cociente de mayor riesgo se observó para el ibuprofeno en los puntos de muestreo 1, 2, 3, 4 y 5, con valores superiores a 1. Pero se puede observar una disminución

del cociente de riesgo a través de los puntos de muestreo de ríos.

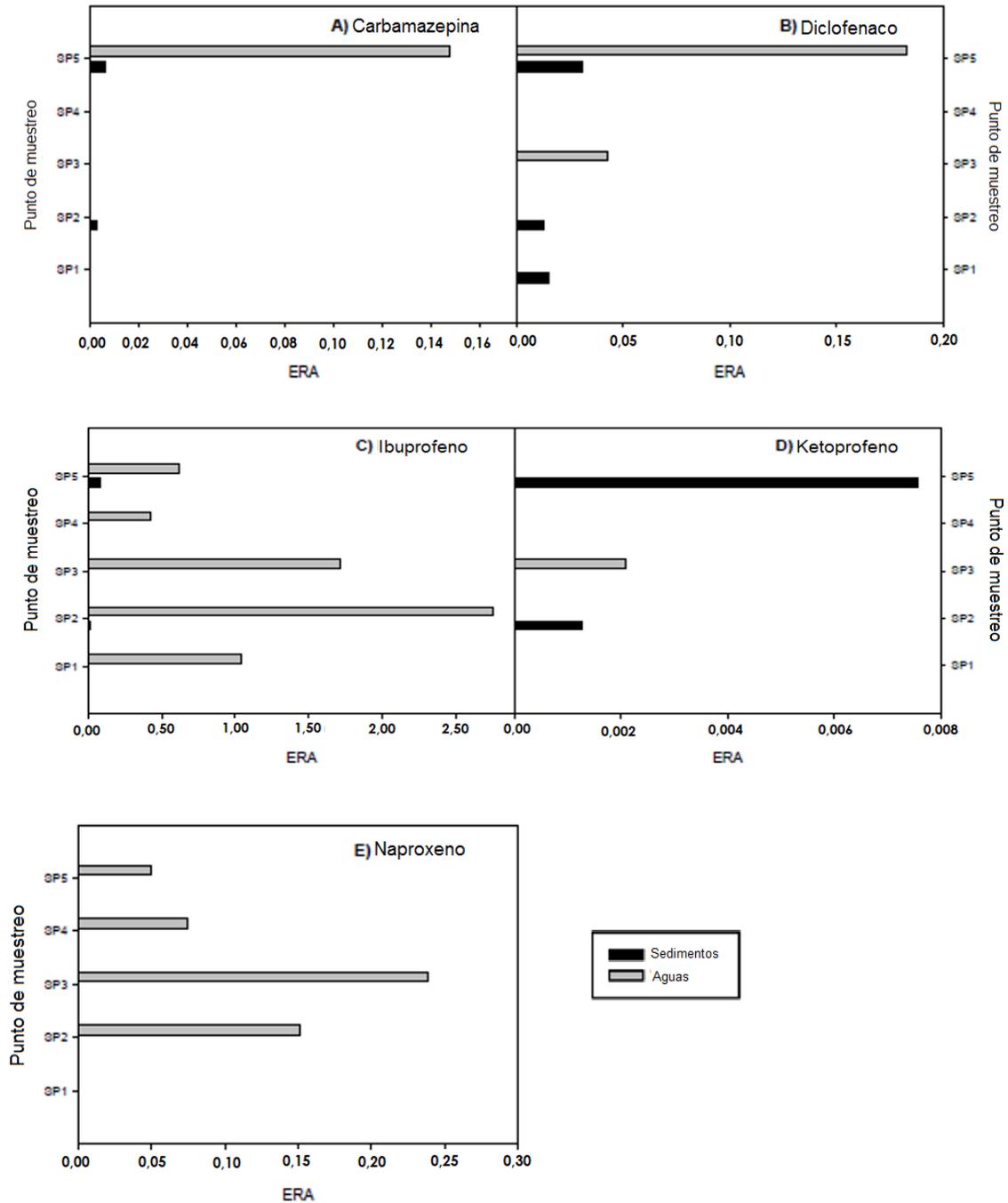


Figura 28. Evaluación de riesgo ecotoxicológico en agua y sedimentos.

Para los demás compuestos farmacéuticos (carbamazepina, diclofenaco, ketoprofeno y naproxeno), el cociente de riesgo fue inferior a 1 en todos los puntos de muestreo determinados. Esto indica que los compuestos farmacéuticos en las aguas no presentan ningún riesgo para la biodiversidad, ya que los valores por debajo de 1 no presentan ningún peligro para las especies más vulnerables (Martín y col., 2012).

Para los sedimentos, el cociente de riesgo se calculó sobre los sedimentos recogidos en los mismos puntos de muestreo donde se recolectaron muestras de agua (Figura 28). Los datos indican que el umbral del cociente de riesgo de 1 no se excedió para ninguno de los compuestos farmacéuticos probados en ninguno de los puntos de muestreo. Esto evidencia que no hay ningún riesgo para la biodiversidad, ya que, los valores estuvieron por debajo de los límites del umbral y, por lo tanto, no presentan ningún peligro para las especies vulnerables (Martín y col., 2012).

5.4. BALANCE DE LOS RESULTADOS EXTRAÍDOS

Se investigaron la concentración y el impacto de 5 productos farmacéuticos comunes, encontrados en los efluentes de la EDAR, sobre la biodiversidad del río Guadalentín. En particular, se evaluaron las concentraciones de carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno en el río Guadalentín en diferentes puntos y tiempo. Los resultados indicaron que la mayoría de las concentraciones farmacéuticas aguas abajo no tenían relación con las concentraciones aguas arriba correspondientes, lo que se debe a la aplicación directa de las aguas residuales en la agricultura y a que se no realizan descargas usuales y directas de las EDAR al río durante todo el año.

El principal compuesto encontrado en las plantas de tratamiento de aguas residuales fue la carbamazepina (89,6 ng/L), mientras que el compuesto

farmacéutico con mayor presencia en las aguas del río fue ibuprofeno (79,2 ng/L), por lo que otras descargas industriales o domésticas con origen desconocido, lo que hace es aumentar la concentración de ibuprofeno en este río. Sin embargo, de acuerdo con los resultados, el ibuprofeno sufre una degradación a medida que el agua fluye aguas abajo. En distancias cortas, el ibuprofeno disminuye lentamente, pero a grandes distancias, el ibuprofeno casi desaparece por completo debido a la alta degradación de este compuesto.

La evaluación del riesgo ambiental calculada para casi todos los productos farmacéuticos analizados fue inferior a 1, lo que sugiere que su potencial de impacto ambiental es bajo. La única excepción fue el ibuprofeno, que tenía valores superiores a 1 en casi todos los puntos de muestreo. Sin embargo, debido a la alta degradación del ibuprofeno el cual disminuye naturalmente aguas abajo donde las concentraciones finalmente alcanzaron niveles seguros.

Si bien, los resultados aquí descritos son positivos, se necesitan más estudios para investigar los efectos ecotoxicológicos de combinaciones de compuestos farmacéuticos y la exposición a largo plazo a bajas concentraciones. Solamente entonces se puede realizar una verdadera evaluación de riesgos para el medio ambiente.

**VI – COMPARACIÓN ENTRE UN
REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS
ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN
Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS
ESTACIONES TEMPORALES
DISTINTAS**

VI – COMPARACIÓN ENTRE UN REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS ESTACIONES TEMPORALES DISTINTAS

6.1. INTRODUCCIÓN

Los resultados obtenidos de los capítulos 4 y 5 reportan que las EDAR actuales no fueron concebidas inicialmente para eliminar estos contaminantes emergentes como son los compuestos farmacéuticos, tal y como se desprende de los resultados reportados por Du y col., (2014).

Actualmente, las concentraciones de estos contaminantes emergentes son bajas, por lo que los investigadores han tenido tiempo para investigar gran cantidad de compuestos farmacéuticos para tratar de encontrar la forma de eliminarlos de las aguas a través de las EDAR.

Las tecnologías que se han ido implementado en las EDAR han hecho que éstas hayan mejorado los rendimientos, tales como la radiación ultravioleta o la oxidación, que no son completamente nuevas, pero ayudan a reducir las concentraciones de esos compuestos (Rosario-Ortiz y col., 2009; Giri y col., 2010). Más recientemente, la fotocatalisis (Rioja y col., 2013; Kanakaraju y col., 2015), foto-Fenton (Ahmed y col., 2013; Lee y col., 2014) o la ozonización (Vieno y col., 2007; Dantas y col., 2007) fueron investigados como nuevos mecanismos para lograr una mayor eficiencia de eliminación farmacéutica en las plantas de tratamiento.

Sin embargo, dentro de las propias plantas depuradoras, hay algunas variables que permiten mejorar el rendimiento de eliminación de los compuestos farmacéuticos. Entre los factores que podrían afectar la eliminación farmacéutica de las EDAR podemos encontrar: la composición de las aguas residuales (hospitalarias, industriales, etc.), las variaciones estacionales, el tratamiento biológico (sorción y biotransformación / biodegradación), el tipo de EDAR, las

condiciones operativas (lodo, tiempo de retención hidráulica, lodo tiempo de retención, biomasa), la temperatura y el pH (Verlicchi y col., 2012). Cada proceso específico de tratamiento de las EDAR determina las eficiencias de eliminación de cada compuesto farmacéutico debido a su estructura química y sus propiedades fisicoquímicas (Behera y col., 2011).

Entre los factores comentados anteriormente, uno de los que puede modificar la forma en la que funciona una planta de depuración es la temperatura. Vieno y col., (2005) estudiaron en Finlandia el comportamiento de ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco y bezafibrato durante algunos meses (uno por cada estación) y concluyeron que el comportamiento de la planta era mejor en verano que en invierno. La diferencia de la temperatura media entre el mes más frío de sus muestreos y el mes más cálido fue de 14°C. Por otro lado, Loraine y Pettigrove, (2006) llegaron a la misma conclusión para compuestos como benzofenona, clofibrato, surfinol, metilparabeno, etc., con un promedio más aproximado de temperatura (5,4°C) entre las dos estaciones y con los mismos parámetros de demanda bioquímica de oxígeno, pH, etc., para los periodos de muestreo.

Las estaciones depuradoras integradas en la región de Murcia constan en su gran mayoría de sistemas convencionales de fangos activos, tanto en su formato de flujo pistón como en carrusel. En este capítulo se escogieron una estación depuradora de cada tipo para comparar los rendimientos en dos estaciones temporales diferentes y determinar si la diferencia de temperaturas de cada estación afecta a la forma de trabajar de los microorganismos que se encargan de la degradación de los compuestos como se ha comentado anteriormente.

6.2. DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LAS 2 EDAR MUESTREADAS

6.2.1. Plantas de aguas residuales muestreadas

El funcionamiento de EDAR de Alcantarilla esta descrito en el apartado 4.2.1 de capítulo 4, con la modificación de que para este muestreo el reactor primario no

VI - COMPARACIÓN ENTRE UN REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS ESTACIONES TEMPORALES DISTINTAS 153

estaba operativo. Para el muestreo realizado en este año, la planta tuvo un flujo diario de 7.196,93 m³/d para una población aproximada de 85.356 habitantes. El agua bruta de esta planta proviene principalmente de agua doméstica y del parque industrial que tiene una superficie de 190,5 Ha y donde trabajan aproximadamente 1460 compañías.

La EDAR de Mula (W 1°28'0", N 38°3'11") trata sus aguas mediante un pretratamiento, sedimentación primaria, aireación activada con lodo activado (en carrusel), sedimentación secundaria, filtros de disco, ultravioleta. Esta EDAR funciona con un tiempo de retención hidráulico de 3,11 días para una población de 15.381 habitantes con un flujo diario de 2414 m³/d. El agua bruta proviene, como el caso anterior, de agua doméstica, aunque también estaba conectada con un pequeño parque industrial que tiene una superficie de 20,7 Ha y trabaja en 31 empresas, donde la más importante es una fábrica que procesa tomates.

6.2.2. Muestreo y análisis de las EDAR de Alcantarilla y Mula

El muestreo se llevó a cabo durante una semana, en dos campañas diferentes (16-20 de febrero y 18-22 de mayo de 2015). Para la EDAR de Alcantarilla, el promedio de temperatura máxima fue de 16,8°C y el promedio de temperatura mínima fue de 9,1°C en febrero con una precipitación acumulada de 7,58 L/m². Durante el muestreo de mayo, fue de 25,8°C y 15,7°C respectivamente y una precipitación de 2,03 L/ m². Para la EDAR de Mula, el promedio de temperatura mínima fue de 7,6°C y el promedio de temperatura máxima fue de 13,7°C en febrero con una precipitación acumulada de 15,51 L/m². Durante el muestreo de mayo, fue de 14,2°C y 24°C respectivamente y una precipitación de 7,7 L/m².

Las muestras agrupadas del influente y del efluente fueron recogidas durante un período de 24 h en muestreadores automáticos. Los volúmenes de aguas residuales se recogieron en botellas de vidrio ámbar de 2 litros, se introdujeron a 4°C y se llevaron al laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a su recolección.

Las aguas se conservaron ajustando el pH a 2 con ácido acético y posteriormente se inició su extracción.

6.2.2.1 Extracción de fármacos

El tratamiento de las muestras por medio de la extracción en fase sólida para este muestreo se realizó según el método realizado descrito por Camacho-Muñoz y col., (2009) que ha sido descrito en el apartado 4.2.2 del capítulo 4, con la modificación de que en este muestreo se usó en ácido acético en vez de ácido sulfúrico para rebajar el pH de las muestras y del agua ultrapura a 2. Después de eso, se analizaron con un cromatógrafo líquido de alta resolución con un espectrómetro de masas.

6.2.2.2. Determinación de fármacos por medio del HPLC-MS/MS

Los análisis de las muestras se realizaron usando el cromatógrafo Shimadzu LC-20AD XR, equipado con un espectrómetro 4000 Q TRAP MS / MS. Todos los analitos se separaron usando una columna C18 (2,7 μm , 100 x 2,1 mm ID Supelco Ascentis Express). Se usó un gradiente binario para la fase móvil que consistió en ácido acético al 0,05% en agua ultrapura (A) y metanol al 100% (B) a un caudal de 0,3 mL/min. El gradiente fue el siguiente: comenzó con 15% de B y aumentó linealmente hasta 100% durante 2,5 minutos y se mantuvo durante 1,5 minutos. Después de eso disminuyó hasta 15% B y terminó tras 4,5 min. El paso de equilibrio se usó al comienzo de cada ejecución. Se utilizó un volumen de inyección de 10 μL para todos los análisis. La temperatura del horno fue de 35°C.

La ejecución de medición se dividió en dos partes: los primeros tres minutos se usaron para la ionización positiva y la segunda parte para las mediciones negativas. El gas de cortina se ajustó a 10, el gas fuente de iones 1 (GS1) fue 40, el gas fuente de iones 2 (GS2) fue 50 y la temperatura de ionización se ajustó a 500°C. El voltaje del ion Spray se ajustó a 4000 V (modo positivo) y a -4000 V (modo negativo). Los tiempos de espera se establecieron en 50.0 milisegundos. Los límites de detección y cuantificación de este análisis vienen reflejados en el apartado 3.5

del capítulo 3.

6.2.3. Análisis estadístico para las correlaciones entre los compuestos farmacéuticos

El análisis estadístico se realizó con SPSS Statistics 24. El análisis de correlación se utilizó para calcular la correlación bivariante de Pearson y los valores de ρ entre cada compuesto en los diferentes muestreos para ambas EDAR (Xu y col., 2015).

6.3. DISCUSIÓN SOBRE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EDAR DE ALCANTARILLA Y MULA

Se midieron las concentraciones de los compuestos farmacéuticos en las muestras del influente y efluente de dos EDAR en invierno y primavera. Se calculó el equilibrio de los compuestos farmacéuticos entre agua bruta y agua tratada en las EDAR. Esto nos permitió comprender mejor su comportamiento durante la temporada de invierno y primavera y, también, la capacidad de los dos tipos diferentes de EDAR para degradar los compuestos de las aguas.

6.3.1. Análisis estacional de las depuradoras

Los resultados obtenidos del análisis de las aguas para ambas EDAR en el muestre de invierno se pueden observar en la tabla 14 y 15. Las concentraciones de ibuprofeno encontradas en los influentes fueron más altas que para los otros compuestos, seguidas de naproxeno, diclofenaco, ketoprofeno y carbamazepina. Mientras estaban en los efluentes, las concentraciones siguieron al siguiente orden diclofenaco > carbamazepina > naproxeno > ibuprofeno > ketoprofeno.

Tabla 14. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de invierno en la EDAR Alcantarilla ($\mu\text{g/L}$).

	Influente (n=5)	Efluente (n=5)	Eliminación
<i>Carbamazepina</i>	0,041-0,104 (0,066)	0,130-0,164 (0,142)	-114%
<i>Diclofenaco</i>	0,553-0,930 (0,654)	0,586-0,715 (0,651)	0%
<i>Ibuprofeno</i>	14,758-46,885 (31,336)	0,056-0,265 (0,171)	99%
<i>Ketoprofeno</i>	0,217-0,745 (0,519)	0,080-0,131 (0,05)	80%
<i>Naproxeno</i>	2,287-6,167 (4,611)	0,116-0,215 (0,163)	96%

En la temporada invernal, el promedio de eliminación de carbamazepina en la planta con reactor de flujo pistón (Alcantarilla) y la planta con reactor en carrusel (Mula) tuvo una eliminación negativa y está en concordancia con otras investigaciones (Gao y col., 2012; Kosma y col., 2014). Con respecto al diclofenaco, la EDAR de flujo pistón y la de carrusel no mostraron una eliminación apreciable de acuerdo con Zorita y col., (2009) y Lee y col., (2012).

Tabla 15. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de invierno en la EDAR de Mula ($\mu\text{g/L}$).

	Influente (n=5)	Efluente (n=5)	Eliminación
<i>Carbamazepina</i>	0,045-0,194 (0,164)	0,148-0,221 (0,183)	-11%
<i>Diclofenaco</i>	0,323-1,115 (1,015)	0,782-1,423 (1,059)	-4%
<i>Ibuprofeno</i>	1,361-36,512 (35,823)	0,045-0,080 (0,067)	100%
<i>Ketoprofeno</i>	0,117-1,015 (0,766)	0,022-0,047 (0,032)	96%
<i>Naproxeno</i>	1,104-6,52 (5,747)	0,076-0,123 (0,102)	98%

Por otro lado, el ketoprofeno, el ibuprofeno y el naproxeno lograron una eliminación en ambas EDAR de más del 80%. El influente mostró una menor concentración de compuestos debido a un mayor flujo de agua (infiltración) y por la lluvia durante la temporada de invierno. Estos hechos contribuyeron a la dilución de los compuestos (Papageorgiou y col., 2016). Paralelamente, en la temporada de más frío, se obtuvo una menor concentración de estos compuestos en el efluente por el efecto de la dilución, y estos datos están en concordancia con Lacey y col., (2012).

VI - COMPARACIÓN ENTRE UN REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS ESTACIONES TEMPORALES DISTINTAS 157

En la tabla 16 y 17 se pueden observar los resultados obtenidos en el análisis de agua del muestreo de primavera. Para ambas EDAR se puede apreciar que la concentración de ibuprofeno encontrada en los influentes fue más alta que del resto de los compuestos. La clasificación sigue con el naproxeno, el diclofenaco, el ketoprofeno y el carbamazepina. Para los efluentes, las concentraciones siguieron el siguiente orden: diclofenaco > carbamazepina > ibuprofeno > naproxeno > ketoprofeno.

Tabla 16. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de primavera en la EDAR Alcantarilla ($\mu\text{g/L}$).

	Influente (n=5)	Efluente (n=5)	Eliminación
<i>Carbamazepina</i>	0,212-0,440 (0,322)	0,405-1,119 (0,709)	-120%
<i>Diclofenaco</i>	0,876-1,393 (1,132)	0,909-1,355 (1,132)	0%
<i>Ibuprofeno</i>	20-48,214 (34,266)	0,112-1,140 (0,386)	99%
<i>Ketoprofeno</i>	0,579-1,213 (0,860)	0,071-0,139 (0,107)	88%
<i>Naproxeno</i>	3,84-9,233 (6,615)	0,124-0,278 (0,172)	97%

El promedio de eliminación, en la estación primaveral para la carbamazepina en la EDAR de flujo pistón y en la EDAR de carrusel, tuvo un balance negativo tal como ocurrió durante el muestreo de invierno. Para el diclofenaco, la EDAR de Mula tuvo una eficiencia de eliminación del 70%, mientras que la planta de Alcantarilla tuvo una eliminación negativa.

Tabla 17. Rango de concentraciones y desviación estándar del muestreo de primavera en la EDAR Mula ($\mu\text{g/L}$).

	Influente (n=5)	Efluente (n=5)	Eliminación
<i>Carbamazepina</i>	0,196-0,671 (0,407)	0,612-0,812 (0,701)	-72%
<i>Diclofenaco</i>	1,116-1,946 (1,464)	0,347-0,515 (0,433)	70%
<i>Ibuprofeno</i>	26,192-63,491 (46,860)	0,165-0,691 (0,324)	99%
<i>Ketoprofeno</i>	0,88-1,786 (1,426)	0,033-0,085 (0,06)	96%
<i>Naproxeno</i>	7,707-12,413 (10,608)	0,169-0,245 (0,198)	98%

En cuanto a ketoprofeno y naproxeno, se mostró una relación de eliminación

entre el 88-97% en la planta de flujo pistón y 96-98% en la planta de carrusel. Para el ibuprofeno, ambas EDAR tuvieron un rendimiento de eliminación del 99%. Nuestros resultados fueron en concordancia con Papageorgiou y col., (2016) que detectaron una mayor concentración de diclofenaco, naproxeno y carbamazepina durante su muestreo en primavera.

Durante la estación primaveral, las plantas comienzan a crecer y a polinizar. Parte de la población humana es alérgica a estos cambios y debido a la polinización tienen problemas respiratorios que los llevan a consumir diversos compuestos (de Jesus Gaffney y col., 2017). Este aumento del consumo de compuestos farmacéuticos se refleja en el influente de las plantas depuradoras. Por eso, incluso cuando la planta de carrusel mostró un buen rendimiento de eliminación durante el muestreo de primavera, y aun estando en conformidad con los resultados obtenidos para Guerra y col., (2013), la concentración de este compuesto fue mayor durante el muestreo en primavera que en invierno para todos los compuestos analizados. Kosma y col., (2014) o Sun y col., (2014), concluyeron que la concentración en el efluente en la temporada más fría fue mayor que la más cálida, si bien, por la dilución del flujo del agua, las concentraciones de nuestro estudio fueron mayores en el muestreo de Mayo respecto al de Febrero. El menor consumo de diclofenaco durante los meses mayo y agosto en los estudios realizados por Papageorgiou y col., (2016) implicaron su mayor facilidad para ser fotodegradado.

Comparando los resultados de los efluentes, incluso cuando el rendimiento de eliminación en la temporada de primavera podría parecer mejor que en invierno, las plantas de tratamiento de aguas residuales analizadas mostraron una mayor concentración a la salida de las EDAR de todos los compuestos durante el muestreo primaveral. Esto expresa que cuando las concentraciones en el influente fueron más altas, ambas EDAR no conseguían alcanzar una concentración similar en el efluente a las obtenidas en el influente cuando se tenía una concentración más baja (Badía-Fabrega y col., 2017). El rendimiento de las plantas fue peor durante el invierno porque la biodegradación disminuye con las bajas temperaturas (Sun y col., 2014; Kosma y col., 2014; Papageorgiou y col., 2016).

VI - COMPARACIÓN ENTRE UN REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS ESTACIONES TEMPORALES DISTINTAS 159

Nuestros resultados están en armonía con González-Pérez y col., (2017) que verificaron que el ibuprofeno, el naproxeno y el ketoprofeno eran altamente biodegradables. En ambas temporadas, el ketoprofeno (80-96%) tuvo un comportamiento de eliminación diferente respecto al ibuprofeno y el naproxeno (96-100%), mientras que el ibuprofeno (100%) tuvo una mejor eficacia de eliminación que el naproxeno (98%). Las eficiencias de eliminación de diclofenaco fueron casi nulas, excepto en el caso de la EDAR de Mula durante el muestreo de primavera.

Como se refleja en la tabla 18, en la EDAR de flujo pistón, la carbamazepina con el ketoprofeno (0,926), la carbamazepina con el naproxeno (0,883), y el ketoprofeno con el naproxeno (0,994) mostraron una correlación entre esos fármacos en el muestreo de febrero. Mientras, en el muestreo de mayo, la carbamazepina con el naproxeno (0,966), la carbamazepina con el ibuprofeno (0,99) y el naproxeno con el ibuprofeno (0,992) revelaron una posible correlación.

Tabla 18. Correlaciones positivas encontradas entre fármacos en los muestreos realizado en el EDAR de Alcantarilla.

Febrero			Mayo		
Compuestos	Correlación Pearson	Sig. (bilateral)	Compuestos	Correlación Pearson	Sig. (bilateral)
CBZ-KTP	0,926	0,024	CBZ-NPX	0,966	0,008
CBZ-NPX	0,883	0,047	CBZ-IBU	0,99	0,001
KTF-NPX	0,994	0,001	NPX-IBU	0,992	0,001

Durante el muestreo de febrero en la EDAR con reactor de carrusel (tabla 19), se demostró una correlación entre la carbamazepina y el naproxeno (0,949), la carbamazepina y el ibuprofeno (0,93), el ketoprofeno y el naproxeno (0,938), el naproxeno y el ibuprofeno (0,879), el diclofenaco y el ibuprofeno (0,942), y la carbamazepina y el ketoprofeno (0,963). Por otra parte, la carbamazepina con ibuprofeno (0,918) y el ketoprofeno con el naproxeno (0,906) demostraron correlación durante el muestreo de mayo.

Tabla 19. Correlaciones positivas encontradas entre fármacos en los muestreos realizado en el EDAR de Mula.

Febrero			Mayo		
Compuestos	Correlación Pearson	Sig. (bilateral)	Compuestos	Correlación Pearson	Sig. (bilateral)
CBZ-KTF	0,963	0,008	CBZ-IBU	0,918	0,028
CBZ-NPX	0,949	0,014			
CBZ-IBU	0,93	0,022			
KTF-NPX	0,938	0,019	KTF-NPX	0,906	0,034
NPX-IBU	0,879	0,049			
DCF-IBU	0,942	0,016			

6.3.2. Análisis según la tipología de las depuradoras

La tabla 20 nos muestra la relación entre la concentración promedio, para el muestreo de mayo y el muestreo de febrero, para ambas depuradoras. En la EDAR de Alcantarilla, la carbamazepina, el diclofenaco y el ibuprofeno mostraron un aumento en el influente del muestreo de mayo con respecto al muestreo de febrero (388, 73 y 9%), lo que se reflejó también como un aumento en el efluente del muestreo de mayo (401, 74 y 127%) en comparación con el muestreo de febrero. Los aumentos de estos compuestos fueron mayores en el agua tratada que en el agua bruta para cada uno de los fármacos.

Tabla 20. Incremento estacional producido de las concentraciones de los compuestos farmacéuticos en cada punto de muestreo.

Compuesto	EDAR Alcantarilla		EDAR Mula	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente
Carbamazepina	388%	401%	148%	283%
Diclofenaco	73%	74%	44%	-59%
Ibuprofeno	9%	127%	31%	386%
Ketoprofeno	66%	2%	86%	87%
Naproxeno	43%	6%	85%	94%

Incremento de concentración calculado a partir de los valores medios de la tabla 1 y 2 tomando como referencia el mes de febrero.

VI - COMPARACIÓN ENTRE UN REACTOR BIOLÓGICO DE FANGOS ACTIVOS DEL TIPO FLUJO PISTÓN Y DEL TIPO CARRUSEL EN DOS ESTACIONES TEMPORALES DISTINTAS 161

Por otro lado, el ketoprofeno y el naproxeno también tienen un aumento del muestreo de mayo con respecto al febrero en el influente (66 y 43%) y se correlacionan con un aumento en el efluente, pero estos aumentos son menores (2 y 6%) en el agua tratada que en el agua sin tratar.

En la planta de carrusel, carbamazepina, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno mostraron un aumento de estos compuestos en el influente del muestreo de mayo con respecto al muestreo de febrero (148, 31, 86 y 85%), lo que supuso un aumento en el efluente del muestreo de mayo (283, 386, 87 y 94%) en comparación con el muestreo de febrero. Los aumentos para cada compuesto fueron mayores para el agua tratada que para el agua sin tratar. Por otro lado, el diclofenaco también tuvo un aumento (44%) en el muestreo de mayo con respecto al muestreo de febrero en el influente, pero en el efluente, este compuesto revela una disminución (-59%) en el muestreo de mayo con respecto a febrero.

Teniendo en cuenta que no existe diferencia entre filtros de arena y filtros de disco, porque no son efectivos eliminando compuestos farmacéuticos (Nakada y col., 2007), el comportamiento de la EDAR de Mula fue mejor para cada compuesto que la EDAR de Alcantarilla en ambas estaciones.

De acuerdo con Guerra y col., (2013), los tiempos de retención hidráulicos altos promueven condiciones de nitrificación que proporcionan una mejor eliminación de estos compuestos, ya que durante este tiempo se permite que pueden crecer algunas bacterias específicas que pueden influir en una buena eliminación. Por tanto, la EDAR con reactor de carrusel con unos tiempos de retención de 3 días tuvo un mejor rendimiento para cada compuesto que la EDAR con flujo pistón la cuál apenas llega a un día de tiempo de retención.

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) han demostrado una buena relación entre la eficiencia de eliminación en las EDAR (Kosma y col., 2014; Papageorgiou y col., 2016). Este rendimiento de nuestras plantas está en concordancia con Samaras y col., (2013) con respecto a los AINE (excepción del

diclofenaco).

Comparando las plantas, la EDAR con carrusel tuvo un mejor rendimiento en la eliminación de ketoprofeno que la EDAR de flujo pistón tanto en el muestreo de Febrero (96% a 80%) como en el de Mayo (96% a 88%) debido al mayor tiempo de retención y al flujo mixto que se obtienen del reactor en forma de carrusel. Este mejor rendimiento del ketoprofeno es debido a que no es requerido como una fuente de carbono cuando se carecen de compuestos biodegradables (González-Pérez y col., 2017). La eficiencia de la eliminación de naproxeno e ibuprofeno (96-100%) estaba en afinidad con Zorita y col., (2009).

El rendimiento del diclofenaco en la mayoría de los muestreos (0%, -4% y 0%) muestra una mala degradación durante el proceso de fangos activos. Estos resultados están de acuerdo con Lee y col., (2012) que evaluaron la complejidad del diclofenaco para su eliminación y que, por ello, podría dar un rendimiento negativo hasta más del 50% de eficiencia. Aunque el diclofenaco es un compuesto original de ibuprofeno, su comportamiento diferente para eliminarse, podría provenir de la presencia de cloro en ese compuesto (Zorita y col., 2009; Radjenovic y col., 2009) y, también, a su naturaleza hidrofílica que hace que se acumule en el sistema y tenga una recirculación constante (González-Pérez y col., 2017).

En cuanto a la carbamazepina, ambas EDAR presentaron una eliminación negativa, pero con un mejor rendimiento de la EDAR de carrusel (-11% y 72%) con respecto a la flujo pistón (-114% y -120%). Este comportamiento durante el proceso en la planta de aguas residuales, nos demuestra que la carbamazepina se transformó en el compuesto primario.

Entre las dos teorías que podrían explicar este comportamiento tenemos la que dice que el fármaco entra en el agua bruta incluida en partículas fecales en forma de cápsula la cual se rompe durante el tratamiento debido a la actividad microbiana y libera el compuesto como primario. La segunda teoría dice que el fármaco entra en forma de metabolitos del mismo los cuales no son detectables en

agua del influente y que, posteriormente, se transformaron en el compuesto original a través de microorganismos actividad (Blair y col., 2015; Park y col., 2017).

6.4. BALANCE DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

Se determinaron cinco productos farmacéuticos (ibuprofeno, ketoprofeno, diclofenaco, naproxeno y carbamazepina) en dos plantas de tratamiento de aguas residuales en el sureste de España. La EDAR con un reactor biológico en carrusel (Mula) y con un mayor tiempo de retención hidráulico tuvo un mejor rendimiento al eliminar estos compuestos farmacéuticos que la EDAR con reactor biológico de flujo pistón (Alcantarilla) durante el muestreo de invierno y primavera. La concentración que llegó al influente de carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno de ambas EDAR fue siempre mayor durante el muestreo de mayo (0,322-0,407 µg/L; 1,132-1,646 µg/L; 34,266-46,86 µg/L; 0,86-1,426 µg/L; 6,615-10,608 µg/L). En general, el rendimiento de ambas plantas de tratamiento de aguas residuales fue mejor durante el muestreo de primavera en comparación con el muestreo de invierno incluso cuando la concentración fue menor en este último (tablas 15 y 16). Con la concentración más alta (muestreo de mayo), la EDAR de Alcantarilla mostró un mejor rendimiento en la eliminación global de ketoprofeno y naproxeno (80 → 88% y 96 → 97%) que la EDAR de Mula (96 → 96% y 98 → 98%), pero para el diclofenaco, la de EDAR que trabajo con un reactor biológico en carrusel tuvo un mejor comportamiento (-4 → 70%). Sin embargo, ambas plantas no pudieron mantener el rendimiento de eliminación de carbamazepina e ibuprofeno cuando las concentraciones fueron mayores durante el muestreo de primavera, tal como se observa en la tabla 20, en la que ambos fármacos muestran una gran diferencia de porcentaje entre influente y efluente (388% a 401% en Alcantarilla y 148% a 283% en Mula para carbamazepina y 9% a 127% en Alcantarilla y 31% a 386% en Mula para el ibuprofeno). El análisis de correlaciones entre los compuestos demuestra que no existió una relación evidente entre los mismos haciendo el balance entre las muestras que se realizaron.

**VII - ANÁLISIS DEL
COMPORTAMIENTO DE 5
COMPUESTOS FARMACÉUTICOS A
TRAVÉS DE 3 EDAR CON REACTOR
BIOLÓGICO DE FLUJO PISTÓN.**

VII - ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE 5 COMPUESTOS FARMACÉUTICOS A TRAVÉS DE 3 EDAR CON REACTOR BIOLÓGICO DE FLUJO PISTÓN.

7.1. INTRODUCCIÓN

Como se ha comprobado de los capítulos anteriores, el desarrollo de nuestra sociedad ha generado una nueva clase de contaminación que ha ido creciendo en los últimos años y, los cuales, están teniendo un gran impacto en el medio ambiente (Richardson, 2003; Murray y col., 2010). Los primeros elementos contaminantes que analizados fueron los metales pesados, ya que a mediados del siglo XX un alto número de industrias y de minería arrojaban sus aguas sucias a los cursos del agua (Cabrera y col., 1984; Norris y col., 1986), situación que sigue vigente en países menos desarrollados los cuales siguen vertiendo estos metales a los flujos de agua (Gallay y col., 2018). Actualmente, son los compuestos farmacéuticos los que son mayoritariamente investigados (Hirsch y col., 1999; Seiler y col., 1999), ya que, aún están por descubrir sus posibles afecciones a los comportamientos y a la evolución de la fauna (Daughthon and Ternes, 1999; Brodin y col., 2013) y determinar su grado de influencia en el medio ambiente (Petrovic y col., 2004; Bolong y col., 2009).

Si bien, la primera EDAR de la historia fue creada en el S.XIX y consistía en un gran filtro de arena, semejante a las depuradoras de lagunaje, las actuales depuradoras modernas (y para caudales grandes) cuentan, al menos, con un reactor biológico con fangos activos para degradar la materia orgánica y obtener un agua más limpia.

En el interior reactor biológico se suceden 4 mecanismos, que provocan la degradación de los residuos, y que son la biotransformación, la extracción de aire, la sorción y la fototransformación (Zhang y col., 2008). Se ha demostrado que, de estos aspectos, es la interacción con la biomasa la que genera la eliminación de los fármacos (Falas y col., 2011). Esto implica que con esta degradación que se produce

en el reactor, las plantas depuradoras no consiguen eliminar estos compuestos tal como sucede en países en vías de desarrollo y con una tecnología limitada, donde la tecnología solo es capaz de llegar al tratamiento secundario (Yu Chen-Lin y col., 2009).

Y, aunque las EDAR han ido recibiendo nuevas tecnologías como los filtros de arenas, filtros de discos y los filtros de anillos los cuales no logran una evidente degradación de los nuevos compuestos (Nakada y col., 2007) o la radiación ultravioleta (Yaun y col., 2004) para la eliminación de patógenos y virus (aunque su efectividad del mismo no es del todo clara ya que dependiendo del compuesto farmacéutico sí que este aporte consigue una reducción de la concentración del mismo (Pereira y col., 2007)), lo que permite obtener un agua muchos más pura, la cual es usada incluso para el riego de la plantas (Borgman y Chefetz, 2013; Grossberger y col., 2014), el núcleo principal generador de las bacterias para la eliminación de los compuestos se produce en los reactores biológicos.

Debido a lo descrito anteriormente y teniendo en cuenta la tendencia actual de buscar los métodos de eliminación mediante la reutilización de la tecnología actual, el presente capítulo pretende hallar los compuestos farmacéuticos carbamazepina, diclofenaco, ketoprofeno, ibuprofeno y naproxeno a lo largo de 3 EDAR, que funcionan con reactores biológicos de flujo pistón, y determinar el comportamiento de estos compuestos y su degradación a través de estas plantas depuradoras.

7.2. ANALISIS DE LAS 3 ESTACIONES DEPURADORAS Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

7.2.1. Estaciones de depuración de aguas residuales muestreadas

La EDAR de Molina de Segura esta descrita en el apartado 4.2.1 del capítulo 4 con la modificación de en este muestreo se contaba con un caudal diario de 14.510,16 m³/d para una población de 73.091 habitantes. El agua bruta de esta planta

depuradora proviene de aguas domésticas y de dos grandes parques industriales, los cuales tienen una superficie conjunta de 83 Ha y dónde trabajan 298 compañías.

La EDAR de Roldán, Lo Ferro-Balsicas (W 0°57'30"; N 37°48'8") trabaja con un pretratamiento, un reactor biológico de fangos activos de aireación prolongada (flujo pistón), decantador secundario y como tratamiento terciario la EDAR tiene filtro de arenas y rayos ultravioleta. Esta planta trabaja con un caudal diario de 1.329,05 m³/d para una población de 8.910 habitantes y un tiempo de retención hidráulico de 4,63 días. El agua bruta de esta planta depuradora proviene de aguas domésticas de las diferentes poblaciones de alrededor y una gran extensión de terreno agrícola.

El funcionamiento de la EDAR de Alcantarilla viene descrito en el apartado 4.2.1 del capítulo 4. Al ser este muestreo en el año 2017, igual que el desarrollado en el capítulo 5, el caudal medio diario fue de 7.323,71 m³/d para una población estimada de 86.573 habitantes. El agua bruta de esta planta proviene principalmente de agua doméstica y del parque industrial donde trabajan aproximadamente 1460 compañías y que tiene una superficie total de 190,5 Ha.

7.2.2. Localización y fecha del muestreo

El muestreo de la EDAR de Molina se llevó a cabo durante los días 24-25 de mayo de 2016, en los cuales se muestrearon diferentes puntos de la estación depuradora teniendo presente el tiempo de retención hidráulico de la planta y, sobre todo, el reactor biológico de fangos activos principal. En la figura 29, se muestran los puntos de muestreos recogidos en esta EDAR.



Figura 29. Puntos de recogida en la EDAR de Molina. La numeración representa 1: Influyente; 2: Reactor biológico zona anóxica; 3: Reactor biológico zona aerobia inicial; 4: Reactor biológico zona aerobia final; 5: Efluente.

El muestreo de la EDAR de Roldán se realizó durante los días 19-21 de abril de 2016, en el que se muestreó el influente, la zona aireada del reactor biológico de flujo pistón y el agua del efluente. En la figura 30, se recogen los puntos de recolección de las muestras para esta EDAR.



Figura 30. Puntos de recogida en la EDAR de Roldán. La numeración representa 1: Influyente; 2: Reactor biológico zona aerobia inicial; 3: Reactor biológico zona aerobia final; 4: Efluente.

La EDAR de Alcantarilla fue muestreada durante los días 6-8 de noviembre de 2017, en el que se muestrearon las aguas desarenador en la zona de pretratamiento, el reactor biológico primero (de la doble etapa), cada parte del reactor biológico y el agua tras el decantador secundario, todo siguiendo el tiempo de retención hidráulico de la planta depuradora. Los puntos de recogida de esta EDAR se muestran en la figura 31.



Figura 31. Puntos de recogida en la EDAR de Alcantarilla. La numeración representa 1: Desarenador-desengrasador; 2: Reactor biológico primario; 3: Reactor biológico zona anóxica; 4: Reactor biológico zona aerobia inicial; 5: Reactor biológico zona aerobia final; 6: Tanque de laminación.

Las aguas del influente y del efluente fueron muestreadas mediante muestreadores automáticos que recogen las aguas durante 24 horas. El resto de muestras recogidas fueron puntuales. Se recogieron las aguas y se introdujeron en botellas de vidrio ámbar de 2 litros y fueron llevadas a laboratorio dentro de las 4 horas posteriores al muestreo y durante el trayecto se mantuvieron en hielo para conservarlas a 4°C. Se ajustó el pH a 2 con ácido fórmico para preservar las muestras.

7.2.3. Extracción de fármacos

De las aguas del influente, del desarenador y la muestra del primer reactor biológico se extrajeron 500mL mientras que de los reactores biológicos de flujo pistón y el agua depurada se filtraron 1000mL. El proceso de extracción de aguas viene descrito en el apartado 5.2.3.1 del capítulo 5.

7.2.4. Determinación de los fármacos

Se utilizó un sistema UPLC Acquity I-Class y HR-QTOF-MS maXis Series (Bruker Daltonik GmbH, alemán) para los análisis de las muestras. Todos los analitos se separaron usando una columna ACQUITY UPLC BEH C18 con (100 x 2,1 mm, tamaño de partícula de 1,7 μm , Waters, Milford, MA, EE. UU.). El resto de la fase de extracción es la descrita en el apartado 5.2.4 del capítulo 5.

7.2.5. Control de calidad

Las recuperaciones de la extracción, para los compuestos objetivo, se determinaron para matrices de agua mediante el enriquecimiento de muestras ($n = 3$) para las EDAR de Roldán y Alcantarilla y de muestras ($n = 2$) para la EDAR de Molina, ambas a 100 ng/mL. Para cada tipo de muestras de agua, las recuperaciones se determinaron comparando una muestra repetida que se añadió antes del procedimiento de SPE y la otra muestra inyectada después del procedimiento de SPE, y se calculó mediante la calibración con el patrón interno. Las réplicas de muestras no enriquecidas con el patrón también se analizaron para determinar sus concentraciones (exceptuando las muestras de la EDAR de Molina en el que ésta muestra no existía). El resto del control de calidad para la recuperación de los compuestos objetivo, se describen en el apartado 3.6 del capítulo 3.

7.3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS SEGÚN LOS FÁRMACOS INVESTIGADOS

Se analizaron muestras de agua de diferentes aguas residuales urbanas, a la entrada de las depuradoras, de varias partes del reactor biológico y de las muestras de efluentes, siguiendo el tiempo de cada una de las depuradoras. Dado que sabemos virtualmente en cada momento dónde se encuentra una molécula desde que entra hasta sale, debido a que el reactor biológico es de flujo pistón (reactores de carrusel mezclan los lodos y no es posible saber en qué punto se encuentran en cada momento), podremos comprender mejor los procesos de degradación que ocurren a lo largo de una planta depuradora con un reactor biológico de flujo pistón.

7.3.1. Ibuprofeno

Este fármaco, que se encuentra dentro del grupo de los antiinflamatorios, se ha hallado en al menos una muestra en cada una de las estaciones depuradoras que han sido seleccionadas.

La figura 32 nos muestra que para la EDAR de Molina se encontró una concentración media de 26,12 $\mu\text{g/L}$ mientras que en el efluente de esta depuradora se detectó una concentración 1,53 $\mu\text{g/L}$. El reactor biológico del flujo pistón apenas ofrece degradación a lo largo del mismo, tal y como se observa, ya que a la entrada del mismo tenemos 1,60 $\mu\text{g/L}$ mientras que a la salida del reactor obtuvimos 1,55 $\mu\text{g/L}$.

La EDAR de Roldán nos mostró una concentración media en el agua del reactor biológico de la depuradora en su muestreo de la zona intermedia de 150,17 $\mu\text{g/L}$. En el resto de puntos muestreados en esta planta depuradora, no se detectaron trazas de este compuesto, por lo que no es posible extraer conclusiones de este contaminante para esta planta.

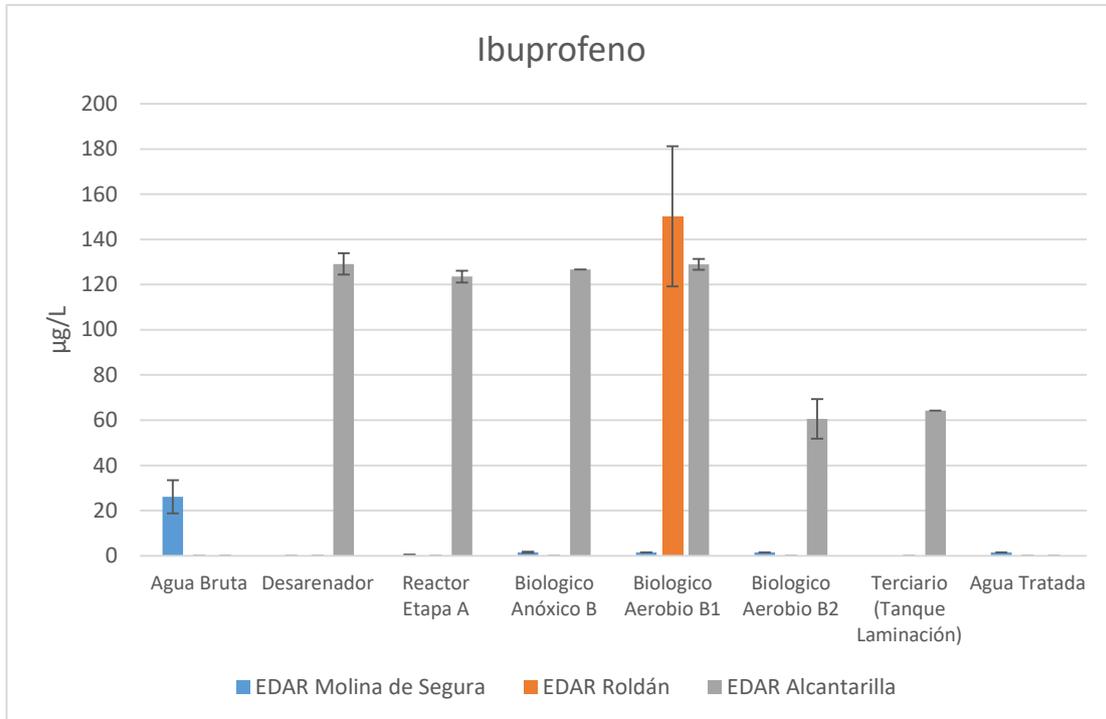


Figura 32. Resultados del ibuprofeno a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

Para la EDAR de Alcantarilla se obtuvo una concentración media en las aguas del desarenador de 129,15 µg/L mientras que tras la salida del decantador secundario se obtuvo una concentración media de 64,1 µg/L. En el reactor biológico primario (de la doble etapa) se detectó una concentración media de 123,54 µg/L mientras que a la entrada del reactor biológico principal se detectó una media de 126,74 µg/L. A la salida de este reactor, la concentración disminuyó hasta 60,53 µg/L. El hecho de que en el muestreo intermedio del reactor se obtuviera una concentración media de 128,95 µg/L, nos indica que la zona de aireación del reactor consigue la degradación del ibuprofeno.

Se puede observar que en la EDAR de Molina el ibuprofeno se degrada altamente desde su entrada al pretratamiento hasta la entrada del reactor biológico y, posteriormente, en el reactor biológico no sufrió degradación debido a que su

concentración ya era baja. Esto está en concordancia con lo suscrito por Busser y col., (1999) que, a menor concentración de estos compuestos, menor es el ratio de eliminación.

En la investigación realizada por Carballa y col., (2004), demostraron eliminaciones entre 60-70% de ibuprofeno, si bien, en dicho análisis no observaron degradación del compuesto a su paso a través del pretratamiento y en los decantadores, por lo que toda la degradación se le imputa al reactor biológico. Debido a ello, se puede designar el reactor primario como el causante de la degradación revelada en la depuradora de Molina.

En la EDAR de Alcantarilla se observó una concentración muchos más alta de ibuprofeno a la entrada de la depuradora con respecto a la planta de Molina. En este caso, el primer reactor biológico de degradación no realizó la función de degradación realizada en la EDAR de Molina debido, posiblemente, a la alta concentración de este compuesto. Según los análisis realizados por Uruse y col., (2005), con una concentración alta (100 µg/L), el ibuprofeno necesitó de más de 80 horas de tiempo de retención para obtener una degradación por debajo de los 20 µg/L. La menor degradación observada en la fase de anóxica del reactor se debe a que durante el proceso de nitrificación la capacidad de degradación del mismo es menor (Falas y col., 2011). No así en la parte aeróbica del reactor, en la que gracias a las bacterias heterótrofas se consigue una gran degradación, tal como reportaron otros autores (Zhang y col., 2008; Falas y col., 2012).

7.3.2. Ketoprofeno

Este compuesto se encuentra, también, dentro del grupo de los antiinflamatorios no esteroideos y sólo se han detectado algunas concentraciones de forma no uniforme en las EDAR de Molina y Roldán.

En la figura 33, se reflejan las concentraciones halladas durante el muestreo.

La EDAR de Molina demostró una concentración media en el influente de la planta de 2,23 $\mu\text{g/L}$ mientras que en el punto intermedio del reactor biológico principal se detectó una concentración media de 0,87 $\mu\text{g/L}$. En el agua tratada, a la entrada y a la salida del reactor biológico no se detectó este compuesto.

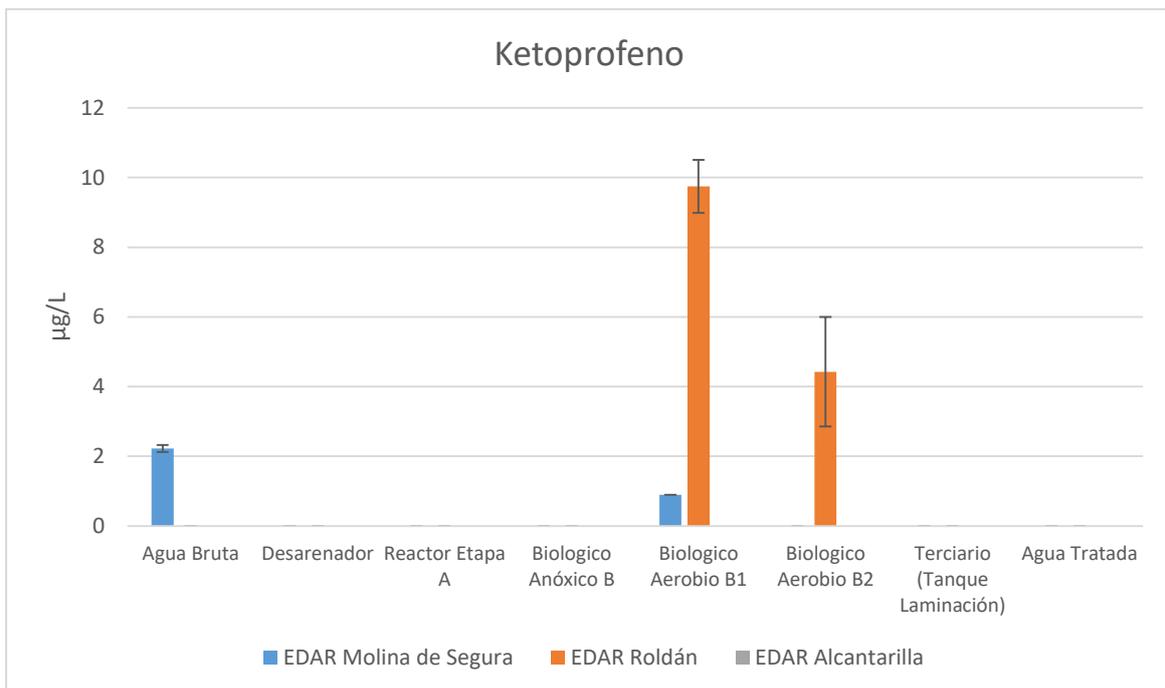


Figura 33. Resultados del ketoprofeno a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

La EDAR de Roldán reveló una concentración media en el punto de muestra intermedio de reactor biológico de 9,75 $\mu\text{g/L}$, mientras que el muestreo realizado a la salida del reactor de fangos activos mostró una concentración media de 4,43 $\mu\text{g/L}$. En este sentido podemos ver una reducción de este compuesto a lo largo de la zona de aireación del reactor al igual que sucede con el ibuprofeno.

En la EDAR de Alcantarilla no se detectó este compuesto en ninguna de las muestras que se recogieron a lo largo de la depuradora.

Lundström y col., (2010) demostraron, mediante su planta piloto, que este compuesto sufría degradación cuando se le aplicaba un reactor biológico de lecho móvil, aunque este fuera usado como terciario. Esto demuestra que este compuesto también sufre degradación a lo largo de la zona de aireación del reactor biológico principal ya que depende de las bacterias heterótrofas al igual que el ibuprofeno (Falas y col., 2012).

De otro lado, Urase y col., (2005) observó que, para los compuestos ketoprofeno e ibuprofeno las tasas de adsorción al lodo eran finitas, lo cual explicaría la mayor concentración en los dos primeros resultados del reactor, así como que el ketoprofeno tendría una eliminación mucho más lenta que el ibuprofeno cuando sus concentraciones son grandes.

7.3.3. Naproxeno

Este fármaco se encuentra dentro de los antiinflamatorios no esteroideos, el cuál ha sido detectado en las tres depuradoras, en al menos uno de sus puntos muestreados.

La figura 34 muestra gráficamente las concentraciones detectadas en los distintos muestreos realizados. La EDAR de Molina reveló una concentración de 13,61 $\mu\text{g/L}$ en el influente de la depuradora, mientras que en el efluente de la planta se detectó una concentración de 3,53 $\mu\text{g/L}$. Por otro lado, en el reactor biológico se hallaron concentraciones medias de 3,49 $\mu\text{g/L}$, 3,52 $\mu\text{g/L}$ y 3,30 $\mu\text{g/L}$ para la su entrada, punto intermedio y la salida del mismo, respectivamente.

La EDAR de Roldán nos mostró en la muestra del reactor biológico en su zona intermedia una concentración media de 106,9 $\mu\text{g/L}$. En el resto de puntos muestreados en esta planta depuradora, no se detectó este compuesto por lo que no es posible extraer conclusiones de este contaminante para esta planta.

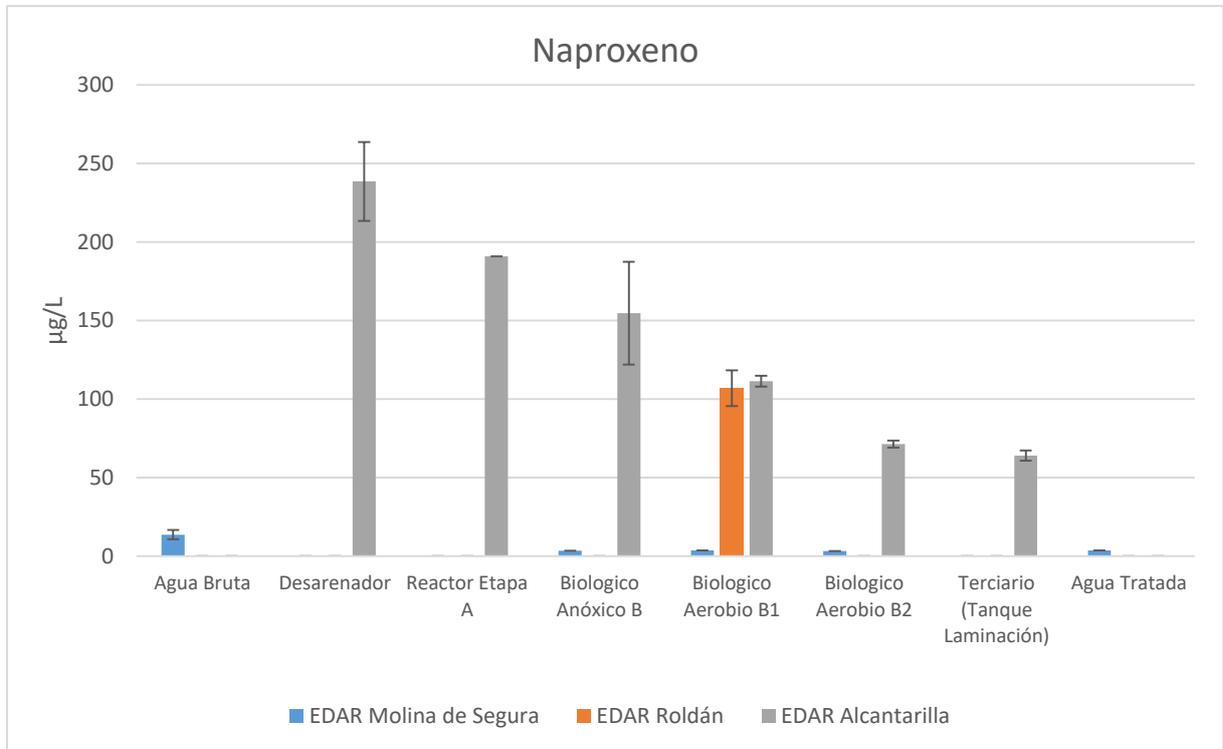


Figura 34. Resultados del naproxeno a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

En la EDAR de Alcantarilla se detectó una concentración media de 238,52 µg/L en el muestreo en el desarenador y, de 63,98 µg/L a la salida del decantador secundario previo al tratamiento terciario. En el reactor biológico, en la primera etapa, se obtuvo una concentración media de 190,79 µg/L. En cuanto al reactor biológico principal, se encontró una concentración media de 154,62 µg/L a la entrada del reactor, una concentración de 111,30 µg/L en el punto intermedio del reactor y una concentración de 71,36 µg/L a la salida del reactor.

La degradación del naproxeno es similar a la realizada al ibuprofeno en esta misma depuradora. Esto es debido a que el comportamiento, de ambos compuestos, es similar en cuanto a la degradación en las plantas de depuración (Falas y col., 2011), tanto a bajas y a altas concentraciones. Los resultados de la

EDAR de Alcantarilla muestran una degradación continua a lo largo de la depurada por su alta concentración, mientras que Carballa y col., (2004), en sus investigaciones, concluyeron que este compuesto sólo se degradaba en el reactor biológico y no en la zona de pretratamiento, ni en los decantadores. Esto pudo ser debido a la baja concentración que encontraron en sus muestras.

Observando la degradación producida a lo largo del reactor, los resultados están en concordancia con Falas y col., (2012), los cuales le dan un rol, aunque bajo, de eliminación al compuesto por parte de las bacterias amonias, que se producen en la primera parte del reactor principal, y una dependencia mayor a las bacterias heterótrofas para la eliminación del naproxeno.

Los resultados obtenidos en la EDAR de Molina están en concordancia con los obtenidos por Carballa y col., (2004), en cuanto a la baja concentración. Debido a esta baja concentración, el reactor biológico no es capaz de degradar más el compuesto por lo que no se observa un ratio de eliminación superior (Busser y col., 1999).

7.3.4. Diclofenaco

El diclofenaco es también de la familia de los antiinflamatorios no esteroideos con la peculiaridad respecto de los anteriores que tiene una molécula de cloro. Este compuesto, al igual que el ibuprofeno y el naproxeno fue detectado en todas las EDAR muestreadas en al menos uno de los puntos seleccionados.

La figura 35 muestra las gráficas de las concentraciones medias obtenidas en las 3 EDAR muestreadas en los puntos seleccionados. En la EDAR de Molina se observó una concentración media en el influente de 3,79 µg/L mientras que en el efluente se detectó una media de 16,93 µg/L. En cuanto al reactor biológico principal, se revelaron unas concentraciones de 2,86 µg/L, 4,13 µg/L y 24,12 µg/L para la entrada, el punto intermedio y la salida del reactor, respectivamente.

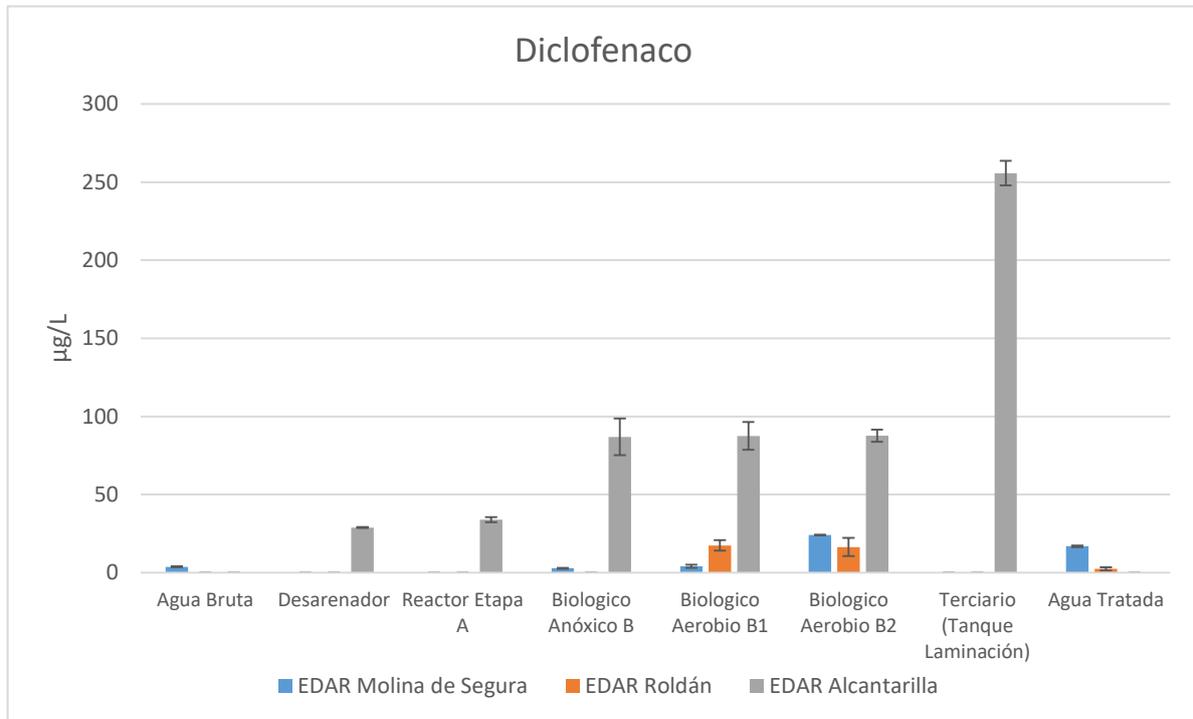


Figura 35. Resultados del diclofenaco a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

En la EDAR de Roldán, no se detectó ninguna traza de diclofenaco en el influente mientras que en el efluente se halló una concentración media de 2,53 µg/L. Por otra parte, en el punto intermedio del reactor biológico se detectó una concentración media de 17,43 µg/L y de 16,45 µg/L para la muestra de salida del reactor.

La EDAR de Alcantarilla reveló una concentración media en el desarenador de 28,93 µg/L mientras que a la salida de la laminación del decantador secundario fue de 255,67 µg/L. En cuanto a los reactores de esta planta depuradora mostraron una concentración media de 33,94 µg/L en el primer reactor, mientras que en el reactor principal se detectó diclofenaco en una concentración 86,90 µg/L para la zona anóxica, de 87,54 µg/L para la zona aerobia intermedia y de 87,65 µg/L en la

zona aerobia, a la salida del reactor.

Estos resultados están acordes con otros autores que demuestran el aumento del diclofenaco a lo largo de la depuradora. La EDAR de Molina mostró que el fármaco no se degradaba durante el pretratamiento, y se obtuvo una concentración superior a la salida que a la entrada del reactor biológico. De igual modo, se observó una disminución tras su paso por el tratamiento terciario al igual que sucedió en la EDAR de Roldán.

Esta degradación puede ser referida a la reducción que sufre el diclofenaco por la fotodegradación (Busser y col., 1999), lo cual nos indica el efecto atenuante que pueden tener las bancadas de ultravioletas, ya que el efecto de los filtros de arena se considera prácticamente nulo, al igual que el de las membranas de ultrafiltración que no consiguen retener estos compuestos debido a su tamaño (Clara y col., 2005).

Diversos autores afirman del diclofenaco que se puede apreciar degradación dentro del reactor biológico en la fase anóxica del mismo, pero no así en la parte óxica del reactor (Zwiener y Frimmel, 2003; Zhang y col., 2008). En los resultados obtenidos, hallamos una muy baja degradación dentro del reactor en las EDAR de Roldán y Alcantarilla lo cual se asemeja al análisis realizado por Falas y col., (2011), en el que afirmaron que los reactores biológicos de las depuradoras no son capaces de degradar este compuesto, si bien Zhang y col., (2008), afirmaron que bajo determinadas condiciones como unas condiciones ácidas el diclofenaco sí que podría degradarse.

Para entender el aumento del diclofenaco, hay que explicar que entre esta muestra y la realizada tras el decantador secundario, solo le separa un periodo de reposo en el que los coloides de fango formados, debido al reactor, precipitan y son extraídos. Es por ello que, posiblemente, la concentración hallada a la salida del reactor biológico de la planta de Molina y la concentración obtenida del decantador secundario en la EDAR de Alcantarilla, pudieran estar relacionadas. Si bien, la

concentración revelada en la estación depuradora de Alcantarilla en este punto es más elevada de lo habitual, esto puede ser debido, bien a una fluctuación de la concentración durante el periodo de muestreo (Clara y col., 2004), o bien a los procesos de desorción del lodo que se produce al precipitar los coloides en el decantador secundario debido a la división de los conjugados glucurónidos por los procesos enzimáticos que suceden, con compuestos como la carbamazepina y el diclofenaco, dentro de las EDAR (Vieno y col., 2007).

7.3.5. Carbamazepina

La carbamazepina se encuadra dentro de los fármacos antiepilépticos. Este fármaco fue detectado únicamente en las EDAR de Molina y en la EDAR de Alcantarilla.

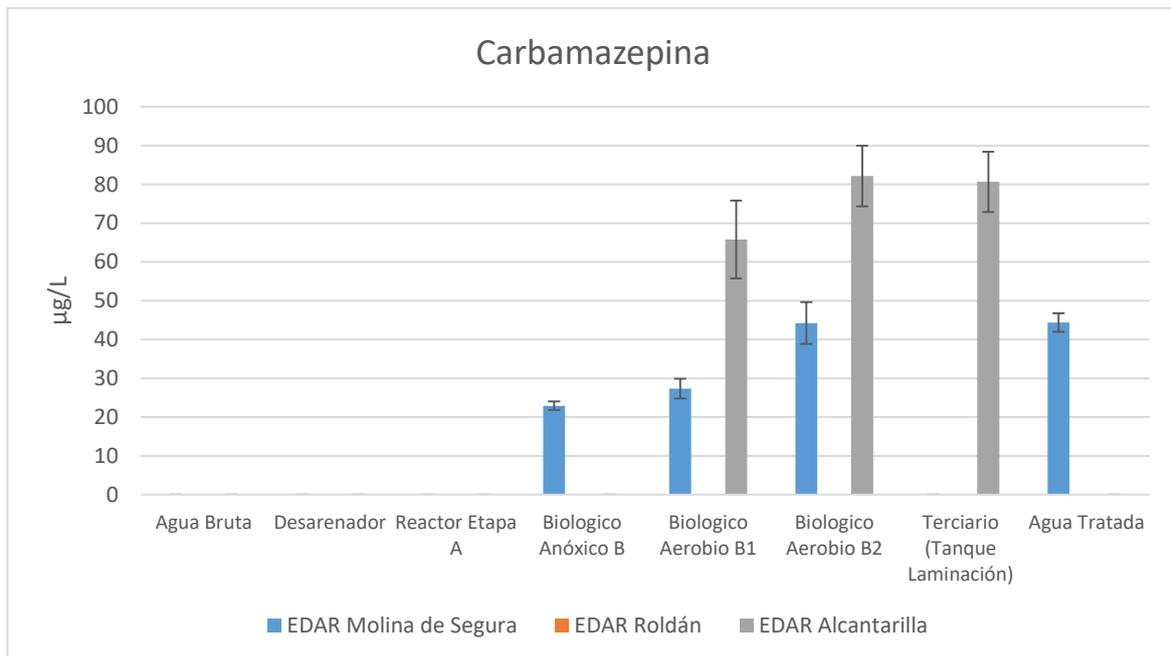


Figura 36. Resultados de la carbamazepina a su paso por cada una de las 3 EDAR muestreadas con la desviación estándar.

La figura 36 muestra las concentraciones halladas durante el muestreo. En la EDAR de Molina se observó que en el efluente había una concentración de 44,35 $\mu\text{g/L}$, mientras que en el influente no se detectó este compuesto. En el reactor biológico principal, se reveló una concentración media en a la entrada de 22,93 $\mu\text{g/L}$, de 27,34 $\mu\text{g/L}$ en el punto intermedio y de 44,21 $\mu\text{g/L}$ a la salida del reactor biológico. Esto nos muestra un aumento de la carbamazepina a lo largo de la planta depuradora.

La EDAR de Alcantarilla confirma lo descrito en la depuradora de Molina, ya que no se detectaron trazas del compuesto carbamazepina en las muestras recogidas en el desarenador, en el primer reactor, ni en la entrada del reactor biológico principal. Por otra parte, se detectó una concentración media de 65,75 $\mu\text{g/L}$ en la parte intermedia del reactor, de 82,12 $\mu\text{g/L}$ a la salida del reactor de fangos activos y de 80,63 $\mu\text{g/L}$ tras la laminación en el decantador secundario.

Los datos revelados demuestran que la carbamazepina es el fármaco más resistente, incluso a la fotodegradación (Busser y col., 1999). En otros estudios realizados previamente, se determinó que, incluso para concentraciones de 0,5 mg/L , la carbamazepina no se degradaba a su paso por los procesos de depuración.

Estos resultados están acordes con los hallados en la EDAR de Alcantarilla y la EDAR de Molina, además el incremento de este compuesto se debe a que tras los procesos de depuración la carbamazepina tiende a volver a su estado original, tal y como se detallan en las dos teorías descritas y desarrolladas (Blair y col., 2015; Park y col., 2017) en el apartado 6.3.2 del capítulo 6.

7.4. BALANCE SOBRE LOS RESULTADOS CONSEGUIDOS

En los resultados extraídos anteriormente, se detectaron los compuestos carbamazepina, ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno y diclofenaco en la EDAR de Molina. En la EDAR de Roldán se detectaron los compuestos ibuprofeno,

naproxeno, ketoprofeno y diclofenaco, mientras que en la EDAR de Alcantarilla se revelaron los compuestos carbamazepina, ibuprofeno, naproxeno y diclofenaco.

Para concentraciones altas de ibuprofeno en el influente (129,15 ug/L), la degradación de los fármacos se realiza en la zona aireada del reactor biológico de fangos activos. Mientras que, para concentraciones bajas (26,12 ug/L), el ibuprofeno es capaz de degradarse en las primeras etapas de la depuradora que incluyen el reactor primero de una EDAR de doble etapa.

Con respecto al naproxeno, cuando se halla en altas concentraciones en el influente de la estación depuradora (238,52 ug/L), es capaz de degradarlo a lo largo de todo el proceso de manera uniforme, mientras que cuando se presenta a concentraciones bajas en el influente (13,61 ug/L), mimetiza el efecto de degradación que realiza el ibuprofeno.

Respecto a las concentraciones, se puede afirmar que las depuradoras tienen más dificultades para degradar los compuestos naproxeno e ibuprofeno una vez que éstos alcanzan a valores bajos.

El ketoprofeno sufre degradación, al igual que sucede con los fármacos ibuprofeno y naproxeno, en la zona donde los difusores inyectan el aire que es donde se forman y proliferan las bacterias heterótrofas.

El diclofenaco no se elimina a su paso por la planta depuradora de aguas residuales, el efecto del reactor biológico parece ser el inverso a los compuestos naproxeno e ibuprofeno, ya que tras su paso por la zona de aireación aumenta su concentración (255,67 µg/L). Debido al efecto fotodegradación, que producen las lámparas de ultravioletas, el diclofenaco sufre una disminución tras su paso por esta etapa del terciario.

La carbamazepina es la que presenta mayor resistencia a la degradación. Al igual que el diclofenaco, experimenta un incremento en la zona aerobica del reactor

VII - ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO DE 5 COMPUESTOS FARMACÉUTICOS
A TRAVÉS DE 3 EDAR CON REACTOR BIOLÓGICO DE FLUJO PISTÓN 185

(desde 27,34 µg/L hasta 44,21 µg/L en la EDAR de Molina y desde 65,75 µg/L hasta 82,12 µg/L en la EDAR de Alcantarilla) y el cual se debe a los procesos de sorción de los compuestos con el lodo. Sin embargo, la acción de los ultravioletas no afecta a la degradación de este compuesto.

**VIII – DEGRADACIÓN BIOLÓGICA,
SORCIÓN Y DETERMINACIÓN DEL
BALANCE DE MASAS EN UNA
PLANTA DE TRATAMIENTO DE
AGUAS RESIDUALES
CONVENCIONAL DE FANGOS
ACTIVOS**

VIII – DEGRADACIÓN BIOLÓGICA, SORCIÓN Y DETERMINACIÓN DEL BALANCE DE MASAS EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES CONVENCIONAL DE FANGOS ACTIVOS

8.1. INTRODUCCIÓN

A pesar de las bajas concentraciones detectadas a lo largo de los análisis, los efectos de estas sustancias sobre la salud humana y el medio ambiente no pueden despreciarse. Un ejemplo de peligro medio ambiental es el diclofenaco que, como antiinflamatorio no esteroideo, pertenece al grupo de productos químicos de preocupación emergente, el cual tiene una importante relevancia ambiental, ya que sus efectos tóxicos tienen una gran afección para los buitres (*Gyps bengalensis*), especialmente en el subcontinente indio (Oaks y col., 2004). También la toxicidad renal y hepática se ha documentado en algunos organismos acuáticos como especies de peces en concentraciones bajas en un rango de $\mu\text{g/L}$ (Fent y col., 2006).

Tal y como se ha venido desarrollando, la mayoría de EDAR emplean procesos de fangos activos, donde se utilizan microorganismos para mineralizar los contaminantes a agua y dióxido de carbono, o degradarlos a formas menos peligrosas (Zhang y col., 2008). Existen varios estudios sobre la degradación de muchos fármacos que ya han sido reportados (Monsalvo y col., 2015; Shen y col., 2015).

La degradación biológica es un mecanismo clave para la eliminación de muchos fármacos, para ello, algunos parámetros numéricos son necesarios para comprender y estimar su eficacia. En el estudio de la degradación de los compuestos de las EDAR realizado en el capítulo 7, se centra en la eliminación de los compuestos farmacéuticos en la línea de agua dentro de las EDAR con reactores en flujo pistón. Los compuestos, sin embargo, dependiendo de sus características pueden adsorberse a los fangos producidos con lo que éstos se pueden acumular en el fango deshidratado.

Para comprender la sorción, diversos autores han sugerido la constante de velocidad de degradación biológica (K_{biol}) como un fuerte indicador de la eficacia de eliminación de los compuestos debido a la transformación biológica (Abegglen y col., 2009; Thompson y col., 2011; Salgado y col., 2012; Blair y col., 2013). Sin embargo, los valores de K_{biol} para muchos contaminantes emergentes no están disponibles (Dickenson y col., 2010). Se han determinado algunos valores de K_{biol} para un número limitado de compuestos que usan una cinética de pseudo primer orden (Schwarzenbach y col., 2003; Joss y col., 2006). En este momento, la mayoría de los valores de K_{biol} utilizados en el modelado de la eliminación de fármacos se estiman utilizando su composición química y sus características (Dickenson y col., 2010). Otro mecanismo para eliminar estos contaminantes de las EDAR es la sorción en los lodos (Nielsen y Bandosz, 2016). El coeficiente de sorción (K_d) se define para las condiciones de equilibrio en las EDAR (Joss y col., 2006; Blair y col., 2015).

Para concluir el seguimiento de los compuestos farmacéuticos carbamazepina, diclofenaco, ketoprofeno, ibuprofeno y naproxeno, es necesario una evaluación de toda la planta, incluyendo la línea de fangos con los parámetros detallados anterior, con el fin de determinar el rendimiento total de la planta y determinar si, realmente, las plantas depuradoras degradan los compuestos mencionados o si éstos se adsorben a los lodos.

8.2. MUESTREO Y ANÁLISIS EN LA EDAR DE ROLDÁN

8.2.1. Lugar de muestreo y recolección

El monitoreo se realizó en la planta de tratamiento de aguas residuales de Roldán, Lo Ferro-Balsicas. Esta planta se encuentra descrita en apartado 7.2.1 del capítulo 7. Se escogió esta planta ya que los efluentes de la planta se usan principalmente para riego en la agricultura. También en esta EDAR existe un invernadero en el cual se están realizando experimentos con aguas depuradoras para ser utilizadas en diversas plantaciones.



Figura 37. Puntos de recogida en la EDAR de Roldán. La numeración representa 1: Influyente; 2: Reactor biológico fase anóxica (R.B.1); 3: Reactor biológico fase anaeróbico (R.B.2); 4: Reactor biológico fase aeróbico (R.B.3); 5: Efluente; 6: Lodo recirculado; 7: Lodo deshidratado/seco.

La campaña de muestreo se llevó a cabo en 2016, del 9 al 11 de febrero – invierno en los diferentes puntos de la EDAR (figura 37). Se empleó un día de muestreo para las aguas residuales urbanas sin procesar y la primera parte del reactor biológico (R.B.1). Ya que el tiempo de retención del reactor durante el muestreo era de 87 horas, las otras dos partes del reactor biológico (R.B.2) y aeróbico (R.B.3) y el efluente se muestrearon otro día. Las muestras se recogieron en recipientes de cristal ámbar, previamente enjuagados con agua destilada. Las muestras que se recogieron fueron compuestas de 24 h de tiempo proporcional y se mantuvieron refrigeradas (4°C) durante el transporte al laboratorio, para su posterior procesamiento.

8.2.2. Preparación y análisis de las muestras recogidas

8.2.2.1. Aguas

Las muestras se recogidas en botellas de vidrio ámbar se llevaron al laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a la recogida. Inmediatamente, se conservaron las aguas ajustando a pH 2 con ácido fórmico y se mantuvo el almacenamiento a 4°C hasta la extracción. Las muestras se extrajeron dentro de los 4 días de la recolección. El proceso de extracción de extracción utilizado viene descrito en el apartado 5.2.3.1 del capítulo 5.

8.2.2.2. Fangos

Se tomaron muestras de lodo de la misma planta de tratamiento de aguas residuales durante el mismo período de muestreo. El lodo se obtuvo por flotación de fango del reactor biológico en los diferentes puntos de muestra del agua. Las muestras de lodo seco vienen parcialmente deshidratadas por la centrifugación ejercida en la EDAR. La extracción farmacéutica se realizó siguiendo el método de Martín y col., (2010) con ligeras modificaciones. Primero se liofilizaron las muestras, tras ello, se homogeneizaron usando un mortero de vidrio y se pesaron 0,1 g del residuo sólido homogeneizado. Tras ello, se introduce, en la primera de las tres réplicas, los patrones internos en una concentración de 2,5 µg/mL ([D₁₀]-carbamazepina, [¹³C₆]-diclofenaco, [D-₃]-ibuprofeno) para conseguir una concentración final de 100 ng/mL. Posteriormente, las muestras se extrajeron sucesivamente con metanol y acetona. Los sobrenadantes obtenidos se combinaron y se evaporaron usando un evaporador de nitrógeno, se reconstituyeron en 250 mL de agua. En este punto, la muestra comenzó a tratarse como muestra acuosa y, por lo tanto, se siguieron las directrices descritas en el apartada 5.2.3.1 del capítulo 5 referente a la extracción de muestras de agua.

8.2.2.3. Análisis con el cromatógrafo líquido de alta presión y control de calidad

Todos análisis fueron realizados mediante el cromatógrafo UPLC Acquity I-

Class y HR-QTOF-MS maXis Series (Daltonik GmbH, alemán, Bruker) siguiendo la metodología desarrollada en el apartado 5.2.4 del capítulo 5.

De igual manera, para el control de calidad de este muestreo, se siguieron los criterios desarrollados en el apartado 3.6 del capítulo 3.

8.2.3. Modelos cinéticos aplicados

8.2.3.1. Cálculo de la K_{biol}

La constante de degradación biológica (K_{biol}) de carbamazepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno (compuestos originales) se estimó siguiendo la ecuación de pseudo primer orden (Joss y col., 2006), cuyos valores se encontraron por regresión usando el negativo de la pendiente del registro natural de la concentración dividido por la concentración inicial en el tiempo, con la intercepción establecida en cero. La ecuación (3) constante de degradación biológica usada fue:

$$\frac{dS_t}{dt} = K_{biol} \cdot MLSS \cdot S_t \quad (3)$$

Donde dS_t es la concentración de compuesto soluble en el tiempo dt (ng/L), t es el tiempo de retención hidráulica (h), K_{biol} es la constante de velocidad biológica intrínseca (L/(g_{ss}·h)), $MLSS$ es la concentración de suspensión sólidos (promedio g/L), y S_t es la concentración del compuesto soluble en las aguas residuales urbanas sin procesar (ng/L).

Esta ecuación permite predecir la tasa de eliminación de estos compuestos, dependiendo de la configuración del reactor biológico. En las EDAR con sistemas convencionales de fangos activos, como el utilizado en este experimento, esta constante permite formar tres grupos (Joss y col., 2006):

- a) Los compuestos con $K_{\text{biol}} < 0,1 \text{ L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$ no se degradan en un grado significativo (<20%);
- b) Los compuestos con $0.1 < K_{\text{biol}} < 10 \text{ L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$ tienen una degradación parcial (entre 20% y 90%);
- c) Los compuestos con $K_{\text{biol}} > 10 \text{ L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$ tienen una alta degradación (> 90%).

8.2.3.2. Cálculo de la K_d

El coeficiente de sorción (K_d) de los compuestos farmacéuticos se define normalmente para las condiciones de equilibrio en un reactor discontinuo (Joss y col., 2006; Nielsen y Bandosz, 2016). La siguiente ecuación (4) se usó para evaluar el grado de sorción:

$$K_d = \frac{X}{MLSS \cdot S} \quad (4)$$

Donde, K_d es el coeficiente de sorción del lodo activado ($\text{L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$), X es la concentración del compuesto sorbido expresado por unidad de volumen (ng/L), S es la concentración del compuesto soluble (ng/L) y $MLSS$ es la concentración de sólidos en suspensión en licor mixto (kg/L).

8.2.4. Balance de masas y porcentajes de degradación

El balance de masa se calculó siguiendo el método de Gao y col., (2012). El flujo de masas promedio de cada compuesto se calculó multiplicando la suma de las concentraciones en las fases acuosas y de lodo, con los flujos promedio correspondientes en el influente, en diferentes partes del reactor biológico y en el efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales. La ecuación (5 y 6) se puede escribir como:

$$m_{aq} = Q_{aq} \cdot C_{aq} \quad (5)$$

$$m_s = Q_s \cdot C_s \quad (6)$$

Donde, m_{aq} y m_s (mg/d), respectivamente, son el flujo de masas de fármacos calculado en la fase acuosa y de lodo, respectivamente. Q_{aq} (L/d) y Q_s (kg/d) son aguas residuales y flujo de lodo, respectivamente. C_{aq} (mg/L) y C_s (mg/kg) son las concentraciones promedio de productos farmacéuticos medidas en las aguas residuales y lodos, respectivamente.

Habitualmente, la degradación de los fármacos en las plantas de tratamiento de aguas residuales se debe principalmente a la biotransformación de los microorganismos y a la absorción en los lodos. Por esa razón, hemos estimado que la pérdida de compuestos farmacéuticos, debido a la adsorción de lodo, es el lodo eliminado de la EDAR (m_{sor}). La masa del afluente (m_{inf}) se considera que corresponde al agua y al lodo de recirculación. La masa del efluente (m_{efl}) es la pérdida en el agua del efluente. Para la estimación de la masa de fármacos que se pierde debido a la acción del microorganismo se usa la siguiente ecuación (7):

$$m_{bio} = m_{inf} - m_{efl} - m_{sor} \quad (7)$$

Con los datos de la masa de los respectivos productos farmacéuticos, se realizó una estimación de los porcentajes de degradación debidos a la degradación biológica (ecuación (8)) y la absorción de lodo (ecuación (9)).

$$R_{bio} = \frac{m_{bio}}{m_{inf}} \cdot 100 \quad (8)$$

$$R_{sor} = \frac{m_{sor}}{m_{inf}} \cdot 100 \quad (9)$$

Se realizó un cálculo de la pérdida total de fármacos en el agua, evaluando la pérdida de compuestos farmacéuticos en el efluente con respecto a los datos en el influente.

8.3. DISCUSIÓN Y CÁLCULOS SOBRE LOS RESULTADOS EN LA EDAR DE ROLDÁN

8.3.1. Fármacos en líquidos y en lodos

Se analizaron muestras de aguas residuales urbanas a la entrada de la depuradora, de varias partes del reactor biológico y de las muestras de efluentes y lodos de las diferentes partes del tratamiento secundario y de los lodos deshidratados. Dado que, estos compuestos se retienen en el lodo de la EDAR, y sabiendo su concentración en él, podemos comprender mejor los procesos de degradación que ocurren en un reactor biológico.

8.3.1.1. Carbamazepina

La carbamazepina es un anticonvulsivo que se usa para tratar las convulsiones parciales, el dolor de origen neurológico y también los trastornos psiquiátricos, entre otros. En las muestras de agua, se detectaron valores de carbamazepina, desde los que estaban por debajo del límite de detección en el influente y la parte anóxica (B.R.1) del tratamiento secundario, hasta 10,1 ng/L en el efluente (figura 38). Los resultados están en acuerdos con el obtenido por Behera y col., (2011), donde en el efluente de una EDAR se encontraron valores de 40 ng/L. En el trabajo de Blair y col., (2015), encontraron una concentración máxima soluble de carbamazepina de 220 ng/L, pero no mencionan la concentración mínima obtenida en sus análisis.

Este aumento de la carbamazepina, a través de la EDAR, se ha visto anteriormente en otros estudios. En algunas plantas de tratamiento de aguas residuales, hay circunstancias en las que las concentraciones de efluentes de algunos microcontaminantes exceden sus concentraciones de influentes. Las dos teorías existentes a este respecto a la entrada de estos compuestos se encuentran desarrolladas en el apartado 6.3.2 del capítulo 6.

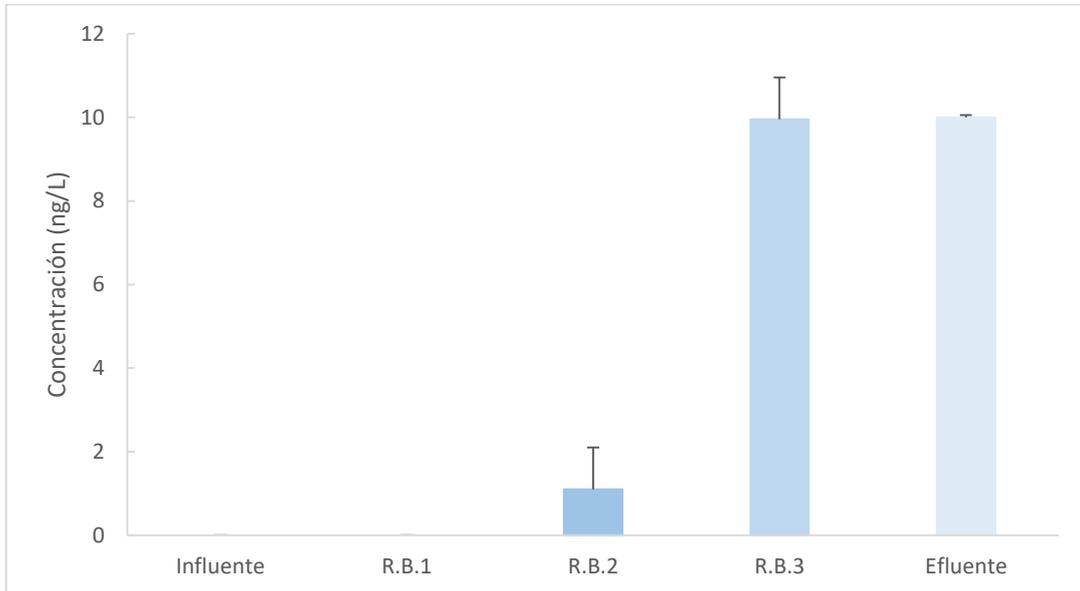


Figura 38. Concentración de carbamazepina en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error (n = 3).

Si observamos las concentraciones de carbamazepina encontradas en las muestras de lodo (figura 39), se puede apreciar un comportamiento similar al encontrado en las aguas ya que no se observó concentración en el influente y la fase anóxica de la EDAR, pero el compuesto aumentó fuertemente en la fase aeróbica con 24,0 ng/g (peso seco). Sin embargo, la concentración encontrada en el lodo seco, fue menor que en la fase aeróbica del tratamiento secundario con un valor de 7,68 ng/g (peso seco). Estos resultados están de acuerdo con otras muestras analizadas en lodo (Martín y col., 2010; Gago-Ferrero y col., 2015) mientras que los resultados obtenidos por Chenxi y col., (2008) mostraron concentraciones de carbamazepina bastante más altas, con valores de aproximadamente 2250 ng/g.

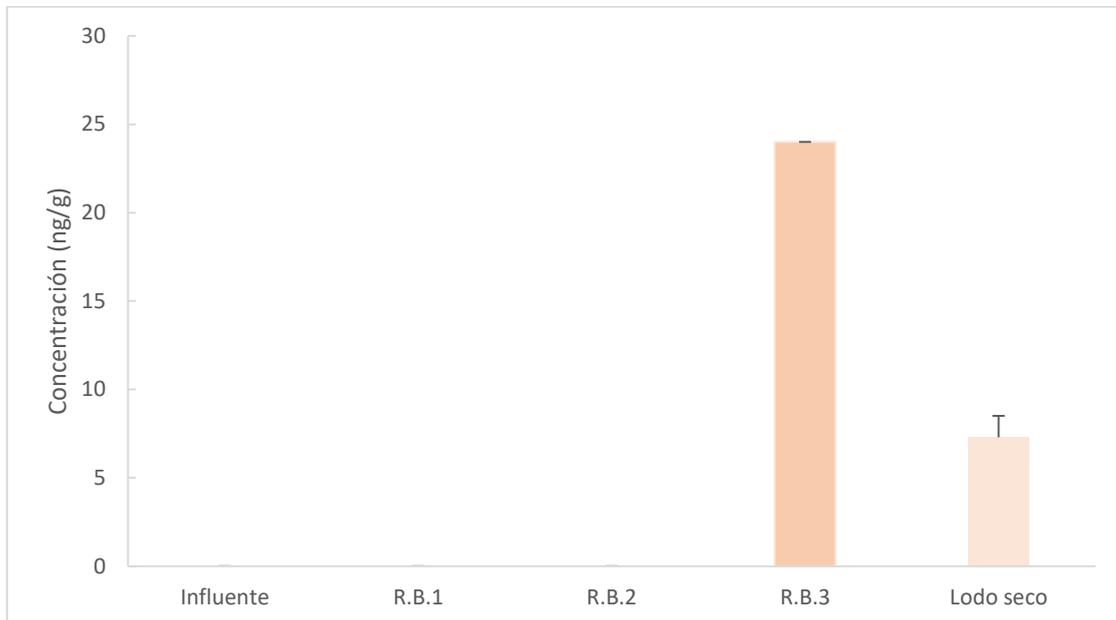


Figura 39. Concentración de carbamazepina en las muestras de lodo obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

8.3.1.2. Diclofenaco

El diclofenaco es un importante antiinflamatorio no esteroideo (AINE), con propiedades analgésicas y antipiréticas. Actúa bloqueando la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de la ciclo-oxigenasa, que convierte el ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, precursores de las prostaglandinas. Las concentraciones de agua a lo largo de la EDAR (figura 40) variaron desde 77,3 ng/L en las aguas residuales urbanas sin procesar hasta 6,64 ng/L en el efluente.

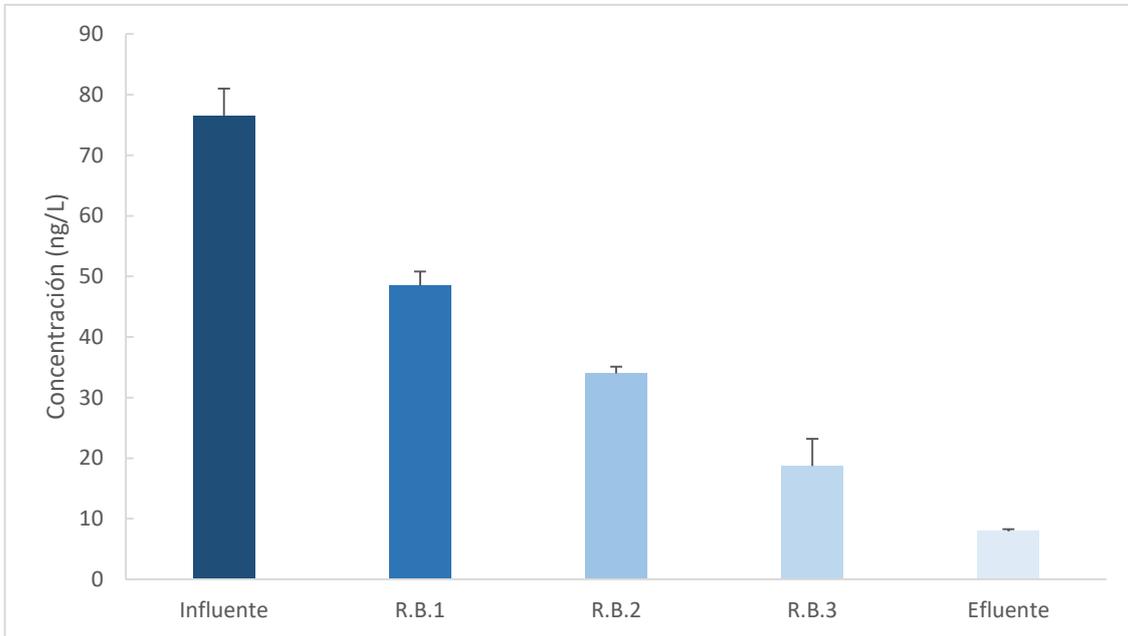


Figura 40. Concentración de diclofenaco en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

Estos valores de concentración son similares a otros encontrados por Behera y col., (2011), los cuales reportaron valores de 59 ng/L en influentes, y valores de 13 ng/L en efluentes. Reyes-Contreras y col., (2012) detectaron, en aguas residuales urbanas sin tratar, concentraciones de 200 ng/L. Sin embargo, en la revisión de Verlicchi y col., (2012) de varios estudios europeos de aguas residuales, se informó de una concentración promedio en aguas residuales crudas de 700 ng/L con una concentración máxima de 11.000 ng/L. Una posible razón, de la baja concentración de este compuesto farmacéutico, es que la población atendida por esta EDAR es joven y que, también, esta EDAR no recibe agua de ningún hospital.

Los efectos tóxicos del diclofenaco en el medio ambiente son bien conocidos por los hechos que se mencionan en la introducción del presente capítulo. Se presta especial atención a los buitres del subcontinente indio (Oaks y col., 2004), así como, a las especies de peces (Fent y col., 2006). Debido a las lesiones graves demostradas en algunas especies, se incluyó este compuesto en la lista de sustancias prioritarias

de la Lista de vigilancia de la Directiva 2013/39/UE. Algunos autores afirman que el diclofenaco se descarga, principalmente, en el medio acuático a través de las EDAR (Luo y col., 2014), pero la razón principal de afección de algunas especies es el uso de este compuesto en el ganado. Afortunadamente, los efectos ecotoxicológicos han resultado relativamente bajos de 100 ng/L en la propuesta de Estándar de Calidad Ambiental (EQS) como promedio anual para las aguas superficiales continentales de la Directiva 2013/39/UE.

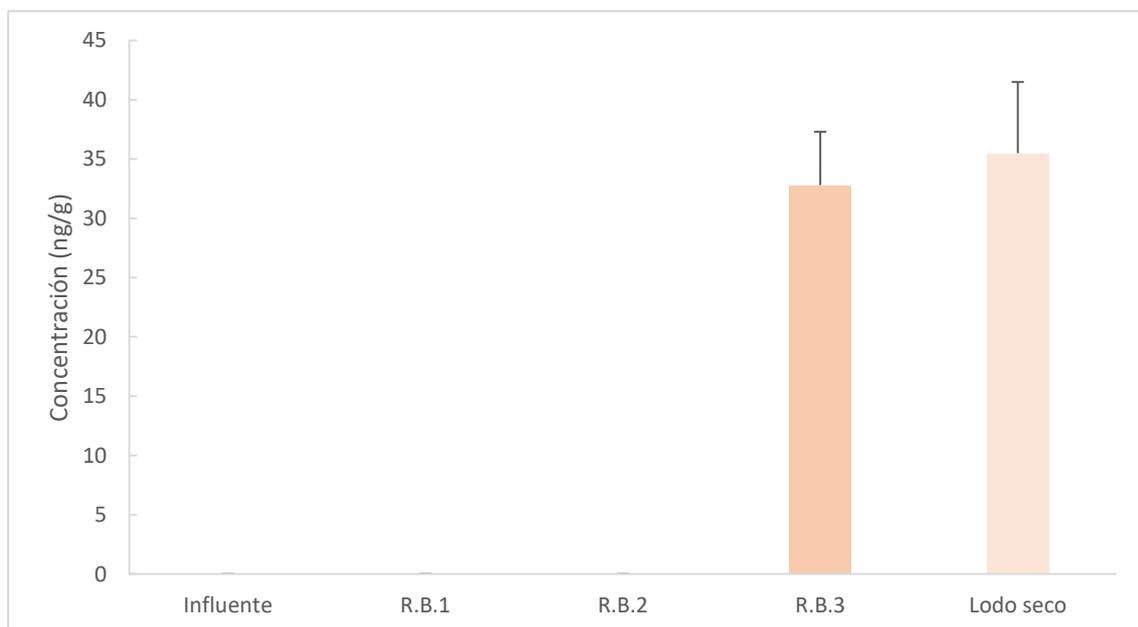


Figura 41. Concentración de diclofenaco en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

En consecuencia, es probable un aumento del EQS en aguas superficiales si el porcentaje de aguas residuales tratadas es superior al 10%. Esta concentración ha sido observada en aguas superficiales europeas por varios autores (Nödler y col., 2010; Patrolecco y col., 2015). Por esa razón, una mejora en las plantas tratamiento de aguas residuales municipales sería fundamental para lograr los requerimientos de la directiva revisada. Al mismo tiempo, se observa que esto se aplica no solo al diclofenaco, sino a una gama completa de nuevos emergentes, conocidos y desconocidos, que se descargan en aguas receptoras debido a su insuficiente

eliminación.

Los análisis de las muestras de lodo (figura 41) revelaron que no se detectó diclofenaco en las primeras partes (influyente, anóxica y anaeróbica del reactor biológico) de la EDAR, pero se encontraron en la fase aeróbica del reactor y en el lodo seco a concentraciones de 33,6 ng/g y 35,9 ng/g (peso seco), respectivamente. Estos resultados están de acuerdo con los valores obtenidos por Gago-Ferrero y col., (2015) que reportaron valores de 40 ng/g.

8.3.1.3. *Ibuprofeno*

El ibuprofeno también es un AINE, y posiblemente el analgésico más popular en el mundo. Millones de personas lo usan todos los días como un remedio para el dolor de cabeza, para reducir los síntomas de la fiebre, para los dolores crónicos de huesos y articulaciones con propiedades analgésicas y antipiréticas. Las concentraciones de ibuprofeno a lo largo de la EDAR (figura 42) variaron desde 734 ng/L en el agua residual urbana bruta hasta valores por debajo del límite de detección en el efluente final.

Behera y col., (2011), encontró valores en el influente de 1599 ng/L mientras que en el efluente fueron de 15 ng/L. Reyes-Contreras y col., (2012) encontraron concentraciones de hasta 4000 ng/L en las aguas brutas de entrada a la EDAR.

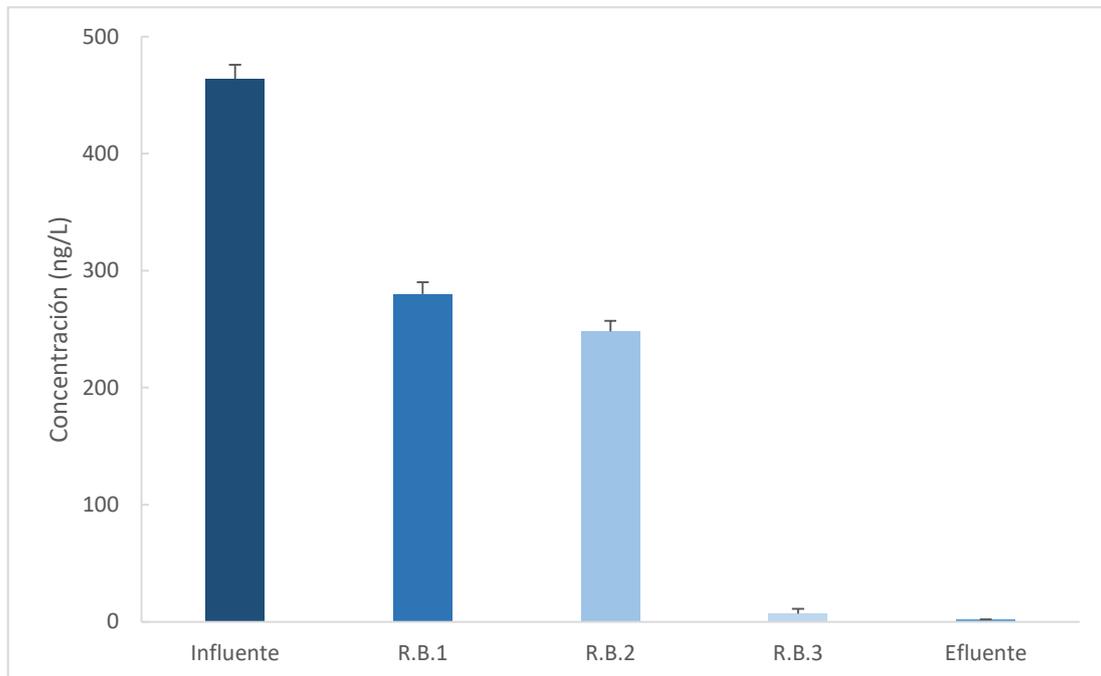


Figura 42. Concentración de ibuprofeno en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

Es importante resaltar que la degradación del ibuprofeno a través de las diferentes partes de la EDAR revela un agotamiento casi total en los efluentes de las muestras (1,80 ng/L). Esta disminución de ibuprofeno, a su paso por las EDAR, es el comportamiento típico detectado por otros autores para este compuesto farmacéutico (Göbel y col., 2007).

La concentración en lodo de ibuprofeno en la EDAR (figura 43) fue de 30,1 ng/g en la fase anaeróbica del reactor biológico, de 71,1 ng/g en la fase aeróbica y de 63,8 ng/g en el fango deshidratado.

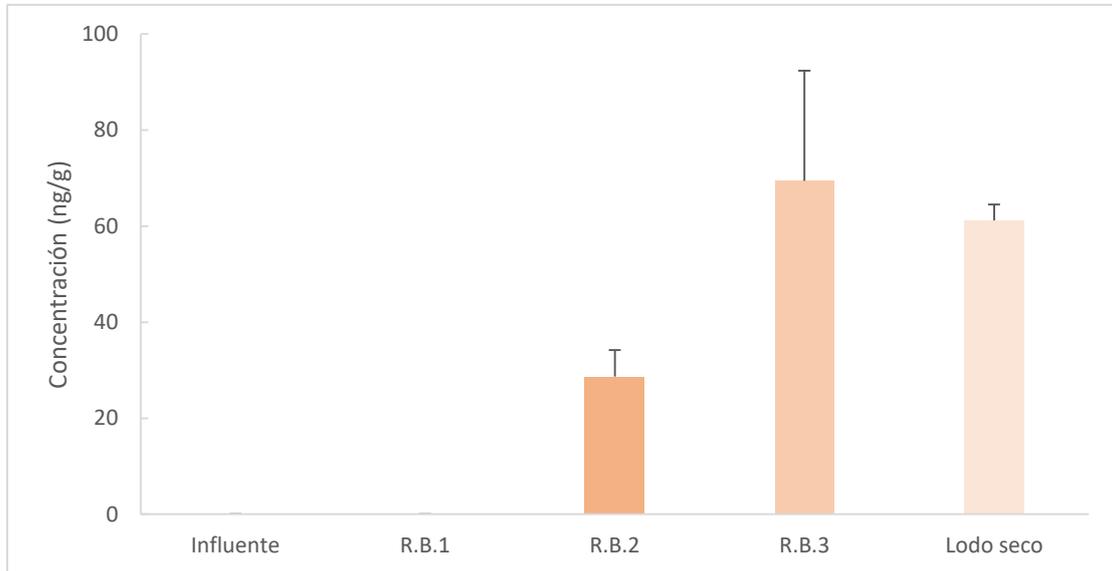


Figura 43. Concentración de ibuprofeno en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

Los resultados, en general, están de acuerdo con los datos encontrados en la literatura, ya que no se pudo encontrar este compuesto en las muestras de lodo debido a que las concentraciones estaban por debajo del límite de cuantificación de 38,6 ng/g (Gago-Ferrero y col., 2015). Sin embargo, algunos estudios difieren significativamente de nuestros resultados de Martín y col., (2010) donde la concentración obtenida en el lodo secundario fue de 1322 ng/g y en el lodo digerido fue de 5096 ng/g.

8.3.1.4. Ketoprofeno

El ketoprofeno, también, es un AINE, utilizado también para tratar diferentes afecciones dolorosas como la artritis. El análisis de este fármaco en aguas (figura 44) reveló que en el influente la concentración era de 39,1 ng/L, mientras que en el efluente era de 18,9 ng/L. Por lo tanto, la concentración de KTP mostró una disminución significativa durante el tratamiento del agua, especialmente en la

primera parte (fase anóxica) del reactor biológico.

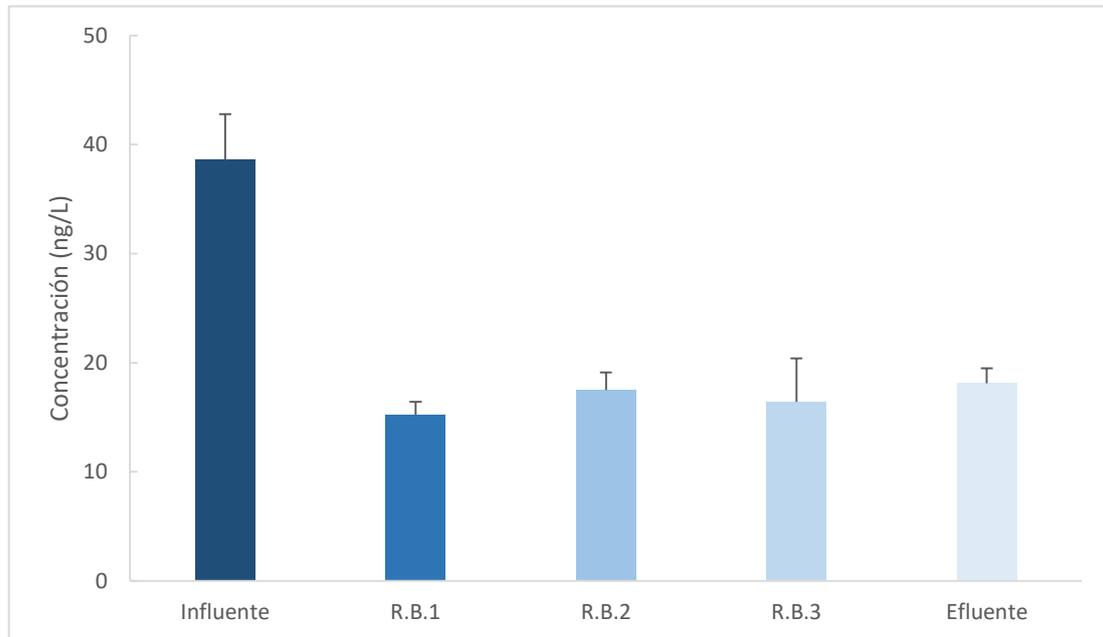


Figura 44. Concentración de ketoprofeno en las muestras de agua obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

Behera y col., (2011) encontró valores en el influente de 81 ng/L, mientras que no se obtuvo concentración en el efluente. Sin embargo, Reyes-Contreras y col., (2012), en un experimento en invierno, encontró concentraciones en influente de 300 ng/L. Las concentraciones de ketoprofeno en el lodo (figura 45) fueron de 7,43 ng/g en la fase aeróbica del reactor biológico y de 17,7 ng/g en el lodo seco. Martín y col., (2010) encontró valores este compuesto en el lodo de tratamiento secundario por debajo de 14,4 ng/g y en el lodo digerido de 10,5 ng/g.

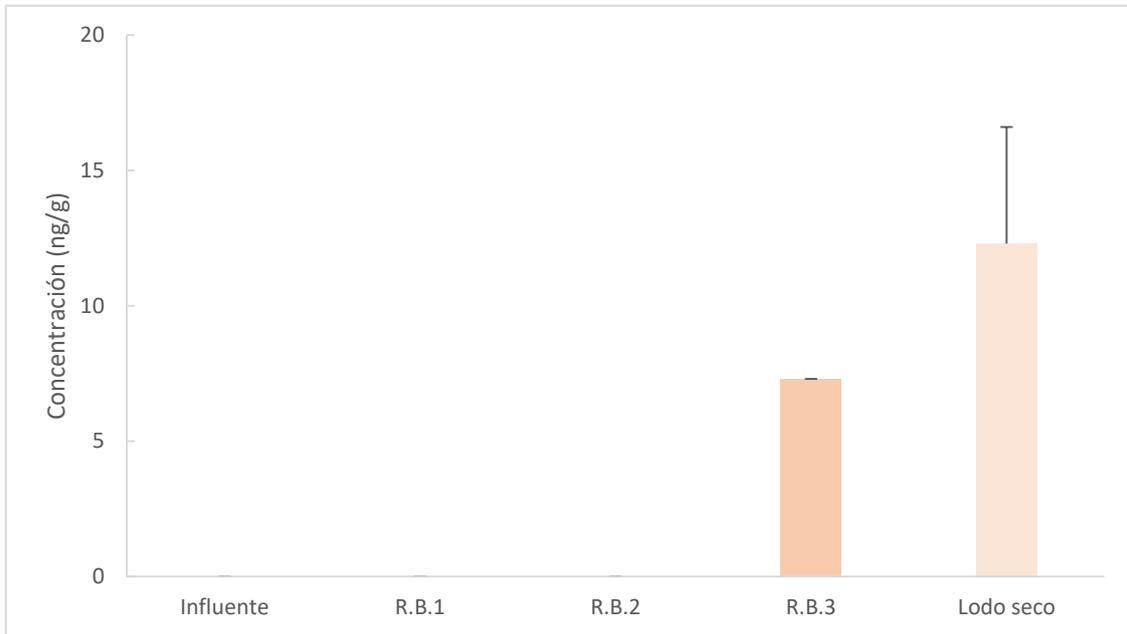


Figura 45. Concentración de ketoprofeno en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

8.3.1.5. Naproxeno

El naproxeno es otro AINE que, también, se usa para tratar el dolor o la inflamación causada por la artritis, la espondilitis anquilosante y la tendinitis entre otros. Las concentraciones de naproxeno encontradas en las aguas de la EDAR (figura 46) variaron desde 444 ng/L en el influente hasta 11,5 ng/L en el efluente. De estos datos se desprende que se produjo una reducción extraordinaria de naproxeno de la concentración a través en la EDAR. Sin embargo, los valores obtenidos en el reactor biológico fueron heterogéneos ya que se puede observar un aumento en la concentración en la fase anaeróbica del reactor. Behera y col., (2011) encontraron valores en el influente de 1360 ng/L mientras que en el efluente fueron de 37 ng/L. Reyes-Contreras y col., (2012) revelaron concentraciones en influente de 600 ng/L.

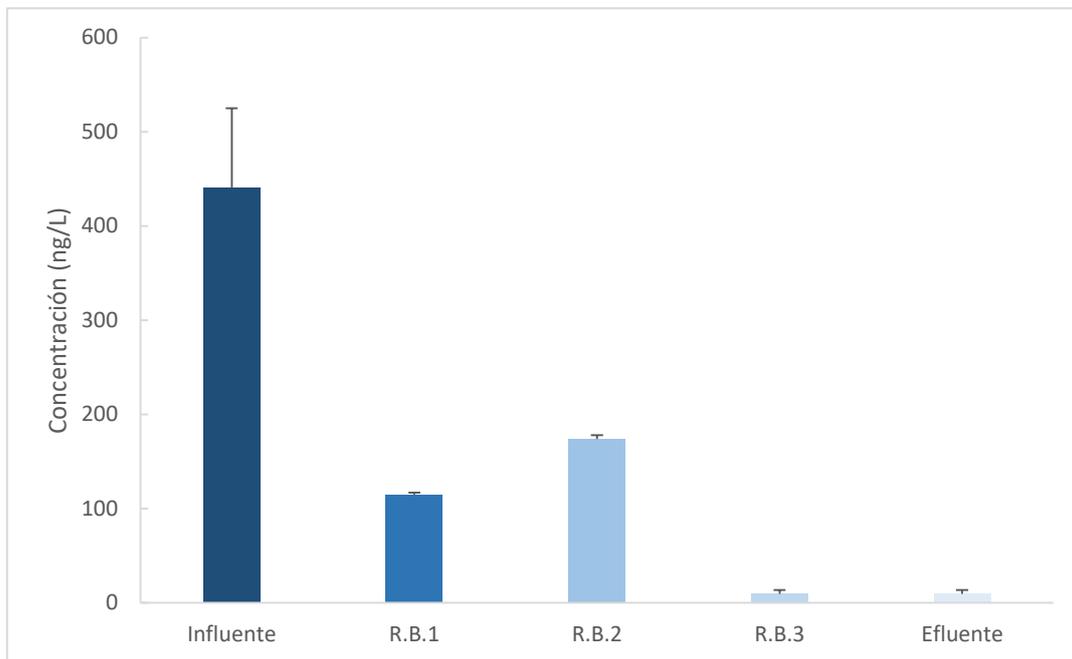


Figura 46. Concentración de naproxeno en las muestras de aguas obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

Con respecto a la concentración encontrada en el lodo de EDAR (figura 47), se puede deducir que este compuesto farmacéutico mostró, también, valores heterogéneos en la EDAR, ya que solo se detectó en la fase anaeróbica del reactor biológico y en el fango deshidratado con concentraciones de 3,96 ng/g y 75,5 ng/g, respectivamente. Los resultados en general están de acuerdo con los datos de Martín y col., (2010) que encontraron concentraciones de naproxeno en el lodo del secundario de 29,1 ng/g y en el lodo digerido de 14,9 ng/g.

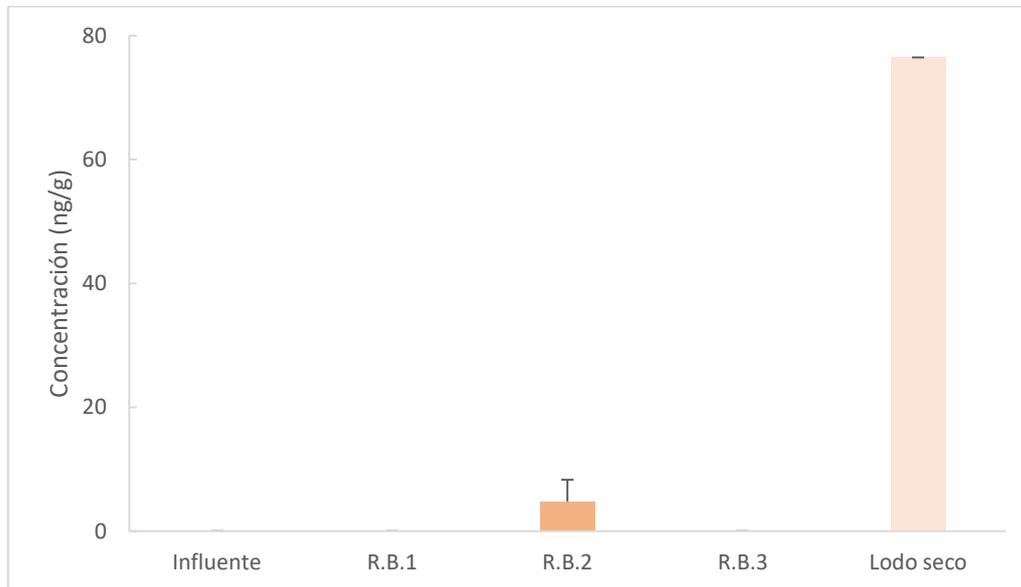


Figura 47. Concentración de naproxeno en las muestras de lodos obtenidas de diferentes partes de las EDAR. Estándar medio \pm error ($n = 3$).

Es necesario aclarar que todos los compuestos farmacéuticos estudiados en las aguas tenían concentraciones por debajo de los valores de PNEC (concentraciones previstas sin efecto) que se encuentran para diferentes especies (Verlicchi y col., 2012). Cada una de las PNEC reportadas es 1000 veces menor que el valor de concentración de toxicidad encontrado para las especies más sensibles analizadas, por lo que, aparentemente, la concentración de efluentes detectada es inofensiva para la biota de los ecosistemas.

Algo similar ocurre con la posible aplicación de lodos como compost en terreno agrícola. Las evaluaciones actuales, para la salud humana debido al consumo de tejidos comestibles de plantas que han sido cultivadas en suelos modificados con bio-sólidos, son muy bajas si consideramos la dosis terapéutica más baja de cada uno de los compuestos farmacéuticos.

8.3.2. Cálculo de la degradación biológica y de la sorción al lodo de los fármacos calculados

Las constantes de biodegradación (K_{biol}) fueron calculadas ya que representan la mejor forma comprensión de la degradación soluble de los fármacos en un proceso de tratamiento de aguas residuales de lodo activado con un MLSS conocido. Estos valores se calcularon para los compuestos farmacéuticos analizados en la EDAR. En el momento del muestreo, el MLSS fue 4,09 g/L y los resultados obtenidos de los cálculos se muestran en la tabla 21.

De acuerdo con el esquema de clasificación de la biodegradación farmacéutica establecido por Joss y col., (2006) en un experimento a escala con lodo activado de depuradoras con eliminación de nutrientes, el estado de eliminación de carbamazepina y naproxeno se clasifica como "sin eliminación" ($< 0,1 \text{ L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$) ya que se eliminan por biodegradación por debajo del 20%; mientras que diclofenaco, ibuprofeno y ketoprofeno tienen una "biodegradación parcial" ($0,1 < K_{\text{biol}} < 10 \text{ L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$) con una transformación biológica esperada entre 20 y 90%.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Urase y Kikuta, (2005) en un estudio con varias EDAR municipales a gran escala, con valores de K_{biol} para diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno de 2,02-10; 0,05-1,06; 0,34-10 y 0,46 -1,92 $\text{L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$, respectivamente. Sin embargo, en el estudio de Joss y col., (2006), los resultados de K_{biol} de diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno fueron $< 0,1$; 21-35 y 1,0-1,9 $\text{L}/(\text{g}_{\text{ss}}\cdot\text{h})$, respectivamente. Estas diferencias entre los estudios pueden explicarse por las diferencias sustanciales de las concentraciones experimentales de productos farmacéuticos, el origen del lodo (edad del lodo, composición del agua residual y esquema de flujo), o el manejo de lodo antes de experimentos discontinuos (por ejemplo, dosificación de sustrato artificial, almacenamiento de lodo).

Con respecto a la sorción de productos farmacéuticos en el lodo, se produce principalmente por absorción, en la que las interacciones hidrofóbicas se producen

entre los grupos alifáticos y aromáticos de un compuesto y la membrana celular lipófila de los microorganismos, así como las fracciones de grasa del lodo, y por adsorción, que implica las interacciones electrostáticas de los grupos cargados positivamente con las superficies negativamente cargadas de los microorganismos y los lodos (Ternes y col., 2004). Este proceso depende de muchos factores, incluido el pH, el potencial redox, la estructura estereoquímica y la naturaleza química tanto del sorbente como de la molécula sorbida (Kümmerer, 2009).

Los coeficientes de sorción para los compuestos farmacéuticos se muestran en la tabla 21. Todos los resultados están por debajo del valor 0,50 L/g_{ss} requerido para una sorción significativa sobre el lodo (Ternes y col., 2004). Los valores obtenidos para diclofenaco y carbamazepina fueron considerablemente más altos que los de los otros compuestos. En este trabajo, la carbamazepina se absorbe bastante en el lodo (0,47 L/g_{ss}) siendo este resultado muy alto en contraste con Ternes y col., (2004) quien describió una baja adherencia al lodo donde el coeficiente de distribución entre agua y lodo secundario (K_d) era 0,001 L/g_{ss}.

Tabla 21. Constantes de biodegradación (K_{biol}) y de equilibrio de sorción en el lodo (K_d) para los diferentes compuestos estudiados.

Compuestos	K _{biol} (L/(g _{ss} ·h))*	K _d (L/(g _{ss} ·h))*
<i>Carbamazepina</i>	-0,87	0,47
<i>Diclofenaco</i>	1,31	0,11
<i>Ibuprofeno</i>	1,22	0,03
<i>Ketoprofeno</i>	0,81	0,04
<i>Naproxeno</i>	-1,91	0,08

* Las constantes fueron calculadas siguiendo las ecuaciones 3 y 4, respectivamente

El comportamiento de sorción del diclofenaco sobre lodo fue en el mismo orden que la carbamazepina, y también más alto que el encontrado por Ternes y

col., (2004), donde el coeficiente de adherencia de lodo y agua fue de 0,02 L/g_{ss}. Sin embargo, para Joss y col., (2006), el valor obtenido para diclofenaco fue de 0,016 L/g_{ss}, más similar a los resultados obtenidos de este trabajo.

En los casos de ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno, los valores de K_d fueron más bajos que los obtenidos para carbamazepina y diclofenaco (Tabla 21), pero consistentes con otros resultados (Carballa y col., 2004). Aunque para autores como Joss y col., (2004), el coeficiente de sorción para los valores del lodo activado de ibuprofeno y naproxeno fue de 0,007 y 0,013 L/g_{ss}, respectivamente, éstos son inferiores a los obtenidos en el presente experimento. Según Ternes y col., (2004), esto puede deberse a sus estructuras ácidas, lo que podría explicar su presencia principalmente en la fase acuosa. A pH neutro, como en este caso de EDAR (pH = 7,5), las sustancias farmacéuticas analizadas muestran poca tendencia a absorber lodo. Por esa razón, se puede decir que las condiciones operativas ácidas parecen ser preferibles para la eliminación de sustancias farmacéuticas ácidas, ya que el paso limitante para la eliminación no fue la biodegradación, sino la transferencia de sustancias de la fase acuosa a la fase de lodo (Urase y Kikuta, 2005).

8.3.3. Balance de masas y porcentaje de eliminación de los compuestos farmacéuticos en las EDAR

El balance de masa se estimó con el fin de evaluar la degradación farmacéutica dentro de la EDAR. Los resultados obtenidos (Tabla 22) son similares a los obtenidos en las concentraciones de agua y lodo. La carbamazepina, de nuevo, está presente solamente en la fase aeróbica y en el efluente de la EDAR. Por otro lado, el resto de los compuestos sufren un proceso de degradación considerable a través de los diferentes pasos de tratamiento. Para los lodos, se puede observar una gran absorción de compuestos farmacéuticos que finalmente son parcialmente recirculados y parcialmente eliminados de la EDAR.

Tabla 22. Balance de masas de los compuestos farmacéuticos a través de las diferentes etapas en el tratamiento de la EDAR (mg/d).

Compuesto	Influyente	R.B.1	R.B.2	R.B.3	Efluente	Lodo recirculado	Lodo eliminado
<i>Carbamazepina</i>	5,11	n.d.	1,53	11,2	11,3	n.d.	4.181
<i>Diclofenaco</i>	98,7	64,8	44,2	20,2	7,43	n.d.	5.841
<i>Ibuprofeno</i>	585	363	318	6,74	2,02	26.486	12.364
<i>Ketoprofeno</i>	567	180	239	14,0	12,9	3.486	n.d.
<i>Naproxeno</i>	49,9	21,1	23,5	19,3	21,2	n.d.	1.293

n.d.- No disponible. El balance de masas fue calculado siguiendo las ecuaciones (5) y (6), respectivamente

Con los resultados del balance de masas, se realizó una determinación de la degradación farmacéutica por los microorganismos utilizando la ecuación (5). Más tarde, se realizó una estimación de la eliminación de los componentes debido a la degradación del microorganismo y a la sorción (Tabla 23).

Para la carbamazepina, parece que la mayor parte de la eliminación de este medicamento es a través de la absorción en el lodo (Tabla 23). Sin embargo, es importante señalar que solo el 28% de la carbamazepina se excreta en las heces, mientras que el 72% se excreta en la orina (Zhang y col., 2008). Sin embargo, como se observó anteriormente, la concentración en lodo fue mayor que en el agua (Tabla 22). Tal vez, la razón de ese comportamiento es que del 72% de la carbamazepina excretada en la orina solo el 1 % corresponde al compuesto original (Zhang y col., 2008) que es el analizado en este trabajo, mientras que el otro corresponde a sus metabolitos (principalmente carbamazepina-diol, 3-OH-carbamazepina, 2-OH-carbamazepina, carbamazepina-acridan y carbamazepina-epóxido) que no son analizados. Probablemente esta es la razón principal de su mayor degradación en los lodos del compuesto original.

Tabla 23. Pérdida de masa de los compuestos farmacéuticos (m_{sor}) y (m_{bio}) y porcentaje de eliminación debido a la biodegradación (R_{bio}) y la sorción (R_{sor}).

Compuesto	M_{sor} (mg/d)	M_{bio} (mg/d)	R_{bio} (%)	R_{sor} (%)
<i>Carbamazepina</i>	4.181	0,00	0,00	100
<i>Diclofenaco</i>	5.841	0,00	0,00	100
<i>Ibuprofeno</i>	12.364	14.704	54,3	45,7
<i>Ketoprofeno</i>	1.293	0,00	0,00	100
<i>Naproxeno</i>	n.d.	4.040	99,7	0,32

n.d.- No disponible. El porcentaje de eliminación ha sido calculado siguiendo las ecuaciones (7), (8) y (9)

Algo similar al anterior ocurre con el diclofenaco. La eliminación de este compuesto puede deberse principalmente a la retención en el lodo. Dado que, solo el 35% del diclofenaco se excreta en las heces y el 65% se excreta en la orina, pero tan solo el 6% en el compuesto parental y el otro corresponde a sus metabolitos (principalmente 4'-OH-DCF, 4'-5-diOH-DCF, 5-OH-dDCF y 3'-OH-DCF) (Zhang y col., 2008).

En general, para los fármacos, incluso si los compuestos pertenecen al mismo grupo terapéutico, su biodegradabilidad y sorción pueden mostrar una gran variabilidad tal como se ha reportado en este capítulo. Por ejemplo, Salgado y col., (2012) informaron que, entre los AINE, el diclofenaco presentaba una baja tasa de biodegradación (< 25%), mientras que ibuprofeno y ketoprofeno se biodegradaron en una extensión mucho mayor (> 75%). Además, es importante tener en cuenta que se espera que los compuestos que tienden a ser absorbidos en los lodos se eliminen mejor mediante el tratamiento de lodos activados, como los utilizados en este estudio, en lugar de otros tratamientos secundarios de bajo costo como son los lechos filtrantes de goteo, lagunas anaeróbicas y/o humedales artificiales construidos (Camacho-Muñoz y col., 2012).

Si consideramos solamente las concentraciones de compuestos farmacéuticos encontrados en las muestras de agua del influente y del efluente y estudiamos sus eliminaciones, observamos la eliminación de los compuestos naproxeno, diclofenaco e ibuprofeno por encima del 80% (figura 48). La baja eficacia de eliminación de carbamazepina puede explicarse por sus propiedades, ya que es resistente a la biodegradación a bajas concentraciones (Zhang y col., 2008), y por las dos teorías antes mencionadas por diversos autores y que se encuentran descritas en el apartado 6.3.2 del capítulo 6. La tasa de eliminación negativa se ha atribuido, también, a las fluctuaciones de concentración diarias durante el período de muestreo, la incertidumbre analítica o la desorción de las moléculas del lodo y de las partículas en suspensión de la materia (Clara y col., 2004; Köck-Schulmeyer y col., 2013). En el caso del diclofenaco, la eficiencia de eliminación fue de alrededor del 80% (figura 48).

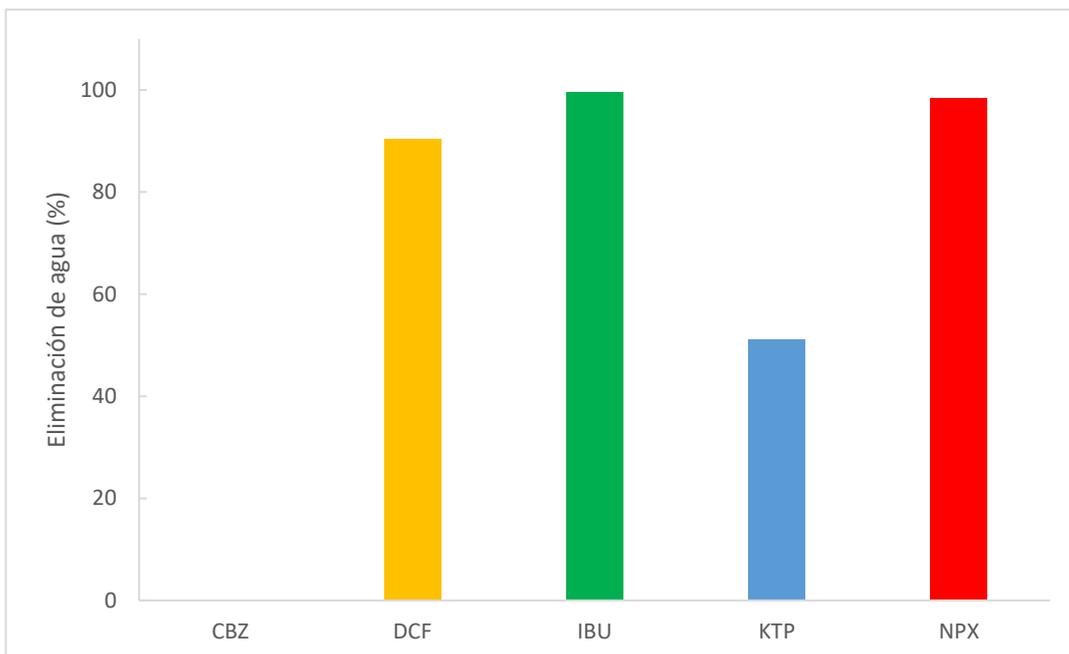


Figura 48. Eficiencia de eliminación de compuestos farmacéuticos en el agua.

En otros trabajos, el diclofenaco también se eliminó a lo largo de las depuradoras. En una EDAR coreana se eliminó hasta un 81,4% (Behera y col., 2011),

mientras que mostró una reducción del 5% en una EDAR española (Rosal y col., 2010). En general, estos resultados concuerdan con otros obtenidos por Blair y col., (2015), para la eficacia de eliminación de carbamazepina, ibuprofeno y naproxeno, y con otros datos recopilados por Verlicchi y col., (2012) en EDAR con tratamiento de fangos activos.

La eliminación de ketoprofeno en el efluente fue de 51,4%, el cual se considera bajo tratándose de este compuesto. Sin embargo, Verlicchi y col., (2012) mostraron eliminaciones de 30 a 92% dependiendo del tiempo de retención del fango, obteniendo una mayor eliminación con mayor tiempo de retención (92 días). Esto puede deberse a que, en las muestras de agua, la degradación de productos farmacéuticos depende de sus propias propiedades físicas y de los parámetros de operacionales dentro de las EDAR (Verlicchi y col., 2012).

8.4. BALANCE DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA EDAR DE ROLDÁN

Según la K_{biol} obtenida, el naproxeno y la carbamazepina no se degradan en un grado significativo (< 20% de eliminación), mientras que el diclofenaco, el ibuprofeno y el ketoprofeno, mostraron una biodegradación parcial (entre 20% y 90%). Ketoprofeno e ibuprofeno experimentaron una eliminación casi cuantitativa debido a la actividad microbiana. Considerando el coeficiente de sorción sobre el lodo (K_d), observamos que los valores más altos se obtuvieron para carbamazepina (0,47), diclofenaco (0,11) y naproxeno (0,08), lo que indica que estos compuestos se absorben mucho en los lodos. Estos resultados son consistentes con las eliminaciones porcentuales debidas a la sorción que fueron aproximadamente del 100% para estos compuestos.

IX – CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

IX – CONCLUSIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

9.1. RESUMEN Y CONCLUSIONES

En base a lo descrito en la introducción y en el estado del arte de la presente tesis, los compuestos farmacéuticos han llegado al ciclo del agua de la Región de Murcia. El alto desarrollo experimentado en esta región ha permitido una mejora económica política y social que ha conllevado, de igual modo, a poder adquirir de manera más frecuente ciertos medicamentos.

El problema de contaminación de nuevos fármacos emergentes también ha llegado a las aguas que discurren por la Región de Murcia. El hecho de que en las muestras de aguas recogidas y analizadas se puedan encontrar los compuestos farmacéuticos estudiados, denotan que los compuestos emergentes forman ya parte del ciclo del agua de nuestra región.

Aunque el capítulo 4 se considera la base de un estudio preliminar de las estaciones depuradoras, podemos concluir que las 12 EDAR mostraron, al menos, trazas de alguno de los compuestos analizados. De igual forma, se concluye que los fármacos carbamazepina y diclofenaco tienen un comportamiento de degradación diferente a los compuestos ketoprofeno, naproxeno y, posteriormente, al ibuprofeno, el cual se confirmó a lo largo del resto de muestreos.

De este estudio preliminar se puede concluir también que, para los compuestos ketoprofeno, naproxeno, diclofenaco y carbamazepina, lo mejor es tener unos tiempos de retención de entre 1 y 2 días, sin embargo, todo lo que esté por debajo de un tiempo de retención de un día se demostró poco eficiente.

Referente al capítulo 5, se puede extraer que en un río, cuyo curso es efímero y en algún caso hasta nulo, podemos encontrar los diferentes compuestos a lo largo de recorrido, si bien, no se pudo realizar una correlación entre los diferentes puntos

muestreados, excepto para el ibuprofeno, dónde sí que se observó una degradación del mismo a lo largo del río.

En cuanto al riesgo ecotoxicológico de las concentraciones obtenidas, se demuestra que no existe actualmente un riesgo para este río, ya que los análisis dieron resultados inferiores a un impacto ambiental reseñable. Sin embargo, se requieren de más estudios sobre los efectos ecotoxicológicos en este río y en el resto de cauces de agua que componen la cuenca hidrográfica del Segura, así como, el riesgo de una combinación de los compuestos y su exposición a largo plazo.

El capítulo 6 demostró que el comportamiento de las estaciones depuradoras varía dependiendo de la estación anual ya que, entre otras cosas, los microorganismos trabajan de forma diferente dependiendo del clima. De igual forma, los resultados obtenidos revelan que el consumo de fármacos también varía según periodo anual en el que nos encontremos.

Entre los dos tipos de reactores biológicos de fangos activos más utilizados dentro del parque regional, se demuestra que el reactor en forma de carrusel ofrecía mejores eficiencias de eliminación respecto al reactor en flujo pistón. Si bien, la disposición en carrusel tiene cierta ventaja ya que la mezcla de fangos del reactor es más heterogénea y es más fácil obtener mayores tiempos de retención, lo cual encajaría con los resultados obtenidos en el estudio preliminar del capítulo 4.

Tras el estudio más pormenorizado de las plantas que equipan reactores biológicos de fangos activos en flujo pistón en el capítulo 7, la zona donde se efectuó una mayor degradación de ibuprofeno y naproxeno, cuando las cargas eran elevadas, fue en el reactor aeróbico, lo cual indica que las bacterias heterótrofas son las que consiguen su degradación. Sin embargo, a concentraciones bajas, la degradación se puede producir en las primeras zonas del tratamiento, tales como el pretratamiento o el reactor biológico en su primera etapa.

Para el diclofenaco, se observó un incremento del compuesto tras su paso por

el reactor aeróbico. Sin embargo, el uso de la radiación ultravioleta podría ejercer un efecto de degradación el cual podría eliminar dicho compuesto. Esta conclusión se desprende de los resultados obtenidos del capítulo 7 y, también, del estudio preliminar del capítulo 4.

La carbamazepina no mostró degradación a su paso por las plantas depuradoras con reactor de flujo pistón. El incremento de su concentración nos llevó a la investigación de la sorción de los compuestos a los lodos y de la constante de degradación biológica, tal como se extrae del capítulo 8.

Dicha investigación concluye que los compuestos carbamazepina y diclofenaco se absorben en una alta cantidad al lodo al igual que el naproxeno. Las constantes de degradación biológica se mostraron bajas para la carbamazepina y para el naproxeno.

9.2. CONTRIBUCIÓN DE ESTA TESIS

Entre las principales contribuciones de esta tesis podemos enumerar:

- Colaboración con el repositorio creado por la Entidad Pública de Saneamiento para la evaluación de la calidad de sus aguas en los cuales se ha colaborado gracias a los proyectos CFE-ESAMUR 15/13, CFE-ESAMUR 38/14 y CFE-ESAMUR 35/15 para que pueda servir para futuras investigaciones.
- Cooperación con las listas de observación que la Comisión Europea requirió a través de la publicación de la Directiva 2013/39/UE para su puesta en estudio y su posterior publicación en una lista de restricciones de dichos compuestos.
- Puesta en conocimiento sobre la presencia de los nuevos

contaminantes emergentes (caso de los fármacos) dentro del ciclo del agua que usamos en la Región de Murcia, y que las estaciones depuradoras no son capaces de efectuar una degradación total sobre ellos.

Durante el período de investigación y elaboración de la tesis, se consiguió la publicación de artículos en revistas de impacto JCR de algunas de las partes anteriormente desarrolladas, de igual manera que también se presentaron éstos resultados en diferentes conferencias. Las publicaciones conseguidas fueron:

- **Artículos en revistas:**

- Fernández-López, C., **Guillén-Navarro, J. M.**, Padilla, J. J., & Parsons, J. R. (2016). Comparison of the removal efficiencies of selected pharmaceuticals in wastewater treatment plants in the region of Murcia, Spain. *Ecological Engineering*, 95, 811-816.
- Martínez-Alcalá, I., **Guillén-Navarro, J. M.**, & Fernández-López, C. (2017). Pharmaceutical biological degradation, sorption and mass balance determination in a conventional activated-sludge wastewater treatment plant from Murcia, Spain. *Chemical Engineering Journal*, 316, 332-340.
- Martínez-Alcalá I., **Guillén-Navarro, J. M.**, Fernández-López, C., Lahora A. (2017) Estudio de la eliminación de compuestos farmacéuticos en EDAR de la Región de Murcia *TECNOAQUA*. 23, pp.1-6. ISSN 2340-2091.

- **Presentación en congresos:**

- Analysis of pharmaceuticals compounds in WWTPs from Region of Murcia. Comparison between different technologies. **José**

Manuel Guillén Navarro, Carmen Fernández-López, Gabriel Caravaca, Agustín Lahora and John R. Parsons. 5th SCARCE International Conference Final Programme. Tarragona, Spain (Tarragona, 20-21 octubre de 2014)

○ Preliminary study of pharmaceuticals compounds by different technologies used in WWTPs from Region of Murcia. Prediction of consumption data. **José Manuel Guillén Navarro**, Carmen Fernández-López, Gabriel Caravaca, Agustín Lahora and John Parsons. Globaqua-Cyothreat-Endetech-Scarce Workshop: Pharmaceuticals in wastewaters and surface waters under multistressors situation: Fate, Adverse effects, risks and removal technologies. Barcelona, Spain. (Barcelona. 2-3 de diciembre de 2014)

○ Comparison of efficiency in removing drugs in 10 WWTPs and the possible ecotoxicological risk. **José Manuel Guillén Navarro**, Carmen Fernández-López, Isabel María Martínez Alcalá, John R. Parsons. 1st GLOBAQUA International Conference: Managing the effect of multiple stressors on aquatic ecosystems under water scarcity. Freising, Germany (Freising, 11-12 enero de 2016).

○ Ecotoxicological risk assessment and removal of pharmaceutical compounds in 12 WWTPs. **José Manuel Guillén Navarro**, Carmen Fernández-López, Isabel María Martínez Alcalá and Gabriel Caravaca. Congreso Internacional LAUDATO SI' de Ecología y Medio Ambiente. Murcia, Spain. (UCAM, 2-6 marzo de 2016).

9.3. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Los resultados conseguidos, en la presente tesis realizada y en los proyectos adjuntos que se llevaron a cabo, presentan la posibilidad de futuras líneas de investigación en base a lo obtenido. Debido a la amplitud de esta temática, varias

ideas fueron surgiendo a medida que se desarrollaba la presente tesis, las cuales no fueron llevadas a cabo por motivos logísticos, pero podrían ser punto de partida para otro nuevo enfoque en futuras investigaciones.

A continuación, se muestran de forma más detallada alguno de aquellos puntos en los que futuros trabajos se podrían iniciar:

1. Aplicación de modelos de dinámica de fluidos computacional (CFD) para poder realizar un seguimiento de las partículas dentro de los reactores biológicos de fangos activos en carrusel. Así se podría determinar el grado de degradación a través del mismo a lo largo de su tiempo de retención hidráulico.

2. Debido al incremento en la instauración de los reactores de membranas, convendría el análisis de los MBR dentro del parque regional según el tiempo de retención del lodo de cada uno de ellos. Con ello, se podría determinar el más adecuado para la degradación de los contaminantes emergentes.

3. Investigación de nuevas líneas que puedan ser añadidas al tratamiento terciario, tales como el plasma no térmico, la fotocatalisis o la oxidación de forma efectiva y evitando altos costos.

4. Investigar los procesos de sorción a los lodos de los compuestos farmacéuticos en los diferentes tipos de tratamientos que existen en el parque regional.

5. Realizar una monitorización sobre el río Segura a su paso por las diferentes plantas depuradoras, y realizar muestreos aguas arriba y aguas abajo para ver el riesgo ecotoxicológico que genera cada planta debido a su vertido directo al río.

6. Realizar una investigación sobre la posible aparición y la concentración de estos compuestos en la agricultura, realizando diferentes tipos de cultivos y regándolos con los compuestos a diferentes dosis, al igual que con los efluentes de las EDAR.

X – BIBLIOGRAFIA

X – BIBLIOGRAFIA

Abegglen, C., Joss, A., McArdell, C. S., Fink, G., Schlüsener, M. P., Ternes, T. A., & Siegrist, H. (2009). The fate of selected micropollutants in a single-house MBR. *Water research*, 43(7), 2036-2046.

Acuña, V., von Schiller, D., García-Galán, M. J., Rodríguez-Mozaz, S., Corominas, L., Petrovic, M. & Sabater, S. (2015). Occurrence and in-stream attenuation of wastewater-derived pharmaceuticals in Iberian rivers. *Science of the Total Environment*, 503, 133-141.

Afonso-Olivares, C., Sosa-Ferrera, Z. & Santana-Rodríguez, J. J. (2017). Occurrence and environmental impact of pharmaceutical residues from conventional and natural wastewater treatment plants in Gran Canaria (Spain). *Science of the Total Environment*, 599, 934-943.

Aguas industriales. <http://aguasindustriales.es/tratamientos-de-aguas-para-bodegas-desinfeccion-mediante-radiacion-ultravioleta-en-bodegas/> (acceso 26.08.2017)

Agunbiade, F. O. & Moodley, B. (2016). Occurrence and distribution pattern of acidic pharmaceuticals in surface water, wastewater, and sediment of the Msunduzi River, Kwazulu-Natal, South Africa. *Environmental toxicology and chemistry*, 35(1), 36-46

Ahmed, M. M. & Chiron, S. (2014). Solar photo-Fenton like using persulphate for carbamazepine removal from domestic wastewater. *Water research*, 48, 229-236.

Al Aukidy, M., Al Chalabi, S. & Verlicchi, P. (2017). Hospital Wastewater Treatments Adopted in Asia, Africa, and Australia.

Alder A.C., Bruchet A., Carballa M., Clara M., Joss A., Löffler D., McArdell C.S., Consumption and Occurrence, in: Ternes T.A., Joss A. (Eds.), *Human Pharmaceuticals, Hormones and Fragrances, The Challenge of micropollutants in Urban Water Management*, IWA Publishing, London, UK, 2006, pp. 15–54.

Badia-Fabregat, M., Oller, I. & Malato, S. (2017). Overview on pilot-scale treatments and new and innovative technologies for hospital effluent. *Hospital Wastewaters* (pp. 209-230).

Bahlmann, A., Brack, W., Schneider, R. J. & Krauss, M. (2014). Carbamazepine and its metabolites in wastewater: analytical pitfalls and occurrence in Germany and Portugal. *Water research*, 57, 104-114.

Baker, D. R. & Kasprzyk-Hordern, B. (2011). Critical evaluation of methodology commonly used in sample collection, storage and preparation for the analysis of pharmaceuticals and illicit drugs in surface water and wastewater by solid phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218(44), 8036-8059.

Baran, W., Adamek, E., Ziemiańska, J. & Sobczak, A. (2011). Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health. *Journal of hazardous materials*, 196, 1-15.

Basile, T., Petrella, A., Petrella, M., Boghetich, G., Petruzzelli, V., Colasuonno, S. & Petruzzelli, D. (2011). Review of endocrine-disrupting-compound removal technologies in water and wastewater treatment plants: an EU perspective. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(14), 8389-8401.

Behera, S. K., Kim, H. W., Oh, J. E. & Park, H. S. (2011). Occurrence and removal of antibiotics, hormones and several other pharmaceuticals in wastewater

treatment plants of the largest industrial city of Korea. *Science of the Total Environment*, 409(20), 4351-4360.

Blair, B. D., Crago, J. P., Hedman, C. J., Treguer, R. J., Magruder, C., Royer, L. S. & Klaper, R. D. (2013). Evaluation of a model for the removal of pharmaceuticals, personal care products, and hormones from wastewater. *Science of the Total Environment*, 444, 515-521.

Blair, B., Nikolaus, A., Hedman, C., Klaper, R. & Grundl, T. (2015). Evaluating the degradation, sorption, and negative mass balances of pharmaceuticals and personal care products during wastewater treatment. *Chemosphere*, 134, 395-401.

Bolong, N., Ismail, A. F., Salim, M. R. & Matsuura, T. (2009). A review of the effects of emerging contaminants in wastewater and options for their removal. *Desalination*, 239 (1-3), 229-246.

Borgman, O. & Chefetz, B. (2013). Combined effects of biosolids application and irrigation with reclaimed wastewater on transport of pharmaceutical compounds in arable soils. *Water research*, 47(10), 3431-3443.

Bouissou-Schurtz, C., Houeto, P., Guerbet, M., Bachelot, M., Casellas, C., Mauclair, A. C. & Masset, D. (2014). Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69(3), 296-303.

Boxall A.B.A., Rudd M.A., Brooks B.W., Caldwell D.J., Choi K., Hickmann S., Innes E., Ostapyk K., Staveley J.P., Verslycke T., Ankley G.T., Beazley K.F., Belanger S.E., Berninger J.P., Carriquiriborde P., Coors A., DeLeo P.C., Dyer S.D., Ericson J.F., Gagné F., Giesy J.P., Guoin T., Hallstrom L., Karlsson M.V., Larsson D.G.J., Lazorchak J.M., Mastrocco F., McLaughlin A., McMaster M.E., Meyerhoff R.D., Moore R., Parrott J.L., Snape J.R., Murray-Smith R., Servos M.R., Sibley P.K., Oliver Straub J., Szabo N.D., Topp E., Tetreault G.R., Trudeau V.L., & van der Kraak G.

(2012). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big questions? *Environmental Health Perspectives*, 120: 1221-9.

Brandt, E. M., de Queiroz, F. B., Afonso, R. J., Aquino, S. F. & Chernicharo, C. A. (2013). Behaviour of pharmaceuticals and endocrine disrupting chemicals in simplified sewage treatment systems. *Journal of environmental management*, 128, 718-726.

Braund, R., Peake, B. M. & Shieffelbien, L. (2009). Disposal practices for unused medications in New Zealand. *Environment International*, 35(6), 952-955.

Bravo, M., Aguilar, L. F., Quiroz, W., Olivieri, A. C. & Escandar, G. M. (2013). Determination of tributyltin at parts-per-trillion levels in natural waters by second-order multivariate calibration and fluorescence spectroscopy. *Microchemical Journal*, 106, 95-101.

Brodin, T., Fick, J., Jonsson, M. & Klaminder, J. (2013). Dilute concentrations of a psychiatric drug alter behavior of fish from natural populations. *Science*, 339(6121), 814-815.

Brozinski, J. M., Lahti, M., Oikari, A. & Kronberg, L. (2011). Detection of naproxen and its metabolites in fish bile following intraperitoneal and aqueous exposure. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(5), 811-818.

Bueno, M. M., Gomez, M. J., Herrera, S., Hernando, M. D., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. R. (2012). Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: two years pilot survey monitoring. *Environmental Pollution*, 164, 267-273.

Bussan, D. D., Ochs, C. A., Jackson, C. R., Anumol, T., Snyder, S. A. & Cizdziel, J. V. (2017). Concentrations of select dissolved trace elements and

anthropogenic organic compounds in the Mississippi River and major tributaries during the summer of 2012 and 2013. *Environmental monitoring and assessment*, 189(2), 73.

Cabrera, F., Toca, C. G., Diaz, E. & De Arambarri, P. (1984). Acid mine-water and agricultural pollution in a river skirting the Doñana National Park (Guadamar river, South West Spain). *Water Research*, 18(12), 1469-1482.

Camacho-Muñoz, D., Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I. & Alonso, E. (2009). An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *Journal of separation science*, 32(18), 3064-3073.

Camacho-Muñoz, D., Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I. & Alonso, E. (2012). Effectiveness of conventional and low-cost wastewater treatments in the removal of pharmaceutically active compounds. *Water, Air & Soil Pollution*, 223(5), 2611-2621.

Carballa, M., Omil, F., Lema, J. M., Llompart, M., García-Jares, C., Rodríguez, I. & Ternes, T. (2004). Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water research*, 38(12), 2918-2926.

Cardenas, M. A. R., Ali, I., Lai, F. Y., Dawes, L., Thier, R. & Rajapakse, J. (2016). Removal of micropollutants through a biological wastewater treatment plant in a subtropical climate, Queensland-Australia. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 14(1), 14.

Carmona, E., Andreu, V. & Picó, Y. (2014). Occurrence of acidic pharmaceuticals and personal care products in Turia River Basin: from waste to drinking water. *Science of the Total Environment*, 484, 53-63.

Chen X., Nielsen J. L., Furgal K., Liu Y., Lolas I. B. & Bester K. (2011). Biodegradation of triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions. *Chemosphere*, 84, 452–456.

Chenxi, W., Spongberg, A. L. & Witter, J. D. (2008). Determination of the persistence of pharmaceuticals in biosolids using liquid-chromatography tandem mass spectrometry. *Chemosphere*, 73(4), 511-518.

Christou, A., Karaolia, P., Hapeshi, E., Michael, C. & Fatta-Kassinos, D. (2017). Long-term wastewater irrigation of vegetables in real agricultural systems: concentration of pharmaceuticals in soil, uptake and bioaccumulation in tomato fruits and human health risk assessment. *Water research*, 109, 24-34.

Choi, K., Kim, Y., Park, J., Park, C. K., Kim, M. Y., Kim, H. S. & Kim, P. (2008). Seasonal variations of several pharmaceutical residues in surface water and sewage treatment plants of Han River, Korea. *Science of the Total Environment*, 405(1–3), 120–128.

Clara, M., Strenn, B. & Kreuzinger, N. (2004). Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behaviour of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water research*, 38(4), 947-954.

Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N. & 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.

Collado, N., Rodriguez-Mozaz, S., Gros, M., Rubirola, A., Barceló, D., Comas, J. & Buttiglieri, G. (2014). Pharmaceuticals occurrence in a WWTP with significant industrial contribution and its input into the river system. *Environmental Pollution*, 185, 202-212.

Confederación Hidrográfica del Segura. Características climáticas. <https://www.chsegura.es/chs/cuenca/resumendedatosbasicos/marcofisico/clima/> (acceso 10.03.2017).

Contenidos Educarex. Funcionamiento de una Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR). <http://contenidos.educarex.es/mci/2007/11/activid/edar/edar.htm> (acceso 05.03.2018)

Corcoran, J., Winter, M. J. & Tyler, C. R. (2010). Pharmaceuticals in the aquatic environment: a critical review of the evidence for health effects in fish. *Critical reviews in toxicology*, 40(4), 287-304.

Cortacans Torres J.A., Hernández Lehmann A., Del Castillo González I., Montes Carmona E. & Hernández Muñoz A. (2007). Presencia de Fármacos en Aguas Residuales y Eficacia de los Procesos Convencionales en su eliminación. Cátedra de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Dpto. Ordenación del Territorio, Urbanismo y Medio Ambiente. E.T.S. Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Universidad Politécnica de Madrid.

da Silva, B. F., Jelic, A., López-Serna, R., Mozeto, A. A., Petrovic, M. & Barceló, D. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in surface water, suspended solids and sediments of the Ebro river basin, Spain. *Chemosphere*, 85(8), 1331-1339.

Dai, G., Huang, J., Chen, W., Wang, B., Yu, G. & Deng, S. (2014). Major pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in wastewater treatment plant and receiving water in Beijing, China, and associated ecological risks. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 92(6), 655-661.

Dantas, R. F., Canterino, M., Marotta, R., Sans, C., Esplugas, S. & Andreozzi, R. (2007). Bezafibrate removal by means of ozonation: primary intermediates, kinetics, and toxicity assessment. *Water Research*, 41(12), 2525-2532.

Daughton, C. G. & Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. *Environmental Health Perspectives*, 107 (Suppl 6), 907.

Deblonde, T. & Hartemann, P. (2013). Environmental impact of medical prescriptions: assessing the risks and hazards of persistence, bioaccumulation and toxicity of pharmaceuticals. *Public Health*, 127(4), 312-317.

De García, S. O., Pinto, G. P., Encina, P. G. & Mata, R. I. (2013). Consumption and occurrence of pharmaceutical and personal care products in the aquatic environment in Spain. *Science of the Total Environment*, 444, 451-465.

De García, S. A. O., Pinto, G. P., García-Encina, P. A. & Irusta-Mata, R. (2014). Ecotoxicity and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments and wastewater treatment plants. *Ecotoxicology*, 23(8), 1517-1533.

de Jesus Gaffney, V., Cardoso, V. V., Cardoso, E., Teixeira, A. P., Martins, J., Benoliel, M. J. & Almeida, C. M. M. (2017). Occurrence and behaviour of pharmaceutical compounds in a Portuguese wastewater treatment plant: Removal efficiency through conventional treatment processes. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(17), 14717-14734.

DECISIÓN DE EJECUCIÓN (UE) 2015/495 DE LA COMISIÓN 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

Dickenson, E. R., Drewes, J. E., Stevens-Garmon, J., Khan, S. & McDonald, J. (2010). Evaluation of QSPR techniques for wastewater treatment processes. Proceedings of the Water Environment Federation, 2010(13), 4084-4096.

Direct industry. <http://www.directindustry-china.cn/prod/aqua-aerobic-systems-inc/product-89335-876873.html> (acceso 02.10.2017)

Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de octubre de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas

Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan ulteriormente las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE.

Directiva 2009/90/CE de la Comisión, de 31 de julio de 2009, por la que se establecen, de conformidad con la Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, las especificaciones técnicas del análisis químico y del seguimiento del estado de las aguas.

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 la política de aguas (Texto pertinente a efectos del EEE).

Directiva Europea 91/271/CEE. Treatment of public waste disposal. J Off Commun Eur, 1991:L 135/40-52.

Du, B., Price, A. E., Scott, W. C., Kristofco, L. A., Ramirez, A. J., Chambliss, C. K. & Brooks, B. W. (2014). Comparison of contaminants of emerging concern removal, discharge, and water quality hazards among centralized and on-site wastewater treatment system effluents receiving common wastewater influent. *Science of the Total Environment*, 466, 976-984.

Ebele, A. J., Abdallah, M. A. E. & Harrad, S. (2017). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment. *Emerging Contaminants*, 3(1), 1-16.

European Commission (EC), 2003. Technical guidance document on risk assessment. Tgd part ii. Technical Report, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau,

Fatta-Kassinos, D., Meric, S. & Nikolaou, A. (2011). Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 399(1), 251-275.

Fent, K., Weston, A. A. & Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals, *Aquatic Toxicology*, 76, 122-159.

Fernández, C., González-Doncel, M., Pro, J., Carbonell, G. & Tarazona, J. V. (2010). Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-Tajo river system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. *Science of the Total Environment*, 408(3), 543-551.

Ferrer, I. & Thurman, E. M. (2012). Analysis of 100 pharmaceuticals and their degradates in water samples by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1259, 148-157.

Flint, S., Markle, T., Thompson, S. & Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure,

effects, and policy: a wildlife perspective. *Journal of environmental management*, 104, 19-34.

Fong PP. (1998) Zebra mussel spawning is induced in low concentrations of putative serotonin reuptake inhibitors. *The Biological Bulletin*, 194, 143–9.

Frédéric, O. & Yves, P. (2014). Pharmaceuticals in hospital wastewater: their ecotoxicity and contribution to the environmental hazard of the effluent. *Chemosphere*, 115, 31-39.

Furlong, E. T., Batt, A. L., Glassmeyer, S. T., Noriega, M. C., Kolpin, D. W., Mash, H. & Schenck, K. M. (2017). Nationwide reconnaissance of contaminants of emerging concern in source and treated drinking waters of the United States: Pharmaceuticals. *Science of the Total Environment*, 579, 1629-1642.

Gago-Ferrero, P., Borova, V., Dasenaki, M. E. & Thomaidis, N. S. (2015). Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(15), 4287-4297.

Gallay, M., Mora, A., Martinez, J. M., Gardel, A., Laraque, A., Sarrazin, M., Beaucher, E., Doudou, J.C. & Lagane, C. (2018). Dynamics and fluxes of organic carbon and nitrogen in two Guiana Shield river basins impacted by deforestation and mining activities. *Hydrological Processes*, 32(1), 17-29.

Gao P., Ding Y., Li H. & Xagorarakis I. (2012). Occurrence of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant: mass balance and removal processes. *Chemosphere*; 88 (1), 17-24.

Gavrilescu, M., Demnerová, K., Aamand, J., Agathos, S. & Fava, F. (2015).

Emerging pollutants in the environment: present and future challenges in biomonitoring, ecological risks and bioremediation. *New biotechnology*, 32(1), 147-156.

Ginebreda, A., Muñoz, I., de Alda, M. L., Brix, R., López-Doval, J. & Barceló, D. (2010). Environmental risk assessment of pharmaceuticals in rivers: relationships between hazard indexes and aquatic macroinvertebrate diversity indexes in the Llobregat River (NE Spain). *Environment International*, 36(2), 153-162.

Giri, R. R., Ozaki, H., Ota, S., Takanami, R. & Taniguchi, S. (2010). Degradation of common pharmaceuticals and personal care products in mixed solutions by advanced oxidation techniques. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7(2), 251-260.

Glassmeyer, S. T., Furlong, E. T., Kolpin, D. W., Batt, A. L., Benson, R., Boone, J. S. & Mash, H. E. (2017). Nationwide reconnaissance of contaminants of emerging concern in source and treated drinking waters of the United States. *Science of the Total Environment*, 581, 909-922.

Gracia-Lor, E., Sancho, J. V., Serrano, R. & Hernández, F. (2012). Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. *Chemosphere*, 87(5), 453-462.

Grenni, P., Patrolecco, L., Ademollo, N., Tolomei, A. & Caracciolo, A. B. (2013). Degradation of gemfibrozil and naproxen in a river water ecosystem. *Microchemical Journal*, 107, 158-164.

Grossberger, A., Hadar, Y., Borch, T. & Chefetz, B. (2014). Biodegradability of pharmaceutical compounds in agricultural soils irrigated with treated wastewater. *Environmental pollution*, 185, 168-177.

Göbel, A., McArdell, C. S., Joss, A., Siegrist, H. & Giger, W. (2007). Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Science of the Total Environment*, 372(2-3), 361-371.

Godin, B. & Touitou, E. (2007). Transdermal skin delivery: predictions for humans from in vivo, ex vivo and animal models. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(11), 1152-1161.

González, P.J. & Fernández, J. (2011). Drought-driven transient aquifer compaction imaged using multitemporal satellite radar interferometry. *Geology* 39, 551-554.

González-Pérez, D. M., Pérez, J. I. & Gómez, M. A. (2017). Behaviour of the main nonsteroidal anti-inflammatory drugs in a membrane bioreactor treating urban wastewater at high hydraulic-and sludge-retention time. *Journal of Hazardous Materials*, 336, 128-138.

Gorito, A. M., Ribeiro, A. R., Almeida, C. M. R. & Silva, A. M. (2017). A review on the application of constructed wetlands for the removal of priority substances and contaminants of emerging concern listed in recently launched EU legislation. *Environ. Pollut*, 227, 428-443.

Guerra, P., Kim, M., Shah, A., Alaei, M. & Smyth, S. A. (2013). Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes. *Science of the Total Environment*, 473, 235-243.

Gurke, R., Roessler, M., Marx, C., Diamond, S., Schubert, S., Oertel, R. & Fauler, J. (2015). Occurrence and removal of frequently prescribed pharmaceuticals

and corresponding metabolites in wastewater of a sewage treatment plant. *Science of the Total Environment*, 532, 762-770.

Halling-Sørensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P. F., Ingerslev, F., Holten Lützhøft, H. C. & Jørgensen, S. E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment-a review. *Chemosphere*, 36 (2), 357-393.

Heberer, T. (2002a). Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology letters*, 131 (1), 5-17.

Heberer, T. (2002b). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology*, 266, 175-189.

Hedgspeth, M. L., Nilsson, P. A. & Berglund, O. (2014). Ecological implications of altered fish foraging after exposure to an antidepressant pharmaceutical. *Aquatic toxicology*, 151, 84-87.

Hooke, J. M. & Mant, J. Geomorphological impacts of a flood event on ephemeral channels in SE Spain. *Land Degradation & Development* 2002, 13, 165-175.

Hoskins, J. K., Ruchhoft, C. C. & Williams, L. G. (1927). A Study of the Pollution and Natural Purification of the Illinois River. I. Surveys and Laboratory Studies. US Public Health Service Public Health Bulletin, (171).

Huerta, B., Rodriguez-Mozaz, S., Nannou, C., Nakis, L., Ruhi, A., Acuña, V. & Barcelo, D. (2016). Determination of a broad spectrum of pharmaceuticals and endocrine disruptors in biofilm from a waste water treatment plant-impacted river. *Science of the Total Environment*, 540, 241-249.

Huetos Hidalgo O. Estudio Comparativo y Evaluación de Diferentes Técnicas Cromatográficas en el Análisis de Residuos de Corticosteroides en Muestras Biológicas. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. Departamento de Toxicología y Farmacología. Madrid, 2004. ISBN: 84-669-2682-8 (84-85)

Iagua conocimiento. Propuesta de diseño proceso MBBR. <https://www.iagua.es/blogs/jorge-chamorro/propuesta-diseno-proceso-mbbr> (acceso 14.11.2017)

Jekel, M., Dott, W., Bergmann, A., Dünnbier, U., Gnirß, R., Haist-Gulde, B. & Mieke, U. (2015). Selection of organic process and source indicator substances for the anthropogenically influenced water cycle. *Chemosphere*, 125, 155-167.

Jelic, A., Gros, M., Ginebreda, A., Cespedes-Sánchez, R., Ventura, F., Petrovic, M. & Barcelo, D. (2011). Occurrence, partition and removal of pharmaceuticals in sewage water and sludge during wastewater treatment. *Water research*, 45(3), 1165-1176.

Jelic, A., Fatone, F., Di Fabio, S., Petrovic, M., Cecchi, F. & Barcelo, D. (2012). Tracing pharmaceuticals in a municipal plant for integrated wastewater and organic solid waste treatment. *Science of the Total Environment*, 433, 352-61.

Jiménez, J. J., Sánchez, M. I., Pardo, R. & Muñoz, B. E. (2017). Degradation of indomethacin in river water under stress and non-stress laboratory conditions: degradation products, long-term evolution and adsorption to sediment. *Journal of Environmental Sciences*, 51, 13-20.

Joss, A., Zabczynski, S., Göbel, A., Hoffmann, B., Löffler, D., McArdell, C. S. & Siegrist, H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal

wastewater treatment: proposing a classification scheme. *Water research*, 40(8), 1686-1696.

Kanakaraju, D., Glass, B. D. & Oelgemöller, M. (2014). Titanium dioxide photocatalysis for pharmaceutical wastewater treatment. *Environmental Chemistry Letters*, 12(1), 27-47.

Kanakaraju, D., Motti, C. A., Glass, B. D. & Oelgemöller, M. (2015). TiO₂ photocatalysis of naproxen: effect of the water matrix, anions and diclofenac on degradation rates. *Chemosphere*, 139, 579-588.

Klavarioti, M., Mantzavinos, D. & Kassinos, D. (2009). Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment international*, 35(2), 402-417.

Köck-Schulmeyer, M., Villagrasa, M., de Alda, M. L., Céspedes-Sánchez, R., Ventura, F. & Barceló, D. (2013). Occurrence and behaviour of pesticides in wastewater treatment plants and their environmental impact. *Science of the total environment*, 458, 466-476.

Koumaki, E., Mamais, D. & Noutsopoulos, C. (2017). Environmental fate of non-steroidal anti-inflammatory drugs in river water/sediment systems. *Journal of hazardous materials*, 323, 233-241.

Kosma, C. I., Lambropoulou, D. A. & Albanis, T. A. (2014). Investigation of PPCPs in wastewater treatment plants in Greece: occurrence, removal and environmental risk assessment. *Science of the total environment*, 466, 421-438.

Kreuzinger, N., Clara, M., Strenn, B. & Kroiss, H. (2004). Relevance of the sludge retention time (SRT) as design criteria for wastewater treatment plants for

the removal of endocrine disruptors and pharmaceuticals from wastewater. *Water Science and Technology*, 50(5), 149-156.

Kümmerer, K. (2009). The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use—present knowledge and future challenges. *Journal of environmental management*, 90(8), 2354-2366.

Kurwadkar, S., Sicking, V., Lambert, B., McFarland, A. & Mitchell, F. (2013). Preliminary studies on occurrence of monensin antibiotic in Bosque River Watershed. *Journal of Environmental Sciences*, 25(2), 268-273

KWR, STOWA, KWO Watercycle Research Institute & STOWA Foundation for Applied Water Research: Human pharmaceuticals in the water cycle. [WWW Document] <http://www.stowa.nl/upload/publicaties/STOWA%202013%2023.pdf>, 2013 (accesso 10.28.13).

K'oreje, K. O., Vergeynst, L., Ombaka, D., De Wispelaere, P., Okoth, M., Van Langenhove, H. & Demeestere, K. (2016). Occurrence patterns of pharmaceutical residues in wastewater, surface water and groundwater of Nairobi and Kisumu city, Kenya. *Chemosphere*, 149, 238-244.

Lacey, C., Basha, S., Morrissey, A. & Tobin, J. M. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater process streams in Dublin, Ireland. *Environmental monitoring and assessment*, 184(2), 1049.

Lapen, D. R., Topp, E., Metcalfe, C. D., Li, H., Edwards, M., Gottschall, N. & Beck, A. (2008). Pharmaceutical and personal care products in tile drainage following land application of municipal biosolids. *Science of the Total Environment*, 399(1), 50-65.

Larsson, E., al-Hamimi, S. & Jönsson, J. Å. (2014). Behaviour of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and eight of their metabolites during wastewater treatment studied by hollow fibre liquid phase microextraction and liquid chromatography mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, 485, 300-308.

Le-Minh, N., Khan, S. J., Drewes, J. E. & Stuetz, R. M. (2010). Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Water research*, 44(15), 4295-4323.

Lee, H. J., Lee, E., Yoon, S. H., Chang, H. R., Kim, K. & Kwon, J. H. (2012). Enzymatic and microbial transformation assays for the evaluation of the environmental fate of diclofenac and its metabolites. *Chemosphere*, 87(8), 969-974.

Lee, H. J., Lee, H. & Lee, C. (2014). Degradation of diclofenac and carbamazepine by the copper (II)-catalyzed dark and photo-assisted Fenton-like systems. *Chemical Engineering Journal*, 245, 258-264.

Li, W. C. (2014). Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil. *Environmental Pollution*, 187, 193-201.

Lienert J., Gudel K. & Escher B.I. (2007). Screening method for ecotoxicological hazard assessment of 42 pharmaceuticals considering human metabolism and excretory routes. *Environ Sci Technol*, 41, 4471-4478.

Lin, A. Y. C., Yu, T. H. & Lateef, S. K. (2009). Removal of pharmaceuticals in secondary wastewater treatment processes in Taiwan. *Journal of hazardous materials*, 167(1-3), 1163-1169.

Lin, K. & Gan, J. (2011). Sorption and degradation of wastewater-associated non-steroidal anti-inflammatory drugs and antibiotics in soils. *Chemosphere*, 83(3), 240-246.

Lindholm-Lehto, P. C., Ahkola, H. S., Knuutinen, J. S. & Herve, S. H. (2016). Widespread occurrence and seasonal variation of pharmaceuticals in surface waters and municipal wastewater treatment plants in central Finland. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(8), 7985-7997.

Litterst, C. L. & Lichtenstein, E. P. (1971). Effects and interactions of environmental chemicals on human cells in tissue culture. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 22(4), 454-459.

Loraine, G. A. & Pettigrove, M. E. (2006). Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in southern California. *Environmental Science & Technology*, 40(3), 687-695.

Loos, R., Carvalho, R., António, D. C., Comero, S., Locoro, G., Tavazzi, S., Ghiani, M., Lettieri, T., Paracchini, B., Gawlik, B.M., Blaha, L., Voorspoels, S., Schwesig, D., Haglund, P., Fick, J., Gans, O. & Jarosova, B. (2013). EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water research*, 47(17), 6475-6487.

Louria, D. B., Joselow, M. M. & Browder, A. A. (1972). The human toxicity of certain trace elements. *Annals of internal medicine*, 76(2), 307-319.

Luo, Y., Guo, W., Ngo, H. H., Nghiem, L. D., Hai, F. I., Zhang, J. & Wang, X. C. (2014). A review on the occurrence of micropollutants in the aquatic environment and their fate and removal during wastewater treatment. *Science of the Total Environment*, 473, 619-641.

Lyu, S., Chen, W., Zhang, W., Fan, Y. & Jiao, W. (2016). Wastewater reclamation and reuse in China: Opportunities and challenges. *Journal of Environmental Sciences*, 39, 86-96.

Maggio, R. M., Calvo, N. L., Vignaduzzo, S. E. & Kaufman, T. S. (2014). Pharmaceutical impurities and degradation products: uses and applications of NMR techniques. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 101, 102-122.

Magiera, S. & Gülmez, Ş. (2014). Ultrasound-assisted emulsification microextraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of ibuprofen and its metabolites in human urine. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 92, 193-202.

Marín-Morales, M. A., Campos-Pereira, F. D., Navarro, F. F., & de Oliveira, J. A. (2016). Eco-toxicological Impact of Pharmaceuticals for Human Use in Aquatic Systems. *Aquatic Toxicology*.

Malchi, T., Maor, Y., Tadmor, G., Shenker, M. & Chefetz, B. (2014). Irrigation of root vegetables with treated wastewater: evaluating uptake of pharmaceuticals and the associated human health risks. *Environmental Science & Technology*, 48(16), 9325-9333.

Martín, J., Santos, J. L., Aparicio, I. & Alonso, E. (2010). Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. *Journal of separation science*, 33(12), 1760-1766.

Martín, J., Camacho-Muñoz, D., Santos, J. L., Aparicio, I. & Alonso, E. (2011). Monitoring of pharmaceutically active compounds on the Guadalquivir River basin (Spain): occurrence and risk assessment. *Journal of Environmental*

Monitoring, 13(7), 2042-2049.

Martín, J., Camacho-Muñoz, D., Santos, J. L., Aparicio, I. & Alonso, E. 2012. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal. *Journal of Hazardous Materials*, 239, 40-47.

Meierjohann, A., Brozinski, J. M. & Kronberg, L. (2016). Seasonal variation of pharmaceutical concentrations in a river/lake system in Eastern Finland. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 18(3), 342-349.

Mendoza, A., Aceña, J., Pérez, S., de Alda, M. L., Barceló, D., Gil, A. & Valcárcel, Y. (2015). Pharmaceuticals and iodinated contrast media in a hospital wastewater: a case study to analyse their presence and characterise their environmental risk and hazard. *Environmental research*, 140, 225-241.

Meyer, W., Reich, M., Beier, S., Behrendt, J., Gulyas, H. & Otterpohl, R. 2016. Measured and predicted environmental concentrations of carbamazepine, diclofenac, and metoprolol in small and medium rivers in northern Germany. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188(8), 487-487.

Miao, X. S., Yang, J. J. & Metcalfe, C. D. (2005). Carbamazepine and its metabolites in wastewater and in biosolids in a municipal wastewater treatment plant. *Environmental Science & Technology*, 39(19), 7469-7475.

Monsalvo, V. M., Lopez, J., Muñoz, M., de Pedro, Z. M., Casas, J. A., Mohedano, A. F. & Rodriguez, J. J. (2015). Application of Fenton-like oxidation as pre-treatment for carbamazepine biodegradation. *Chemical Engineering Journal*, 264, 856-862.

Moreno-González, R., Rodríguez-Mozaz, S., Gros, M., Barceló, D. & León,

V.M. (2015). Seasonal distribution of pharmaceuticals in marine water and sediment from a mediterranean coastal lagoon (SE Spain). *Environmental Research* 138, 326–344.

Murray, K. E., Thomas, S. M. & Bodour, A. A. (2010). Prioritizing research for trace pollutants and emerging contaminants in the freshwater environment. *Environmental Pollution*, 158(12), 3462-3471.

Nakada, N., Tanishima, T., Shinohara, H., Kiri, K. & Takada, H. (2006). Pharmaceutical chemicals and endocrine disrupters in municipal wastewater in Tokyo and their removal during activated sludge treatment. *Water research*, 40(17), 3297-3303.

Nakada, N., Shinohara, H., Murata, A., Kiri, K., Managaki, S., Sato, N. & 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.

Nielsen, L. & Bandosz, T. J. (2016). Analysis of the competitive adsorption of pharmaceuticals on waste derived materials. *Chemical Engineering Journal*, 287, 139-147.

Nieman, T., Faz-Cano, Á., Van-Mourik, J.M., Acosta-Avilés, J.A. & Martínez-Martínez, S. (2009). Impacts of bio and leather industries on the quality of sediment and water in the Guadalentin River, SE Spain, in: *Land degradation and rehabilitation: dryland ecosystems*. Catena Verlag, Papers presented at the Fourth International Conference on Land Degradation, Cartagena, Murcia, Spain, pp. 119-137.

Nikolaou, A., Meric, S. & Fatta, D. (2007). Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387(4), 1225-1234.

Nödler, K., Licha, T., Bester, K. & Sauter, M. (2010). Development of a multi-residue analytical method, based on liquid chromatography–tandem mass spectrometry, for the simultaneous determination of 46 micro-contaminants in aqueous samples. *Journal of Chromatography A*, 1217(42), 6511-6521.

Norris, R. H. (1986). Mine waste pollution of the Molonglo River, New South Wales and the Australian Capital Territory: effectiveness of remedial works at Captains Flat mining area. *Marine and Freshwater Research*, 37(2), 147-157.

Nosek, K., Styszko, K. & Golas, J. (2014). Combined method of solid-phase extraction and GC-MS for determination of acidic, neutral, and basic emerging contaminants in wastewater (Poland). *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 94(10), 961-974.

Oaks, J. L., Gilbert, M., Virani, M. Z., Watson, R. T., Meteyer, C. U., Rideout, B. A., Rideout, H.L. Shivaprasad, S. Ahmed, M.J.I. Chaudhry, M. Arshad, Ali A., Khan A.A. & Mahmood, S. (2004). Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan. *Nature*, 427(6975), 630.

Olaitan, O. J., Anyakora, C., Bamiro, T. & Tella, A. T. (2014). Determination of pharmaceutical compounds in surface and underground water by solid phase extraction-liquid chromatography. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 6(3), 20-26.

Oller, I., Polo-López, I., Miralles-Cuevas, S., Fernández-Ibáñez, P. & Malato, S. (2014). Advanced Technologies for Emerging Contaminants Removal in Urban Wastewater. *Advanced Treatment Technologies for Urban Wastewater Reuse* (pp. 145-169). Springer International Publishing.

Paíga, P., Santos, L. H., Ramos, S., Jorge, S., Silva, J. G. & Delerue-Matos, C. (2016). Presence of pharmaceuticals in the Lis river (Portugal): Sources, fate and seasonal variation. *Science of the Total Environment*, 573, 164-177.

Pailler, J. Y., Krein, A., Pfister, L., Hoffmann, L. & Guignard, C. (2009). Solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamides, tetracyclines, analgesics and hormones in surface water and wastewater in Luxembourg. *Science of the Total Environment*, 407(16), 4736-4743.

Pal, A., He, Y., Jekel, M., Reinhard, M. & Gin, K. Y. H. (2014). Emerging contaminants of public health significance as water quality indicator compounds in the urban water cycle. *Environment international*, 71, 46-62.

Papageorgiou, M., Kosma, C. & Lambropoulou, D. (2016). 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, 547-569.

Park, J., Yamashita, N., Park, C., Shimono, T., Takeuchi, D. M. & Tanaka, H. (2017). Removal characteristics of pharmaceuticals and personal care products: Comparison between membrane bioreactor and various biological treatment processes. *Chemosphere*, 179, 347-358.

Patrolecco, L., Capri, S. & Ademollo, N. (2015). Occurrence of selected pharmaceuticals in the principal sewage treatment plants in Rome (Italy) and in the receiving surface waters. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(8), 5864-5876.

Pellicer-Martínez, F. & Martínez-Paz, J.M. (2016). The Water Footprint as an indicator of environmental sustainability in water use at the river basin level. *Science of the total Environment*, 571, 561-574.

Pereira, V. J., Linden, K. G. & Weinberg, H. S. (2007). Evaluation of UV irradiation for photolytic and oxidative degradation of pharmaceutical compounds in water. *Water Research*, 41(19), 4413-4423.

Pereira, A. M., Silva, L. J., Meisel, L. M., Lino, C. M. & Pena, A. (2015). Environmental impact of pharmaceuticals from Portuguese wastewaters: geographical and seasonal occurrence, removal and risk assessment. *Environmental research*, 136, 108-119

Peteiro Sánchez, Rocío. Estudio de la remediación de aguas subterráneas contaminadas con atrazina mediante bioaumentación con microorganismos degradadores. UPC. Universidad Politécnica de Cataluña. BarcelonaTech. Octubre, 2011. (26, 30).

Petrović, M., Eljarrat, E., De Alda, M. L., & Barceló, D. (2004). Endocrine disrupting compounds and other emerging contaminants in the environment: a survey on new monitoring strategies and occurrence data. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(3), 549-562.

Petrović, M. Hernando, D., Díaz-Cruz, S. & Barceló, D. (2005) Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A*, 1067, 1-14.

Phillips, P. J., Schubert, C., Argue, D., Fisher, I., Furlong, E. T., Foreman, W. & Chalmers, A. (2015). Concentrations of hormones, pharmaceuticals and other micropollutants in groundwater affected by septic systems in New England and New York. *Science of the Total Environment*, 512, 43-54.

Proia, L., Osorio, V., Soley, S., Köck-Schulmeyer, M., Pérez, S., Barceló, D., Romani, A.M. & Sabater, S. (2013). Effects of pesticides and pharmaceuticals on biofilms in a highly impacted river. *Environmental pollution*, 178, 220-228.

Puijker, L. & Mons, M., 2004. Pharmaceuticals and personal care products in the water cycle—International review Kiwa report KWR 04.013. Kiwa N.V. WaterRes. (Nieuwegein, The Netherlands).

Radjenović, J., Petrović, M. & 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 Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas.

Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE núm. 45, de 21.2.03. (2003).

Real Decreto 60/2011, de 21 de enero, sobre las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas.

Reif, R., Suárez, S., Omil, F. & Lema, J. M. (2008). Fate of pharmaceuticals and cosmetic ingredients during the operation of a MBR treating sewage. *Desalination*, 221(1-3), 511-517.

Reyes-Contreras, C., Hijosa-Valsero, M., Sidrach-Cardona, R., Bayona, J. M. & Bécares, E. (2012). Temporal evolution in PPCP removal from urban wastewater

by constructed wetlands of different configuration: a medium-term study. *Chemosphere*, 88(2), 161-167.

Rioja, N., Benguria, P., Peñas, F. J. & Zorita, S. (2014). Competitive removal of pharmaceuticals from environmental waters by adsorption and photocatalytic degradation. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(19), 11168-11177.

Rivera-Utrilla, J., Sánchez-Polo, M., Ferro-García, M. Á., Prados-Joya, G. & Ocampo-Pérez, R. (2013). Pharmaceuticals as emerging contaminants and their removal from water. A review. *Chemosphere*, 93(7), 1268-1287.

Robles, M.J., Garcia, R.J.F., Molina, D.A., Rodriguez, F-A.A., Gómez, R.M.J., Agüera, L.A., Martínez, B.M.J., Hernando, G.M.J., Mezcua, P.M., Gómez, R.M.M. & Herrera, L.S. (2011). Protocolo de técnicas de muestreo y técnicas analíticas de contaminantes emergentes y prioritarios. Grupo C2 Universidad de Jaén. Grupo TC10 Universidad de Almería. Editor: Consolider Tragua.

Ródenas, M.A. & Albacete, M. (2014). The River Segura: reclaimed water, recovered river. *Journal of Water Reuse and Desalination*, 4, 50-57.

Rodil, R., Quintana, J.B., Concha-Graña, E., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D. (2012). Emerging pollutants in sewage, surface and drinking water in Galicia (NW Spain). *Chemosphere* 86 1040–1049

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M.J., Agüera A. & Fernández-Alba, A.R. (2010). Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation. *Water research*, 44(2), 578-588.

Rosales, R.M., Faz, A., Gómez-Garrido, M., Muñoz, M.A., Murcia, F.J., González, V. & Acosta, J.A., (2016). Geochemical speciation of chromium related to

sediments properties in the riverbed contaminated by tannery effluents. *Journal of Soils and Sediments* 1-12.

Rosario-Ortiz, F. L., Wert, E. C., & Snyder, S. A. (2009). Evaluation of UV/H₂O₂ treatment for the oxidation of pharmaceuticals in wastewater. *Water research*, 44(5), 1440-1448.

Rosi-Marshall, E.J., Kincaid, D.W., Bechtold, H.A., Royer, T.V., Rojas, M. & Kelly, J.J. (2013). Pharmaceuticals suppress algal growth and microbial respiration and alter bacterial communities in stream biofilms. *Ecological Applications*, 23(3), 583-593

Salgado, R., Noronha, J. P., Oehmen, A., Carvalho, G. & Reis, M. A. M. (2010). Analysis of 65 pharmaceuticals and personal care products in 5 wastewater treatment plants in Portugal using a simplified analytical methodology. *Water Science and Technology*, 62(12), 2862.

Salgado, R., Marques, R., Noronha, J. P., Carvalho, G., Oehmen, A. & Reis, M. A. M. (2012). Assessing the removal of pharmaceuticals and personal care products in a full-scale activated sludge plant. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(5), 1818-1827.

Samaras, V. G., Stasinakis, A. S., Mamais, D., Thomaidis, N. S. & Lekkas, T. D. (2013). Fate of selected pharmaceuticals and synthetic endocrine disrupting compounds during wastewater treatment and sludge anaerobic digestion. *Journal of hazardous materials*, 244, 259-267.

Sanchez, W., Sremski, W., Piccini, B., Palluel, O., Maillot-Marechal, E., Betoulle, S. & Hinfrey, N. (2011). Adverse effects in wild fish living downstream from pharmaceutical manufacture discharges. *Environment International*, 37(8), 1342-1348.

Santos, J. L., Aparicio, I., Alonso, E. & Callejón, M. (2005). Simultaneous determination of pharmaceutically active compounds in wastewater samples by solid phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array and fluorescence detectors. *Analytica Chimica Acta*, 550(1-2), 116-122.

Santos, J. L., Aparicio, I. & Alonso, E. (2007). Occurrence and risk assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater treatment plants. A case study: Seville city (Spain). *Environment International*, 33(4), 596-601.

Santos, J. L., Aparicio, I., Callejón, M. & Alonso, E. (2009). Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). *Journal of hazardous materials*, 164(2), 1509-1516.

Schmitt, H., Martinali, B., Stoob, K., Hamscher, G., Van Beelen, P., Smit, E., Van Leeuwen, K. & Seinen, W. (2006). Antibiotics as environmental pollutants: Effects on soil microorganisms. "Antibiotika als umweltschadstoffe - Effekte auf bodenbakterien". *Fortschritte in Okotoxicologie & Umweltchemie*, 18, 110-118.

Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M. & Imboden, D. M. (2005). Sorption I: general introduction and sorption processes involving organic matter. *Environmental Organic Chemistry*, 275-330.

Shen, J., Chen, Y., Wu, S., Wu, H., Liu, X., Sun, X., Li, L. & Wang, L. (2015). Enhanced pyridine biodegradation under anoxic condition: the key role of nitrate as the electron acceptor. *Chemical Engineering Journal*, 277, 140-149.

Silva, L. J., Pereira, A. M., Meisel, L. M., Lino, C. M. & Pena, A. (2014). A one-year follow-up analysis of antidepressants in Portuguese wastewaters: occurrence and fate, seasonal influence, and risk assessment. *Science of the Total Environment*, 490, 279-287.

Sim, W. J., Lee, J. W., Lee, E. S., Shin, S. K., Hwang, S. R. & Oh, J. E. (2011). Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures. *Chemosphere*, 82(2), 179-186.

Sipma, J., Osuna, B., Collado, N., Monclús, H., Ferrero, G., Comas, J. & Rodriguez-Roda, I. (2010). Comparison of removal of pharmaceuticals in MBR and activated sludge systems. *Desalination*, 250(2), 653-659.

Sirtori, C., Zapata, A., Oller, I., Gernjak, W., Agüera, A. & Malato, S. (2009). Decontamination industrial pharmaceutical wastewater by combining solar photo-Fenton and biological treatment. *Water research*, 43(3), 661-668.

Sistema de tratamiento del agua. Desarenador. <http://sistemadetratamientodelagua.blogspot.com/2009/04/desarenador.html> (acceso 07.11.2016)

Skoog, D.A., Holler, F.J. & Nieman, T.A. *Principios de análisis instrumental*, Ed. McGraw Hill, 1998, quinta edición, Madrid. Capítulo 28. Cromatografía de líquidos de alta eficacia.

Snyder, S.A., Westerhoff, P., Yoon, Y. & Sedlak, D.L. (2003). Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water: implications for the water industry. *Environmental Engineering Science*, 20, 449-69.

Sousa, M. A., Gonçalves, C., Vilar, V. J., Boaventura, R. A. & Alpendurada, M. F. (2012). Suspended TiO₂-assisted photocatalytic degradation of emerging contaminants in a municipal WWTP effluent using a solar pilot plant with CPCs. *Chemical engineering journal*, 198, 301-309.

Stamatelatou, K., Frouda, C., Fountoulakis, M. S., Drillia, P., Kornaros, M. & Lyberatos, G. (2003). Pharmaceuticals and health care products in wastewater effluents: the example of carbamazepine. *Water Science & Technology: Water Supply*, 3(4), 131-137.

Stülten, D., Lamshöft, M., Zühlke, S. & Spiteller, M. (2008). Isolation and characterization of a new human urinary metabolite of diclofenac applying LC–NMR–MS and high-resolution mass analyses. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 47(2), 371-376.

Subedi, B. & Kannan, K. (2015). Occurrence and fate of select psychoactive pharmaceuticals and antihypertensives in two wastewater treatment plants in New York State, USA. *Science of the Total Environment*, 514, 273-280.

Subedi, B., Balakrishna, K., Joshua, D. I. & Kannan, K. (2017). 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, 429-437.

Sun, Q., Lv, M., Hu, A., Yang, X. & Yu, C. P. (2014). Seasonal variation in the occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products in a wastewater treatment plant in Xiamen, China. *Journal of hazardous materials*, 277, 69-75.

Tanoue, R., Nomiyama, K., Nakamura, H., Hayashi, T., Kim, J. W., Isobe, T., Shinohara, R. & Tanabe, S. (2014). Simultaneous determination of polar pharmaceuticals and personal care products in biological organs and tissues. *Journal of chromatography A*, 1355, 193-205.

Teijon, G., Candela, L., Tamoh, K., Molina-Díaz, A. & Fernández-Alba, A. R. (2010). Occurrence of emerging contaminants, priority substances (2008/105/CE)

and heavy metals in treated wastewater and groundwater at Depurbaix facility (Barcelona, Spain). *Science of the Total Environment*, 408(17), 3584-3595.

Ter Laak, T.L., Kooij, P.J., Tolcamp, H. & Hofman, J. (2014). Different compositions of pharmaceuticals in Dutch and Belgian rivers explained by consumption patterns and treatment efficiency. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(22), 12843-12855.

Ternes, T.A., Meisenheimer, M., McDowell, D., Sacher, F., Brauch, H.-J., Haist-Gulde, B., Preuss, G., Wilme, U. & Zulei-Seibert N. (2002). Removal of pharmaceuticals during drinking water treatment. *Environmental Science & Technology*, 36, 3855–63.

Ternes, T. A., Herrmann, N., Bonerz, M., Knacker, T., Siegrist, H. & Joss, A. (2004). A rapid method to measure the solid–water distribution coefficient (K_d) for pharmaceuticals and musk fragrances in sewage sludge. *Water research*, 38(19), 4075-4084.

Ternes, T. A. & Joss, A. (Eds.). (2006). *Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: the challenge of micropollutants in urban water management*. IWA publishing.

Tixier, C., Singer, H. P., Oellers, S. & Müller, S. R. (2003). Occurrence and fate of carbamazepine, clofibric acid, diclofenac, ibuprofen, ketoprofen, and naproxen in surface waters. *Environmental Science & Technology*, 37(6), 1061-1068.

Thompson, K., Zhang, J. & Zhang, C. (2011). Use of fugacity model to analyze temperature-dependent removal of micro-contaminants in sewage treatment plants. *Chemosphere*, 84(8), 1066-1071.

Trautwein, C., Berset, J. D., Wolschke, H. & Kümmerer, K. (2014). Occurrence of the antidiabetic drug Metformin and its ultimate transformation product Guanylurea in several compartments of the aquatic cycle. *Environment international*, 70, 203-212.

Urase, T. & Kikuta, T. (2005). Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceutical substances and estrogens in the activated sludge process. *Water research*, 39(7), 1289-1300.

Uys, C. M. & O'Keeffe, J (1997). Simple words and fuzzy zones: early directions for temporary river research in south Africa. *Environmental Management*, 21 (4), 517-531.

Van den Brandhof, E. J. & Montforts, M. (2010). Fish embryo toxicity of carbamazepine, diclofenac and metoprolol. *Ecotoxicology and environmental safety*, 73(8), 1862-1866.

Van der Aa, M., Bijlsma, L., Emke, E., Dijkman, E., van Nuijs, A. L., van de Ven, B. & de Voogt, P. (2013). Risk assessment for drugs of abuse in the Dutch watercycle. *Water research*, 47(5), 1848-1857.

Vanderford, B. J., Pearson, R. A., Rexing, D. J. & Snyder, S. A. (2003). Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Analytical chemistry*, 75(22), 6265-6274.

Vatovec, C., Phillips, P., van Wagoner, E., Scott, T. M. & Furlong, E. (2016). Investigating dynamic sources of pharmaceuticals: Demographic and seasonal use are more important than down-the-drain disposal in wastewater effluent in a University City setting. *Science of the Total Environment*, 572, 906-914.

Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., Morillas, F. & Picó, Y. (2012a). Spatial distribution of illicit drugs in surface waters of the natural park of Pego-Oliva Marsh (Valencia, Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, 19(4), 971-982.

Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., & Picó, Y. (2012b). Risk assessment on the presence of pharmaceuticals in sediments, soils and waters of the Pego-Oliva Marshlands (Valencia, eastern Spain). *Science of the Total Environment*, 440, 24-32.

Verlicchi, P., Al Aukidy, M. & Zambello, E. (2012). Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater: removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment—a review. *Science of the Total Environment*, 429, 123-155.

Vieno, N. M., Tuhkanen, T. & Kronberg, L. (2005). Seasonal variation in the occurrence of pharmaceuticals in effluents from a sewage treatment plant and in the recipient water. *Environmental science & technology*, 39(21), 8220-8226.

Vieno, N. M., Härkki, H., Tuhkanen, T. & Kronberg, L. (2007). Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant. *Environmental science & technology*, 41(14), 5077-5084.

Vulliet, E. & Cren-Olivé, C. (2011). Screening of pharmaceuticals and hormones at the regional scale, in surface and groundwaters intended to human consumption. *Environmental Pollution*, 159(10), 2929-2934.

Wang, L., Ying, G. G., Chen, F., Zhang, L. J., Zhao, J. L., Lai, H. J., Chen, Z.F. & Tao, R. (2012). Monitoring of selected estrogenic compounds and estrogenic activity in surface water and sediment of the Yellow River in China using combined chemical and biological tools. *Environmental Pollution*, 165, 241-249.

Water Corporation. http://www.waters.com/waters/es_ES/Alliance-HPLC-System/nav.htm?locale=es_ES&cid=534293 (accesso 06.09.2015)

Wu, C., Huang, X., Witter, J. D., Spongberg, A. L., Wang, K., Wang, D. & Liu, J. (2014). Occurrence of pharmaceuticals and personal care products and associated environmental risks in the central and lower Yangtze river, China. *Ecotoxicology and environmental safety*, 106, 19-26.

Xu, J., Xu, Y., Wang, H., Guo, C., Qiu, H., He, Y. & Meng, W. (2015). Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river. *Chemosphere*, 119, 1379-1385.

Yang, X., Flowers, R. C., Weinberg, H. S. & Singer, P. C. (2011). Occurrence and removal of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in an advanced wastewater reclamation plant. *Water research*, 45(16), 5218-5228.

Yan, Q., Gao, X., Chen, Y. P., Peng, X. Y., Zhang, Y. X., Gan, X. M., Zi, C. F. & Guo, J. S. (2014). Occurrence, fate and ecotoxicological assessment of pharmaceutically active compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants in Chongqing, the Three Gorges Reservoir Area. *Science of the Total Environment*, 470, 618-630.

Yaun, B. R., Sumner, S. S., Eifert, J. D. & Marcy, J. E. (2004). Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy. *International journal of food microbiology*, 90(1), 1-8.

Zenker, A., Cicero, M. R., Prestinaci, F., Bottoni, P. & Carere, M. (2014). Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of environmental management*, 133, 378-387.

Zhang, Y., Geißen, S. U. & Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8), 1151-1161.

Zorita, S., Mårtensson, L. & Mathiasson, L. (2009). Occurrence and removal of pharmaceuticals in a municipal sewage treatment system in the south of Sweden. *Science of the total environment*, 407(8), 2760-2770.

XI – ANEXOS

XI – ANEXOS

ANEXO 1: CRITERIO MENCIÓN INTERNACIONAL EN EL TÍTULO DE DOCTOR

En base a este anejo, y con el fin de cumplir con el requisito marcado por el Real Decreto 99/2011 para la obtención de la Mención Internacional en el Título de Doctor, a la que opta la presente tesis doctoral, se incluyen las traducciones de la Introducción, la Motivación, los Objetivos y las Conclusiones de la presente investigación.

INTRODUCTION

Water is the greatest asset for any type of life because it is indispensable and necessary for it. It is a very abundant material, but with the necessary quality for human consumption and for the environmental balance, we find it in very little proportion. This lack of water is due to poor management because we did not predict the limitations that this good possesses and, this meant that it was been used without adequate control. In addition, the dynamic evolution of civilization has contributed to its detriment.

The consequence of this prolonged process over the years, is that surface water has been used as a dumping ground for large quantities of harmful and toxic substances used in domestic, industrial or agricultural environments without any account about the possible effects.

Among the effects that this uncontrolled pollution of water resources, we can highlight:

- Toxic and carcinogenic action.
- Impact on food productivity.

- Restrictions on the use of water for recreational purposes.
- Decrease in the possibilities for industrial and agricultural use.
- Reduction of the oxygen concentration necessary for aquatic life.

Countries have been introducing restrictions to these discharges when the development has allowed to know better the limitation not to damage the environment. These laws have moderately mitigated the effects of pollution, although the great advance that has been experienced in our society has brought the production of new components which were not investigated. These compounds continue polluting the waters and they are not limited yet because we do not know the degree of impact on the environment.

Within these new components, we find the emerging pollutants that are defined as previously unknown or unrecognized pollutants and whose presence in the environment is not necessarily new, but their concern for the possible consequences of their presence, it is. These compounds are included in the priority research lines of the main organizations dedicated to the protection of public and environmental health such as the World Health Organization, the Environmental Protection Agency, or the European Commission.

Within of these new emerging compounds appear drugs and products for personal use (PPCPs) that have experimented an increase in the consumption around the world due to the novelty and, also, to the different pharmaceutical therapies. These compounds can be found in drinking water and those waters used for production. They are directly related to human health and safety due to their entry into the water cycle. The environmental distribution and accumulation of these new compounds are not well established so there is no an adequate assessment of risks of these compounds to the environment and humans. (De García y col., 2014; Du y col., 2014; Mendoza y col., 2015; Pereira y col., 2015).

Wastewater treatment plants (WWTP) are responsible to transform the water from the domestic wastewater and / or industrial water into water suitable to

introduce into the environment. In general, the depuration parks are overloaded in their use or they are obsolete once their construction is completed because the optimum elements, to obtain a greater purification, have not been installed at that time (Basile y col., 2011). The non-modernization of WWTPs implies that they are not prepared to purify these new components. For that is necessary the investigation of new methodologies or the adaptation of them to propitiate their elimination and to proceed to the recovery of the water to a sustainable course.

MOTIVATION AND OBJECTIVES

Over the years, researchers have focused their efforts to research thousands of pharmaceutical compounds that currently exist and that are consumed by millions of people. This consumption generates a cycle of drugs which is linked to its natural degradation process and to the water cycle.

The current society is gradually leaving the rural world and they are concentrated in large cities. It is doing that the mass consumption of compounds occurs in cities and hospitals which are usually close to them. The depuration stations of the cities work degrading and eliminating the highly charged waters, but even so, the new drugs are returned to the river courses or to irrigation by the WWTP effluents because they cannot be eliminated entirely in their processes.

Region of Murcia has an annual water deficit of about 400 hm³, including the transfer of the Tagus river. This data tells us that water is very scarce here because the contributions that we have such as rain, annual mean is around 330 L/m², the transfer of the Tagus river basin, which contributes with 3,3 hm³, dams made in the head of the river Segura to have a water storage, the new wells that have had to open from the Segura hydrographic confederation to alleviate the severe drought in this region and the desalination plants which generate water but too expensive for farmers, are insufficient to cover all needs. For this reason, and to try to recover each drop of water from the polluted waters generated in the population, the Sanitation Entity of the Region of Murcia (ESAMUR) was created by law 3/2000 of

the Region of Murcia with the function to collect and administer the sanitation fee, to exploit and maintain the wastewater treatment plants and to control the results of the operation of those WWTPs.

Currently, the regional park of WWTPs have a total of 115 treatment plants and, at least, one per municipality (exists 45 in this Region) has a tertiary treatment system for treatment. This means that water from sewage effluents can be reused for other activities (98% of treated water is currently being reused), and that in the case of the Region, approximately 92,8% is used to water crops, either by direct or indirect use when collecting it from riverbeds. This generates a water benefit to the Segura basin and its farmers of 105 hm³. For that, it is important that this water is as free as possible of hazard compounds, to avoid its appearance in these crops.

The precision of current technology allows the detection of compounds on a very small scale. We can define better the behaviour of these new emerging contaminants and, this, will help us determine the best way to eliminate them through wastewater. Among these systems, we find the use of solid phase extraction which allows the retention of existing pharmaceutical compounds in the water and the high efficiency liquid chromatography system. These elements invite the investigation of these compounds due to their great effectiveness to report water concentrations. Although, this technology has been used for a long time for the detection of compounds in many researches throughout the world, in our Region, it has not been widely used for the detection in the different WWTP to have a monitoring of them.

Within the main scope of this thesis, we have the approach for the detection of pharmaceutical compounds in WWTPs of this Region, the impact that compounds have on the environment and the analysis of the behaviour of compounds in sewage treatment plants in order to obtain a purer water in the effluents of the treatment plants.

Based on the observations stated above, the secondary objectives of this thesis

are:

- Carry out a preliminary study of several treatment plants in the Region of Murcia with various technologies, where can be established an influent-effluent comparison to determine the most efficient technology to eliminate these compounds through their analysis with high pressure liquid chromatography with a diode array.

- Study the special distribution of pharmaceutical compounds along the Guadalentín River in three periods where the compounds in the waters and the sediments in their channel will be identified in order to obtain their spatial distribution along the river as well as calculate the eco-toxicological risk of emerging pollutants investigated in river waters.

- Evaluation of the two most common types of plants within the park of the Region of Murcia that are those that have a biological reactor of conventional active sludge in plug-flow and carousel, and the behaviour of them in two different seasons of the year, to determine what is the technology which works better for these compounds.

- Monitoring of pharmaceutical compounds in the purification plant with a biological plug-flow reactor to calculate the degradation effect of each compartment of the station simulating the entry of a water molecule and determining its degradation over time.

- Study of the biological degradation in the biological reactor of a WWTP with the technology of active sludge (plug-flow), to estimate the sorption to the sludge of the compounds as well as to make a mass balance on the degradation of the compounds in the plant.

CONCLUSIONS

Based on what has been described in the introduction and in the state

of the art of this thesis, pharmaceutical compounds have reached the water cycle of the Region of Murcia. The high development experienced in this region has allowed a political and social economic improvement that has led to the same way to be able to acquire more and more frequently certain medicines.

The problem of contamination with these new compounds has also reached to the waters which flow through the Region of Murcia. The fact is that in the samples which we collected and analysed, we can be found the pharmaceutical compounds studied, and this denote that the emerging compounds already form part of the water cycle of our region.

Although in chapter 3 was based on a preliminary study of treatment plants, we can conclude that the 12 WWTPs showed traces of all compounds which were analysed. Likewise, it is concluded that the drugs carbamazepine and diclofenac have a different degradation behaviour than the compounds ketoprofen, naproxen and subsequently to ibuprofen, which will be confirmed throughout the rest of the samplings.

From this preliminary study it can also be concluded that for the compounds ketoprofen, naproxen, diclofenac and carbamazepine the best is to have a retention time of between 1 and 2 days, however everything that is below a retention time of one day it is proved inefficient.

Regarding chapter 4, it can be assumed that, even, from a river whose course is ephemeral, and in some cases null, we can find the different compounds along the river, although a correlation could not be made between the different points sampled, except for ibuprofen, where it was observed a degradation of the same along the river.

Regarding the ecotoxicological risk of the concentrations obtained, they show that there is currently no risk for this river because the analyses showed results that they are below the environmental risk impact. However, more studies are needed

on the ecotoxicological effects in this river and in the rest of the Segura river basin, as well as the risk of the combination of these compounds and their long-term exposure.

Chapter 5 showed that the behaviour of WWTPs varies depending on the annual season because, among other things, microorganisms work differently depending weather. In the same way, the results reveal that the consumption of drugs also varies according to the annual period in which we find ourselves.

Among the two types of activated sludge reactors more used, within the regional park, it is demonstrated that the carousel reactor gave better efficiencies of elimination regarding to the plug-flow reactor. Although, the advantage in carousel is that you have a heterogeneous mixture of sludge and normally you can obtain longer retention times. This conclusion is fitting with the results obtained in the preliminary study of chapter 3.

After the more detailed study of the plants which have biological reactors of active sludge (plug-flow) in chapter 6, the area where were obtained the greater degradation of ibuprofen and naproxen, when the loads were high, was made in the aerobic reactor. This indicates that heterotrophic bacteria gets them this degradation. However, at low loads, the degradation may occur in the first treatment zones (pre-treatment and/or first batch reactor).

Diclofenac has an increasing effect after passing through the aerobic reactor, however the use of ultraviolet radiation could apply a degradation that may be necessary to eliminate this compound. It is deduced for these results, from results of chapter 6 and also from the preliminary study of the chapter 3.

Carbamazepine showed no degradation when it passed through this class of treatment plants, and it shows an increase in its passage which led us to investigate the sorption of the compounds to the sludge and the biological degradation constant, as it is extracted from chapter 7.

This investigation concludes that the compounds carbamazepine and diclofenac are absorbed in a high amount to the sludge, in the same way as naproxen. The biological degradation constants were low for carbamazepine and, also, for naproxen.