

Análisis y distribución de principios activos farmacológicos  
en los procesos convencionales de depuración de aguas  
residuales urbanas



Juan Luis Santos Morcillo  
Tesis Doctoral



Facultad de Química  
Departamento de Química Analítica

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**ANÁLISIS Y DISTRIBUCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS  
FARMACOLÓGICOS EN LOS PROCESOS CONVENCIONALES  
DE DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES URBANAS**

TESIS DOCTORAL

JUAN LUÍS SANTOS MORCILLO

SEVILLA, 2006

ANÁLISIS Y DISTRIBUCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS  
EN LOS PROCESOS CONVENCIONALES DE DEPURACIÓN DE AGUAS  
RESIDUALES URBANAS

**El Director**

**El Director**

Fdo.: D. Esteban Alonso Álvarez  
Catedrático de Escuela Universitaria.  
Departamento de Química Analítica.  
Universidad de Sevilla

Fdo.: Dña. Irene Aparicio Gómez  
Profesora Colaboradora.  
Departamento de Química Analítica.  
Universidad de Sevilla

**El Director**

Fdo.: D. Manuel Callejón Mochón  
Profesor Titular.  
Departamento de Química Analítica.  
Universidad de Sevilla

Trabajo presentado para aspirar al grado de  
Doctor en Ciencias Químicas

Fdo. Juan Luís Santos Morcillo  
Licenciado en Ciencias Químicas

ALFONSO GUIRAUM PÉREZ, CATEDRÁTICO-DIRECTOR DEL  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA DE LA FACULTAD DE QUÍMICA  
DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA

CERTIFICA: Que el presente trabajo de investigación titulado **Análisis y distribución de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas**, que constituye la Memoria presentada por el Licenciado Juan Luís Santos Morcillo para aspirar al grado de Doctor en Ciencias Químicas, ha sido realizado en los laboratorios del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Sevilla, bajo la dirección de los Doctores Esteban Alonso Álvarez, Irene Aparicio Gómez y Manuel Callejón Mochón, profesores del mencionado Departamento, reuniendo a mi juicio las condiciones exigidas para este tipo de trabajos.

Y para que conste, expido y firmo el presente certificado en Sevilla a

Fdo. D. Alfonso Guiraum Pérez



Anexo 20  
**ACTA DE COLACIÓN DE GRADO DE DOCTOR**

En Sevilla, a 13 de diciembre de 2006, D/D<sup>a</sup> Juan Luis Santos Morcillo con Título Oficial de Licenciado en Ciencias Químicas que ha obtenido el reconocimiento de Suficiencia Investigadora en el Programa de Doctorado denominado Estudios Avanzados en Análisis Químico, Alimentario y Farmacéutico del que es responsable el Departamento Química Analítica, defiende públicamente la Tesis Doctoral titulada Análisis y distribución de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas para optar al grado de Doctor/a por la Universidad de Sevilla, ante el Tribunal designado al efecto, constituido por:

**PRESIDENTE:** Alfonso Guiraúm Pérez

**VOCALES:** José Luis Gómez Ariza

José María Quiroga Alonso

María Salud García Rodríguez

**SECRETARIO:** María Teresa Morales Millán

Procedió el doctorando a hacer la exposición de la labor preparatoria realizada, contenido de la tesis y conclusiones obtenidas de la misma, haciendo especial mención en sus aportaciones originales.

Terminada la defensa de la tesis presentada, los miembros del tribunal pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraran oportunas, las cuales fueron contestadas por el doctorando.

Tras la intervención de los miembros del tribunal y las oportunas contestaciones del doctorando, el Presidente abre un turno de intervenciones para los Doctores presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes, en el momento y forma señalada por éste.

Reunido, a continuación el tribunal y tras votación, se acordó otorgar a la tesis la calificación de:

...**SOBRESALIENTE**.....(1)

A juicio de este tribunal y habiendo obtenido un total de...**5**... votos de sus miembros, se otorga a la tesis la mención de **CUM LAUDE POR UNANIMIDAD**.....(2)

EL PRESIDENTE,

EL SECRETARIO,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

(1) No apto, Aprobado, Notable, Sobresaliente.

(2) Si la calificación global es de "sobresaliente", y se emite, en tal sentido, el voto favorable de al menos cuatro de sus miembros, el tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude"; si los cinco miembros son favorables al sobresaliente la calificación tendrá la consideración de "unanimidad".



Anexo 18  
ACTA DE CONSTITUCIÓN DEL TRIBUNAL

En Sevilla, siendo las 12:00 horas del día 13 de Diciembre de 2006, se reúne, a efectos de su constitución, el tribunal nombrado por la Comisión de Doctorado de esta Universidad para juzgar la Tesis Doctoral presentada por D/D<sup>a</sup> Juan Luis Santos Morcillo titulada **Análisis y distribución de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas** que ha sido realizada en el Departamento de **Química Analítica** bajo la dirección del Prof. Dr./Dra.: **Esteban Alonso Álvarez, Irene Aparicio Gómez y Manuel Callejón Mochón.**

Dicho tribunal está integrado por los siguientes Doctores:

**PRESIDENTE:** Alfonso Guiraúm Pérez

**VOCALES:** José Luis Gómez Ariza  
José María Quiroga Alonso  
María Salud García Rodríguez

**SECRETARIO:** María Teresa Morales Millán

Y para que conste, lo firmamos en el lugar y fecha arriba indicados,

EL PRESIDENTE,

EL SECRETARIO,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero expresar mi agradecimiento a mis directores, D. Esteban Alonso Álvarez, Dña. Irene Aparicio Gómez y D. Manuel callejón Mochon, por su apoyo y dedicación, en especial a Esteban, por sus sugerencias, sin las cuales no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Al Departamento de Química Analítica. A su director D. Alfonso Guiraum Pérez y al resto del profesorado. A mis compañeros y amigos del departamento, Marcos, Ángela, Rut, Juanito, Joaquín, Gustavo, Silvia, Mercedes, Juan y Carmen por horas de trabajo compartidas en buenos y malos momentos y por mantener día a día el departamento como un lugar alegre y distendido.

A EMASESA. A D. Fernando Martínez Salcedo, D. José A. González Carballo y D. Alberto Ortiz Vargas, por hacer posible la toma de las muestras que han servido para el desarrollo de esta investigación y al personal de planta, por su participación en el programa de toma de muestras.

A mis amigos, por tener siempre ganas de ir a tomar café y soportar mis largas charlas sobre este trabajo. A Raquel, por las alegrías y buenos momentos compartidos y su apoyo en los no tan buenos.

También, y de forma muy especial, a mi familia. A la memoria de mis padres que gracias a su esfuerzo y lucha son, seguramente en un porcentaje mayor de lo que incluso yo creo, responsables de la gran cantidad de oportunidades que he tenido. A mis hermanos José, Manuel y Antonio, por su comprensión y paciencia durante los últimos años.

A todos, muchas gracias.

*A la memoria de mi madre*

# ÍNDICES

---

---





**ÍNDICE GENERAL**

ÍNDICES.....	11
CAPÍTULO 1. ANTECEDENTES.....	26
1. CONTAMINANTES ORGÁNICOS EN LOS SISTEMAS ACUÁTICOS.....	29
2. FUENTES Y DISTRIBUCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN EL MEDIOAMBIENTE.....	32
2.1. Presencia de principios activos farmacológicos en el medio acuático.....	37
2.1.1. Analgésicos y antiinflamatorios.....	37
2.1.2. Antibióticos.....	41
2.1.3. Antiepilépticos.....	43
2.1.4. $\beta$ -Bloqueantes.....	44
2.1.5. Antilipémicos.....	45
2.1.6. Hormonas.....	46
2.1.7. Anticancerígenos.....	47
2.1.8. Cafeína.....	47
2.2. Distribución en el medio terrestre.....	48
3. EFECTOS SOBRE EL MEDIOAMBIENTE.....	52
3.1. Analgésicos y antiinflamatorios.....	53
3.2. Antibióticos.....	55
3.3. Antiepilépticos.....	56
3.4. $\beta$ -Bloqueantes.....	56
3.5. Antilipémicos.....	57
3.6. Hormonas.....	59
3.7. Anticancerígenos.....	60
3.8. Cafeína.....	61
3.9. Efectos causados por combinación de principios activos farmacológicos.....	62
4. LEGISLACIÓN Y RECOMENDACIONES.....	63
5. PRESENCIA DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN LAS ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS.....	64
5.1. Distribución de principios activos farmacológicos en los procesos de depuración de aguas residuales.....	65

5.1.1. Retención sobre los lodos.....	65
5.1.2. Degradación biológica en la línea de aguas.....	67
5.2. Rendimientos de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas.....	69
5.2.1. Analgésicos y antiinflamatorios.....	69
5.2.2. Antibióticos.....	70
5.2.3. Antiepilépticos.....	71
5.2.4. $\beta$ -Bloqueantes.....	71
5.2.5. Antilipémicos.....	71
5.2.6. Hormonas.....	72
5.2.7. Anticancerígenos.....	73
5.2.8. Cafeína.....	73
6. METODOLOGÍAS ANALÍTICAS.....	73
6.1. Preparación de muestras.....	74
6.1.1. Muestras acuosas.....	75
6.1.2. Muestras sólidas.....	82
6.2. Determinación cromatográfica.....	83
6.2.1. Cromatografía líquida de alta resolución.....	83
6.2.2. Cromatografía gaseosa.....	87
7. DETERMINACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN AGUAS RESIDUALES.....	88
7.1. Principios activos farmacológicos representativos de la distribución en EDARs.....	89
7.1.1. Diclofenaco.....	89
7.1.1.1. Propiedades generales.....	89
7.1.1.2. Metabolismo y eliminación.....	90
7.1.1.3. Efectos secundarios.....	91
7.1.1.4. Ecotoxicidad.....	91
7.1.1.5. Productos comercializados en España.....	91
7.1.2. Ibuprofeno.....	92
7.1.2.1. Propiedades generales.....	92
7.1.2.2. Metabolismo y eliminación.....	93
7.1.2.3. Efectos secundarios.....	93
7.1.2.4. Ecotoxicidad.....	93
7.1.2.5. Productos comercializados en España.....	94
7.1.3. Ketoprofeno.....	94
7.1.3.1. Propiedades generales.....	94
7.1.3.2. Metabolismo y eliminación.....	95
7.1.3.3. Efectos secundarios.....	96

7.1.3.4. Ecotoxicidad.....	96
7.1.3.5. Productos comercializados en España.....	96
7.1.4. Naproxeno.....	97
7.1.4.1. Propiedades generales.....	97
7.1.4.2. Metabolismo y eliminación.....	98
7.1.4.3. Efectos secundarios.....	98
7.1.4.4. Ecotoxicidad.....	98
7.1.4.5. Productos comercializados en España.....	99
7.1.5. Paracetamol.....	99
7.1.5.1. Propiedades generales.....	99
7.1.5.2. Metabolismo y eliminación.....	100
7.1.5.3. Efectos secundarios.....	100
7.1.5.4. Ecotoxicidad.....	101
7.1.5.5. Productos comercializados en España.....	101
7.1.6. Carbamacepina.....	101
7.1.6.1. Propiedades generales.....	101
7.1.6.2. Metabolismo y eliminación.....	103
7.1.6.3. Efectos secundarios.....	103
7.1.6.4. Ecotoxicidad.....	103
7.1.6.5. Productos comercializados en España.....	104
7.1.7. Caféina.....	104
7.1.7.1. Propiedades generales.....	104
7.1.7.2. Metabolismo y eliminación.....	105
7.1.7.3. Ecotoxicidad.....	106
7.1.7.4. Productos comercializados en España.....	106
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO.....	107
1. OBJETIVOS.....	109
2. PLAN DE TRABAJO.....	110
CAPÍTULO 3. MÉTODOS EXPERIMENTALES Y HERRAMIENTAS ESTADÍSTICAS.....	113
1. INTRODUCCIÓN.....	115
2. TOMA DE MUESTRAS.....	115
2.1. Localización de las estaciones depuradoras de aguas residuales.....	116

2.2.	Operaciones unitarias de depuración de aguas residuales.....	118
2.2.1.	Línea de aguas.....	118
2.2.1.1.	Pretratamiento.....	118
2.2.1.2.	Tratamiento primario.....	119
2.2.1.3.	Tratamiento secundario.....	120
2.2.2.	Línea de lodos.....	122
2.3.	Procedimiento de toma de muestras.....	123
3.	MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS AGUAS.....	124
3.1.	Parámetros no específicos.....	125
3.1.1.	pH.....	125
3.1.2.	Sólidos totales secados a 103-105 °C.....	125
3.2.	Parámetros indicadores de la contaminación orgánica.....	125
3.2.1.	Demanda química de oxígeno (DQO).....	126
3.2.2.	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO).....	126
3.3.	Formas nitrogenadas y fosfatadas.....	127
3.3.1.	Nitrógeno total kjeldahl.....	127
3.3.2.	Fósforo total.....	127
3.4.	Contaminantes orgánicos.....	128
3.4.1.	Aceites y grasas.....	128
4.	MÉTODOS MATEMÁTICOS EMPLEADOS EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	128
4.1.	Análisis estadístico elemental.....	129
4.2.	Análisis estadístico multivariante.....	130
4.2.1.	Análisis de correlación.....	131
4.2.2.	Análisis factorial.....	131
CAPÍTULO 4. OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA APLICADA AL ANÁLISIS DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS.....		133
1.	INTRODUCCION.....	135
2.	OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN.....	135
2.1.	Selección de los cartuchos de extracción.....	136
2.2.	Optimización del disolvente empleado en la elución.....	136
2.3.	Optimización del volumen de muestra.....	138
2.4.	Optimización del pH de la muestra.....	139
3.	OPTIMIZACIÓN DE LA SEPARACIÓN Y DETECCIÓN CROMATOGRÁFICA.....	140

3.1.	Elección de la columna cromatográfica.....	141
3.2.	Optimización de la composición de fase móvil.....	141
3.3.	Optimización de las condiciones de detección.....	145
3.4.	Comparación de los resultados obtenidos con los detectores DAD y FL.....	150
4.	METODOLOGÍA ANALÍTICA EN LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES.....	153
4.1.	Principios activos farmacológicos.....	153
4.2.	Materiales y reactivos.....	154
4.2.1.	Material e instrumentación.....	154
4.2.2.	Reactivos.....	156
4.2.3.	Disoluciones patrón y blanco de reactivos.....	156
4.3.	Descripción de la metodología propuesta.....	157
5.	VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA PROPUESTA.....	159
5.1.	Eficacia del sistema cromatográfico.....	160
5.2.	Precisión.....	164
5.3.	Repetitividad y precisión intermedia de la medida cromatográfica.....	165
5.4.	Repetitividad de la metodología propuesta.....	167
5.5.	Intervalo dinámico y linealidad.....	168
5.6.	Estudios de recuperación y exactitud.....	170
5.7.	Límites de detección y cuantificación.....	172
CAPÍTULO 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		175
1.	INTRODUCCIÓN.....	177
2.	PARÁMETROS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES.....	179
3.	CONCENTRACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS.....	186
3.1.	Presentación de resultados.....	186
3.1.1.	Cafeína.....	201
3.1.2.	Carbamacepina.....	202
3.1.3.	Diclofenaco.....	203
3.1.4.	Ibuprofeno.....	203
3.1.5.	Ketoprofeno.....	204
3.1.6.	Naproxeno.....	205

4. RENDIMIENTO DE LOS TRATAMIENTOS CONVENCIONALES DE DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES EN LA ELIMINACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS.....	206
4.1. Eliminación de cafeína en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales...	208
4.2. Eliminación de carbamacepina en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales.....	213
4.3. Eliminación de ibuprofeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales.....	217
4.4. Eliminación de ketoprofeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales.....	221
4.5. Eliminación de naproxeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales.....	226
4.6. Influencia de las variables de operación y de la estacionalidad del influente de las EDARs en la eliminación de principios activos farmacológicos.....	230
4.6.1. Influencia del tiempo de retención celular (TRC) e hidráulico (TRH) en la eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas.....	231
4.6.2. Influencia estacional en los rendimientos de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas.....	235
4.7. Influencia de las características fisicoquímicas de los principios activos farmacológicos en el rendimiento de su eliminación en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales .....	239
5. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN LAS EDARS ESTUDIADAS.....	246
5.1. Evolución de la concentración de cafeína en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla.....	246
5.2. Evolución de la concentración de carbamacepina en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla.....	249
5.3. Evolución de la concentración de ibuprofeno en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla.	252
5.4. Evolución de la concentración de ketoprofeno en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla	255
5.5. Evolución de la concentración de naproxeno en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla..	258
6. RELACIONES INTERPARAMÉTRICAS ENTRE LOS PARÁMETROS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES Y LAS CONCENTRACIONES DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS ESTUDIADOS.....	261
6.1. Análisis factorial.....	263

## ÍNDICES

---

7. EVALUACIÓN DE IMPACTO AMBIENTAL.....	268
CONCLUSIONES.....	275
BIBLIOGRAFÍA.....	279

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1.	Propiedades fisicoquímicas de algunos principios activos farmacológicos (Beausse 2004).....	50
Tabla 1.2.	Procedimientos de extracción de fármacos empleados en muestras medioambientales....	78
Tabla 1.3.	Condiciones cromatográficas para el análisis de fármacos en muestras medioambientales por cromatografía líquida de alta resolución.....	86
Tabla 1.4.	Fases estacionarias para la determinación de fármacos en muestras medioambientales por cromatografía gaseosa.....	88
Tabla 1.5.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco diclofenaco.....	90
Tabla 1.6.	Pruebas de toxicidad del fármaco diclofenaco.....	91
Tabla 1.7.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco ibuprofeno.....	92
Tabla 1.8.	Pruebas de toxicidad del fármaco ibuprofeno.....	94
Tabla 1.9.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco ketoprofeno.....	95
Tabla 1.10.	Pruebas de toxicidad del fármaco ketoprofeno.....	96
Tabla 1.11.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco naproxeno.....	97
Tabla 1.12.	Pruebas de toxicidad del fármaco naproxeno.....	98
Tabla 1.13.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco paracetamol.....	100
Tabla 1.14.	Pruebas de toxicidad del fármaco paracetamol.....	101
Tabla 1.15.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco carbamacepina.....	102
Tabla 1.16.	Pruebas de toxicidad del fármaco carbamacepina.....	104
Tabla 1.17.	Propiedades fisicoquímicas del fármaco cafeína.....	105
Tabla 1.18.	Pruebas de toxicidad del fármaco cafeína.....	118
Tabla 3.1.	Características de las estaciones depuradoras de aguas residuales sobre las que se ha realizado la toma de muestras.....	116
Tabla 4.1.	Metodologías analíticas empleadas en la determinación de fármacos en muestras medioambientales.....	143
Tabla 4.2.	Condiciones cromatográficas óptimas para la determinación de los fármacos seleccionados en muestras de aguas residuales.....	145
Tabla 4.3.	Orden de elución, tiempos de retención e identificación de picos para los cromatogramas de las Figuras 4.3 y 4.4.....	145
Tabla 4.4.	Longitudes de onda de absorción (UV-DAD) y excitación y emisión (FL) empleadas en la detección de principios activos farmacológicos.....	150
Tabla 4.5.	Resultados obtenidos mediante detectores UV-DAD y FL para diez muestras de aguas influentes y efluentes de EDARs de la ciudad de Sevilla.....	151
Tabla 4.6.	Resultados obtenidos para el estadístico F.....	152
Tabla 4.7.	Resultados obtenidos para el estadístico t.....	153
Tabla 4.8.	Parámetros de eficacia en la separación cromatográfica.....	163

## ÍNDICES

Tabla 4.9.	Repetitividad del proceso cromatográfico (n=3).....	166
Tabla 4.10.	Precisión intermedia del proceso cromatográfico.....	167
Tabla 4.11.	Repetitividad del la metodología propuesta (%RSD, n=3).....	168
Tabla 4.12.	Rectas de calibrado, rango lineal, coeficiente de correlación lineal y desviación estándar relativa de la pendiente para los datos de calibración de los fármacos seleccionados.....	169
Tabla 4.13.	Promedio de recuperación de los principios activos farmacológicos seleccionados a diferentes niveles de dopaje (n=3).....	172
Tabla 4.14.	Límites de detección y cuantificación de los principios activos seleccionados en influentes y efluentes de EDAR.....	174
Tabla 5.1.	Abreviaturas y unidades empleadas en la denominación de los parámetros analíticos determinados en las muestras de aguas residuales.....	178
Tabla 5.2.	Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas residuales influentes y efluentes de la EDAR Norte.....	180
Tabla 5.3.	Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas residuales influentes y efluentes de la EDAR Este.....	180
Tabla 5.4.	Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas residuales influentes y efluentes de la EDAR Sur.....	181
Tabla 5.5.	Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas residuales influentes y efluentes de la EDAR Oeste.....	181
Tabla 5.6.	Matriz de correlación para los parámetros de caracterización fisicoquímica de las aguas residuales en las cuatro EDARs muestreadas.....	185
Tabla 5.7.	Rendimientos de eliminación de los parámetros SS, DBO, DQO, NTK, P-Total y Grasas.	186
Tabla 5.8.	Concentración de cafeína en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	189
Tabla 5.9.	Concentración de carbamacepina en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	191
Tabla 5.10.	Concentración de ibuprofeno en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	193
Tabla 5.11.	Concentración de ketoprofeno en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	195
Tabla 5.12.	Concentración de naproxeno en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ).....	197
Tabla 5.13.	Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Norte.....	199
Tabla 5.14.	Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Este.....	199
Tabla 5.15.	Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Sur.....	199
Tabla 5.16.	Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Oeste.....	200

Tabla 5.17.	Eliminación media (%) de principios activos farmacológicos durante el proceso de depuración en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	208
Tabla 5.18.	Tiempo de retención celular (TRC) y Tiempo de retención hidráulico (TRH) para cada una de las EDAR estudiadas.....	232
Tabla 5.19.	Matriz de correlación entre los parámetros TRC y TRH y los porcentajes de eliminación medios de cada uno de los fármacos en las EDARs estudiadas.....	235
Tabla 5.20.	Características fisicoquímicas de los principios activos estudiados.....	241
Tabla 5.21.	Matriz de correlación para la eficacia en la eliminación de fármacos en las EDARs (% R) en relación con las características fisicoquímicas de los compuestos estudiados.....	244
Tabla 5.22.	Matriz de correlación de los parámetros medidos en las muestras.....	263
Tabla 5.23.	Explicación de la varianza por parte de cada factor.....	264
Tabla 5.24.	Peso de cada una de las variables en los factores extraídos en el análisis factorial.....	265
Tabla 5.25.	Parámetros indicadores de la toxicidad de una sustancia empleados para el cálculo de la PNEC.....	270
Tabla 5.26.	Factores aplicados sobre los valores de $LC_{50}$ , $EC_{50}$ , y CENO para la estimación de la PNEC (EC, 2003).....	271
Tabla 5.27.	Datos de ecotoxicidad recogidos en la bibliografía para los principios activos farmacológicos seleccionados.....	272
Tabla 5.28.	Coefficientes de riesgo (CR) para cada uno de los fármacos estudiados en las distintas EDARs.....	274

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1.	Mecanismo de aumento de la polaridad (excretabilidad) de principios activos farmacológicos en el organismo objetivo.....	33
Figura 1.2.	Principales vías de entrada al medio ambiente de los fármacos empleados en medicina (Jørgensen y Halling-Sørensen, 2000).....	36
Figura 1.3.	Principales vías de entrada al medio ambiente de los fármacos empleados en veterinaria (Jørgensen y Halling-Sørensen, 2000).....	36
Figura 1.4.	Estructura molecular del principio activo diclofenaco.....	90
Figura 1.5.	Estructura molecular del principio activo ibuprofeno.....	92
Figura 1.6.	Estructura molecular del principio activo ketoprofeno.....	94
Figura 1.7.	Estructura molecular del principio activo naproxeno.....	97
Figura 1.8.	Estructura molecular del principio activo paracetamol.....	99
Figura 1.9.	Estructura molecular del principio activo carbamacepina.....	102
Figura 1.10.	Estructura molecular del principio activo cafeína.....	105
Figura 3.1.	Localización de las estaciones depuradoras de aguas residuales en la provincia de Sevilla.....	117
Figura 3.2.	Esquema de una estación depuradora de aguas residuales basada en los procesos de lodos activos.....	121
Figura 4.1.	Optimización de la naturaleza del disolvente empleado en la elución durante el proceso de extracción en fase sólida (n=3).....	138
Figura 4.2.	Influencia del pH de la muestra en el proceso de extracción en fase sólida (n=3).....	140
Figura 4.3.	Cromatograma UV-DAD de una mezcla patrón de 2 µg mL <sup>-1</sup> en paracetamol, 5 µg mL <sup>-1</sup> en cafeína, carbamacepina y ketoprofeno y 15 µg mL <sup>-1</sup> en ibuprofeno y diclofenaco (1, paracetamol; 2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 6, diclofenaco; 7, ibuprofeno).....	144
Figura 4.4.	Cromatograma FL de una mezcla patrón de 2 µg mL <sup>-1</sup> en naproxeno y 15 µg mL <sup>-1</sup> en ibuprofeno (5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	144
Figura 4.5.	Espectro de absorción ultravioleta de la cafeína.....	146
Figura 4.6.	Espectro de absorción ultravioleta de la carbamacepina.....	147
Figura 4.7.	Espectro de absorción ultravioleta del diclofenaco.....	147
Figura 4.8.	Espectro de absorción ultravioleta del ibuprofeno.....	148
Figura 4.9.	Espectro de absorción ultravioleta del ketoprofeno.....	148
Figura 4.10.	Espectro de absorción ultravioleta del naproxeno.....	149
Figura 4.11.	Espectro de absorción ultravioleta del paracetamol.....	149
Figura 4.12.	Cromatograma ejemplo (UV-DAD) de una muestra de 500 mL de agua residual influente (2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	162
Figura 4.13.	Cromatograma ejemplo (FL) de una muestra de 500 mL de agua residual influente (5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	162
Figura 5.1.	Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual influente de la EDAR Norte...	183
Figura 5.2.	Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual influente de la EDAR Este.....	183

Figura 5.3.	Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual influente de la EDAR Sur.....	184
Figura 5.4.	Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual influente de la EDAR Oeste...	184
Figura 5.5.	Cromatograma ejemplo (UV-DAD) de una muestra de 500 mL de agua residual bruta (2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	187
Figura 5.6.	Cromatograma ejemplo (UV-DAD) de una muestra de 1000 mL de agua residual tratada (2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	187
Figura 5.7.	Cromatograma ejemplo (FL) de una muestra de 500 mL de agua residual bruta (5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	188
Figura 5.8.	Cromatograma ejemplo (FL) de una muestra de 1000 mL de agua residual tratada (5, naproxeno; 7, ibuprofeno).....	188
Figura 5.9.	Distribución de principios activos farmacológicos en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	201
Figura 5.10.	Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Norte.....	210
Figura 5.11.	Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Este.....	210
Figura 5.12.	Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Sur.....	211
Figura 5.13.	Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Oeste.....	211
Figura 5.14.	Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Norte.....	215
Figura 5.15.	Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Este.....	215
Figura 5.16.	Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Sur.....	216
Figura 5.17.	Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Oeste.....	216
Figura 5.18.	Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Norte.....	219
Figura 5.19.	Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Este.....	219
Figura 5.20.	Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Sur.....	220
Figura 5.21.	Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Oeste.....	220
Figura 5.22.	Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Norte.....	222
Figura 5.23.	Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Este.....	223
Figura 5.24.	Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Sur.....	223
Figura 5.25.	Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Oeste.....	224
Figura 5.26.	Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Norte.....	228
Figura 5.27.	Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Este.....	228
Figura 5.28.	Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Sur.....	229
Figura 5.29.	Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Oeste.....	229
Figura 5.30.	Influencia del TRC en la eliminación de principios activos farmacológicos en las EDARs de Sevilla.....	233
Figura 5.31.	Influencia del TRH en la eliminación de principios activos farmacológicos en las EDARs de Sevilla.....	233
Figura 5.32.	Rendimiento de eliminación de cafeína durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	237
Figura 5.33.	Rendimiento de eliminación de carbamacepina durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	237
Figura 5.34.	Rendimiento de eliminación de ibuprofeno durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	238

Figura 5.35.	Rendimiento de eliminación de ketoprofeno durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	238
Figura 5.36.	Rendimiento de eliminación de Naproxeno durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla.....	239
Figura 5.37.	Efecto del log $K_{OW}$ , $pk_d$ , $pk_a$ y $t_{1/2}$ en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Norte .....	242
Figura 5.38.	Efecto del log $K_{OW}$ , $pk_d$ , $pk_a$ y $t_{1/2}$ en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Este	242
Figura 5.39.	Efecto del log $K_{OW}$ , $pk_d$ , $pk_a$ y $t_{1/2}$ en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Sur.	243
Figura 5.40.	Efecto del log $K_{OW}$ , $pk_d$ , $pk_a$ y $t_{1/2}$ en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Oeste.....	243
Figura 5.41.	Evolución temporal de cafeína en la EDAR Norte.....	247
Figura 5.42.	Evolución temporal de cafeína en la EDAR Este.....	248
Figura 5.43.	Evolución temporal de cafeína en la EDAR Sur.....	248
Figura 5.44.	Evolución temporal de cafeína en la EDAR Oeste.....	249
Figura 5.45.	Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Norte.....	250
Figura 5.46.	Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Este.....	250
Figura 5.47.	Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Sur.....	251
Figura 5.48.	Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Oeste.....	251
Figura 5.49.	Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Norte.....	253
Figura 5.50.	Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Este.....	253
Figura 5.51.	Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Sur.....	254
Figura 5.52.	Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Oeste.....	254
Figura 5.53.	Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Norte.....	256
Figura 5.54.	Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Este.....	256
Figura 5.55.	Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Sur.....	257
Figura 5.56.	Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Oeste.....	257
Figura 5.57.	Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Norte.....	259
Figura 5.58.	Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Este.....	259
Figura 5.59.	Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Sur.....	260
Figura 5.60.	Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Oeste.....	260
Figura 5.61.	Representación del Factor 1 frente al Factor 2.....	266
Figura 5.62.	Representación del Factor 1 frente al Factor 3.....	267
Figura 5.63.	Representación del Factor 3 frente al Factor 2.....	267

# CAPÍTULO 1

## ANTECEDENTES

---

Como paso previo a los objetivos marcados en la presente memoria, en este capítulo se analiza la presencia de contaminantes orgánicos en los sistemas acuáticos, se analizan los orígenes y distribución de principios activos farmacológicos en el medioambiente y se realiza una descripción, basada en la bibliografía existente hasta el momento, de su distribución en los procesos de depuración de aguas residuales. De igual modo, se describen los efectos originados por los fármacos objeto de este estudio sobre diversos organismos acuáticos. Se realiza un recorrido introductorio por las metodologías analíticas aplicadas a la determinación de fármacos en muestras medioambientales. Por último, se describen las propiedades fisicoquímicas, farmacéuticas y ecotoxicológicas de los principios activos más representativos de la distribución de tales sustancias en los sistemas convencionales de depuración de aguas



## 1. CONTAMINANTES ORGÁNICOS EN LOS SISTEMAS ACUÁTICOS

En el año 2005 Andalucía contaba con 495 estaciones depuradoras de aguas residuales urbanas (EDARs) distribuidas entre la zona continental y litoral (IEA, 2006). Éstas trataban a una población aproximada de unos 5 millones de habitantes. No obstante, aún hoy día, existen cientos de hogares que descargan las aguas residuales, sin que se realice sobre ellas un tratamiento previo de depuración.

La política del agua en la Unión Europea está destinada a promover un uso sostenible de los recursos hídricos y, a largo plazo, conseguir una reducción progresiva del aporte de contaminantes al medio acuático procedentes de la descarga de las aguas residuales urbanas.

En las últimas décadas, el impacto de los contaminantes químicos en el medio ambiente ha sido enfocado casi exclusivamente a una serie de contaminantes llamados “prioritarios” incluidos en las listas I y II aprobadas por la Decisión nº. 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de noviembre de 2001 e incluidas en el anexo III del Reglamento del Dominio Público Hidráulico (Real Decreto 849/1987, Real Decreto 606/2003), y normas sucesivas de aplicación (Orden de 12 de noviembre de 1987, y Real Decreto 995/2000).

La presencia en el agua de estos “contaminantes prioritarios” (pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, bifenilos policlorados, etc.) puede ser considerada como la mayor razón para la disminución de la calidad de ésta. Sin embargo, las principales fuentes de estas sustancias no son su uso y consumo, sino que se incorporan al medio ambiente a través de la deposición atmosférica o el arrastre producido por el agua de lluvia. Un ejemplo lo constituyen los bifenilos policlorados (PCBs), cuyo uso industrial en Europa se detuvo durante los años 80 y 90, sin embargo, el 90 % de las emisiones actuales se producen por volatilización desde el suelo.

La Unión Europea y la Agencia de Protección Medioambiental Americana (*Environmental Protection Agency*, USEPA) introdujeron una lista de 129 contaminantes prioritarios a fin de establecer criterios para mejorar la calidad del agua, aunque esta lista no representa la totalidad de sustancias que, estando presentes en las aguas

residuales, pueden introducirse en el medio ambiente (Ellis, 2006) y causar efectos perjudiciales sobre los ecosistemas.

En el ámbito de la política del agua, en la directiva 2000/60/EC destinada a la toma de medidas de control para los próximos 20 años se incluye una primera lista de 33 contaminantes prioritarios. Sin embargo, debido a la aparición de estos nuevos contaminantes, algunos países miembros han emprendido procesos de revisión para tratar de identificar estos “futuros” contaminantes. De hecho, en el Reino Unido se han identificado 92 compuestos químicos que pueden exceder los criterios establecidos sobre toxicidad, persistencia o bioacumulación (Ellis, 2006).

Hoy día la problemática generada por los contaminantes prioritarios en el medio ambiente queda relegada a un segundo plano, debido en parte a la disminución en los niveles de concentración presentes en muestras medioambientales, motivado por un riguroso control, y a la adopción de las medidas necesarias para reducir los diferentes focos de contaminación. Sin embargo, existe una amplia variedad de sustancias no legisladas, consideradas como “contaminantes emergentes”, cuya presencia en el medio ambiente esta constituyendo un nuevo problema medio ambiental. Entre estos contaminantes se encuentran los surfactantes, plásticos, diversos aditivos industriales y principios activos farmacológicos, entre otros.

Los fármacos son sustancias con diversa actividad biológica cuya aplicación se extiende a la industria alimentaria, siendo empleados como promotores de crecimiento en animales de granja y piscifactorías. Como consecuencia de ello, los fármacos están siendo continuamente introducidos en el medio ambiente a través de su excreción, procesos de fabricación y vertido incontrolado de medicamentos caducados. Además, la introducción en el mercado de nuevos fármacos aumenta de forma exponencial, apareciendo un enorme espectro de componentes activos cuya actividad biológica es, hoy día, en parte desconocida. En la actualidad una disminución en su uso o la sustitución por otros componentes más biodegradables se plantea como una solución complicada.

La posibilidad de que los principios activos farmacológicos se introduzcan en el medio ambiente es conocida por la comunidad científica desde hace décadas, sin

embargo, no es hasta 1990 cuando se hace posible su determinación y control en tales muestras, ya que, a las bajas concentraciones a las que estas sustancias se encuentran presentes en el medio ambiente, se le suma la complejidad de tales muestras, lo que hace necesario el uso de técnicas con una elevada capacidad de separación y alta sensibilidad.

En España, el consumo de fármacos se ha incrementado en los últimos años, alcanzando volúmenes de consumo cercanos al de otras sustancias consideradas peligrosas, tales como pesticidas (Daughton y Ternes, 1999). A pesar de ello, los principios activos farmacológicos, al contrario que otros contaminantes, no han estado sujetos a restricciones legales, lo que conlleva que hayan sido, y sigan siendo, continuamente introducidos en el medioambiente sin ningún tipo de control. A diferencia de otro tipo de sustancias, cuya contaminación se produce de modo esporádico y con gran heterogeneidad espacial, la introducción de fármacos en el medioambiente se produce de forma continua como consecuencia de la actividad diaria, por lo que no necesitan ser persistentes para encontrarse de forma habitual en el medio ambiente. Por otro lado, pese a que la cantidad de fármacos que se introduce diariamente en el medio ambiente puede ser baja, la continua introducción de éstos puede llevar a una elevada concentración a largo plazo y causar efectos sobre el ecosistema que, a priori, podrían pasar desapercibidos ya que tales efectos serían tan leves, que podrían no detectarse hasta que fueran irreversibles.

Además, aunque son diseñados para su aplicación en personas y animales, los organismos acuáticos presentan los mismos receptores enzimáticos y modos de acción que el cuerpo humano, pudiendo experimentar los mismos efectos farmacodinámicos. A su vez, los efectos secundarios, que a menudo pasan desapercibidos tras su uso en personas y animales, podrían ser de enorme importancia para los organismos inferiores (Seiler, 2002), sin olvidar que, aunque un único principio activo no sea suficiente como para causar efectos tóxicos sobre el medio, la presencia de numerosos principios activos farmacológicos que presenten modos de acción similares, podrían ocasionar efectos significativos debido a fenómenos de sinergismo (Daughton y Ternes, 1999).

## 2. FUENTES Y DISTRIBUCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN EL MEDIO AMBIENTE

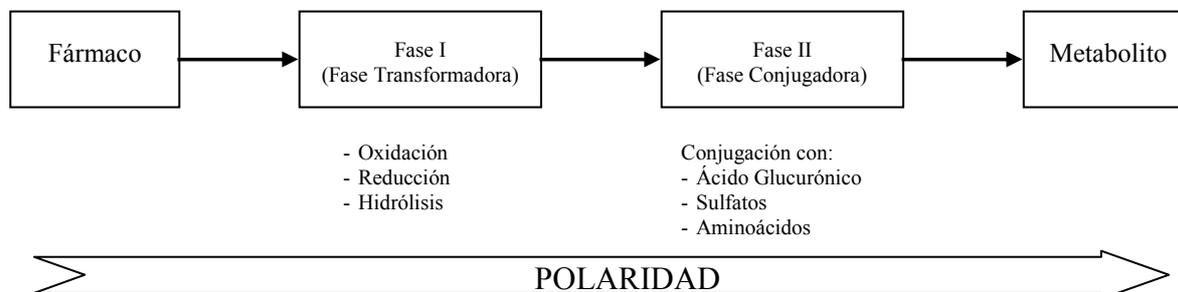
Los principios activos farmacológicos llegan al medio ambiente como consecuencia de su fabricación, distribución y consumo. Tras este consumo, los principios activos farmacológicos pueden ser excretados sin que se produzca sobre ellos alteración alguna o ser metabolizados en mayor o menor grado, transformándose en formas más hidrosolubles mediante la formación de conjugados.

El metabolismo de numerosas sustancias liposolubles, tales como los fármacos, en mamíferos y otros vertebrados está gobernado por reacciones englobadas en dos fases metabólicas: fase I y fase II (Figura 1.1). Las reacciones de la fase I, hacen uso de las oxidasas (citocromo P450), reductasas e hidrolasas (epóxidos) para añadir grupos funcionales activos a la molécula. En la Fase II se producen reacciones de conjugación covalentes, empleando ácido glucurónico, sulfato o aminoácidos, a fin de hacer la molécula más hidrosoluble, de modo que se facilite su excreción (Daughton y Ternes, 1999). Esta estrategia metabólica crea metabolitos sucesivamente más polares que los componentes de partida. Con ello, tras desarrollar su actividad sobre el organismo objetivo, y en función de sus características farmacológicas, estos compuestos se excretan con la orina y heces como una mezcla de metabolitos, como sustancias inalteradas o como conjugados con un sustituyente inactivo unido a la estructura (Halling-Sørensen y col., 1998). Algunas de estas sustancias pueden ser incluso más tóxicas que el propio producto de partida. Además, algunas de estas sustancias, que llegan al medio ambiente como conjugados, pueden incluso, romperse, originando de nuevo el producto de partida.

Las concentraciones de fármacos en el medio ambiente será función de una combinación de varios factores tales como cantidades manufacturadas, dosis de efecto, porcentaje de excreción en el organismo consumidor, propiedades de adsorción/desorción sobre sólidos y descomposición metabólica en EDARs (Díaz-Cruz y col., 2003).

**Figura 1.1.**

**Mecanismo de aumento de la polaridad (excretabilidad) de principios activos farmacológicos en el organismo objetivo**



Una vez consumidos y metabolizados por el organismo receptor, son descargados a través de la orina y heces, siendo liberados al medio ambiente, donde se distribuyen siguiendo diferentes vías. La identificación de tales vías es crucial para poder establecer la carga real de este tipo de contaminantes al medio ambiente, ya que, sobre dicha carga, no solo influyen la dosis aplicada, duración del tratamiento o características farmacocinéticas, sino además, la naturaleza del organismo receptor, puesto que en muchos casos un mismo principio activo presenta diversas aplicaciones sobre distintos organismos receptores. La combinación de la dosis aplicada a cada organismo y las distintas vías de entrada, que a veces incluyen distintas matrices, pueden traer como consecuencia una variación inesperada en las concentraciones presentes en el medio ambiente. Las Figuras 1.2 y 1.3 muestran las vías a través de las cuales estos principios activos entran al medio ambiente. Para identificarlas, es necesario dividir los fármacos entre los empleados en medicina (Figura 1.2) y los utilizados en veterinaria (Figura 1.3), ya que, aunque en muchos casos los principios activos empleados sean los mismos, el destino de estos y como consecuencia los efectos que causan sobre el ecosistema son distintos.

Por su parte, los fármacos diseñados para su uso veterinario, pueden ser a su vez clasificados, en relación a su aplicación, en tres grupos: aquellos empleados como promotores de crecimiento en animales de granja, los empleados por su uso terapéutico en el ganado o aves de granja y aquellos empleados como aditivo alimentario en piscifactorías.

Por otra parte, aquellos fármacos empleados en medicina son descargados a través de los sistemas colectores hacia las plantas de tratamiento de aguas residuales, generalmente a través de la excreción, aunque existe un pequeño porcentaje que se descarga directamente a los sistemas colectores, una vez que estos han caducado. En España este último factor se ha minimizado gracias al sistema de gestión y recogida de envases (SIGRE), puesto en marcha por la industria farmacéutica, con la colaboración de farmacias y distribuidores. Los desechos procedentes de los procesos de fabricación, que terminan en vertederos, incineradoras o plantas de tratamiento de aguas residuales, son mínimos, debido al cuidadoso manejo de empaquetado. Se estima que en la fabricación y empaquetado de fármacos se produce en torno a un 1 – 5 % de desechos. El 95 % restante se descarga a través de las EDARs.

El destino de estos principios activos en las EDARs puede resumirse en tres puntos.

- Las sustancias fácilmente biodegradables son eliminadas por los microorganismos presentes en los procesos de depuración. Un ejemplo de estas sustancias lo constituye el ácido acetilsalicílico (Richardson y Bowron, 1985).
  
- Los fármacos que presentan persistencia y que además tienen características lipofílicas quedan retenidos en los lodos generados durante el proceso de depuración debido, bien a su carácter lipofílico o bien a la presencia en su estructura de grupos funcionales (carboxílicos, aminas, aldehídos, etc.) que por su naturaleza presentan la capacidad de formar enlaces con las partículas del sólido, dependiendo del pH o de otros constituyentes de la matriz. Tales sustancias pueden incorporarse a los suelos una vez que estos lodos son aplicados a los mismos con fines agrícolas, regenerativos o bien, trasladados a vertederos. A su vez, aquellos fármacos que presentan mayor movilidad en el sólido, pueden incorporarse a las aguas subterráneas o superficiales a través de procesos de lixiviado. De este modo, en función de la capacidad de un fármaco a permanecer sobre la

matriz sólida, los efectos se producirán sobre organismos acuáticos o terrestres.

- Por último, algunos fármacos, no solo presentan cierta persistencia en los procesos de depuración de aguas residuales, sino que al mismo tiempo, presentan estructuras polares, por lo que no quedan retenidas sobre los lodos. Estas sustancias pasan a través de los procesos de depuración sin que se produzcan modificaciones importantes en su concentración, llegando directamente al medio acuático.

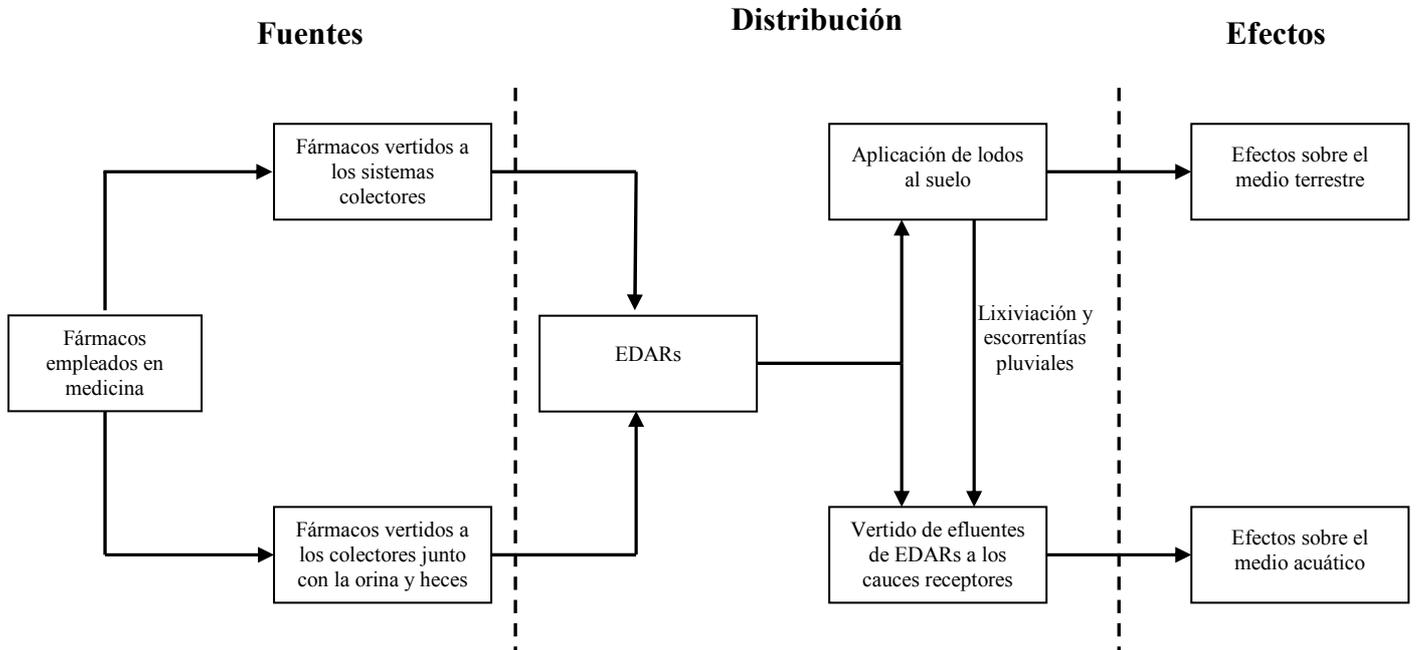
En cuanto a los fármacos empleados en veterinaria, siguen distintas vías de entrada al medio ambiente en relación con su campo de aplicación (Figura 1.2) siendo, en la mayoría de los casos, incorporados a los suelos a través del uso de abonos.

Esta contaminación, procedente del ganado y aves de granja, es generalmente tratada, previa descarga, en plantas de tratamiento de purines. Posteriormente, se emplea el residuo sólido como fertilizante en campos agrícolas. Sin embargo, la gran concentración de granjas, y la necesidad de estas de deshacerse del purín hace que esta contaminación se produzca en muchos casos de forma extensiva. Estos fármacos, tras su uso, pueden llegar a contaminar las aguas superficiales o subterráneas a través de fenómenos de lixiviación o arrastre durante episodios de lluvia.

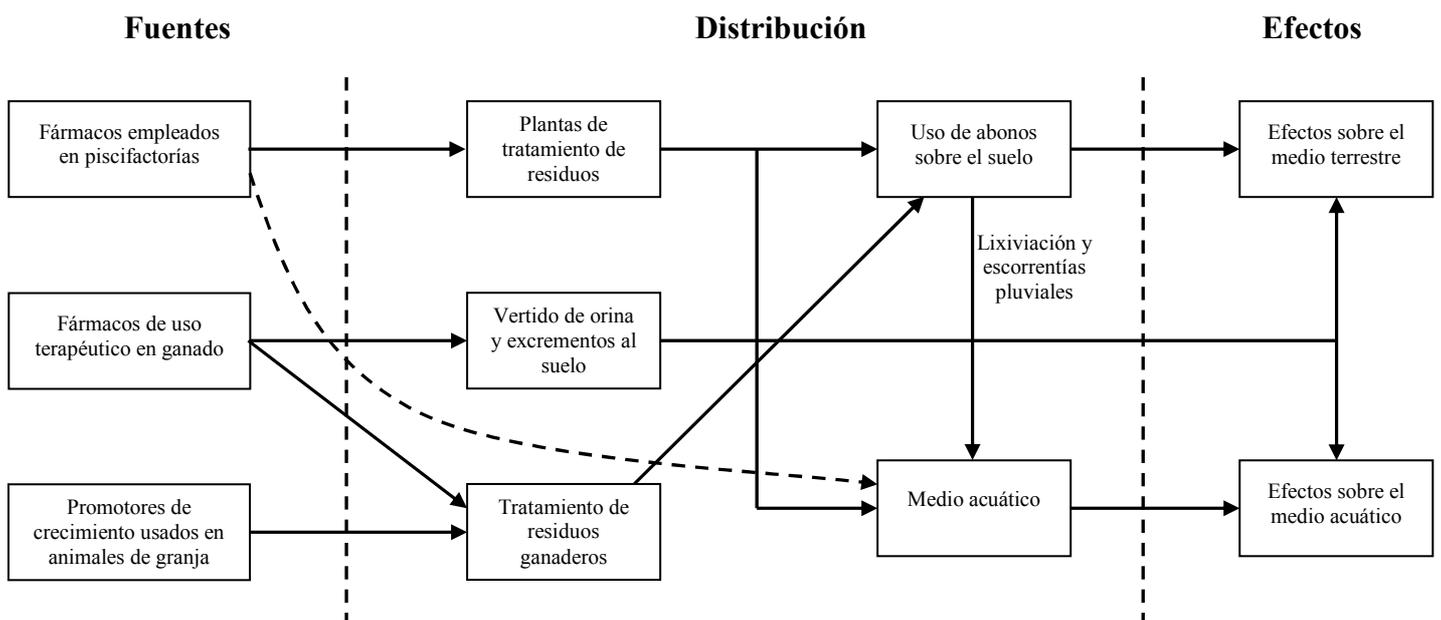
Por su parte, los fármacos empleados como aditivo alimentario en granjas piscícolas pueden ser directamente descargados a los cauces receptores, en cuyo caso se descarga una gran cantidad de estas sustancias que no son consumidas por los peces, o bien, son tratados previa descarga en pequeñas plantas. El lodo generado en dichas plantas se emplea, junto con los residuos ganaderos, como fertilizante en campos de cultivo, mientras que el agua generada puede afectar directamente al medio acuático.

En cualquier caso, debido a la amplia descarga de residuos, las EDARs constituyen la principal fuente en el aporte de este tipo de sustancias al medioambiente.

**Figura 1.2.**  
**Principales vías de entrada al medio ambiente de los fármacos empleados en medicina (Jørgensen y Halling-Sørensen, 2000).**



**Figura 1.3.**  
**Principales vías de entrada al medio ambiente de los fármacos empleados en veterinaria (Jørgensen y Halling-Sørensen, 2000).**



## **2.1. Presencia de principios activos farmacológicos en el medio acuático**

Diversos estudios muestran la presencia de principios activos farmacológicos en vertidos procedentes de hospitales (Gómez y col., 2006), aguas residuales urbanas (Carballa y col., 2005; Tauxe-Wuersch y col., 2005; Ternes, 1998; Verenitch y col., 2006), ríos (Comoretto y Chiron, 2005), agua marina (Weigel y col., 2002) o incluso agua potable (Stackelberg y col., 2004) en países como Canadá (Lishman y col., 2006), Estados Unidos (Schwab y col., 2005), Brasil (Stumpf y col., 1999), Reino Unido (Ashton y col., 2004; Roberts y Thomas, 2006), Francia (Andreozzi y col., 2003d), Alemania (Heberer y col., 2002), Grecia (Koutsouba y col., 2003), Italia (Castiglioni y col., 2005), Suiza (Golet y col., 2002; Soulet y col., 2002), Suecia (Andreozzi y col., 2003c) o España (Carballa y col., 2004; Farré y col., 2001; González-Barreiro y col., 2003; Petrovic y col., 2006), entre otros.

La concentración a la que estas sustancias están presentes en muestras medioambientales es del orden de  $\text{ng L}^{-1}$  o incluso  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Estas concentraciones dependerán de variables como distancia a una EDAR, la densidad y proximidad de actividades agrícolas, etc.

Los principios activos farmacológicos son un grupo de sustancias constituido por cientos de especies químicas con distinta actividad biológica. Entre estos, los principios activos encontrados habitualmente en muestras medioambientales son analgésicos y antiinflamatorios, antibióticos, antiepilépticos, betabloqueantes, antilipémicos o reguladores lipídicos, anticancerígenos y hormonas.

### **2.1.1. Analgésicos y antiinflamatorios**

En este epígrafe se incluyen un gran número de especies químicas empleadas para el tratamiento del dolor (antiinflamatorio y analgésico) y la fiebre (antipirético). Estas sustancias son ampliamente consumidas en todo el mundo bajo prescripción médica, aunque también en muchos casos se venden sin tal prescripción. Los más vendidos sin supervisión médica son paracetamol y aspirina, aunque otros como diclofenaco e ibuprofeno también se consumen en cantidades elevadas (Heberer, 2002b).

Los antiinflamatorios presentan, en ciertos casos, una baja eliminación en los procesos de depuración de aguas residuales, por lo que pueden incorporarse a las aguas superficiales y subterráneas. Como consecuencia de ello, más de 80 principios activos farmacológicos antiinflamatorios han sido detectados en concentraciones de  $\text{ng L}^{-1}$  o incluso  $\mu\text{g L}^{-1}$  en muestras de aguas residuales, lodos de EDARs, aguas superficiales, aguas subterráneas e incluso agua potable (Weigel y col., 2004).

Cuando un contaminante llega a una EDAR, este se somete a una serie de procesos fisicoquímicos y biológicos que traen como consecuencia la reducción de su concentración en la fase acuosa. Esta eliminación se produce por mecanismos de retención sobre materia sólida (lodos) o biodegradación en el proceso de lodos activos. Consecuentemente, durante los procesos de depuración los principios activos farmacológicos se distribuyen, en función de sus propiedades fisicoquímicas, entre las aguas residuales y los lodos, encontrándose concentraciones apreciables en ambas matrices.

Entre los antiinflamatorios encontrados habitualmente en muestras de aguas y lodos procedentes de EDARs se encuentran ácido mefenámico, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno y, en menor medida, ácido acetilsalicílico, ácido salicílico y paracetamol.

Los principios activos acetaminofeno (paracetamol) y ácido acetilsalicílico se degradan fácilmente en los procesos de depuración de aguas residuales, por lo que, pese a que se detectan a concentraciones relativamente altas en los caudales influentes de EDARs, rara vez se detectan en efluentes y a concentraciones cercanas a los límites de detección (Heberer, 2002b). Ternes (1998) detectó una concentración máxima de  $1.50 \mu\text{g L}^{-1}$  de ácido acetilsalicílico en aguas efluentes de depuradora, que se degrada fácilmente a ácido salicílico. Este metabolito se encuentra en influentes y efluentes de EDAR a concentraciones por debajo de  $57 \mu\text{g L}^{-1}$ , siendo también fácilmente degradado en los procesos de depuración, por lo que se encuentra en efluentes a niveles inferiores, situados en un rango comprendido entre  $0.05 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $14.1 \mu\text{g L}^{-1}$  (Farré y col., 2001; Lishman y col., 2006; Metcalfé y col., 2003b; Verenitch y col., 2006).

El ibuprofeno es uno de los antiinflamatorios más consumidos en todo el mundo y su presencia en aguas residuales ha sido ampliamente estudiada en los últimos 10 años. Se encuentra a concentraciones elevadas en las aguas influentes, detectándose en concentraciones medias de entre  $2.02 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $38.7 \mu\text{g L}^{-1}$  (Clara y col., 2005b; Lindqvist y col., 2005; Lishman y col., 2006; Metcalfe y col., 2003a; Quintana y col., 2005; Roberts y Thomas, 2006; Verenitch y col., 2006). Sin embargo, al igual que los principios activos paracetamol y ácido acetilsalicílico, es fácilmente degradado en los procesos de depuración encontrándose concentraciones inferiores a  $4.77 \mu\text{g L}^{-1}$  en efluentes de EDAR. No obstante, Farré y col. (2001) detectaron concentraciones de ibuprofeno de hasta  $85 \mu\text{g L}^{-1}$  en efluentes de EDAR en Barcelona.

Otros fármacos detectados frecuentemente en muestras de aguas residuales son diclofenaco, ketoprofeno y naproxeno. De estos, el naproxeno es el que presenta mayores concentraciones en influentes, alcanzado niveles de concentración de hasta  $40.7 \mu\text{g L}^{-1}$  (Lindqvist y col., 2005; Metcalfe y col., 2003a; Quintana y col., 2005; Stumpf y col., 1999). Este fármaco no presenta porcentajes de eliminación excesivamente altos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales, llegando a encontrarse concentraciones de  $33.9 \mu\text{g L}^{-1}$  en efluentes de EDARs (Carballa y col., 2004; Farré y col., 2001; Gagné y col., 2006; Lishman y col., 2006; Metcalfe y col., 2003b; Öllers y col., 2001; Stumpf y col., 1999; Ternes, 1998). Los fármacos diclofenaco y ketoprofeno, pese a que se encuentran frecuentemente en aguas residuales, presentan niveles de concentración más bajos, alcanzando valores máximos de  $3.4 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $5.7 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente (Farré y col., 2001; Koutsouba y col., 2003; Lishman y col., 2006; Metcalfe y col., 2003b; Petrovic y col., 2006; Roberts y Thomas, 2006; Ternes, 1998).

En las aguas residuales, además de estos, han sido detectados, aunque a bajas concentraciones, otros fármacos analgésicos y antiinflamatorios como ácido mefenámico, aminofenazona, fenoprofeno, indometacina o propilfenazona (Roberts y Thomas, 2006; Stumpf y col., 1999; Ternes, 1998; Zuehlke y col., 2004).

Las EDARs actúan como fuente de contaminación para los ríos, lagos y mares sobre los que descargan sus efluentes. Como consecuencia de ello diversos fármacos,

entre los que se encuentran antiinflamatorios como ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco o ketoprofeno se han detectado en distintos ríos a lo largo del continente europeo (Farré y col., 2001; Ternes, 1998; Zuccato y col., 2000) y América (Kolpin y col., 2002; Schwab y col., 2005; Stumpf y col., 1999) en concentraciones del orden de los  $\text{ng L}^{-1}$ .

Estudios realizados en ríos europeos (Castiglioni y col., 2005; Weigel y col., 2004) muestran una distribución similar de fármacos, encontrando al diclofenaco e ibuprofeno como los más representativos del grupo de los analgésicos y antiinflamatorios (Buser y col., 1998b; Farré y col., 2001; Stumpf y col., 1999; Ternes, 1998).

El paracetamol fue detectado en el 24 % de 139 arroyos de Estados Unidos, mientras que el ibuprofeno fue detectado en el 10 % de los casos con una concentración máxima de  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  (Kolpin y col., 2002).

Estos y otros antiinflamatorios como ácido mefenámico (Ahrer y col., 2001; Ashton y col., 2004), dextropropoxifeno (Roberts y Thomas, 2006), ketoprofeno (Farré y col., 2001; Lindqvist y col., 2005), indometacina o fenoprofeno (Metcalfé y col., 2003b; Ternes, 1998) han sido estudiados en aguas continentales y mar abierto (Weigel y col., 2002).

Varias investigaciones realizadas sobre aguas subterráneas muestran que los fármacos detectados en las aguas superficiales pueden sufrir fenómenos de lixiviación en el subsuelo y contaminar las aguas subterráneas (Heberer y col., 1997; Kreuzinger y col., 2004; Sacher y col., 2001), sin embargo, existen en la actualidad pocos estudios que muestren la presencia de fármacos antiinflamatorios en este tipo de aguas, estando en la mayoría de los casos relacionadas con vertederos cercanos y concentraciones muy próximas a los límites de detección (Ellis, 2006). Estudios realizados sobre aguas subterráneas procedentes de diversos pozos de captación de agua potable muestran la presencia de diclofenaco e ibuprofeno a niveles inferiores a los  $\mu\text{g L}^{-1}$  (Heberer y col., 1997; Kreuzinger y col., 2004). Stolker y col. (2004) analizaron las aguas procedentes de 15 pozos, encontrando que el 80 % de las muestras contenían al menos dos fármacos, entre ellos diclofenaco, en un rango entre  $40 \text{ ng L}^{-1}$  y  $400 \text{ ng L}^{-1}$ . El diclofenaco aparece además como uno de los principales fármacos encontrados en un amplio estudio

realizado sobre 105 pozos de Baden-Wurtemberg (Alemania) alcanzando concentraciones máximas de 590 ng L<sup>-1</sup>, además se detecta la propilfenazona a concentraciones por encima de 10 ng L<sup>-1</sup> (Sacher y col., 2001).

Estas sustancias pueden incluso contaminar las aguas potables, a través de las aguas que abastecen a las estaciones potabilizadoras. Los factores que más influencia ejercen sobre la contaminación por fármacos que presenta el agua potable son la situación geográfica de la estación potabilizadora y el grado de contaminación de las aguas de captación, así como de las aguas superficiales cercanas que pueden servir como abastecimiento a la planta potabilizadora (Heberer y col., 1997). Varios estudios (Heberer y col., 2002; Loraine y Pettigrove, 2006; Webb y col., 2003) describen la presencia de principios activos farmacológicos en este tipo de muestras. Sin embargo, el número de principios activos farmacológicos que presentan concentraciones por encima de los límites de cuantificación se sitúa entre el 3 % y el 53 % (Webb y col., 2003). Al igual que en las aguas subterráneas, los fármacos antiinflamatorios que generalmente presentan mayores concentraciones son diclofenaco e ibuprofeno.

En un estudio realizado sobre cuatro estaciones potabilizadoras de San Diego (California) se detectaron residuos de ibuprofeno en un rango de 0.51 – 1.35 µg L<sup>-1</sup>. Las concentraciones medidas para este fármaco fueron superiores durante los meses de agosto a noviembre frente a las correspondientes al periodo situados entre enero y junio, coincidiendo con el periodo de mayor aporte de efluentes de EDAR a la zona de captación del agua que abastece a la potabilizadora.

Otros fármacos analgésicos como propilfenazona o la dimetilaminofenazona han sido detectados en aguas potables en Europa (Heberer y Stan, 1997; Reddersen y Heberer, 2003).

### **2.1.2. Antibióticos**

Los antibióticos son sustancias destinadas a eliminar ciertos microorganismos infecciosos (bactericidas) o inhibir su crecimiento (bacteriostáticos). Además, se emplean como promotores de crecimiento en animales de granja. Se trata de sustancias

de toxicidad selectiva, presentando una toxicidad alta para los organismos inferiores y no así para el organismo huésped.

La importancia del estudio del contenido en antibióticos en las muestras medioambientales está motivada por tres aspectos:

- Se trata de sustancias de extenso uso, tanto en medicina, como en veterinaria, empleándose además como promotores de crecimiento en la producción de animales y peces para consumo humano.
- Su aportación al medio ambiente se produce a través de numerosas vías, entre ellas la descarga de efluentes de EDARs, el uso de abono animal o las fugas de agua producidas en piscifactorías.
- Su capacidad de alterar la estructura de la comunidad microbiológica, pudiendo causar resistencia a los mismos por parte de microorganismos patógenos.

Entre los antibióticos encontrados en muestras medioambientales se encuentran diversos grupos como macrólidos, entre las que se encuentran claritromicina, eritromicina y roxitromicina; tetraciclinas, entre las que se encuentran oxitetraciclina, demeclociclina, clorotetraciclina o doxiciclina; sulfonamidas, tales como sulfatiazol, sulfametazina, sulfaclopiridazina, sulfametoxazol y sulfadimetoxina; fluoroquinolonas como ofloxacino, ciprofloxacino, norfloxacino; y otros como el trimetoprim. La mayoría de estos antibióticos presentan una absorción en el organismo receptor muy baja, eliminándose entre el 25 % y el 75 % de forma inalterada. Como consecuencia de ello, pueden encontrarse, al igual que los fármacos antiinflamatorios, en aguas residuales, superficiales o subterráneas, así como en matrices sólidas como suelos o lodos de EDAR (Hirsch y col., 1998; Karthikeyan y Meyer, 2006; Lindberg y col., 2005).

Diversos estudios realizados en Alemania (Weigel y col., 2004), Suecia (Lindberg y col., 2005), Estados Unidos (Renew y Huang, 2004) o España (Carballa y

col., 2004; Reverté y col., 2003) describieron la presencia de antibióticos a niveles de concentración de  $\text{ng L}^{-1}$  o incluso  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Los antibióticos se han detectado también a elevadas concentraciones en efluentes hospitalarios. Lindberg y col. (2004) encontraron elevadas concentraciones de ciprofloxacino ( $3.6 - 101.0 \mu\text{g L}^{-1}$ ), sulfametoxazol ( $0.4 - 12.2 \mu\text{g L}^{-1}$ ), ofloxacino ( $0.2 - 7.6 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y trimetoprim ( $0.6 - 7.6 \mu\text{g L}^{-1}$ ) en muestras de efluentes hospitalarios en Suecia. De igual modo, Hartmann y col. (1998) detectaron concentraciones de entre 3 y  $85 \mu\text{g L}^{-1}$  del antibiótico ciprofloxacino en este tipo de muestras.

Los antibióticos norfloxacino y ciprofloxacino también han sido detectados, en efluentes de tratamientos primarios y secundarios de EDAR (Golet y col., 2001), a concentraciones comprendidas entre 45 y  $120 \text{ ng L}^{-1}$  y 249 y  $405 \text{ ng L}^{-1}$  respectivamente.

Como se ha mencionado anteriormente, debido a la baja eliminación que experimentan algunos de estos antibióticos en los procesos convencionales de depuración de aguas (Bendz y col., 2005; Hirsch y col., 1999), pueden estar presentes en aguas superficiales y subterráneas.

Sacher y col. (2001) detectaron la presencia de antibióticos como sulfametoxazol a concentraciones inferiores a los  $410 \text{ ng L}^{-1}$  en muestras de aguas subterráneas de Baden Wurtemberg, Alemania. Además de éste, los antibióticos eritromicina y claritromicina han sido detectados, aunque a bajas concentraciones, en muestras de aguas subterráneas procedentes de Alemania (Hirsch y col., 1999) y Estados Unidos (Lindsey y col., 2001).

### **2.1.3. Antiepilépticos**

Estas sustancias se caracterizan por influir en la hiperexcitabilidad cerebral, es decir, por su capacidad de disminuir la excitabilidad del tejido nervioso excesivamente activo.

El antiepiléptico carbamacepina ha sido detectado frecuentemente en muestras de aguas residuales y superficiales (Ahrer y col., 2001; Ternes, 1998). Estudios realizados en Alemania describen elevadas concentraciones de carbamacepina en EDARs (Ternes, 1998). Este fármaco fue detectado en todas las EDARs estudiadas y en los cauces receptores a concentraciones máximas de  $6.3 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esto podría deberse a la baja eliminación que experimentaba este fármaco en los procesos de depuración de aguas residuales ( $< 10 \%$ ). De hecho, es la enorme persistencia mostrada por este fármacos en efluentes de EDAR y aguas superficiales lo que ha hecho que se proponga en diversos estudios como marcador de contaminación antropogénica (Clara y col., 2004).

Además, este fármaco ha sido detectado a niveles de concentración por debajo de  $1075 \text{ ng L}^{-1}$  en aguas superficiales de Berlín, Alemania (Heberer y col., 2002).

Otros antiepilépticos, como primidona, se han detectado en influentes y efluentes de EDAR y en aguas superficiales de Alemania en concentraciones por debajo de  $635 \text{ ng L}^{-1}$  (Heberer y col., 2002).

Diversos estudios muestran que tanto el fármaco carbamacepina (Heberer y col, 2002; Kuehn y Mueller, 2000) como la primidona (Heberer, 2002b) no se descomponen durante los procesos de infiltración, siendo detectados en pozos de aguas subterráneas. Esto explica que la carbamacepina se haya detectado en aguas subterráneas a concentraciones de incluso  $1.1 \mu\text{g L}^{-1}$  (Sacher y col., 2001; Seiler y col., 1999), además de en aguas potables a concentraciones de hasta  $30 \text{ ng L}^{-1}$ .

#### **2.1.4. $\beta$ -Bloqueantes**

Los fármacos  $\beta$ -bloqueantes son sustancias empleadas en el tratamiento de la hipertensión arterial o la prevención de los infartos cardiacos. Son productos que bloquean la acción de un exceso de secreción de adrenalina en los receptores beta adrenérgicos del organismo. El sistema adrenérgico implica varias actividades fisiológicas tales como regulación de las necesidades de latidos y oxígeno del corazón, mecanismos de vasodilatación de los vasos sanguíneos y broncodilatación.

Entre los betabloqueantes detectados en muestras de aguas residuales se encuentran metoprolol, propranolol, betaxolol, bisoprolol o nanodol (Hirsch y col., 1998; Sedlak y Pinkston, 2001; Ternes, 1998). De estos, solo metoprolol, propranolol y bisoprolol se han detectado en muestras de aguas superficiales, aunque a concentraciones cercanas a los límites de detección (Hirsch y col., 1998; Ternes, 1998). Sacher y col. (2001) determinaron sotanolol a concentraciones de hasta 560 ng L<sup>-1</sup> en muestras de aguas subterráneas de Baden Wurtemberg, Alemania.

### **2.1.5. Antilipémicos**

Los fármacos antilipémicos o reguladores lipídicos son medicamentos empleados para reducir el colesterol y ciertas sustancias grasas de la sangre. Entre estos se encuentran los fármacos gemfibrozilo, fenofibrato, clofibrato o su principal metabolito, ácido clofibrico.

El ácido clofibrico fue el primer fármaco detectado en muestras de aguas residuales (Garrison y col., 1976; Heberer y Stan, 1997), y hoy día sigue siendo uno de los principios activos farmacológicos que se detectan con más frecuencia en muestras medioambientales, encontrándose en aguas residuales, superficiales y marinas (Buser y Müller, 1998; Ternes, 1998). Heberer y Stan (1997) determinaron concentraciones de ácido clofibrico por debajo de 4 µg L<sup>-1</sup> en aguas subterráneas tomadas de puntos cercanos a campos regados con agua residuales y niveles por debajo de 270 ng L<sup>-1</sup> en aguas potables de Alemania.

En otras experiencias realizadas en países como Austria, Brasil o Alemania, se ha detectado la presencia de este fármaco en aguas residuales, superficiales y subterráneas (Ahrer y col., 2001; Heberer y Stan, 1997; Stumpf y col., 1999; Ternes, 1998; Öllers y col., 2001).

Otros reguladores lipídicos como bezafibrato, gemfibrozilo y ácido fenofibrico, metabolito del fármaco fenofibrato, han sido detectados a concentraciones del orden de los µg L<sup>-1</sup> en efluentes de EDARs y aguas superficiales (Ahrer y col., 2001; Farré y col., 2001; Sedlak y Pinkston, 2001; Stumpf y col., 1999; Ternes, 1998). Los fármacos bezafibrato y gemfibrozil se han detectado en muestras de aguas subterráneas a

concentraciones máximas de  $190 \text{ ng L}^{-1}$  y  $340 \text{ ng L}^{-1}$ , respectivamente (Heberer, 2002b; Ternes, 2001).

### 2.1.6. Hormonas

Los fármacos estrogénicos, fundamentalmente los xenoestrógenos sintéticos, se emplean habitualmente en terapias de sustitución de estrógenos y como anticonceptivos orales. En veterinaria, estos fármacos se han empleado como promotores de crecimiento.

La lista de los contaminantes antropogénicos de los que se sospecha que tengan posibles efectos disruptores en el sistema endocrino es larga, sin embargo, son las hormonas naturales (estrona,  $17\beta$ -estradiol, estriol) y sintéticas (mestranol,  $17\alpha$ -etinilestradiol) los que causan una mayor contribución a la actividad estrogénica observada en los efluentes de EDAR (Aerni y col., 2004).

Varias investigaciones realizadas en países como Francia, Canadá, Suecia, Inglaterra, Italia, España o Estados Unidos (Baroni y col., 2000; Cargouët y col., 2004; Carballa y col., 2004; Fawell y col., 2001; Lishman y col., 2006; Servos y col., 2005; Svenson y col., 2003) muestran la presencia de estrógenos en las aguas residuales a concentraciones de  $\text{ng L}^{-1}$ . Diversas hormonas han sido detectadas en influentes y efluentes de EDAR en París (Cargouët y col., 2004) en unos rangos de concentración de  $6.2 - 17.6 \text{ ng L}^{-1}$ ,  $4.5 - 17.4 \text{ ng L}^{-1}$ ,  $5.0 - 15.2 \text{ ng L}^{-1}$  y  $2.7 - 4.5 \text{ ng L}^{-1}$  para estrona,  $17\beta$ -estradiol, estriol y  $17\alpha$ -etinilestradiol, respectivamente.

En Alemania se detectaron estrona,  $17\beta$ -etinilestradiol y estriol a concentraciones por debajo de  $80 \text{ ng L}^{-1}$  en las aguas influentes a EDAR de Italia (Baroni y col., 2000; Johnson y col., 2000). Estas hormonas no son completamente eliminadas en los procesos de depuración de aguas, por lo que aun están presentes en efluentes de EDARs y aguas superficiales, aunque a concentraciones inferiores a  $50 \text{ ng L}^{-1}$  (estrona) y  $10 \text{ ng L}^{-1}$  ( $17\beta$ -etinilestradiol).

### 2.1.7. Anticancerígenos

Debido a que estos principios activos se emplean solo en el ámbito hospitalario para el tratamiento del cáncer con quimioterapia, aparecen principalmente en efluentes hospitalarios, encontrándose a bajas concentraciones en muestras de aguas residuales de EDARs.

Entre los fármacos anticancerígenos detectados en el medio ambiente se encuentran los alquilantes ifosfamida y ciclofosfamida o el antiestrogénico tamoxifeno.

Los fármacos ifosfamida y ciclofosfamida se encuentran en concentraciones por debajo de  $4.5 \mu\text{g L}^{-1}$  en efluentes de hospitales (Stegler-Hartmann y col., 1997) y en concentraciones inferiores a  $43 \text{ ng L}^{-1}$  en aguas residuales de EDARs (Krümmerer y col., 1997; Stegler-Hartmann y col., 1997).

El antiestrogénico tamoxifeno, empleado en el tratamiento del cáncer de pecho ha sido detectado en aguas residuales en el Reino Unido a concentraciones comprendidas entre  $146$  y  $369 \text{ ng L}^{-1}$  en efluentes de EDARs (Roberts y Thomas, 2006). Además, la concentración de este fármaco no se ve reducida en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales, de modo que aparece en aguas superficiales a concentraciones de entre  $27$  y  $212 \text{ ng L}^{-1}$ , con una concentración media de  $53 \text{ ng L}^{-1}$  (Roberts y Thomas, 2006; Thomas y Hilton, 2004).

### 2.1.8. Cafeína

La cafeína ha estado sujeta a numerosas investigaciones debido a su amplia presencia en la naturaleza y a su amplio uso. Se han identificado más de 60 plantas que contienen cafeína, y de una forma u otra, todas han sido consumidas desde hace miles de años. Por ello, la cafeína constituye una de las principales sustancias de carácter antropogénico que se encuentra presente en el medio acuático. Su elevada persistencia se debe a su elevada solubilidad ( $13.5 \text{ g L}^{-1}$ ), su bajo coeficiente de partición octanol-agua ( $\log K_{OW} = -0.07$ ), y su inexistente volatilidad. De hecho, estas propiedades junto con su origen antropogénico, han hecho que la cafeína, al igual que la carbamacepina,

haya sido propuesta como marcador antropogénico por diversos autores (Ferreira y col., 2005).

La principal fuente de cafeína a las aguas residuales urbanas la constituye el vertido de café, té, refrescos o medicamentos sin consumir a través del retrete (Buerge y col., 2003; Seiler y col., 1999; Siegener y Chen, 2002). Además, como se ha mencionado anteriormente, la cafeína no se degrada completamente en los procesos de depuración, por lo que ha sido detectada de forma habitual en muestras de aguas superficiales y subterráneas de países como Alemania, Inglaterra, Escocia, Estados Unidos y Noruega, entre otros (Batt y col., 2006; Ternes y col., 2001; Weigel y col., 2004; Weigel y col., 2002)

Verenitch y col. (2006) analizaron muestras de aguas residuales y ríos a los que se vierten efluentes de EDARs. Detectaron concentraciones de cafeína en los efluentes de EDARs que se situaron en un rango de entre  $1.74 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $8.13 \mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que esta concentración de descarga se ve reducida en aguas de río a niveles comprendidos entre  $29 \text{ ng L}^{-1}$  y  $1.59 \mu\text{g L}^{-1}$  en relación con la distancia al punto en el que se produce la descarga del efluente. La cafeína ha sido detectada en aguas subterráneas a concentraciones de hasta  $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$  (Chen y col., 2002) y en agua marina a concentraciones cercanas a los  $10 \text{ ng L}^{-1}$  (Gardinali y Zhao, 2002).

## 2.2. Distribución en el medio Terrestre

En contraste con el medio acuático, la distribución de fármacos en matrices sólidas, tales como suelo, sedimentos o lodos, no está aun suficientemente estudiada. La contribución más significativa a la presencia de estas sustancias en matrices sólidas la proporcionan aquellos fármacos empleados en veterinaria, entre los que se incluyen los promotores de crecimiento empleados tanto en animales de granja como en piscifactorías.

La distribución de los principios activos farmacológicos en el medio acuático y terrestre viene asociada directamente a los coeficientes de partición octanol-agua ( $K_{OW}$ ) que se define como la relación entre las concentraciones de equilibrio de una sustancia en octanol y en agua a una temperatura específica y los coeficientes de partición sólido-

líquido ( $K_d$ ), dados como la relación entre la concentración de equilibrio del fármaco en las fases sólida (suelo o lodo) y líquida (Tabla 1.1.)

La mayoría de los fármacos son solubles en agua, biodegradables y presentan tiempos de vida media cortos. Sin embargo, algunos como el gemfibrozilo o ciertos estrógenos presentan coeficientes de distribución altos, por lo que se podría esperar cierta tendencia a quedar en la fase sólida, disminuyendo la concentración en el medio acuático.

Debido a ello, algunos fármacos como estradiol, ciprofloxacino, eritromicina, ibuprofeno, naproxeno, tetraciclina o tilosin, además de fluoroquinolonas o avermectinas presentan cierta afinidad por la materia sólida, por lo que cabría esperar su presencia en lodos o suelos.

La mayor parte de los datos encontrados en la literatura en cuanto a la presencia de fármacos en matrices sólidas está referida a la distribución de estrógenos. Con respecto a estos, los sedimentos constituyen una reserva potencial de  $17\beta$ -estradiol,  $17\beta$ -etinilestradiol y estrona (Petrovic y col., 2001; Williams y col., 1999). Se observa además cierta variación estacional, con promedios de concentración superiores durante el invierno.

Otro grupo de fármacos habitualmente medido en matrices sólidas son los antibióticos, entre los que se incluyen aquellos empleados como promotores de crecimiento en veterinaria, los cuales suelen encontrarse en el abono a concentraciones del orden de  $\mu\text{g kg}^{-1}$ . Haller y col. (2002) determinaron la concentración de sulfonamidas en abono de ganado y cerdo, encontrando sólo dos de estos antibióticos (sulfametazina y sulfatiazol) en un rango de concentración de entre  $0.10 \mu\text{g kg}^{-1}$  y  $12.4 \mu\text{g kg}^{-1}$ .

Además, como consecuencia de la aplicación de estos abonos, los antibióticos tetraciclina y clortetraciclina, se han detectado en suelos a niveles de concentración de  $171.7 \mu\text{g kg}^{-1}$  el primero, y en un rango comprendido entre  $4.6$  y  $7.3 \mu\text{g kg}^{-1}$ , el segundo (Hamscher y col., 2002).

**Tabla 1.1.**  
**Propiedades fisicoquímicas de algunos principios activos farmacológicos (Beausse, 2004)**

Principio activo	log K <sub>OW</sub>	pK <sub>a</sub>	K <sub>d</sub> (suelo-agua)	K <sub>d</sub> (lodo-agua)	Referencias
17 $\alpha$ -etinilestradiol	4.15	10.4	-	-	Ying y col., 2002 Hurwitz y Lui, 1977
17 $\beta$ -estradiol	3.94	n.d.			Ying y col., 2002
Ac. Acetilsalicílico	1.19	3.5	n.d.	2.2	Stuer-Lauridsen y col., 2000 Meylan, 1993
Amoxicilina	0.87	2.4	n.d.	1.06	Jones y col., 2002 Khan y Ongerth, 2002
Ampicilina	1.45	2.53			
Avermectina	3.19	n.d.	7 – 134	n.d.	Meylan, 1993 Gruber y col., 1990
Bezafibrato	4.25	3.6			Huber y col., 2003
Carbamacepina	2.45; 2.25	13.9	n.d.	25.52	Khan y Ongerth, 2002 Jones y col., 2002 Drillia y col., 2003
Ácido Clofibrico	2.57	n.d.	n.d.	n.d.	Drillia y col., 2003
Cloranfenicol	1.14	n.d.			Meylan, 1993
Clortetraciclina	-0.62	6.5			Halling-Sørensen y col., 2003
Ciprofloxacino	0.4	6.38; 5.9	427.0	416.9	Stuer-Lauridsen y col., 2000 Drakopoulos y Ioannou, 1997 Nowara y col., 1997
Diclofenaco	4.51; 0.70	4.15	-	0.72	Jones y col., 2002 Avdeef y col., 2002
Enrofloxacino	1.1	6.27	260-6310	n.d.	Meylan, 1993 Nowara y col., 1997
Eritromicina	3.06	8.9	n.d.	164.76	Jones y col., 2002 Khan y Ongerth 2002
Estradiol			n.d.	1468	Stuer-Lauridsen y col., 2000
Estriol	2.8	n.d.			Ying y col., 2002 Hurwitz y Lui, 1977
Estrona	3.43	n.d.			Ying y col., 2002
Gemfibrozilo	4.77	n.d.			Khan y Ongerth 2002
Ibuprofeno	3.97	4.42; 4.51	n.d.	453.79	Jones y col., 2002 Khan y Ongerth 2002 Wan y col., 2002

**Tabla 1.1.**  
**(Continuación)**

Principio activo	log K <sub>OW</sub>	pK <sub>a</sub>	K <sub>d</sub> (suelo-agua)	K <sub>d</sub> (lodo-agua)	Referencias
Ketoprofeno	3.12-3.16	4.45			Avdeef y col., 2002 Tixier y col., 2003
Naproxeno	3.18	4.2	n.d.	217.20	Jones y col., 2002 Khan y Ongerth 2002
Norfloxaxino	-1.0	6.4			Drakopoulos y Ioannou 1997 Takacs-Novak y col., 1992
Ofloxacino	0.35	5.97	309	n.d.	Drakopoulos y Ioannou 1997 Nowara y col., 1997
Oxitetraciclina	-1.22	3.27	420-1030	0.02	Jones y col., 2002 Wollenberger y col., 2000 buser y col., 1999 Rabølle y Spliid, 2000
Paracetamol	0.46	9.5	n.d.	0.4139	Jones y col., 2002 Khan y Ongerth 2002
Penicilina	1.87	2.79			
Fenazona	0.38	1.4			
Primidona	0.91	n.d.			
Propranolol	n.d.	9.49	-	n.d.	
Roxitromicina	2.75	8.8			Huber y col., 2003
Ácido Salicílico	2.26; 1.19	3.5			Khan y Ongerth, 2002 Jones y col., 2002
Sulfadiacina	-0.09	n.d.			Halling-Sørensen y col., 2003
Sulfameracina	0.21	7.0			
Sulfametacina	0.89	2.65	1 – 3.1	n.d.	Meylan, 1993 Papastephanou y Frantz, 1997
Sulfametoxazol	0.89	5.7	-	n.d.	Huber y col. 2003 Kolpin col., 2002
Sulfatiazol	0.05	2	4.9	n.d.	Tolls, 2001
Tetraciclina	-1.19	3.30	1140-1620	n.d.	Wollenberger y col., 2000 Buser y col., 1999 Sithole y Guy, 1987
Trimetoprim	n.d.	6.6			
Tilosin	3.5	1.1	8.3 – 128	n.d.	Wollenberger y col., 2000 Rabølle y Spliid 2000

n.d: no disponible

El fármaco carbamacepina, por su parte, muestra una afinidad moderada por la materia sólida (Löffler y col., 2005). En la actualidad hay pocos estudios acerca de la distribución de compuestos como carbamacepina o cafeína en matrices sólidas. En un

estudio realizado sobre suelo irrigado con efluentes de EDAR (Kinney y col., 2006) se detectó la presencia de ambos compuestos sugiriéndose que estas sustancias pueden ser lo suficientemente móviles, como para introducirse hacia las capas más profundas del suelo.

En cuanto a los fármacos antiinflamatorios, actualmente existen pocos estudios que muestren la presencia y distribución de éstos en matrices sólidas. La mayor parte de los datos disponibles en la literatura en relación a la retención de fármacos antiinflamatorios en suelos, sedimentos o lodos están referidos al fármaco ibuprofeno. Éste presenta una afinidad relativamente baja en sedimentos con unos porcentajes de retención de entre el 9 % y el 19 % (Löffler y col., 2005).

Khan y Ongerth (2002) estimaron la concentración de los fármacos paracetamol, naproxeno, ibuprofeno, carbamacepina y ácido salicílico en lodos primarios y digeridos, situando el rango de concentración en materia seca entre  $1.2 \mu\text{g kg}^{-1}$  (naproxeno) y  $13.7 \mu\text{g kg}^{-1}$  (ibuprofeno).

### **3. EFECTOS SOBRE EL MEDIO AMBIENTE**

Actualmente, los principios activos farmacológicos pueden considerarse como las sustancias sintéticas de consumo humano y veterinario más estudiadas y caracterizadas, incluyendo sus posibles efectos tóxicos, actividad farmacodinámica y propiedades farmacocinéticas. Sin embargo, tales sustancias, tras ser excretadas y vertidas al medio ambiente, pueden causar diversos efectos, no solo sobre personas (o animales en el caso de aquellos fármacos empleados en veterinaria), sino también sobre otros organismos acuáticos o terrestres.

Como se mencionó anteriormente, los principios activos farmacológicos se diseñan para curar o mitigar los efectos de enfermedades en el organismo siguiendo diferentes vías metabólicas, sin embargo, a menudo presentan ciertos efectos secundarios, que aunque en principio puedan pasar desapercibidos en humanos y animales, pueden ser de enorme importancia para los microorganismos afectados.

Además, pese a que los fármacos son sustancias diseñadas para su uso en humanos, los organismos presentes en el medio pueden presentar los mismos órganos, tejidos, células, biomoléculas o receptores enzimáticos que los organismos para los que, en un principio, tales sustancias fueron diseñadas (Fent y col., 2006). Debido a ello, y para evaluar los posibles efectos tóxicos de un fármaco en el medioambiente, es necesario realizar experiencias con diferentes organismos (vertebrados e invertebrados) bajo la suposición de que tales sustancias presentan modos de actuación similares en dichos organismos.

A su vez, debido a las bajas concentraciones presentes en el medio ambiente, junto con la continua introducción de estas sustancias al medio acuático y terrestre, es necesario, no sólo evaluar los posibles efectos letales, sino además los efectos crónicos que se derivan de la continua exposición a tales sustancias. Por ejemplo, algunos organismos no presentan receptores beta adrenérgicos, por lo que, en principio, no se verán afectados por los efectos farmacodinámicos de los fármacos  $\beta$ -bloqueantes, siendo estos efectos farmacodinámicos exclusivos de los mamíferos. Sin embargo, tales sustancias podrían presentar efectos secundarios de importancia para los organismos afectados.

En este epígrafe se describen los modos de actuación en el organismo objetivo, las posibles similitudes con el modo de actuación en los organismos afectados por la zona contaminada y los distintos efectos descritos en la literatura para cada uno de los grupos farmacológicos.

### **3.1. Analgésicos y antiinflamatorios**

Los fármacos antiinflamatorios actúan inhibiendo de forma reversible o irreversible una o las dos formas isomórficas de la enzima ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) implicada en la síntesis de prostaglandinas, las cuales causan sensación de dolor al irritar las terminaciones nerviosas. Los antiinflamatorios clásicos inhiben la acción de ambas enzimas, mientras que los nuevos antiinflamatorios actúan de forma selectiva sobre la enzima ciclooxigenasa-2.

Cada una de las isoformas de la enzima ciclooxigenasa tiene actividades fisiológicas distintas. La isoforma COX-2 es la responsable de las reacciones

inflamatorias, mientras que la forma COX-1 se relaciona con la protección de la mucosa intestinal (Seiler, 2002).

Las prostaglandinas están implicadas en diversas actividades fisiológicas, como procesos de inflamación y dolor, flujo de sangre en los riñones, procesos de coagulación, etc. La mayoría de los efectos secundarios, tales como náuseas, diarrea, aumento de la presión arterial o inflamación de riñón, producidos por estos medicamentos están relacionados con la acción de las prostaglandinas.

En ciertas especies de peces, algunos estudios han mostrado la implicación de macrófagos en respuesta a inflamaciones en las que las prostaglandinas también están implicadas, considerándose estos macrófagos como homólogos de las enzimas COX-1 y COX-2.

Por otra parte, las prostaglandinas también se originan en invertebrados, como los corales, sin embargo, la síntesis de prostaglandinas no está relacionada con la enzima COX (Song y Brash, 1991). En artrópodos se encuentran actividades similares a la enzima COX en la producción de prostaglandinas, aunque estas enzimas no están bien caracterizadas.

Con todo ello y a pesar de la relevancia medioambiental adquirida en los últimos años por los principios activos farmacológicos, muchos de los efectos adversos de estos fármacos sobre el medio ambiente son aun desconocidos. Diversas investigaciones muestran una elevada toxicidad de los antiinflamatorios diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno (Daughton y Ternes, 1999, Stuer-Lauridsen y col., 2000) en invertebrados o algas (Cleuvers, 2003; Ferrari y col., 2003). El fármaco ibuprofeno inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas (Halling-Sørensen y col., 1998) y el ácido acetilsalicílico afecta a la reproducción de *Daphnia Magna* a concentraciones de  $1.8 \text{ mg L}^{-1}$  (Marques y col., 2004). Por su parte, el fármaco diclofenaco, tras días de exposición, causa efectos crónicos sobre ciertas especies de peces como la trucha, causando lesiones renales, alteraciones en las escamas, o incluso diversos efectos a nivel celular (Schwaiger y col., 2004).

### 3.2. Antibióticos

Los antibióticos, o agentes microbianos, son sustancias que se emplean en el tratamiento de las infecciones y, como se ha mencionado, actúan a través de dos mecanismos: matando los microorganismos existentes (acción bactericida), e impidiendo el crecimiento (acción bacteriostática).

De entre todos los grupos terapéuticos, son los antibióticos los que han recibido mayor atención en cuanto a la presencia y efectos en el medio ambiente.

Los antibióticos tienen un efecto diferente al de otros fármacos, debido principalmente a que en su caso, son las bacterias presentes en el organismo, los principales objetivos de estos fármacos. En los últimos años se ha producido un aumento en el uso de antibióticos que ha producido una selección genética a nivel bacteriano, provocando la supervivencia de bacterias más perjudiciales (Jorgensen y Halling-Sørensen, 2000). Además, la presencia de antibióticos en aguas y suelos tiene como consecuencia la producción de una resistencia bacteriana a tales fármacos (Kümmerer y Henninger, 2003; Leff y col, 1993), pudiéndose producir dificultades a la hora de tratar ciertas enfermedades. No obstante, la falta de información relativa a este grupo de fármacos no permite la obtención de conclusiones en lo referente al impacto real que supone la presencia de tales sustancias en el medio ambiente.

Estudios realizados por Carlsson y col. (2006) basados en las recomendaciones de la EMEA, establecen que antibióticos como tetraciclina u oxitetraciclina no deben suponer un riesgo para el medio ambiente en regiones donde las aguas residuales sufren una dilución al llegar a los cauces receptores. Sin embargo, varios organismos podrían sufrir efectos muy tóxicos ante la exposición a antibióticos como estreptomina u oxitetraciclina (Halling-Sørensen y col., 1998).

Varias de estas sustancias muestran una fuerte inhibición en el crecimiento de ciertas algas, además, se pueden producir efectos de sinergismo a través de la combinación de fármacos empleados de forma habitual en veterinaria. Ensayos realizados con sulfadimetoxina u oxitetraciclina muestran sus características tóxicas para organismos invertebrados (Halling-Sørensen y col., 1998; Wollenberg y col.,

2000). En consecuencia, concentraciones bajas de estas sustancias, podrían afectar a la estructura de la comunidad microbiológica, e incluso llegar a afectar a la cadena alimenticia (Hernando y col., 2006).

### 3.3. Antiepilépticos

Los fármacos antiepilépticos actúan sobre el sistema nervioso central produciendo una reducción de la actividad neuronal. Esta actuación se puede realizar a través de dos vías: bloqueo de los canales de sodio y la reducción de la liberación de glutamato (carbamacepina) o un aumento en los efectos inhibitorios del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (neurotransmisor GABA) a través de enlaces en los sitios específicos de las subunidades gamma en los receptores correspondientes (diazepam).

Hay evidencias de la presencia del sistema GABA en peces como la trucha (*O. Mykiss*), sin embargo, no se han observado los canales de sodio en peces o invertebrados.

Tanto diazepam como carbamacepina han sido clasificados como sustancias potencialmente peligrosas para el medio acuático, debido a que la mayoría de las especies estudiadas muestran unos efectos agudos a concentraciones por debajo de los 100 mg L<sup>-1</sup>. Para ambos compuestos es la *D. Magna* el organismo más afectado, situándose los valores de toxicidad aguda a concentraciones de 17.2 mg L<sup>-1</sup>, sin embargo, se produce una inhibición del crecimiento a partir de concentraciones de 12.7 mg L<sup>-1</sup> (Fent y col., 2006).

El fármaco carbamacepina no es mutagénico en células de mamífero pero se considera carcinogénico en ratas, además, resulta letal para el pez cebrá a concentraciones de 43  $\mu$ g L<sup>-1</sup> (Thaker, 2005).

### 3.4. $\beta$ -bloqueantes

Los fármacos  $\beta$ -bloqueantes actúan por inhibición competitiva de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos. El sistema adrenérgico está implicado en ciertas actividades fisiológicas

tales como regulación de las necesidades de oxígeno y latidos del corazón, mecanismos de vasodilatación de los vasos sanguíneos y broncodilatación. Se emplean en el tratamiento de la hipertensión y en la prevención de ataques al corazón.

En relación con las necesidades médicas, los fármacos  $\beta$ -bloqueantes pueden inhibir de forma selectiva los receptores beta. Estos pueden ser de dos tipos:  $\beta$ -1 y  $\beta$ -2, que se encuentran en diferentes órganos. Los efectos secundarios que pueden causar este tipo de fármacos pueden ser pulmonares (acortamiento sintomático de la respiración), cardiacos (bradicardia), metabólicos (aumento de triglicéridos) o renales (disminución del flujo sanguíneo renal).

En peces, se han encontrados receptores  $\beta$ - adrenérgicos con un alto grado de similitud con otros vertebrados. Por ejemplo, en la trucha, el gen adrenoreceptor se encuentra principalmente en el hígado y músculos, y en menor medida en agallas, corazón, riñón, etc.

Varias investigaciones señalan la importancia de estudiar los modos de acción de estos fármacos en los organismos acuáticos, tanto vertebrados como invertebrados (Daughton y Ternes, 1999). Debido a su modo de actuación, los fármacos  $\beta$ -bloqueantes pueden actuar sobre diversas actividades fisiológicas de los organismos acuáticos. Así, el  $\beta$ -bloqueante propranolol puede afectar a la reproducción de ciertos organismos acuáticos (Huggett y col., 2002). Los peces, que contienen receptores beta en el corazón e hígado (Gamprel y col., 1994) y en el tejido reproductor (Haider y Baqri, 2000), pueden sufrir los efectos de este tipo de fármacos. En ciertas especies de peces, el fármaco propranolol puede afectar al crecimiento tras 14 días de exposición a concentraciones de  $0.5 \text{ mg L}^{-1}$ . Además, a concentraciones inferiores, no afecta a la producción de huevos, sin embargo, los niveles de esteroides en plasma se ven seriamente alterados (Huggett y col., 2002).

### **3.5. Antilipémicos**

Existen dos tipos principales de reguladores lipídicos: las estatinas y los fibratos, siendo estos últimos los que se detectan de forma más habitual en el medioambiente.

Ambas sustancias se emplean para la reducción de los niveles de colesterol en la sangre, mientras que los fibratos se emplean también para la reducción de los triglicéridos en el plasma sanguíneo.

Las estatinas actúan inhibiendo la síntesis de colesterol a través de la inhibición de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA), enzima limitante en la síntesis de colesterol en el hígado. Además, eliminan la acumulación de colesterol en las arterias.

Por otro lado, las estatinas producen un gran número de moléculas en el organismo, en especial isoprenoles, que pueden participar en múltiples vías metabólicas, produciendo ciertos efectos antiinflamatorios, antioxidantes, etc.

Los fibratos son los fármacos de primera elección en el manejo de la hipertrigliceridemia y son también capaces de aumentar sustancialmente los niveles de la lipoproteína de alta densidad (HDL). Actúan modulando la transcripción de diferentes genes involucrados en el metabolismo de lipoproteínas.

El efecto de los fibratos puede deberse a un aumento en la expresión de lipoproteína lipasa, responsable de la transformación de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en HDL, disminuyendo así la concentración de triglicéridos en el plasma. En el mecanismo de acción se ven implicadas un grupo de proteínas denominado Receptores Activados por Proliferadores Peroxisomales (*Peroxisome Proliferation Activated Receptor*, PPAR), a los que se enlazan los fibratos induciendo la lipoproteína lipasa en el hígado. Estas proteínas son de tres tipos  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ , actuando este tipo de fármacos sobre el PPAR- $\alpha$ .

Los genes PPAR se han encontrado en peces como salmón (Ruyter y col., 1997), platija (Leaver y col., 1998) o pez cebra (Ibabe y col., 2002), encontrándose una similitud de aproximadamente el 50 % con el PPAR- $\gamma$  humano. Además, en ciertas especies de peces, como el salmón, se han encontrado respuestas a los fármacos clofibrato y bezafibrato por parte del PPAR- $\gamma$ .

En base a estudios de toxicidad, los compuestos genfibrocilo y ácido clofibrico pueden resultar muy tóxicos para las bacterias, mientras que la mayoría de los antilipémicos probados con diversos invertebrados no resultan peligrosos, a excepción del fenofibrato (Hernando y col., 2006).

El genfibrocilo se introduce en los peces a través de las agallas, pudiendo producirse fenómenos de bioconcentración en peces. El tiempo de vida media de este fármaco en peces es de 19 h, frente a las 1.5 h de residencia en humanos, sin embargo, se desconoce si este fármaco interactúa con las proteínas del plasma o cómo se produce su eliminación. Además, este fármaco podría producir una respuesta endocrina en peces, tal como una reducción en la circulación de testosterona (Mimeault y col., 2005).

### **3.6. Hormonas**

Hormonas femeninas como el estradiol, el estriol o la estrona, que se hallan de forma natural en la mujer y, en menor cantidad, en el hombre, se pueden encontrar presentes en las aguas residuales de núcleos urbanos como consecuencia de su excreción. Otra fuente de compuestos estrogénicos son las hormonas sintéticas como el etinilestradiol, un potente estrógeno que se prescribe como anticonceptivo y para el tratamiento de varios cánceres, especialmente de próstata y de mama.

Además, el crecimiento humano, el desarrollo de la coordinación y madurez implican complejas interacciones de señales hormonales cuya cronología y dosis puede provocar consecuencias permanentes en la forma y funcionalidad de algunos tejidos. Por ello, la exposición a pequeñas cantidades de hormonas durante largos periodos de tiempo puede alterar el desarrollo de tejidos, lo que podría conllevar cambios permanentes en la naturaleza del organismo (Colborn y col., 1993).

La mayor parte de los datos de toxicidad de hormonas esteroideas están referidos al  $17\alpha$ -etinilestradiol, dietilstibestrol. Estas sustancias pueden actuar como disruptores endocrinos, interfiriendo con el sistema hormonal que regula las funciones reproductoras. Hasta el momento, el mecanismo de acción de tales sustancias es, en parte, desconocido. Dicho mecanismo podría transcurrir a través de distintas vías: efectos antagónicos, disrupción de la producción, transporte, metabolismo o secreción

de las hormonas naturales y disrupción de la producción o función de los receptores hormonales (Goksoyr, 2006).

Sustancias como el  $17\alpha$ -etinilestradiol o el dietinilstilbestrol pueden resultar tóxicas para algas, invertebrados y peces (Halling-Sørensen y col., 1998). Estudios realizados sobre peces muestran que una exposición a  $17\beta$ -estradiol puede producir una inversión sexual en el madeka japonés (*Oryzias latipes*) (Patyna y col., 1999) y Carpa (Nimrod y Benson, 1998), así como una reducción del sexo masculino y de la producción de huevos. En invertebrados se han observado efectos similares, así como adelgazamiento de la cáscara del huevo en aves (Arcand-Hoy y col., 1998).

### 3.7. Anticancerígenos

Los fármacos empleados en el tratamiento contra el cáncer actúan inhibiendo la proliferación celular. En la actualidad hay comercializados aproximadamente unos 50 tipos de fármacos para el tratamiento del cáncer, que se clasifican en distintos tipos en función de su modo de acción (Tjaden y Bruijn, 1990).

*Agentes alquilantes* (mecloretamida, ciclofosfamida, cisplatino, busulfán, etc.): son fármacos que funcionan atacando directamente el ADN de una célula, actuando en cualquier momento del ciclo celular. Su mecanismo de acción consiste en transferir grupos alquílicos a los componentes principales de la matriz celular, es decir, añaden grupos alquílicos a las bases de ADN, con lo que interfieren en la replicación y transcripción del ADN, permitiendo uniones cruzadas de las cadenas de ADN y emparejamientos anormales de los pares de bases, o roturas de las cadenas de ADN, lo que inhibe la multiplicación de las células cancerosas.

*Antibióticos anticancerígenos o citostáticos* (doxorubicina, mitomicina-C, idarubicina, etc.): actúan uniéndose con el ADN para evitar la síntesis de ARN. Estos fármacos también impiden el crecimiento celular al imposibilitar la replicación de DNA. Los antibióticos antitumorales evitan que el ADN se vuelva a fijar a sí mismo, lo que provoca la muerte celular.

*Hormonas esteroideas* (flutamida, tamoxifeno): se trata de fármacos que modifican el crecimiento de los cánceres con dependencia hormonal. Provocan un cambio en la forma tridimensional de los receptores en las células, hecho que impide que la célula se fije al requerido elemento de respuesta de estrógeno presente en el ADN.

*Antimetabolitos* (6-mercaptopurina, 5-fluorouracilo, etc.): actúan bloqueando el crecimiento celular al interferir con la síntesis del ADN. Estos medicamentos operan simulando una sustancia que participa en la síntesis del ADN e inhiben la producción de un ácido necesario para que el DNA sea sintetizado.

Por su actividad metabólica, los anticancerígenos constituyen un grupo de fármacos de importancia para el medio ambiente, no solo por su toxicidad aguda, sino además, por su capacidad para provocar alteraciones genéticas (Daughton y Ternes, 1999).

Además, debido a su actividad farmacológica, actúan sobre las células cancerígenas, pero también sobre células sanas, pudiendo tener propiedades cancerígenas, mutagénicas o embriotóxicas, sobre diversos organismos acuáticos (Heberer, 2002b).

### **3.8. Cafeína**

Las acciones farmacológicas más significativas de la cafeína son las ejercidas sobre el sistema nervioso central y el aparato cardiovascular. La cafeína es el derivado xántico que ejerce la estimulación más potente sobre el sistema nervioso central, con acción cortical, bulbar y medular. A dosis bajas estimula, además de los centros bulbares (respiratorio y vaso motor), la corteza cerebral, exaltando las funciones sensoriales y químicas, y produciendo, entre otros efectos, disminución de la sensación de fatiga y abatimiento. A dosis muy elevadas actúa sobre la médula espinal, pudiendo aparecer cuadro de hiperexcitabilidad muscular y convulsiones. Es un vasodilatador a nivel periférico y un vasoconstrictor a nivel de las arterias cerebrales.

La cafeína se enlaza a los receptores de adenosina llamados A1 (implicado en el control del ritmo cardiaco) y A2 (implicados en la vasodilatación) e impide la acción de la misma. Con el aumento de la actividad nerviosa la glándula pituitaria libera grandes cantidades de adrenalina dando lugar a una serie de efectos como: taquicardia, aumento de la presión arterial, apertura de los tubos respiratorios aumentando el metabolismo y dando lugar a la contracción de los músculos entre otros.

Existen en la literatura muy pocos estudios a cerca de los efectos tóxicos de la cafeína en el medio ambiente. Schmitt y col. (2005) realizaron estudios sobre levadura de cerveza (*Saccharomyces cerevisiae*) para determinar la toxicidad y genotoxicidad de diversos contaminantes presentes en las aguas. En este estudio, la cafeína mostró una escasa toxicidad, con resultados crónicos a concentraciones por encima de 641 mg L<sup>-1</sup>. Además, altas dosis de cafeína provocan una señal genotóxica, dada como una inhibición de los mecanismos de reparación del ADN, causando la acumulación de lesiones en el ADN.

### **3.9. Efectos causados por combinación de principios activos farmacológicos**

Los residuos farmacológicos que se encuentran en el medio acuático, se encuentran presentes como mezcla, y no como componentes individuales. Por ello, la evaluación del riesgo para el medio ambiente podría verse desde un enfoque conjunto, y no como el riesgo asociado a cada una de estas sustancias por separado. Sin embargo, se encuentran en la literatura pocos estudios a cerca de los efectos tóxicos de las mezclas de fármacos (Brain y col., 2004; Cleuvers, 2004; Cleuvers, 2003).

Básicamente, se podrían señalar dos modos de actuación a la hora de predecir los efectos sobre el medio ambiente de una mezcla de fármacos: adición del total de concentraciones y efectos de concentraciones individuales. Estudios realizados con mezcla de varios antiinflamatorios (diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y ácido acetilsalicílico) muestran que a la concentración a la que dicha mezcla resulta ser tóxica, para *D. Magna* o *D. Subspicatus*, no lo son los componentes de la mezcla de forma individual. Esto indica que en la mezcla se produce un efecto sinérgico en la concentración de cada uno de los fármacos (Cleuvers, 2004).

Cleuvers (2003) realizó estudios de toxicidad de mezcla de diversos fármacos sobre *D. Magna* y *L. Minor*. Comprobó que la mezcla de carbamacepina y ácido clofibrico causaba sobre *D. Magna* unos efectos tóxicos que seguían el concepto de adición de concentraciones, mientras que los efectos tóxicos observados por dicha mezcla en las pruebas realizadas sobre *L. Minor* podrían ser explicados a través de las concentraciones individuales de cada uno de los fármacos. La mezcla de fármacos ibuprofeno y diclofenaco se comportan de manera similar en las pruebas con *D. Magna* y *L. Minor*, observándose efectos que podrían explicarse por adición de las concentraciones de cada fármaco individual.

Richards y col. (2004) realizaron un estudio en un sistema constituido por agua y sedimentos durante un periodo de 35 días. En dicho sistema se incluyó perifiton, fitoplacton, zooplancton y algas, además de peces luna. Se observó que la abundancia de especies además del fitoplacton y zooplancton se vieron afectadas a niveles de concentración medio ( $60 - 100 \mu\text{g L}^{-1}$ ) y alto ( $600 - 1000 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para cada componente. Inesperadamente, se observó además una alta mortalidad de los peces.

#### **4. LEGISLACIÓN Y RECOMENDACIONES**

Desde hace dos décadas, el destino y efectos de los fármacos de uso veterinario, ha sido objeto de estudio en Estados Unidos. En 1985 la FDA (*Food and Drugs Administration*) recopiló una serie de reglas para los fármacos de uso humano dentro de la política nacional de protección medioambiental (*Nacional Environmental Policy Act*, NEPA). En 1987, se publicó la guía técnica para la evaluación del riesgo medioambiental por parte de los principios activos farmacológicos y en 1995 se publicó la guía para la industria.

En Europa el desarrollo de unas normas específicas para la evaluación del impacto medioambiental generado por los fármacos de uso humano y veterinario, dio comienzo en la década de los 90. En el nuevo marco político de la Unión Europea la política ambiental cobra una nueva dimensión. Con ello, todas las leyes europeas en cualquier ámbito de aplicación (agricultura, sanidad, pesca, etc.) deben valorar también

el posible impacto ambiental motivado por cualquier actividad. La Directiva 81/852/EEC (Se transpone, junto con sus sucesivas modificaciones, en el Real Decreto 109/1995) constituye una guía técnica para medicamentos de uso veterinario. Posteriormente, la aparición de la Directiva 92/18/CE, y posteriormente el anexo I de la Directiva 2001/82/EC, modifica el anexo de dicha Directiva y se incluyen estudios ecotoxicidad de medicamentos de uso veterinario con objeto evaluar los efectos nocivos para el medio ambiente que puede provocar el uso del producto y definir las medidas que puedan ser necesarias para reducir tales riesgos. Posteriormente, se modifica la Directiva 2001/82/EC (Directiva 2004/28/EC) estableciendo que la solicitud de comercialización de un medicamento debe incluir resultados de las pruebas realizadas para evaluar el riesgo que el medicamento podría causar en el medio ambiente, debiendo prever las disposiciones particulares destinadas a limitarlo.

En cuanto a los fármacos de uso humano, la Directiva 2001/83/CE establece que la solicitud de comercialización de un medicamento debe ir acompañada de las razones por las cuales han de tomarse medidas de precaución o de seguridad al almacenar el medicamento, al administrarlo a los pacientes y al eliminar los productos residuales, junto con la indicación de cualquier riesgo potencial que presente el medicamento para el medio ambiente.

A tal efecto, se elaboraron documentos para la evaluación del impacto medioambiental por parte de los medicamentos de uso humano y veterinario y fueron publicados posteriormente por el Comité Científico CPMP (*Committee for Proprietary Medicinal Products*) de la EMEA (*European Agency for the Evaluation of Medical Products*) en 2003. Posteriormente ambos textos fueron revisados (EMEA, 2006a; 2006b).

## **5. PRESENCIA DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN LAS ESTACIONES DEPURADORAS DE AGUAS RESIDUALES URBANAS**

Como se ha descrito anteriormente, los principios activos farmacológicos, tras ser consumidos y metabolizados por el organismo receptor, son descargados a las

EDARs a través de los sistemas colectores, siendo dichas EDARs la principal fuente en el aporte de estas sustancias al medio ambiente. El análisis del comportamiento de los principios activos en los procesos de depuración, indica en que medida estas sustancias son descargadas al medioambiente. Dicho análisis requiere, a priori, de un estudio de los mecanismos de distribución de contaminantes durante el tratamiento de aguas residuales.

### **5.1. Distribución de principios activos farmacológicos en los procesos de depuración de aguas residuales.**

La presencia de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas se puede explicar generalmente a través de mecanismos de degradación, retención sobre la materia sólida y volatilización de los mismos. Sin embargo, debido a la solubilidad y a los bajos coeficientes de partición aire-agua de los fármacos, su presencia en los procesos de depuración se explica principalmente por las dos primeras vías.

#### **5.1.1. Retención sobre los lodos**

Como se ha mencionado anteriormente, la capacidad de una sustancia de quedar retenida sobre la materia sólida en los procesos convencionales de depuración se ha estimado frecuentemente a través del parámetro  $K_{OW}$ , sin embargo algunos autores plantean dudas en el uso dicho parámetro en el estudio de la retención de los principios activos farmacológicos sobre los lodos de EDAR. Otro parámetro que se ha empleado en dicho estudio es el coeficiente de partición agua-lodo ( $K_d$ ), cuyo valor depende de las características de la sustancia y del propio lodo. Por ello, tales coeficientes deben ser medidos experimentalmente para cada componente en cada tipo de lodo (primario, secundario y digerido).

A su vez, los valores de  $K_d$  se correlacionan con los correspondientes valores de  $\log K_{OW}$ . Urase y Kikuta (2005) estudiaron dichas correlaciones, detectando una fuerte influencia del pH sobre dicha correlación para las sustancias de carácter ácido. De este modo, a pH ácido se obtienen buenas correlaciones entre los valores de  $K_d$  y  $\log K_{OW}$  para sustancias con grupos ácidos (ibuprofeno, naproxeno, ketoprofeno, etc.), lo que

indica que estas sustancias se encuentran protonadas a tales niveles de pH, favoreciéndose las interacciones hidrofóbicas con el lodo. Por otra parte, estas correlaciones se encuentran para sustancias neutras (carbameceptina, 17 $\alpha$ -etinilestradiol, estrona, etc.) sin que sobre ellas se produzca influencia de pH.

La retención de fármacos sobre la materia sólida se produce principalmente por dos mecanismos:

- Absorción, a través de interacciones hidrofóbicas de los grupos alifáticos y aromáticos con la membrana celular lipofílica de los microorganismos y fracción lipídica del lodo.
- Adsorción, producida a través de interacciones electrostáticas entre los grupos cargados positivamente en estos compuestos, con los cargados negativamente en la superficie de los microorganismos presentes en el lodo.

Diversos estudios (Jones y col., 2006; Urase y Kikuta, 2005) muestran que estas sustancias presentan una rápida retención sobre los lodos en los primeros 30 min. de contacto agua-lodo. La concentración sobre los lodos sufre posteriormente un descenso hasta permanecer prácticamente constante. Dicha capacidad de retención dependerá del coeficiente  $K_d$ . Así, antibióticos como las tetraciclinas o enrofloxacino presentan coeficientes de partición agua-lodo superiores 500 L kg<sub>SS</sub><sup>-1</sup> (litros por kilogramo de sólidos en suspensión), presentando una importante capacidad de retención. Otros fármacos como ibuprofeno (453.79 L kg<sub>SS</sub><sup>-1</sup>) presentan una retención intermedia, mientras que por último, algunos como el paracetamol, no quedan retenidos sobre el lodo.

Ternes y col. (2004) estimaron que la concentración de un componente  $i$  retenido sobre el lodo es proporcional a la concentración del componente  $i$  en la fase acuosa y viene dada por la siguiente expresión:

$$C_{i,lodo} = K_{d,i} \cdot SS \cdot C_{i,agua}$$

Donde  $C_{i,lodo}$  es la concentración del compuesto  $i$  sobre el lodo,  $K_{d,i}$  es el coeficiente de partición agua-lodo,  $C_{i,agua}$  representa la concentración del compuesto  $i$  en la fase acuosa y  $SS$  es la concentración de sólidos en suspensión.

Además, para estimar la retención de un compuesto sobre el lodo durante el tratamiento de aguas residuales, el valor de  $SS$ , no se debe emplear como la concentración de sólidos en suspensión en el licor mezcla (SSLM), sino como la cantidad de lodo generado por litro de agua residual tratada. Asumiendo que la cantidad de lodo recirculado está en equilibrio con la concentración de sustancia en la fase acuosa, es el lodo generado el único implicado en los posteriores procesos de retención. Así, la cantidad retenida durante todo el proceso de depuración de aguas residuales vendrá dado por la siguiente expresión:

$$\frac{C_{i,lodo}}{C_{i,lodo} + C_{i,agua}} = \frac{K_{d,i} \cdot SS}{1 + K_{d,i} \cdot SS}$$

### 5.1.2. Degradación biológica en la línea de aguas

Varios autores describen una cinética de primer orden para la degradación de principios activos farmacológicos en el proceso de lodos activos (Schwarzenbach y col., 2003), de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\frac{dC_i}{dt} = k_{i,bio} \cdot SS \cdot C_i$$

Donde  $C_i$  es la concentración del fármaco en la fase acuosa dentro del reactor ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ),  $t$  es el tiempo (días),  $k_{i,bio}$  es la constante cinética de biodegradación de pseudo primer orden ( $\text{L gSS}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) y  $SS$  es la concentración de sólidos en suspensión. El “primer orden” se refiere a la relación de proporcionalidad directa entre la velocidad de transformación del fármaco y su concentración en la fase acuosa, y el término “pseudo” está referido a su proporcionalidad con la concentración del lodo, supuesta constante.

A su vez, pese a que la constante cinética ( $k_{i,bio}$ ) se expresa en unidades de concentración de sólidos en suspensión, no solo depende de la biodegradabilidad de

cada principio activo, sino que además influirán ciertos factores como la composición del lodo. De estos factores, son el tiempo de retención celular (TRC) y el tiempo de retención hidráulico (TRH) los que se presume que ejercen mayor influencia sobre la presencia de un fármaco en el proceso de lodos activos.

El TRC o edad del lodo es un parámetro empleado habitualmente en el diseño de reactores de lodos activos. Indica el tiempo medio de residencia de los microorganismos en el reactor de lodos activos y se relaciona con el crecimiento medio de dichos microorganismos.

Varios autores reflejan la influencia del TRC en la eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos de depuración por lodos activos (Clara y col., 2005a). En líneas generales, un aumento del tiempo de retención celular va acompañado de un mayor rendimiento en la eliminación de la mayoría de principios activos farmacológicos, pese a que ciertos fármacos, como la carbamacepina, no se ven afectados por tal parámetro (Clara y col., 2005a).

El TRC además, influye en la eliminación de fármacos en una EDAR a través de tres vías (Ternes y col., 2004):

- Biodiversidad de la masa activa. De acuerdo con la tasa de crecimiento, cada especie se encontrará presente en el reactor de lodos activos a partir de una edad del lodo mínima, de modo que TRC altos conllevan una mayor diversidad bacteriana, permitiendo una mayor capacidad fisiológica de la biomasa.
- Biomasa activa en el total de sólidos en suspensión. Para TRCs altos, la mayor parte del lodo es estable y la materia inorgánica e inerte aumenta. Por lo tanto se espera un ligero descenso en la  $k_{i,biol}$  con el aumento en la edad del lodo.
- Descenso en la producción de lodos debido al aumento de la edad del lodo.

El tiempo de retención hidráulico (TRH) corresponde al tiempo durante el que el agua residual se encuentra en contacto con los procesos de depuración. Varios autores (Clara y col., 2005a; Metcalfe y col., 2003a) muestran la influencia de los

rendimientos de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos de depuración. Metcalfe y col. (2003a) mostraron eliminaciones superiores al 90 % para los fármacos ibuprofeno y naproxeno en EDARs en las que se operaba a TRH superiores a 12 h.

## **5.2. Rendimientos de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas**

Como se ha visto en el epígrafe 5.1 la distribución de los principios activos farmacológicos en los procesos de depuración de aguas residuales urbanas está sujeta a un amplio grupo de variables entre las que se incluyen características del agua influente (sólidos en suspensión, carga orgánica biodegradable), variables de operación (TRC y TRH) o características fisicoquímicas del principio activo ( $\log K_{OW}$ ,  $K_d$ ,  $k_{biol}$ ).

En este epígrafe se hace una breve descripción de los rendimientos de eliminación encontrados por varios autores en EDARs para distintos grupos terapéuticos.

### **5.2.1. Analgésicos y antiinflamatorios**

Los fármacos antiinflamatorios son relativamente bien eliminados en las EDARs. El paracetamol presenta una alta degradación en los procesos de depuración de aguas residuales y en el medio ambiente (Heberer, 2002b). De hecho, investigaciones realizadas en EDARs de Alemania muestran que, pese a ser detectado en aguas influentes, solo el 10 % de los caudales efluentes de EDARs muestreadas mostraron la presencia de este fármaco y a concentraciones cercanas a los límites de detección (Ternes, 1998). Diversos autores muestran rendimientos de eliminación superiores al 90 % para el fármaco ibuprofeno (Clara y col., 2005a; Joss y col., 2005; Ternes, 1998). Tauxe-Wuersch y col. (2005) describieron rendimientos de eliminación para el ibuprofeno de entre el 66 % y el 93 %, con un valor medio del 79 %. Otros fármacos antiinflamatorios como ketoprofeno y naproxeno presentan rendimientos de eliminación ligeramente inferiores, aunque generalmente por encima del 60 %. Tauxe-Wuersch y col. (2005) presentaron rendimientos de eliminación del fármaco ketoprofeno de entre el 15 % y el 72 %, señalando la importancia del tiempo de residencia de las aguas

residuales sobre cada una de las operaciones llevadas a cabo durante los procesos de depuración. El fármaco naproxeno experimenta una eliminación comprendida entre el 20 y el 25 % en los tratamientos primarios (Carballa y col., 2005), presentando eliminaciones a lo largo de todo el proceso de depuración de entre el 55 % y el 98 % (Lindqvist y col., 2005).

Uno de los fármacos antiinflamatorios más estudiados durante los procesos de depuración de aguas residuales es el diclofenaco. Suele detectarse en influentes y efluentes de EDAR, encontrándose unos rendimientos de eliminación generalmente bajos. Heberer y col. (2002) encontraron rendimientos de eliminación de diclofenaco del 17 %, sin embargo, estudios realizados en EDARs de Alemania encontraron rendimientos de eliminación del diclofenaco de hasta el 69 % (Ternes, 1998).

### **5.2.2. Antibióticos**

En los tratamientos de depuración secundarios pueden sufrir procesos de degradación en la línea de aguas o retención sobre la materia sólida. Antibióticos como ciprofloxacino y tetraciclinas, con altos coeficientes de partición lodo-agua, se eliminan principalmente a través de la retención sobre el lodo, mientras que otros como sulfametoxazol o trimetoprim se eliminan principalmente por biodegradación (Batt y col., 2006).

Los antibióticos de la familia de las sulfonamidas son biodegradables en los procesos de lodos activos (Carballa y col., 2004; Pérez y col., 2005). Carballa y col. (2004) estudiaron el comportamiento de ciertos fármacos en los procesos de depuración. Encontraron rendimientos de eliminación de sulfametoxazol de hasta el 67 % durante el tratamiento biológico.

Estudios realizados sobre una EDAR situada en Albuquerque (Méjico) muestran eliminaciones del 20, 69 y 77 % para los antibióticos sulfametoxazol, trimetoprim y ofloxacino, respectivamente (Brown y col., 2006). Golet y col. (2002) publicaron rendimientos de eliminación de fluoroquinolonas de entre el 79 % y el 87%.

### 5.2.3. Antiepilépticos

Como se ha mencionado anteriormente, los fármacos antiepilépticos muestran rendimientos de eliminación en EDARs muy bajos, por lo que las concentraciones encontradas en los efluentes de EDARs son generalmente del mismo orden que las presentes en el caudal influente. La carbamacepina es uno de los fármacos que se detecta más frecuentemente.

Paxeus (2004) asoció la eliminación de carbamacepina, en los procesos de depuración primarios, con la presencia inusual de altos contenidos de aceite de silicona en las aguas residuales. Con respecto a ello, Carballa y col. (2005) estudiaron la eliminación de varios fármacos en los tratamientos primarios de depuración de aguas residuales. La carbamacepina no se vio afectada durante los procesos de coagulación-floculación, mientras que se eliminaba en un 35 % durante procesos de flotación en los que el agua residual presentaba altos contenidos de materia grasa. A su vez, varios autores describen rendimientos de eliminación de carbamacepina, durante los procesos de depuración biológicos, fundamentalmente bajos (Joss y col., 2005; Clara y col., 2004).

### 5.2.4. $\beta$ -bloqueantes

Hay pocos estudios en la literatura acerca de la eliminación de fármacos  $\beta$ -bloqueantes en los procesos de depuración de aguas convencionales. Ternes (1998) en un estudio realizado sobre una EDAR situada en Frankfurt (Alemania) encontró eliminaciones del fármaco metoprolol de hasta el 83 %. Sin embargo, Andreozzi y col. (2003d) encontraron eliminaciones inferiores al 10 % para el mismo fármaco en EDARs situadas en Francia, Grecia, Italia y Suecia. Idénticos resultados se encuentran en este estudio para el fármaco atenolol.

### 5.2.5. Antilipémicos

Como se ha mencionado anteriormente, en este epígrafe se incluyen fármacos como bezafibrato, gemfibrozil, clofibrato o su principal metabolito ácido clofibrico. De hecho, es el ácido clofibrico uno de los metabolitos cuya distribución en los procesos de

depuración ha sido ampliamente estudiada por diversos autores (Robert y Thomas, 2006; Stumpf y col., 1999; Tauxe-Wuersch y col., 2005; Ternes, 1998). Se trata de un metabolito que habitualmente presenta una eliminación pobre en los procesos de depuración de aguas residuales (Stumpf y col., 1999; Tauxe-Wuersch y col., 2005). Robert y Thomas (2006), sin embargo, encontraron eliminaciones de clofibrato de hasta el 91 %.

Los fármacos gemfibrocilo y bezafibrato presentaron rendimientos de eliminación de 69 % y 83 %, respectivamente en una EDAR de Alemania (Ternes, 1998). Andreozzi y col. (2003d) encontraron eliminaciones de entre el 10 % y el 75 % en un estudio realizado sobre EDARs de varios países europeos. Lindqvist y col. (2005) encontraron eliminaciones de entre el 15 % y el 100 % para el fármaco bezafibrato en EDARs de Finlandia.

#### **5.2.6. Hormonas**

La mayor parte de los estudios encontrados en la literatura acerca de la eliminación de hormonas en las EDARs están referidos al 17 $\beta$ -etinilestradiol y estrona. Ternes y col. (1999) estudiaron la degradación del 17 $\beta$ -etinilestradiol, 17 $\beta$ -estradiol, 16 $\alpha$ -hidroxiestrona y estrona en contacto con los procesos de lodos activos empleando varios experimentos. Observaron que la concentración de 17 $\beta$ -estradiol era inmediatamente reducida en contacto con lodos activos tras un periodo inferior a 3 horas, transformándose en un 95 % en estrona. La concentración de estrona se redujo en un 50 % tras un periodo de 24 horas sin que se detectara ninguno de sus metabolitos. Además, el 60 % de 16 $\alpha$ -hidroxiestrona era eliminado tras un periodo de 5 horas de exposición.

Varios estudios (D'Ascenzo y col., 2003; Johnson y col., 2000; Onda y col., 2003) mostraron eliminaciones de entre el 59 % y el 96 % para el 17 $\beta$ -estradiol y de entre el 23 % y el 83 % para la estrona. Los rendimientos de eliminación observados para otras hormonas como el estriol o el 17 $\alpha$ -etinilestradiol fueron superiores al 80 % y al 70 %, respectivamente.

### **5.2.7. Anticancerígenos**

Hay pocos estudios en la literatura acerca de la distribución y eliminación de los fármacos anticancerígenos en los procesos de depuración de aguas residuales, estando estos relacionados con los fármacos tamoxifeno, ifosfamida y ciclofosfamida. La concentración de tamoxifeno no se ve reducida en los procesos convencionales de depuración en aguas residuales. Roberts y Thomas (2003) encontraron eliminaciones de en torno al 30 %. Steger-Hartmann y col. (1996) estudiaron la degradación de los fármacos ifosfamida y coclifosfamida en una EDAR a escala de laboratorio, sin observar descenso en la concentración para ambos fármacos. Esta distribución se confirmó en muestras reales.

### **5.2.8. Cafeína**

La cafeína es generalmente bien eliminada en los procesos de depuración de aguas. Los rendimientos de eliminación encontrados en la literatura van desde el 67 % hasta niveles superiores al 99 % (Siegener y Chen, 2002; Ternes y col., 2001). Ternes y col. (2001) encontraron concentraciones de cafeína de hasta  $147 \mu\text{g L}^{-1}$ , reduciéndose tras el tratamiento hasta niveles de  $0.19 \mu\text{g L}^{-1}$ . Diez de las trece depuradoras estudiadas por Buerge y col. (2003) mostraron rendimientos de eliminación de hasta el 99.3 %.

## **6. METODOLOGÍAS ANALÍTICAS**

Una de las razones de la escasez de datos de concentraciones de principios activos en EDARs, como se mencionó con anterioridad, es la falta de metodologías analíticas fiables, rápidas, validadas y ampliamente aceptadas, que permitan la monitorización de fármacos en aguas residuales y en aguas naturales sobre las que se vierten aguas residuales.

En la literatura existen una gran variedad de metodologías analíticas aplicadas a la determinación de principios activos farmacológicos en muestras biológicas tales

como suero (Damiani y col., 2002), plasma (Martín y col., 1999) u orina (Salem y col., 2004). Sin embargo, el análisis de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales, requiere, en líneas generales, de herramientas analíticas con una alta capacidad de separación y lo suficientemente sensibles como para detectar concentraciones del orden de unos pocos  $\mu\text{g L}^{-1}$  o incluso  $\text{ng L}^{-1}$ . La cromatografía líquida de alta resolución (Farré y col., 2001; Ternes y col., 2001) y la cromatografía gaseosa (Rodríguez y col., 2004; Rodríguez y col., 2003), ambas acopladas con detector de masas han sido frecuentemente utilizadas para la determinación del contenido de principios activos en muestras de aguas (Kosjek y col., 2005; Öllers y col., 2001; Weigel y col., 2004), lodos (Ternes y col., 2005;), sedimentos y suelos (Löffler y Ternes, 2002; Scheytt y col., 2005).

Por otra parte, debido a la enorme complejidad de las muestras medioambientales, el análisis de principios activos farmacológicos en tales muestras, requiere además, de un tratamiento previo que permita extraer los analitos de interés y eliminar ciertas interferencias presentes en dichas muestras. Dicho tratamiento resulta a veces tedioso e implica diversas operaciones como secado, tamizado, filtración, purificación, evaporación y determinación cromatográfica final.

En líneas generales, con dicho tratamiento de muestras se persigue, no solo la eliminación de interferencias de la matriz mediante un proceso de clean-up de muestra, sino que además, es esencial para conseguir la preconcentración de los analitos de interés con el fin de satisfacer los requerimientos en cuanto a límites de detección y cuantificación.

De este modo, las metodologías analíticas aplicadas a la determinación de fármacos en muestras medioambientales requieren de dos etapas fundamentales: extracción y preconcentración de los analitos y determinación cromatográfica.

## **6.1. Preparación de muestras**

El tratamiento al que es sometido la muestra para su posterior determinación cromatográfica difiere en función de la naturaleza de la muestra, aunque frecuentemente presentan etapas comunes. La Tabla 1.16 muestra un resumen de las metodologías

analíticas empleadas habitualmente en muestras sólidas y en muestras de aguas de distintos tipos.

### 6.1.1. Muestras acuosas

De modo previo a la extracción de los analitos de la muestra, esta es filtrada, generalmente a 0.45  $\mu\text{m}$  para eliminar la materia sólida que puede provocar problemas durante el proceso de extracción. Además, en muestras complejas, como las aguas residuales, que pueden contener microorganismos, la etapa de filtración elimina dichos microorganismos, contribuyendo a la conservación de la muestra. Posteriormente, se ajusta el pH de la muestra a pH ácido, neutro o básico (2, 7 y 9), en función de la naturaleza ácida (Ej.: antiinflamatorios no esteroideos), neutra (Ej.: carbamacepina) o básica de los analitos objeto de estudio (López de Alda y col., 2003).

Con el fin de preservar la muestra, estas son generalmente conservadas a 4 °C hasta el momento de la extracción.

El procedimiento de extracción y preconcentración de fármacos en muestras acuosas es, generalmente, extracción en fase sólida empleando cartuchos de extracción con diferentes rellenos en función de la naturaleza de los analitos de interés. Sin embargo, existen en la literatura algunas metodologías analíticas que emplean técnicas como liofilización (Hirsch y col., 1998), extracción líquido-líquido (Soleman y col., 2004) o microextracción en fase sólida (Moeder y col., 2000).

#### *Extracción líquido-líquido*

La extracción líquido-líquido (*Liquid-liquid extraction*, LLE) se ha empleado en diversos estudios para la determinación de principios activos farmacológicos en muestras de aguas (Baker y col., 1987; Kolpin y col., 2002; Soleman y col., 2004; Tauxe-Wuersch y col., 2006), asociado generalmente a la posterior determinación por cromatografía gaseosa, aunque en ocasiones se ha empleado en combinación con la extracción en fase sólida y determinación por electroforesis capilar (Ahrrer y col., 2001).

El procedimiento de extracción líquido-líquido consiste en situar en un frasco un volumen determinado de muestra, generalmente entre 1 L y 2 L cuando se trata de aguas residuales, añadir el disolvente extractante y realizar la extracción por agitación. Generalmente se realiza el proceso varias veces, para después agrupar los extractos obtenidos y concentrar la muestra por evaporación.

Kolpin y col. (2002) emplearon cinco métodos analíticos, para la determinación de 95 contaminantes orgánicos en aguas superficiales de los Estados Unidos, empleando la extracción líquido-líquido para la determinación de 12 hormonas esteroideas. El disolvente empleado en la mayoría de los casos es diclorometano, obteniendo recuperaciones comprendidas entre el 60 % y el 130 %.

El problema principal del uso de la extracción líquido-líquido para el análisis de este tipo de contaminantes es que algunos analitos se encuentran en las muestras a concentraciones lo suficientemente bajas ( $\text{ng L}^{-1}$ ), de modo que no interaccionan con ambas fases (Soliman y col., 2004).

Una solución a este problema es aumentar el factor de concentración de los analitos empleando volúmenes de muestra grandes. Para ello, algunos autores (Baker y col., 1987; Soliman y col., 2004) emplean rollos de teflón con recirculación del disolvente extractante, en el que se pasan, a un caudal elevado, volúmenes de muestra de entre 10 y 40 L de muestra.

### *Extracción en fase sólida*

El fundamento de la extracción en fase sólida (*Solid phase extraction*, SPE) es similar al de la LLE. En esta se produce la distribución de solutos entre dos fases, una líquida (muestra) y otra sólida (sorbente fijado en un disco o cartucho).

El procedimiento de SPE implica varias etapas sucesivas:

- En la primera etapa, el sorbente empleado en la extracción se activa haciendo pasar a través de este el disolvente adecuado, seguido del disolvente en el que se encuentra la muestra. Esta etapa es esencial

para asegurar la solvatación de los grupos funcionales de la fase estacionaria. Además, esta etapa elimina el aire presente en el sorbente y llena los huecos con disolvente.

- La segunda etapa es la percolación de la muestra a través de la fase estacionaria. Durante esta etapa, los analitos son extraídos y concentrados sobre el sorbente.
- La tercera etapa es el *clean-up* de la muestra. Este se realiza haciendo pasar a través del cartucho, cargado con analitos e interferencias de la muestra, un disolvente o mezcla que elimina de forma selectiva las interferencias.
- En una cuarta etapa se realiza el secado de la fase estacionaria, especialmente en el caso de muestras acuosas. En esta etapa se eliminan las trazas de agua que pueden quedar sobre el sorbente y que podrían influir en etapas posteriores.
- La última etapa consiste en la elución de los analitos del cartucho, haciendo pasar a través del sorbente el disolvente apropiado, que disuelve los analitos, pero no las interferencias retenidas en el cartucho.

Existen diversos rellenos empleados en SPE, dividiéndose en hidrofóbicos o polares (Camel, 2003), siendo los más comunes los llamados sorbentes de fase reversa, empaquetados con materiales que son más hidrofóbicos que la muestra. Las fases estacionarias de sílice enlazada con cadenas de C<sub>18</sub> son las fases estacionarias más utilizadas en la extracción de compuestos orgánicos en muestras acuosas (Hirsch y col., 1998; Putscew y col., 2001; Ternes y col., 2001). Sin embargo, existen otros sorbentes orgánicos, divididos en poliméricos y no poliméricos. Entre las fases estacionarias poliméricas se encuentran fases de poliestireno-divinilbenceno (PS-DVB) o divinilbenceno-vinilpirrolidona (DVB-VP). En estas, además de las interacciones producidas en las fases C<sub>18</sub>, se producen interacciones de tipo  $\pi - \pi$  entre electrones de grupos aromáticos.

**Tabla 1.2.**  
**Procedimientos de extracción de fármacos empleados en muestras medioambientales**

Fármaco	Matriz	Procedimiento de extracción	Referencia
Tetraciclinas Ácido Salicílico Trimetoprim	Agua de arroyos	SPE con Oasis HLB/MCX	Kolpin y col., 2002
Fluoxetina Gemfibroxilo		SPE Oasis HLB	
$\beta$ -bloqueantes Antilipémicos Antiinflamatorios Estrógenos Cafeína Detergentes	Aguas residuales	SPME con PA, PDMS-DVB, Carbowax-DVB	Moeder y col., 2000
Aspirina Ácido Clofibrato Ibuprofeno Triclosan	Aguas residuales	LLE (diclorometano)	Kanda y col., 2003
Ciclofosfamida		SPE Cartuchos C <sub>18</sub> (IST)	
Antilipémicos Antiinflamatorios	Aguas residuales Aguas de río	SPE Lichromlut C <sub>18</sub>	Stumpf y col., 1999
Antiinflamatorios Carbamacepina Diazepam	Aguas residuales	SPE Oasis HLB	Carballa y col., 2004
Antibióticos Estrógenos		Liofilización	
Antibióticos	Aguas subterráneas	Liofilización	Hirsch y col., 1999
Antiinflamatorios Antilipémicos Antibióticos Ivermectina	Sedimentos de río	Ultrasonidos (Acetona, AcOEt, MeOH) + Clean-up por SPE	Löffler y Ternes, 2003
Antibióticos Antiinflamatorios Antilipémicos Carbamacepina	Suelo	ASE (AcN:H <sub>2</sub> O)	Kinney y col., 2006
Antiinflamatorios Antilipémicos Carbamacepina Citostáticos	Lodos de EDAR	Ultrasonidos (MeOH, Acetona) + clean-up con SPE	Ternes y col., 2005

ASE: Extracción acelerada con disolventes; SPE: Extracción en fase sólida; PDMS-DVB: Poli(dimetilsiloxano-divinilbenceno); LLE: Extracción líquido-líquido

La SPE ha sido utilizada en numerosos estudios para la extracción y preconcentración de principios activos farmacológicos en muestras acuosas (González-Barreiro y col., 2003; Marchese y col., 2003; Putschew y col., 2001; Weigel y col., 2004).

Kolpin y col. (2002) emplearon un sistema de extracción con cartuchos de extracción con rellenos Oasis HLB (DVB-VP) y MCX (HLB de intercambio catiónico) situados en serie para la determinación de 21 fármacos antibióticos en muestras de aguas superficiales de los Estados Unidos.

Lin y col. (2005) estudiaron los rendimientos de extracción de los fármacos carbamacepina, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno y el metabolito ácido clofíbrico empleando cartuchos de extracción con distintos rellenos. La efectividad de los rellenos hidrofóbicos para extraer compuesto ácidos fue baja, mientras que en el caso del fármaco carbamacepina se obtuvieron recuperaciones superiores al 95 %. Esto podría explicarse debido al carácter hidrófobo del relleno, el cual, tras el acondicionamiento, permanece muy poco tiempo húmedo, lo que causa una pérdida en la eficacia de extracción. Los mejores resultados se obtuvieron con el relleno Oasis HLB que presenta mejores propiedades de humectabilidad.

Para algunos fármacos, tales como tetraciclinas, el uso de SPE con discos o cartuchos, sin ningún tipo de tratamiento adicional, no resulta adecuado. Además, el material de los cartuchos no debe contener grupos silanoles, ya que pueden producirse enlaces irreversibles con los analitos. Una silanización empleando, por ejemplo, dimetildiclorosilano puede mejorar este proceso de extracción (Reemtsma, 2001). Así, todo el material en contacto con la muestra o el extracto debe ser de PTFE. Esto es esencial en compuestos como los  $\beta$ -bloqueantes, que tienden a formar quelatos, al igual que las tetraciclinas (Ternes y col., 2001).

#### *Microextracción en fase sólida*

Desde 1990 se ha empleado la microextracción en fase sólida (*Solid phase micro-extraction*, SPME) para la extracción de compuestos relativamente volátiles de

matrices gaseosas, líquidas y sólidas. Además, se puede aplicar a la determinación de compuestos de diferente volatilidad.

La SPME se basa en la extracción de los analitos de la muestra mediante una fibra de sílice fundida que está recubierta de un sorbente, en la mayoría de los casos polimérico, seguida de la desorción de los analitos mediante temperatura o disolvente orgánico.

En una primera etapa, la fibra se expone a la muestra o a su espacio de cabeza y, mediante un equilibrio termodinámico, los analitos se reparten entre la muestra y la fibra, concentrándose en dicha fibra. En la segunda etapa, la fibra, en la que se encuentran concentrados los analitos, se somete a un procedimiento de desorción que se realiza situándola en el inyector de un cromatógrafo de gases o en la interfase entre un cromatógrafo de líquidos y un detector de masas.

Se pueden diferenciar tres formas de microextracción en fase sólida:

- Extracción directa, en la que se introduce la fibra directamente en la muestra, la cual se agita empleando un agitador magnético, ultrasonido, etc.
- Extracción en espacio de cabeza, en la que la fibra se introduce en el espacio de cabeza de una muestra calentada previamente. En este tipo de SPME, se eliminan las interferencias causadas por moléculas de elevado peso molecular tales como proteínas o compuestos húmicos. Además, permite modificar el pH de la muestra sin perjudicar la fibra.
- SPME con protección de membrana, en este modo de extracción se coloca una membrana semipermeable alrededor de la fibra que evita que compuestos de elevado peso molecular, como ácidos húmicos o proteínas, que pueden estar presentes en la matriz de la muestra, lleguen hasta la fibra y puedan dañarla.

Actualmente hay fibras con diferentes recubrimientos, de manera que la SPME puede usarse para determinar un amplio grupo de compuestos. Los primeros recubrimientos comercializados fueron los de polidimetilsiloxano (PDMS) y poliacrilato (PA) pero los tipos de recubrimientos han ido aumentando progresivamente y actualmente cubren un amplio conjunto de aplicaciones (polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB) o carbowax/divinilbenceno (CW/DVB)).

Esta técnica presenta una serie de ventajas frente a las técnicas de preconcentración tales como LLE o SPE ya que: es muy simple, presenta un bajo coste, puede ser automatizada, requiere pequeños volúmenes de muestra y generalmente no precisa del uso de disolventes orgánicos para llevar a cabo la preconcentración. Además, debido a su diseño, es fácilmente transportable por lo que la hace una técnica muy adecuada para realizar análisis de campo. Como inconveniente se puede mencionar que debido a la limitada capacidad de las fibras (la cantidad de recubrimiento es muy pequeña) en ocasiones no se obtienen unos límites de detección bajos, sobre todo si la SPME se utiliza combinada con la cromatografía de líquidos (Alpendurada, 2000). Por ello, la mayoría de las metodologías que emplean esta técnica de extracción se acoplan con cromatografía gaseosa.

Las técnicas de SPME han sido empleadas en el análisis de diversos principios activos farmacológicos y otros productos en el análisis forense (orina, sangre, plasma, etc.) o bien durante los procesos de fabricación. Sin embargo, hay pocos estudios en la literatura que empleen la SPME para la determinación de principios activos farmacológicos en muestras acuosas (Lamas y col., 2004; Huppert y col., 1998; Moeder y col., 2000).

No obstante, la SPME se ha empleado para el análisis de un amplio grupo de compuestos, entre los que se encuentran los fármacos antiinflamatorios ibuprofeno, paracetamol y naproxeno; el antiepiléptico carbamacepina y el antilipémico gemfibrocilo, además de cafeína (Moeder y col. 2000) y los receptores específicos de serotonina, venlafaxina, fluvoxamina, flouxetina, citalopram y sertralina (Lamas y col., 2004). En estos casos la membrana que produjo mejores resultados fue la de PDMS-DVB.

### 6.1.2. Muestras sólidas

Como se mencionó anteriormente la presencia de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales sólidas ha sido poco estudiada en comparación con los estudios realizados sobre muestras acuosas.

Un primer aspecto a tener en cuenta en el caso de muestras sólidas es que, a diferencia de las muestras acuosas, las muestras sólidas no son homogéneas. Además, la actividad biológica y enzimática presente en este tipo de muestras puede producir la biotransformación de los analitos, por lo que, tras la toma de muestras, es necesaria la esterilización de la muestra mediante autoclave, radiación o conservantes químicos (Díaz-Cruz y Barceló, 2005).

En la determinación de fármacos en este tipo de muestras, los analitos se encuentran a bajas concentraciones y con un alto número de interferencias procedentes de la matriz. Por ello se hace esencial realizar un tratamiento efectivo para la extracción de los analitos y posterior clean-up del extracto.

Dicha extracción ha sido realizada normalmente por ultrasonido, o simplemente agitando la muestra en contacto con disolventes polares o mezclas de estos (Löffler y Ternes, 2003; López de Alda y Barceló, 2001; Okumura y Nishikawa, 1996; Ternes y col., 2005).

La etapa posterior de clean-up de muestras se realiza por LLE, SPE o por cromatografía semipreparativa. Sin embargo, los bajos volúmenes de disolventes y la rapidez del procedimiento hacen de la SPE la técnica de clean-up más utilizada. Con muestras polares o relativamente polares, son los rellenos de fase reversa o poliméricos los más empelados.

El número de métodos descritos en la literatura en los que se emplean métodos de extracción más avanzados, tales como extracción líquida presurizada (Jacobsen y col., 2004; Reddersen y col., 2002) o extracción acelerada de disolventes (Kinney y col., 2006) ha ido aumentando en los últimos años debido a su mejor repetitividad, menor consumo de disolventes o menores tiempos de extracción.

Jacobsen y col. (2004) examinaron recientemente la capacidad de la extracción líquida presurizada para la determinación de antibióticos en muestras sólidas, obteniendo recuperaciones de entre el 50 % y el 70 % para tetraciclinas, de entre el 50 % y el 100 % para antibióticos macrolidos y sobre el 80 % para sulfonamidas.

Kinney y col. (2006) determinaron principios activos de distintos grupos terapéuticos empleando la extracción acelerada de disolventes como método de extracción. Las recuperaciones obtenidas fueron de entre el 39 % y el 94 %.

## **6.2. Determinación cromatográfica**

Tras la extracción y clean-up de muestras, se procede generalmente a la evaporación del disolvente con corriente de nitrógeno y posterior reconstitución con un disolvente apropiado para la determinación posterior.

La mayoría de los métodos publicados en la literatura para el análisis de residuos farmacológicos en muestras medioambientales están basados en la cromatografía gaseosa (GC) acoplada a la espectrometría de masas (MS). Sin embargo, en los últimos años los acoplamientos entre la cromatografía líquida (HPLC) y los detectores MS han experimentado importantes avances en cuanto a tecnología, desarrollo y aplicación, lo que ha aumentado su capacidad para la determinación de analitos de escasa volatilidad en muestras medioambientales. Como consecuencia de ello, en los últimos años, han aparecido en la literatura numerosos métodos de análisis basados en las técnicas HPLC-MS.

Por otra parte, hay en la literatura pocos estudios que empleen métodos de separación cromatográficos acoplados a otros detectores distintos al MS, siendo el detector de fila de diodos el más utilizado (Chen y col., 2002; Gonzalez-Barreiro y col., 2003; Malintan y Mohd, 2006).

### **6.2.1. Cromatografía líquida de alta resolución**

La detección y análisis de fármacos y sus metabolitos en matrices biológicas fue una de las primeras aplicaciones de la cromatografía líquida acoplada con detectores

MS en la década de los 80, y a día de hoy, sigue siendo una de sus mayores aplicaciones.

Actualmente, la cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa es la técnica HPLC más utilizada para llevar a cabo la separación y posterior determinación de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales.

Las fases estacionarias más utilizadas son las de octadecilsilano (Tabla 1.17), aunque algunos autores emplean fases estacionarias con rellenos de octilsilano o dodecilsilano (Castiglioni y col., 2005; Vanderford y col., 2003). Se suelen utilizar columnas con una longitud entre 15 y 25 cm, generalmente, rellenas con partículas de 5  $\mu\text{m}$  de diámetro.

El uso de elución en gradiente con fases móviles complejas hace que aparezcan en la literatura numerosas metodologías analíticas para la determinación de principios activos farmacológicos. Las fases móviles empleadas están constituidas básicamente por una solución acuosa de un ácido, sal (ácido fórmico, ácido acético, acetato amónico, etc.) o disolución tampón a baja concentración y un modificador orgánico, siendo acetonitrilo y metanol los más utilizados.

El uso de ácido fórmico (Castiglioni y col., 2005), acético (Reverté y col., 2003) o acetato amónico en la fase móvil (Hilton y Thomas, 2003; Ternes y col., 2001), se ha descrito para mejorar la sensibilidad de la detección por MS (López de Alda y col., 2003). Otros autores alcanzan el mismo efecto por adición postcolumna de acetato amónico (Baronti y col., 2004; Gentili y col., 2002).

La mayoría de las metodologías analíticas descritas en la literatura emplean como sistemas de detección la espectrometría de masas (Ahrer y col., 2001; Hirsch y col., 1998; Hilton y Thomas, 2003; Miao y col., 2002; Putschew y col., 2001) que además permite la seguridad en la asignación correcta de los picos cromatográficos al analito.

La técnica de ionización más empleada en los quipos HPLC-MS y HPLC-MS-MS ha sido el electrospray (*Electrospray ionization*, ESI). Ahrer y col. (2001)

analizaron los rendimientos de ionización de diversos fármacos (paracetamol, carbamacepina, penicilina V, etc.) observando que con la ionización ESI se obtenían los mejores límites de cuantificación en comparación con la ionización química a presión atmosférica (*Atmospheric pressure chemical ionisation*, APCI). La determinación por MS y MS-MS se realiza generalmente en modo SIM (*Selected ion monitoring*) y SRM (*Selected reaction monitoring*), ya que permite una mejor sensibilidad en comparación con el modo scan. En la mayoría de los casos el ión precursor empleado es el aducto formado por la protonación del ión molecular,  $[M+H]^+$ .

A su vez varios autores han empleado técnicas HPLC acopladas a detectores ultravioleta de fila de diodos (DAD) y fluorescencia (FL). González-Barreiro y col. (2003) detectaron diversos antiinflamatorios, carbamacepina y bezafibrato, entre otros, empleando detección por fluorescencia. Debido a la baja intensidad de fluorescencia presentada por estos compuestos, fue necesario un proceso de derivatización post-columna sometiendo la mezcla a radiación ultravioleta a 254 nm. Seis de los diez fármacos analizados en este estudio mostraron reactividad a la radiación ultravioleta, transformándose en especies fluorescentes que permitían su posterior determinación.

El uso de detectores ultravioleta de fila de diodos acoplados a HPLC ha sido descrito por varios autores (Chen y col., 2002; Malintan y col., 2006; Weigel y col., 2004). Malintan y col. (2006) proponen una metodología analítica basada HPLC acoplado a detector DAD para el análisis de diversos antibióticos en muestras de aguas residuales procedentes de la industria porcina. La detección se realizó a 272 nm y los límites de cuantificación obtenidos fueron de entre  $5 \text{ ng L}^{-1}$  y  $7.5 \text{ ng L}^{-1}$ .

López de Alda y Barceló, 2001 realizaron la determinación de estrógenos y progestrónos en aguas y sedimentos empleando cuantificación por DAD. La determinación en serie DAD-MS se realizó con el propósito de permitir la identificación de los picos cromatográficos con mayor fiabilidad, a través del espectro de masas, a la vez que se pone de manifiesto efectos eventuales de supresión en la señal del MS.

Tabla 1.3.

## Condiciones cromatográficas para el análisis de fármacos en muestras medioambientales por cromatografía líquida de alta resolución

Fase estacionaria	Columna			Fase Móvil	Referencias
	Longitud (cm)	D.I. (cm)	Partícula ( $\mu\text{m}$ )	Composición	
Lichrospher 100 RP-18	25	4	5	AcN/H <sub>2</sub> O (Gradiente)	López de Alda y Barceló, 2001
Lichrospher 100 RP-18	12.5	3	5	Ácido oxálico (20mM)/AcN (gradiente)	Hirsch y col., 1998
YMC ODS-AM (C <sub>18</sub> )	25	2	5	H <sub>2</sub> O-AcNH <sub>4</sub> (20 mM)/MeOH (gradiente)	Ahrer y col., 2001
Genesis C <sub>18</sub>	15	2.1	4	H <sub>2</sub> O-AcNH <sub>4</sub> (20 mM)/AcN/MeOH (gradiente)	Miao y col., 2002
Luna C <sub>8</sub>	5	2	3	H <sub>2</sub> O-Fórmico (0.1 %)/AcN (gradiente)	Castiglioni y col., 2005
Kromasil 100 C <sub>18</sub>	25	4.6	5	H <sub>2</sub> O-AcH (1 %)/AcN (gradiente)	Reverté y col., 2003
Luna C <sub>18</sub>	25	2	5	H <sub>2</sub> O-AcNH <sub>4</sub> (40 mM)/AcN (gradiente)	Hilton y Thomas, 2003
Nova-Pak C <sub>18</sub>	15	3.9	4	H <sub>2</sub> O-Fórmico (0.2 %)/AcN (gradiente)	González-Barreiro y col., 2003
Synergi Max-RP C <sub>12</sub>	25	4.6	4	H <sub>2</sub> O-Fórmico (0.1 %)/MeOH (gradiente)	Vanderford y col., 2003
Lichrospher 100 RP-18	12.5	3	5	H <sub>2</sub> O-AcNH <sub>4</sub> (20 mM)/AcN (gradiente)	Ternes y col., 2001

D.I: Diámetro interno

Partícula: Tamaño de partícula

AcN: Acetonitrilo

AcNH<sub>4</sub>: Acetato amónico

MeOH: Metanol

### 6.2.2. Cromatografía gaseosa

La cromatografía gaseosa es otra de las técnicas de separación empleadas en el análisis de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales. Esta técnica es muy versátil y presenta la ventaja de una mayor rapidez en la determinación respecto a la cromatografía líquida. Presenta el inconveniente de que, debido a la baja volatilidad de algunos de estos fármacos, requiere de una etapa de derivatización previa al análisis.

En el caso de fármacos con grupos carboxílicos en su estructura diversos autores llevan a cabo la derivatización por esterificación del grupo carboxílico, empleando como reactivo haluros de alquilo tales como metil cloroformiato (Benz y col., 2005), metil clorometanoato (Weigel y col., 2004) o bromuro de pentafluorobencilo (Soulet y col., 2002). Otros autores emplean la silanización de los grupos hidroxilo (Rodríguez y col., 2003; Zühlke y col., 2004) empleando como reactivo N-metil-N-(*terc*-butildimetilsilil) trifluoroactamida (MTBSTFA).

En otros grupos terapéuticos, como los  $\beta$ -bloqueantes, la derivatización se realiza por silanización de los grupos hidroxilo o trifluoroacetilación de grupos amina secundarios (Ternes, 2001).

Los fármacos neutros, tales como carbamacepina, diazepam o clofibrato entre otros, no necesitan de una derivatización previa a la determinación por cromatografía gaseosa (Ternes, 2001).

En la mayoría de los casos, la derivatización se realiza por adición del reactivo y calentamiento, sin embargo, algunos autores muestran procedimientos de derivatización en el propio sorbente empleado en la extracción (Rodríguez y col., 2004).

En cuanto a la determinación cromatográfica, la Tabla 1.18 muestra una relación de las características de las columnas cromatográficas empleadas habitualmente en cromatografía gaseosa para la determinación de estas sustancias en muestras medioambientales. En general, se usan fases estacionarias apolares, principalmente

dimetilpolisiloxano o algún derivado suyo, con las que se pueden trabajar a temperaturas elevadas.

Se debe aplicar un programa de temperaturas, el cual deberá ser optimizado, para obtener la separación de los distintos principios activos farmacológicos.

En cuanto al sistema de detección, es el detector de espectrometría de masas el que se suele emplear en la determinación de fármacos en muestras medioambientales, que, como se ha mencionado anteriormente, permite la seguridad en la asignación correcta de los picos cromatográficos al analito.

**Tabla 1.4.**  
**Fases estacionarias para la determinación de fármacos en muestras medioambientales por cromatografía gaseosa**

Tipo	Longitud (m)	D.I. (mm)	Espesor ( $\mu\text{m}$ )	Composición	Referencia
DB-5 MS	30	0.25	0.25	Polímero fenil arileno	Weigel y col., 2002
HP-5 MS	30	0.25	0.25	(5%-fenil)-metilpolisiloxano	Kosjek y col., 2005
DB-5 MS	60	0.32	0.25	Polímero fenil arileno	Kanda y col., 2003
DB-35	30	0.25	0.25	(35%-fenil)-metilpolisiloxano	Sacher y col., 2001
RTX-5MS	30	0.25	0.25		Öllers y col., 2001
HP-5MS	30	0.25	0.25	(5%-fenil)-metilpolisiloxano	Zühlke y col., 2004
BP-5	30	0.25	0.25	(5%-fenil)-metilpolisiloxano	Rodríguez y col., 2004
CP-SIL 8 CB	30	0.25	0.25		Lamas y col., 2004
HP-5MS	30	0.25	0.25	(5%-fenil)-metilpolisiloxano	Moeder y col., 2000
HP-1	12	0.20	0.33	100% dimetilpolisiloxano	Soliman y col., 2004
BP-5	30	0.32	0.17	(5%-fenil)-metilpolisiloxano	Quintana y col., 2004

## 7. DETERMINACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN AGUAS RESIDUALES URBANAS

Como se ha descrito en los apartados anteriores, los principios activos farmacológicos son descargados, tras su consumo, a las EDARs y, desde éstas, a los cauces receptores. La cantidad de fármacos vertidos a las aguas naturales depende de las cantidades manufacturadas, dosis de efecto, porcentajes de excreción y distribución en los procesos de depuración de aguas residuales. Tales procesos no están específicamente

diseñados para la eliminación de este tipo de contaminantes, por lo que, en la mayoría de los casos, no se produce la eliminación completa de los mismos. De acuerdo con esto, los principios activos farmacológicos se distribuyen en el medioambiente, pudiendo causar efectos perjudiciales sobre los ecosistemas.

Por ello, se hace necesario el desarrollo de metodologías analíticas validadas, fiables, rápidas y económicas que permitan la monitorización de estas sustancias en las EDARs. Sin embargo, debido al amplio espectro de compuestos que se emplean como principios activos farmacológicos, resulta imposible realizar la monitorización de todos ellos.

Con respecto a ello, de acuerdo con los amplios volúmenes de consumo, la frecuencia de detección en muestras medioambientales, la distribución en los procesos de depuración de aguas residuales y propiedades químicas afines que permitan su determinación simultánea, se podrían proponer como principios activos farmacológicos representativos de la distribución en EDARs los antiinflamatorios diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y paracetamol; el fármaco antiepiléptico carbamacepina y el estimulante nervioso cafeína.

## **7.1. Principios activos farmacológicos representativos de la distribución en EDARs**

### **7.1.1. Diclofenaco**

#### **7.1.1.1. Propiedades Generales**

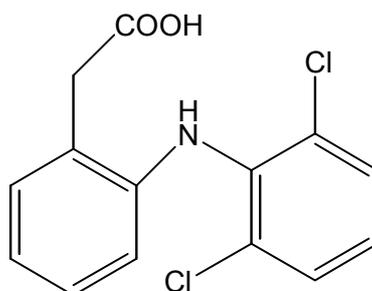
La Figura 1.4 y la Tabla 1.5 muestran la estructura molecular y propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del diclofenaco.

El fármaco diclofenaco es un antiinflamatorio no esteroideo empleado para aliviar el dolor postraumático y postoperatorio, inflamación y tumefacción. Se emplea además como adyuvante en las infecciones inflamatorias dolorosas del oído, nariz o garganta así como en el tratamiento de la inflamación y contracciones provocadas por la

osteoartritis, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante. El diclofenaco de liberación inmediata (de acción corta) también se usa para tratar las menstruaciones dolorosas.

**Figura 1.4.**

**Estructura molecular del principio activo diclofenaco**



**Tabla 1.5.**

**Propiedades fisicoquímicas del fármaco diclofenaco**

Nombre	Ácido 2-[(2,6-diclorofenil)amino] bencenoacético Diclofenaco
CAS	15307-86-5
Peso molecular	318.14 (C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>2</sub> NNaO <sub>2</sub> )
$\lambda_{\max}$ (absorción)	221 nm y 280 nm
$\lambda_{\max}$ (emisión)	-
Solubilidad en agua	2.40 mg L <sup>-1</sup> <sup>a</sup>
Log K <sub>OW</sub>	4.51
pK <sub>a</sub>	3.99
Dosis máxima diaria	50 – 200 mg
Excreción inalterado	1 %

<sup>a</sup> Liebig, 2004

Su mecanismo de acción se basa, al igual que otros antiinflamatorios no esteroideos, en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, responsables de la inflamación, el dolor y la fiebre.

### 7.1.1.2. Metabolismo y eliminación

La biotransformación del diclofenaco se efectúa en parte por glucuronidación de la molécula, por hidroxilación simple y múltiple y metoxilación, que produce varios metabolitos fenólicos, la mayoría transformados en conjugados glucurónicos. Dos de

estos metabolitos fenólicos son biológicamente activos, aunque en mucho menor medida que el propio compuesto de partida.

La eliminación se produce a través de la orina y la excreción biliar de los glucurónidos y metabolitos transformados también en su mayor parte en conjugados glucurónidos. Aproximadamente el 65 % de la dosis es excretada a través de la orina y el 35 % a través de la bilis. Una cantidad inferior al 1 % se excreta como sustancia inalterada.

### 7.1.1.3.Efectos secundarios

Los efectos secundarios más frecuentes son vómitos, indigestión, acidez, diarrea o estreñimiento, dolor abdominal, dolor de cabeza y mareos, además de efectos como edema, hipertensión, erupción cutánea, visión borrosa, malestar general y ansiedad.

### 7.1.1.4.Ecotoxicidad

La Tabla 1.6 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas de ecotoxicidad del fármaco diclofenaco.

**Tabla 1.6.**  
**Pruebas de toxicidad del fármaco diclofenaco**

Organismo	Prueba	Referencia
<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> (30 min) = 11.45 mg L <sup>-1</sup>	Ferrari y col., 2003
<i>D. Magna</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> (48 h) = 224.3 mg L <sup>-1</sup>	Ferrari y col., 2003
<i>D. Subspicatus</i> (alga)	CE <sub>50</sub> (3 días) = 72 mg L <sup>-1</sup>	Cleuvers, 2003

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

### 7.1.1.5.Productos comercializados en España

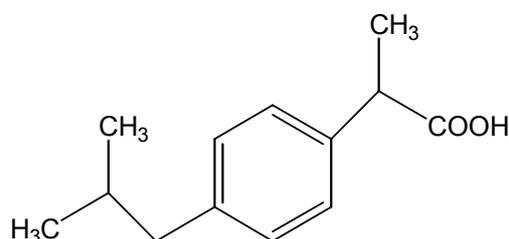
DOLOTREN<sup>®</sup>, VOLTAREN<sup>®</sup>, NORMULEN<sup>®</sup>, además de formas genéricas de diclofenaco.

## 7.1.2. Ibuprofeno

### 7.1.2.1. Propiedades Generales

La Figura 1.5 y la Tabla 1.7 muestran la estructura molecular y propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del ibuprofeno.

**Figura 1.5.**  
**Estructura molecular del principio activo ibuprofeno**



**Tabla 1.7.**  
**Propiedades fisicoquímicas del fármaco ibuprofeno**

Nombre	Ácido 2-(4-isobutilfenil) propiónico Ibuprofeno
CAS	15687-27-1
Peso molecular	206.3 (C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub> )
$\lambda_{\max}$ (absorción)	223 nm
$\lambda_{\max}$ (emisión)	290 nm
Solubilidad en agua	21 mg L <sup>-1</sup>
Log K <sub>OW</sub>	3.97 <sup>a</sup>
pK <sub>a</sub>	4.9 <sup>b</sup>
Dosis máxima diaria	1200 – 3200 mg
Excreción inalterado	< 10 %

<sup>a</sup> Kahn y Ongerth, 2004.

<sup>b</sup> Jones y col., 2002.

El ibuprofeno es un derivado del ácido propiónico que posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Se trata de un antiinflamatorio no esteroideo empleado para aliviar el dolor, la sensibilidad, la inflamación y las contracciones provocados por la artritis y la gota. También se usa para reducir la fiebre y aliviar las cefaleas, los dolores musculares, el dolor menstrual, los achaques del

resfriado común, el dolor de espalda y el dolor posquirúrgico o dental. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

#### **7.1.2.2. Metabolismo y eliminación**

El fármaco ibuprofeno se metaboliza por oxidación dando lugar a dos metabolitos inactivos: El ácido 2[4-hidroxi-2metilpropionil fenil] propiónico (metabolito A) y el ácido 2[4-(2-carboxipropil) fenil] propiónico (metabolito B).

Entre el 45 y el 75 % de una dosis oral administrada se excreta por vía renal en forma de metabolitos A y B o con glucurónidos conjugados, dentro de las 24 horas siguientes a la administración. Menos del 10 % se excreta en forma inalterada por la misma vía.

#### **7.1.2.3. Efectos secundarios**

Los efectos secundarios de este medicamento no son muy frecuentes, pero pueden presentarse síntomas como cefalea, mareos, nerviosismo, malestar estomacal, dolor de estómago o calambres, vómito con sangre, estreñimiento, diarrea con sangre, silbido en los oídos, visión borrosa, inflamación de manos, pies, tobillos o piernas y sarpullido.

#### **7.1.2.4. Ecotoxicidad**

La Tabla 1.8 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas de ecotoxicidad del fármaco ibuprofeno.

**Tabla 1.8.**  
**Pruebas de toxicidad del fármaco ibuprofeno**

Organismo	Prueba	Referencia
<i>D. Magna</i> (crustaceo)	CL <sub>50</sub> (48 h) = 9.06 mg L <sup>-1</sup>	Stuer-Lauridsen y col., 2000
<i>S. Costatum</i> (alga)	CE <sub>50</sub> (96 h) = 7.1 mg L <sup>-1</sup>	Halling-Sørensen y col., 1998
<i>L. Macrochirus</i> (pez)	CENO (96 h) = 10 mg L <sup>-1</sup>	Halling-Sørensen y col., 1998
<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> (15 min) = 12.1 mg L <sup>-1</sup>	Farré y col., 2001

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

CL<sub>50</sub>: concentración que mata al 50 % de los seres expuestos durante un tiempo de exposición específico.

CENO: La mayor concentración a la cual no se observan efectos sobre los organismos expuestos.

### 7.1.2.5. Productos comercializados en España

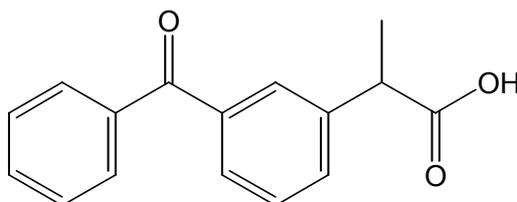
DALSY<sup>®</sup>, GELOFENO<sup>®</sup>, DOLORAC<sup>®</sup>, IBUPROFENO NORMON<sup>®</sup>, IBUPROFENO LLORENS<sup>®</sup>, IBUPROX<sup>®</sup>, NEOBRUFEN<sup>®</sup>, además de formas genéricas de ibuprofeno.

### 7.1.3. Ketoprofeno

#### 7.1.3.1. Propiedades Generales

La Figura 1.6 y la Tabla 1.9 muestran la estructura molecular y propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del ketoprofeno.

**Figura 1.6.**  
**Estructura molecular del principio activo ketoprofeno**



El fármaco ketoprofeno es un antiinflamatorio no esteroideo que actúa impidiendo la formación de prostaglandinas en el organismo, ya que inhibe a la enzima ciclooxigenasa. Está indicado en el tratamiento de la artritis reumatoide aguda y crónica, en la osteoartritis, espondilitis anquilosante, ataques agudos de gota, dolor asociado a inflamación (dolor dental, traumatismos, etc.), alivio de la fiebre, etc.

**Tabla 1.9.**  
**Propiedades fisicoquímicas del fármaco ketoprofeno**

Nombre	2-(3-benzoil-fenil)-propiónico Ketoprofeno
CAS	22071-15-4
Peso molecular	254.3 (C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> )
$\lambda_{\max}$ (absorción)	254 nm
$\lambda_{\max}$ (emisión)	-
Solubilidad en agua	300 mg L <sup>-1</sup>
Log K <sub>OW</sub>	3.16 <sup>a</sup>
pK <sub>a</sub>	4.45 <sup>b</sup>
Dosis máxima diaria	200 – 300 mg
Excreción inalterado	

<sup>a</sup> Avdeef y col., 2000.

<sup>b</sup> Urase y Kikuta, 2005

### 7.1.3.2. Metabolismo y eliminación

La vida media de eliminación del fármaco ketoprofeno es de 1.1 a 4 horas, aunque en pacientes geriátricos, al igual que en pacientes con daño renal, la vida media se incrementa de 3 a 9 horas, posiblemente debido a la disminución en la velocidad de glucuronidación.

No se ha establecido una ruta metabólica exacta del ketoprofeno, sin embargo, el fármaco se metaboliza rápidamente en el hígado principalmente por hidroxilación y una subsiguiente conjugación con el ácido glucurónico. Se han detectado al menos tres conjugados no identificados. El conjugado glucurónico del ketoprofeno y sus metabolitos hidroxilados son farmacológicamente inactivos. Hasta la fecha no se han identificado metabolitos activos.

Entre el 50 y el 90 % de una dosis oral se excreta por la orina y entre el 1 y el 8 % a través de las heces en un periodo de entre 1 y 5 días. La mayor parte de la excreción urinaria se presenta entre las 12 y 24 horas y la excreción fecal entre las 24 y 48 horas.

### 7.1.3.3.Efectos secundarios

Los efectos adversos del ketoprofeno son moderados e involucran principalmente al tracto intestinal. Se suelen presentar durante el primer mes de tratamiento. Entre los más frecuentes se encuentran náuseas, diarrea, dolor abdominal, mareos, hiperacidez gástrica, estreñimiento y dolor de cabeza, además de edema, visión borrosa, anemia, taquicardia y hemorragia gastrointestinal.

### 7.1.3.4.Ecotoxicidad

La Tabla 1.10 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas de ecotoxicidad del fármaco ketoprofeno.

**Tabla 1.10.**

#### **Pruebas de toxicidad del fármaco ketoprofeno**

Organismo	Prueba	Referencia
Peces	CE <sub>50</sub> = 32 mg L <sup>-1</sup>	Sanderson y col., 2003
<i>D. Magna</i> (crustaceo)	CE <sub>50</sub> = 248 mg L <sup>-1</sup>	Sanderson y col., 2003
Alga	CE <sub>50</sub> = 164 mg L <sup>-1</sup>	Sanderson y col., 2003
<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> = 15.6 mg L <sup>-1</sup>	Farré y col., 2001

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

### 7.1.3.5.Productos comercializados en España

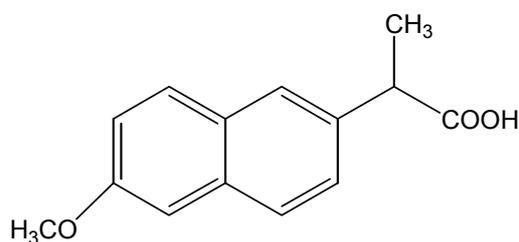
ARCENTAL<sup>®</sup>, FASTUM<sup>®</sup>, KETOSOLAN<sup>®</sup>, ORUDIS<sup>®</sup>, KETOPROFENO RADIOPHARM<sup>®</sup>, además de formas genéricas del medicamento.

### 7.1.4. Naproxeno

#### 7.1.4.1. Propiedades generales

La Figura 1.7 y la Tabla 1.11 muestran la estructura molecular y propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del naproxeno.

**Figura 1.7.**  
**Estructura molecular del principio activo naproxeno**



El fármaco naproxeno, al igual que el resto de antiinflamatorios no esteroideos estudiados, actúa por inhibición de la formación de prostaglandinas en el organismo. Se emplea en el tratamiento de artritis reumatoide, artrosis, episodios agudos de gota, espondilitis anquilosante, síndromes reumatoides, dismenorrea, así como inflamaciones músculo-esqueléticas. Inflamaciones del tejido blando crónicas y agudas, leves y moderadas.

**Tabla 1.11.**  
**Propiedades fisicoquímicas del fármaco naproxeno**

Nombre	Ácido 2-(6-metoxi-2-naftil) propiónico Naproxeno
CAS	22204-53-1
Peso molecular	230.24 (C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> )
λ <sub>max</sub> (absorción)	231 nm
λ <sub>max</sub> (emisión)	350 nm
Solubilidad en agua	144.9 mg L <sup>-1</sup>
Log K <sub>OW</sub>	3.18 <sup>a</sup>
pK <sub>a</sub>	4.2 <sup>a</sup>
Dosis máxima diaria	600 mg
Excreción inalterado	70 %

<sup>a</sup> Jones y col., 2002.

### 7.1.4.2. Metabolismo y eliminación

La adsorción del naproxeno en el tracto digestivo es rápida y completa. La ligadura proteica es del 99 % y la vida media biológica es de 13 horas aproximadamente.

El naproxeno y sus metabolitos se excretan casi en su totalidad (95 %) a través de la orina. Aproximadamente el 70 % del naproxeno se excreta por la orina como naproxeno inalterado, mientras que el 28 % sufre una 6-desmetilación. El naproxeno cruza la placenta y aparece en la leche materna de las mujeres que amamantan aproximadamente con el 1% de la concentración plasmática materna.

### 7.1.4.3. Efectos secundarios

Los efectos adversos más frecuentes del fármaco naproxeno son molestias abdominales, malestar epigástrico, náuseas, cefaleas, vértigo y edema periférico. En raras ocasiones se han producido efectos como meningitis aséptica, colitis, ulceraciones gastrointestinales, dermatitis, angiodema, alopecia, visión borrosa y ansiedad.

### 7.1.4.4. Ecotoxicidad

La Tabla 1.12 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas de ecotoxicidad del fármaco naproxeno.

**Tabla 1.12.**  
**Pruebas de toxicidad del fármaco naproxeno**

Organismo	Prueba	Referencia
<i>B. calyciflorus</i> (rotífero)	CL <sub>50</sub> (24 h) = 62.5 mg L <sup>-1</sup>	Isidori y col., 2005
<i>C. dubia</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> (48 h) = 66.4 mg L <sup>-1</sup>	Isidori y col., 2005
<i>T. platyurus</i> (crustáceo)	CL <sub>50</sub> (24 h) = 84.09 mg L <sup>-1</sup>	Isidori y col., 2005
<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> (15 min) = 21.2 mg L <sup>-1</sup>	Farré y col., 2001

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

CL<sub>50</sub>: concentración que mata al 50 % de los seres expuestos durante un tiempo de exposición específico.

### 7.1.4.5. Productos comercializados en España

ALEVE<sup>®</sup>, ALIVIOMAS<sup>®</sup>, ANTALGIN<sup>®</sup>, DENAXPREN<sup>®</sup>, LUNDIRAN<sup>®</sup>, NAPROKES<sup>®</sup>, NAPROSYN<sup>®</sup>, NAPROVAL<sup>®</sup>, PROXEN<sup>®</sup>, TACRON<sup>®</sup>, además de formas genéricas del fármaco.

### 7.1.5. Paracetamol

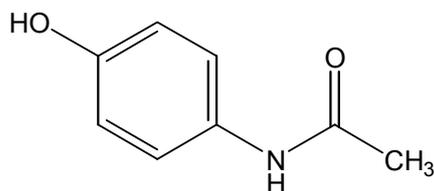
#### 7.1.5.1. Propiedades generales

La Figura 1.8 y la Tabla 1.13 muestran la estructura molecular y propiedades fisicoquímicas y farmacológicas del paracetamol.

El paracetamol o acetaminofeno es un medicamento con propiedades analgésicas, sin propiedades antiinflamatorias clínicamente significativas. Actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas, mediadores celulares responsables de la aparición del dolor. Además, tiene efectos antipiréticos. En la actualidad es uno de los analgésicos más utilizados al ser bastante seguro y no interaccionar con la gran mayoría de los medicamentos. Se usa para aliviar desde el dolor leve al moderado y para reducir la fiebre. No alivia la rigidez, el enrojecimiento y la inflamación provocados por la artritis.

**Figura 1.8.**

#### **Estructura molecular del principio activo paracetamol**



**Tabla 1.13.**  
**Propiedades fisicoquímicas del fármaco paracetamol**

Nombre	N-(4-hidroxifenil)etanamida Paracetamol
CAS	103-90-2
Peso molecular	151.17 (C <sub>8</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub> )
$\lambda_{\text{max}}$ (absorción)	245 nm
$\lambda_{\text{max}}$ (emisión)	-
Solubilidad en agua	1400 mg L <sup>-1</sup>
Log K <sub>OW</sub>	0.46 <sup>a</sup>
pK <sub>a</sub>	9.5 <sup>b</sup>
Dosis máxima diaria	750 mg
Excreción inalterado	< 10 %

<sup>a</sup> Jones y col., 2002

<sup>b</sup> Khan y Ongerth 2002

#### 7.1.5.2. Metabolismo y eliminación

El paracetamol es rápida y completamente absorbido en el tracto gastrointestinal y la vida media plasmática es de 2 horas después de dosis terapéuticas. Aproximadamente una cuarta parte de la dosis experimenta en el hígado un metabolismo de primer paso. También es metabolizada en el hígado la mayor parte de la dosis terapéutica, produciéndose conjugados glucurónicos y sulfatos, que son posteriormente eliminados en la orina. Entre un 10-15% de la dosis experimenta un metabolismo oxidativo mediante las isoenzimas de citocromo P450, siendo posteriormente conjugado con cisteína y ácido mercaptúrico. Entre el 90 % y el 100 % de la dosis se excreta por la orina en las primeras 24 horas como metabolitos conjugados sin acción terapéutica.

#### 7.1.5.3. Efectos secundarios

Entre los efectos adversos que puede ocasionar el paracetamol se encuentran hipotensión, aumento de las transaminasas hepáticas, reacciones de hipersensibilidad y alteraciones sanguíneas. Dosis excesivas de paracetamol pueden provocar diarrea, sudoración, falta de apetito, náuseas o vómitos, dolor en el estómago, inflamación o dolor en el abdomen.

#### 7.1.5.4. Ecotoxicidad

La Tabla 1.14 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas de ecotoxicidad del fármaco paracetamol.

**Tabla 1.14.**  
**Pruebas de toxicidad del fármaco paracetamol**

Organismo	Prueba	Referencia
<i>D. Magna</i> (Crustaceo)	EC <sub>50</sub> (48 h) = 9.2 mg L <sup>-1</sup>	US EPA, 1999
Peces	LC <sub>50</sub> = 258.31 mg L <sup>-1</sup>	ECOSAR

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

CL<sub>50</sub>: concentración que mata al 50 % de los seres expuestos durante un tiempo de exposición específico.

#### 7.1.5.5. Productos comercializados en España

ACERTOL<sup>®</sup>, ACTRON<sup>®</sup>, ANTIDOL<sup>®</sup>, APIRETAL<sup>®</sup>, BANDOL<sup>®</sup>, CUPANOL<sup>®</sup>, CALMANTICOLD<sup>®</sup>, DAFALGAN<sup>®</sup>, DOLGESIC<sup>®</sup>, DOLOSTOP<sup>®</sup>, DUOROL<sup>®</sup>, EFFERALGAN<sup>®</sup>, FEBRECTAL<sup>®</sup>, GELOCATIL<sup>®</sup>, MELABON INFANTIL<sup>®</sup>, PANADOL<sup>®</sup>, PEDIAPIRIN<sup>®</sup>, PERFALGAN<sup>®</sup>, RESAKAL<sup>®</sup>, SINMOL<sup>®</sup>, TEMPERAL<sup>®</sup>, TERMALGIN<sup>®</sup>, TYLENOL<sup>®</sup>, además de formas genéricas del medicamento.

#### 7.1.6. Carbamacepina

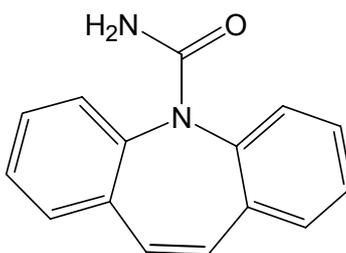
##### 7.1.6.1. Propiedades generales

La Figura 1.9 y la Tabla 1.15 muestran la estructura molecular y propiedades fisicoquímicas y farmacológicas de la carbamacepina.

La carbamazepina es un derivado de la dibenzoazepina con propiedades antiepilépticas y psicotrópicas que actúa inhibiendo la propagación del impulso nervioso desde el foco epiléptico.

Se utiliza en casos de crisis epilépticas parciales con sintomatología compleja o simple. También en crisis epilépticas primaria y secundariamente generalizadas con componente tónico clónico.

**Figura 1.9.**  
**Estructura molecular del principio activo carbamacepina**



**Tabla 1.15.**  
**Propiedades fisicoquímicas del fármaco carbamacepina**

Nombre	5H-Dibenzo (b,f)azepin-5-carboxamida Carbamacepina
CAS	298-46-4
Peso molecular	236.27 (C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O)
$\lambda_{\max}$ (absorción)	285
$\lambda_{\max}$ (emisión)	-
Solubilidad en agua	
Log K <sub>OW</sub>	2.45 <sup>a</sup>
pK <sub>a</sub>	13.9 <sup>b</sup>
Dosis máxima diaria	1200 mg
Excreción inalterado	3 %

<sup>a</sup> Kahn y Ongerth, 2004.

<sup>b</sup> Jones y col., 2002.

También se utiliza en manía y tratamiento profiláctico de la enfermedad maníaco-depresiva, neuralgia esencial del trigémino, neuralgia esencial del glosofaríngeo, síndrome de la deshabitación al alcohol. Es activa frente a las convulsiones e hiperexcitabilidad que se presentan durante el síndrome de abstinencia al alcohol.

### **7.1.6.2. Metabolismo y eliminación**

La carbamacepina está ligada en un 76 % a las proteínas plasmáticas. Los niveles terapéuticos normales para los adultos son entre 4 mg mL<sup>-1</sup> y 12 mg mL<sup>-1</sup>. Después de la administración el pico plasmático es aproximadamente de 4 a 5 horas.

La carbamacepina se metaboliza en el hígado. Aproximadamente el 72 % de la dosis se excreta a través de la orina, mientras que el 28 % restante se excreta en las heces. La excreción en la orina está constituida principalmente por metabolitos hidroxilados y conjugados con solo un 3 % del fármaco en forma inalterada.

### **7.1.6.3. Efectos secundarios**

Los efectos adversos de la carbamacepina son frecuentes y reversibles. Entre ellos se encuentran vértigo, dolor de cabeza, náuseas, vómitos, visión borrosa y somnolencia.

Ocasionalmente puede aparecer leucopenia, agranulocitosis, eosinofilia, leucocitosis, trombocitopenia, pancitopenia, hepatitis, ictericia colestática, ictericia hepatocelular, retención urinaria, impotencia, proteinuria, glucosuria, fatiga, alucinaciones, disfasia, neuropatía periférica, parestesia, tinnitus, diplopia o nistagmo.

Raramente puede aparecer anemia aplásica, oliguria con hipertensión, insuficiencia renal, temblor, fiebre, alopecia, dermatitis exfoliativa, lupus eritematoso sistémico, insuficiencia cardíaca congestiva, arritmia cardíaca, edema, tromboflebitis, reacciones cutáneas alérgicas, descenso de trombocitos, depresión de la médula ósea, deterioro hepático, leucopenia progresiva o con manifestaciones clínicas (p. ej. fiebre o dolor de garganta).

### **7.1.6.4. Ecotoxicidad**

La Tabla 1.16 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas de ecotoxicidad del fármaco carbamacepina.

Tabla 1.16.

## Pruebas de toxicidad del fármaco carbamacepina

Organismo	Prueba	Referencia
<i>D. Magna</i> (crustaceo)	CE <sub>50</sub> (48 h) = 13.8 mg L <sup>-1</sup>	Ferrari y col., 2003
<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> (30 min) = 81 mg L <sup>-1</sup>	Ferrari y col., 2003
<i>C. Dubia</i> (crustaceo)	CE <sub>50</sub> (48 h) = 77.7 mg L <sup>-1</sup>	Ferrari y col., 2003
<i>D. subspicatus</i> (alga)	CE <sub>50</sub> (3 d) = 74 mg L <sup>-1</sup>	Cleuvers, 2003

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

## 7.1.6.5. Productos comercializados en España

TEGRETOL<sup>®</sup>, además de formas genéricas del medicamento.

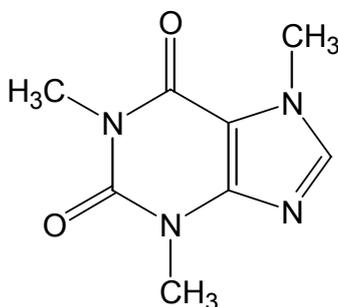
## 7.1.7. Cafeína

## 7.1.7.1. Propiedades generales

La Figura 1.10 y la Tabla 1.17 muestran la estructura molecular y propiedades físicoquímicas y farmacológicas de la cafeína.

La cafeína es un compuesto que se encuentra en la naturaleza en las semillas de café, de cacao (chocolate), de cola, en las hojas de té, hierba mate y guaraná. Es bien conocido por sus características, su intenso sabor amargo y como estimulante del sistema nervioso central, el corazón y la respiración. También tiene efectos diuréticos. Suele añadirse a algunos refrescos, como los refrescos de cola. En usos terapéuticos puede administrarse en forma oral o en inyección intravenosa. Es un estimulante del sistema nervioso central que actúa después de 5 minutos de su ingestión aumentando la actividad cerebral y reduciendo la vigilia. Se emplea para contrarrestar la fatiga, para tratar la migraña y algunos otros tipos de cefalea. Potencia los efectos de algunos analgésicos. Por su capacidad para estimular la respiración también es recomendada en el tratamiento de la apnea en los recién nacidos y como antídoto para la depresión respiratoria en sobredosis de heroína y otros psicoactivos opiáceos.

**Figura 1.17.**  
**Estructura molecular del principio activo cafeína**



**Tabla 1.17.**  
**Propiedades fisicoquímicas del fármaco cafeína**

Nombre	3,7-dihidro-1,3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona Cafeína
CAS	58-08-2
Peso molecular	194.19 (C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> )
$\lambda_{\max}$ (absorción)	273 nm
$\lambda_{\max}$ (emisión)	-
Solubilidad en agua	21.7 mg L <sup>-1</sup>
Log K <sub>OW</sub>	- 0.07
pK <sub>a</sub>	14.0

#### 7.1.7.2. Metabolismo y eliminación y efectos

La cafeína inhibe la fosfodiesterasis, que es responsable de la desactivación de la AMPc. El crecimiento de la tasa de AMPc intra-celular, amplifica sus acciones de «segundo mensajero», lo que la hace responsable de las principales consecuencias farmacológicas de la cafeína. La cafeína produce vasoconstricción; presenta efectos a nivel de los sistemas cardiovascular, respiratorio y gastrointestinal. Adicionalmente, actúa a nivel de los músculos esqueléticos, del flujo sanguíneo renal, la glicogenolisa y de la lipolisa.

### 7.1.7.3. Ecotoxicidad

El consumo en cantidades muy grandes puede provocar intoxicación. Sus síntomas son insomnio, nerviosismo, excitación, cara rojiza, aumento de la diuresis y problemas gastrointestinales. En algunas personas los síntomas aparecen consumiendo cantidades muy pequeñas, como 250 mg por día. Más allá de un gramo al día puede producir contracciones musculares involuntarias, desvaríos, arritmia cardíaca, y agitaciones psicomotrices. Los síntomas de la intoxicación con cafeína son similares a los del pánico y de ansiedad generalizada.

En cuanto a los valores de ecotoxicidad, la Tabla 1.18 muestra los resultados recogidos en la bibliografía para las pruebas del fármaco cafeína.

**Tabla 1.18.**  
**Pruebas de toxicidad del fármaco cafeína**

Organismo	Prueba	Referencia
<i>Leuciscus Idus</i> (Pez)	EC <sub>50</sub> (96 h) = 87 mg L <sup>-1</sup>	IUCLID, 2003
<i>D. Magna</i> (crustáceo)	EC <sub>50</sub> (48 h) = 182 mg L <sup>-1</sup>	IUCLID, 2003
<i>D. Subspicatus</i> (alga)	EC <sub>50</sub> (72 h) > 100 mg L <sup>-1</sup>	IUCLID, 2003
<i>Leuciscus Idus</i> (Pez)	EC <sub>50</sub> (96 h) = 87 mg L <sup>-1</sup>	IUCLID, 2003

CE<sub>50</sub>: Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva.

### 7.1.7.4. Productos comercializados en España

DURVITAN<sup>®</sup>.

# **CAPÍTULO 2**

## **OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO**

---



## 1. OBJETIVOS

De acuerdo con los antecedentes recogidos en el capítulo anterior, los principales objetivos pretendidos en este trabajo fueron los siguientes:

- Proponer una metodología analítica que permita la monitorización de los principios activos farmacológicos más representativos, por su amplio consumo y comportamiento, en muestras de aguas residuales urbanas.
- Establecer la distribución de dichos principios activos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas. Para la consecución de este objetivo fue necesario:
  - Determinar las concentraciones de los principios activos farmacológicos seleccionados en los caudales influentes y efluentes de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) de la ciudad de Sevilla durante un periodo de tiempo representativo.
  - Evaluar la eficacia de los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas en la eliminación de estos principios activos.
  - Establecer las relaciones existentes entre las concentraciones de principios activos, los parámetros de caracterización del agua residual y las variables de operación de planta.
  - Evaluar el impacto ambiental de las concentraciones de principios activos que se evacúan a los cauces receptores.

## 2. PLAN DE TRABAJO

Para alcanzar los objetivos anteriormente expuestos se siguió un plan de trabajo, desarrollado básicamente en las siguientes etapas:

### *Revisión bibliográfica*

Se recopiló información relativa a la presencia de principios activos farmacológicos en muestras de aguas residuales, superficiales, subterráneas y potables, poniendo un especial énfasis en la búsqueda de artículos científicos sobre distribución de estos compuestos en los procesos de depuración de aguas residuales. En paralelo, se profundizó en las distintas metodologías analíticas que habían sido empleadas en la determinación de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales.

### *Selección de principios activos farmacológicos*

En base a su amplio consumo, a su persistencia en los procesos de depuración de aguas residuales urbanas y a sus propiedades físico-químicas, se seleccionaron para el estudio los principios activos farmacológicos cafeína, carbamacepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y paracetamol.

### *Toma de muestras*

Se estableció un programa de muestreo en las cuatro depuradoras de aguas residuales de la ciudad de Sevilla, consistente en la recolección de muestras compuestas (mediante mezclas de alícuotas horarias durante ciclos de veinticuatro horas) de agua residual influente y efluente, varios días a la semana, en cada una de las depuradoras, durante un periodo de tiempo representativo del ciclo de una depuradora (un año).

### *Caracterización de las aguas residuales urbanas*

Se realizaron determinaciones de los parámetros pH, sólidos en suspensión, aceites y grasas, demanda química de oxígeno, demanda bioquímica de oxígeno, fósforo

total y nitrógeno total Kjeldahl con objeto de caracterizar las aguas residuales de las cuatro estaciones depuradoras muestreadas.

*Determinación de principios activos farmacológicos*

Se optimizó y validó una metodología analítica para la determinación simultánea de los principios activos farmacológicos anteriormente seleccionados en muestras de aguas residuales.

*Interpretación de resultados*

Se evaluaron los parámetros de validación de la metodología analítica propuesta y la distribución de los principios activos farmacológicos en estaciones depuradoras atendiendo, en este último caso, a los siguientes aspectos: concentraciones de principios activos, porcentajes de eliminación de dichos principios, influencia de las variables de planta, estacionalidad y propiedades físico-químicas de los compuestos estudiados, evolución temporal en una depuradora, relaciones con los parámetros de caracterización genérica del agua y evaluación de su impacto ambiental sobre los cauces receptores.

# **CAPÍTULO 3**

## **MÉTODOS EXPERIMENTALES Y HERRAMIENTAS ESTADÍSTICAS**

---

En este capítulo se describen: el programa de toma de muestras, las metodologías rutinarias empleadas en el análisis de caracterización de las aguas residuales y las herramientas estadísticas utilizadas en la interpretación de resultados. La metodología aplicada al análisis de fármacos, objeto principal de este estudio, se tratará de modo monográfico en el Capítulo 4.



## 1. INTRODUCCIÓN

La toma de muestras se realizó en las cuatro estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) de la ciudad de Sevilla entre el mes de junio del año 2004 y el mes de junio del año 2005. Para asegurar la representatividad de los resultados se tomaron muestras compuestas, obtenidas mediante mezcla de alícuotas tomadas cada hora durante periodos de 24 horas, en el influente y efluente de cada una de las EDARs.

En cuanto a la metodología analítica empleada para la determinación de los parámetros de caracterización de las aguas, se usaron los “*Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales*” de APHA-AWWA-WPCF (1999) y “Análisis de Aguas” de J. Rodier (1990)

Para el análisis de principios farmacológicamente activos se empleó una metodología analítica basada en el tratamiento de muestras mediante extracción en fase sólida y posterior separación y determinación mediante cromatografía líquida de alta resolución con detectores de fila de diodos y de fluorescencia.

Los métodos matemáticos empleados para la interpretación de los resultados experimentales incluyeron un análisis estadístico elemental y un análisis multivariante consistente en un análisis de correlación y un análisis factorial.

## 2. TOMA DE MUESTRAS

El programa de toma de muestras se decidió en base a los objetivos marcados en el presente trabajo. En este apartado se describe la situación de las estaciones depuradoras de aguas residuales sobre las que se han realizado las tomas de muestras y las operaciones unitarias que componen los procesos de depuración llevados a cabo en las mismas. Además, se realiza una descripción de la toma de muestras y de las características de los puntos de muestreo.

## 2.1. Localización de las estaciones depuradoras de aguas residuales

La toma de muestras se realizó sobre las cuatro estaciones depuradoras de aguas residuales que llevan a cabo el saneamiento de aguas de la ciudad de Sevilla, dependientes de la Empresa Municipal de Abastecimiento y Saneamiento de Aguas de Sevilla (EMASESA).

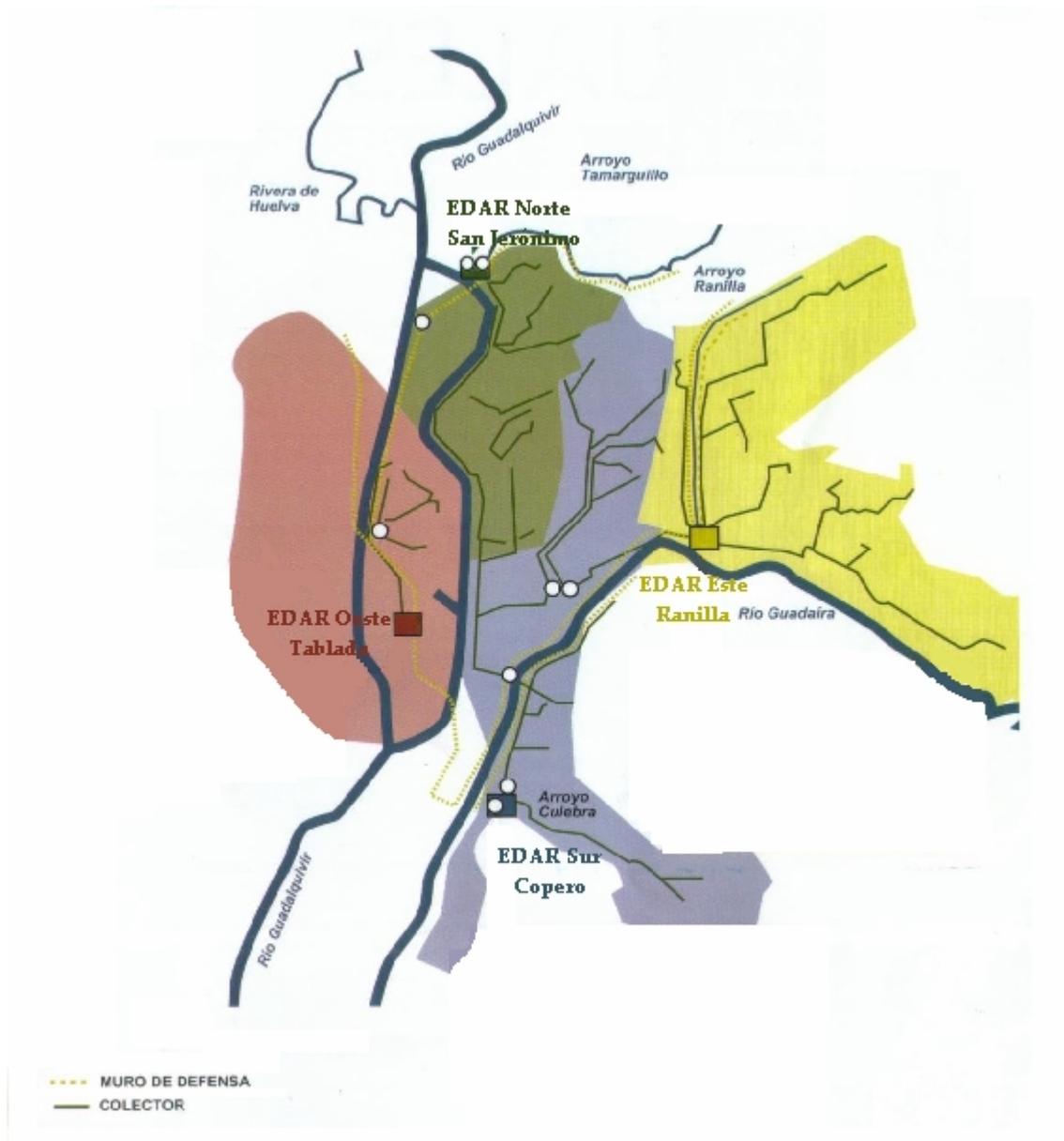
Las estaciones depuradoras muestreadas fueron EDAR Norte, EDAR Oeste, EDAR Este y EDAR Sur (Figura 3.1). Todas ellas reciben influentes domésticos, fundamentalmente de los barrios aledaños y de algunas poblaciones colindantes a la ciudad de Sevilla, e influentes industriales procedentes de pequeñas y medianas empresas. Con el funcionamiento de las cuatro EDARs, se completa el saneamiento de la totalidad de las aguas residuales de la ciudad de Sevilla, que por su tamaño constituye el mayor foco de contaminación del río Guadalquivir. Las características de cada una de las depuradoras se encuentran recogidas en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1.**  
**Características de las estaciones depuradoras de aguas residuales sobre las que se ha realizado la toma de muestras.**

	<b>EDAR Norte</b>	<b>EDAR Sur</b>	<b>EDAR Este</b>	<b>EDAR Oeste</b>
Tipo de tratamiento	Lodos activos	Lodos activos	Lodos activos	Lodos activos
Núcleo	Zona norte e isla de la Cartuja	Zona sur y municipio de Dos Hermanas	Zona este y municipio de Alcalá de Guadaíra	Zona oeste y municipios del Aljarafe
Caudal de diseño (m <sup>3</sup> /día)	90.000	255.000	50.000	50.000
Población equivalente (h-e)	350.000	950.000	200.000	200.000
Caudal influente (m <sup>3</sup> /día) <sup>a</sup>	56.000	186.500	39.000	30.500
Caudal efluente (m <sup>3</sup> /día) <sup>a</sup>	46.500	159.000	36.000	27.500

<sup>a</sup> Caudal medio medido durante el periodo de muestreo

**Figura 3.1.**  
**Localización de las estaciones depuradoras de aguas residuales en la provincia de Sevilla**



## **2.2. Operaciones unitarias de depuración de aguas residuales**

Todas las estaciones depuradoras sobre las que se llevó a cabo el presente estudio emplean la tecnología de lodos activos (Figura 3.2), es decir, en la utilización de un reactor biológico con una comunidad de microorganismos, agrupados en flóculos, para la depuración de las aguas. En estas EDARs se llevan a cabo operaciones unitarias destinadas a reducir la carga contaminante presente en las aguas residuales, que constituyen la línea de aguas, y operaciones destinadas a la estabilización y reducción del volumen de los lodos producidos en el tratamiento del agua y que conforman la línea de lodos.

### **2.2.1. Línea de aguas**

Como ya se ha mencionado, la línea de aguas está constituida por varias operaciones unitarias, que se agrupan a su vez en tres fases de tratamiento: pretratamiento, tratamiento primario y tratamiento secundario.

#### **2.2.1.1. Pretratamiento**

El pretratamiento se realiza mediante un conjunto de elementos estáticos y dinámicos que permiten eliminar los sólidos gruesos y finos, cuyo paso a los tratamientos posteriores dificultaría la operabilidad de los mismos. Los elementos principales que constituyen el pretratamiento son: desbaste, desarenado y desengrasado.

##### ***Desbaste***

Se trata de la primera operación unitaria en las plantas de tratamiento de aguas residuales. Consiste en la eliminación de los sólidos gruesos (trapos, plásticos u objetos de gran tamaño) haciendo pasar el agua a través de unas rejillas paralelas (varillas o barras paralelas). Las barras están colocadas verticalmente con un ángulo de 30° con respecto a la horizontal, y presentan un paso de luz que oscila entre los 3 y 100 mm. Habitualmente se sitúan varias rejillas de distinto paso de luz con una disposición en serie, permitiendo la separación de sólidos por tamaños. Los dispositivos de desbaste poseen además un sistema de limpieza automática.

### ***Desarenadores***

Los desarenadores se emplean para separar arenas y gravas. Dentro de estos términos se incluyen junto con la arena y grava fina, desperdicios de alimentos relativamente inertes como posos de café, cáscaras de huevo, semillas y huesos de fruta y cualquier otra materia orgánica que tenga una velocidad de sedimentación, o peso específico, superior al de los sólidos orgánicos putrescibles del agua residual.

Los desarenadores empleados son del tipo aireado que tienen la ventaja de recoger las arenas completamente limpias, con lo que se evita su posterior lavado. Consisten en un tanque de aireación en el que la velocidad de flujo se controla por la propia geometría del tanque y la cantidad de aire suministrado al mismo. Con la aireación se consigue un movimiento helicoidal de las partículas que ayuda a la sedimentación. La arena es extraída mediante bombas situadas en un puente móvil o mediante rasquetas en la parte inferior del tanque de aireación.

### ***Desengrasadores***

Los desengrasadores son dispositivos destinados a la eliminación de grasas y aceites insolubles que podrían causar obstrucciones en los sistemas mecánicos de la planta, aumentar la DBO y la DQO del agua, así como reducir el coeficiente de transferencia del aire en los procesos biológicos.

En las EDARs sobre las que se realizó la toma de muestras la operación de desengrasado se realiza durante el desarenado, empleando la aireación de los desarenadores para depositar las partículas de grasa sobre la superficie del agua y separándolas posteriormente mediante rasquetas superficiales mientras que el líquido sale de manera continua.

#### **2.2.1.2. Tratamiento primario**

El tratamiento primario consiste en un proceso que tiene como finalidad la eliminación, por métodos físicos, de los sólidos en suspensión que no han sido eliminados durante las etapas de pretratamiento.

### ***Decantador primario***

El proceso de decantación primaria se lleva a cabo en un tanque de decantación circular de fondo cónico y constituye el paso previo al proceso de depuración biológica. En este se consigue eliminar en torno a un 60-65 % de sólidos en suspensión y en torno a un 25-40 % de la DBO presente en el agua. La separación se consigue mediante una reducción del flujo de agua al llegar al decantador. Los sólidos decantados se recogen por la parte inferior del tanque mediante rasquetas de fondo situadas en un puente móvil. Al conjunto de los sólidos decantados se les denomina lodos primarios.

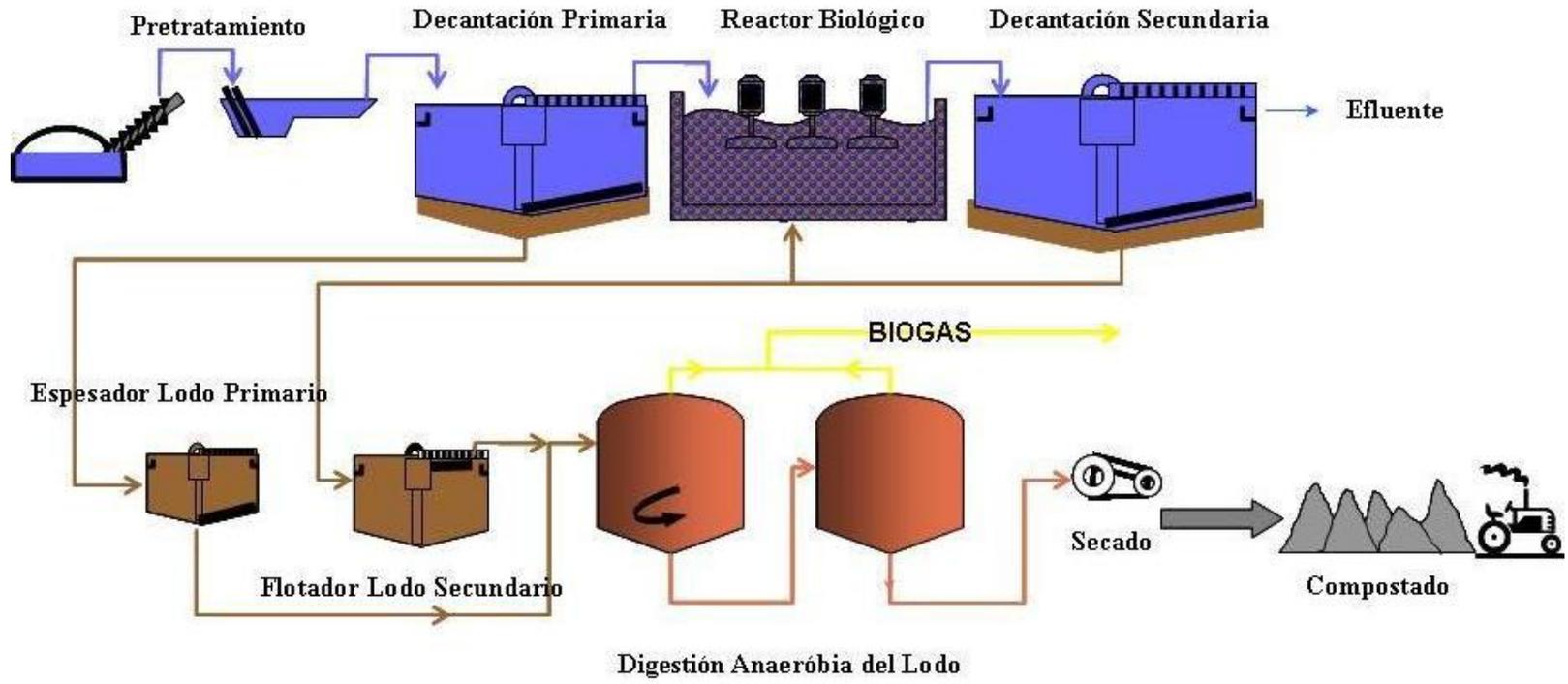
#### **2.2.1.3. Tratamiento secundario**

El objetivo fundamental que se persigue con el tratamiento secundario es la eliminación de la materia orgánica biodegradable, disuelta o coloidal, presente en el agua residual. El proceso se lleva a cabo en dos etapas, una biológica y otra física.

### ***Reactor biológico***

Se fundamenta en la producción de una masa activa de microorganismos capaz de estabilizar un residuo por vía aerobia. La biomasa que se desarrolla durante el proceso está constituida principalmente por microorganismos consumidores de materia orgánica, fundamentalmente bacterias, hongos, algas y organismos predadores de los anteriores, como protozoos, rotíferos, crustáceos y nematodos. La degradación aerobia se consigue manteniendo el agua residual saturada de oxígeno mediante el uso de difusores o aireadores mecánicos que, a su vez, sirven para mantener el contenido del reactor, también llamado licor mezcla, en un régimen de mezcla completa.

Figura 3.2.  
Esquema de una estación depuradora de aguas residuales basada en los procesos de lodos activos



### ***Decantador secundario***

Los sólidos procedentes del reactor biológico son separados del agua residual en un decantador secundario de las mismas características que el decantador primario. Parte de esta materia sólida, también llamada biosólido, se recircula al reactor a fin de mantener la concentración deseada de organismos, mientras que otra es purgada del sistema. Esta materia orgánica constituida por biomasa (microorganismos vivos o muertos) recibe el nombre de lodos secundarios.

### ***Cubas de cloración***

Consiste en una serie de tanques en los que se cloran las aguas procedentes de los decantadores secundarios. Es el único tratamiento químico que se realiza en las estaciones depuradoras estudiadas, aunque este no se lleva a cabo usualmente, salvo que las aguas depuradas vayan a ser reutilizadas para riego, conducciones industriales o vertidas a zonas de ríos donde se realizan tomas de agua para consumo humano.

### **2.2.2. Línea de lodos**

Como consecuencia del proceso de depuración de aguas residuales, se genera un subproducto de naturaleza líquida, sólida o semisólida que constituye el lodo. Una gestión y tratamiento adecuado de los mismos es tan importante como el propio proceso de depuración de aguas.

Los lodos producidos en la línea de aguas son, en origen, un material líquido con una concentración de sólidos más elevada que el agua residual de partida, y en ellos se encuentran concentrados los contaminantes de la misma junto con parte de los posibles reactivos utilizados y la biomasa generada en el reactor biológico.

Los lodos producidos en una estación depuradora de aguas residuales convencional con tratamiento biológico son: lodos primarios, producidos durante el proceso de decantación primaria; lodos secundarios, generados en el tratamiento biológico y constituidos, fundamentalmente, por la biomasa producida en el proceso; y

lodos mixtos, que corresponde a una mezcla de lodos primarios y secundarios generada antes o después de la operación de espesamiento.

Las operaciones a las que son sometidos los lodos en una estación depuradora van destinadas, como se ha comentado con anterioridad, a conseguir una estabilización y reducción de volumen de los mismos. Con tal objetivo, los lodos son sometidos en primer lugar a un proceso de espesamiento que se lleva a cabo mediante gravedad, en el caso de lodos primarios y mixtos, y por flotación, en el caso de los lodos biológicos en exceso. El proceso de espesamiento se realiza en tanques de decantación convencionales en los que el lodo, en el caso de espesamiento por gravedad, sedimenta y es recogido mediante el uso de rasquetas, o es arrastrado hasta la superficie, en el caso de lodos secundarios, mediante aire suministrado a presión.

Tras el proceso de espesamiento, los lodos (mezcla de primarios y secundarios) pasan a un digestor en el que se realiza la digestión anaerobia de los mismos. La materia orgánica contenida en el lodo, en un reactor completamente cerrado, en condiciones anaerobias y por calefacción, se convierte biológicamente en metano y dióxido de carbono, consiguiendo así la mineralización del fango.

Los lodos, una vez digeridos, son sometidos a un proceso de secado. Se utiliza para ello un sistema de centrifugas o los denominados filtros banda, consistentes en dos telas que se sitúan entre una serie de tornillos que permiten el tensado progresivo de las mismas. De esta forma, el agua atraviesa la tela, primero por escurrido y posteriormente por presión. En esta operación se le añade al fango un polielectrolito para aumentar su consistencia.

El lodo obtenido, sigue teniendo un alto porcentaje de humedad, y por ello se expone al sol extendiéndolo en grandes superficies de hormigón, y removiéndolo de forma periódica.

### **2.3. Procedimiento de toma de muestras**

La toma de muestras se llevó a cabo entre los meses de junio de 2004 y junio de 2005, numerándose en los capítulos siguientes del 1 al 63 correspondiendo las muestras

numeradas del 1 al 21 al periodo comprendido entre el 21 de junio y el 29 de septiembre de 2004; las muestras numeradas del 22 al 42 al periodo comprendido entre el 15 de noviembre de 2004 y el 16 de febrero de 2005; y las muestras numeradas del 23 al 63 al periodo comprendido entre el 14 de marzo y el 22 de junio de 2005.

Las muestras fueron tomadas cada dos semanas. De cada semana de muestreo se seleccionaron tres días que fueran representativos de la calidad del agua de entrada en la depuradora, dos laborables (lunes y martes) y uno festivo (domingo). Cada día se tomaron muestras compuestas, obtenidas mediante mezcla de las alícuotas tomadas cada hora mediante sistemas de muestreo automático situados en la entrada (tras el desbaste) y en la salida (tras la línea de cloración) de cada una de las depuradoras. Los sistemas de muestreo automático fueron programados para la toma de un volumen fijo de muestra a la entrada de la depuradora y un volumen de muestra proporcional al caudal en la salida de planta.

De cada muestra compuesta se separó un volumen de 2.5 L en frascos de vidrio topacio y se transportó al laboratorio de análisis, donde se sometieron a las operaciones de tratamiento.

### **3. MÉTODOS DE ANÁLISIS QUÍMICO DE LAS AGUAS**

El conjunto de parámetros de caracterización medidos en las muestras tomadas puede clasificarse en base a su naturaleza y especificidad en la determinación, según la siguiente distribución:

- a) Parámetros no específicos: pH, sólidos totales secados a 103-105 °C.
- b) Parámetros indicadores de la contaminación orgánica: demanda química de oxígeno (DQO) y demanda bioquímica de oxígeno tras cinco días de incubación (DBO<sub>5</sub>).
- c) Formas nitrogenadas y fosfatadas: fósforo total y nitrógeno total Kjeldahl.

d) Contaminantes orgánicos: aceites y grasas.

### **3.1. Parámetros no específicos**

Dentro de este grupo se engloban una serie de determinaciones analíticas que dan una idea de la calidad de un agua.

#### **3.1.1. pH**

El pH mide la acidez o alcalinidad de un agua, siendo útil en las plantas de tratamiento de aguas residuales para la detección de vertidos incontrolados que puedan afectar su funcionamiento.

El pH se determina potenciométricamente mediante medida del potencial eléctrico que se crea en la membrana del electrodo de vidrio. Este potencial es función de la actividad de los iones hidrógeno en ambos lados de la membrana.

#### **3.1.2. Sólidos totales secados a 103-105 °C**

Los sólidos son los materiales suspendidos o disueltos en aguas limpias y residuales y pueden afectar negativamente a la calidad de un agua. El análisis de sólidos es de gran importancia para el control de los procesos unitarios físicos, químicos y biológicos de las aguas residuales.

Su medida se realiza filtrando la muestra bien homogeneizada a través de un filtro estándar de fibra de vidrio de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, y el residuo retenido en el mismo se seca hasta peso constante a 103-105 °C. El aumento de peso del filtro representa los sólidos totales en suspensión.

### **3.2. Parámetros indicadores de la contaminación orgánica**

Para estimar el contenido en materia orgánica presente en las aguas residuales analizadas, se han llevado a cabo determinaciones de la materia orgánica biodegradable y no biodegradable presente en las muestras, dada como demanda química de oxígeno

(DQO), y la determinación de la fracción de materia orgánica biodegradable, dada como demanda bioquímica de oxígeno a los cinco días de incubación (DBO<sub>5</sub>).

### **3.2.1. Demanda química de oxígeno (DQO)**

La demanda química de oxígeno se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por dicromato potásico.

Se trata la muestra a reflujo con el oxidante en un recipiente cerrado y medio fuertemente ácido durante un periodo de 2 horas. El exceso de oxidante se valora con sal de Mohr. La cantidad de dicromato consumida durante la digestión es proporcional a la materia orgánica oxidable. Debe añadirse sulfato mercúrico para evitar las interferencias de los cloruros. Además, se añade sulfato de plata como catalizador, para que reaccionen adecuadamente los compuestos orgánicos muy volátiles.

### **3.2.2. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)**

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de una muestra de agua representa la cantidad de oxígeno, expresada en mg L<sup>-1</sup>, consumida por los microorganismos aerobios presentes en el agua, para realizar la oxidación biológica de las materias orgánicas biodegradables de ese agua. Es conveniente su evaluación a los cinco días de incubación (DBO<sub>5</sub>). De esta forma, su valor corresponde exclusivamente al consumo de materia orgánica carbonada. Un mayor tiempo de incubación podría dar lugar a un consumo adicional de oxígeno debido a la oxidación de la materia nitrogenada.

El método consiste en llenar con la muestra, hasta rebosar, un frasco hermético de 250 a 300 mL, e incubarlo a 20 °C durante cinco días. El oxígeno disuelto se mide electroquímicamente antes y después de la incubación, y la DBO<sub>5</sub> se calcula mediante la diferencia entre el oxígeno disuelto inicial y el final.

### **3.3. Formas nitrogenadas y fosfatadas**

La presencia de nitrógeno y fósforo, en cantidades elevadas, en un agua residual puede ocasionar problemas de eutrofización en los cauces receptores. El nitrógeno orgánico y amoniacal se analizan conjuntamente mediante la determinación del parámetro nitrógeno total Kjeldahl, termino que hace referencia a la técnica empleada en su análisis.

El fósforo es esencial para el crecimiento de los microorganismos y puede ser el nutriente limitador de la productividad primaria de un cuerpo en el agua. La descarga de aguas residuales brutas o tratadas a un cauce receptor puede estimular el crecimiento de micro o macroorganismos acuáticos fotosintéticos en cantidades anómalas. El fósforo total se determina como ortofosfatos después de la mineralización de la muestra.

#### **3.3.1. Nitrógeno total Kjeldahl**

Como ya se ha indicado, el nitrógeno total Kjeldahl mide la suma del nitrógeno orgánico y amoniacal. Entendiendo como nitrógeno orgánico aquel unido o enlazado en el estado trinegativo de oxidación.

Su determinación se realiza mediante la mineralización de la muestra para la transformación del nitrógeno orgánico y amonio en sulfato amónico en presencia de ácido sulfúrico, sulfato potásico y un catalizador como sulfato mercurico. Posteriormente el amonio formado se destila como amoniaco en medio alcalino, y se absorbe en ácido bórico o sulfúrico. Finalmente se determina el amonio mediante electrodo selectivo.

#### **3.3.2. Fósforo total**

El análisis de fósforo incluye dos pasos generales: conversión de la forma fosforada en ortofosfato disuelto y determinación colorimétrica del ortofosfato.

La digestión de la muestra se lleva a cabo en medio ácido sulfúrico en presencia de persulfato amónico. Posteriormente se lleva a medio alcalino con hidróxido sódico.

Los ortofosfatos formados durante la digestión se determinan colorimétricamente con molibdato amónico. En condiciones ácidas el molibdato amónico reacciona con el ortofosfato formando un heteropoliácido, el ácido molibdofosfórico, que en presencia de vanadio, forma un complejo de color amarillo cuya intensidad es proporcional a la concentración de fosfato.

### **3.4. Contaminantes orgánicos**

#### **3.4.1. Aceites y grasas**

Con el término “aceite y grasa” se denomina a cualquier material recuperado como sustancia soluble en triclorotrifluoroetano. En él se incluyen otros materiales extraídos por el disolvente (tales como compuestos de azufre, tintes orgánicos, y la clorofila) y no volatilizados durante la prueba. Su medida es importante para el control de los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales ya que, si se presentan en cantidades excesivas, pueden interferir con los procesos aerobios y anaerobios y llegar a reducir la eficacia del mismo.

Para su determinación, el aceite o la grasa disuelta o emulsionada es extraída del agua por contacto con el triclorotrifluoroetano. Posteriormente se destila el disolvente de extracción en un baño de agua a 70 °C con ayuda de vacío. El aumento de peso del matraz de destilación representa la cantidad de aceite y grasa de la muestra.

## **4. MÉTODOS MATEMÁTICOS EMPLEADOS EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

Para la interpretación de los resultados experimentales se utilizaron algunas herramientas estadísticas (Miller y col., 2002) muy útiles en el esclarecimiento de importantes poblaciones de datos como las generadas en este trabajo.

Los métodos estadísticos que *a priori* se podrían emplear serían el análisis estadístico elemental, y el análisis estadístico multivariante (Cuadras, 1991). De los dos tratamientos, el segundo es el que nos puede proporcionar una mayor información, ya

que nos permite estimar modelos de comportamiento y reducir las dimensiones del sistema de variables en juego.

El programa informático para el tratamiento estadístico de los datos fue el *Statistica 6.0* para Windows.

#### **4.1. Análisis estadístico elemental**

La forma más eficaz de expresar los resultados de una medida analítica, siempre que sea posible, es basándonos en el valor medio, que mide la tendencia central de la población, y la desviación estándar, típica o normal, que mide su dispersión.

Entre las distintas formas de cálculo del valor medio, la más extendida es la media aritmética ( $\bar{x}$ ), o simplemente media, que se obtiene sumando todas las mediciones y dividiendo por el número realizado de las mismas ( $n$ ). Expresado matemáticamente:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

La dispersión de los datos numéricos es el grado con el que se extienden alrededor de su valor. Las medidas de dispersión más empleadas son:

- Amplitud total ( $A_t$ ) o recorrido. Es la diferencia entre el valor máximo y mínimo ( $x_{\max} - x_{\min}$ ) de una serie de mediciones. Es un parámetro estadístico muy sencillo que solo depende de los valores extremos, sin utilizar los valores intermedios.
- Desviación estándar ( $s$ ). Es la medida más utilizada para describir la dispersión de los datos con respecto al valor medio. Se define por la fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

El cuadrado de la desviación estándar es una cantidad estadística muy importante conocida como varianza. La particularidad de este concepto estadístico estriba en que la varianza de una suma o diferencia de cantidades independientes es igual a la suma de varianzas.

Las nuevas variables obtenidas a partir de los datos originales, media y desviación estándar, se denominan datos tipificados o normalizados (z) y vienen dados por la expresión:

$$z = \frac{(x - \bar{x})}{s}$$

Resultando ser datos adimensionales y por ello independientes de las variables empleadas.

El coeficiente de correlación de Pearson, r, es la forma más extendida para establecer la posible relación lineal entre dos variables. Dicho coeficiente se calcula de acuerdo a la expresión:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

El valor absoluto de r varía entre 0 y 1, aumentando el nivel de significación conforme r se aproxima a 1. El signo depende de que la correlación sea positiva o negativa.

#### 4.2. Análisis estadístico multivariante

Con este análisis se pretende encontrar una estructura interna de los datos experimentales obtenidos no accesible a simple vista (Kendall, 1975; Mutragh, 1987).

Para ello se emplearon análisis de correlación y análisis factorial (Harmon, 1976; Malinowsky, 1980).

#### 4.2.1. Análisis de correlación

Mediante este tratamiento, se persigue encontrar la relación existente entre variables. Para ello se obtiene la matriz de correlación. Una matriz de correlación consiste en una tabla que representa el coeficiente de correlación entre parejas de variables. Sean variables  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_p$ ; la matriz de correlación será de la forma:

$$R = \begin{vmatrix} 1 & r_{12} & r_{13} & \dots & r_{1p} \\ r_{21} & 1 & r_{23} & \dots & r_{2p} \\ \cdot & \cdot & 1 & \dots & \dots \\ \cdot & \cdot & \cdot & 1 & \dots \\ r_{p1} & r_{p2} & r_{p3} & \dots & 1 \end{vmatrix}$$

La matriz R es simétrica, puesto que la correlación entre las variables  $x_k$  y  $x_l$  es la misma que entre  $x_l$  y  $x_k$  ( $r_{kl} = r_{lk}$ ). Además, los elementos de la diagonal son todos unidad, puesto que corresponden a los coeficientes de una variable consigo misma.

El valor de los coeficientes de correlación se sitúa entre +1.00 y -1.00, indicando el signo una relación positiva o negativa. Cuanto más nos acerquemos a  $\pm 1.00$ , más fuerte será la relación entre las variables. Para muestras medioambientales, como son las que se tratan en este estudio, coeficientes mayores que  $|0.6|$  se toman como significativos de correlación entre variables.

#### 4.2.2. Análisis factorial

Una vez construida la matriz de correlación de datos, para buscar las asociaciones entre las variables se realiza un análisis factorial. Con este tratamiento se pretende conseguir una serie de *variables latentes*, combinaciones lineales de las

variables puestas en juego, de tal modo que permitan explicar la variabilidad del sistema en función de las nuevas variables.

Cada una de estas nuevas variables, ahora llamadas factores, tendrá una significancia en función del porcentaje de varianza explicada por cada uno de ellos y de la participación de las variables originales en los mismos. Esto se calcula mediante un procedimiento iterativo que nos define los autovalores de la matriz, los autovectores asociados, las varianzas interpretadas por cada uno de ellos, sus factores de carga y las coordenadas de cada una de las observaciones, todos estos datos en función de los factores seleccionados.

Con ello, cada una de las  $M$  variables ( $x_i$ ) queda interpretada en función de los componentes principales obtenidos ( $F_1, F_2, F_3, \dots$ ) en la forma:

$$x_i = a_i F_1 + b_i F_2 + c_i F_3 + \dots$$

Siendo  $a_i, b_i, c_i, \dots$  los factores de carga de los factores  $F_j$  para la variable  $i$ .

Por último, se realiza la rotación de los ejes, por el método normal Varimax, con el objeto de proporcionar una nueva situación de los mismos que permita una representación más sencilla. Así, se obtienen los varivalores o varivectores, en los que las variables originales participan de forma más evidente.

Este tipo de análisis nos permite la representación de mapas de posición de las variables (determinaciones analíticas) y mapas de posición de casos (EDARs muestradas y puntos de muestreo), donde se representan cada uno de los parámetros y muestras, respectivamente, en función de los factores seleccionados.

# CAPÍTULO 4

## OPTIMIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA APLICADA AL ANÁLISIS DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS

---

En este capítulo se describen detalladamente los ensayos realizados para la optimización de la metodología aplicada al análisis de los principios activos farmacológicos, y para la validación del método optimizado.





## 1. INTRODUCCIÓN

La optimización de la metodología aplicada al análisis de principios activos farmacológicos se realizó sobre las dos etapas fundamentales en las que se divide el procedimiento analítico: extracción en fase sólida y determinación cromatográfica.

La optimización del tratamiento de muestras se realizó, siguiendo las recomendaciones bibliográficas (Rodríguez y col., 2003; Ahrer y col., 2001), mediante estudios de recuperación llevados a cabo con distintos eluyentes y a distintos valores de pH de muestra. Además, se realizó una optimización del volumen de muestra empleado en la etapa de extracción.

La optimización de las condiciones cromatográficas se realizó, tras la elección de la columna cromatográfica, atendiendo a la composición de la fase móvil y a las condiciones de detección ultravioleta por fila de diodos (DAD) y fluorescente (FL).

## 2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN

La optimización del procedimiento de extracción y preconcentración de los analitos se realizó modificando tres factores en la etapa de extracción: disolvente empleado en el proceso de elución, volumen de muestra y pH de la muestra.

Se siguió un procedimiento de optimización en el que se fijaron dos parámetros de extracción variándose el restante, eligiendo así las condiciones óptimas para cada uno de ellos.

La optimización se realizó sobre muestras de agua residual tratada, previamente filtrada a 0.45  $\mu\text{m}$  y dopadas a 5  $\mu\text{g L}^{-1}$  con una disolución patrón de los principios activos seleccionados. No se realizó clean-up de la muestra y la determinación de los mismos se llevó a cabo por HPLC-DAD-FL.

## **2.1. Selección de los cartuchos de extracción**

Son varios los rellenos que se emplean para la extracción de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales (Tabla 4.1). De todos ellos, son los rellenos poliméricos los que presentan una mayor capacidad de retención simultánea de compuestos ácidos, básicos y neutros, incluso a pH neutro (Weigel y col., 2004). De estos, los rellenos Oasis HLB son los que presentan una mayor facilidad de manejo, no siendo necesario un ajuste del pH de la muestra para llevar a cabo la extracción de los fármacos seleccionados. Varios autores los emplean para la extracción de este tipo de analitos, previa a la determinación cromatográfica (Carballa y col., 2004; Rodríguez y col., 2003; Weigel y col., 2004).

Siguiendo las recomendaciones bibliográficas, se seleccionaron los cartuchos de extracción empaquetados con fase sólida polimérica Oasis HLB. Ésta consiste en un copolímero con balance hidrofílico-lipofílico, de fase reversa, constituido por N-vinilpirrolidona (hidrofílica) y divinilbenceno (lipofílico). El grupo hidrofílico aporta una buena capacidad humectable a la resina, mientras que el grupo lipofílico produce la retención en fase reversa de los analitos. Además, es estable para todo el rango de pH (Camel, 2003).

El formato más empleado para la determinación de este tipo de contaminantes traza en muestras medioambientales es el cartucho de extracción de 3 mL de capacidad con 60 mg de relleno Oasis HLB, obteniéndose buenas recuperaciones para los analitos de interés (González-Barreiro y col., 2003; Carballa y col., 2004; Rodríguez y col., 2003), por lo que se seleccionó este formato para llevar a cabo la extracción simultánea de los analitos.

## **2.2. Optimización del disolvente empleado en la etapa de elución**

Para la optimización de proceso de elución se probaron cuatro disolventes: acetato de etilo, acetona, metanol y hexano.

Se tomaron doce porciones de 1000 mL de agua residual tratada y se filtraron a 0.45  $\mu\text{m}$ . Posteriormente las muestras fueron dopadas con los principios activos farmacológicos estudiados a una concentración de 5  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

No se realizó un ajuste de pH, manteniendo la muestra al pH habitual en las aguas residuales (6.5-8.0).

Las doce muestras dopadas se dividieron en cuatro grupos de tres muestras cada uno, realizando los ensayos de eluyente por triplicado. Las muestras se sometieron al proceso de extracción que se describirá en el apartado 4.3 del presente capítulo, obviando la etapa de clean-up. Como disolventes para el acondicionamiento se emplearon 3 mL de metanol y 3 mL de agua. De modo previo, los cartuchos fueron lavados con 3 mL de eluyente empleado en cada caso con el fin de eliminar las impurezas y el aire presentes de los intersticios de la fase sólida. A continuación se pasaron las muestras a través del cartucho. La elución se realizó tras la carga de la muestra con tres porciones de 1 mL del disolvente empleado en cada caso.

Las recuperaciones obtenidas empleando n-hexano como eluyente fueron inferiores al 2 %. No obstante, se observó la elución de ciertos componentes, de carácter hidrofóbico, habitualmente presentes en las aguas residuales y que actúan como interferentes en la determinación cromatográfica. Por ello, se decidió el uso de n-hexano durante la etapa de clean-up de la muestra.

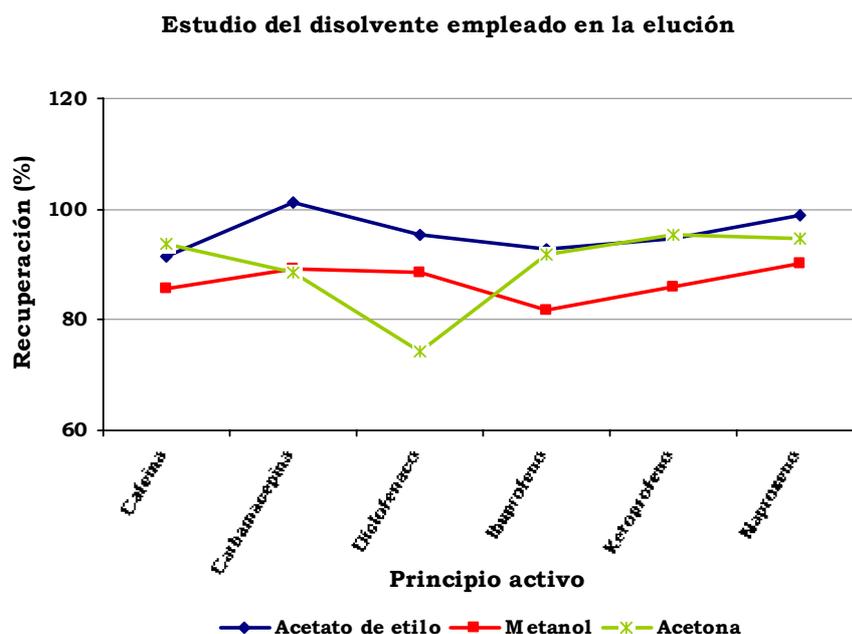
La Figura 4.1 muestra las recuperaciones obtenidas empleando acetato de etilo, acetona y metanol como eluyentes en el proceso de extracción en fase sólida. Las recuperaciones obtenidas en el caso del paracetamol fueron inferiores al 10 % en todos los casos, por lo que no se incluyó en esta gráfica. Esto puede ser debido a su solubilidad en agua, lo que limita su capacidad de retención en los rellenos en fase reversa (Weigel y col., 2004).

Los disolventes acetona y acetato de etilo mostraron recuperaciones similares para los compuestos cafeína, ibuprofeno y ketoprofeno, mientras que el resto de componentes farmacéuticos presentaron recuperaciones ligeramente superiores cuando se emplea acetato de etilo como eluyente (Figura 4.1). Las recuperaciones obtenidas con

el uso de metanol en la etapa de elución fueron ligeramente inferiores a aquellas obtenidas con otros disolventes.

Figura 4.1.

**Optimización de la naturaleza del disolvente empleado en la elución durante el proceso de extracción en fase sólida (n =3)**



### 2.3. Optimización del volumen de muestra

El volumen de muestra a tratar se seleccionó, teniendo en cuenta las recomendaciones bibliográficas (Tabla 4.1), de modo tal que satisficiera los requerimientos de preconcentración exigidos para llevar a cabo la determinación con la sensibilidad adecuada, sin que por ello repercutiera negativamente en la velocidad de extracción debido a efectos de colmatación del cartucho. La optimización del volumen de muestra se realizó empleando muestras de influente y efluente de una estación depuradora de aguas residuales.

Se tomaron volúmenes de muestra de 200, 500 y 1000 mL previamente filtradas a 0.45  $\mu\text{m}$  y dopadas a 5  $\mu\text{g L}^{-1}$  con los principios activos farmacológicos seleccionados. Los ensayos se realizaron por triplicado.

Se procedió al tratamiento de las muestras empleando acetato de etilo en la etapa de elución y no se modificó el pH de la muestra.

En todos los casos, los compuestos seleccionados presentaron recuperaciones similares. Sin embargo, el uso de 200 mL de muestra influente y efluente y 500 mL de muestra efluente proporcionó factores de enriquecimiento bajos, no permitiendo la correcta determinación de los analitos.

Se optó por realizar la extracción de un volumen de 500 mL en el caso del agua residual influente y 1000 mL en el caso de muestras de agua residual efluente.

#### **2.4. Optimización del pH de la muestra**

La influencia del pH de la muestra durante el proceso de extracción se estudió a tres niveles de pH: 2, 7.5 y 12.

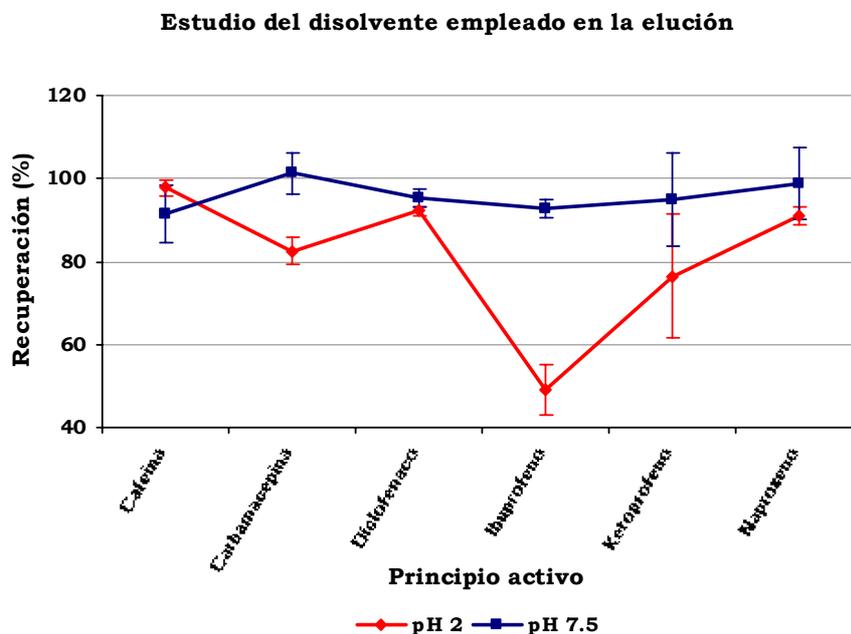
Los ensayos se realizaron por triplicado sobre porciones de 1000 mL de agua residual tratada, previamente filtrada a 0.45  $\mu\text{m}$  y dopadas a 5  $\mu\text{g L}^{-1}$  con los principios activos estudiados. El disolvente empleado en la etapa de elución fue acetato de etilo.

El ajuste a pH 2 y pH 12 se realizó con ácido clorhídrico concentrado e hidróxido sódico, respectivamente. No se llevó a cabo ajuste de pH en el caso de las muestras tratadas a pH 7.5.

La Figura 4.2 muestra las recuperaciones obtenidas para valores de pH 2 y 7.5. Las muestras ajustadas a pH básico (pH 12) presentaron problemas de colmatación de los cartuchos durante el proceso de carga, presumiblemente debido a la precipitación de hidróxidos metálicos formados a elevados valores de pH, motivo por el que dichos resultados no están incluidos en esta gráfica.

Figura 4.2.

Influencia del pH de la muestra en el proceso de extracción en fase sólida (n=3)



A excepción de la cafeína, se observó que el trabajo a pH ácido produce una disminución en las recuperaciones obtenidas para todos los principios activos, acentuándose dicho efecto en el caso del ibuprofeno.

### 3. OPTIMIZACIÓN DE LA SEPARACIÓN Y DETECCIÓN CROMATOGRÁFICA

La optimización de las condiciones cromatográficas se realizó empleando mezclas patrón de los fármacos seleccionados. Se tuvieron en cuenta dos aspectos: optimización de la separación de los picos cromatográficos, operando sobre la composición de la fase móvil; y la optimización de los parámetros sensibilidad y selectividad, operando sobre las condiciones de detección.

### 3.1. Elección de la columna cromatográfica

En los datos recogidos en la bibliografía para la determinación de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales, presentados en la Tabla 4.1, se observa que en la mayoría de los casos se emplean columnas de octadecilsilano. Se optó por una columna de estas características para llevar a cabo la separación cromatográfica. Además, a fin de evitar tiempos cromatográficos altos y pese a la complejidad de la muestra, se prefirió una longitud de columna de 12.5 cm frente a la columna de 25 cm. La columna seleccionada fue la LichroCART con relleno LiChrospher<sup>®</sup> 100 RP-18 de 12.5 cm de longitud, 4 mm de diámetro interno y 5 µm de tamaño de partícula. Los cromatogramas de una disolución de patrones obtenidos al utilizar esta columna tanto con detección UV-DAD como FL se presentan en las Figuras 4.3 y 4.4. En las Tablas 4.2, 4.3 y 4.4 se recogen las condiciones cromatográficas empleadas en la obtención de ambos cromatogramas.

### 3.2. Optimización de la composición de la fase móvil

En la mayoría de los casos (Tabla 4.1) la determinación de principios activos farmacológicos en muestras medioambientales se realiza empleando fases móviles constituidas por una solución acuosa de una sal o tampón y distintas proporciones de un modificador orgánico, generalmente acetonitrilo o metanol.

Durante la primera parte del gradiente, en la que hay un porcentaje elevado de agua, la polaridad de la fase móvil es alta. De esta manera se consigue eluir, sin que solapen con los analitos, posibles interferentes que tengan una elevada polaridad.

En primer lugar se eluye el paracetamol y en último el ibuprofeno. El resto de los compuestos estudiados se eluye en orden decreciente de polaridad, esto se consigue empleando una fase móvil polar, con un alto contenido acuoso, para ir posteriormente disminuyendo esta polaridad introduciendo en el sistema distintas proporciones de modificador orgánico.

Las disoluciones acuosas que se emplean generalmente en cromatografía líquida son tampones de fosfato y acetato, empleando fosfato para rangos de pH de 2.0–3.5 o 6.0–8.0 y disoluciones de acetato para rangos de pH de 3.5–6.0. El pH seleccionado para la fase móvil fue 4.5. Sin embargo, se empleó una disolución de fosfato potásico monobásico ya que, pese a que no está recomendado para dicho valor de pH, el acetato presenta absorción en torno a 220 nm, con lo que interferiría en la determinación de ibuprofeno, que presenta su máximo de absorción en dicho valor de longitud de onda.

Para la selección del modificador orgánico empleado en la fase móvil se probaron varias mezclas de metanol:agua y acetonitrilo:agua en distintas proporciones, con una concentración 50 mM en dihidrogenofosfato potásico en la fase acuosa.

Se observó que el elevado poder eluyente que presenta el acetonitrilo hace que los componentes más polares (paracetamol y cafeína) se eluyan muy cerca del tiempo muerto. Sin embargo, el uso de metanol como modificador orgánico está limitado a la determinación de analitos con absorción en el ultravioleta por encima de 250 nm debido a que el metanol presenta absorción a longitudes de onda inferiores a 240 nm.

Se optó por emplear una composición de fase móvil consistente en una mezcla de disolución acuosa 50 mM de dihidrógenofosfato potásico con una pequeña proporción de metanol, para posteriormente cambiar el modificador a acetonitrilo y completar el proceso de elución. Las mejores resoluciones se obtienen con el gradiente que se presenta en la Tabla 4.2. El flujo fue, durante toda la elución cromatográfica, de 1 mL min<sup>-1</sup>.

Los cromatogramas obtenidos para una mezcla patrón de los fármacos seleccionados en las condiciones de gradiente óptimas se muestran en las Figuras 4.3 y 4.4. En la Tabla 4.3 se muestran el orden de elución, los tiempos de retención y la identificación de los picos cromatográficos de las Figuras 4.3 y 4.4.

**Tabla 4.1.**  
**Metodologías analíticas empleadas en la determinación de fármacos en muestras medioambientales**

Matriz	Tratamiento de la muestra				Determinación cromatográfica (HPLC)		Referencia
	Pretratamiento	Método de extracción	V <sub>muestra</sub>	Eluyente	Columna	Fase móvil	
Aguas residuales	Filtración a 0.45 µm y acidificación a pH 2	SPE con 60 mg de OASIS HLB	250 mL	AcOEt	C <sub>18</sub>	MeOH-AcN / ac. Fórmico	González-Barreiro y col., 2003
Sedimentos de río	No publicado	Ultrasonido seguido de limpieza por SPE con OASIS MCX	-	Acetona	C <sub>18</sub>	AcN / AcONH <sub>3</sub>	Löffler y Ternes, 2003
Aguas residuales y superficiales	Filtración a 0.45 µm y ajuste de pH a 7-7.5	SPE con Isolute C <sub>18</sub>	1000 mL	MeOH	C <sub>18</sub>	AcN / AcONH <sub>3</sub>	Ternes y col., 2001
Aguas residuales y superficiales	Filtración a 0.7 µm y acidificación a pH 2	SPE con LiChrolut® EN	1000 mL	Acetona y MeOH	C <sub>18</sub>	AcOH / ac. Fórmico	Farré y col., 2001
Aguas residuales y superficiales	Filtración a 0.45 µm y acidificación a pH 3	SPE con StrataX	1000 mL	MeOH	C <sub>18</sub>	MeOH / AcONH <sub>3</sub>	Hilton y Thomas, 2003
Aguas residuales	Filtración a 0.45 µm y acidificación a pH 2	SPE con LiChrolut® 100 RP-18	500 mL	MeOH	C <sub>18</sub>	AcN-MeOH / AcNH <sub>3</sub>	Miao y col., 2002
Agua superficiales	Acidificación a pH 2	SPE con 500 mg de Bondesil ODS	500 mL	MeOH	C <sub>18</sub>	MeOH / AcNH <sub>3</sub>	Ahrer y col., 2001
Aguas residuales	Filtración a 0.45 µm	SPE con 60 mg de Oasis HLB	500 mL	AcOEt	Cromatografía gaseosa		Carballa y col., 2004
Aguas residuales	Filtración a 0.45 µm y acidificación a pH 2-2.5	SPE con 60 mg de Oasis HLB	500 mL	AcOEt	Cromatografía gaseosa		Rodríguez y col., 2003

SPE: Extracción en fase sólida

AcOEt: Acetato de etilo

MeOH: Metanol

AcN: Acetonitrilo

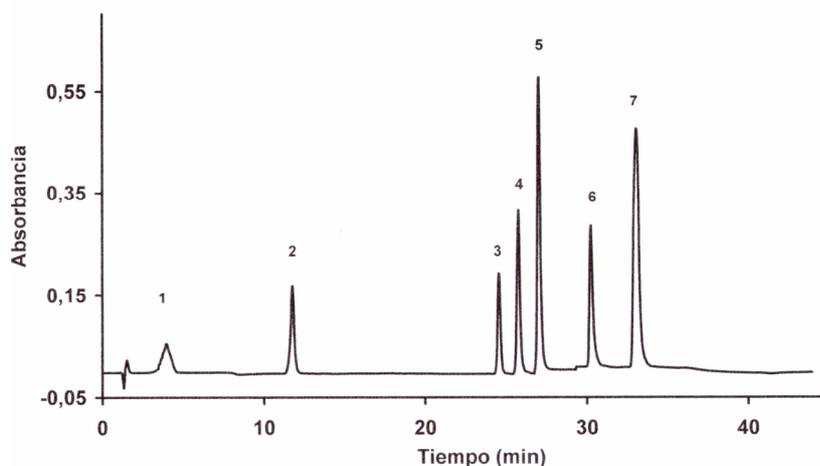
V<sub>muestra</sub>: Volumen de muestra

AcONH<sub>3</sub>: Acetato de amonio

AcNH<sub>3</sub>: Acetilamina

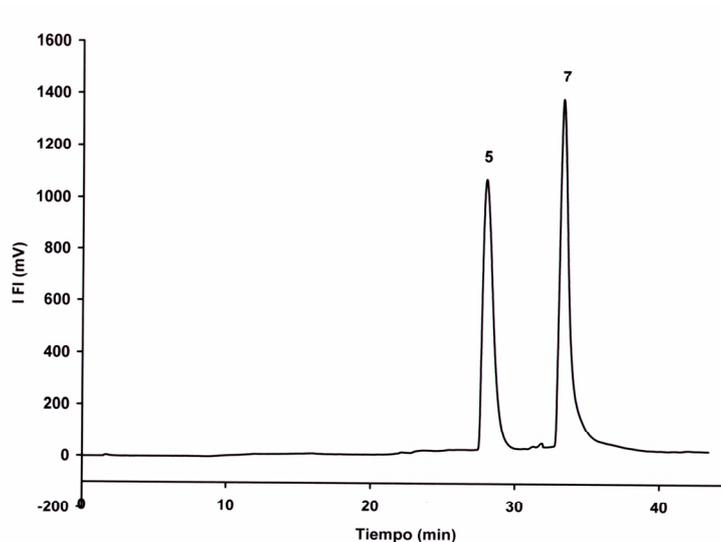
**Figura 4.3.**

**Cromatograma UV-DAD de una mezcla patrón de 2  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en paracetamol y naproxeno, 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en cafeína, carbamacepina y ketoprofeno y 15  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en ibuprofeno y diclofenaco (1, paracetamol; 2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 6, diclofenaco; 7, ibuprofeno)**



**Figura 4.4.**

**Cromatograma FL de una mezcla patrón de 2  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en naproxeno y 15  $\mu\text{g mL}^{-1}$  en ibuprofeno (5, naproxeno; 7, ibuprofeno)**



**Tabla 4.2.**  
**Condiciones cromatográficas óptimas para la determinación de los fármacos  
 seleccionados en muestras de aguas residuales**

Columna	125x4 mm LiChrospher® 100 RP-18			
Eluyentes	A: Metanol B: Acetonitrilo C: Disolución acuosa 50 mM en dihidrógenofosfato potásico			
Gradiente	Tiempo (min)	A (%)	B (%)	C (%)
	0	15	0	85
	4.5	15	0	85
	12.5	0	20	80
	18.0	0	25	75
	27.0	0	45	55
	45.0	0	45	55

**Tabla 4.3.**  
**Orden de elución, tiempos de retención e identificación de picos para los  
 cromatogramas de las Figuras 4.3 y 4.4**

Cromatograma UV-DAD (Figura 4.3)		
nº de pico	Tiempo de retención (min)	Fármaco
1	4.45	Paracetamol
2	12.24	Cafeína
3	25.04	Carbamacepina
4	26.24	Ketoprofeno
5	27.47	Naproxeno
6	30.72	Diclofenaco
7	33.70	Ibuprofeno
Cromatograma FL (Figura 4.4)		
5	28.09	Naproxeno
7	34.33	Ibuprofeno

### 3.3. Optimización de las condiciones de detección

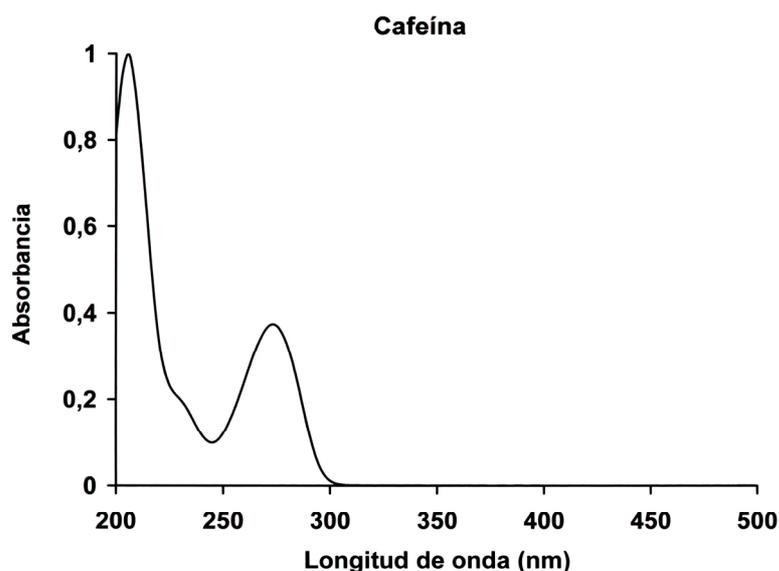
La determinación de los fármacos estudiados se llevó a cabo empleando detectores UV-DAD y FL programable situados en línea. El detector ultravioleta de fila de diodos permitió la obtención del espectro de cada uno de los picos (Figuras 4.5 a

4.11) y la determinación de cada uno de los analitos a la longitud de onda de máxima absorción, a excepción de diclofenaco que se determinó a 220 nm. En el caso de los fármacos ibuprofeno y naproxeno, con propiedades fluorescentes, su presencia en las aguas residuales fue confirmada comparando los niveles de concentración encontrados con el detector de diodos en fila, con los medidos en el detector de fluorescencia programable.

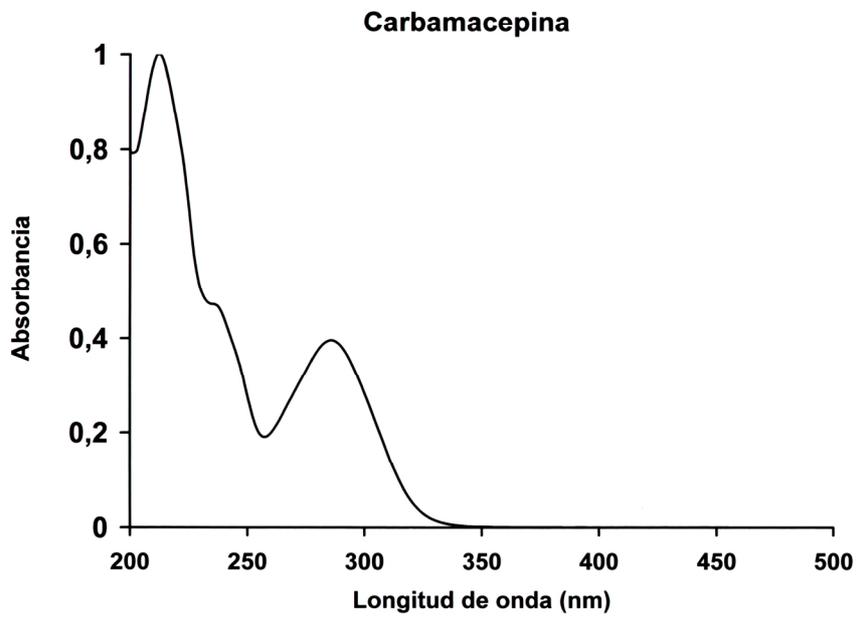
Los analitos fueron identificados comparando los tiempos de retención en los cromatogramas de patrón y muestra. Para confirmar la identificación, se comparó el espectro ultravioleta de los picos en el cromatograma de muestra, con el espectro del pico correspondiente en el cromatograma obtenido para una disolución estándar de patrones.

Las longitudes de onda de absorción (UV-DAD) y de excitación y emisión (FL) empleadas para cada fármaco se muestran en la Tabla 4.4.

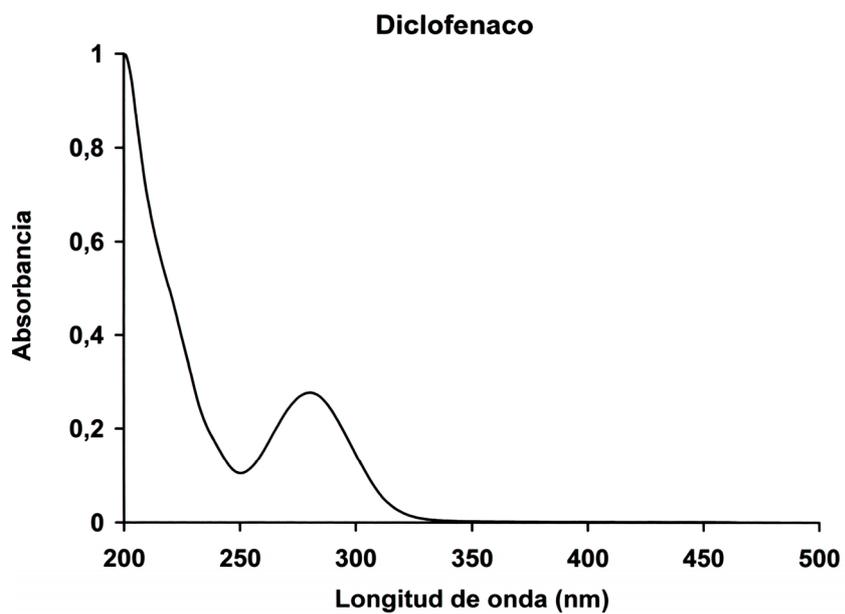
**Figura 4.5.**  
**Espectro de absorción ultravioleta de la cafeína**



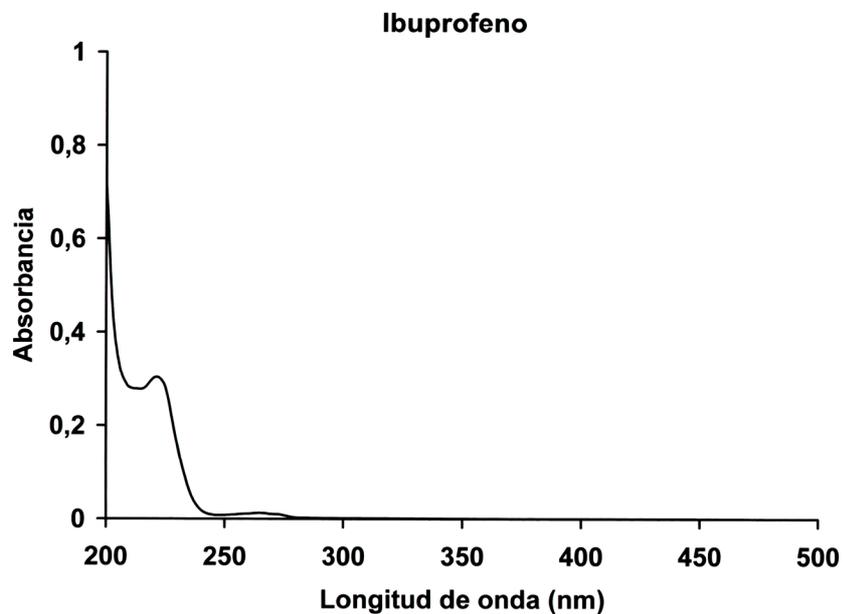
**Figura 4.6.**  
**Espectro de absorción UV de la carbamacepina**



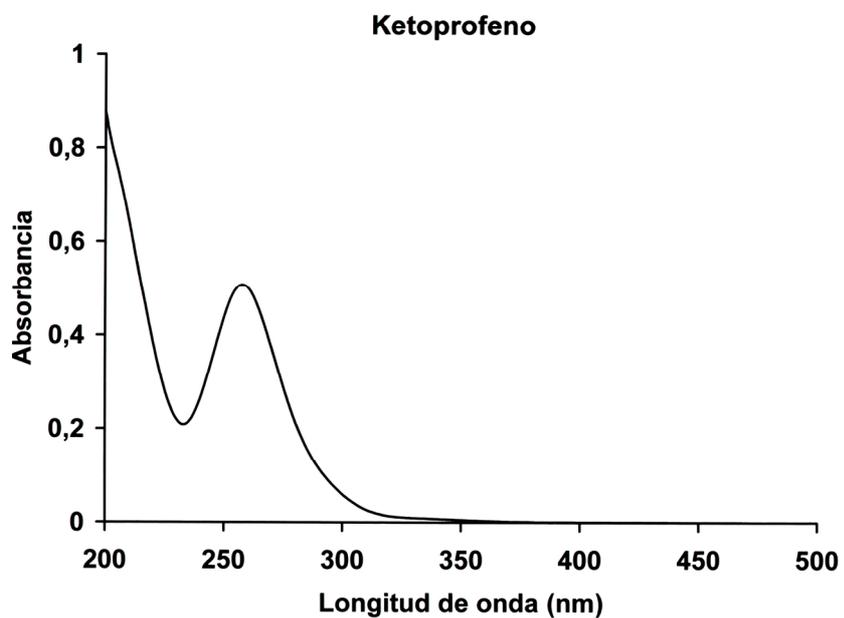
**Figura 4.7.**  
**Espectro de absorción ultravioleta del diclofenaco**



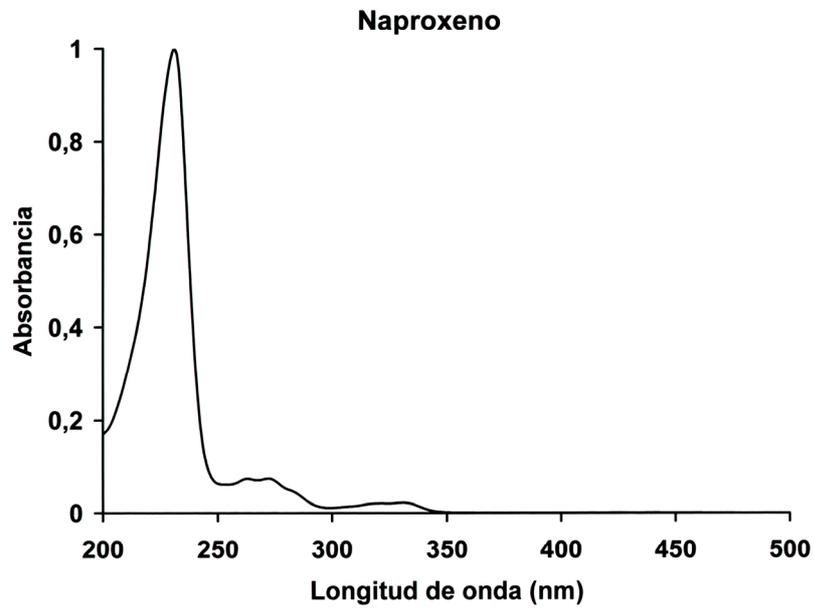
**Figura 4.8.**  
**Espectro de absorción ultravioleta del ibuprofeno**



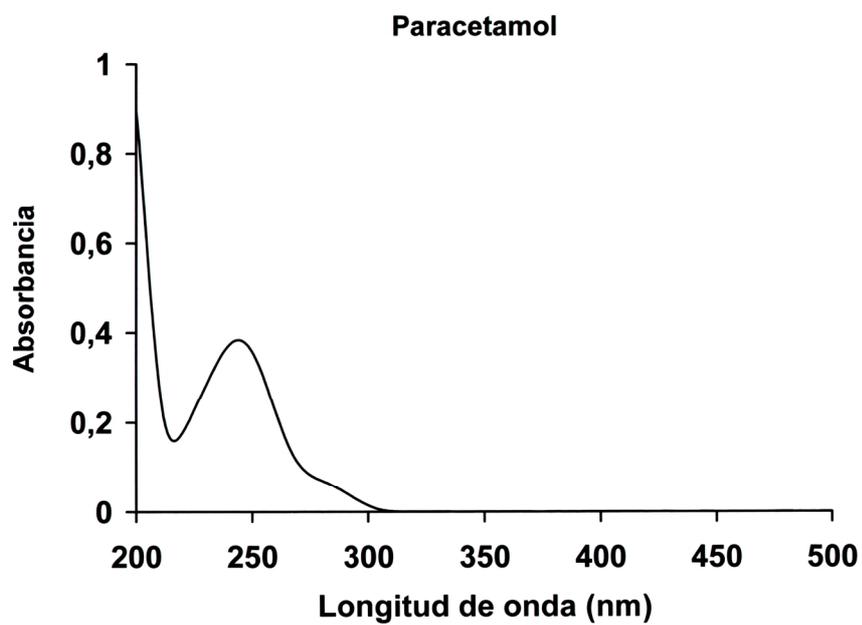
**Figura 4.9.**  
**Espectro de absorción ultravioleta del ketoprofeno**



**Figura 4.10.**  
**Espectro de absorción ultravioleta del naproxeno**



**Figura 4.11.**  
**Espectro de absorción ultravioleta del paracetamol**



**Tabla 4.4.**  
**Longitudes de onda de absorción (UV-DAD) y excitación y emisión (FL) empleadas en la detección de principios activos farmacológicos**

UV-DAD		
	$\lambda$ absorción	
Cafeína	273	
Carbamacepina	285	
Diclofenaco	220	
Ibuprofeno	220	
Ketoprofeno	258	
Naproxeno	231	
Paracetamol	245	

FL		
	$\lambda$ excitación	$\lambda$ emisión
Ibuprofeno	254	290
Naproxeno	231	420

### 3.4. Comparación de los resultados obtenidos por los detectores DAD y FL.

Para asegurar la calidad de los resultados obtenidos en este trabajo, se realizó la comparación entre los resultados obtenidos por el detector UV-DAD y por el detector FL. Esta comparación se realizó mediante una prueba de comparación de medias experimentales.

La comparación de medias se basa en aceptar la hipótesis nula de que ambos detectores proporcionan el mismo resultado o, lo que es lo mismo, que la diferencia entre ambas medidas analíticas ( $x_1-x_2$ ) no difiere significativamente de cero. Si las dos muestras tienen desviaciones estándar que no son significativamente diferentes, se puede realizar una estimación conjunta de la desviación estándar,  $s$ , a partir de las dos desviaciones estándar individuales  $s_1$  y  $s_2$  (Miller y Miller, 2002).

Para probar si es significativa la diferencia entre dos varianzas muestrales, se emplea el estadístico F, calculándolo mediante la expresión:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$$

Donde  $s_1$  y  $s_2$  se disponen de modo que  $F$  sea siempre  $\geq 1$ . El número de grados de libertad son en este caso  $n_1-1$  y  $n_2-2$ , respectivamente. Si el valor calculado de  $F$  supera el valor crítico (obtenido mediante tablas) entonces se rechaza la hipótesis nula.

Para la verificación de la hipótesis nula se tomaron cinco muestras de agua influente y cinco de agua efluente y se analizó por triplicado el contenido en ibuprofeno y naproxeno empleando el método optimizado. La Tabla 4.5 recoge los resultados obtenidos para ambos fármacos, mediante los detectores de UV-DAD y FL.

De modo previo, se comprobó que las dos medidas no presentan desviaciones estándar significativamente diferentes, calculando el valor del estadístico  $F$  (Tabla 4.6).

**Tabla 4.5**

**Concentraciones obtenidas mediante detectores UV-DAD y FL para diez muestras de aguas residuales influentes y efluentes de EDARs de la ciudad de Sevilla**

Muestra	Concentración de naproxeno ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )			
	Influente		Efluente	
	UV-DAD	FL	UV-DAD	FL
1	4,16 $\pm$ 0.06	3.95 $\pm$ 0.12	2,46 $\pm$ 0.03	2.42 $\pm$ 0.06
2	4,36 $\pm$ 0.07	4.20 $\pm$ 0.11	1,65 $\pm$ 0.03	1.71 $\pm$ 0.05
3	2,66 $\pm$ 0.07	2.63 $\pm$ 0.05	4,65 $\pm$ 0.03	4.59 $\pm$ 0.05
4	5,59 $\pm$ 0.07	5.65 $\pm$ 0.12	1,38 $\pm$ 0.03	1.30 $\pm$ 0.06
5	5,60 $\pm$ 0.07	5.45 $\pm$ 0.11	1,50 $\pm$ 0.03	1.48 $\pm$ 0.06

Muestra	Concentración de ibuprofeno ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )			
	Influente		Efluente	
	UV-DAD	FL	UV-DAD	FL
1	25,20 $\pm$ 0.20	25.53 $\pm$ 0.11	<1.60	<0.41
2	16,74 $\pm$ 0.20	17.00 $\pm$ 0.14	4,34 $\pm$ 0.09	4.19 $\pm$ 0.07
3	36,05 $\pm$ 0.24	36.12 $\pm$ 0.21	19,13 $\pm$ 0.12	19.32 $\pm$ 0.13
4	74,74 $\pm$ 0.42	75.02 $\pm$ 0.26	<1.60	<0.41
5	5,34 $\pm$ 0.10	5.19 $\pm$ 0.11	<1.60	<0.41

**Tabla 4.6**  
**Resultados obtenidos para el estadístico F**

Muestra	F calculada (Influnte)		F calculada (Efluyente)	
	Naproxeno	Ibuprofeno	Naproxeno	Ibuprofeno
1	4,00	3,31	4,00	- <sup>a</sup>
2	2,47	2,04	2,78	1,65
3	1,96	1,31	2,78	1,17
4	2,94	2,61	4,00	- <sup>a</sup>
5	2,47	1,21	4,00	- <sup>a</sup>

<sup>a</sup> resultado no calculado

Los grados de libertad en ambos casos son 2, por lo que en una prueba de Fischer de dos colas, el valor del estadístico F tabulado es 38.51. Ello indica que no hay una diferencia significativa en los valores de desviación estándar, por lo que se puede realizar la prueba de comparación de medias empleando una desviación estándar combinada.

La expresión para calcular el valor del estadístico t tiene la forma

$$t = \frac{(x_1 - x_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

donde s se calcula a partir de la expresión

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}$$

y t tiene  $n_1 + n_2 - 2$  grados de libertad.

Los resultados para el estadístico t se muestran en la Tabla 4.7.

**Tabla 4.7**  
**Resultados obtenidos para el estadístico t**

Muestra	$t_{\text{calculada}}$ (Influyente)		$t_{\text{calculada}}$ (Efluente)	
	Naproxeno	Ibuprofeno	Naproxeno	Ibuprofeno
1	2,71	-2,50	1,03	- <sup>a</sup>
2	2,13	-1,84	-1,78	-2,28
3	0,60	-0,38	1,78	-1,86
4	-0,75	-0,98	2,07	- <sup>a</sup>
5	2,04	1,75	0,52	- <sup>a</sup>

<sup>a</sup> resultado no calculado

El número de grados de libertad es 4. Para un nivel de confianza del 95 % el valor tabulado del parámetro t es 2.78, por lo que se comprueba que el valor de  $|t_{\text{calculado}}|$  es en todos los casos inferior al valor de  $t_{\text{tabulado}}$  y la hipótesis nula se toma como cierta.

#### 4. METODOLOGÍA ANALÍTICA EN LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES

Para llevar a cabo la determinación de fármacos en muestras de aguas residuales se siguió, previa selección de los principios activos, un procedimiento basado en la extracción y preconcentración de las muestras mediante extracción en fase sólida y posterior determinación mediante cromatografía líquida de alta resolución con detectores ultravioleta de fila de diodos y fluorescente.

##### 4.1. Principios activos farmacológicos

Los principios activos farmacológicos estudiados fueron los fármacos antiinflamatorios diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y paracetamol, el antiepiléptico carbamacepina y el estimulante nervioso cafeína.

## **4.2. Materiales y reactivos**

A continuación se presentan los reactivos y disolventes empleados así como los instrumentos y equipos necesarios para la determinación de fármacos por el método propuesto.

### **4.2.1. Material e instrumentación**

- Kitasato 1000 mL.
- Embudo alemán de 12 cm de diámetro.
- Embudo büchner.
- Papel de filtro Albet (número 305).
- Papel de filtro Albet (20 – 25  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro).
- Papel de filtro Albet (7 – 11  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro).
- Filtros Whatman de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro y 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.
- Equipo de filtración (Supelco).
- Equipo de extracción en fase sólida consistente en un distribuidor de vacío de 20 puertos equipado con tubos de teflón para la carga de elevados volúmenes de muestra (Waters) y soporte de teflón para viales de recogida de muestra.
- Cartuchos de extracción de 3 ml empaquetados con 60 mg de relleno Oasis HLB (Waters).

- Bomba de vacío (Millopore).
- Tubos de centrifuga de 10 mL.
- Sistema de evaporación por corriente de nitrógeno.
- Equipo de ultrasonido
- Balanza analítica de 0,1 mg de precisión (Sartorius).
- Filtros de Nylon de 47 mm de diámetro y 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro (Teknokroma).
- Jeringas estériles de polipropileno de 1mL (Acofarma).
- Viales de vidrio con tapón roscado de 5 mL.
- Discos de microfiltración de 10 mm de diámetro y 0,45  $\mu\text{m}$  de poro (Teknokroma).
- Equipo de agua Milli-Q compuesto por un sistema de resinas intercambiadoras (Millipore Milli Q).
- Micropipetas graduables de 2-20  $\mu\text{L}$ , 10-100  $\mu\text{L}$  y 100-1000  $\mu\text{L}$ .
- Pipetas graduadas de 1 y 5 mL.
- Cromatógrafo líquido de alta resolución (Merck Hitachi) modelo D-7000, compuesto por una bomba (Merck Hitachi) modelo L-7100, un detector UV-DAD (Merck Hitachi) modelo L-7455 y un detector de fluorescencia programable (Merck Hitachi) modelo L-7485 en disposición en línea. El inyector fue de tipo Rheodyne (Coati) modelo 7725i con un bucle de muestra de 20  $\mu\text{L}$ . La columna cromatográfica fue una LichroCART con relleno LiChrospher<sup>®</sup> 100 RP-18 (125 x 4 mm de diámetro interno) con partículas de

relleno de 5 µm de tamaño (Merck). Para salvaguardar la columna se instala una precolumna LiChroCART 4-4 LiChrospher 100 RP-18, con partículas de relleno de 5 µm de tamaño.

Todo el material volumétrico empleado en las operaciones metodológicas para este tipo de determinaciones se lavó repetidas veces con agua desionizada de calidad Milli-Q y se trató con los disolventes empleados en la extracción.

#### **4.2.2. Reactivos**

- Metanol HPLC gradient quality (Romil Ltd.).
- Acetonitrilo HPLC gradient quality (Romil Ltd.).
- n-Hexano de calidad HPLC preparativa (Panreac).
- Acetato de etilo de calidad HPLC preparativa (Panreac).
- Acetona de calidad para análisis (Panreac).
- Dihidrógeno fosfato potásico de calidad para análisis (Panreac).
- Nitrógeno N-50 (Alpha gaz).
- Helio N-50 (Alpha gaz).
- Agua desionizada.

#### **4.2.3. Disoluciones patrón y blanco de reactivos**

Los principios activos carbamacepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno y paracetamol (entre el 97 y 100 % de pureza) fueron suministrados por Sigma-Aldrich. La cafeína fue suministrada por Merck.

Las disoluciones madre de  $500 \mu\text{g mL}^{-1}$  de los siete fármacos seleccionados fueron preparadas en metanol y conservadas en frigorífico a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Las disoluciones de trabajo de  $50 \mu\text{g mL}^{-1}$  fueron preparadas diariamente por dilución de las disoluciones madre con metanol. Las disoluciones patrón fueron preparadas por mezcla de las disoluciones de trabajo en metanol.

El blanco de reactivos se preparó siguiendo el procedimiento de extracción descrito en el apartado 5.3 sin llevar a cabo la carga de muestra.

#### **4.3. Descripción de la metodología propuesta**

En base a la revisión bibliográfica realizada y los fármacos seleccionados, se propuso una metodología para la determinación de los fármacos de interés en muestras de aguas residuales. El método se basó en una separación y concentración de los analitos mediante extracción en fase sólida, seguido de su determinación por cromatografía líquida de alta resolución con detectores ultravioleta de fila de diodos (UV-DAD) y de fluorescencia programable (FL).

El procedimiento seguido se detalla a continuación:

##### *Tratamiento previo de las muestras*

- Filtrar por gravedad un volumen superior a 500 mL de agua bruta (1000 mL de agua tratada) a través de un papel de filtro Albet número 305 previamente lavado con agua desionizada.
- Recoger el filtrado en un kitasato y filtrar a vacío a través de un filtro de  $20 - 25 \mu\text{m}$  de tamaño de poro previamente lavado con agua desionizada.
- Recoger el filtrado y pasar a través de un filtro de  $7 - 11 \mu\text{m}$  de tamaño de poro previamente lavado con agua desionizada.

- Recoger el filtrado en un kitasato y volver a filtrar a través de un filtro de fibra de vidrio de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro, previamente lavado con agua desionizada.
- Trasvasar el filtrado a un matraz de 500 mL (1000 mL en el caso del agua tratada) llegando hasta el enrase y conectar los tubos de teflón para la carga de altos volúmenes de muestra.

#### *Extracción en fase sólida*

- Acondicionar los cartuchos, situados en el distribuidor de vacío, haciendo pasar por gravedad alícuotas de 3 mL de acetato de etilo, metanol y agua desionizada de modo consecutivo.
- Conectar los tubos de teflón para la carga de altos volúmenes de muestra a los cartuchos y conectar la bomba.
- Hacer pasar la muestra a un flujo aproximado de 15 mL  $\text{min}^{-1}$ .
- Desconectar los tubos de teflón de los cartuchos.
- Lavar el absorbente cargado con la muestra con 3 mL de una mezcla metanol:agua (95:5) y 3 mL de n-hexano a un flujo aproximado de 3 mL  $\text{min}^{-1}$  con ayuda de vacío.
- Colocar los tubos de centrifuga en el soporte de teflón para viales del distribuidor de vacío. Situar el soporte dentro del distribuidor de vacío.
- Eluir el contenido de los cartuchos con 3 alícuotas de 1 mL de acetato de etilo a un flujo aproximado de 1 mL  $\text{min}^{-1}$ . Emplear vacío si es necesario.
- Recoger el extracto en los tubos de centrifuga y evaporar a sequedad aplicando corriente de nitrógeno.

- Disolver el extracto seco en 500  $\mu\text{L}$  de metanol empleando ultrasonido.

*Determinación cromatográfica de fármacos en aguas residuales*

- Microfiltrar el extracto obtenido en la etapa de extracción, y recoger en un vial de 5 mL, empleando discos de microfiltración de 10 mm de diámetro y de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.
- Inyectar la muestra microfiltrada en el cromatógrafo. Previamente a este paso, la fase móvil ha debido ser microfiltrada a 0.45  $\mu\text{m}$  con filtros de nylon y burbujeada con helio durante 15 minutos para eliminar el posible gas disuelto. Así mismo, se ha debido esperar el tiempo necesario para obtener una buena línea base.

*Cálculo y expresión de resultados*

La cuantificación de las concentraciones de fármacos en las muestras de influentes y efluentes de EDARs se realizó por calibración externa, expresándose los resultados en  $\mu\text{g L}^{-1}$  de muestra.

## **5. VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA PROPUESTA**

La definición ISO de validación aplicada a los métodos analíticos podría interpretarse como el proceso mediante el cual queda establecido, por estudios experimentales, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica requerida.

Existe una gran variedad de documentación acerca de la validación de los métodos analíticos (Ramis y Álvarez-Coque, 2001; CDER, 1994; ICH, 1996), especialmente para métodos concretos (Zanella y col., 2000; Berger y Haukås, 2005), y numerosas organizaciones promueven su difusión e importancia, como la AOAC

(*Association of Official American Chemists*), EPA (*Environmental Protection Agency*), FDA (*Food and Drug Administration*), ICH (*International Conference on Harmonization*), USP (*United States Pharmacopeia*), EURACHEM (*EUROpean Analytical CHEMistry*), etc.

La validación de la propuesta de metodología se realizó siguiendo las recomendaciones de la ICH, CDER y EURACHEM publicados en guías para la validación de métodos y procedimientos analíticos (EURACHEM, 1998; ICH, 1996; CDER, 1994).

Se estudiaron, la eficacia del sistema cromatográfico, la precisión de las determinaciones cromatográficas y del método propuesto, intervalos dinámicos y linealidad, recuperaciones y exactitud y los límites de detección y cuantificación de la propuesta de metodología.

### **5.1. Eficacia del sistema cromatográfico**

De modo previo a la realización de las experiencias de validación, se procedió a comprobar que el sistema cromatográfico, operando en las condiciones óptimas de composición de fase móvil y detección, estaba capacitado para producir resultados de la calidad exigida.

Los parámetros evaluados fueron anchura de pico en la semialtura ( $W_{1/2}$ ), número de platos teóricos (N), factor de asimetría (T), factor de capacidad ( $k'$ ), tiempo de retención ( $t_R$ ) y repetitividad del mismo (% RSD- $t_R$ ). A continuación se describen:

- La semianchura de pico ( $W_{1/2}$ ) es el ancho del pico cromatográfico, medido a la mitad de la altura de este.
- El número de platos teóricos es el número de equilibrios de distribución teóricos que establece el soluto entre la fase estacionaria y la fase móvil. Se calculó mediante la siguiente expresión:

---

$$N = 5.54 \cdot \left( \frac{t_R}{W_{1/2}} \right)^2$$

- El factor de asimetría (T) mide el grado de similitud del pico a una curva gaussiana. Se calculó mediante la expresión:

$$T = \frac{A + B}{2A}$$

Donde A y B representan la distancia entre los dos extremos inferiores del pico y la vertical que pasa por el máximo.

- El factor de capacidad ( $k'$ ) es un parámetro termodinámico que expresa el tiempo que el analito permanece en la fase estacionaria, en relación al tiempo de permanencia en la fase móvil. El cálculo de los factores de capacidad se realizó mediante la expresión:

$$k' = \frac{t_R - t_m}{t_m}$$

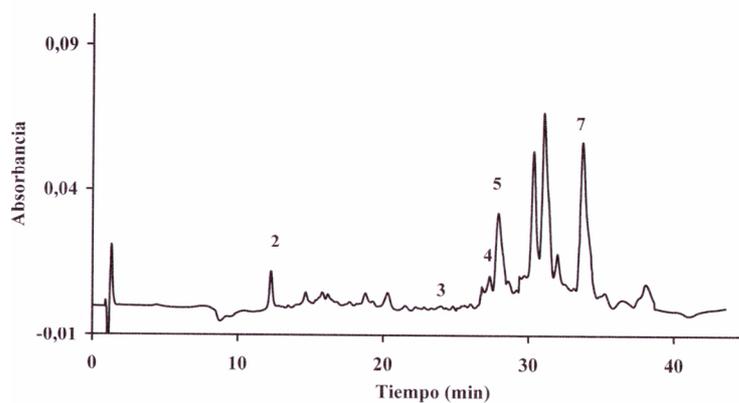
Donde  $t_R$  es el tiempo de retención del analito y  $t_m$  es el tiempo muerto, que representa el tiempo que tarda en salir del sistema cromatográfico una especie que no es retenida en la columna.

Para la evaluación de la eficacia cromatográfica se inyectó una muestra de agua influente por sextuplicado. Los parámetros correspondientes a los fármacos no detectados en dicha muestra (paracetamol y diclofenaco) fueron determinados mediante inyección de una muestra patrón por sextuplicado.

La Tabla 4.8 muestra los tiempos de retención, los parámetros cromatográficos estudiados y sus valores límite recomendados. Las Figura 4.12 y 4.13 muestran los cromatogramas típicos obtenidos mediante detección UV-DAD y FL para la muestra de agua bruta.

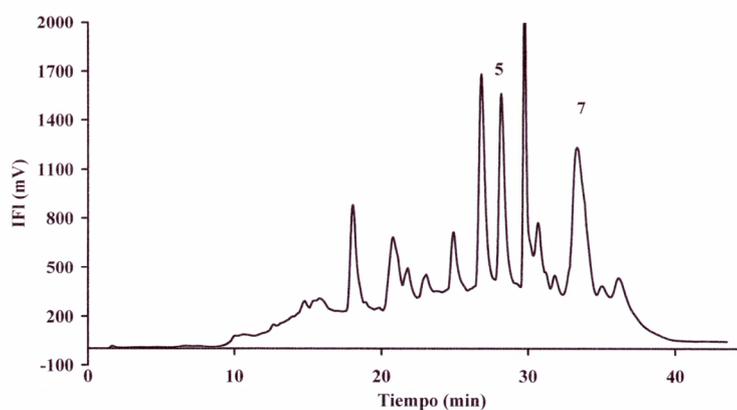
**Figura 4.12.**

**Cromatograma ejemplo (UV-DAD) de una muestra de 500 mL de agua residual influente (2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 7, ibuprofeno)**



**Figura 4.13.**

**Cromatograma ejemplo (FL) de una muestra de 500 mL de agua residual influente (5, naproxeno; 7, ibuprofeno)**





**Tabla 4.8.**  
**Parámetros de eficacia en la separación cromatográfica**

	Detector UV-DAD							Detector FL		Valor límite
	paracetamol	Cafeína	Carbamacepina	Ketoprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Ibuprofeno	Naproxeno	Ibuprofeno	
n° de pico	1	2	3	4	5	6	7	5	7	-
t <sub>R</sub> (min)	4.45	12.35	25.06	26.50	27.97	30.72	33.76	28.17	34.23	-
RSD-t <sub>R</sub> (%)	0.37	0.40	0.14	0.70	0.14	0.03	0.07	0.20	0.11	RSD < 1 %
W <sub>1/2</sub> (min)	0.649	0.228	0.190	0.196	0.190	0.208	0.372	0.407	0.872	-
T	0.73	0.93	1.09	1.15	1.36	1.45	1.44	1.39	1.32	T < 1.5
Platos teóricos	260	16165	96379	101268	119972	120842	45626	26538	8536	N > 2000
k'	2.97	9.93	21.36	22.45	25.36	26.43	27.47	15.42	19.04	k' > 2

t<sub>R</sub>: Tiempo de retención

RSD-t<sub>R</sub>: Repetitividad del tiempo de retención, medida como RSD.

W<sub>1/2</sub>: Semianchura de pico

T: Factor de asimetría

k': Factor de capacidad



Ninguno de los fármacos seleccionados supera los valores límite para los parámetros cromatográficos evaluados en este trabajo (CDER, 1994), a excepción del paracetamol en el caso del número de platos teóricos. La RSD del tiempo de retención fue inferior al 1 % en todos los casos, encontrándose los valores entre el 0.03 % (diclofenaco) y el 0.70 % (ketoprofeno). Los factores de asimetría fueron inferiores a 1.5, siendo diclofenaco e ibuprofeno los que presentan un valor de factor de asimetría más próximo al valor límite. El valor límite para el número de platos teóricos sólo fue superado por el paracetamol, con 260 platos teóricos. El resto de fármacos presentaron valores de número de platos superiores a 8000. En cuanto a los factores de capacidad, su valor osciló entre 2.97 (paracetamol) y 27.47 (ibuprofeno).

## 5.2. Precisión

La precisión es una medida del grado de separación entre las medidas realizadas empleando un método analítico y trabajando en condiciones normales de operación. Se expresa normalmente como porcentaje de desviación estándar relativa (RSD). De acuerdo con la ICH, la precisión debe evaluarse a tres niveles: repetitividad, precisión intermedia y reproducibilidad.

La repetitividad es una medida del grado de separación de una serie de medidas realizadas en un espacio corto de tiempo (en un mismo día). La precisión intermedia es una medida de la dispersión de los resultados obtenidos por un método analítico en un espacio de tiempo más amplio que la repetitividad, modificando ciertas condiciones de operación: diferentes días, analistas, equipos, etc. Por último, la reproducibilidad expresa la precisión entre laboratorios, formando parte de los estudios interlaboratorio.

Para cumplir los objetivos marcados en el presente trabajo, la precisión fue evaluada a dos niveles: repetitividad y precisión intermedia. Se determinó tanto para la medida cromatográfica, como para el método completo.

La medida de precisión, expresada como desviación estándar relativa (RSD), se determinó mediante la expresión:

$$\%RSD = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

Donde  $s$  y  $\bar{x}$  representan los valores de desviación estándar y valor medio de una serie de medidas repetidas. Ambos valores se calculan empleando las expresiones mostradas en el apartado 4.1 del capítulo 3.

### 5.3. Repetitividad y precisión intermedia de la medida cromatográfica

La precisión de las medidas cromatográficas fue evaluada, según las recomendaciones de la ICH, mediante la medida por triplicado de disoluciones estándar preparadas a tres niveles de concentración: 20, 100 y 180 % de la concentración habitualmente encontrada en muestras de aguas residuales.

Los valores de repetitividad obtenida en la medida cromatográfica, dadas como RSD de las concentraciones medidas, variaron entre 1.06 % para el ketoprofeno y 6.01 % para carbamacepina (Tabla 4.9). Estos valores están de acuerdo con los obtenidos por otros autores (González-Barreiro y col., 2003).

La medida de precisión intermedia se realizó durante un periodo de cuatro semanas mediante la medida de dos disoluciones estándar de los fármacos estudiados a los niveles de concentración habitualmente presentes en las aguas residuales influentes y efluentes. Se realizaron 10 medidas independientes y se comparó la RSD obtenida experimentalmente con el dado por la fórmula de Horwitz:

$$\%RSD = \frac{2^{(1-0.5\log c)}}{2}$$

c: concentración del analito expresada como fracción decimal.

Con esta expresión W. Horwitz estableció una relación empírica entre la concentración del analito presente en una muestra y su % RSD máximo tolerable a partir de datos acumulados de estudios de reproducibilidad. Los valores de % RSD obtenidos experimentalmente deben ser menores o iguales que los indicados por la fórmula de Horwitz.

**Tabla 4.9.**  
**Repetitividad del proceso cromatográfico (n=3)**

Repetitividad (UV-DAD)			
Fármaco	20 %	100 %	180 %
Cafeína	3.42	1.43	2.14
Carbamacepina	6.01	2.23	4.60
Diclofenaco	3.25	1.74	2.19
Ibuprofeno	4.40	9.18	1.65
Ketoprofeno	3.26	0.16	1.06
Naproxeno	2.78	1.01	2.25
Repetitividad (FL)			
	20 %	100 %	180 %
Ibuprofeno	2.29	1.47	1.45
Naproxeno	9.51	1.34	4.21

En la Tabla 4.10 se muestran los valores de precisión intermedia expresados como desviación estándar relativa así como los correspondientes valores obtenidos a través de la fórmula de Horwitz. Estos valores variaron en un rango de entre 2.37 (diclofenaco) y 9.18 (ibuprofeno) en el caso de la disolución estándar preparada a los niveles de concentración correspondientes al agua efluente, y entre 1.29 (ketoprofeno) y 7.99 (diclofenaco) para la disolución estándar preparada a niveles de concentración de agua influente.

Los valores de RSD calculados por la expresión de Horwitz solo se vieron superados en el caso del ibuprofeno para concentraciones correspondientes al agua efluente y en el caso del diclofenaco e ibuprofeno en la disolución estándar preparada a niveles de concentración de agua influente.

**Tabla 4.10.**  
**Precisión intermedia del proceso cromatográfico**

Precisión intermedia (UV-DAD)				
Fármaco	Agua residual tratada		Agua residual bruta	
	% RSD	% RSD(Horwitz)	% RSD	% RSD(Horwitz)
Cafeína	3.40	5.37	2.78	4.20
Carbamacepina	4.81	5.42	4.62	5.59
Diclofenaco	2.37	3.49	7.99	2.89
Ibuprofeno	9.18	4.66	6.80	2.85
Ketoprofeno	2.62	5.46	1.29	4.30
Naproxeno	3.42	4.79	2.08	4.13
Precisión Intermedia (FL)				
Ibuprofeno	8.95	4.66	6.05	2.85
Naproxeno	2.01	4.79	2.1	4.13

#### 5.4. Repetitividad de la metodología propuesta

Para llevar a cabo los estudios de repetitividad de la metodología propuesta en el apartado 5 del presente capítulo, se analizaron porciones de 1000 mL de muestra de agua residual efluente, previamente dopadas con los fármacos seleccionados a tres niveles de concentración: 20, 100 y 180 % de la concentración habitualmente encontrada, de acuerdo con la bibliografía, en este tipo de muestras. Cada nivel de concentración se preparó por triplicado. Se separaron 9 porciones de muestra en matraces de 1000 mL, se adicionaron los fármacos de interés y se homogeneizaron y almacenaron durante 24 horas a 4 °C. Una décima muestra se sometió al mismo tratamiento, sin adición de fármacos, para su uso como blanco de muestra. Posteriormente se realizó el proceso de extracción descrito en el capítulo anterior y se procedió a la determinación cromatográfica. Los resultados obtenidos, expresados como RSD, se muestran en la Tabla 4.11.

**Tabla 4.11.**  
**Repetitividad de la metodología propuesta (%RSD, n=3)**

Detector UV-DAD			
Fármaco	20 %	100 %	180 %
Cafeína	11.51	9.24	7.23
Carbamacepina	6.10	10.52	10.85
Diclofenaco	7.87	6.51	2.30
Ibuprofeno	15.06	12.59	2.67
Ketoprofeno	16.20	14.50	6.79
Naproxeno	13.90	12.58	5.41

Detector FL			
Ibuprofeno	11.93	8.8	3.12
Naproxeno	12.63	10.2	5.67

La repetitividad de la metodología propuesta varió, en unidades de RSD (%), entre 2.30 (diclofenaco) y 16.20 (ketoprofeno). La mayor precisión se obtuvo para niveles de concentración superiores a los encontrados habitualmente en aguas residuales. A niveles de concentración del 100 % de la concentración de los fármacos seleccionados en aguas residuales, la repetitividad osciló entre 6.51 en el caso del diclofenaco y 14.50 en el caso del ketoprofeno. Estos valores están de acuerdo con los encontrados por otros autores (Ternes y col., 2001; Miao y col., 2002; González-Barreiro y col., 2003).

### 5.5. Intervalo dinámico y linealidad

El intervalo dinámico es el intervalo de valores de la concentración de analito correspondientes a los puntos de linealidad comprobada, siempre que presenten un nivel aceptable de precisión y exactitud. Es decir, el valor mínimo del intervalo no puede ser inferior al límite de cuantificación establecido.

La linealidad de un procedimiento analítico se define como su capacidad (dentro de un rango) para obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra. La linealidad se evaluó, en primera instancia, mediante la inspección visual de las rectas obtenidas y, posteriormente, se evaluaron los resultados mediante tratamientos estadísticos. Para evaluar estadísticamente la linealidad se siguieron dos criterios:

- Coeficiente de correlación lineal, considerando lineal el calibrado si  $r > 0.999$ .
- Desviación estándar relativa de la pendiente inferior al 5 %.

Las rectas de calibrado fueron elaboradas periódicamente mediante disoluciones en metanol de los fármacos seleccionados, a los niveles de concentración adecuados (no menos de 7 puntos de calibración a concentraciones entre el 20 y el 180 % de los niveles habituales en muestras de aguas residuales).

Los parámetros de calibración obtenidos se muestran en la Tabla 4.12.

**Tabla 4.12.**  
**Rectas de calibrado, rango lineal, coeficiente de correlación lineal y desviación estándar relativa de la pendiente para los datos de calibración de los fármacos seleccionados**

UV-DAD				
Fármaco	Recta de calibrado	Intervalo dinámico ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	r	% RSD <sub>pendiente</sub>
Cafeína	$y = (1.2 \pm 0.3)10^3 + (3.2 \pm 0.02)10^4 x$	0.25 – 18.0	0.9998	0.51
Carbamacepina	$y = (1.2 \pm 0.8)10^3 + (3.09 \pm 0.02)10^4 x$	0.13 – 9.5	0.9996	0.72
Diclofenaco	$y = -(0.2 \pm 0.3)10^4 + (4.18 \pm 0.03)10^4 x$	0.50 – 18.0	0.9993	0.97
Ibuprofeno	$y = (0.7 \pm 0.3)10^5 + (2.39 \pm 0.03)10^4 x$	1.50 – 220.0	0.9990	2.31
Ketoprofeno	$y = (0.5 \pm 0.1)10^4 + (2.94 \pm 0.03)10^4 x$	0.13 – 9.5	0.9995	0.95
Naproxeno	$y = (1.0 \pm 0.7)10^4 + (1.99 \pm 0.01)10^5 x$	0.25 – 18.0	0.9998	0.49
FL				
Ibuprofeno	$y = -(0.5 \pm 0.2)10^5 + (1.50 \pm 0.03)10^4 x$	1.0 – 220.0	0.9990	2.42
Naproxeno	$y = -(0.3 \pm 0.1)10^5 + (2.27 \pm 0.04)10^5 x$	0.25 – 9.5	0.9992	1.75

r: coeficiente de correlación

% RSD<sub>pendiente</sub>: desviación estándar relativa de la pendiente de la recta de calibrado.

y: Area de pico.

x: Concentración de analito.

Se aprecia una buena linealidad para todos los casos con coeficientes de regresión ( $r$ ) que varían entre 0.9990 para el ibuprofeno y 0.9998 para cafeína y naproxeno cuando se emplea detección UV-DAD. En el caso de detección por FL, los coeficientes de correlación lineal fueron de 0.9990 y 0.9992 para ibuprofeno y naproxeno respectivamente. Las desviaciones estándar relativas de las pendientes son, en todos los casos, inferiores al 5 %.

## 5.6. Estudios de recuperación y exactitud

La exactitud de un método analítico es un parámetro que indica la proximidad de los resultados obtenidos por este método a un valor considerado como real.

Existen varios procedimientos para determinar la exactitud de una metodología analítica:

- Aplicación del procedimiento analítico a materiales de referencia certificados (CRM), cuya concentración de analito es conocida y comparación del valor medido con el valor considerado como real.
- Comparación de los resultados obtenidos por la metodología propuesta con aquellos obtenidos mediante un método normalizado cuya trazabilidad es conocida.
- Recuperación de cantidades conocidas de analito, obtenidos mediante dopaje de muestras. La media de las réplicas indica cuánto de exacto es el método (CDER, 1994).

Para validar la exactitud de la propuesta metodológica, se optó, ante la ausencia de un CRM para este tipo de analitos en muestras de aguas residuales, por el dopaje de muestras.

El dopaje de las muestras se realizó, según recomendaciones del *Center for drugs Evaluation and Research* (CDER), a tres niveles de concentración: 80, 100 y 120

% de la concentración encontrada habitualmente en muestras de aguas residuales. Cada nivel de concentración se evaluó por triplicado.

Se tomaron diez porciones de 1000 mL de muestra, nueve de las cuales se doparon por triplicado a los tres niveles de concentración indicados. La muestra restante se empleó como blanco de muestra. Posteriormente, se sometieron las muestras al proceso de extracción y se inyectaron los extractos obtenidos en el cromatógrafo. La recuperación para cada fármaco se obtuvo a partir de los resultados generados mediante la expresión:

$$\%R = \frac{C_{medida} - C_{blanco}}{C_{dopaje}} \cdot 100$$

Donde R representa la recuperación expresada como %;  $C_{medida}$ , es la concentración medida en la muestra dopada;  $C_{blanco}$ , es la concentración de fármacos en el blanco de muestra y  $C_{dopaje}$ , es la concentración adicionada a la muestra.

Los resultados obtenidos para la recuperación, junto con la RSD obtenida en cada caso se muestran en la Tabla 4.13.

La recuperación de los fármacos seleccionados, aplicando la propuesta metodológica, se situaron entre el 71 % (cafeína) y el 103 % (naproxeno) cuando se emplea el detector UV-DAD. En el caso del detector FL, las recuperaciones se situaron entre el 72 % para el ibuprofeno y el 90 % para el naproxeno. Estos valores obtenidos en el método están de acuerdo con los obtenidos por otros autores en muestras de aguas residuales (Marchese y col., 2003; Miao y col., 2002; Ternes y col., 2001; Öllers y col., 2001).

Los valores de RSD de los fármacos estudiados oscilaron entre 1.0 y 15.1 %, siendo la media 7.34 % cuando se emplea detección por UV-DAD, y 2.2 y 15.1 % , siendo 9.39 % el valor medio, cuando se emplea detección por FL.

**Tabla 4.13**  
**Promedio de recuperación de los principios activos farmacológicos seleccionados a diferentes niveles de dopaje (n=3)**

Detector UV-DAD								
Fármaco	Nivel de dopaje		100 %		120 %		Valores medios	
	80 %		Recuperación	RSD	Recuperación	RSD	Recuperación	RSD
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Cafeína	78	5.2	71	11.7	85	5.7	78	7.5
Carbamacepina	93	4.4	94	2.5	99	6.1	95	4.3
Diclofenaco	83	13.8	73	8.4	79	1.0	78	7.7
Ibuprofeno	86	13.7	81	5.7	101	4.2	89	7.9
Ketoprofeno	78	15.1	81	3.9	81	4.4	80	7.8
Naproxeno	103	8.6	93	10.2	97	7.5	98	8.8
Detector FL								
Ibuprofeno	87	11.2	72	8.8	93	2.2	84	3.7
Naproxeno	90	8.7	79	10.2	85	15.1	85	11.3

### 5.7. Límites de detección y de cuantificación

El límite de detección se define como la menor concentración o cantidad de analito que proporciona en el instrumento una señal significativamente diferente a la señal del “blanco” o “ruido de fondo”, esta concentración de analito puede ser detectada, pero no cuantificada. Los límites de detección instrumentales para cada uno de los fármacos se estimaron a través de la relación señal/ruido (S/R), empleando la relación entre la intensidad del pico correspondiente y la intensidad del ruido. El límite de detección instrumental se estableció como aquella concentración que origina en el instrumento una señal igual a tres veces la relación S/R:

$$y_{LOD} = 3 \cdot \frac{S}{R}$$

Expresión en la que  $y_{LOD}$  representa la señal originada por una concentración de analito igual al límite de detección; S es la intensidad de pico y R es el ruido del instrumento.

El límite de cuantificación o determinación es la menor concentración de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión. Los límites de cuantificación instrumentales fueron evaluados como la concentración de analito que originaba en el detector un señal igual a diez veces la relación S/R.

$$y_{LOQ} = 10 \cdot \frac{S}{R}$$

Expresión en la que  $y_{LOQ}$  representa la señal originada por una concentración de analito igual al límite de cuantificación; S es la intensidad de pico y R es el ruido del instrumento.

Los límites de detección y cuantificación de la propuesta metodológica (Tabla 4.11) fueron estimados a partir de los límites de detección y cuantificación instrumentales y los factores de preconcentración conseguidos durante la fase de tratamiento de la muestra. Esos valores fueron multiplicados por un factor para compensar el ruido de la línea base en los cromatogramas de aguas residuales en comparación con el ruido en la línea base de los cromatogramas de disoluciones estándar (Ternes y col., 2001; Rodríguez y col., 2003). Los factores empleados para compensar el ruido de la línea base, en los cromatogramas UV-DAD y FL de aguas residuales, fueron de 5 y 10 respectivamente.

Como se muestra en la Tabla 4.14, los límites de detección UV-DAD se situaron entre 0.02 (ketoprofeno y naproxeno) y 0.96  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ibuprofeno) en el caso de las aguas residuales influentes, y entre 0.01 (ketoprofeno y naproxeno) y 0.50  $\mu\text{g L}^{-1}$  para las aguas residuales efluentes. Los límites de detección FL fueron de 0.06 y 0.25  $\mu\text{g L}^{-1}$  para naproxeno e ibuprofeno, respectivamente, en las aguas residuales influentes y de 0.03 y 0.12  $\mu\text{g L}^{-1}$  para naproxeno e ibuprofeno, respectivamente, en las aguas residuales efluentes.

Los límites de cuantificación por detección mediante UV-DAD se encontraron en rangos entre 0.06 (naproxeno) y 3.20  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ibuprofeno) y 0.03 (naproxeno) y 1.60  $\mu\text{g L}^{-1}$  (ibuprofeno) para aguas residuales influentes y efluentes, respectivamente. En el

caso de detección por FL, los límites de cuantificación fueron de 0.20 y 0.10  $\mu\text{g L}^{-1}$  para naproxeno en aguas residuales influentes y efluentes, respectivamente, y de 0.82 y 0.41  $\mu\text{g L}^{-1}$  para ibuprofeno en aguas residuales influentes y efluentes, respectivamente.

**Tabla 4.14.**  
**Límites de detección y cuantificación de los principios activos seleccionados en influentes y efluentes de EDAR**

Fármaco	Detector	Influente		Efluente	
		LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Cafeína	DAD	0.07	0.22	0.03	0.11
Carbamacepina	DAD	0.04	0.12	0.02	0.06
Diclofenaco	DAD	0.28	0.93	0.14	0.47
Ibuprofeno	DAD	0.96	3.20	0.50	1.60
Ketoprofeno	DAD	0.02	0.07	0.01	0.04
Naproxeno	DAD	0.02	0.06	0.01	0.03
Ibuprofeno	FL	0.25	0.82	0.12	0.41
Naproxeno	FL	0.06	0.20	0.03	0.10

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

# CAPÍTULO 5

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

En este capítulo se presentan e interpretan los resultados analíticos obtenidos en la determinación de principios activos farmacológicos en las muestras de aguas residuales urbana tomadas. Se describen los parámetros de caracterización de las aguas residuales de cada estación depuradora de aguas residuales y sus relaciones interparamétricas; los porcentajes de eliminación de los principios activos y la influencia que sobre ellos ejercen las variables de operación de planta y sus propias características fisicoquímicas; la evolución temporal de dichos principios activos; y la relación entre los mismo y los parámetros de caracterización de las aguas residuales urbanas; y el impacto ambiental previsible sobre los sistemas acuáticos.



## 1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se recogen y discuten los resultados obtenidos en los análisis de las aguas residuales procedentes de las cuatro estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) que realizan el saneamiento de aguas de la ciudad de Sevilla. Los contenidos se han estructurado en los siguientes bloques:

- Presentación y discusión de los resultados obtenidos en los análisis de caracterización de las aguas residuales, diferenciando entre las distintas EDARs a fin de establecer la carga contaminante que recibe cada una de las plantas de tratamiento estudiadas. Además, se realiza un estudio estadístico de correlación interparamétrica con los datos generados, a fin de establecer las relaciones existentes entre los distintos parámetros de caracterización medidos en las aguas residuales.
- Presentación y discusión de los resultados obtenidos en el análisis de principios activos farmacológicos en el agua influente y efluente de cada una de las EDARs muestreadas.
- Presentación e interpretación de los porcentajes de eliminación de los principios activos farmacológicos en las EDARs de la ciudad de Sevilla.
- Estudio de la influencia que, sobre esta eliminación, tienen los parámetros de operación de las EDARs y las características fisicoquímicas de los fármacos, empleando para ello el tratamiento gráfico y estadístico de los datos obtenidos.
- Descripción de la evolución temporal de los principios activos farmacológicos en las EDARs de la ciudad de Sevilla mediante el tratamiento gráfico de los datos. Además, se realiza un estudio de correlación interparamétrica a fin de establecer las posibles correlaciones entre los principios activos y el resto de parámetros medidos en las muestras de aguas residuales.

- Tratamiento estadístico de los datos generados mediante análisis factorial.
- Y, estudio del impacto ecotoxicológico de este tipo de contaminantes a partir de los efectos causados por los fármacos en distintos organismos acuáticos según las guías de la *European Agency for the Evaluation of Medicinal Products* (EMA, 2006a; 2006b) y la *European Commission* (EC, 2003).

**Tabla 5.1.**  
**Abreviaturas y unidades empleadas en la denominación de los parámetros analíticos determinados en las muestras de aguas residuales**

Parámetro	Abreviatura	Unidades
pH	pH	
Sólidos en suspensión	SS	mg L <sup>-1</sup>
Demanda química de oxígeno	DQO	mg L <sup>-1</sup>
Demanda bioquímica de oxígeno	DBO	mg L <sup>-1</sup>
Aceites y grasas	Grasas	mg L <sup>-1</sup>
Nitrógeno total Kjeldahl	NTK	mg L <sup>-1</sup>
Fósforo total	P-Total	mg L <sup>-1</sup>
Cafeína	CF	µg L <sup>-1</sup>
Carbamacepina	CRB	µg L <sup>-1</sup>
Diclofenaco	DCL	µg L <sup>-1</sup>
Ibuprofeno	IBU	µg L <sup>-1</sup>
Ketoprofeno	KTP	µg L <sup>-1</sup>
Naproxeno	NPX	µg L <sup>-1</sup>
Eliminación de cafeína en las EDARs	R-CF	%
Eliminación de carbamacepina en las EDARs	R-CRB	%
Eliminación de diclofenaco en las EDARs	R-DCL	%
Eliminación de ibuprofeno en las EDARs	R-IBU	%
Eliminación de ketoprofeno en las EDARs	R-KTP	%
Eliminación de naproxeno en las EDARs	R-NPX	%

Para la consecución de los objetivos marcados en el presente trabajo, se analizaron parámetros de caracterización fisicoquímica y contenido en fármacos, se

calculó la eficacia en la eliminación de este tipo de contaminantes a lo largo de los procesos convencionales de depuración de aguas residuales y se calcularon los coeficientes de riesgo ecotoxicológico de los compuestos estudiados en relación con los efectos causados sobre distintos organismos acuáticos. En la Tabla 5.1 se recogen las abreviaturas empleadas en algunas tablas y figuras para los parámetros analíticos así como sus unidades.

## **2. PARÁMETROS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES**

Con el nombre de parámetros de caracterización, se designan a todos aquellos parámetros, a excepción de los fármacos, determinados en las muestras de aguas residuales. Estos son: parámetros no específicos (SS y pH), parámetros indicadores de la contaminación orgánica (DBO y DQO), aceites y grasas y nutrientes (NTK y P-Total).

Los resultados medios obtenidos durante el periodo de toma de muestras en las cuatro EDARs, junto con su desviación estándar (SD, %), se muestran en las Tablas 5.2 a 5.5.

No se observaron grandes desviaciones en la medida de pH (< 0.30 unidades) en cada una de las estaciones depuradoras. Ello garantiza la homogeneidad de la calidad del agua desde su entrada a planta, y la ausencia de vertidos incontrolados que puedan influir sobre ella.

Los valores más bajos de sólidos en suspensión fueron encontrados en la EDAR Norte, presentando una concentración débil según la clasificación de las aguas residuales propuesta por Metcalf-Eddy en relación con la composición (Metcalf-Eddy, 2000). El resto de las EDARs presentaron una concentración media.

**Tabla 5.2.****Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas residuales influentes y efluentes de la EDAR Norte**

	Influente				Efluente			
	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)
SS	150	82	280	43	17	6	27	6
DQO	357	162	664	88	56	21	83	15
DBO	219	118	393	58	18	11	71	8
pH	7.66	7.08	7.90	0.14	7.65	7.24	7.85	0.13
Grasas	38	29	48	10	6	4	8	2
NTK	35	26	40	8	19	14	22	4
P-Total	7.4	5.9	10.3	2.5	4.2	3.8	5.0	0.7

**Tabla 5.3.****Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas residuales influentes y efluentes de la EDAR Este**

	Influente				Efluente			
	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)
SS	253	86	472	71	15	8	34	6
DQO	614	224	987	167	49	5	85	17
DBO	303	97	884	137	17	5	89	16
pH	7.62	7.27	8.10	0.16	7.92	7.70	8.20	0.11
Grasas	43	28	57	12	4.9	3	7	2.3
NTK	39	25	50	11	18	15	21	3.4
P-Total	7.0	6.2	10.5	2.3	3.4	2.8	6.7	3.1

**Tabla 5.4.**  
**Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas**  
**residuales influentes y efluentes de la EDAR Sur**

	Influente				Efluente			
	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)
SS	234	20	328	40	24	11	35	5
DQO	648	53	895	105	75	53	95	9
DBO	336	17	495	73	20	11	25	4
pH	7.60	7.10	8.00	0.13	7.85	7.51	8.30	0.17
Grasas	130	82	230	16	7	0.31	21	2.9
NTK	44.9	33.0	53.8	2.8	39.7	29	58	5.6
P-Total	10.21	7	11.4	0.99	4.56	1.4	10.3	1.35

**Tabla 5.5.**  
**Descripción estadística elemental de los parámetros de caracterización de las aguas**  
**residuales influentes y efluentes de la EDAR Oeste**

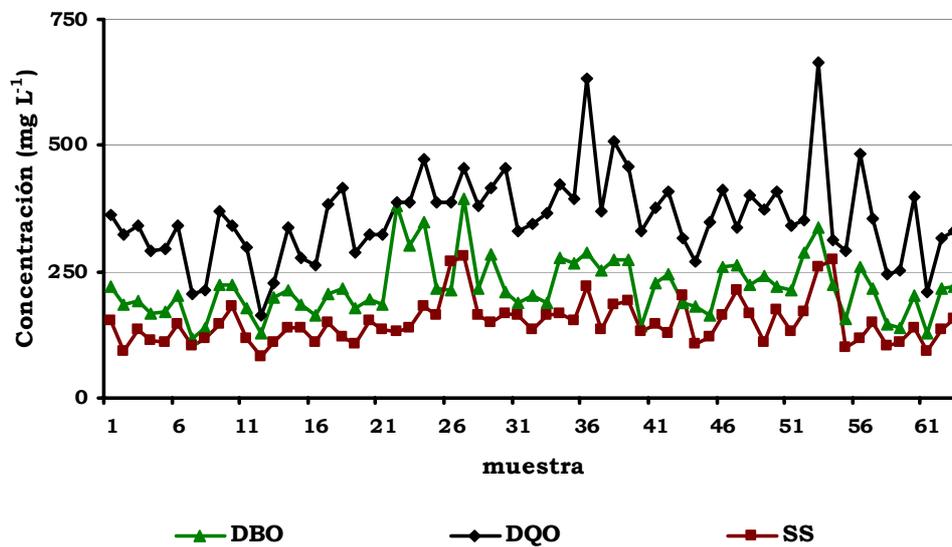
	Influente				Efluente			
	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)	Media (mg L <sup>-1</sup> )	Mínimo (mg L <sup>-1</sup> )	Máximo (mg L <sup>-1</sup> )	DS (%)
SS	214	108	630	77	11	6	22	3
DQO	605	324	2135	283	14	34	85	2
DBO	244	144	497	66	58	7	18	12
pH	7.73	7.1	9.4	0.27	7.63	7.4	8.0	0.09
Grasas	49	41	57	11	4.5	0.39	7	3.6
NTK	41.7	31	52	7.4	34.3	29	40	2.9
P-Total	11.4	7.3	15.7	4.2	4.0	1.2	13.3	2.7

En cuanto a los valores de los parámetros indicadores de la contaminación orgánica, para las aguas de entrada a cada EDAR, los mayores valores de DBO se obtuvieron en la EDAR Sur, seguida de las EDARs Este, Oeste y Norte, en orden decreciente. La misma secuencia se observa para los datos de DQO, encontrándose valores medios muy próximos en las EDARs Este, Sur y Oeste. Las relaciones DQO/DBO para las cuatro EDARs fueron 1.63, 2.02, 1.93 y 2.49 para las EDARs Norte, Este, Sur y Oeste, lo que indica el origen, principalmente urbano, de las aguas residuales analizadas. Los resultados correspondientes a estas determinaciones muestran ciertas correlaciones entre ellos y entre estos y los valores de sólidos en suspensión para las muestras de agua influente. Esto se pone de manifiesto en las Figuras 5.1 a 5.4 en las que se recoge la evolución de los parámetros DBO, DQO y SS durante el periodo de toma de muestras.

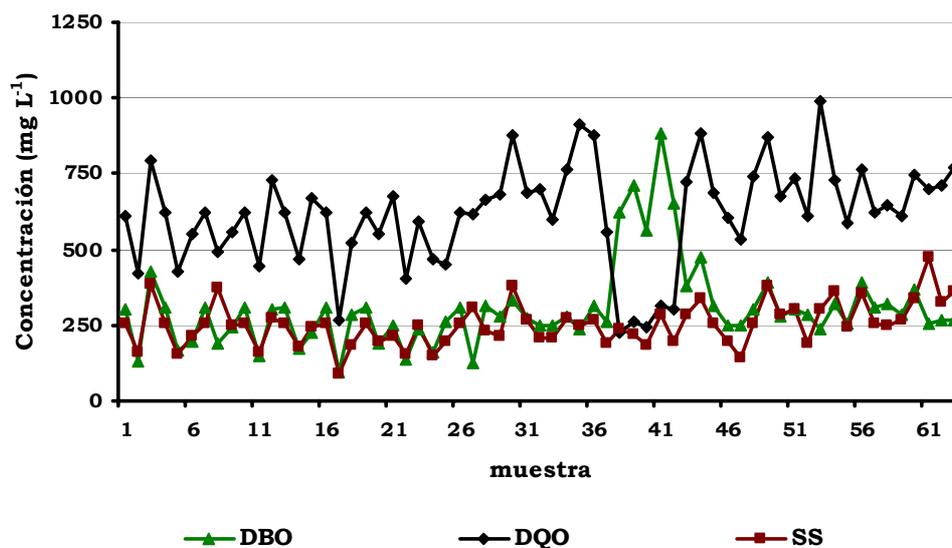
En cuanto a los resultados obtenidos para los parámetros Grasas, NTK y P-Total, las mayores concentraciones se observaron en la EDAR Sur, seguida de las EDARs Oeste y Norte en orden decreciente, a excepción del P-Total, para el que se obtuvieron resultados ligeramente superiores en la EDAR Oeste frente a los obtenidos en la EDAR Sur. No se encontraron grandes variaciones en las medidas de estos parámetros a lo largo del periodo de muestreo. La EDAR Norte se puede considerar de concentración débil-media en cuanto al contenido en estos parámetros, mientras que las EDARs Sur y Oeste son de concentración media, según la clasificación de Metcalf-Eddy.

Las posibles correlaciones entre los parámetros de caracterización medidos en las muestras de aguas residuales, puestas de manifiesto gráficamente en las Figuras 5.1 a 5.4, fueron corroboradas mediante un estudio estadístico de correlación interparamétrica. La matriz de correlación se definió empleando como variables los valores medios (para todo el periodo de toma de muestras) de los parámetros de caracterización medidos sobre las aguas residuales influentes y efluentes en todas las EDARs muestreadas y, empleando como casos cada uno de los puntos muestreados. La matriz de correlación obtenida se muestra en la Tabla 5.6.

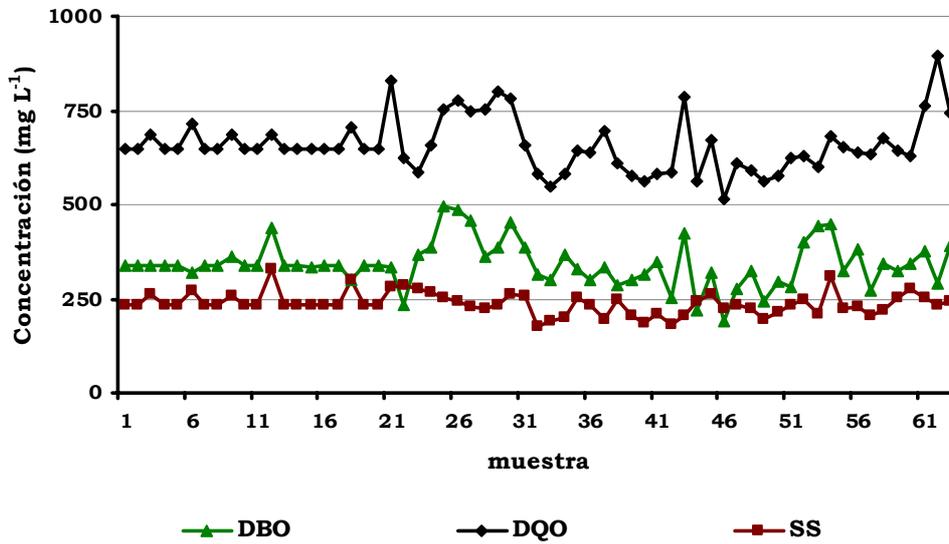
**Figura 5.1.**  
**Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual**  
**influyente de la EDAR Norte**



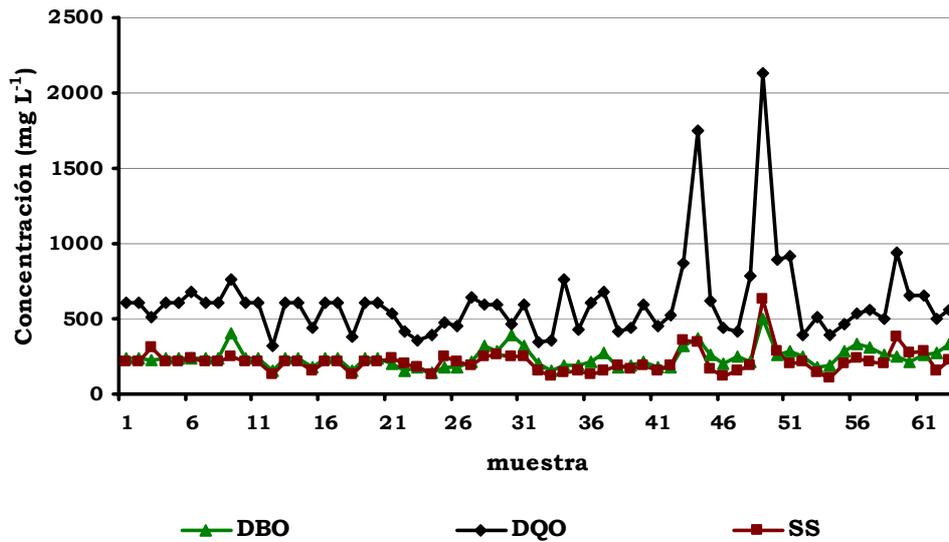
**Figura 5.2.**  
**Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual**  
**influyente de la EDAR Este**



**Figura 5.3.**  
**Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual  
influyente de la EDAR Sur**



**Figura 5.4.**  
**Evolución temporal de los parámetros DBO, DQO y SS en el agua residual  
influyente de la EDAR Oeste**



**Tabla 5.6.**  
**Matriz de correlación para los parámetros de caracterización fisicoquímica de las aguas residuales en las cuatro EDARs muestreadas**

	SS	DBO	DQO	pH	P-Total	NTK	Grasas
SS	1.00	<b>0.99</b>	<b>0.99</b>	-0.35	<b>0.98</b>	0.65	<b>0.86</b>
DBO		1.00	<b>0.97</b>	-0.41	<b>0.93</b>	0.63	<b>0.91</b>
DQO			1.00	-0.35	<b>0.99</b>	0.67	<b>0.87</b>
pH				1.00	-0.28	0.20	-0.40
P-Total					1.00	0.65	<b>0.78</b>
NTK						1.00	0.62
Grasas							1.00

Se encontraron correlaciones significativas (por encima de 0.78) para los parámetros SS, DBO, DQO, P-Total y Grasas. Esto se podría explicar atendiendo a la composición orgánica de los sólidos en suspensión que contribuyen a los parámetros indicadores de la contaminación orgánica. Del mismo modo ocurre con las Grasas, con una correlación superior a 0.86 con los parámetros indicadores de la contaminación orgánica y los sólidos en suspensión. La correlación existente entre estas determinaciones y el fósforo total, igualmente podría deberse a que el contenido en fósforo de las muestras se encuentra asociado principalmente a la materia orgánica y particulada.

Haciendo referencia a lo expuesto, se puede considerar que la EDAR Sur fue la que presentó un agua influente con mayor carga contaminante, seguida de la EDAR Este y Oeste, en este orden, y quedando la EDAR Norte como la depuradora que recibió una menor carga contaminante.

En cuanto a la eficacia en la eliminación de la carga contaminante de entrada a cada una de las EDARs estudiadas, los rendimientos de eliminación se presentan en la Tabla 5.7. En general, se observaron eliminaciones relativamente elevadas (> 80 %) para los parámetros SS, DBO, DQO y Grasas, no así para los nutrientes P-Total y NTK, que presentaron rendimientos de eliminación muy dispares, oscilando entre el 73 % en la EDAR Oeste y el 41 % en la EDAR Norte, para el caso del P-Total y entre el 45 % en la EDAR Norte y el 9 % en la EDAR Oeste para el caso del NTK.

**Tabla 5.7.**  
**Rendimientos de eliminación de los parámetros SS, DBO, DQO, NTK, P-Total y Grasas**

	SS (%)	DBO (%)	DQO (%)	P-Total (%)	NTK (%)	Grasas (%)
EDAR Norte	88	91	84	41	45	84
EDAR Este	93	95	92	48	44	87
EDAR Sur	88	93	87	55	16	94
EDAR Oeste	94	94	89	73	9	85

### **3. CONCENTRACIONES DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS**

#### **3.1. Presentación de resultados**

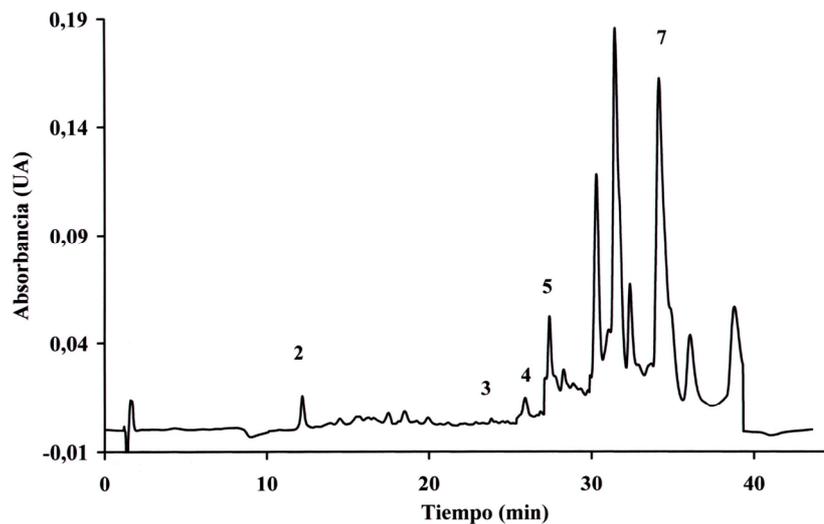
En las Figuras 5.5 a 5.8 se muestran algunos cromatogramas representativos, obtenidos tanto por detección por ultravioleta con fila de diodos (UV-DAD) como por fluorescencia (FL) para muestras de agua influente y efluente (bruta y tratada) de algunas de las EDARs sobre las que se realizó la toma de muestras.

En las Tablas 5.8 a 5.12 se muestran los resultados obtenidos para los fármacos caféina, carbamacepina, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno, respectivamente, para cada una de las EDARs (en la EDAR Sur no se pudo realizar todas las tomas por problemas con el muestreador automático). No se detectó diclofenaco en ninguna de las muestras analizadas.

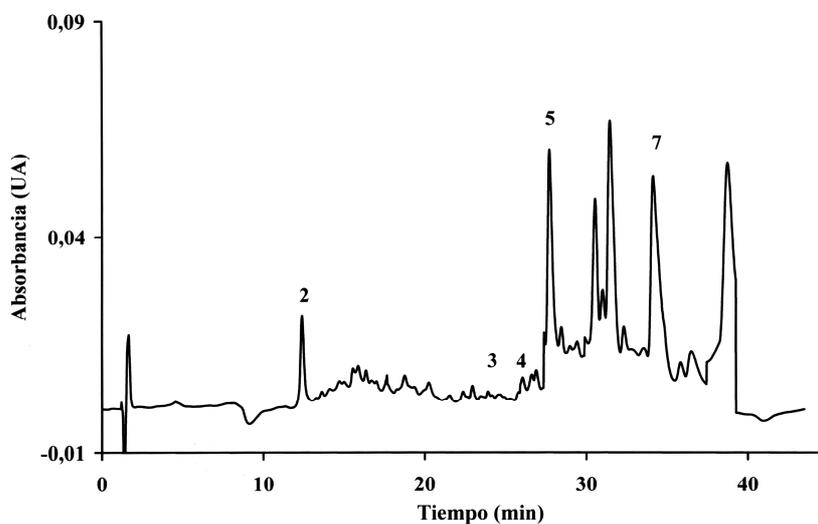
Las Tabla 5.13 a 5.16 muestran un resumen estadístico de los resultados obtenidos para los principios activos farmacológicos en cada una de las EDARs durante el periodo comprendido entre junio de 2004 y junio de 2005

**Figura 5.5.**

**Cromatograma ejemplo (UV-DAD) de una muestra de 500 mL de agua residual  
bruta (2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 7, ibuprofeno)**

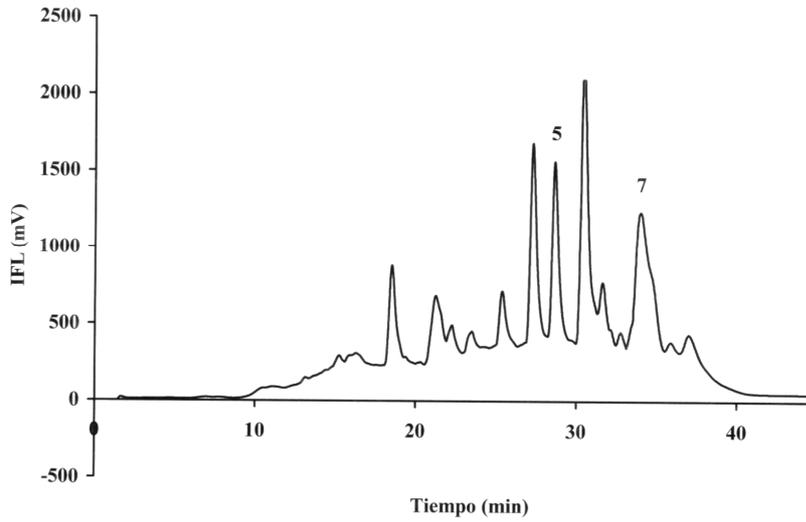
**Figura 5.6.**

**Cromatograma ejemplo (UV-DAD) de una muestra de 1000 mL de agua residual  
tratada (2, cafeína; 3, carbamacepina; 4, ketoprofeno; 5, naproxeno; 7,  
ibuprofeno)**



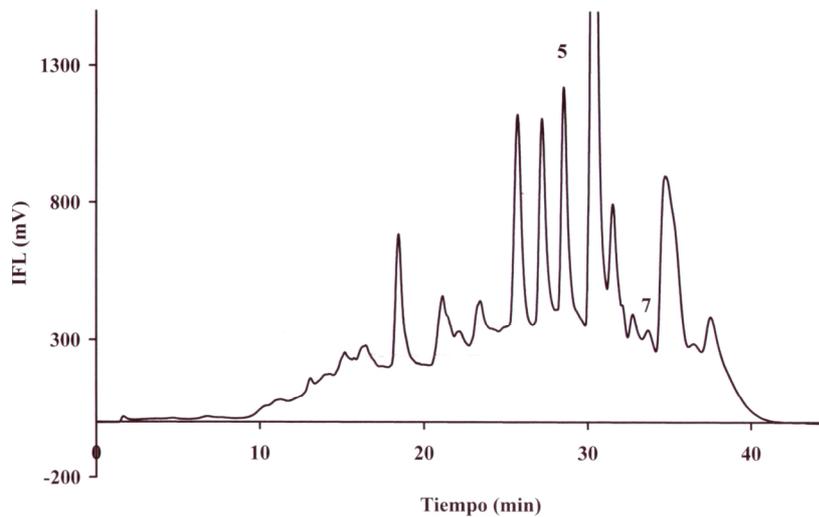
**Figura 5.7.**

**Cromatograma ejemplo (FL) de una muestra de 500 mL de agua residual bruta (5, naproxeno; 7, ibuprofeno)**



**Figura 5.8.**

**Cromatograma ejemplo (FL) de una muestra de 1000 mL de agua residual tratada (5, naproxeno; 7, ibuprofeno)**



**Tabla 5.8.**  
**Concentración de cafeína en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )**

Muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
1	2.68	0.55	2.02	0.22	1.60	0.98	2.26	0.42
2	3.29	0.40	1.98	0.37	1.33	1.00	0.22	0.38
3	3.30	0.30	3.16	0.37	0.83	0.90	0.87	0.42
4	2.52	0.51	3.95	0.37	0.68	0.53	0.83	0.40
5	2.51	0.39	1.14	0.41	0.83	0.59	0.73	0.52
6	3.10	0.38	1.51	0.76	0.74	0.92	0.72	0.56
7	4.27	0.31	3.96	0.54	3.15	1.78	2.02	0.15
8	3.78	0.47	1.16	0.55	1.38	1.29	2.15	0.15
9	5.14	0.46	0.75	0.93	1.61	0.54	1.60	0.29
10	3.53	0.32	0.89	0.34	2.93	0.87	1.19	0.29
11	3.80	0.17	2.57	0.28	2.35	1.09	1.40	0.29
12	5.28	0.29	3.00	1.15	2.54	1.41	2.56	0.27
13	3.70	0.34	1.84	0.28	3.40	0.51	2.4	1.36
14	3.90	0.35	2.14	0.46	2.10	1.05	1.9	2.43
15	2.88	0.55	1.84	0.62	1.90	3.20	2.62	0.98
16	6.10	0.50	5.60	0.75	6.00	1.93	3.83	3.01
17	3.70	0.28	11.44	0.18	1.74	1.86	2.2	2.75
18	4.80	0.58	1.30	0.65	3.90	1.93	2.8	2.53
19	3.90	1.42	3.70	2.25	---	---	4.3	2.77
20	5.70	1.48	3.00	2.84	---	---	9.26	2.20
21	2.71	2.06	3.30	1.99	---	---	3.3	2.44
22	24.27	0.99	3.40	1.19	---	---	3.9	4.77
23	27.90	0.92	9.95	1.82	4.62	2.90	4.52	3.73
24	3.02	1.13	5.93	2.69	16.30	3.12	9.53	2.09
25	21.03	4.35	17.48	2.57	14.06	2.40	11.35	5.11
26	6.60	1.84	7.44	2.35	6.68	3.61	7.50	3.97
27	5.00	1.57	8.70	2.28	2.36	2.27	4.6	1.97
28	22.40	2.79	2.06	1.69	---	---	7.0	4.19
29	22.10	3.07	22.90	1.97	26.10	3.30	9.0	3.04
30	3.30	2.26	28.70	1.85	3.10	3.00	4.9	1.81
31	20.60	5.45	43.90	2.54	12.90	3.27	22.0	2.12
32	4.36	2.33	4.60	3.73	3.80	3.31	13.3	2.29

**Tabla 5.8.**  
**(Continuación)**

Muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	influyente	Efluente	influyente	Efluente	influyente	Efluente	influyente	Efluente
33	12.10	5.17	34.30	3.71	12.00	3.30	20.4	1.46
34	5.94	2.59	30.02	3.13	4.32	2.91	7.82	2.94
35	5.94	2.92	4.93	2.65	4.49	3.31	2.19	2.74
36	8.80	2.95	5.36	2.60	3.83	4.30	4.77	2.87
37	8.62	3.06	8.53	3.87	9.23	4.75	14.64	5.12
38	10.86	2.92	7.66	2.85	8.73	5.65	9.21	3.35
39	10.58	3.34	5.58	2.77	8.10	4.17	10.46	2.29
40	10.35	1.71	12.47	2.77	7.65	2.54	13.14	3.65
41	10.14	1.18	9.28	1.79	6.39	2.80	5.64	4.29
42	11.49	1.76	5.16	2.62	5.69	3.28	8.73	3.30
43	10.27	1.61	9.51	1.97	8.13	2.78	5.93	3.36
44	18.86	1.99	9.57	1.61	6.21	3.11	9.70	4.44
45	11.39	1.46	17.94	1.68	8.70	4.12	7.89	2.92
46	3.99	0.85	3.53	1.95	4.11	1.28	6.78	0.16
47	4.03	1.07	4.05	2.36	3.56	2.47	4.41	3.55
48	4.18	1.96	5.17	1.91	5.46	4.02	4.56	2.78
49	5.49	2.16	4.16	1.93	5.46	3.03	7.84	2.92
50	3.76	1.67	3.57	3.00	5.84	3.55	3.52	2.46
51	6.25	2.02	7.51	3.11	7.46	3.64	6.82	1.64
52	4.57	1.39	3.09	1.36	2.19	2.52	4.32	3.29
53	5.30	1.27	4.95	2.29	2.76	2.27	5.94	3.35
54	3.52	1.40	5.41	1.99	1.38	2.37	1.99	2.23
55	9.82	1.71	6.72	2.17	5.18	3.27	6.77	3.94
56	5.46	2.73	4.76	0.21	6.72	2.98	2.20	4.37
57	7.62	2.21	3.93	1.70	1.59	1.94	4.12	1.85
58	3.46	4.39	2.14	0.89	1.97	1.79	1.82	1.23
59	5.35	0.82	1.75	1.55	0.70	1.57	2.09	1.95
60	6.35	0.92	2.78	1.61	1.27	2.17	2.14	1.82
61	3.21	0.77	2.80	0.95	2.16	1.68	2.98	1.03
62	3.32	0.78	2.44	1.03	1.51	1.85	2.44	1.71
63	4.24	0.52	2.49	0.90	1.62	1.71	2.35	1.69

**Tabla 5.9.**  
**Concentración de carbamacepina en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )**

muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
1	< 0.12	< 0.06	< 0.12	0.16	< 0.12	0.15	< 0.12	0.29
2	0.20	< 0.06	< 0.12	< 0.06	< 0.12	0.18	< 0.12	0.30
3	< 0.12	0.16	< 0.12	0.14	< 0.12	0.18	< 0.12	0.41
4	0.38	0.15	< 0.12	< 0.06	< 0.12	0.18	< 0.12	0.28
5	< 0.12	0.16	< 0.12	0.26	< 0.12	0.41	< 0.12	0.34
6	0.20	< 0.06	< 0.12	< 0.06	< 0.12	0.54	< 0.12	0.25
7	0.31	0.37	0.36	0.37	0.53	0.44	0.42	0.43
8	3.78	0.47	1.16	0.55	1.38	1.29	2.15	0.15
9	0.94	0.32	0.21	0.36	0.44	0.50	0.58	0.38
10	0.40	0.31	0.14	0.27	< 0.12	0.46	0.53	0.42
11	< 0.12	0.26	< 0.12	0.45	0.38	0.55	0.50	0.46
12	0.50	0.30	< 0.12	0.37	0.70	0.43	< 0.12	0.45
13	0.40	0.23	0.60	0.40	< 0.12	0.48	0.40	0.47
14	< 0.12	0.42	< 0.12	0.44	< 0.12	0.45	0.60	0.37
15	< 0.12	0.36	0.30	0.57	< 0.12	1.05	0.30	0.45
16	< 0.12	0.55	< 0.12	0.46	0.60	0.53	< 0.12	0.39
17	0.50	0.45	1.31	0.35	< 0.12	0.87	< 0.12	0.32
18	< 0.12	< 0.06	< 0.12	< 0.06	< 0.12	0.53	< 0.12	0.45
19	0.50	0.46	< 0.12	0.70	---	---	0.24	0.39
20	< 0.12	0.44	0.44	0.31	---	---	< 0.12	0.38
21	0.26	0.41	0.43	0.30	---	---	0.43	0.39
22	< 0.12	0.54	< 0.12	0.25	---	---	< 0.12	0.32
23	0.64	0.53	0.41	0.39	< 0.12	0.51	0.67	0.44
24	0.44	0.72	0.67	0.39	2.10	0.75	0.70	0.49
25	1.11	1.06	1.16	0.77	1.35	0.76	0.35	0.55
26	0.48	0.76	0.29	0.51	< 0.12	0.54	0.91	0.54
27	0.73	0.77	< 0.12	< 0.06	< 0.12	0.51	1.20	0.39
28	< 0.12	0.83	< 0.12	0.81	---	---	< 0.12	0.45
29	0.87	0.88	0.68	0.68	1.15	0.73	0.52	0.70
30	0.78	0.76	< 0.12	0.47	< 0.12	0.49	< 0.12	0.55
31	0.41	0.56	< 0.12	0.37	< 0.12	0.50	< 0.12	0.56
32	0.49	0.46	< 0.12	0.47	0.46	0.50	0.39	0.37

**Tabla 5.9.**  
**(Continuación)**

Muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente
33	< 0.12	0.48	< 0.12	0.28	< 0.12	0.43	< 0.12	0.31
34	0.57	0.91	0.63	0.82	0.79	0.57	1.20	1.12
35	0.49	0.65	0.44	0.48	0.61	0.50	0.81	0.69
36	0.63	0.75	0.39	0.60	0.48	0.58	0.73	0.62
37	0.48	0.54	0.30	0.47	0.37	0.68	0.66	0.73
38	0.44	0.63	0.37	0.42	0.50	0.51	< 0.12	0.47
39	0.46	0.72	0.54	0.55	< 0.12	0.66	0.59	0.52
40	0.54	0.51	0.51	0.42	0.61	0.54	0.62	0.59
41	0.71	0.54	0.50	0.49	0.44	0.73	0.57	0.57
42	0.51	0.80	0.67	0.53	0.43	0.88	0.46	0.85
43	0.79	0.66	1.25	0.59	0.87	0.75	0.98	0.46
44	0.58	0.93	0.34	0.50	0.33	0.72	0.40	0.58
45	0.80	1.18	0.36	0.34	0.31	0.51	0.45	0.41
46	0.96	0.79	0.14	0.36	0.39	0.43	0.58	0.52
47	0.48	0.87	< 0.12	0.37	< 0.12	0.74	0.13	0.69
48	0.53	0.62	0.49	0.60	0.81	0.64	0.86	0.84
49	< 0.12	1.07	0.82	0.76	0.75	0.92	0.36	0.55
50	0.86	0.56	0.67	0.84	1.15	0.64	0.80	0.91
51	2.21	0.83	< 0.12	0.70	0.19	1.20	< 0.12	0.89
52	0.27	0.48	0.33	0.64	0.26	0.58	0.24	0.63
53	0.68	0.87	< 0.12	0.64	0.45	0.80	0.35	0.55
54	0.43	0.57	0.24	0.53	0.59	0.77	0.41	0.68
55	0.24	0.73	0.56	0.71	0.41	0.68	0.86	0.72
56	0.21	0.68	0.46	0.76	0.59	0.76	1.19	0.86
57	0.23	0.69	< 0.12	0.26	< 0.12	0.62	0.42	0.52
58	0.35	0.42	0.51	0.31	0.46	0.48	0.74	0.47
59	0.38	0.52	0.50	0.70	0.70	0.50	0.47	0.49
60	0.34	0.53	0.87	0.72	0.48	0.62	0.63	0.52
61	0.44	0.49	0.36	0.53	0.99	0.99	1.06	1.45
62	0.31	0.52	0.63	0.73	0.86	0.77	0.47	1.08
63	0.21	0.40	0.65	0.69	0.54	0.90	0.61	1.55

**Tabla 5.10.**

**Concentración de ibuprofeno en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )**

muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
1	43.13	1.02	54.89	26.51	29.05	14.23	53.48	22.04
2	32.84	26.53	58.49	37.84	30.32	25.97	123.34	31.23
3	86.34	14.58	221.09	40.78	41.48	40.17	117.78	48.24
4	37.23	8.56	165.09	32.56	16.16	4.98	62.85	3.76
5	47.52	12.64	69.34	8.43	50.75	0.41	94.23	5.79
6	61.87	3.98	54.03	4.98	90.46	20.17	43.98	10.05
7	54.09	5.29	128.83	16.73	184.4	8.46	175	3.78
8	86.9	17.08	188.13	14.62	153.03	31.84	174.33	4.69
9	14.69	6.04	319.12	5.93	24.59	4.18	56.47	2.36
10	12.13	0.41	138.83	1.7	29.58	0.96	373.11	7.36
11	76.89	4.62	135.55	5.73	143.6	0.78	412.8	7.87
12	60.92	1.15	314.83	3.87	231.83	8.81	70.95	2.84
13	36.05	0.88	265.2	7.04	99.23	0.41	272.11	6.15
14	30	1.84	44.01	6.52	103.11	9.3	297.12	4.67
15	167.23	0.85	53.07	0.41	16.16	3.21	603.25	20.01
16	68.95	5.67	126	8.16	120.74	6.67	116.43	5.87
17	82.29	1.26	86.13	24.75	138.49	2.72	195.84	8.5
18	56.87	6.03	145.2	5.54	67.89	2.4	102.45	5.35
19	92.64	7.32	244.24	3.53	---	---	148.16	6.75
20	36.42	3.88	31.43	8.4	---	---	62.85	9.12
21	26.47	4.01	63.54	5.53	---	---	73.04	10.57
22	86.12	4.05	276.34	55.02	---	---	181.96	0.41
23	94.71	11.19	47.36	3.73	32.25	< 0.41	326.12	5.87
24	3.73	0.41	71.12	3.73	91.00	< 0.41	76.36	0.41
25	273.44	0.41	187.48	12.5	204.09	< 0.41	61.61	4.01
26	353.21	0.41	54.29	13.11	67.8	< 0.41	67.65	0.41
27	192	16.76	157.41	16.87	294.27	< 0.41	105.24	0.41
28	73.56	7.36	15.02	13.13	---	---	94.15	5.22
29	43.24	7.52	59	19.6	51.74	< 0.41	0.82	0.41
30	35.85	0.41	30.81	9.83	24.69	2.82	34.71	4.61
31	31.91	4.17	79.63	6.89	55.45	3.54	28.24	4
32	36	4.31	40.11	5.58	41.02	< 0.41	44.14	4.18

**Tabla 5.10.**  
**(Continuación)**

Muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente
33	28.52	6.34	10.24	5.26	21.74	4.04	15.14	4.19
34	65.46	6.54	68.15	23.57	91.4	7.85	98.72	9.02
35	37.75	5.11	72.73	21.03	56.3	3.95	43.45	5.34
36	110.83	< 0.41	40.77	15.57	37.04	7.01	35.48	4.27
37	39.21	5.86	40.56	15.04	17.37	12.94	33.23	21.90
38	31.42	3.56	45.14	18.51	37.06	15.15	112.13	17.00
39	44.37	7.25	48.14	6.42	65.6	17.04	49.81	18.56
40	33.09	<0.41	37.61	23.07	89.09	12	40.78	8.08
41	48.02	3.68	52.58	40.39	56.49	8.26	78.23	6.10
42	51.74	5.28	53.47	30.09	56.71	21.36	40.97	< 0.41
43	132.44	< 0.41	295.12	< 0.41	183.62	1.83	32.45	1.73
44	71.23	< 0.41	158.85	< 0.41	88.49	9.36	130.00	< 0.41
45	168.36	< 0.41	310.00	< 0.41	226.33	36.25	296.50	< 0.41
46	170.81	< 0.41	257.43	< 0.41	174.18	< 0.41	91.89	< 0.41
47	299.54	4.57	200.49	3.42	137.74	< 0.41	48.34	5.63
48	27.47	3.13	5.49	< 0.41	111.79	12.17	134.72	< 0.41
49	36.53	< 0.41	54.76	< 0.41	45.44	< 0.41	39.18	< 0.41
50	34.59	< 0.41	42.28	< 0.41	46.87	1.3	67.10	< 0.41
51	29.52	< 0.41	31.42	< 0.41	61.4	9.84	65.94	< 0.41
52	5.61	< 0.41	233.40	< 0.41	27.8	3.08	58.77	4.78
53	107.90	< 0.41	13.71	< 0.41	11.64	0.41	63.97	2.38
54	44.39	< 0.41	< 0.82	< 0.41	63.13	0.41	45.52	19.83
55	38.97	< 0.41	16.17	< 0.41	50.96	2.22	65.04	2.51
56	25.20	< 0.41	18.67	< 0.41	17.34	0.41	36.59	2.56
57	16.74	4.34	14.14	< 0.41	< 0.82	1.01	21.29	1.27
58	36.05	19.13	47.89	< 0.41	90.46	7.68	229.21	< 0.41
59	74.74	< 0.41	99.48	< 0.41	125.12	< 0.41	83.71	< 0.41
60	53.49	< 0.41	157.01	< 0.41	125.52	< 0.41	148.85	5.73
61	36.66	< 0.41	177.87	< 0.41	181.42	< 0.41	110.53	12.36
62	20.66	< 0.41	39.51	< 0.41	65.82	< 0.41	97.79	27.22
63	35.40	< 0.41	42.99	< 0.41	96.22	< 0.41	193.62	35.00

Tabla 5.11.

Concentración de ketoprofeno en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )

muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
1	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	2,57	< 0,04
2	< 0,07	< 0,04	0,99	< 0,04	< 0,07	< 0,04	3,32	0,27
3	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	3,55	< 0,04
4	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	3,50	< 0,04
5	< 0,07	< 0,04	1,31	0,35	1,29	0,55	3,29	< 0,04
6	1,83	< 0,04	< 0,07	< 0,04	< 0,07	< 0,04	3,59	< 0,04
7	< 0,07	0,29	< 0,07	0,46	< 0,07	0,37	< 0,07	1,50
8	0,60	0,43	< 0,07	0,27	< 0,07	0,52	0,94	0,81
9	< 0,07	0,50	< 0,07	0,70	< 0,07	< 0,04	0,20	< 0,04
10	0,75	< 0,04	0,20	0,70	0,47	0,20	< 0,07	0,72
11	0,58	0,30	< 0,07	0,57	< 0,07	0,49	< 0,07	1,20
12	0,20	0,41	< 0,07	0,45	< 0,07	0,44	1,22	0,70
13	< 0,07	0,44	< 0,07	0,31	< 0,07	< 0,04	0,40	0,30
14	< 0,07	0,16	7,6	< 0,04	< 0,07	< 0,04	0,30	0,20
15	2,20	0,50	1,6	0,60	2,50	< 0,04	< 0,07	0,20
16	0,70	0,59	< 0,07	0,70	< 0,07	0,53	0,59	0,42
17	0,49	0,31	0,34	0,22	< 0,07	0,30	0,20	0,51
18	1,19	0,62	< 0,07	< 0,04	< 0,07	0,16	< 0,07	< 0,04
19	< 0,07	1,07	2,40	1,29	---	---	1,87	1,03
20	1,55	0,57	0,80	0,25	---	---	2,35	0,53
21	0,50	0,75	0,44	0,49	---	---	0,48	0,33
22	1,95	0,65	1,48	0,73	---	---	0,96	0,41
23	2,05	0,94	0,78	0,31	1,76	1,17	3,62	0,91
24	0,28	1,51	0,85	0,74	0,38	1,06	1,76	0,82
25	3,97	1,86	2,70	1,25	3,52	1,95	< 0,07	2,03
26	3,48	1,71	0,95	0,30	2,57	1,74	1,18	1,34
27	0,52	1,11	< 0,07	1,42	2,82	0,89	0,80	0,42
28	0,62	1,09	< 0,07	0,82	---	---	1,91	0,56
29	1,95	2,10	< 0,07	1,12	1,30	1,50	2,54	1,69
30	1,90	1,07	< 0,07	1,54	1,57	1,07	2,36	1,82
31	0,94	1,23	1,60	0,62	1,30	1,10	1,61	1,13
32	1,90	1,06	2,25	0,97	1,25	0,67	0,67	1,03

**Tabla 5.11.**  
**(Continuación)**

Muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influyente	Efluyente	Influyente	Efluyente	Influyente	Efluyente	Influyente	Efluyente
33	1,20	0,90	0,44	0,46	0,91	0,97	1,06	0,84
34	0,85	0,26	0,86	0,85	0,74	0,57	0,72	0,96
35	0,59	1,25	< 0,07	0,96	< 0,07	1,44	1,64	1,62
36	2,61	1,27	< 0,07	0,75	2,94	1,19	1,42	1,78
37	1,10	1,08	2,01	0,88	3,17	1,25	1,39	1,21
38	1,03	1,00	< 0,07	1,37	1,73	1,32	1,39	1,57
39	1,67	1,41	4,00	1,05	3,66	1,10	1,06	1,18
40	1,87	1,05	0,76	0,52	2,38	1,31	3,67	1,22
41	2,31	0,60	2,33	0,78	< 0,07	1,18	1,89	1,62
42	0,75	0,56	2,71	0,67	< 0,07	0,87	1,14	1,27
43	2,87	1,16	0,83	0,69	0,64	0,83	0,44	0,75
44	0,22	0,72	0,40	0,87	0,22	0,63	3,49	0,93
45	1,38	2,11	1,07	1,58	0,98	0,83	1,47	1,39
46	1,49	1,00	0,39	0,67	0,45	0,78	0,85	1,23
47	0,86	1,54	3,79	0,36	< 0,07	0,72	2,00	1,19
48	1,32	1,15	1,05	0,69	3,04	1,21	0,60	1,12
49	3,44	1,69	6,94	1,92	3,87	1,52	5,00	1,13
50	4,02	0,90	4,76	2,61	2,94	1,51	3,89	0,91
51	4,62	2,27	8,56	< 0,04	4,36	1,84	2,55	0,35
52	3,11	1,06	5,73	0,92	4,25	1,08	4,25	0,92
53	3,61	1,48	3,52	1,13	4,50	0,77	5,02	1,19
54	5,52	0,83	3,70	3,92	4,64	1,21	5,57	1,26
55	4,38	1,30	4,85	1,63	4,66	0,38	5,15	1,97
56	3,12	2,09	5,13	1,58	6,47	0,85	4,47	< 0,04
57	2,86	0,48	3,52	1,57	2,81	0,94	4,39	1,68
58	2,93	0,56	5,15	0,84	4,04	0,80	4,00	< 0,04
59	1,03	1,13	5,59	< 0,04	1,20	< 0,04	5,70	1,28
60	1,62	0,48	0,68	0,79	4,30	0,76	0,37	0,79
61	1,13	0,51	5,60	< 0,04	1,83	0,71	1,21	< 0,04
62	2,30	< 0,04	3,68	1,02	4,03	1,56	4,38	1,06
63	2,76	0,84	4,89	3,23	3,97	0,97	4,11	1,69

**Tabla 5.12.**

**Concentración de naproxeno en las aguas residuales influentes y efluentes de las EDARs de la ciudad de Sevilla ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )**

muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente	Influente	Efluente
1	3.38	2.08	2.18	1.03	18.70	0.73	3.47	0.30
2	2.02	2.70	2.08	1.40	16.60	0.95	2.30	0.30
3	2.28	2.99	4.12	1.55	7.33	0.85	1.30	0.29
4	4.29	2.62	2.25	2.17	19.54	1.69	1.39	0.63
5	2.80	2.22	2.64	1.91	19.58	0.82	2.95	1.36
6	5.10	1.27	1.83	1.65	6.84	0.75	3.80	1.39
7	3.55	2.57	4.88	2.47	8.86	1.16	8.90	3.19
8	3.70	2.03	10.33	2.56	8.52	1.41	6.10	2.89
9	2.84	2.32	3.04	1.35	8.26	1.75	9.10	2.70
10	4.35	2.64	4.72	2.71	2.03	1.61	8.35	2.43
11	4.17	2.28	7.65	1.61	11.44	1.04	7.90	2.16
12	4.70	1.18	27.40	3.12	4.81	1.51	5.90	2.50
13	3.27	2.6	3.21	0.83	16.33	0.22	5.84	0.92
14	3.75	2.26	2.32	1.25	5.42	0.75	1.14	1.11
15	3.04	2.86	1.63	1.00	3.02	0.51	6.40	1.83
16	2.70	2.43	3.02	1.34	4.07	1.09	4.01	2.80
17	6.72	3.15	5.18	2.13	26,64	1.53	6.71	2.25
18	7.23	3.69	3.24	2.02	13.04	2.89	3.88	1.37
19	3.26	4.04	7.60	2.49	---	---	4.41	2.90
20	4.92	3.41	5.53	1.82	---	---	4.85	3.53
21	7.21	3.74	4.26	2.16	---	---	7.83	4.28
22	8.20	0.54	3.32	2.36	---	---	1.78	1.28
23	6.92	1.22	4.42	2.34	52.87	1.46	1.48	0.59
24	2.42	1.64	6.15	2.44	8.68	1.60	3.90	0.94
25	8.16	1.50	6.43	2.02	6.04	1.29	4.34	1.11
26	4.96	2.05	4.86	2.92	4.51	1.53	3.35	1.00
27	6.23	2.91	6.71	2.98	5.39	2.16	3.65	1.08
28	6.81	2.91	3.15	1.85	---	---	2.80	2.26
29	6.66	3.6	6.75	2.90	6.66	2.47	2.54	1.71
30	6.28	2.49	7.12	2.80	7.22	1.74	4.86	1.23
31	5.94	3.91	6.01	3.43	5.63	1.23	3.48	0.82
32	6.13	3.54	4.5	3.49	2.64	1.71	3.37	1.44

**Tabla 5.12.**  
**(Continuación)**

Muestra	EDAR Norte		EDAR Este		EDAR Sur		EDAR Oeste	
	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente	Influyente	Efluente
33	7.3	4.00	3.10	3.03	6.31	1.50	2.40	0.86
34	5.32	3.66	5.96	3.30	6.75	1.73	5.83	2.44
35	5.02	3.53	2.81	2.40	5.39	1.71	4.54	2.57
36	6.2	3.42	6.84	2.39	6.03	2.10	4.01	2.69
37	4.06	3.61	3.07	2.77	3.19	2.54	4.14	2.53
38	4.13	3.27	3.25	2.27	5.89	2.57	4.74	2.00
39	6.36	3.63	5.36	2.94	5.57	1.89	4.24	1.69
40	3.21	2.55	4.33	2.26	5.00	1.45	4.15	1.09
41	6.12	2.26	4.85	2.91	5.13	1.47	1.83	1.23
42	6.16	3.03	2.65	3.64	6.11	1.73	5.18	1.06
43	5.39	4.24	4.13	2.36	5.04	3.05	4.92	2.20
44	5.51	4.39	4.42	3.14	4.10	3.29	4.32	1.78
45	8.50	4.61	4.00	2.24	6.16	3.07	5.11	1.38
46	3.51	3.09	3.26	1.62	5.29	0.44	4.40	1.03
47	4.39	2.88	4.93	1.81	3.55	1.19	3.78	1.18
48	5.42	3.61	5.41	3.57	4.57	1.65	4.26	0.86
49	5.55	5.09	3.97	1.47	5.47	1.04	5.58	1.75
50	5.18	3.29	3.36	2.53	4.84	1.86	4.75	0.93
51	4.85	3.28	3.90	2.13	6.75	1.65	3.64	0.62
52	3.79	0.95	2.73	0.95	4.12	1.96	3.39	1.16
53	3.66	1.01	3.29	1.07	3.64	1.29	2.39	1.16
54	3.95	1.17	4.63	3.16	4.61	1.77	3.23	1.31
55	3.86	1.89	3.43	1.26	4.02	2.88	3.63	1.55
56	4.16	2.46	1.91	1.19	4.36	1.17	1.97	1.19
57	4.36	1.65	2.42	1.29	3.59	1.01	3.53	1.32
58	2.66	4.65	4.90	2.16	7.08	2.40	3.08	1.45
59	5.59	1.38	3.84	1.59	8.68	2.44	2.95	2.23
60	5.60	1.50	5.57	1.92	7.47	1.74	5.57	2.30
61	4.08	2.20	5.00	1.33	5.30	1,35	6.14	1.90
62	3.88	2.77	5.16	2.25	4.37	1.17	4.80	2.51
63	2.80	2.13	4.77	2.27	9.28	3.52	5.20	2.89

**Tabla 5.13.**

**Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Norte**

	Influente			Efluente		
	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)
CF	2.33 – 27.90	7.37	81.80	0.17 – 5.45	1.62	78.70
CRB	< 0.12 – 3.78	0.53	103.60	< 0.06 – 1.18	0.58	40.62
IBU	3.73 – 353.21	69.70	97.7	< 0.41 – 26.53	4.13	122.81
KTP	< 0.07 – 5.52	1.58	84.40	< 0.04 – 2.27	0.86	67.30
NPX	2.02 – 8.50	4.83	32.80	0.54 – 5.09	2.74	37.00

**Tabla 5.14.**

**Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Este**

	Influente			Efluente		
	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)
CF	0.75 – 43.90	7.09	118.50	0.18 – 3.87	1.68	59.70
CRB	< 0.12 – 1.31	0.41	75.90	< 0.06 – 0.84	0.49	39.10
IBU	< 0.82 – 319.12	104.96	85.81	< 0.41 – 55.02	10.16	123.10
KTP	< 0.07 – 8.56	1.91	115.5	< 0.04 – 3.92	0.82	89.00
NPX	1.63 – 27.4	4.69	71.5	0.83 – 3.64	2.18	33.40

**Tabla 5.15.**

**Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Sur**

	Influente			Efluente		
	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)
CF	0.54 – 26.10	4.87	92.90	0.51 – 5.65	2.44	46.70
CRB	< 0.12 – 2.10	0.47	85.60	0.15 – 1.29	0.61	36.60
IBU	< 0.82 – 294.27	84.38	75.9	< 0.41 – 40.17	6.69	138.02
KTP	< 0.07 – 6.47	1.74	99.15	< 0.04 – 1.95	0.80	65.40
NPX	2.03 – 52.87	8.07	94.90	0.22 – 3.52	1.64	44.00

**Tabla 5.16.****Rango, concentración media y desviación estándar relativa (RSD) de los principios activos farmacológicos en las aguas residuales de la EDAR Oeste**

	Influyente			Efluente		
	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)	Rango ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Media ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)
CF	0.22 – 22.00	5.34	84.9	0.15 – 5.12	2.32	58.80
CRB	< 0.12 – 2.15	0.49	76.7	0.15 – 1.55	0.56	46.50
IBU	< 0.82 – 603.25	115.23	93.8	< 0.41 – 48.24	7.62	125.90
KTP	< 0.07 – 5.70	2.07	79.5	< 0.04 – 2.03	0.88	65.30
NPX	1.14 – 9.10	4.28	42.0	0.29 – 4.28	1.67	50.40

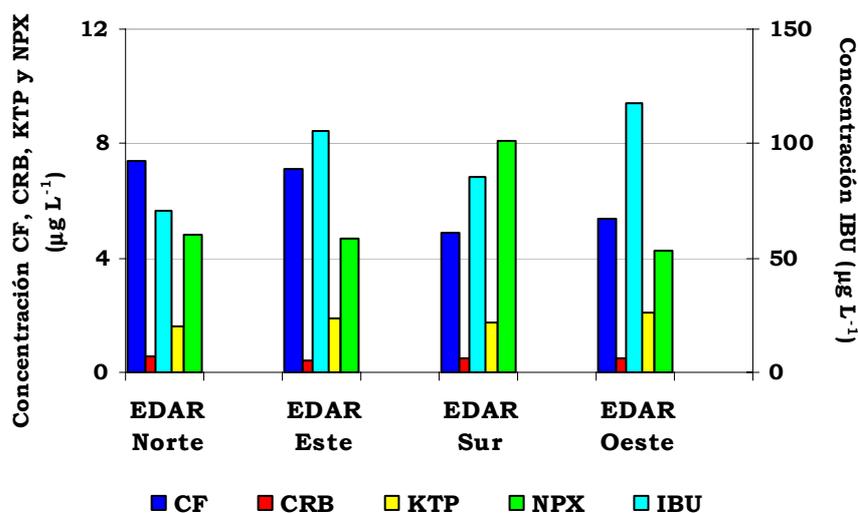
A la vista de los resultados mostrados con anterioridad, se pueden realizar las siguientes consideraciones generales:

- Los principios activos farmacológicos detectados en las aguas residuales influentes fueron cafeína, carbamacepina, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno. El fármaco que presentó mayores concentraciones fue el ibuprofeno (Figura 5.9), seguido de cafeína y naproxeno. Los fármacos ketoprofeno y carbamacepina aparecen a niveles inferiores de concentración, siendo la concentración media medida, para este último fármaco, inferior a  $1 \mu\text{g L}^{-1}$  en todas las depuradoras. El fármaco diclofenaco no fue detectado en ninguna de las muestras analizadas.
- Se observó una gran variabilidad en las concentraciones de los fármacos estudiados, tanto entre las depuradoras muestreadas como entre el tipo de muestras analizadas. Esto se pone de manifiesto en las elevadas RSD (%) encontradas. Estas variaciones de concentración se explican a partir del consumo de dichos fármacos y de las variables que afectan al funcionamiento de una EDAR a lo largo de un año (ciclo de muestreo): meteorología, vertidos industriales, variaciones en el caudal, etc.

- Para todos los fármacos, a excepción de la carbamacepina, la concentración media medida en efluentes de EDARs fue sustancialmente inferior a las encontradas en las aguas influentes.
- La EDAR Oeste fue la que presentó una mayor concentración en los principios activos, seguida de la EDAR Sur, Este y por último Norte.

A continuación se tratarán por separado cada uno de los fármacos estudiados en este trabajo.

**Figura 5.9.**  
**Distribución de principios activos farmacológicos en las EDARs de la ciudad de Sevilla**



### 3.1.1. Cafeína

La cafeína fue el segundo fármaco predominante en las aguas residuales. Se encontró presente en las aguas influentes en un rango de concentración de  $0.72 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $43.90 \mu\text{g L}^{-1}$ , con concentraciones medias mensuales situadas entre  $4.87 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $7.37 \mu\text{g L}^{-1}$ . Tales concentraciones son similares a las encontradas por otros autores en las aguas influentes de EDARs de Suecia (Bendz y col., 2005) o China (Chen y col., 2002)

e inferiores a las encontradas en depuradoras de Noruega o Alemania, en las que se detectan concentraciones de hasta  $54.7 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $147 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente (Weigel y col., 2004; Ternes y col., 2001).

No se observaron grandes desviaciones en las concentraciones medidas en las muestras correspondientes a cada semana de toma de muestras, lo que es indicativo de una homogeneidad en la fuente de cafeína al medio.

Las EDARs a las que llegaron mayores cantidades de cafeína fueron la Norte y la Este ( $7.37$  y  $7.09 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente) frente a las EDARs Sur y Oeste en las que el contenido en cafeína fue ligeramente inferior ( $4.87$  y  $5.34 \mu\text{g L}^{-1}$ ). No se observó una relación apreciable con el factor de dilución que pueden presentar estas aguas residuales debido a aportes industriales, mayores en las EDARs Este y Sur, ya que, como se mencionó anteriormente, la carga que reciben estas EDARs es fundamentalmente de carácter urbano.

Con respecto a los caudales efluentes, los niveles de concentración de cafeína detectados en las estas muestras estuvieron en un rango entre  $0.15$  y  $5.65 \mu\text{g L}^{-1}$  con concentraciones medias mensuales inferiores a  $3.93 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Con ello y pese a que se produce cierta disminución en el contenido de cafeína a lo largo de los procesos de depuración, esta sigue apareciendo en los caudales efluentes, llegando a los cauces receptores en cantidades comprendidas entre los  $8.42$  y  $984 \text{ g día}^{-1}$  para cada una de las EDARs estudiadas.

### **3.1.2. Carbamacepina**

La carbamacepina fue el fármaco que presentó menores concentraciones durante la realización de este estudio. Se detectó en el 70 % de los caudales influentes y en el 96 % de los efluentes. Su concentración medida en las aguas influentes fue inferior a  $3.78 \mu\text{g L}^{-1}$ , con concentraciones medias mensuales que se situaron entre  $0.20$  y  $1.73 \mu\text{g L}^{-1}$ . No se observaron variaciones en la concentración entre las cuatro EDARs estudiadas.

Las concentraciones en las aguas efluentes fueron inferiores a  $1.55 \mu\text{g L}^{-1}$  para todas las EDARs estudiadas, siendo similares a las encontradas en otros estudios (Ferrari y col., 2003; Clara y col., 2005b). Ternes (1998) encontró concentraciones ligeramente superiores en depuradoras de Alemania, donde se detectaron niveles medios de  $2.1 \mu\text{g L}^{-1}$ , alcanzando un máximo de  $6.3 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Los niveles presentes en los efluentes de las EDARs estudiadas suponen una descarga de entre  $5.74$  y  $257 \text{ g día}^{-1}$ .

### **3.1.3. Diclofenaco**

La concentración de este principio activo se encontró por debajo del límite de detección ( $0.14 \mu\text{g L}^{-1}$ ) en todas las EDARs estudiadas durante el periodo de toma de muestras.

### **3.1.4. Ibuprofeno**

El ibuprofeno fue el fármaco que presentó mayores concentraciones respecto al resto de principios activos. Se detectó en el 83 % de las muestras de agua influente analizadas a concentraciones comprendidas entre  $3.73$  y  $603.25 \mu\text{g L}^{-1}$ . Las mayores concentraciones de ibuprofeno aparecen para las EDARs Oeste y Este (Tablas 5.14 y 5.16), seguidas de la EDAR Sur y Norte. La concentración media mensual fue inferior a  $285.7 \mu\text{g L}^{-1}$ . Estos niveles de ibuprofeno son superiores a los encontrados por otros autores en países como Finlandia (Lindqvist y col., 2005), Suiza (Tauxe-Wuersch y col., 2005) o Canadá (Hing-Biu y col., 2005). En España, se han realizado estudios sobre la presencia de este principio activo en EDARs de Galicia (Carballa y col., 2004; González-Barreiro y col., 2003) y Cataluña (Farré y col., 2002), detectándose concentraciones de hasta  $85 \mu\text{g L}^{-1}$  en el agua efluente (Farré y col., 2002).

Se observó además cierta variabilidad en las concentraciones medidas cada tres muestras consecutivas, correspondientes a los días domingo, lunes y martes de cada semana muestreada (Ej.: Entre  $276.34$  y  $71.12 \mu\text{g L}^{-1}$  en EDAR Este para las muestras 22 a 24 o entre  $65.46$  y  $110.83 \mu\text{g L}^{-1}$  en la EDAR Norte para las muestras 34 a 36).

Tales desviaciones de concentración, suponen una diferencia en la carga de ibuprofeno ( $\text{mg h-e}^{-1}$ ) entre domingo y martes que varía en un factor aproximado de 3.5 (entre 0.18 y 0.64  $\text{mg h-e}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en EDAR Este y entre 0.13 y 0.54  $\text{mg h-e}^{-1} \text{ día}^{-1}$  en EDAR Norte). La variación de carga, sin embargo, no fue paralela a la evolución del caudal (prácticamente constante entre 42150 y 50310  $\text{m}^3 \text{ día}^{-1}$  en EDAR Este para las muestras 22 a 24 y entre 46600 y 49270  $\text{m}^3 \text{ día}^{-1}$  en EDAR norte para las muestras 34 a 36). Por tanto, dicha variación se asocia directamente con el nivel de consumo de ibuprofeno.

Pese a la elevada eliminación que experimentó el ibuprofeno al pasar a través de los procesos convencionales de depuración, como se describe en la literatura (Ternes, 1998; Stumpf y col., 1999; Metcalfe y col., 2003a; Tauxe-Wuersch y col., 2005), se detectó ibuprofeno en el 65 % de los efluentes analizados, a una concentración media entre 4.13  $\mu\text{g L}^{-1}$  y 10.16  $\mu\text{g L}^{-1}$ , siendo el aporte medio de ibuprofeno a los cauces receptores de entre 40.2 y 2236  $\text{g día}^{-1}$ , en el conjunto de las EDARs.

Los altos niveles de concentración de ibuprofeno encontrados en el agua de entrada a cada una de las EDARs se deben principalmente al elevado consumo de este fármaco. Además, pese a que la EDAR Sur recibe los efluentes hospitalarios, la concentración presente en las aguas de origen urbano de entrada a la EDAR no se vio incrementada por esta contribución, lo que sitúa a las aguas de origen urbano, como principal fuente en el aporte de este principio activo a medioambiente.

### **3.1.5. Ketoprofeno**

El ketoprofeno es, junto con carbamacepina, el fármaco que apareció a menores concentraciones, presentando niveles inferiores al límite de detección en el 22 % de los caudales influentes analizados. El resto de las muestras presentaron unas cantidades de ketoprofeno que oscilaron entre 0.16  $\mu\text{g L}^{-1}$  y 8.56  $\mu\text{g L}^{-1}$  con concentraciones medias mensuales de 0.20  $\mu\text{g L}^{-1}$  (EDARs Norte y Sur) y 6.75  $\mu\text{g L}^{-1}$  (EDAR Este). Además, no se observaron diferencias apreciables en la concentración medida entre las distintas EDARs.

Los niveles de ketoprofeno que presentaron las muestras analizadas fueron similares a los publicados por Lindqvist y col. (2005) en aguas residuales de Finlandia y superiores a las presentes en aguas de países como Suiza (Tauxe-wuersch y col., 2005; Soulet y col., 2002), Alemania (Heberer, 2002b) o Brasil (Stumpf y col., 1999). En otros estudios realizados sobre aguas residuales influentes de depuradoras españolas no se detectó la presencia de ketoprofeno (González-Barreiro y col., 2003; Rodríguez y col., 2003).

La carga de ketoprofeno que recibieron las distintas EDARs estudiadas varió durante el periodo de toma de muestras entre 23.4 (EDAR Oeste) y 850 mg día<sup>-1</sup> (EDAR Sur), lo que supone un aporte de entre 0.19 a 0.77 mg h-e<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>.

Con respecto a los caudales efluentes de las EDARs, se observó que, pese a que se produce una cierta eliminación durante el proceso de depuración, el fármaco ketoprofeno siguió detectándose en el 88 % de las muestras a concentraciones medias mensuales de 0.20 µg L<sup>-1</sup> (EDAR Norte) y 3.92 µg L<sup>-1</sup> (EDAR Sur), lo que supone un aporte a los cauces receptores de 9.2 g día<sup>-1</sup> a 309.7 g día<sup>-1</sup> en el conjunto de las EDARs estudiadas.

### **3.1.6. Naproxeno**

Al igual que la cafeína, el naproxeno fue detectado en todas las muestras analizadas encontrándose en el agua influente a unas concentraciones comprendidas entre 1.14 y 52.87 µg L<sup>-1</sup> (0.29 mg h-e<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> y 8.64 mg h-e<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>). La concentración media mensual se situó entre 4.27 y 7.83 µg L<sup>-1</sup>, presentándose a niveles similares a las publicadas en diversos estudios realizados en aguas residuales procedentes de otras depuradoras españolas (Carballa y col., 2004; Rodríguez y col., 2004; González-Barreiro y col., 2003).

La EDAR Sur fue la que presentó mayores concentraciones de naproxeno (7.83 µg L<sup>-1</sup>); en el resto de EDARs se encontraron concentraciones en torno a 4 µg L<sup>-1</sup>.

Al igual que en el caso de la cafeína, no se observaron variaciones significativas en la concentración de naproxeno medida cada tres muestras consecutivas, por lo que no

se aprecia un variación importante en la concentración de entrada a las depuradoras en los distintos días de la semana.

Además, el fármaco naproxeno fue detectado en todas las muestras de agua efluente, a concentraciones de entre  $0.22 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $5.09 \mu\text{g L}^{-1}$  a lo largo de todo el periodo de muestreo, con concentraciones medias mensuales comprendidas entre  $1.49 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $2.56 \mu\text{g L}^{-1}$ . Estas concentraciones son similares a las encontradas en otras ciudades europeas situadas en Suiza (Öllers y col., 2001;) y Finlandia (Lindqvist y col., 2005), pero ligeramente superiores a las detectadas en otros países europeos como Italia, Grecia o Francia (Andreozzi y col., 2003d). En España, estudios realizados en Galicia (Carballa y col., 2004; Rodríguez y col., 2003) y Barcelona (Farré y col., 2001) muestran concentraciones similares de naproxeno en las aguas efluentes de EDARs.

Se observó que pese a la disminución que experimentó la concentración de naproxeno durante el proceso de depuración, sigue llegando a los cauces receptores en unas cantidades comprendidas entre  $23.9$  y  $559 \text{ g día}^{-1}$ .

#### **4. RENDIMIENTO DE LOS TRATAMIENTOS CONVENCIONALES DE DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES EN LA ELIMINACIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS**

Como se mencionó en el Capítulo 1 del presente estudio, la eliminación que un contaminante experimenta durante el proceso de depuración de aguas residuales, se produce a través de diferentes rutas. Los procesos más importantes por los que transcurre dicha eliminación son la volatilización, la retención sobre la materia sólida (lodos) y la degradación biológica. Sin embargo, debido a la solubilidad y a los bajos coeficientes de partición aire-agua de los fármacos estudiados, su eliminación durante los procesos de depuración se produce principalmente por las dos últimas vías.

En la Tabla 5.17 se muestran los rendimientos de eliminación obtenidos, a lo largo del proceso de depuración, para los fármacos y EDARs estudiados. Los resultados se muestran como valor medio de las eliminaciones calculadas durante todo el periodo

de toma de muestras, y se comparan con los valores medios o rangos de eliminación obtenidos por otros autores.

A la vista de los resultados recogidos en la Tabla 5.17, se pueden extraer los siguientes comentarios generales:

- Todos los principios activos farmacológicos estudiados mostraron, a lo largo de los procesos convencionales de depuración de aguas residuales, una disminución en su concentración.
- El fármaco para el que se observó una mayor eliminación durante los procesos de tratamiento fue el ibuprofeno, seguido de cafeína, naproxeno, ketoprofeno y carbamacepina, en este orden.
- Los resultados obtenidos para la eficacia en la eliminación de los principios activos estudiados durante el proceso de depuración de aguas residuales, presentaron una importante variabilidad, tanto entre los distintos fármacos, como las encontradas para un mismo fármaco en las distintas EDARs sobre las que se realizó la toma de muestras.
- Los resultados de eliminación, obtenidos durante todo el periodo de muestreo, pueden considerarse del mismo orden que los publicados anteriormente por otros autores (Tabla 5.17).

La importante variación que se observó en los resultados medios obtenidos en la eliminación de cada uno de los principios activos farmacológicos estudiados en las distintas EDARs es consecuencia de las distintas variables que influyen en los mecanismos de eliminación. Por ello, es necesario un estudio por separado de las variables que interfieren en la eficacia de la eliminación mediante procesos de lodos activos, estableciendo dos grupos: de una parte la influencia de los distintas variables de operación que se aplican en los procesos de lodos activos y de la calidad del agua influente y, por otra, las características fisicoquímicas de los componentes estudiados.

**Tabla 5.17.****Eliminación media (%) de principios activos farmacológicos durante el proceso de depuración en las EDARs de la ciudad de Sevilla.**

Principio activo	EDAR Norte	EDAR Este	EDAR Sur	EDAR Oeste	Bibliografía	Referencias
Cafeína	77.7	71.03	36.51	47.73	94 >80	Bendz y col., 2005 Buerge y col., 2003
Carbamacepina	11.56	7.96	6.22	8.36	30 7	Bendz y col., 2005 Ternes, 1998
Diclofenaco	---	---	---	---	17 – 69	Heberer, 2002b
Ibuprofeno	90.27	83.14	84.96	89.21	66 – 93 90	Taxe-Wuersch y col., 2005 Ternes, 1998
Ketoprofeno	37.40	47.30	38.12	42.70	12 – 72 51 – 100 62	Taxe-Wuersch y col., 2005 Lindqvist y col., 2005 Quintana y col., 2005
Naproxeno	40.30	50.90	70.70	64.40	55 – 98	Lindqvist y col., 2005

**4.1. Eliminación de cafeína en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

Actualmente existen pocos trabajos acerca del comportamiento de la cafeína en las plantas depuradoras de aguas residuales. Estudios recientes (Bendz y col., 2005; Buerge y col., 2003; Weigel y col., 2004) realizados sobre depuradoras de diversos países europeos muestran una buena eficacia en la eliminación de cafeína a lo largo de los procesos convencionales de depuración. En Suecia, Buerge y col. (2003) muestran la eliminación que experimenta la cafeína en trece estaciones depuradoras. De estas, diez presentaron una eliminación inferior al 99.3 %, mientras que el resto de EDARs mostraron rendimientos de eliminación ligeramente inferiores (80.9-97.3 %). Otros estudios sobre EDARs suecas (Bendz y col., 2005) muestran eliminaciones de cafeína en los procesos de depuración de hasta el 94 %.

Los promedios de eliminación obtenidos para las EDARs de Sevilla muestreadas variaron entre el 36.5 % y el 77.7 % (Tabla 5.17). La carga que recibieron estas EDARs

se situó entre  $0.03 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $13.40 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Esta fue reducida hasta niveles de entre  $0.02 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $2.04 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  cuando el caudal es descargado a los cauces receptores. Ello supone una eliminación de cafeína en los procesos de depuración de hasta el 98.4 %. Los rendimientos de eliminación más bajos se produjeron en las EDARs Sur y Oeste (Tabla 5.17).

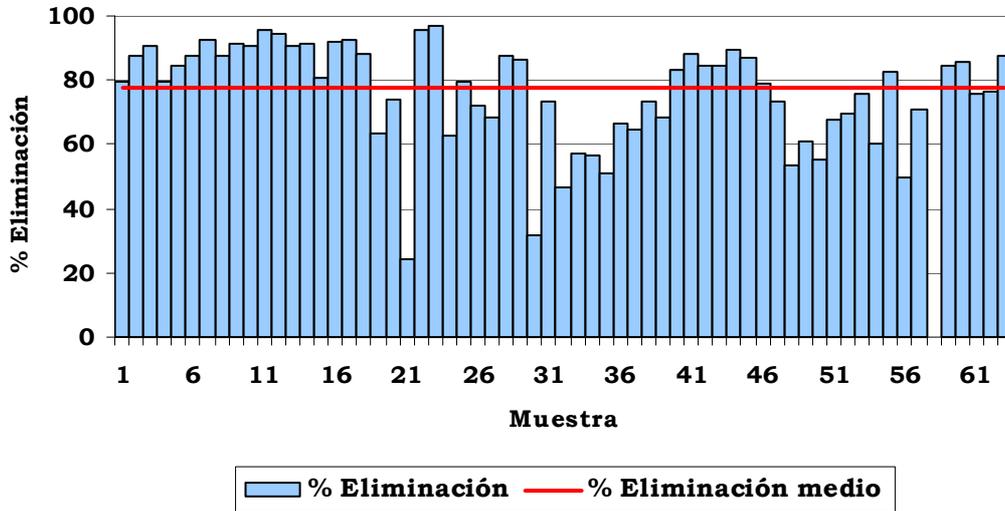
Las Figuras 5.10 a 5.13 muestran los rendimientos de eliminación de cafeína, a lo largo de todo el periodo de toma de muestras, en las cuatro EDARs estudiadas.

A la vista de los resultados expuestos en las Figuras 5.10 a 5.13, se pueden extraer las siguientes consideraciones.

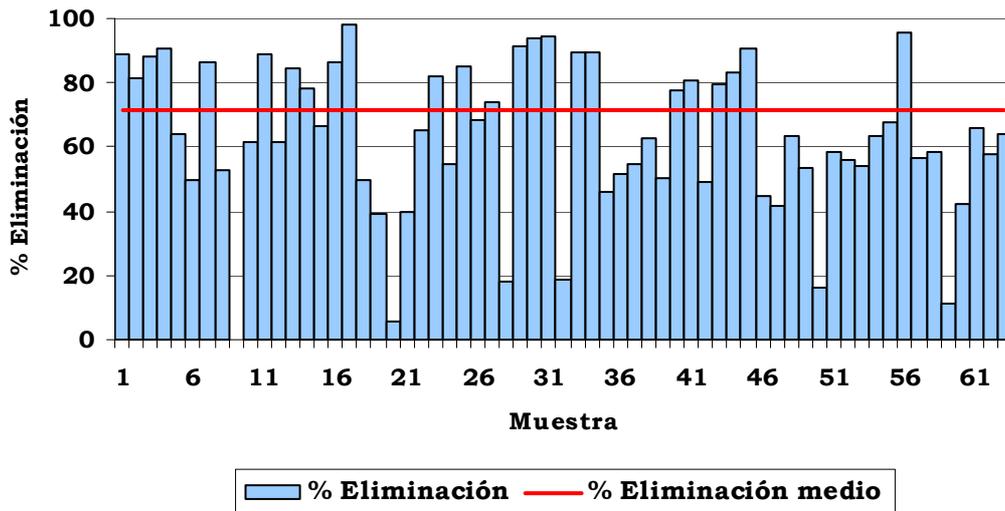
#### *EDAR Norte*

La EDAR Norte fue la depuradora en la que se obtuvieron mayores rendimientos de eliminación de cafeína. Como se mencionó anteriormente, las concentraciones de cafeína presentes en el agua efluente se situaron en un rango de entre  $0.17 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $5.45 \mu\text{g L}^{-1}$ , coincidiendo con una eficacia de eliminación inferior al 96.7 % (Figura 5.10). Los resultados obtenidos para la eliminación de este compuesto en la EDAR Norte fueron similares a lo largo de todo el periodo de toma de muestras. Los mayores rendimientos se obtuvieron en la primera parte del muestreo (muestras de la 1 a la 18), con un valor medio de 89.7 % (RSD inferior al 5.4 %). Posteriormente (muestras 19 a 57) se produjo un descenso en los resultados de eliminación y un aumento en su variabilidad (RSD 23.4 %), que se situó entre los meses de septiembre y mayo coincidiendo con el periodo de mayor inestabilidad climatológica y mayor variabilidad en el caudal influente. Estas variaciones produjeron un promedio de carga en el caudal efluente de la EDAR que se situó entre  $0.03$  y  $1.03 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

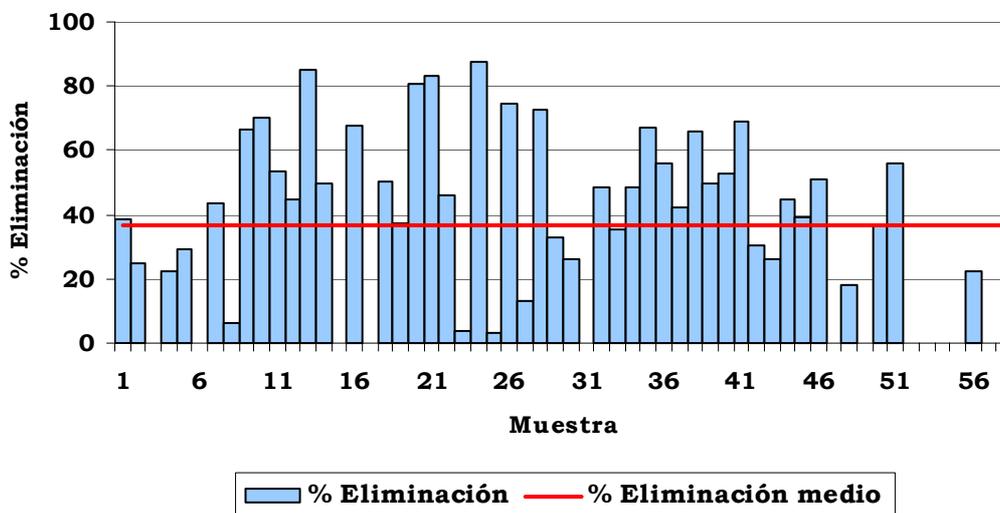
**Figura 5.10.**  
**Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Norte**



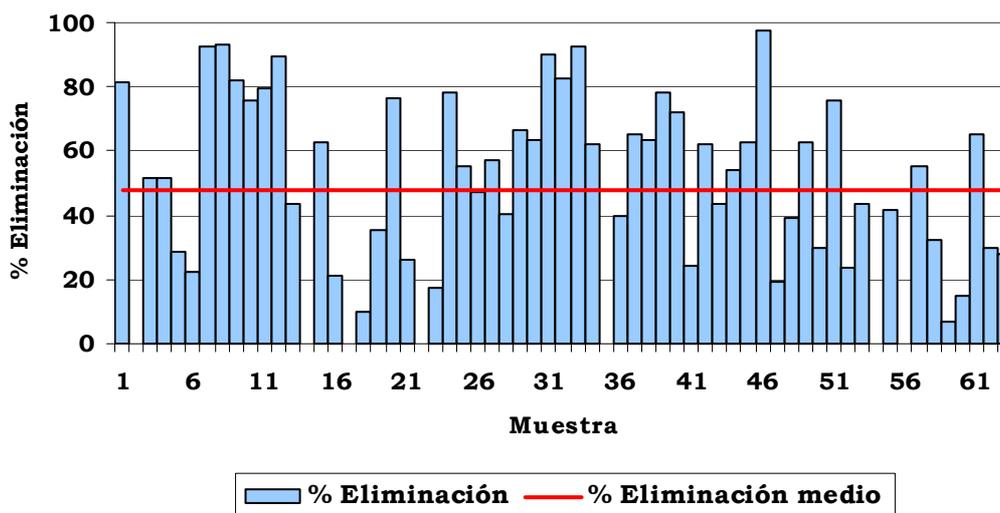
**Figura 5.11.**  
**Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Este**



**Figura 5.12.**  
**Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Sur**



**Figura 5.13.**  
**Porcentaje de eliminación de cafeína en la EDAR Oeste**



### *EDAR Este*

La carga de cafeína que recibió la EDAR Este en el caudal efluente de situó entre  $0.75 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $43.90 \mu\text{g L}^{-1}$ , produciéndose un descenso en esta concentración en el influente de hasta el 98.6 %. Esto se refleja en un contenido de cafeína en el caudal efluente que se situó entre  $0.02 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $0.48 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . La Figura 5.11 muestra los resultados obtenidos para la eficacia en la eliminación en la EDAR Este. Se observaron fuertes fluctuaciones en la eliminación durante todo el periodo de toma de muestras, variando entre el 5 % y el 98 % (media 71.03), con una RSD de 37.3 %. Solo el 11 % de los días muestreados mostraron eliminaciones inferiores al 20 %, y en el 38 % de las muestras influentes analizadas se produjo un descenso en la concentración de cafeína superior al 70 %.

### *EDAR Sur*

La eficacia en la eliminación de la cafeína en la EDAR Sur fue de hasta el 89.4 %. En la Figura 5.12 se muestran los resultados obtenidos para dicha eliminación durante todo el periodo de toma de muestras. Se apreció una amplia variabilidad en los resultados obtenidos (RSD 73.3 %), alcanzando valores de hasta 87.36 %, con un promedio durante todo el periodo de toma de muestras del 36.51 %. El 37 % de los días muestreados presentaron rendimientos de eliminación inferiores al 40 %, y solo en el 12 % de los casos esta eliminación superó el 60 %.

### *EDAR Oeste*

La EDAR Oeste recibió una carga de cafeína en el caudal influente de entre  $0.22 \mu\text{g L}^{-1}$  a  $22.0 \mu\text{g L}^{-1}$ , reduciéndose hasta niveles de entre  $0.15$  a  $5.12 \mu\text{g L}^{-1}$  a la salida de la planta, lo que supone una eliminación media del 47.73 %. El rango de eliminación medido para esta EDAR fue de hasta el 97.8 % durante el periodo de toma de muestras. En la Figura 5.13 se observa, al igual que en la EDAR Este (Figura 5.11), la elevada variabilidad de los resultados obtenidos, puesta de manifiesto por una RSD del 60 %. Pese al bajo promedio de eliminación obtenido para esta EDAR, solo en el 35 % de los casos se produjo un descenso en la concentración inferior al 40 % y en el 41 % de los

casos esta fue superior al 60 %. Con ello, la EDAR Oeste contribuye a una carga de cafeína en el cauce receptor inferior a  $2.04 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

#### **4.2. Eliminación de carbamacepina en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

Estudios recientes realizados en aguas influentes y efluentes de depuradoras (Ternes, 1998; Joss y col., 2005; Clara y col., 2004; Clara y col., 2005a; Clara y col., 2005b) demuestran que la carbamacepina es, como se ha mencionado anteriormente, un fármaco de enorme persistencia debido a su pobre eliminación en las plantas de tratamiento de aguas residuales (inferiores al 20 %), por lo que ha sido detectado con frecuencia en los efluentes de depuradoras y aguas superficiales (Heberer, 2002b).

Como se mencionó en el epígrafe anterior, los niveles de concentración encontrados para este fármaco en los caudales efluentes de EDARs son frecuentemente del mismo orden, o incluso superiores a los presentes en las aguas influentes a planta. Esto podría estar motivado por dos factores, de una parte la pobre eliminación que experimenta este fármaco en el proceso de depuración y, por otra, a la presencia en el agua residual influente del 10, 11-epoxi carbamacepina, principal metabolito de la carbamacepina, que puede transformarse en esta última durante los procesos de depuración de aguas residuales (Ternes, 1998). Carballa y col. (2005) estudiaron el comportamiento del fármaco carbamacepina durante los tratamientos de depuración primarios, observando que éste no se ve afectado por las distintas condiciones de temperatura o naturaleza del producto floculante empleado. Joss y col. (2005) describieron una pobre eliminación del fármaco durante el tratamiento biológico en EDARs mediante tecnologías convencionales, eliminaciones que generalmente son independientes del tiempo de retención hidráulico (Metcalf y col., 2003a).

La carga de carbamacepina a las EDARs de la ciudad de Sevilla se situó entre  $0.006 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $0.760 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Estos niveles se ven escasamente reducidos tras el tratamiento de depuración, llegando a verterse a los cauces receptores entre  $0.007$  y  $0.735 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  lo que supuso una rendimiento en la eliminación de carbamacepina inferior al 11.56 %.

Las Figuras 5.14 a 5.17 muestran la eficacia mostrada por las cuatro EDARs estudiadas en la eliminación de carbamacepina durante el proceso de tratamiento de lodos activos. En algunos casos no se detectó carbamacepina en las muestras de agua influente y efluente de las EDARs, por lo que no se calcularon los promedios de eliminación.

A la vista de los resultados mostrados en las Figuras 5.14 a 5.17, se pueden extraer las siguientes consideraciones:

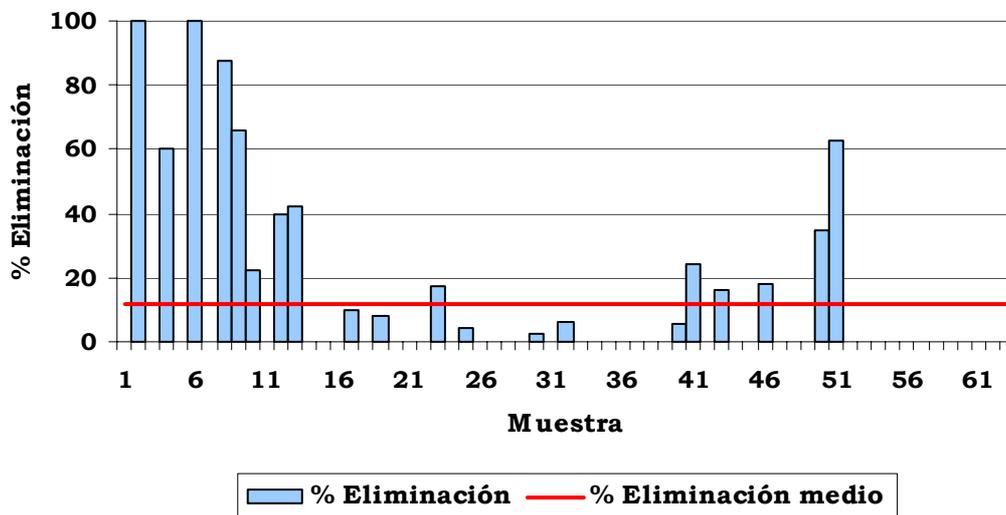
#### *EDAR Norte*

La eliminación de carbamacepina en la EDAR Norte se muestra en la Figura 5.14. Se observa una pobre eliminación a lo largo de todo el periodo de toma de muestras, pese a que en algunos casos esta llegó a ser de hasta el 87 %. El promedio de eliminación durante todo el periodo de toma de muestras en la EDAR Norte fue del 11.56 %, produciéndose un amplia variabilidad en los resultados obtenidos (RSD, 27 %). Por otra parte, el 67 % de las muestras de agua influente analizadas no sufrieron una reducción de la concentración de carbamacepina tras los procesos de tratamiento, encontrándose en el caudal efluente unos niveles de carbamacepina del mismo orden o incluso superiores a los presentes en el caudal influente a planta.

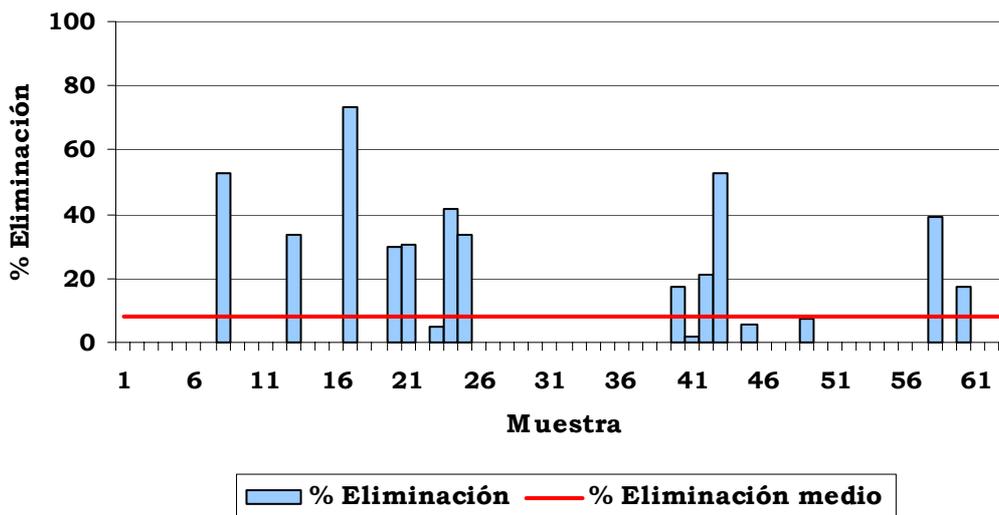
#### *EDAR Este*

La EDAR Este recibió una carga de carbamacepina en el caudal influente inferior a  $1.31 \mu\text{g L}^{-1}$ , mientras que la concentración máxima medida en el agua de salida fue de  $0.84 \mu\text{g L}^{-1}$ . Pese a ello, las concentraciones de carbamacepina encontradas en el caudal efluente fueron superiores a las presentes en el caudal influente en el 75 % de las muestras analizadas. El resto de las días muestreados presentaron una eliminación media de un 7.96 %, variando en un rango de entre un 2 % y un 73 %. La eliminación del fármaco producida en la EDAR Este implica un vertido de carbamacepina al cauce receptor de entre  $0.007 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $0.095 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

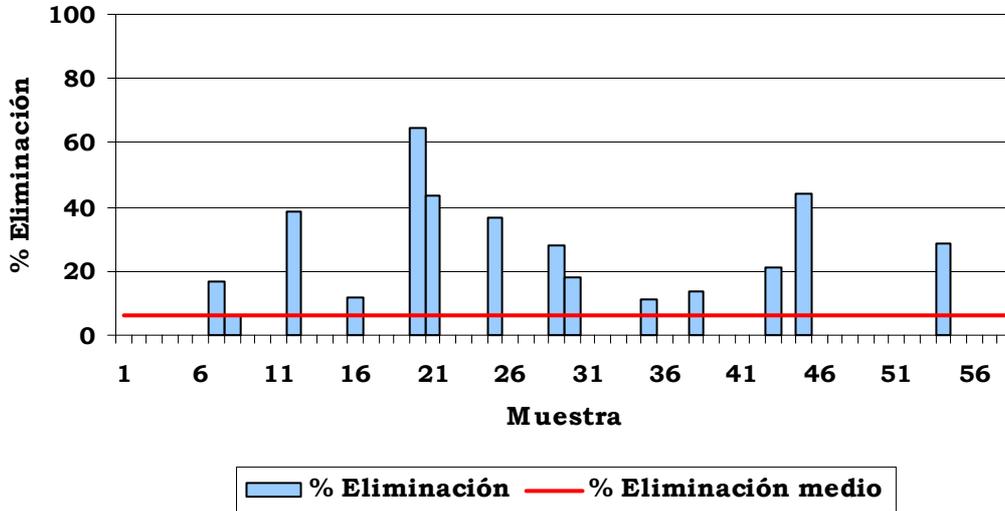
**Figura 5.14.**  
**Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Norte**



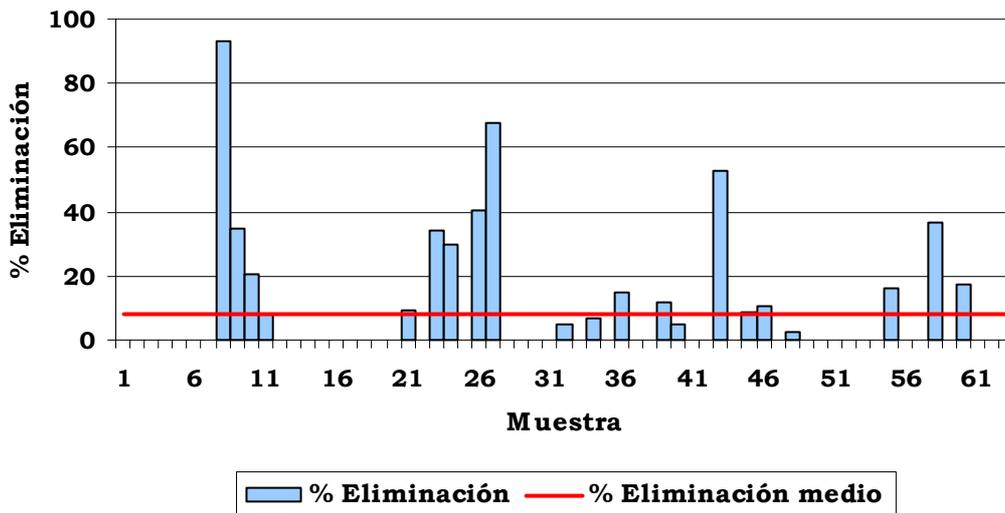
**Figura 5.15.**  
**Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Este**



**Figura 5.16.**  
**Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Sur**



**Figura 5.17.**  
**Porcentaje de eliminación de carbamacepina en la EDAR Oeste**



La EDAR Sur recibió niveles de concentración de carbamacepina inferiores a  $2.10 \mu\text{g L}^{-1}$ . Estas concentraciones se ven reducidas tras el tratamiento hasta niveles de entre  $0.15$  a  $1.29 \mu\text{g L}^{-1}$  en el 21 % de los casos (Figura 5.16). La eliminación de carbamacepina en la EDAR Sur presentó un comportamiento similar al resto de depuradoras, obteniéndose una eliminación media del 6.22 %, con un rango de eliminación de entre el 6 % y el 64 %. Para el resto de los días en los que se realizó la toma de muestras no se obtuvieron niveles de eliminación apreciables, encontrándose en el agua efluente niveles de concentración similares a los obtenidos para el influente en la EDAR.

#### *EDAR Oeste*

Pese a la baja eliminación observada para la carbamacepina a lo largo del proceso de depuración de aguas residuales, se podría decir que la EDAR Oeste fue, junto con la EDAR Norte, la que presentó un mayor porcentaje de eliminación a lo largo del periodo de toma de muestras, consiguiendo reducir la concentración de carbamacepina en un rango de entre el 2 % y el 93 %, en el 34 % de las muestras de agua influente analizadas. La eliminación media en estas muestras fue del 8.36 %, lo que supuso una descarga del fármaco al cauce receptor comprendida entre  $0.032$  y  $0.735 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

### **4.3. Eliminación de ibuprofeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

El fármaco ibuprofeno presenta generalmente altos rendimientos de eliminación durante los tratamientos convencionales de depuración de aguas residuales, con valores que van desde el 66 % al 93 % (Tauxe-Wuersch y col., 2005). Varios autores (Lindqvist y col., 2005; Bendz y col., 2005; Joss y col., 2005) han publicado recientemente estudios que muestran rendimientos de eliminación de ibuprofeno superiores al 90 %. Durante los tratamientos primarios de depuración el ibuprofeno presenta unos rendimientos de eliminación de entre el 10 % y el 32 % (Clara y col., 2005; Tauxe-Wuersch y col., 2005). En lo que al proceso biológico se refiere, diversos autores muestran la posible dependencia de la eliminación de ibuprofeno con el tiempo de

retención celular (TRC) y el tiempo de retención hidráulico (TRH) (Clara y col., 2005a; Tauxe-Wuersch y col., 2005; Metcalfe y col., 2003a) a los que operan las EDARs.

El ibuprofeno fue la sustancia que presentó un mayor volumen de descarga a los sistemas colectores durante la realización de este estudio, situándose este aporte entre  $0.274 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $199.49 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Esta carga de ibuprofeno se ve reducida tras el tratamiento en las distintas EDARs en un promedio de entre el 76.1 % y el 89.21 % durante todo el periodo de toma de muestras, alcanzándose eliminaciones de hasta el 99.88 %. Esto genera un aporte de ibuprofeno a los cauces receptores de entre  $0.024 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $26.60 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

Las Figuras 5.18 a 5.21 muestran la eficacia en la eliminación de ibuprofeno en las EDARs estudiadas durante el periodo de toma de muestras.

A la vista de los resultados expuestos en las Figuras 5.18 a 5.21, se pueden señalar los siguientes comentarios.

#### *EDAR Norte*

La eliminación de ibuprofeno en la EDAR Norte durante el periodo de toma de muestras estuvo comprendida entre el 19 % y el 100 %, con un valor medio del 90.27 % (RSD, 17 %). Sólo en el caso de las muestras 2 y 58 se obtuvieron eliminaciones inferiores al 50 %. Para el resto de muestras, la variabilidad de los resultados obtenidos fue inferior al 9 % en unidades de RSD, siendo el valor medio para estas del 92.15 %. Esto supone un aporte de ibuprofeno a los cauces receptores que osciló entre 0.07 y  $5.07 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

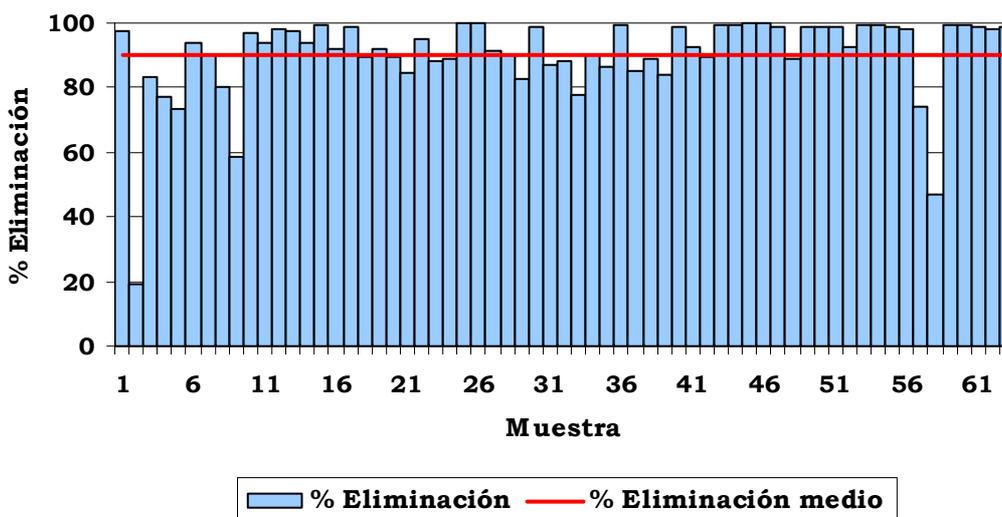
#### *EDAR Este*

El rango de eliminación de ibuprofeno durante los tratamientos realizados en la EDAR Este osciló entre el 13 % y el 99 %, con un promedio del 83.14 %. Solo el 11 % de las muestras analizadas presentaron rendimientos de eliminación inferiores al 60 %. Por otra parte, la EDAR Este es la que mostró una mayor variabilidad de los resultados obtenidos para la eliminación de ibuprofeno durante el periodo muestreado (RSD del

25.49 %). Este grado de variabilidad de los resultados, podrían ser debidos a que la EDAR Este es la depuradora que recibe una mayor carga industrial, por lo que está más sujeta a una mayor variabilidad en las características del caudal influente.

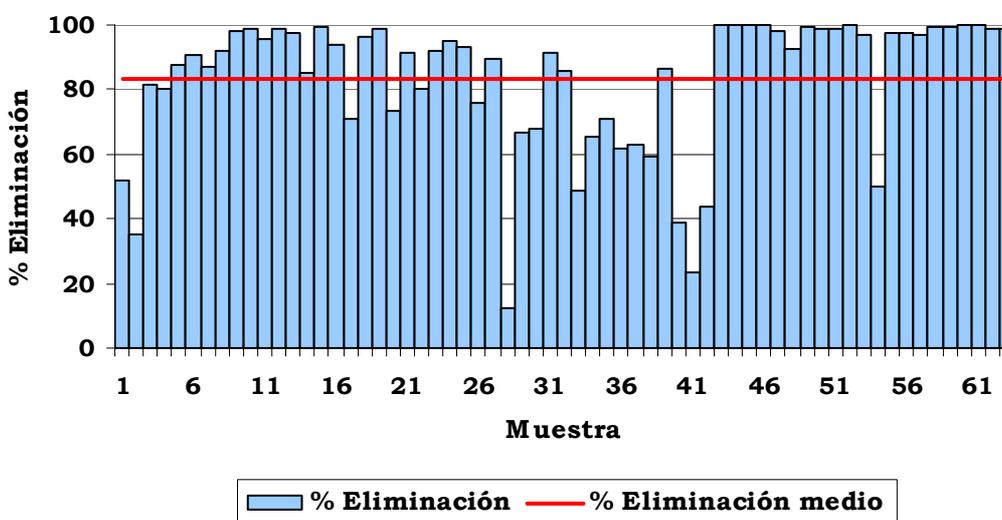
**Figura 5.18.**

**Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Norte**

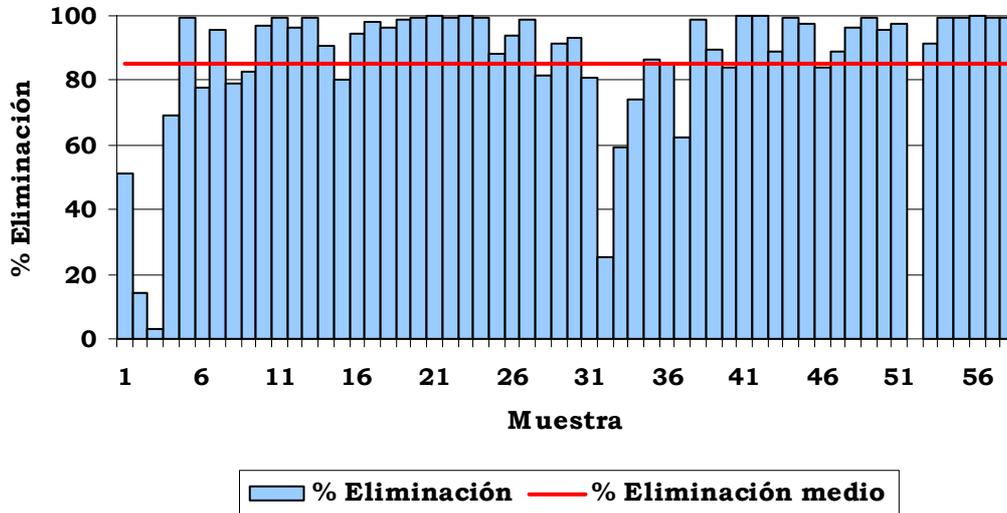


**Figura 5.19.**

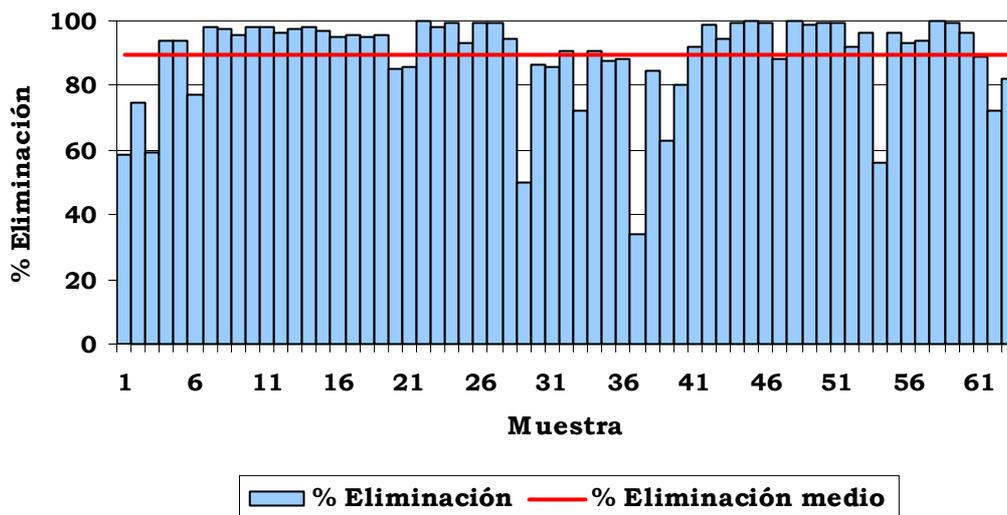
**Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Este**



**Figura 5.20.**  
**Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Sur**



**Figura 5.21.**  
**Porcentaje de eliminación de ibuprofeno en la EDAR Oeste**



*EDAR Sur*

El ibuprofeno fue relativamente bien eliminado en la EDAR Sur, con un promedio de eliminación del 84.96 %. Pese al amplio rango de eliminación que mostró en esta EDAR (del 3 % al 99.5 %), solo el 9 % de las muestras de agua influente, presentaron eliminaciones inferiores al 60 %. El resto de muestras presentaron un promedio de eliminación de 90.68 % con una RSD del 16 %.

*EDAR Oeste*

La EDAR Oeste fue la que recibió una mayor cantidad de ibuprofeno, siendo la concentración media presente en el caudal influente a planta de 115.23  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Presentó los mayores rendimientos de eliminación medios del fármaco (89.21 %) durante todo el periodo de toma de muestras. El rango de eliminación encontrado fue del 34 % al 99.86 %. En 5 de los días muestreados las eliminaciones fueron inferiores al 60 %. La desviación estándar relativa durante todo el periodo de toma de muestras fue inferior al 16 %, siendo esta EDAR la que mostró menores variaciones en la eliminación de este fármaco.

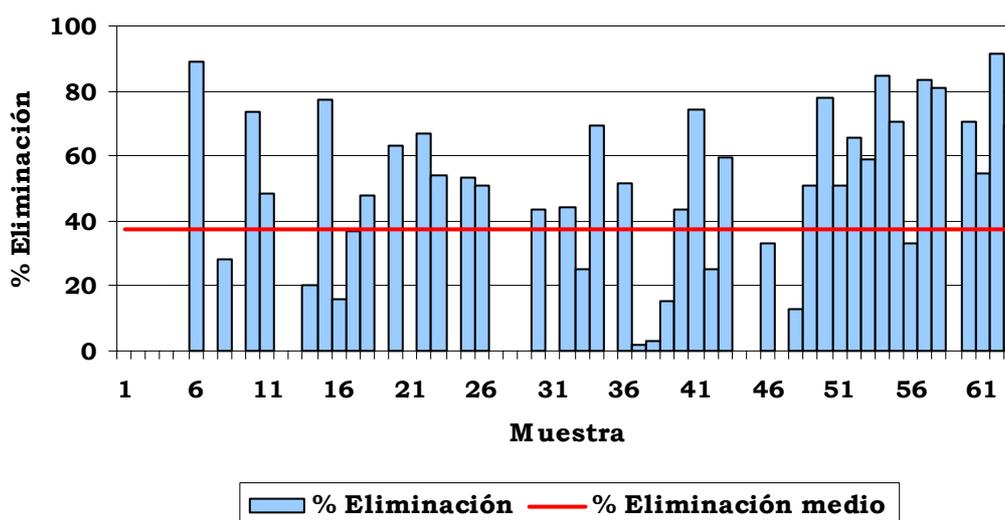
#### **4.4. Eliminación de ketoprofeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

En varios estudios realizados durante los últimos años (Tauxe-Wuersch y col., 2005; Lindqvist y col., 2005; Quintana y col., 2005; Stumpf y col., 1999), se muestra una amplia variación en la eliminación de ketoprofeno en relación con el tipo de tratamiento y el área geográfica estudiada. Estos rendimientos de eliminación van desde el 5 % (Tauxe-Wuersch y col., 2005) hasta incluso el 100 % (Lindqvist y col., 2005). Stumpf y col. (1999) encontraron promedios de eliminación del 48 % en estaciones depuradoras de Brasil que siguen tratamientos convencionales. Tauxe-Wuersch y col. (2005) encontraron rendimientos de eliminación ligeramente inferiores (5-36 %) durante los tratamientos primarios, mientras que el tratamiento biológico estaba seriamente afectado por los episodios de lluvia.

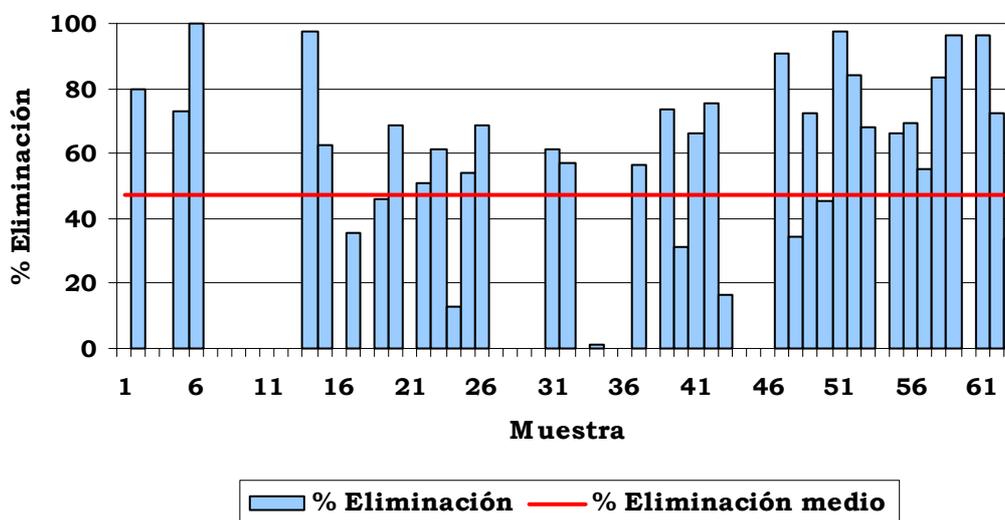
La carga de ketoprofeno que recibieron las EDARs estudiadas en la ciudad de Sevilla va desde 0.004 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> a 2.963 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Esta carga se vio reducida, tras el tratamiento en las EDARs, hasta unos niveles medios inferiores a 0.822 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> detectados en el caudal efluente de las EDARs. Esto implica que aproximadamente la mitad de ketoprofeno que entra en las EDARs estudiadas se elimina durante el tratamiento. La eliminación media a lo largo de todo el periodo de toma de muestras (Tabla 5.17) fue del 37.4 % (EDAR Norte) y el 42.7 % (EDAR Este) para todas las EDAR estudiadas. Se produjeron eliminaciones superiores al 40 % en el 84 % de los días muestreados.

Las Figuras 5.22 a 5.25 muestran el promedio de eliminación de ketoprofeno en las EDARs Norte, Este, Sur y Oeste, respectivamente, durante todo el periodo de toma de muestras.

**Figura 5.22.**  
**Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Norte**



**Figura 5.23.**  
**Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Este**



**Figura 5.24.**  
**Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Sur**

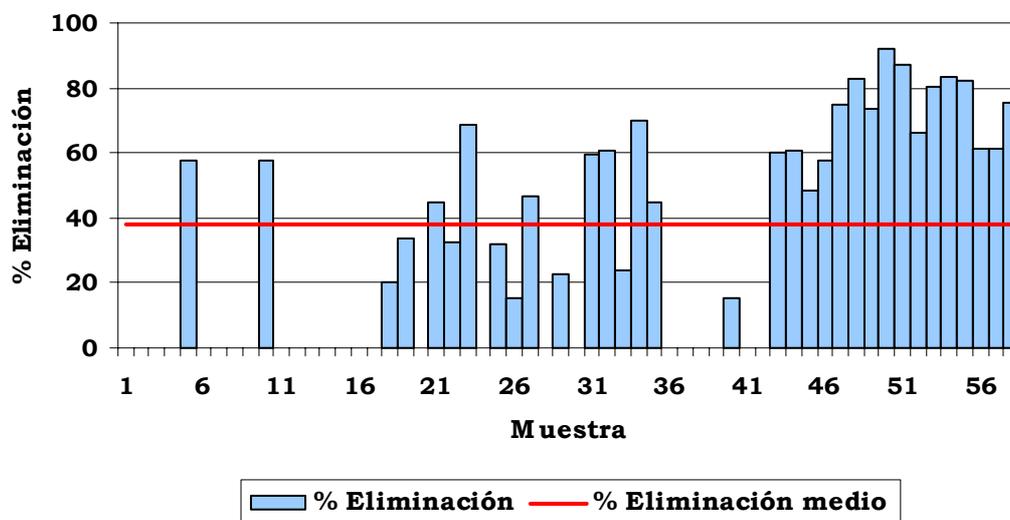
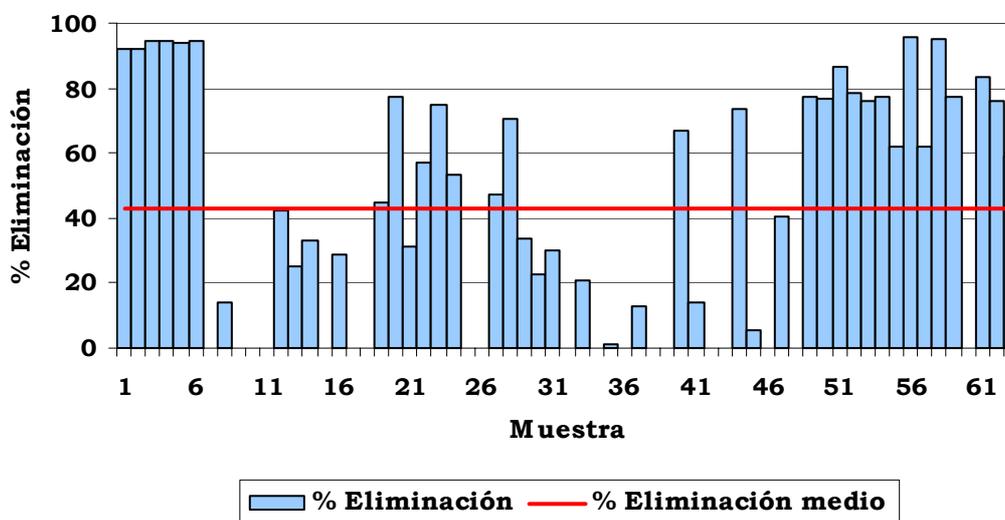


Figura 5.25.

## Porcentaje de eliminación de ketoprofeno en la EDAR Oeste



A tenor de lo expuesto en las Figuras 5.22 a 5.25, se pueden realizar las siguientes consideraciones:

*EDAR Norte*

La EDAR Norte recibió una concentración de ketoprofeno inferior a  $5.52 \mu\text{g L}^{-1}$ . Dicha concentración se vio reducida hasta unos niveles máximos en efluentes de  $2.27 \mu\text{g L}^{-1}$ . En la Figura 5.22 se observan los rendimientos de eliminación obtenidos para el ketoprofeno, durante el periodo de toma de muestras, en la EDAR Norte. La eliminación obtenida se situó entre el 13 % y el 91.3 %, excepto en el caso de las muestras 37 y 38, para las que las concentraciones medidas en el caudal influente son similares a las correspondientes al efluente de la planta. La eliminación media fue del 37.4 %, apreciándose una fuerte variabilidad de los resultados (RSD del 82 %), que se ve disminuida en el último periodo de toma de muestras (muestras 48 a 63, RSD 43 %).

*EDAR Este*

En la Figura 5.23 se presenta la eliminación que experimentó el ketoprofeno en la EDAR Este durante el periodo de toma de muestras. En el 58 % de las muestras analizadas, se observó una reducción en la concentración de ketoprofeno tras el tratamiento, con una eliminación media del 47.3 %. Además, se produjo una amplia variabilidad en los resultados, puesta de manifiesto por una RSD del 73 %, posiblemente motivada por la influencia que ejercen los factores externos (climatológicos, aportes industriales, etc.) sobre la eliminación de ketoprofeno en los procesos de depuración (Tauxe-Wuersch y col., 2005).

*EDAR Sur*

La EDAR Sur recibe una carga media de ketoprofeno de  $1.74 \mu\text{g L}^{-1}$  (Tabla 5.15). Esto supone un aporte diario comprendido entre  $0.004$  y  $1.582 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Estos niveles se vieron reducidos, tras el tratamiento al que son sometidas las aguas residuales, en un 38.12 % (Figura 5.24), resultando un aporte a los cauces receptores inferior a  $0.419 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ .

Los bajos niveles de ketoprofeno encontrados en la EDAR Sur causaron que en el 30 % de los días muestreados, la concentración presente en las muestras de agua efluente fuese del mismo orden o incluso superior a las encontradas en el agua influente a planta. Para el resto de muestras, la eficacia en la eliminación varió entre el 15 % y el 92 %. La variabilidad encontrada para estos días, medida como RSD fue del 39.8 %.

*EDAR Oeste*

La EDAR Oeste recibió una concentración de ketoprofeno de hasta  $5.7 \mu\text{g L}^{-1}$ . Lo que supone una carga media de  $0.878 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Se trata de la depuradora que presentó un mayor promedio en la eliminación de ketoprofeno (Figura 5.25). Este fármaco fue eliminado en esta EDAR en el 70 % de las muestras de agua influente analizadas, alcanzándose un promedio de eliminación para todo el periodo de toma de muestras del 42.7 %, encontrándose además, eliminaciones de incluso el 95.5 %. En cuanto a la variabilidad de estos resultados, se aprecia un periodo central (muestras de la

7 al a 47) de una enorme variabilidad en los resultados obtenidos ( $RSD > 100\%$ ), posiblemente debida a las bajas concentraciones encontradas en el caudal de entrada durante este periodo. Para el resto de muestras analizadas, se obtuvo un RSD del 35 %, situándose el promedio de eliminación en el 74.6 %.

#### **4.5. Eliminación de naproxeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

Varios autores han estudiado la presencia y eliminación de naproxeno en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales (Metcalfé y col., 2003a; Lindqvist y col., 2005; Bendz y col., 2005; Carballa y col., 2004; Joss y col., 2005; Carballa y col., 2005). Lindqvist y col. (2005) encontraron una amplia variabilidad en los rendimientos de eliminación (del 55 al 98 %) en distintas EDARs de Finlandia. Carballa y col. (2005) describen porcentajes de eliminación de naproxeno entre el 20 y el 25 % en tratamientos fisicoquímicos (coagulación-floculación) de aguas residuales. Otros autores han recogido como el naproxeno podría eliminarse por biodegradación (Hua y col., 2003), ozonización (Ternes y col., 2003) o fotodegradación (Tixier y col., 2003). Boyd y col. (2005) señalan la completa transformación de naproxeno en sus productos de degradación en presencia de cloro libre.

Las aguas residuales influentes de las EDARs de Sevilla, presentaron una carga de naproxeno de entre  $0.17 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$  y  $13.79 \text{ mg persona}^{-1} \text{ día}^{-1}$ . Esta carga se reduce en las EDARs estudiadas entre el 40.3 % (EDAR Norte) y el 70.7 % (EDAR Sur).

Las Figuras 5.26 a 5.29 muestran los rendimientos de eliminación de naproxeno en las distintas EDARs estudiadas durante el periodo de toma de muestras.

A la vista de los resultados mostrados en las Figuras 2.26 a 5.29, se pueden extraer las siguientes consideraciones.

*EDAR Norte*

La EDAR Norte recibió una cantidad diaria de naproxeno que oscila entre los 0.40 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> y los 1.82 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. La eliminación del fármaco naproxeno a lo largo del proceso de depuración en la EDAR Norte varió entre el 0 y el 93.4 %, con una eliminación media del 40.3 %. Sólo en las muestras 2, 3, 19 y 58, no se produjo eliminación de este fármaco durante el tratamiento de depuración. Se produjo además una gran variación en los rendimientos de eliminación encontrados en los diferentes días de toma de muestras, con una RSD del 56.8 %, lo que podría deberse a la influencia de los parámetros operacionales de la EDAR y a las características del caudal de entrada a planta.

*EDAR Este*

La EDAR Este recibió una carga de naproxeno que oscila entre 0.245 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup> y 3.407 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Estos niveles de naproxeno se vieron reducidos hasta una concentración de entre 0.83 µg L<sup>-1</sup> y 3.64 µg L<sup>-1</sup>. La eliminación osciló entre el 2.26 % y el 88.61 %, aunque sólo el 25 % de las muestras de agua influente analizadas presentaron eliminaciones inferiores al 40 %. La eliminación media que experimentó el naproxeno en dicha EDAR se situó en el 50.9 %, con una RSD del 38 %, lo que indica una menor variabilidad de los resultados obtenidos con respecto a la EDAR Norte.

*EDAR Sur*

La EDAR Sur fue la depuradora en la que se obtuvieron mayores rendimientos en la eliminación de naproxeno durante el periodo de toma de muestras, reduciéndose la concentración presente en aguas efluentes a un rango comprendido entre 0.22 µg L<sup>-1</sup> y 3.52 µg L<sup>-1</sup>. Esto supone una descarga de naproxeno inferior a 0.771 mg persona<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>. Los rendimientos de eliminación encontrados en esta EDAR se situaron entre el 19.5 % y el 98.6 %. Sólo el 11 % de los días muestreados presentaron eliminaciones inferiores al 40 %. La eliminación media se situó en el 70.7 % con una RSD del 26 %.

Figura 5.26.

Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Norte

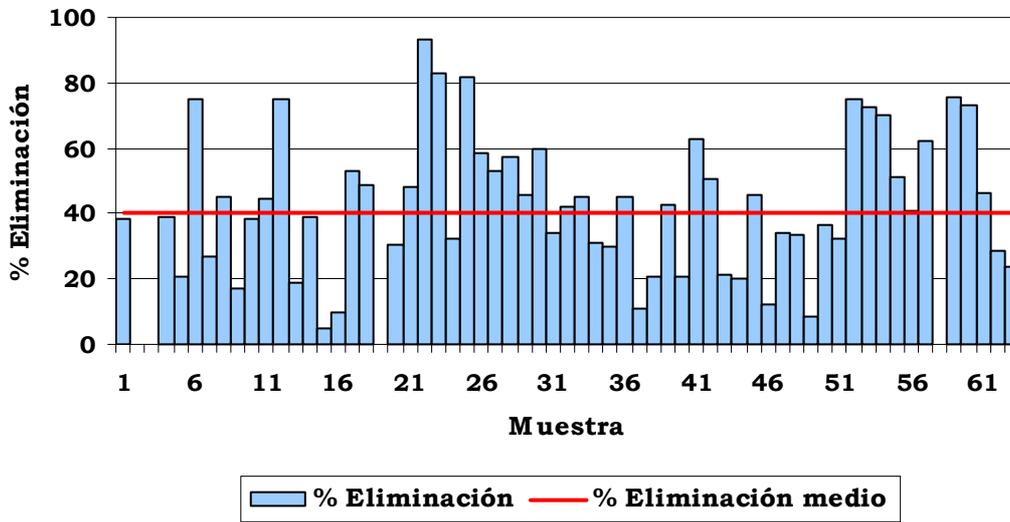
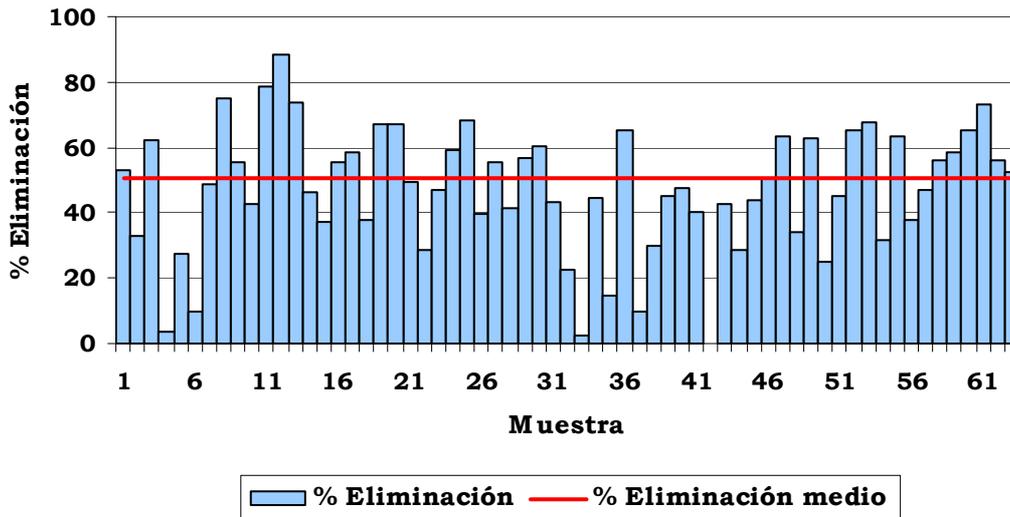
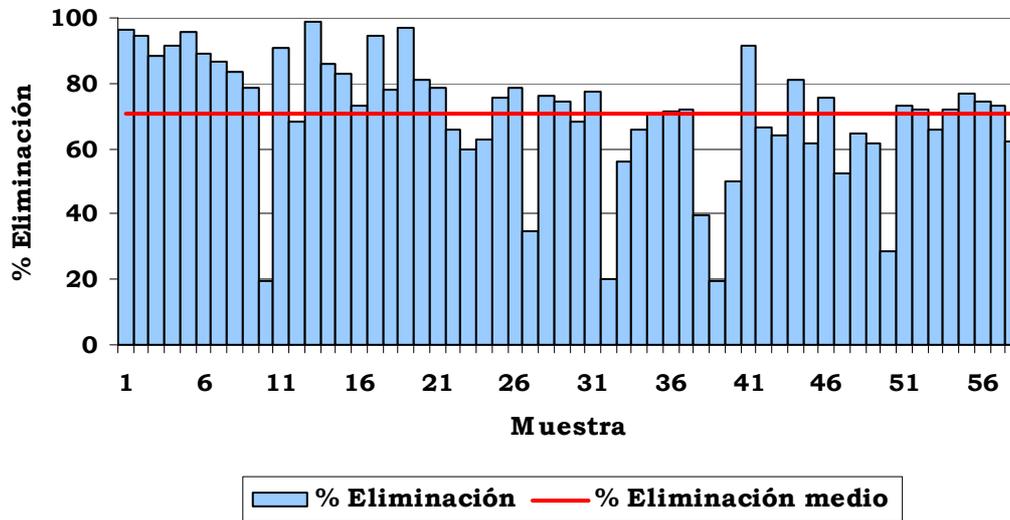


Figura 5.27.

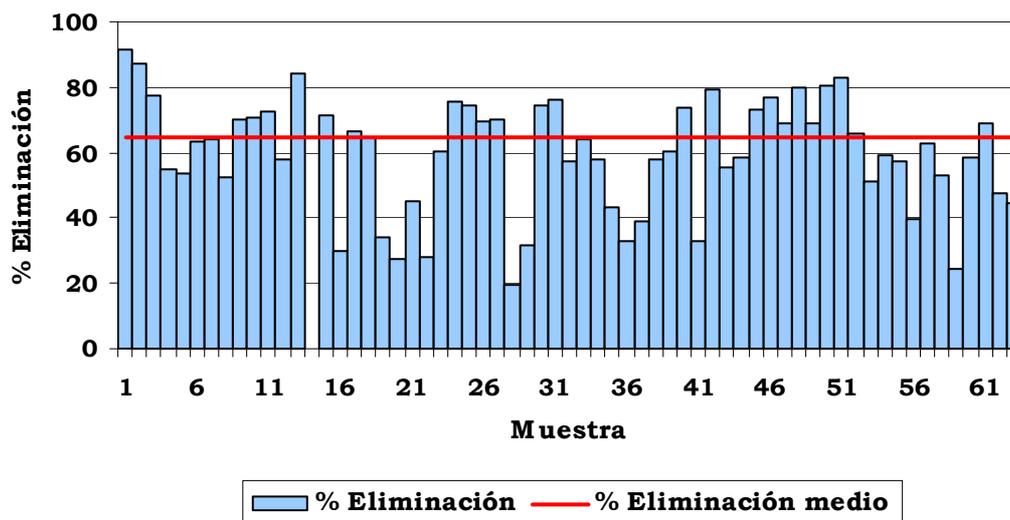
Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Este



**Figura 5.28.**  
**Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Sur**



**Figura 5.29.**  
**Porcentaje de eliminación de naproxeno en la EDAR Oeste**



### *EDAR Oeste*

El naproxeno fue eliminado relativamente bien en la EDAR Oeste: del 19.2 al 91.3 %. La eliminación media fue del 64.4 % durante el periodo de toma de muestras, con una RSD del 31 %, y solo el 17 % de las muestras analizadas presentaron eliminaciones inferiores al 40 %. El rendimiento de eliminación de naproxeno mostró además una importante variación en relación con la semana muestreada, produciéndose unas mayores variaciones en el periodo comprendido entre las muestras 21 y 42, coincidiendo con el periodo de otoño-invierno.

A continuación se analizarán en detalle los factores más significativos que han podido influir en los porcentajes de eliminación anteriormente comentados: variables de operación de las EDARs, estacionalidad y características fisicoquímicas de los principios activos farmacológicos.

#### **4.6. Influencia de las variables de operación y de la estacionalidad del influente de las EDARs en la eliminación de principios activos farmacológicos**

En el tratamiento secundario (lodos activos) de una EDAR convencional se produce la asimilación de materia orgánica a partir de procesos de biofloculación y metabolización selectiva de nutrientes. En él interviene un cultivo microbiológico constituido principalmente por bacterias que han sido seleccionadas en el agua residual gracias a la modificación de parámetros operacionales que permiten mantener una “tensión climática” o nutricional debido a la elevada concentración de materia orgánica. Se crea así, un ecosistema en el proceso de lodos activos que se caracteriza por mantenerse con una microfauna de baja diversidad y alta densidad para esas pocas especies. Una modificación en los parámetros asociados a los procesos de lodos activos permite realizar una selección de las especies presentes en el cultivo bacteriano, favoreciendo o no la eliminación de ciertos contaminantes (Clara y col., 2005a).

El tratamiento de aguas residuales constituye un complejo proceso cuya eficacia varía estacionalmente en una misma planta depuradora y en función de la calidad del caudal influente, el tiempo de retención celular (TRC) e hidráulico (TRH) aplicados y la

tecnología de tratamiento y método de desinfección (Daughton y Ternes, 1999; Halling-Sørensen y col., 1998) entre EDARs.

#### **4.6.1. Influencia del tiempo de retención celular (TRC) e hidráulico (TRH) en la eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

El tiempo de retención celular (TRC) o edad del lodo, dado como el tiempo promedio de residencia de los lodos en el reactor biológico, está relacionado con la tasa de crecimiento de los microorganismos presentes en el proceso de lodos activos. Los TRCs bajos evitan el crecimiento de depredadores a favor del enriquecimiento del licor mezcla en microorganismos de crecimiento rápido (Lee y Welander, 1996). Los altos TRCs favorecen la aparición de una mayor diversidad en la flora microbiana del reactor con una mayor capacidad fisiológica para la eliminación de ciertos contaminantes (Clara y col., 2005a). La correlación entre el TRC y la eficacia en la eliminación de contaminantes en una EDAR está basada en este principio. Además, la edad del lodo influye también en la cantidad de materia inerte presente en el reactor, afectando con ello a la cantidad de materia activa presente en el lodo y a la eficacia en la eliminación de contaminantes.

El tiempo de retención hidráulico (TRH) se define como el tiempo que se retardan las partículas de agua en su salida del proceso de tratamiento de aguas residuales. Se calcula a partir de la relación entre el caudal y el volumen útil de la planta. Se trata de una medida del tiempo durante el cual se produce el tratamiento de las aguas residuales, y en el que las aguas se encuentran en contacto con la materia sólida generada durante el tratamiento.

Clara y col. (2005a) encontraron cierta relación entre la eliminación de algunos fármacos y el TRC. Concluyeron que, mientras que la eliminación de algunos fármacos (ej. carbamacepina) en los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales urbanas no presentaba dependencia alguna con el TRC, en otros, tales como el ibuprofeno, se encontró cierta correlación entre el porcentaje de eliminación y el TRC con el que opera la EDAR.

En cuanto al TRH, diversos autores han estudiado su influencia en los rendimientos de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos de depuración de aguas residuales (Clara y col., 2005a; Metcalfe y col., 2003a). Metcalfe y col. (2003a) mostraron eliminaciones superiores al 90 % para los fármacos ibuprofeno y naproxeno en EDARs en las que se operaba con TRH superiores a 12 h. Igual que con el TRC, el porcentaje de eliminación de carbamacepina fue en todos los casos inferior al 50 %, independientemente del TRH aplicado.

En la Tabla 5.18 se muestran el tiempo de retención celular (TRC) y el tiempo de retención hidráulico (TRH) para cada una de las EDARs estudiadas.

**Tabla 5.18.**  
**Tiempo de retención celular (TRC) y Tiempo de retención hidráulico (TRH) para cada una de las EDARs estudiadas**

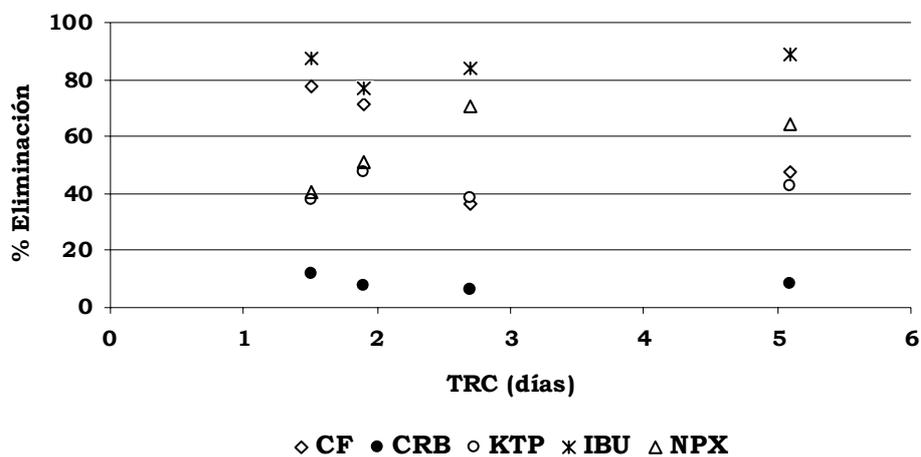
	TRC (días)	TRH (h)
EDAR Norte	1.5	12
EDAR Este	1.9	12
EDAR Sur	2.7	17
EDAR Oeste	5.1	16

Las Figuras 5.30 a 5.31 muestran gráficamente la relación entre los rendimientos de eliminación de fármacos y los TRCs y TRHs aplicados en el proceso de lodos activos en cada una de las EDARs estudiadas.

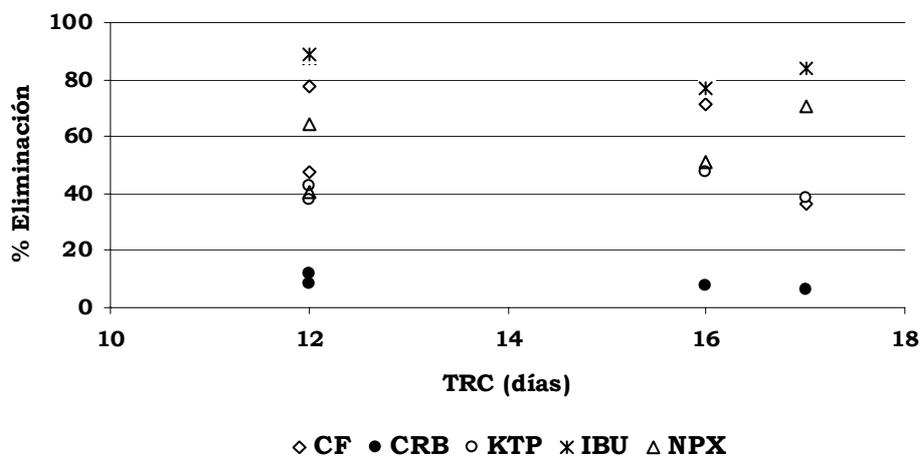
A la vista de las gráficas se podría señalar:

- No se observó una relación apreciable entre el TRC al que operan las distintas EDARs de la ciudad de Sevilla con el rendimiento de eliminación de principios activos farmacológicos estudiados en los procesos de depuración de aguas.

**Figura 5.30.**  
**Influencia del TRC en la eliminación de principios activos farmacológicos en las EDARs de Sevilla**



**Figura 5.31.**  
**Influencia del TRH en la eliminación de principios activos farmacológicos en las EDARs de Sevilla**



- En cuanto al TRH, no se observó su influencia sobre la eliminación de los fármacos carbamacepina y ketoprofeno, mientras que en el caso de los fármacos ibuprofeno y naproxeno se produjo un ligero incremento de los rendimientos de eliminación asociado a un incremento en el TRH. Se aprecia, al igual que en otras investigaciones (Metcalf y col., 2003a), un aumento en la eliminación de naproxeno e ibuprofeno en las EDARs en las que se opera con tiempos de retención hidráulicos (TRH) superiores a 12 h. En el caso de la cafeína ocurre el efecto contrario, se observa un descenso de la eliminación asociado al aumento del TRH.

Para establecer la magnitud de estas posibles relaciones entre los promedios de eliminación de principios activos farmacológicos y los TRC y TRH, se construyó una matriz de correlación empleando cada una de las depuradoras estudiadas como casos y los porcentajes de eliminación medios, calculados para todo el periodo de toma de muestras, junto con los valores de TRC y TRH, como variables. La matriz de correlación obtenida se muestra en la Tabla 5.19. En negrita se representaron las correlaciones mas significativas (coeficientes de correlación superiores a  $|0.70|$ ).

Se obtuvieron bajos coeficientes de correlación entre el TRC y los porcentajes de eliminación de los principios activos farmacológicos en las cuatro EDARs estudiadas. Esto podría deberse al pequeño rango de TRC a los que operan las EDARs en las ciudad de Sevilla (1.5 - 5.1 d) lo que impide predecir el comportamiento de este tipo de contaminantes en procesos de tratamiento que presenten un mayor tiempo de retención celular.

Por otra parte, se observa una fuerte correlación positiva entre el TRH y el fármaco naproxeno (0.95). Esto podría deberse a que un aumento del tiempo de retención hidráulico conlleva un incremento de los sólidos en suspensión en el licor mezcla del reactor biológico (Ren y col., 2005) y por consiguiente una mayor capacidad para la eliminación de ciertos contaminantes mediante fenómenos de retención sobre las partículas sólidas o coprecipitación junto con el lodo generado. Se observa además una importante correlación negativa entre el TRH y el porcentaje de eliminación de la cafeína.

**Tabla 5.19.**

**Matriz de correlación entre los parámetros TRC y TRH y los porcentajes de eliminación medios de cada uno de los fármacos en las EDARs estudiadas**

	TRC	TRH	E-CF	E-CRB	E-IBU	E-KTP	E-NPX
TRC	1.00	0.68	-0.63	-0.33	0.52	0.13	0.65
TRH		1.00	<b>-0.99</b>	-0.69	0.38	-0.32	<b>0.95</b>
E-CF			1.00	<b>0.80</b>	-0.23	0.22	<b>-0.98</b>
E-CRB				1.00	0.40	-0.25	<b>-0.88</b>
E-IBU					1.00	-0.65	0.09
E-KTP						1.00	-0.04
E-NPX							1.00

#### **4.6.2. Influencia estacional en los rendimientos de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

Existen en la literatura científica muy pocos trabajos que establezcan una relación apreciable entre el promedio de eliminación de principios activos farmacológicos y el factor estacional en una EDAR. Tauxe-Wuersch y col. (2005) estudiaron la presencia y eliminación de algunos principios activos farmacológicos, entre los que se encontraban ibuprofeno y ketoprofeno, en los procesos convencionales de depuración de aguas. Observaron cierta influencia estacional en los promedios de eliminación de estas sustancias en las EDARs concluyendo que, generalmente, se produce un descenso en el rendimiento de eliminación de estos contaminantes en el periodo de invierno, principalmente por episodios de lluvia que influyen en el TRH del reactor.

En este trabajo se estudió la posible influencia estacional en la eliminación de fármacos en las EDARs estudiadas. El periodo de toma de muestras realizado se dividió en dos etapas, de una parte la correspondiente a verano, en la que se incluyeron los resultados obtenidos durante los meses de abril, mayo, junio, julio, agosto y septiembre, y por otra parte, la etapa correspondiente a invierno, en la que se incluyeron los meses

de octubre, noviembre, diciembre, enero, febrero y marzo. Los rendimientos de eliminación medios obtenidos para cada uno de los fármacos durante ambos periodos se muestran en las Figuras 5.32 a 5.36.

A la vista de los resultados expuestos en las Figuras 5.32 a 5.36 se observa que, en líneas generales, el promedio de eliminación de los fármacos estudiados está relacionado con la época del año estudiada.

Excepto en el caso de los fármacos carbamacepina e ibuprofeno, se observa cierta influencia estacional en el rendimiento de eliminación de una EDAR. En relación a ello, se podrían dividir los fármacos estudiados en tres grupos:

- Un primer grupo de compuestos que presentan eliminaciones superiores durante los meses de verano, constituido por ketoprofeno y naproxeno. Los mayores rendimientos de eliminación encontrados en el caso del naproxeno fueron, a excepción de la EDAR Norte, los encontrados durante los meses de verano, mostrando diferencias de hasta un 20 % en el caso del naproxeno y un 30 % en el caso del ketoprofeno.
- Un segundo grupo de compuestos sobre los cuales no se observa una influencia estacional. En este se incluyen carbamacepina e ibuprofeno, para los cuales, el rendimiento de eliminación observado en cada una de las EDARs no presentó ninguna tendencia apreciable entre ambos periodos.
- Por último, un tercer grupo, constituido por la cafeína, cuyo promedio de eliminación fue superior durante los meses de invierno, salvo en el caso de la EDAR Norte, para el que se obtuvieron promedios de eliminación similares en ambos periodos.

Figura 5.32.

Rendimiento de eliminación de cafeína durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla

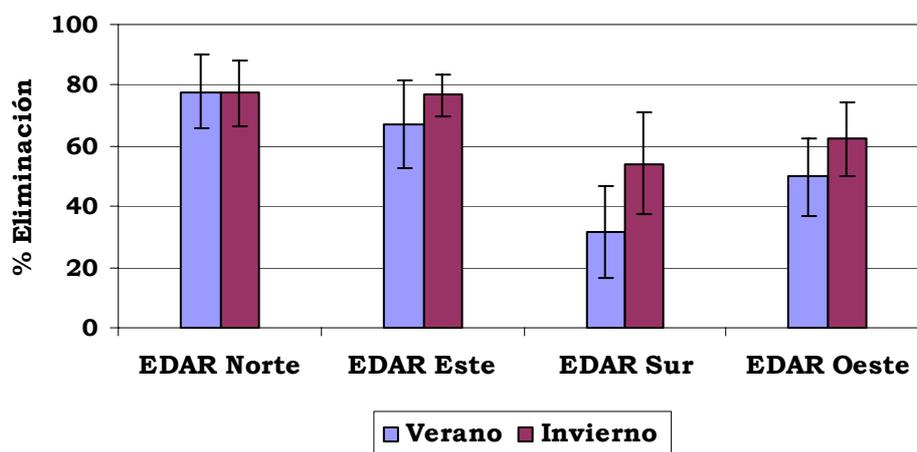


Figura 5.33.

Rendimiento de eliminación de carbamacepina durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla

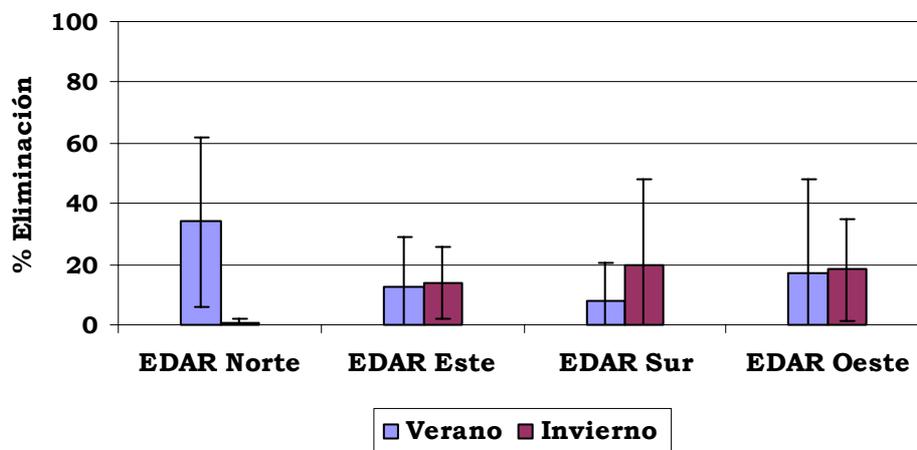


Figura 5.34.

Rendimiento de eliminación de ibuprofeno durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla

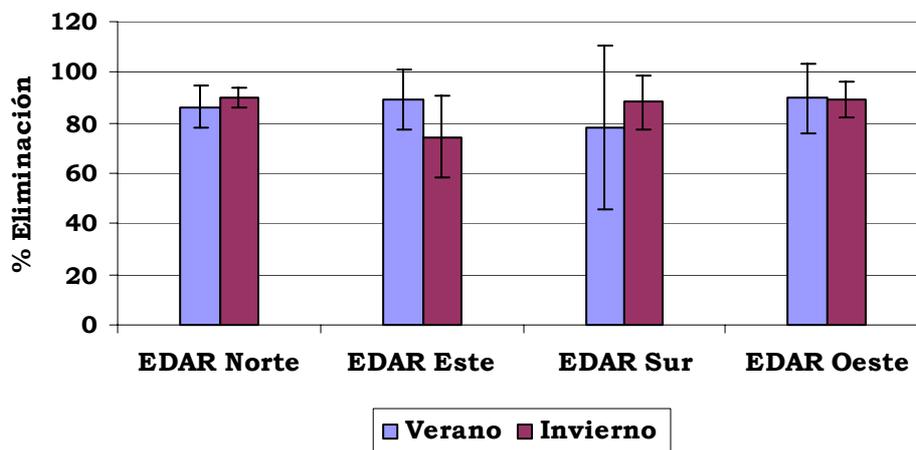


Figura 5.35.

Rendimiento de eliminación de ketoprofeno durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla

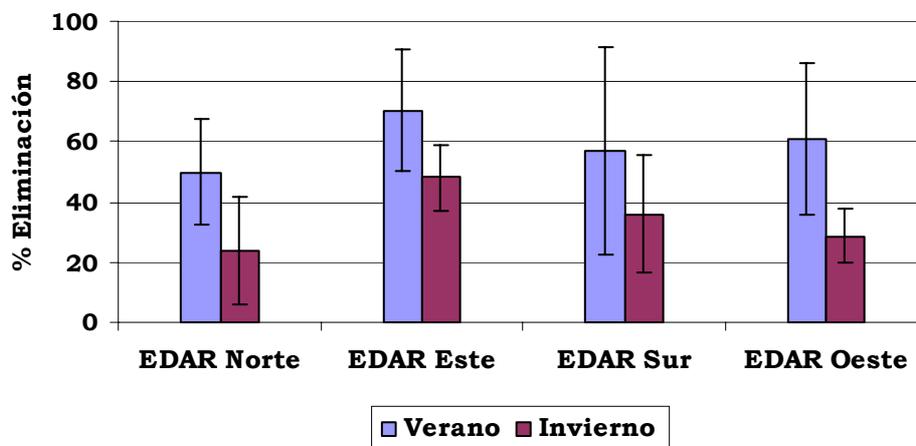
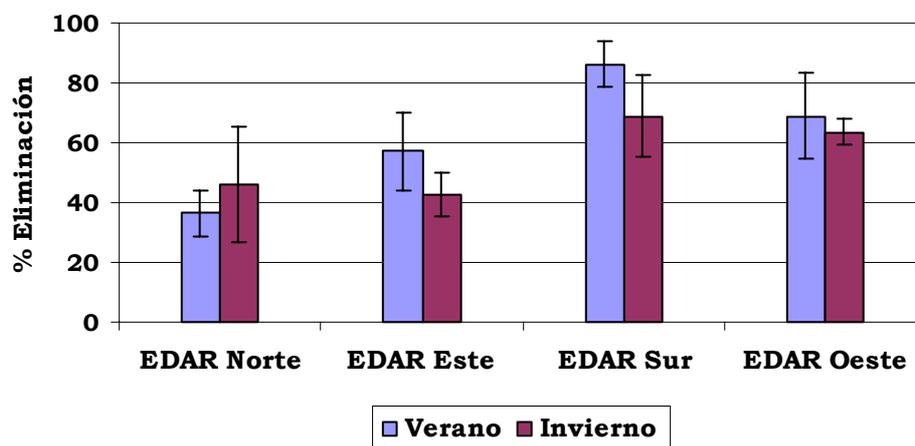


Figura 5.36.

**Rendimiento de eliminación de naproxeno durante los meses de invierno y verano en las EDARs de la ciudad de Sevilla**



Al contrario de Tauxe-Wuersch y col. (2005), que encontraron rendimientos de eliminación de ibuprofeno muy superiores durante los meses de verano, el promedio de eliminación de este fármaco encontrado en este trabajo fue similar en ambas épocas del año. Esto podría ser debido a la escasa lluvia recogida durante las fechas en las que se realizó la toma de muestras. Este hecho, sin embargo, si se observa en el caso de los fármacos ketoprofeno y naproxeno.

#### **4.7. Influencia de las características fisicoquímicas de los principios activos farmacológicos en el rendimiento de su eliminación en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales**

En la Tabla 5.20 se muestran los parámetros relacionados con los mecanismos implicados en la retención de principios activos farmacológicos en los lodos durante los procesos de depuración mediante lodos activos, así como los coeficientes de degradación de los fármacos estudiados durante este proceso.

Como se ha mencionado anteriormente, la eliminación de los principios activos farmacológicos en los procesos de depuración de aguas residuales se produce principalmente a través de la retención sobre los lodos y la biodegradación.

La retención de microcontaminantes sobre la materia suspendida en los procesos de depuración de aguas transcurre mediante mecanismos físicos que dependen de las propiedades de estos microcontaminantes.

Para definir la afinidad de los fármacos a la materia suspendida se emplean dos parámetros: de una parte el coeficiente de partición octanol-agua ( $K_{OW}$ ) que se define como la relación entre las concentraciones de equilibrio de una sustancia en octanol y en agua a una temperatura específica y que indica la afinidad de una sustancia sobre una fase hidrofóbica y, la constante de acidez ( $K_a$ ), que está relacionada con la capacidad de una sustancia de ionizarse en la fase acuosa, quedando disuelta en esta o generando interacciones de tipo electrostático. Un tercer parámetro a tener en cuenta es el coeficiente de distribución sólido-agua ( $K_d$ ) que engloba los parámetros anteriores y tiene en cuenta los dos tipos de interacciones. En el caso de interacciones electrostáticas, este último se determina experimentalmente (Larsen y col., 2004).

Las Figuras 5.37 a 5.40 muestran el efecto de los parámetros  $pK_a$ ,  $\log K_{OW}$ ,  $\log K_d$  y  $t_{1/2}$  (Tiempo de vida media de los fármacos estudiados en  $2 \text{ g L}^{-1}$  de materia suspendida en el reactor biológico) en la eficacia en la eliminación de los principios activos farmacológicos en las distintas EDARs estudiadas. Los valores del coeficiente de distribución agua-lodo ( $K_d$ ) para los casos del ketoprofeno y la cafeína no están incluidos al no estar disponibles en referencias bibliográficas.

Para todas las EDARs estudiadas se produjo un efecto similar de los parámetros  $\log K_{OW}$ ,  $pK_a$ ,  $\log K_d$  y  $t_{1/2}$  sobre la eficacia en la eliminación de los principios activos farmacológicos estudiados.

Se observó una relación lineal (de proporcionalidad) entre los valores de  $\log K_d$  y  $\log K_{OW}$  y los resultados experimentales de la eficacia en la eliminación de estos compuestos. En cuanto a los valores de  $pK_a$ , (Figuras 5.37 a 5.40) se produjo un aumento en la eficacia en la eliminación de los fármacos asociados a una disminución

de los valores del  $pK_a$ . En lo que a la relación entre la eficacia en la eliminación y el tiempo de vida media de los fármacos en el proceso de lodos activos se refiere, se observa una relación logarítmica. La eficacia en la eliminación crece al disminuir el tiempo de vida media de los fármacos estudiados.

**Tabla 5.20.**  
**Características fisicoquímicas de los principios activos estudiados**

	$\log K_{OW}$	$pK_a$	$K_d$	$t_{1/2}$ (h)
Cafeína	-0.07	14.0	-	-
Carbamacepina	2.45 <sup>a</sup>	13.9 <sup>b</sup>	25.52 <sup>b</sup>	31 <sup>a</sup>
Diclofenaco	4.51 <sup>c</sup>	3.99 <sup>c</sup>	0.72 <sup>b</sup>	50 <sup>a</sup>
Ibuprofeno	3.97 <sup>a</sup>	4.9 <sup>b</sup>	453.8 <sup>b</sup>	16 <sup>a</sup>
Ketoprofeno	3.16 <sup>c</sup>	4.45 <sup>d</sup>	-	17 <sup>a</sup>
Naproxeno	3.18 <sup>b</sup>	4.2 <sup>b</sup>	217.2 <sup>b</sup>	12 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Kahn y Ongerth, 2004.

<sup>b</sup> Jones y col., 2002.

<sup>c</sup> Avdeef y col., 2000.

<sup>d</sup> Urase y Kikuta, 2005

- No disponible.

Estas correlaciones, entre los parámetros indicadores de la afinidad por la materia sólida y la eficacia en la eliminación para cada una de las EDARs, fueron corroboradas empleando un estudio estadístico de correlación interparamétrica. La matriz de correlación se estableció empleando cada uno de los fármacos como casos y empleando como variables los valores de los parámetros de retención (Tabla 5.20), junto con los resultados de eficacia en la eliminación de los distintos fármacos para cada una de las EDARs, dados como valores medios obtenidos durante todo el periodo de muestreo. La matriz de correlación obtenida en este estudio se muestra en la Tabla 5.21.

Figura 5.37.

Efecto del  $\log K_{OW}$ ,  $\log K_d$ ,  $pK_a$  y  $t_{1/2}$  en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Norte

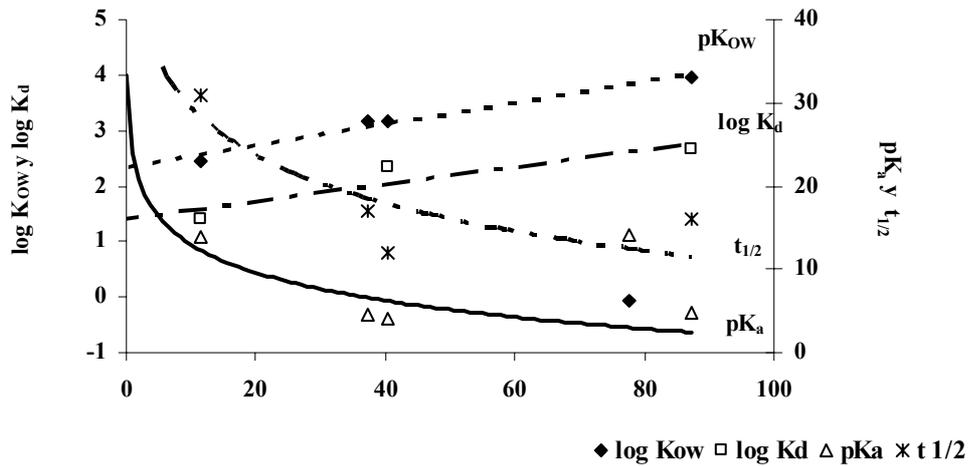


Figura 5.38.

Efecto del  $\log k_{ow}$ ,  $\log K_d$ ,  $pK_a$  y  $t_{1/2}$  en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Este

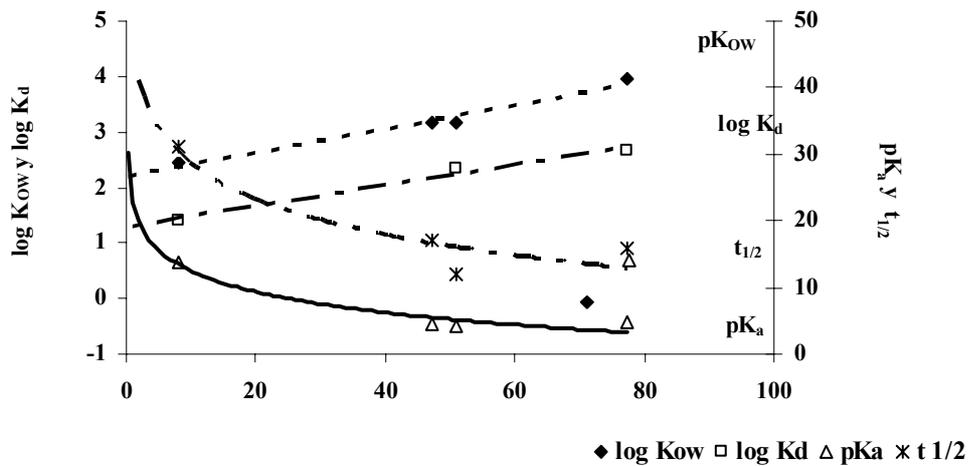


Figura 5.39.

Efecto del  $\log k_{OW}$ ,  $\log K_d$ ,  $pK_a$  y  $t_{1/2}$  en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Sur

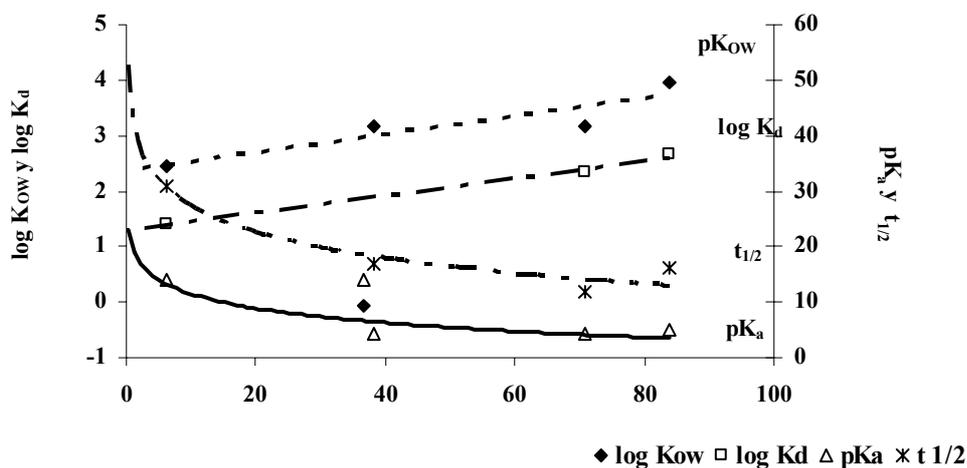


Figura 5.40.

Efecto del  $\log k_{OW}$ ,  $\log K_d$ ,  $pK_a$  y  $t_{1/2}$  en la eliminación de principios activos farmacológicos en la EDAR Oeste

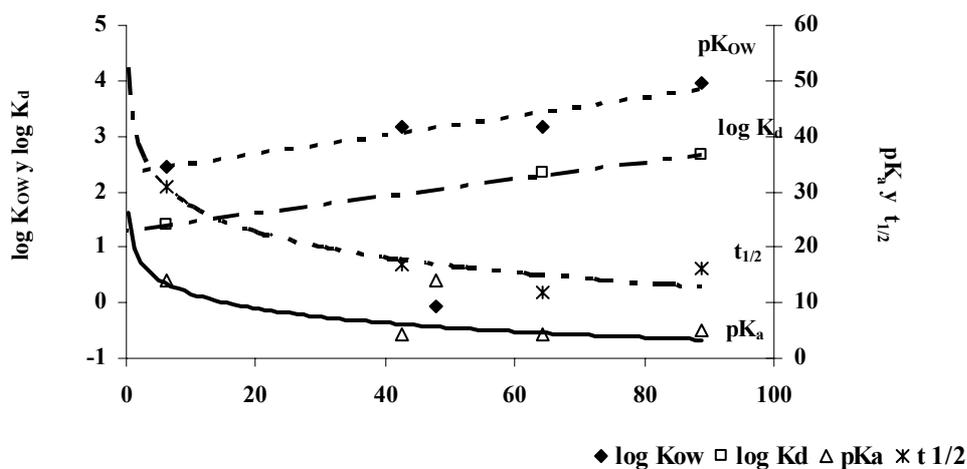


Tabla 5.21.

**Matriz de correlación para la eficacia en la eliminación de fármacos en las EDARs (% R) en relación con las características fisicoquímicas de los compuestos estudiados.**

	log K <sub>OW</sub>	K <sub>d</sub>	pK <sub>a</sub>	t <sub>1/2</sub>	% R <sub>Norte</sub>	% R <sub>Este</sub>	% R <sub>Sur</sub>	% R <sub>Oeste</sub>
log K <sub>OW</sub>	1.00	<b>1,00</b>	-0.06	-0.73	<b>0,99</b>	<b>0,99</b>	<b>0,93</b>	<b>0,97</b>
K <sub>d</sub>		1.00	-0.10	-0.71	<b>1,00</b>	<b>0,98</b>	<b>0,91</b>	<b>0,96</b>
pK <sub>a</sub>			1.00	-0.63	-0.18	0.10	0.32	0.19
t <sub>1/2</sub>				1.00	-0.65	<b>-0,83</b>	<b>-0,94</b>	<b>-0,88</b>
% R <sub>Norte</sub>					1.00	<b>0,96</b>	<b>0,88</b>	<b>0,93</b>
% R <sub>Este</sub>						1.00	<b>0,97</b>	<b>1,00</b>
% R <sub>Sur</sub>							1.00	<b>0,99</b>
% R <sub>Oeste</sub>								1.00

A la vista de los coeficientes obtenidos en la matriz de correlación se pueden realizar las siguientes consideraciones.

- Para todas las depuradoras se encontraron correlaciones significativas (por encima de  $|0.80|$ ) entre los parámetros indicadores de la retención en sólidos y el tiempo de vida media y rendimientos de eliminación de los fármacos estudiados.
- Se observó una buena asociación (coeficientes de correlación por encima de 0.88), entre los parámetros log K<sub>OW</sub> y K<sub>d</sub> y los rendimientos de eliminación de fármacos en las cuatro EDARs, mientras que no se observaron buenas correlaciones entre los valores de la constante de acidez (pK<sub>a</sub>) y los resultados de eliminación. Esto podría explicarse asumiendo que la biodegradación que se produce en un contaminante durante el tratamiento biológico en una EDAR transcurre sobre la materia sólida presente en el licor mezcla (Beausse y col., 2004), después de la transferencia que se produce de la fase acuosa al sólido (Urase y Kikuta, 2005). Esto se ve favorecido por una mayor afinidad por la materia sólida por parte del fármaco ( $< K_{OW}$  y  $< K_d$ ).

- En cuanto al tiempo de vida medio que representa la persistencia del fármaco en el reactor de lodos activos ( $t_{1/2}$ ), se observa, como es lógico, una asociación negativa de este parámetro con los valores de eliminación en las cuatro EDARs.
- Por último, las correlaciones entre los parámetros  $\log K_{OW}$  y  $pK_a$  con los valores recogidos en la bibliografía para el coeficiente de reparto lodo-agua ( $K_d$ ) son contrarias, estableciéndose una correlación muy significativa (1.00) entre el los parámetros  $K_d$  y  $\log K_{OW}$ , mientras que para la asociación de los valores de  $K_d$  con  $pK_a$  se obtiene un valor de -0.10. Esto podría explicarse debido a que, en el caso de los fármacos estudiados en el presente trabajo, los valores de  $K_d$  estarían mas influidos por la constante de reparto octanol-agua que por la constante de acidez de las sustancias estudiadas.

La eliminación de estos contaminantes en los procesos de depuración de lodos activos se lleva a cabo a través de los dos mecanismos mencionados anteriormente, retención en la materia sólida y biodegradación microbológica, teniendo lugar esta última sobre la materia activa formada en el licor mezcla. Esto explicaría la mayor eliminación que experimenta el ibuprofeno, en relación a los fármacos ketoprofeno y naproxeno que, pese a que presenta una menor degradación en los procesos microbológicos ( $t_{1/2}$  de 16 h), es retenido en mayor medida sobre los lodos (Kumagani y col., 2006), facilitando dicha retención su degradación en la materia activa.

En el caso del fármaco carbamacepina, este presenta bajos valores de  $K_d$  y un tiempo de vida media relativamente alto (31 h), lo que podría explicar la persistencia mostrada en los procesos de depuración (Joss y col., 2005; Ternes, 1998; Heberer, 2002a).

La cafeína por su parte, presenta una alta degradabilidad en los procesos de depuración, mientras que por el contrario, su valor de  $\log K_{OW}$  es bajo (-0.07), por lo que se espera bajas concentraciones en lodos (Buerge y col., 2003). Debido a esto, la eliminación que experimenta la cafeína durante el proceso de depuración podría estar asociada a su biodegradación en el medio acuoso relacionándose con los parámetros de operación en las distintas EDARs, lo que podría explicar los diferentes resultados obtenidos para la eliminación de este compuesto de una EDAR a otra.

## **5. EVOLUCIÓN TEMPORAL DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS EN LAS EDARS ESTUDIADAS**

En este epígrafe se estudia la evolución temporal de la cafeína y de los principios activos carbamacepina, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno durante todo el periodo de toma de muestras. No se realizó este estudio para el fármaco diclofenaco por encontrarse en todas las muestras analizadas a niveles inferiores al límite de detección.

### **5.1. Evolución de la concentración de cafeína en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla**

Las Figuras 5.41 a la 5.44 muestran la evolución temporal encontrada para la cafeína, tanto en los caudales influentes como efluentes de las depuradoras estudiadas.

Se observó un incremento en la concentración de cafeína presente en las muestras de aguas influentes a depuradora que comenzó en los meses de septiembre y noviembre (muestras 19 a 25) y que se mantuvo durante el periodo comprendido entre noviembre y marzo (muestras 19 a 45). Las concentraciones máximas se produjeron en las muestras 23, 24, 31 y 31 para las EDARs Norte, Sur, Este y Oeste, respectivamente, coincidiendo con los días finales del mes de septiembre, mediados del mes de noviembre y finales de diciembre, respectivamente.

Las concentraciones medias medidas durante este periodo comprendieron entre  $8.91 \pm 4.93 \mu\text{g L}^{-1}$ , medidos en la EDAR Oeste, y  $14.10 \pm 11.46 \mu\text{g L}^{-1}$ , medidos en la EDAR Sur, mientras que en los meses de verano las concentraciones medidas estuvieron comprendidas  $2.82 \pm 1.76 \text{ (g L}^{-1} \text{ (EDAR Sur))}$  y  $3.84 \pm 1.04 \text{ (g L}^{-1} \text{ (EDAR Norte))}$  observándose una mayor carga de cafeína durante los meses de invierno. La concentración media, medida en las aguas influentes de las EDARs de Sevilla durante los meses de verano (desde abril hasta septiembre) fue de  $3.37 \mu\text{g L}^{-1}$  durante los meses de verano (desde abril hasta septiembre), mientras que en los meses restantes fue de  $9.92 \mu\text{g L}^{-1}$ .

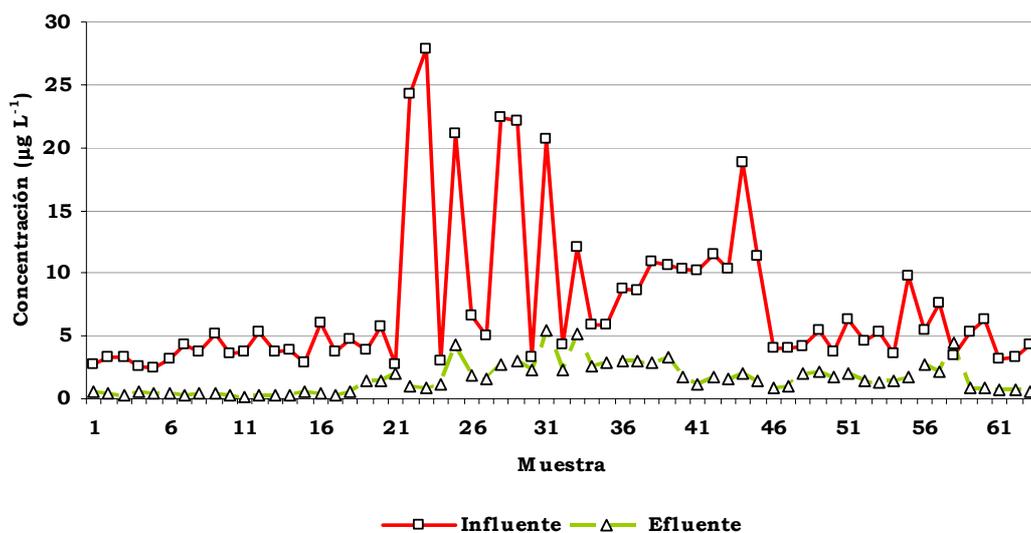
La evolución observada se podría asociar al consumo de alimentos que contienen este producto, tales como café, te, chocolate o pasteles. Sin embargo, debido a su

contenido en cafeína, el café podría considerarse como la principal fuente de este compuesto al medio ambiente (Barone y Roberts, 1996).

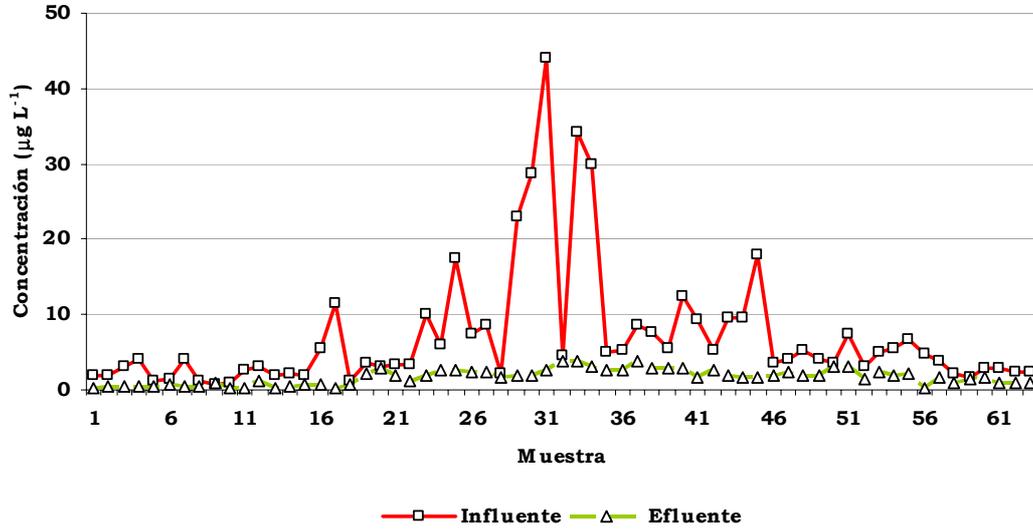
La evolución observada está de acuerdo con el descenso que se produce en el consumo de café durante los meses de verano y el aumento de dicho consumo durante los meses de invierno, en los que se produce una mayor demanda de productos calientes como té o café. Sin embargo, esto puede verse afectado por diversas fluctuaciones motivadas por la descarga de cafeína al medio ambiente a través del resto de sustancias mencionadas anteriormente.

Con respecto a las concentraciones presentes en el caudal efluente, en líneas generales, se encontró una evolución similar a la descrita para las concentraciones en el caudal influente, observándose un ligero aumento en la concentración durante el periodo de invierno. Los niveles de cafeína, medidos en estas muestras estuvieron en todos los casos por debajo de  $6 \mu\text{g L}^{-1}$ .

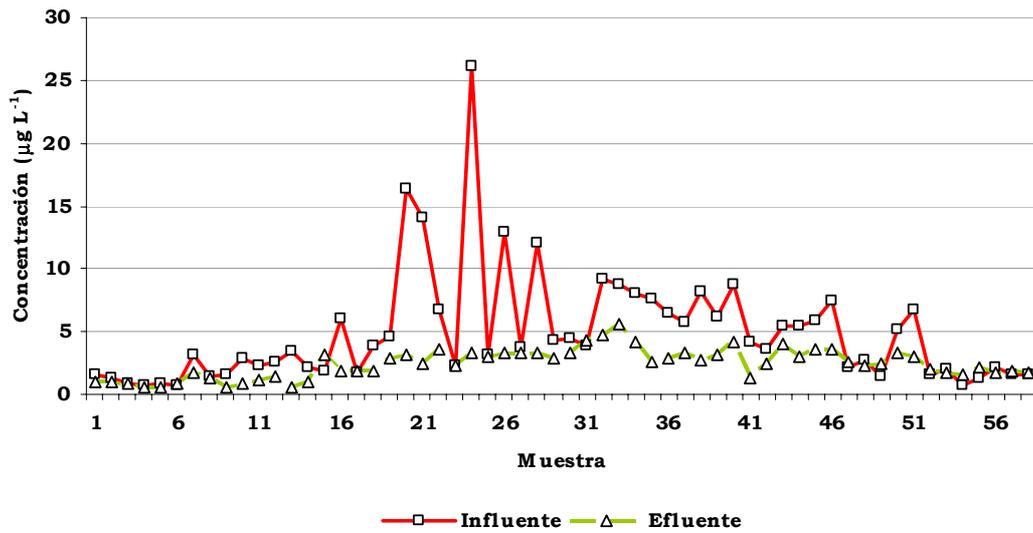
**Figura 5.41.**  
**Evolución temporal de cafeína en la EDAR Norte**



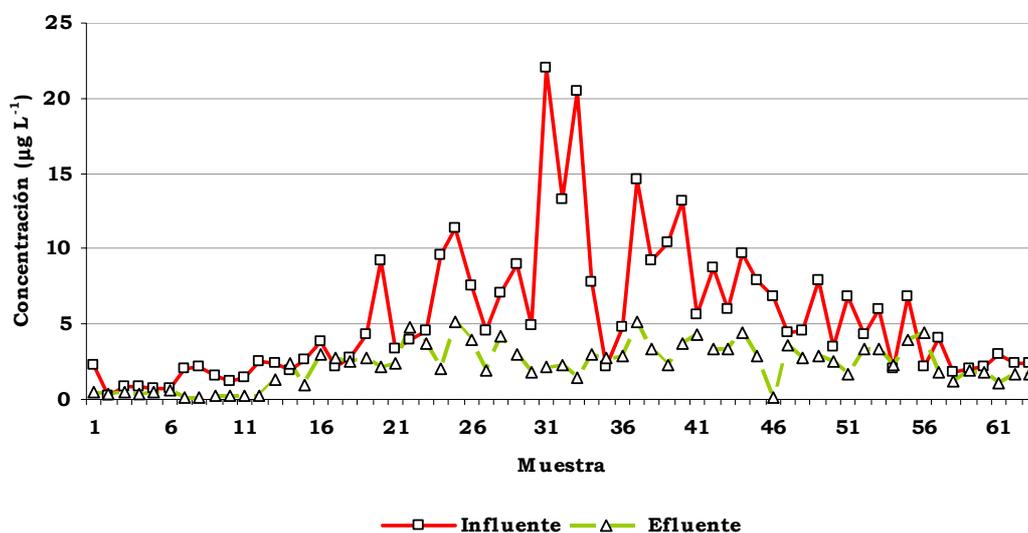
**Figura 5.42.**  
**Evolución temporal de cafeína en la EDAR Este**



**Figura 5.43.**  
**Evolución temporal de cafeína en la EDAR Sur**



**Figura 5.44.**  
**Evolución temporal de cafeína en la EDAR Oeste**



## 5.2. Evolución de la concentración de carbamacepina en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla

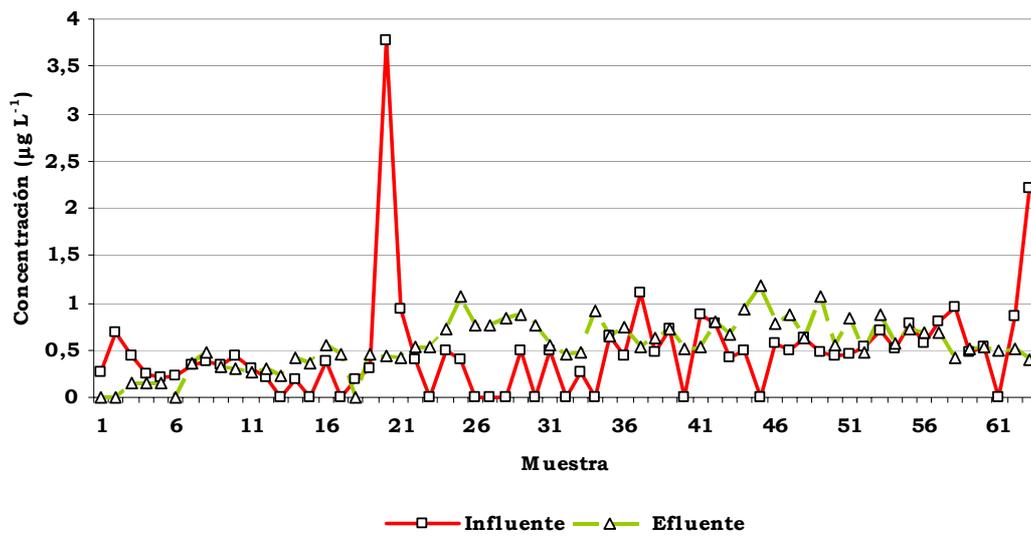
Las Figuras 5.45 a 5.48 muestran la evolución que experimenta la carbamacepina en los caudales de entrada a las EDARs estudiadas.

La concentración de carbamacepina en los influentes de las EDARs estudiadas permaneció prácticamente constante durante el periodo en el que se realizó la toma de muestras, encontrándose a niveles medios de entre 0.41 y 0.49  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Aproximadamente el 95 % de las muestras analizadas presentaron concentraciones de carbamacepina por debajo de 1  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

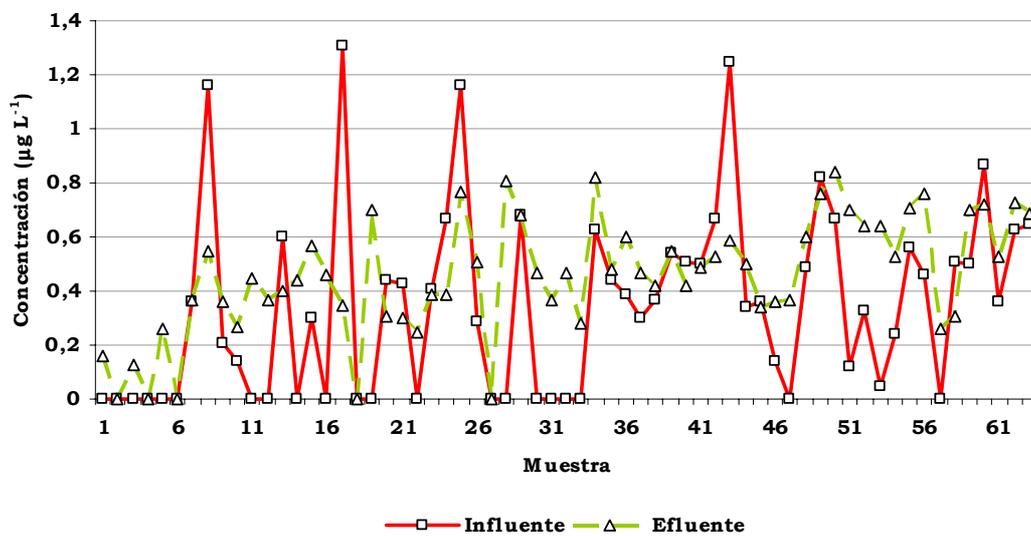
La evolución de las concentraciones de carbamacepina observadas podría explicarse atendiendo al consumo de este fármaco por parte de la población. La carbamacepina se emplea solo o en combinación con otros medicamentos para el tratamiento de ciertos tipos de crisis convulsivas en enfermos con epilepsia y esquizofrenia, además de en el tratamiento del alcoholismo (Miao y Metcalfe, 2003). La aparición de tales enfermedades no está sujeta a un componente estacional, por lo

que no cabría esperar ningún tipo de tendencia en la evolución de este fármaco en el tiempo.

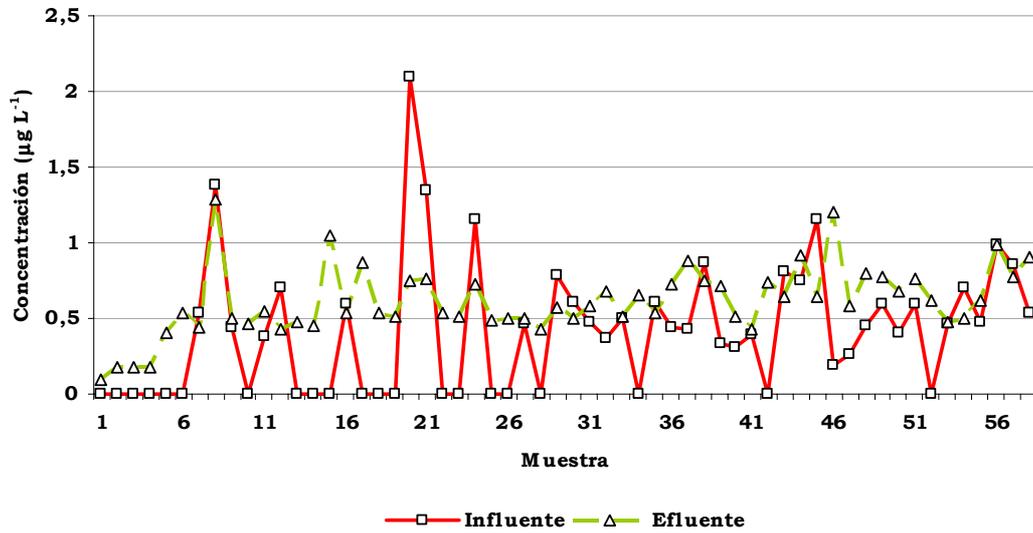
**Figura 5.45.**  
**Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Norte**



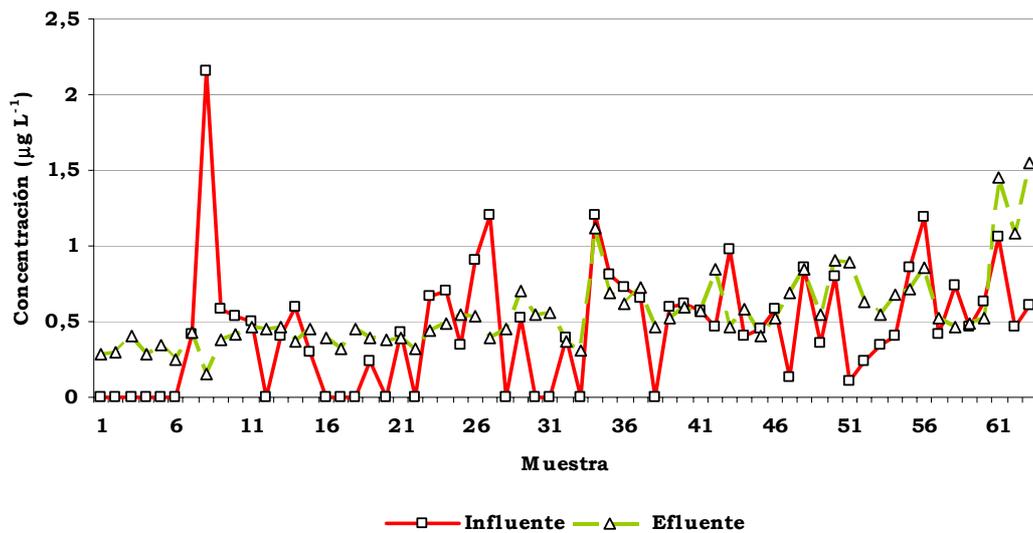
**Figura 5.46.**  
**Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Este**



**Figura 5.47.**  
**Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Sur**



**Figura 5.48.**  
**Evolución temporal de carbamacepina en la EDAR Oeste**



Por otra parte, debido a la pobre eliminación que experimentó este fármaco en los procesos de depuración de aguas, los niveles encontrados en los caudales efluentes de las EDARs estudiadas fueron, en muchos casos, iguales o incluso superiores a los presentes en las aguas de entrada a planta, sin presentar, en ninguno de los casos, una evolución marcada por algún factor de carácter estacional.

### **5.3. Evolución de la concentración de ibuprofeno en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla**

El ibuprofeno se encuentra en concentraciones relativamente altas en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla. Los niveles medios encontrados en las aguas residuales se situaron entre 69 y 115  $\mu\text{g L}^{-1}$ , en las EDARs Norte y Oeste, respectivamente.

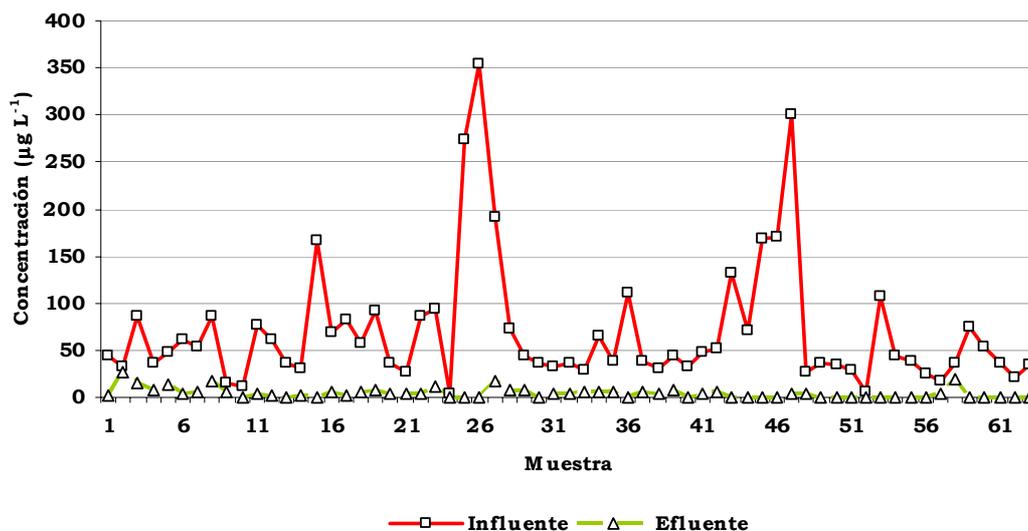
Las Figuras 5.49 a 5.52 muestran la evolución temporal de la concentración de ibuprofeno presente en los caudales influentes de EDARs durante el periodo de toma de muestras.

En todas las EDARs estudiadas se registró un aumento en la concentración de ibuprofeno en dos periodos de la toma de muestras. El primer incremento en la concentración de ibuprofeno se produjo entre las muestras 21 y 30 (19 y 25 en el caso de la EDAR Sur), situadas entre los meses de noviembre y diciembre. Este incremento podía deberse a un mayor uso de ibuprofeno por parte de la población, habitual en esta época del año. El segundo aumento de concentración se produjo entre las muestras 43 y 51 (muestras 38 y 46 en el caso de la EDAR Sur), correspondientes a los meses de marzo y abril. Esto podría estar motivado por dos factores, de una parte un aumento en la población tratada por las EDARs como consecuencia de la actividad turística en la ciudad de Sevilla durante dicho periodo, y por otra, un cambio estacional, que motiva un mayor consumo de este principio activo.

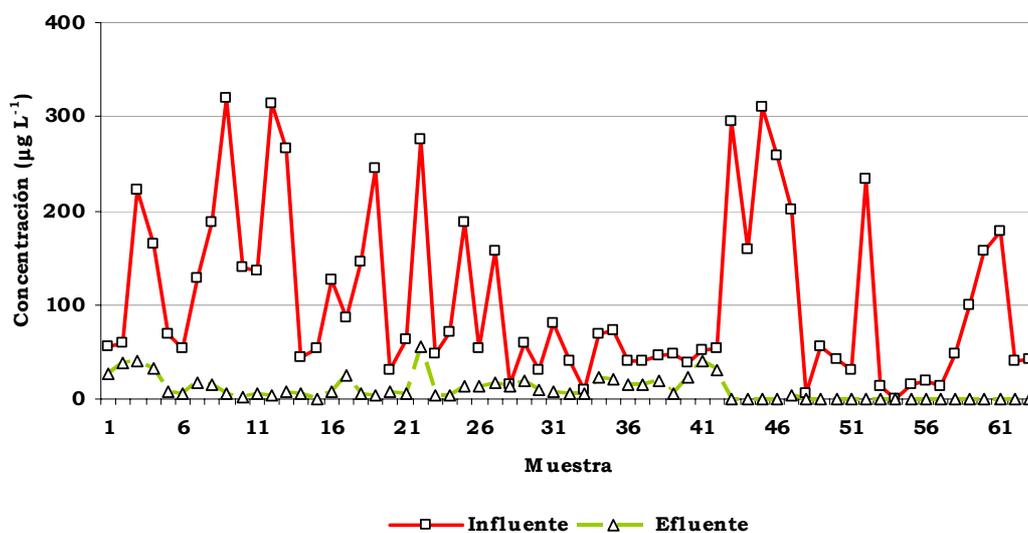
En cuanto a las concentraciones de ibuprofeno encontradas en los caudales efluentes de las depuradoras estudiadas, en general se observan bajas concentraciones en relación a las presentes en el caudal influente, debido principalmente a la eficacia en

la eliminación de este fármaco en los procesos de tratamiento de aguas, señalados en el epígrafe 4.3.

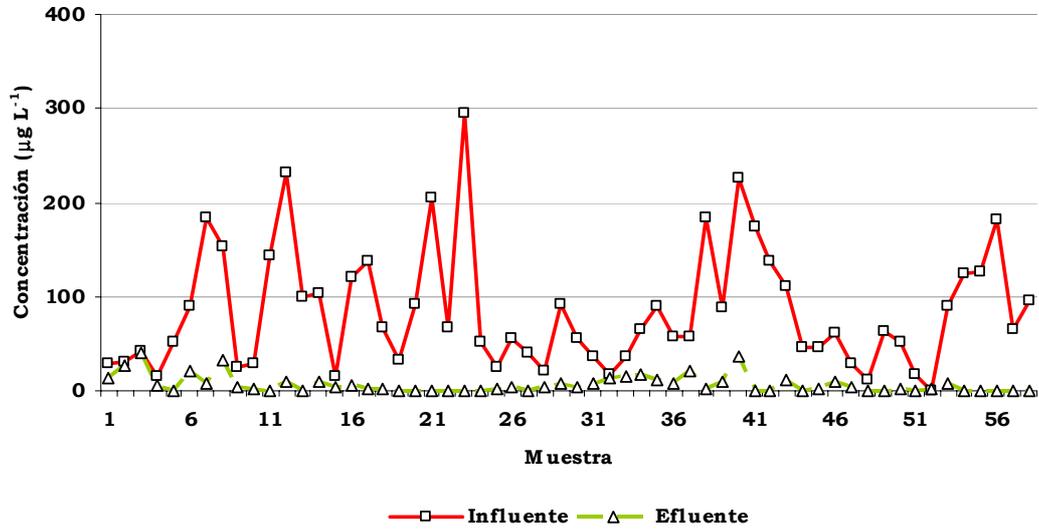
**Figura 5.49.**  
**Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Norte**



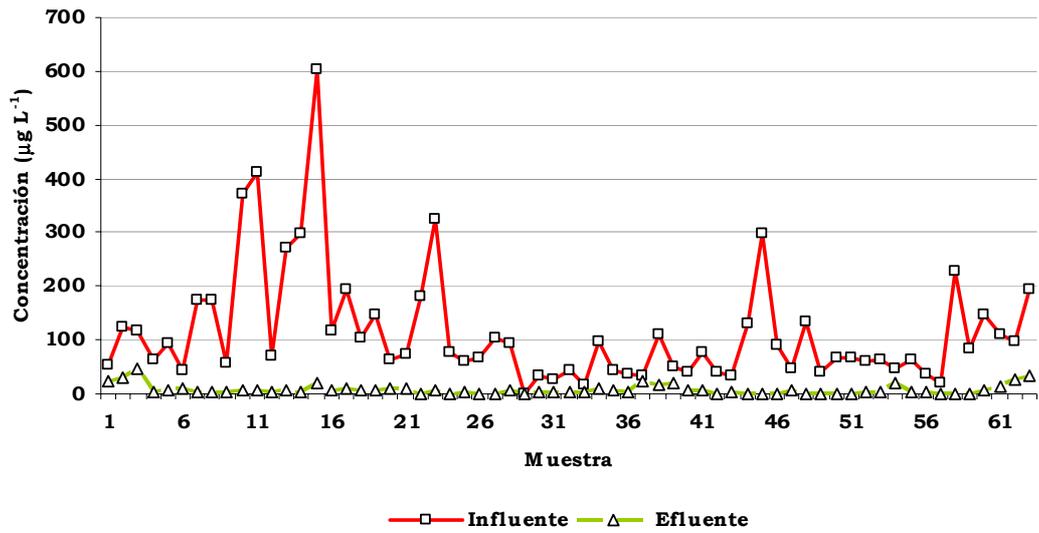
**Figura 5.50.**  
**Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Este**



**Figura 5.51.**  
**Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Sur**



**Figura 5.52.**  
**Evolución temporal de ibuprofeno en la EDAR Oeste**



#### 5.4. Evolución de la concentración de ketoprofeno en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla

Las Figuras 5.53 a 5.56 muestran la evolución de las concentraciones medidas de ketoprofeno en las cuatro EDARs estudiadas durante todo el periodo de toma de muestras.

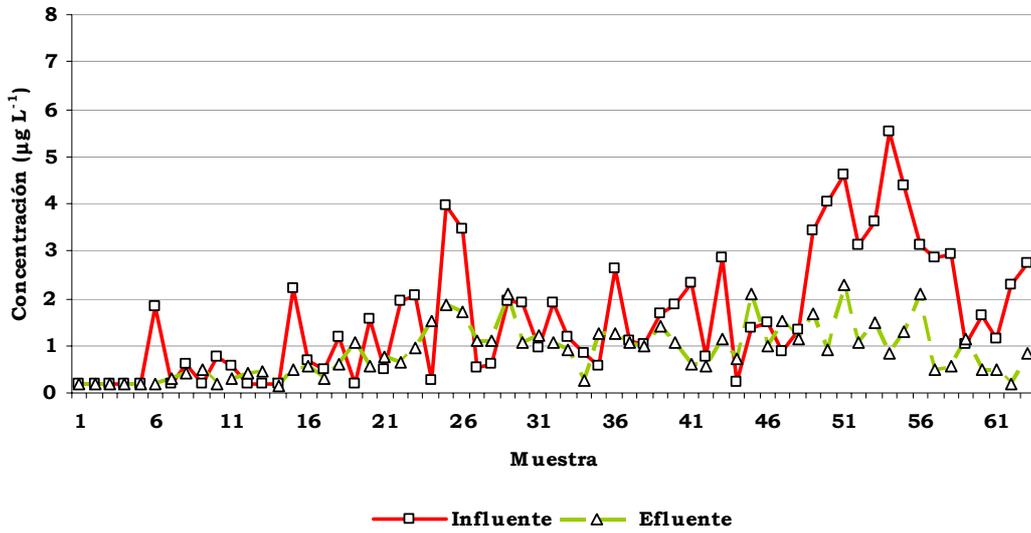
El fármaco ketoprofeno mostró una evolución muy similar entre las distintas EDARs. Se encontraron mayores concentraciones entre las muestras 49 y 63 (44 a 59 en el caso de la EDAR Sur), correspondientes a los meses de abril, mayo y junio. En la EDAR Oeste (Figura 5.56) estos niveles de concentración se mantuvieron durante el mes de julio (muestras 1 a 6).

Los niveles de concentración medios durante los meses de abril, mayo y junio estuvieron comprendidos entre  $3.25 \pm 1.12 \mu\text{g L}^{-1}$  (EDAR Norte) y  $5.14 \pm 1.40 \mu\text{g L}^{-1}$  (EDAR Este). En los meses restantes estas concentraciones se vieron sustancialmente reducidas, situándose entre  $1.17 \pm 0.63 \mu\text{g L}^{-1}$  (EDAR Norte) y  $1.73 \pm 0.65 \mu\text{g L}^{-1}$  (EDAR Oeste).

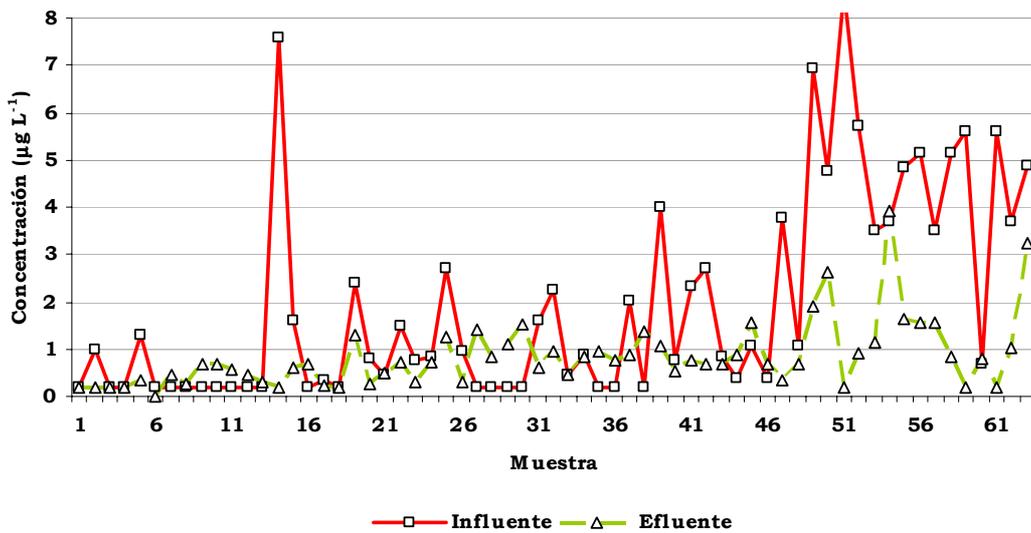
El ketoprofeno, pese a pertenecer al mismo grupo farmacéutico que otros antiinflamatorios como el ibuprofeno, presenta un uso más restringido, empleándose en el alivio de la fiebre, dolor muscular o enfermedades como la artritis reumatoide, sin embargo, podría ser debido a este uso restringido por lo que aparece en el medio ambiente a concentraciones sustancialmente más bajas que fármacos como ibuprofeno o naproxeno.

La evolución que se observó a lo largo del año en el que se realizó la toma de muestras podría explicarse atendiendo al menor caudal que reciben las EDARs durante el periodo de verano, lo que produce un efecto de concentración en los contaminantes presentes en las aguas residuales.

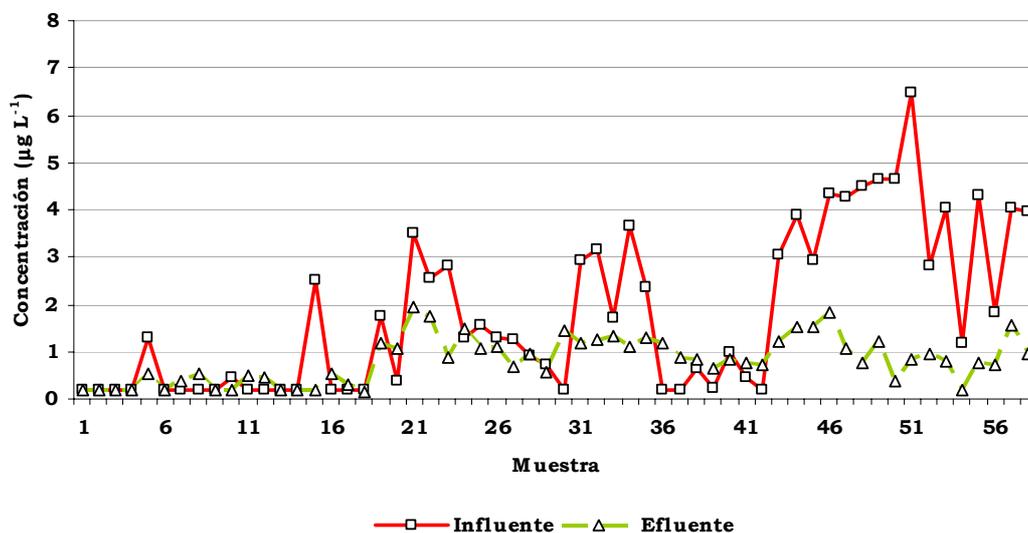
**Figura 5.53.**  
**Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Norte**



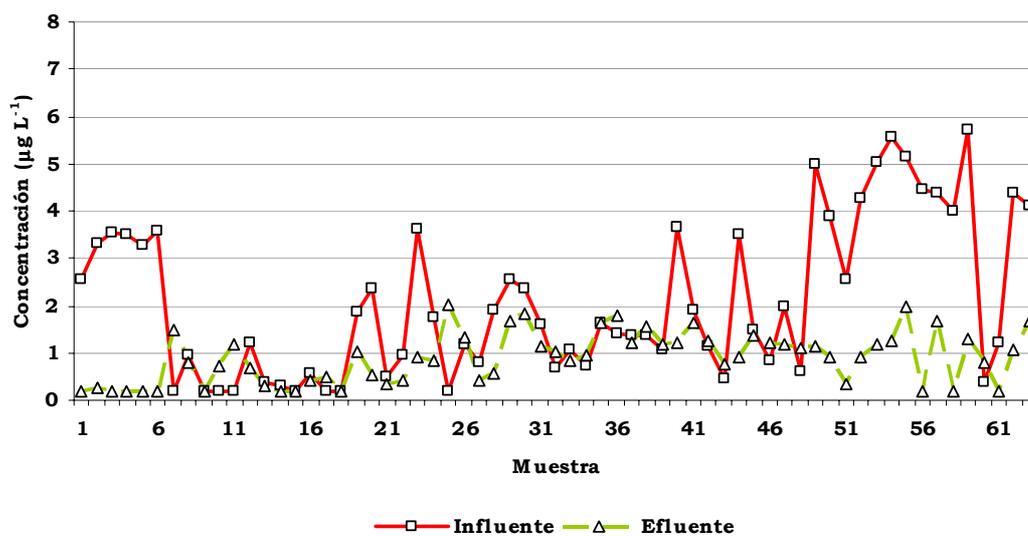
**Figura 5.54.**  
**Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Este**



**Figura 5.55.**  
**Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Sur**



**Figura 5.56.**  
**Evolución temporal de ketoprofeno en la EDAR Oeste**



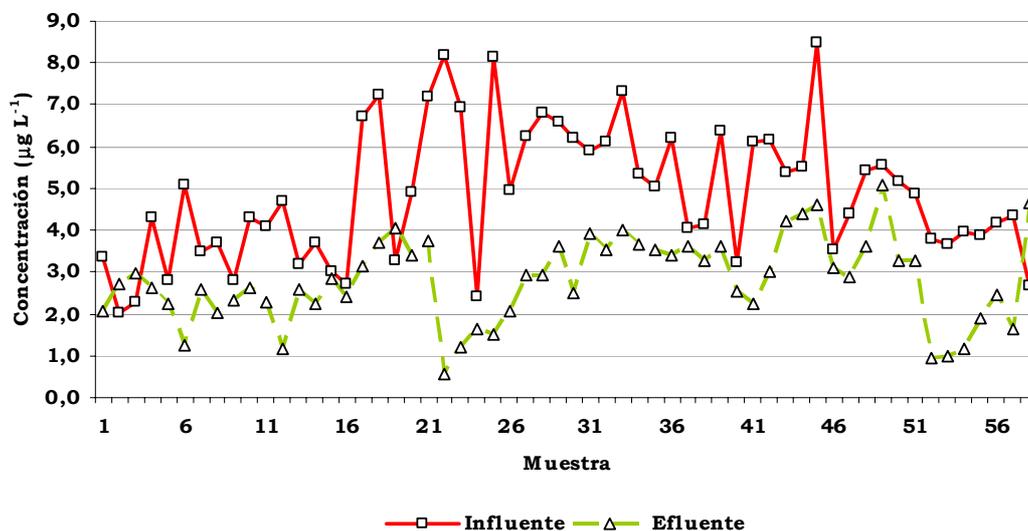
En relación a las concentraciones de ketoprofeno presentes en los caudales efluentes de las cuatro EDARs estudiadas, se observa que sigue una evolución en el tiempo muy similar a las encontradas para este fármaco en las aguas influentes de las depuradoras. Los niveles de ketoprofeno medidos durante los meses de abril, mayo y junio fueron de entre  $1.16 \pm 0.40 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $1.64 \pm 0.12 \mu\text{g L}^{-1}$  en las EDARs Sur y Este respectivamente, mientras que estas concentraciones se ven reducidas hasta niveles comprendidos entre  $0.65 \pm 0.26 \mu\text{g L}^{-1}$  y  $0.93 \pm 0.35 \mu\text{g L}^{-1}$  en las EDARs Este y Oeste, respectivamente, durante el periodo restante.

### **5.5. Evolución de la concentración de naproxeno en las aguas residuales de la ciudad de Sevilla**

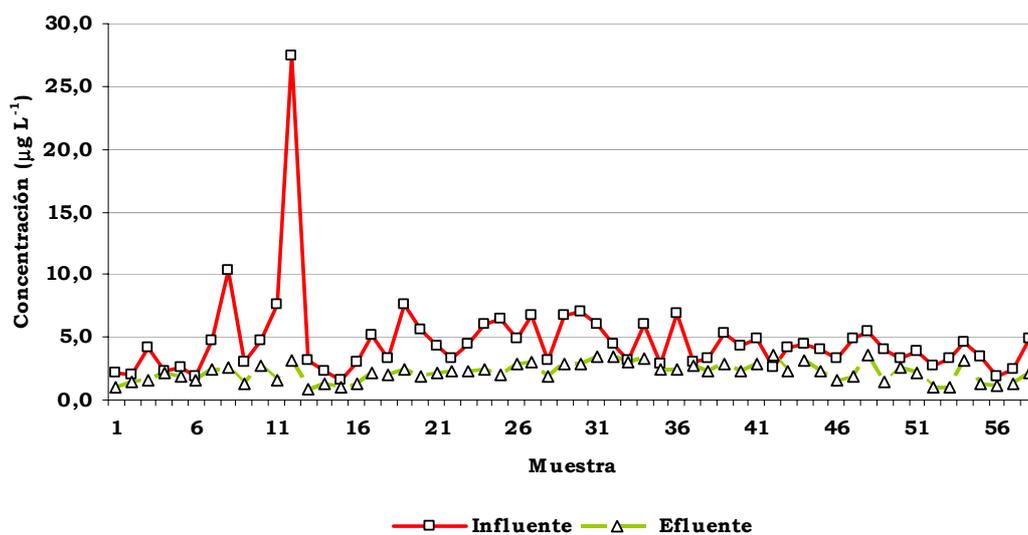
Las Figuras 5.57 a 5.60 muestran la evolución que experimenta la concentración del fármaco naproxeno en las aguas influentes y efluentes de las depuradoras estudiadas durante el periodo de toma de muestras.

Las mayores concentraciones del fármaco naproxeno se encontraron entre junio y septiembre (muestras de la 1 a la 21). Este efecto se observa de manera más acusada en la EDAR Sur. Esto podría estar motivado por un uso menos estacional de naproxeno, lo que implica, al igual que en el caso del fármaco ketoprofeno, que la concentración de naproxeno presente en las muestras de aguas residuales se vería reducida durante periodos de lluvia.

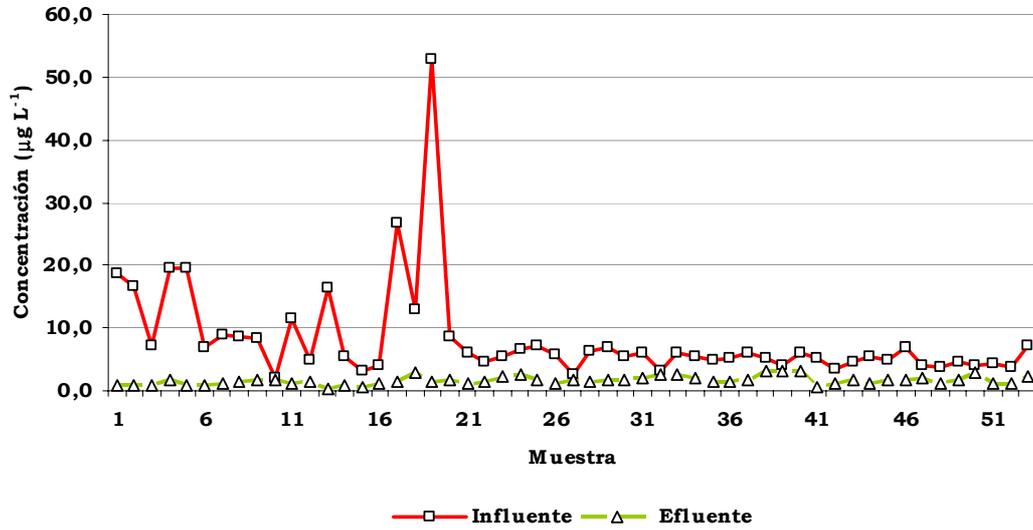
**Figura 5.57.**  
**Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Norte**



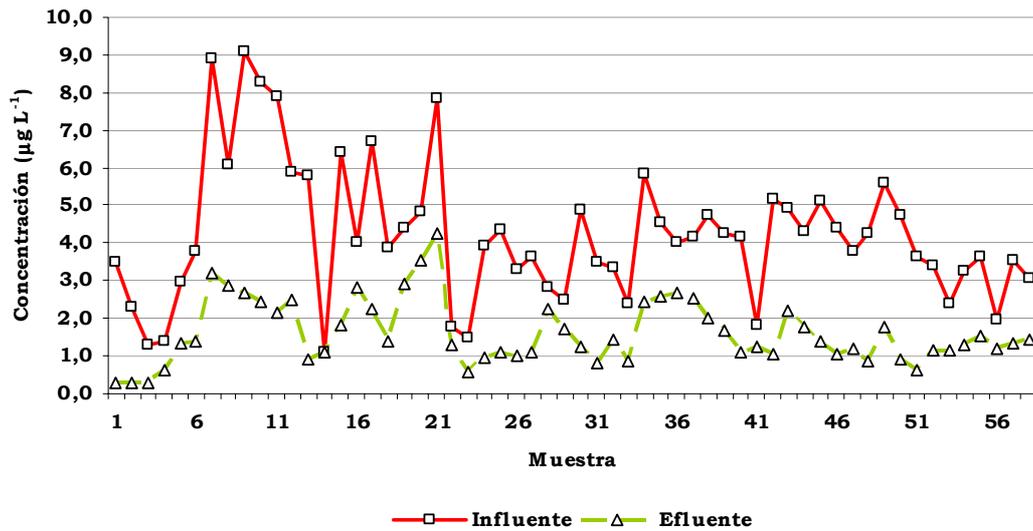
**Figura 5.58.**  
**Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Este**



**Figura 5.59.**  
**Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Sur**



**Figura 5.60.**  
**Evolución temporal de naproxeno en la EDAR Oeste**



## 6. RELACIONES INTERPARAMÉTRICAS ENTRE LOS PARÁMETROS DE CARACTERIZACIÓN DE LAS AGUAS RESIDUALES Y LAS CONCENTRACIONES DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS FARMACOLÓGICOS ESTUDIADOS

Si consideramos los caudales influentes y efluentes de cada una de las depuradoras estudiadas como casos y todos los parámetros determinados en cada una de las muestras como variables, podemos estudiar el conjunto mediante un método estadístico multivariante, con objeto de encontrar una posible estructura interna de nuestra base de datos no accesible a simple vista (Hopke, 1983).

En primer lugar, se construyó una matriz de correlación constituida por la media aritmética de las concentraciones de las aguas de entrada y de salida de cada depuradora para cada uno de los parámetros medidos en cada muestra. Así se obtuvieron los coeficientes de correlación entre todas las variables medidas, que se muestran en la Tabla 5.22.

En negrita se presentan las correlaciones más significativas (coeficiente de correlación mayor que  $|0.80|$ ).

A la vista de los coeficientes obtenidos en la matriz de correlación, se pueden realizar las siguientes consideraciones.

- Se observaron correlaciones significativas entre los parámetros SS, DBO, DQO, P-Total, NTK y Grasas. Estas correlaciones se pueden explicar a partir de la composición orgánica mayoritaria de los sólidos en suspensión.
- Se obtuvieron correlaciones positivas entre los parámetros de contaminación orgánica, SS, P-Total, Grasas y los fármacos ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno. Esto podría explicarse a través de la asociación de los principios activos farmacológicos, de naturaleza orgánica, con la materia orgánica disuelta que, a su vez, está íntimamente relacionada con la materia en suspensión (Beausse,

2004; Khan y Ongerth, 2002) y a través del comportamiento análogo de estos fármacos, sólidos y materia orgánica durante los procesos de depuración de aguas residuales.

- Se observaron correlaciones, todas ellas negativas, entre el fármaco carbamacepina y los parámetros DBO, DQO, SS, P-Total y Grasas. Esto podría ser indicativo de un comportamiento contrario, en los procesos convencionales de depuración de aguas, al observado para el resto de parámetros de caracterización medidos en las aguas residuales, lo que podría estar relacionado con la pobre eliminación experimentada por este fármaco en las EDARs.
- La cafeína mostró una correlación positiva con la DBO, mientras que no se encontraron correlaciones significativas con los parámetros SS, DQO, NTK, P-Total y Grasas. Esto podría explicarse a través de la pobre asociación de este fármaco con los sólidos en suspensión, motivado por su bajo valor del  $\log K_{OW}$ , lo que se relaciona con una pobre eliminación de este fármaco a través de los lodos de depuradora, mientras que si se produce dicha eliminación a través de los fenómenos de biodegradación producidos en la fase acuosa.
- Se observaron correlaciones, todas ellas negativas, entre el fármaco carbamacepina y los fármacos ketoprofeno, ibuprofeno y naproxeno, mientras que estos últimos presentaron correlaciones positivas entre ellos. Esto podría explicarse a través del distinto comportamiento de la carbamacepina con respecto al resto de fármacos estudiados en los procesos convencionales de depuración de aguas.

**Tabla 5.22.****Matriz de correlación de los parámetros medidos en muestras**

	Caudal	SS	DBO	DQO	pH	P-Total	NTK	Grasas	CF	CRB	KTP	IBU	NPX
Caudal	1.00	0.24	0.30	0.25	0.38	0.15	0.52	0.57	-0.01	-0.13	0.01	0.01	0.44
SS		1.00	<b>0.99</b>	<b>0.99</b>	-0.35	<b>0.98</b>	0.65	<b>0.86</b>	0.79	<b>-0.90</b>	<b>0.97</b>	<b>0.96</b>	<b>0.89</b>
DBO			1.00	<b>0.97</b>	-0.41	<b>0.93</b>	0.63	<b>0.91</b>	<b>0.80</b>	<b>-0.93</b>	<b>0.92</b>	<b>0.91</b>	<b>0.94</b>
DQO				1.00	-0.35	<b>0.99</b>	0.67	<b>0.87</b>	0.73	<b>-0.90</b>	<b>0.96</b>	<b>0.96</b>	<b>0.87</b>
pH					1.00	-0.28	0.20	-0.40	-0.27	0.70	-0.37	-0.31	-0.51
P-Total						1.00	0.65	0.78	0.71	<b>-0.84</b>	<b>0.98</b>	<b>0.98</b>	0.78
NTK							1.00	0.62	0.49	-0.43	0.58	0.61	0.48
Grasas								1.00	0.51	<b>-0.89</b>	0.71	0.69	<b>0.96</b>
CF									1.00	-0.64	<b>0.81</b>	<b>0.80</b>	0.64
CRB										1.00	<b>-0.85</b>	<b>-0.82</b>	<b>-0.93</b>
KTP											1.00	<b>1.00</b>	0.76
IBU												1.00	0.73
NPX													1.00

**6.1. Análisis Factorial**

Una vez establecidas las principales asociaciones entre las variables mediante la construcción de la matriz de correlación antes comentada, se realizó un análisis factorial con objeto de definir unas nuevas variables (factores) combinaciones lineales de todas las variables experimentales que permiten simplificar la interpretación del conjunto de todos los datos.

El análisis factorial se aplicó a los valores medios de caudal, parámetros DBO, DQO, SS, P-Total, NTK y los fármacos cafeína, carbamacepina, ibuprofeno, ketoprofeno, naproxeno, además de parámetros relacionados con la eliminación experimentada por estos principios activos en los procesos de depuración TRC, TRH y las eliminaciones medias de cada uno de los principios activos farmacológicos.

El análisis factorial ha permitido la extracción de tres factores significativos, los cuales permiten la explicación de los porcentajes de varianza recogidos en la Tabla 5.23. Se han desechado aquellos factores que explican un porcentaje de varianza inferior al 10 %.

**Tabla 5.23.****Explicación de la varianza por parte de cada factor**

Factor	Explicación de la varianza (%)
Factor 1	49.84
Factor 2	30.48
Factor 3	12.87
Total: 93.20	

En la Tabla 5.24 se recoge el peso (en varianza) de cada una de las variables en cada factor, señalando en negrita aquellos que más contribuyen al factor (varianza mayor que  $|0.8|$ ). Además y con objeto de facilitar la interpretación de los factores principales, se han representado los mapas de posición de las variables respecto a todos los pares posibles de factores (Figuras 5.61 a 5.63).

Las consideraciones que se pueden extraer del tratamiento estadístico mediante análisis factorial son las siguientes:

- El factor 1 explica en torno al 50 % de la varianza, y está compuesto por los parámetros DBO, DQO, SS, Grasas, P-Total, NTK, carbamacepina, ketoprofeno, ibuprofeno, naproxeno y cafeína (aunque este último en menor medida). Este factor podría considerarse como indicativo del origen fundamentalmente urbano de las aguas residuales analizadas y del comportamiento similar de estas variables en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales. El factor de carga del fármaco carbamacepina presenta un valor negativo. Esto podría estar motivado por un descenso en la concentración del fármaco en el sistema cuando aumenta el contenido en sólidos en suspensión y materia orgánica.
- Los factores 2 y 3 explican en torno al 30 y 13 % de la varianza, respectivamente. El primero está constituido por los rendimientos de eliminación de los fármacos cafeína, carbamacepina y naproxeno y el parámetro TRH, mientras que el segundo presenta una mayor peso del parámetro TRC y, de forma más débil, los fármacos ibuprofeno y ketoprofeno, además del caudal

(este último con signo negativo). Ambos factores podrían ser indicativos de la influencia que ejercen las variables de operación de las EDARs y la calidad de las aguas residuales sobre los porcentajes de eliminación de principios activos farmacológicos en los procesos convencionales de depuración de aguas.

**Tabla 5.24.**

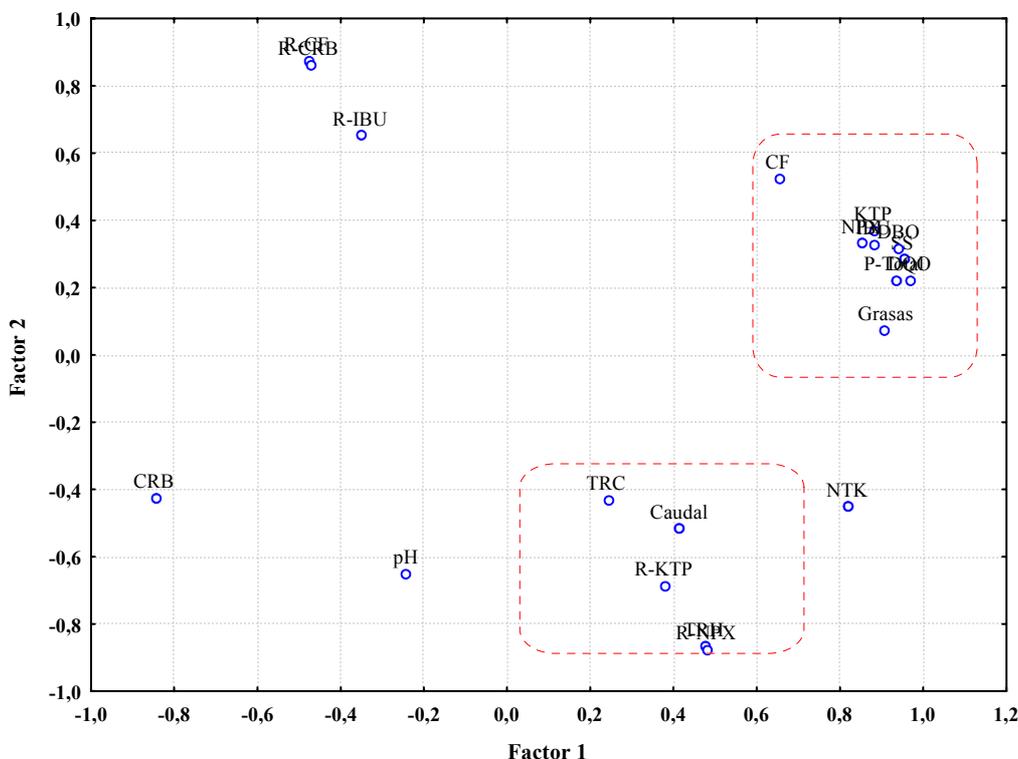
**Peso de cada una de las variables en los factores extraídos en el análisis factorial**

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Caudal	0,411510	-0,515928	-0,750172
SS	<b>0,951785</b>	0,287664	-0,003083
DBO	<b>0,940177</b>	0,319860	-0,110331
DQO	<b>0,966137</b>	0,225300	0,040816
pH	-0,244208	-0,647321	-0,227121
P-Total	<b>0,932536</b>	0,223872	0,143296
NTK	<b>0,819070</b>	-0,449831	0,057935
Grasas	<b>0,905431</b>	0,077057	-0,302148
TRC	0,241292	-0,428423	<b>0,865339</b>
TRH	0,475259	<b>-0,864671</b>	0,146455
CF	0,652017	0,527299	-0,005927
CRB	<b>-0,846778</b>	-0,423437	-0,015392
KTP	<b>0,882387</b>	0,370600	0,210021
IBU	<b>0,880391</b>	0,330252	0,223819
NPX	<b>0,850569</b>	0,334891	-0,332796
R-CF	-0,479805	<b>0,875170</b>	0,018750
R-CRB	-0,474878	<b>0,863904</b>	-0,151937
R-KTP	0,379758	-0,684257	0,615319
R-IBU	-0,353314	0,653216	0,669380
R-NPX	0,478467	<b>-0,873437</b>	-0,071557

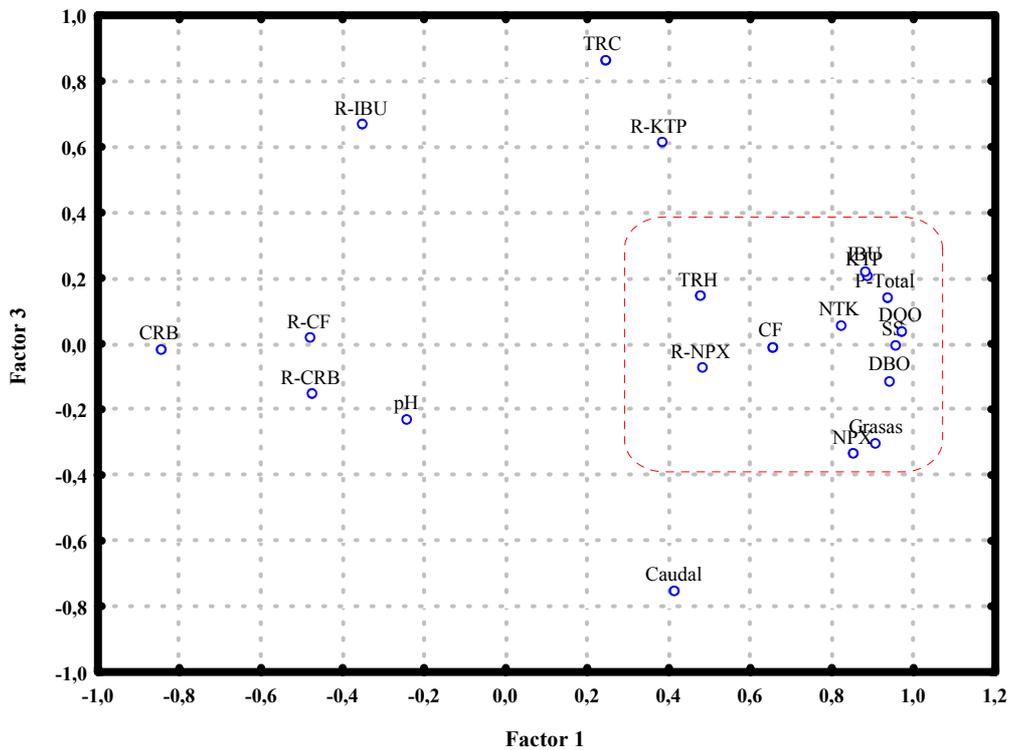
- Los mapas de distribución de variables (Figuras 5.61 a 5.63) explican gráficamente las agrupaciones mencionadas anteriormente. En todas las representaciones de los factores aparece un grupo bien diferenciado, constituido por los parámetros indicadores del origen, fundamentalmente urbano, de las aguas analizadas. Este está constituido por los parámetros de caracterización de las aguas residuales junto con los fármacos cafeína, ibuprofeno, ketoprofeno y

naproxeno. El fármaco carbamacepina y el parámetro NTK aparecen en una situación más alejada, hecho posiblemente motivado por el distinto comportamiento que experimentan estos componentes durante los procesos de lodos activos. En la representación del factor 1 frente al factor 2 aparece además un segundo grupo de parámetros, característicos de los procesos de eliminación en las EDARs, entre los que se incluyen los rendimientos de eliminación de los fármacos ketoprofeno y naproxeno junto con las variables operacionales TRH, TRC y caudal, quedando en posición más alejada los rendimientos de eliminación del resto de los fármacos. Por último, en la representación del factor 1 frente al factor 3 (Figura 5.62) aparece un único grupo constituido por todas las variables más significativas de las muestras analizadas y de los procesos convencionales de depuración.

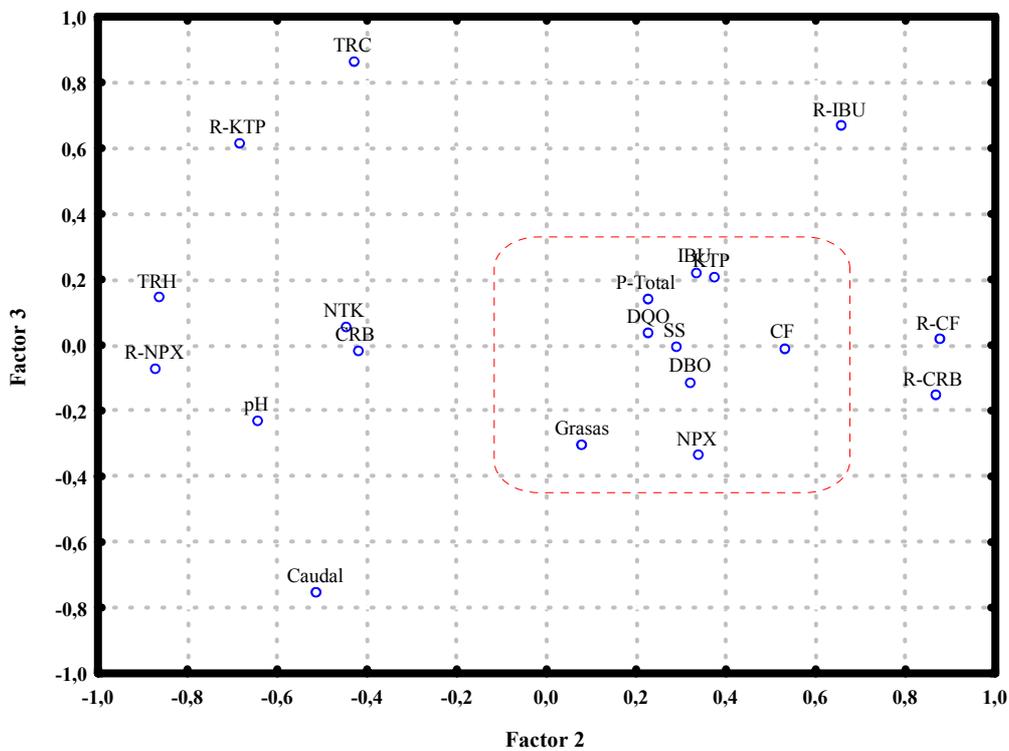
**Figura 5.61.**  
**Representación del Factor 1 frente al Factor 2**



**Figura 5.62.**  
**Representación del Factor 1 frente al Factor 3**



**Figura 5.63.**  
**Representación del Factor 3 frente al Factor 2**



## 7. EVALUACIÓN DE IMPACTO AMBIENTAL

Los estudios de impacto ambiental expuestos en este epígrafe están destinados al conocimiento de los posibles riesgos que entraña la exposición al medioambiente de ciertas sustancias que podrían causar cambios tanto en la estructura como en las funciones de los ecosistemas.

Pese a que los fármacos son sustancias empleadas por su actividad terapéutica en personas y animales, diversos organismos acuáticos presentan los mismos receptores enzimáticos, pudiendo verse afectados por los mismos efectos farmacodinámicos. Además, los efectos secundarios que generalmente pasan desapercibidos en las personas, pueden entrañar un grave riesgo para este tipo de organismos. De hecho, en el caso de ciertos grupos farmacológicos, como antibióticos, hormonas u otros fármacos de carácter esteroideo, tales efectos pueden llegar a ser incluso similares a los producidos por los denominados contaminantes prioritarios (Hernando y col., 2005).

La Evaluación de Impacto Ambiental (EIA) asociada a la exposición de diversos organismos a este tipo de contaminantes ha sido estudiada por varios autores (EMEA, 2006a; Jones y col., 2002; Tauxe-Wuersch y col., 2005; Hernando y col., 2006; Isidori y col. 2005; Ferrari y col., 2003) mediante el cálculo de los Coeficientes de Riesgo (CR). Estos coeficientes se determinan como la relación entre la concentración a la que un contaminante se encuentra en el medioambiente y la concentración para la que no se esperan efectos sobre diversas especies que actúan como referencia (*Predicted Non-Effects Concentration*, PNEC). La determinación de tales coeficientes se puede realizar a partir de dos modelos:

- De una parte, la Agencia Europea para la Evaluación de los Medicamentos (*European Medicines Evaluation Agency*, EMEA) establece un procedimiento para el cálculo de estos coeficientes empleando los niveles de concentración esperados en el medioambiente (*Predicted Environmental Concentration*, PEC). Estas PEC se calculan teniendo en cuenta diversos factores, entre los que se encuentran: el nivel de penetración del fármaco en el mercado, el consumo de agua por parte de la población tratada por la EDAR en estudio, el nivel de dilución que experimenta el efluente de la EDAR cuando se incorpora al agua

superficial, etc. Varios autores (Tauxe-Wuersch y col., 2005; Jones y col., 2002; Ashton y col., 2004) calculan los valores del parámetro PEC mediante la siguiente expresión:

$$PEC = \frac{A \times (100 - R) \times E}{365 \times P \times V \times D \times 10000}$$

Donde A representa el volumen de consumo anual de la sustancia estudiada, R es el promedio de eliminación en EDARs, P el número de habitantes en el área estudiada, E es el porcentaje de fármaco excretado tras su metabolización en el organismo receptor, V es el volumen de agua por habitante y día y D es el factor de dilución del agua efluente en las aguas superficiales receptoras.

- Los CR también se podrían calcular a través del uso de los niveles de concentración del fármaco previamente medidos en el medioambiente (*Measured Environmental Concentration*, MEC).

En cualquier caso (para ambos modelos), para la determinación de los CR es necesario conocer la PNEC, que se determina siguiendo los procedimientos descritos en la guía técnica publicada por la Comisión Europea (EC, 2003). Este documento establece la determinación de la PNEC en base a los datos disponibles en cuanto a Concentración Letal (CL), Concentración Efectiva (CE) y Concentración de Efectos No Observados (CENO) obtenidas en estudios de toxicidad realizados sobre distintas especies pertenecientes a varios niveles de la cadena trófica: peces (*Leuciscus idus*, *L. Macrochirus*), algas (*D. Subspicatus*, *S. Costatum*), bacterias (*Vibrio Fischeri*), crustáceos (*Daphnia magna*, *C. Dubia*, *T. Platyurus*) o rotíferos (*B. Calyciflorus*) (Tablas 5.25). Sobre estos valores de toxicidad se aplica un factor (Tabla 5.26) que tiene en cuenta:

- Variaciones en la sensibilidad entre las distintas especies.
- Variabilidad dentro de la misma especie.

- Influencia de efectos de adición, sinergismo o antagonismo que surgen al extrapolar los resultados de laboratorio a situaciones reales.

Posteriormente se calcula un coeficiente de riesgo dado como la relación PEC/PNEC, estableciéndose dos modos de actuación:

- Si la relación PEC/PNEC es inferior a 1, la valoración puede concluirse al asumir que no se esperan riesgos para el medioambiente.
- Si la relación PEC/PNEC es superior a 1, se podrían esperar efectos adversos sobre el ecosistema acuático.

En este trabajo, los estudios de EIA se realizaron empleando la concentración medida en las aguas influentes y efluentes de EDARs, seleccionando el valor del parámetro MEC (segundo modelo), como la mayor concentración medida para cada fármaco en las muestras de agua influente y efluente de cada una de las EDARs estudiadas.

**Tabla 5.25.**

**Parámetros indicadores de la toxicidad de una sustancia empleados para el cálculo de la PNEC**

Parámetro	
Concentración Letal (CL)	Concentración de tóxico que puede producir la muerte del organismo. Se define como la concentración que mata al 50 % de los seres expuestos durante un tiempo de exposición específico, generalmente 96 horas (CL <sub>50</sub> ).
Concentración Efectiva (CE)	Concentración de tóxico que produce una respuesta efectiva, ya sea en frecuencia respiratoria, pérdida de equilibrio, en un tiempo dado, generalmente 96 horas (CE <sub>50</sub> ).
Concentración de Efectos No Observados (CENO)	La mayor concentración a la cual, en un ciclo vital parcial o completo, los valores de los parámetros medidos no tienen diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles.

**Tabla 5.26.**  
**Factores aplicados sobre los valores de LC<sub>50</sub>, EC<sub>50</sub> y CENO para la estimación de la PNEC (EC, 2003)**

Datos disponibles	Factor aplicado para el cálculo de la PNEC
Al menos un dato de toxicidad en prueba a corto plazo para uno de los tres niveles tróficos (peces, algas o <i>Daphnia</i> )	1000
Un dato de CENO obtenido en una prueba de toxicidad de larga duración (para peces o <i>Daphnia</i> )	100
Datos de CENO obtenidos en pruebas de toxicidad de larga duración para al menos dos niveles tróficos (peces y/o <i>Daphnia</i> y/o algas)	50
Datos de CENO obtenidos en pruebas de toxicidad de larga duración para los tres niveles tróficos (peces, <i>Daphnia</i> y algas)	10

Se establecieron cuatro posibles escenarios para la EIA:

1. En el que se tiene en cuenta la máxima concentración medida para cada uno de los fármacos en el caudal influente a EDAR. En este escenario se evalúa el riesgo que entraña la presencia de este tipo de sustancias en el influente de la EDAR para la microfauna de los procesos de lodos activos.
2. En el que se tiene en cuenta la máxima concentración de fármaco medida en el caudal influente a EDAR y un factor de dilución del caudal influente en las aguas superficiales receptoras. Este factor se toma como 10 (EMEA, 2006a). En este escenario se evalúa el impacto medioambiental que supone la incorporación de un agua sin un tratamiento de depuración previo a un agua superficial.

**Tabla 5.27.**

**Datos de ecotoxicidad recogidos en la bibliografía para los principios farmacológicos seleccionados**

Fármaco	Especie	Prueba	Toxicidad		PNEC	Referencia
			Dato ecotoxicológico	Factor aplicado		
Cafeína	<i>Leuciscus Idus</i> (Pez)	EC <sub>50</sub> , 96 h	87 mg L <sup>-1</sup>	1000	87 µg L <sup>-1</sup>	IUCLID, 2003
	<i>Daphnia Magna</i> (crustáceo)	EC <sub>50</sub> , 48 h	182 mg L <sup>-1</sup>			IUCLID, 2003
	<i>D. Subspicatus</i> (alga)	EC <sub>50</sub> , 72 h	> 100 mg L <sup>-1</sup>			IUCLID, 2003
Carbamacepina	<i>Daphnia Magna</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> , 48 h	13.8 mg L <sup>-1</sup>	1000	13.8 µg L <sup>-1</sup>	Ferrari y col., 2003
	<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> , Microtox, 30 min.	81 mg L <sup>-1</sup>			Ferrari y col., 2003
	<i>C. Dubia</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> , 48 h	77.7 mg L <sup>-1</sup>			Ferrari y col., 2003
	<i>D. Subspicatus</i> (alga)	CE <sub>50</sub> , 3 d	74 mg L <sup>-1</sup>			Cleuvers, 2003
Diclofenaco	<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> , ToxAlert 100, 15 min.	13.5 mg L <sup>-1</sup>	1000	13.5 µg L <sup>-1</sup>	Farré y col., 2001
	<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> , 30 min.	11.45 mg L <sup>-1</sup>			Ferrari y col., 2003
	<i>Daphnia Magna</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> , 48 h	224.3 mg L <sup>-1</sup>			Ferrari y col., 2003
	<i>D. Subspicatus</i> (alga)	CE <sub>50</sub> , 3 d	72 mg L <sup>-1</sup>			Cleuvers, 2003
Ibuprofeno	<i>Daphnia Magna</i> (crustáceo)	CL <sub>50</sub> , 48 h	9.06 mg L <sup>-1</sup>	1000	7.1 µg L <sup>-1</sup>	Stuer-Lauridsen y col., 2000
	<i>S. Costatum</i> (alga)	CE <sub>50</sub> , 96 h	7.1 mg L <sup>-1</sup>			Halling-Sorensen y col., 1998
	<i>L. Macrochirus</i> (pez)	CENO, 96 h	10 mg L <sup>-1</sup>			Halling-Sorensen y col., 1998
	<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> , ToxAlert 100, 15 min.	12.1 mg L <sup>-1</sup>			Farré y col., 2001
Ketoprofeno	Peces	CE <sub>50</sub> , ECOSAR	32 mg L <sup>-1</sup>	1000	15.6 µg L <sup>-1</sup>	Sanderson y col., 2003
	<i>Daphnia Magna</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> , ECOSAR	248 mg L <sup>-1</sup>			Sanderson y col., 2003
	Alga	CE <sub>50</sub> , ECOSAR	164 mg L <sup>-1</sup>			Sanderson y col., 2003
	<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> , ToxAlert 100, 15 min.	15.6 mg L <sup>-1</sup>			Farré y col., 2001
Naproxeno	<i>B. Calyciflorus</i> (rotífero)	CL <sub>50</sub> , Rotoxkit, 24 h	62.5 mg L <sup>-1</sup>	1000	21.2 µg L <sup>-1</sup>	Isidori y col., 2005
	<i>C. Dubia</i> (crustáceo)	CE <sub>50</sub> , Ceriodaphnids, 48 h	66.4 mg L <sup>-1</sup>			Isidori y col., 2005
	<i>T. Platyurus</i> (crustáceo)	CL <sub>50</sub> , Thamnotoxkit, 24 h	84.09 mg L <sup>-1</sup>			Isidori y col., 2005
	<i>Vibrio Fischeri</i> (bacteria)	CE <sub>50</sub> , ToxAlert 100, 15 min	21.2 mg L <sup>-1</sup>			Farré y col., 2001

3. En el que se tiene en cuenta la concentración máxima medida para cada fármaco en el caudal efluente a EDAR. Se trata de valorar el impacto ambiental generado por la presencia de un fármaco sobre la microfauna de las aguas residuales.
4. Y por último, aquel en el que se tiene en cuenta la máxima concentración medida para cada fármaco junto con el factor de dilución en las aguas superficiales. Este es el escenario más realista, en el que se tiene en cuenta el posible riesgo que entraña la presencia de este tipo de compuestos en los cauces receptores de las distintas EDARs estudiadas.

Los coeficientes de riesgo calculados para las cuatro EDARs estudiadas en los distintos escenarios propuestos en este trabajo se muestran en la Tabla 5.28. En negrita aparecen los CR cuyo valor es superior al valor umbral. No se realizó este estudio para el fármaco diclofenaco, ya que este no fue detectado en ninguna de las muestras analizadas.

A la vista de los resultados expuestos en la Tabla 5.28 se pueden extraer las siguientes consideraciones.

- Los CR calculados para los fármacos cafeína, carbamacepina y ketoprofeno indican que las concentraciones a las que estos fármacos se encuentran en el medio acuático, no supone un riesgo en ninguno de los cuatro escenarios propuestos en este trabajo.
- Los CR calculados para los fármacos ibuprofeno y naproxeno fueron superiores al valor umbral en el escenario 1. De este modo, se podrían sospechar posibles riesgos para la microfauna de los procesos de lodos activos. En cualquiera de los casos sería necesario tener en cuenta otros factores, tales como procesos de adsorción sobre lodos, volatilización o distintos procesos de degradación que pueden producir una reducción en las concentraciones de estos fármacos.

**Tabla 5.28.**  
**Coefficientes de riesgo (CR) para cada uno de los fármacos estudiados en las distintas EDARs**

Fármaco	EDAR	Coefficientes de Riesgo (CR)			
		CR <sub>1</sub>	CR <sub>2</sub>	CR <sub>3</sub>	CR <sub>4</sub>
Cafeína	Norte	0,321	0,032	0,063	0,006
	Este	0,505	0,050	0,044	0,004
	Sur	0,300	0,030	0,065	0,006
	Oeste	0,253	0,025	0,059	0,006
Carbamacepina	Norte	0,274	0,027	0,086	0,009
	Este	0,095	0,009	0,061	0,006
	Sur	0,152	0,015	0,093	0,009
	Oeste	0,156	0,016	0,112	0,011
Ibuprofeno	Norte	<b>49,718</b>	<b>4,972</b>	<b>3,737</b>	0,374
	Este	<b>44,944</b>	<b>4,494</b>	<b>7,746</b>	0,775
	Sur	<b>41,446</b>	<b>4,145</b>	<b>5,658</b>	0,566
	Oeste	<b>84,930</b>	<b>8,493</b>	<b>6,794</b>	0,679
Ketoprofeno	Norte	0,354	0,035	0,146	0,015
	Este	0,549	0,055	0,251	0,025
	Sur	0,415	0,041	0,125	0,013
	Oeste	0,365	0,037	0,130	0,013
Naproxeno	Norte	0,401	0,040	0,240	0,024
	Este	<b>1,292</b>	0,129	0,172	0,017
	Sur	<b>2,494</b>	0,249	0,166	0,017
	Oeste	0,429	0,043	0,202	0,020

- Los coeficientes de riesgo, calculados para el ibuprofeno, en los escenarios 2 y 3 fueron superiores a 1, lo que indicaría posibles riesgos bien en el caso en el que las aguas influentes fueran vertidas a los cauces receptores sin que sobre ellas se realizara un tratamiento previo, o bien en el caso en el que el efluente de EDAR constituya el mayor porcentaje al caudal de un cauce receptor.

# CONCLUSIONES

---



## CONCLUSIONES

Las conclusiones que se pueden extraer del presente estudio son las siguientes:

1. Se propuso una nueva metodología analítica para la determinación simultánea de los principios activos farmacológicos cafeína, carbamacepina, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno en aguas residuales, que ha demostrado ser útil, a tenor de los parámetros de validación obtenidos, para la monitorización de dichos principios en los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas.
2. Todos los principios activos farmacológicos estudiados, a excepción del diclofenaco, presentaron concentraciones, en muestras de agua residuales influentes y efluentes, por encima de los límites de cuantificación. El principio activo que presentó, con diferencia, las mayores concentraciones en las muestras de aguas residuales analizadas fue ibuprofeno, seguido de cafeína, naproxeno, ketoprofeno y carbamacepina, en este orden.
3. Los rendimientos de los procesos convencionales de depuración de aguas residuales urbanas en la eliminación de principios activos farmacológicos variaron de una estación depuradora a otra y para cada fármaco. En general, el ibuprofeno presentó los mayores rendimientos medios de eliminación (87 %), y la carbamacepina los más pequeños (8 %).
4. Se demostró que dichos rendimientos de eliminación están influidos, en mayor o menor medida, por las variables de operación de planta (tiempo de retención hidráulico), por la estacionalidad y por las propias características físico-químicas de los principios activos farmacológicos.
5. Los principios activos farmacológicos estudiados presentaron individualmente una evolución temporal similar en todas las estaciones depuradoras muestreadas.

6. Se demostró, a través del análisis de correlación y factorial, la existencia de relaciones entre los parámetros indicadores de contaminación orgánica de las aguas residuales y las concentraciones de todos los principios activos farmacológicos, para el conjunto de todas las muestras tomadas en todas las estaciones depuradoras. El análisis estadístico mostró correlaciones positivas y elevadas para todos los principios activos farmacológicos, a excepción de la carbamacepina, con los parámetros sólidos en suspensión, demanda bioquímica de oxígeno y demanda química de oxígeno, entre otros.
  
7. Por último, se evaluó el impacto ambiental causado por los principios activos farmacológicos a través del cálculo de coeficientes de riesgo, de acuerdo con la Agencia Europea para la Evaluación de los Medicamentos (*European Medicines Evaluation Agency*, EMEA). De esta evaluación se concluyó que, los fármacos ibuprofeno y naproxeno podrían constituir un riesgo para los microorganismos implicados en los procesos de lodos activos, y en el caso del ibuprofeno también para los cauces receptores.

# BIBLIOGRAFÍA

---



**BIBLIOGRAFÍA**

- Aerni H-R, Kobler B, Rutishauser BV, Wettstein FE, Fischer R, Giger W, Hungerbühler A., Marazuela M.D., Peter A., Schonenberger R., Vogeli A.C., Suter J.-F., Eggen I.L., 2004. Combined biological and chemical assessment of estrogenic activities in wastewater treatment plant effluents. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 688–696.
- Ahrer W., Scherwenk E., Buchberger W., 2001. Determination of drug residues in water by the combination of liquid chromatography or capillary electrophoresis with electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 910, 69–78.
- Alpendurada M., 2000. Solid-phase microextraction: A promising technique for sample preparation in environmental analysis. *J. Chromatogr. A* 889, 3–14.
- Andreozzi R., Canterino M., Marotta R., Paxeus N., 2005. Antibiotic removal from wastewaters: The ozonation of amoxicillin. *J. Hazard. Mater.* 122(3), 243–250.
- Andreozzi R., Caprio V., Marotta R., Radovnikovic A., 2003a. Ozonation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV treatment of clofibric acid in water: a kinetic investigation. *J. Hazard. Mater.* 103(3), 233–246.
- Andreozzi R., Caprio V., Marotta R., Vogna D., 2003b. Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV system. *Water Res.* 37(5), 993–1004.
- Andreozzi R., Paxeus N., Campanella L., Lyberatos G., Garric J., Battilotti M., 2003c. Ecotoxicological assessment and removal technologies for pharmaceuticals in wastewater. <http://cds.unina.it/~rmarotta/>.
- Andreozzi R., Raffaele M., Nicklas P., 2003d. Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere* 50, 1319–1330.

- 
- APHA-AWWA-WPCF., 1999. Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. *Ed. Diaz de Santos*, Madrid.
- Arcand-Hoy L.L., Benson W.H., 1998. Fish reproduction, an ecologically relevant indicator of endocrine disruption. *Environ. Toxicol. Chem.* 17, 49–57.
- Ashton D., Hilton M., Thomas K.V., 2004. Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167–184.
- Avdeef A., Berger C.M., Brownell C., 2000. pH-Metric solubility. 2: Correlation between the acid-base titration and the saturation shake-flask solubility-pH Methods. *Pharm. Res.* 17(1), 85–89.
- Baker R.J., Gins J., Meng A.K., Suffet I.H., 1987. Evaluation of a Teflon helix liquid-liquid extractor for concentration of trace organics from water into methylene chloride. *Water Res.* 21(2), 179–190.
- Barone J.J., Roberts H.R., 1996. Caffeine consumption. *Food. Chem. Toxic.* 34(1), 119–129.
- Baroni C., Curini R., D'Ascenso G., Corcia Di A., Gentili A., Samperi R., 2000. Monitoring natural and synthetic estrogens conjugates at activated sludge sewage treatment plants and in receiving water. *Environ. Sci. Technol.* 34, 5059–5066.
- Batt A.L., Bruce I.B., Aga D.S., 2006. Evaluating the vulnerability of surface waters to antibiotic contamination from varying wastewater treatment plant discharges. *Environ. Pollution.* 142(2), 295–302.
- Beausse, J., 2004. Selected drugs in solid matrices: A review of environmental occurrence and properties of principal substances. *Horizontal - 26* (Pharmaceuticals), Energy research Centre of the Netherlands; available: [http://www.ecn.nl/docs/society/horizontal/hor\\_desk\\_26\\_pharmaceuticals.pdf](http://www.ecn.nl/docs/society/horizontal/hor_desk_26_pharmaceuticals.pdf)

- 
- Bedner M., MacCrehan W.A., 2006. Reactions of the amine-containing drugs fluoxetine and metoprolol during chlorination and dechlorination processes used in wastewater treatment. *Chemosphere*, in press.
- Behnish P.A., Fujii K., Shiozaki K., Kawakami I., Sakai S., 2001. Estrogenic and dioxin-like potency in each step of a controlled landfill leachate treatment plant in Japan. *Chemosphere* 43, 977–984.
- Bendz D., Paxéus N.A., Ginn T.R., Loge F.J., 2005. Occurrence and fate of pharmaceutically active compounds in the environment, a case study: Höje River in Sweden. *J Hazard. Mater.* 122, 195–204.
- Berger U., Haukås M., 2005. Validation of a screening method based on liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry for analysis of perfluoroalkylated substances in biota. *J. Chromatogr. A* 1081, 210–217.
- Bodzek M., Dudziak M., Luks-Betlej K., 2004. Application of membrane techniques to water purification. Removal of phthalates. *Desalination* 162, 121–128.
- Boussahel R., Bouland S., Moussaoui K.M., Montiel A., 2000. Removal of pesticide residues in water using the nanofiltration process. *Desalination* 132, 205–209.
- Boyd G.R., Zhang S., Grimm D.A., 2005. Naproxen removal from water by chlorination and biofilm processes. *Water Res.* 39, 668–676.
- Brain R.A., Johnson D.J., Richards S.M., Hanson M.L., Sanderson H., Lam M.W., Young C., Mabury S.A., Sibley P.K., Solomon K.R., 2004. Microcosm evaluation of the effects of an eight pharmaceutical mixture to the aquatic macrophytes *Lemna gibba* and *Myriophyllum sibiricum*. *Aquat. Toxicol.* 70(1), 23–40.
- Brown K.D., Kulis J., Thomson B., Chapman T.H., Mawhinney D.B. Occurrence of antibiotics in hospital, residential, and dairy effluent, municipal wastewater, and the Rio Grande in New Mexico. *Sci. Total Environ.* 366, 772–783.

- Buerge I.J., Poiger T., Müller M.D., Buser H.R., 2003. Caffeine, an anthropogenic marker for wastewater contamination of surface waters. *Environ. Sci. Technol.* 37, 691–700.
- Buser H.R., Poiger T., Müller M.D., 1999. Occurrence and environmental behaviour of the chiral pharmaceutical drug Ibuprofen in surface waters and in wastewater, *Environ. Sci. Technol.* 33, 2529–2535.
- Buser H.R., Müller M.D., 1998. Occurrence of the pharmaceutical drug clofibric acid and the herbicide mecoprop in various Swiss Lakes and in the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* 32(1), 188–192.
- Buser H.R., Poiger T., Müller M.D., 1998. Occurrence and fate of the pharmaceutical drug diclofenac in surface waters: rapid photodegradation in a lake. *Environ. Sci. Technol.* 32(22), 3449–3456.
- Camel V., 2003. Solid phase extraction of trace elements. *Spectrochim. Acta B* 58(7), 1177–1233.
- Carballa M., Omil F., Lema J.M., 2005. Removal of cosmetic ingredients and pharmaceuticals in sewage primary treatment. *Water Res.* 19, 4790–4796.
- Carballa M., Omil F., Lema J., Llompart M., García-Jares C., Rodríguez I., Gómez M., Ternes T. A., 2004. Behaviour of pharmaceuticals, cosmetic and hormones in a sewage treatment plant. *Water Res.* 38, 2918–2926.
- Cargouët M., Perdiz D., Mouatassim-Souali A., Timisier-Karolak S., Levi Y., 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Sci. Total Environ.* 324, 55–66.
- Carlsson C., Johansson A.-K., Alvan G., Bergman K., Kühler T., 2006. Are pharmaceuticals potent environmental pollutants?: Part I: Environmental risk assessments of selected active pharmaceutical ingredients. *Sci. Total Environ.* 364, 67–87.

- Castiglioni S., Bagnati R., Calamari D., Fanelli R., Zuccato E., 2005. A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. *J. Chromatogr. A* 1092(2), 206–215.
- CDER, 1994. Reviewer guidance. Validation of chromatographic methods.
- Chen Z., Pavelic P., Dillon P., Naidu R., 2002. Determination of caffeine as a tracer of sewage effluent in natural water by on-line solid-phase extraction and liquid chromatography with diode-array detection. *Water Res.* 36, 4830–4838.
- Clara M., Kreuzinger N., Strenn B., Gans O., Krois H., 2005a. The solid retention time – a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants. *Water Res.* 39, 97–106.
- Clara M., Strenn B., Gans O., Martinez E., Kreuzinger N., Kroiss H., 2005b. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water Res.* 39, 4797 – 4807.
- 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 Res.* 38, 947–954.
- Cleuvers M., 2003. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol. Lett.* 142, 185–194.
- Cleuvers M., 2004. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 59(3), 309–315.

- Colborn T., Vom Saal F.S., Soto A.M., 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ. Health Perspect.* 101, 378–384.
- Comoretto L., Chiron S., 2005. Comparing pharmaceutical and pesticide load into a small Mediterranean river. *Sci. Total Environ.* 349, 201–210.
- Cuadras C.M., 1991. Métodos de análisis multivariante. PPU, 2ª edición, Barcelona.
- Damiani P.C., Borraccetti M.D., Olivieri A.C., 2002. Direct and simultaneous spectrofluorometric determination of naproxen and salicylate in human serum assisted by chemometric analysis. *Anal. Chim. Acta* 471(1), 87–96.
- D'Ascenzo G., Di Corcia A., Gentili A., Mancini R., Mastropasqua R. Nazzari M., Samperi R., 2003. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. *Sci. Total Environ* 302, 199–209.
- Daughton CG., Ternes TA., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.* 107(6), 907–938.
- Díaz-Cruz M.S., Barceló D., 2005. LC–MS<sup>2</sup> trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil. *Trends Anal. Chem.* 24(7), 645–657
- Díaz-Cruz M.S., Lopez de Alda M.J., Barceló D., 2003. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends Anal. Chem.* 22(6), 340–351.
- Drakopoulos A.I., Ioannou P.C., 1997. Spectrofluorimetry study of the acid-base equilibria and complexation behavior of the fluoroquinolone antibiotics ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and pefloxacin in aqueous solution. *Anal. Chem. Acta* 354, 197–204.

- Drillia P., Stamatelatos K., Lyberatos G., 2003. The fast of pharmaceuticals on soil, Presentation of project results on Envirpharma European conference, april 14-16, Lyon.
- EC (European commission), 2003. Technical guidance document on risk assessment in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and the Commission regulation (EC) 1488/94 on risk assessment for existing substances and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Tgd part ii. Technical report, Institute for Health and Consumer Protection, European Chemical Bureau, European Commission.
- Ellis J.B., 2006. Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving waters. *Environmental Pollution* 2006. in press.
- EMA, 2006a. Note for guidelance on environmental risk assessment of medicinal products for human use. EMA/CPMP/SWP/4447/00, European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EMA, 2006b. Note for guidelines on environmental impact assessment for veterinary medicinal products. EMA/CVMP/ERA/418282/2005, Europea Agency for the Evaluation of Medicinal Products.
- EURACHEM Guide, 1998. The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation an related topics. Disponible en <http://www.eurachem.bam.de/guides/valid.pdf>
- Farré M., Ferre I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M., Barceló D., 2001. Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fishery*. *J. Chromatogr. A* 938, 187–197.

- Fawell J.K., Sheahan D., James H.A., Hurst M., Scott S., 2001. Oestrogens and oestrogenic activity in raw and treated water in Severn Trent water. *Water Res.* 35, 1240–1244.
- Fent K., Weston A.A., Caminada D., 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.* 76(2), 122–159.
- Ferrari B., Paxéus N., Giudice R., Pollio A. Garric J., 2003. Ecotoxicological impact of pharmaceuticals found in treated wastewater: study of carbamazepine, clofibric acid, and diclofenac. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 55, 359–370.
- Ferreira A. P., Nobrega Da Cunha C. L., 2005. Anthropogenic pollution in aquatic environment: Development of a caffeine indicator. *Int. J. Environ. Health Res.* 15(4), 303–311.
- Gagné F., Blaise C., André C., 2006. Occurrence of pharmaceutical products in a municipal effluent and toxicity to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64(3), 329–336.
- Gamprel A., Wilkinson M. Boutilier R., 1994.  $\beta$ -Adrenoreceptor in the trout heart: characterisation, quantification and effects of repeated catecholamine exposure. *Gen. Comp. Endocrinol.* 95, 259–272.
- Gardinali P.R., Zhao X., 2002. Trace determination of caffeine in surface water samples by liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionization–mass spectrometry (LC–APCI–MS). *Environ. Int.* 28(6), 521–528.
- Garrison A.W., Pope J.D., Allen F.R., 1976. GC/MS analysis of organic compounds in domestic wastewater. In: Identification and analysis of organic pollutants in water (Keith CH, ed). Ann Arbor, MI: Ann Arbor Science Publisher, 517 – 556.

- 
- Gentili A., Perret D., Marchese S., Mastropasqua R., Curini R., Di Corcia A., 2002. Analysis of free estrogens and their conjugates in sewage and river waters by solid-phase extraction then liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry. *Chromatographia* 56, 25–32.
- Goksøyr A., 2006. Endocrine disruptors in the marine environment: Mechanisms of toxicity and their influence on reproductive processes in fish. *J. Toxicol. Environ. Health A* 69, 175–184.
- Golet E., Alder A.C., Giger W., 2002. Environmental exposure and risk assessment of fluoroquinolone antibacterial agents in wastewater and river water of the Glatt Valley watershed, Switzerland. *Environ Sci Technol* 36(17), 3645–3651.
- Golet E.M., Alder A.C., Hartmann A., Ternes, T.A. Giger, W., 2001. Fluoroquinolone antibacterial agents in urban wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Chem.* 73(15), 3632–3638.
- Gómez M.J., Petrović M., Fernández-Alba A.R., Barceló D., 2006. Determination of pharmaceuticals of various therapeutic classes by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry analysis in hospital effluent wastewaters. *J. Chromatogr. A* 1114(2), 224–233.
- González-Barreiro C., Lores M., Casais M.C., Cela R., 2003. Simultaneous determination of neutral and acidic pharmaceuticals in wastewater by high-performance liquid chromatography-post-column photochemically induced fluorimetry. *J. Chromatogr. A* 993, 29–37.
- Gruber V.F., Halley B.A., Hwang S.C., Ku C.C., 1990. Mobility of Avermectine B1 in soil. *J. Agric. Food Chem.* 38, 886–890.
- Haider S. Baqri S.S.R., 2000. beta-Adrenoceptor antagonists reinitiate meiotic maturation in *Clarias batrachus* oocytes. *Comp. Biochem. Phys. A* 126(4), 517–525.

- 
- Hamscher G., Sczesny S., Höper H., Nau H., 2002. Determination of Persistent Tetracycline Residues in Soil Fertilized with Liquid Manure by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 74, 1509–1518.
- Haller M.Y., Müller S.R., McArdell C.S., Alder A.C., Suter M.J.F., 2002. Quantification of veterinary antibiotics : sulfonamides and trimethoprim in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 952, 111–120.
- Halling-Sørensen B., Sengeløv G., Ingerslev F., Jensen L.B., 2003. Reduced antimicrobial potencies of oxytetracycline, tylosin, sulfadiazin streptomycin ciprofloxacin. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 44, 7–16.
- Halling-Sørensen B., Nielsen N. S., Lanzky P. F., Ingerslev F., Lützhof H.C.H., Jørgensen S. E., 1998. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – a review. *Chemosphere.* 36,(2), 357–393.
- Harmon, H.H., 1976. Modern factor análisis. Univ. Chicago Press.
- Hartmann A., Alder A.C., Koller T., Widmer R.M., 1998. Identification of fluoroquinolone antibiotics as the main source of umuC genotoxicity in native hospital wastewater. *Environ. Toxicol. Chem.* 17(3), 377–382.
- Heberer T., 2002a. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *J. Hydrol.* 266, 175–189.
- Heberer T., 2002b. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent data. *Toxicol. Lett.* 131, 5–17.
- Heberer T., Reddersen K., Mechninski A., 2002. From municipal sewage to drinking water: fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment in urban areas. *Water Sci. Technol.* 46(3), 81–88.

- 
- Heberer T., Dünnbier U., Reilich C., Stan H.-J., 1997. Detection of drugs and drug metabolites in ground water samples of a drinking water treatment plant. *Stan Fresenius Environ. Bull.* 6, 438–443.
- Heberer T., Stan H.-J., 1997. Determination of clofibric acid and N-(phenylsulfonyl)-sarcosine in sewage river and drinking water. *J Environ. Anal. Chem.* 67, 113–124.
- Hennion M.-C., 1999. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 856, 3–54.
- Hernando M.D., Mezcuca M., Fernández-Alba A.R., Barceló D., 2006. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta* 69, 334 – 342.
- Hilton M.J., Thomas K.V., 2003. Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1015, 129–141.
- Hing-Biu L., Peart T.E., Svoboda M.L., 2005. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1094, 122–129.
- Hirsch R., Ternes T., Haberer K., Kratz K.-L., 1999. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment. *Sci. Total Environ.* 225, 109–118.
- Hirsch, R., Ternes, T.A., Haberer, K., Mehlich, A., Ballwanz, F., Kratz, K.-L., 1998. Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 815(2), 213–223.

- 
- Hopke P., 1983. An introduction to multivariate analysis of environmental data. *Analytical Aspects of Environmental Chemistry* 219.
- Hu J., Aizawa T., Ookubo S., 2002. Products of aqueous chlorination of bisphenol A and their estrogenic activity. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1980–1987.
- Hua J., An P., Winter J., Gallert C., 2003. Elimination of COD, microorganisms and pharmaceuticals from sewage by trickling through sandy soil below leaking sewers. *Water Res.* 37, 4395–4404.
- Huber M.M., Canonica S., Park G.Y., Von Gunten U., 2003. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes. *Environ. Sci. and Technol.* 37, 1016–1024.
- Huggett D.B., Brooks B.W., Peterson B., Foran C.M., Schlenk D., 2002. Toxicity of selected beta adrenergic receptor-blocking pharmaceuticals (B-blockers) on aquatic organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 43(2), 229–235.
- Huppert N., Würtele M., Hahn H.H., 1998. Determination of the plasticizer N-butylbenzenesulfonamide and the pharmaceutical Ibuprofen in wastewater using solid phase microextraction (SPME). *Fresenius J. Anal. Chem.* 362, 529–536.
- Hurwitz A.R., Lui S.T., 1977. Determination of aqueous solubility and pKa values of Estrogens. *J. Pharm. Sci.* 6, 624–627.
- Ibabe A., Grabenbauer M., Baumgart E., Fahimi H.D., Cajaraville M.P., 2002. Expression of peroxisome proliferator-activated receptors in zebrafish (*Danio rerio*). *Histochem. Cell. Biol.* 118(3), 231–239.
- ICH. Guidance for industry, 1996. Q2B validation of analytical procedure: methodology. Disponible en <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>.
- IEA, 2005. Instituto estadístico de Andalucía 2006. Anuario estadístico de Andalucía. Sevilla.

- Isidori M., Lavorgna M., Nardelli A., Pascarella L., Parrella A., 2005. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Sci. Total Environ.* 346, 87–98.
- IUCLID, 2003. International Uniform Chemical Information Data Base on High Production Volume Chemicals reported by European Industry in the frame of the European existing chemicals risk assessment programme. (Disponible en la página web del European Chemicals Bureau. [www.ecb.jrc.it](http://www.ecb.jrc.it)).
- Jacobsen A.M., Halling-Sorensen B., Ingerslev F., Hansen S.H., 2004. Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1038, 157–170.
- Johnson A.C., Belfroid A., Di Corcia A., 2000. Estimating steroid estrogens inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. *Sci. Total Environ.* 256, 163–173.
- Jones O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N., 2006. Partitioning behavior of five pharmaceutical compounds to activated sludge and river sediment. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50(3), 297–305.
- Jones O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N., 2002. Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res.* 36(20), 5013–5022.
- Jørgensen S.E., Halling-Sørensen B., 2000. Drugs in the environment. *Chemosphere* 40, 691–699.
- Joss A., Keller E., Alder A.C., Göbel A., McArdell C.S., Ternes T., Siegrist H., 2005. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Res.* 39(14), 3139–3152.
- Kanda R., Griffin P., James H.A., Fothergill J., 2003. Pharmaceutical and personal care products in sewage treatment works. *J. Environ. Monit.* 5, 823–830.

- Karthikeyan K.G., Meyer M.T., 2006. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA. *Sci. Total Environ.* 361, 196–207.
- Kendall M., 1975. Multivariate analysis. Griffin, London.
- Khan S.J., Ongerth J.E., 2004. Modelling of pharmaceutical residues in Australian sewage by quantities of use and fugacity calculations. *Chemosphere* 54, 355–367.
- Khan S.J., Ongerth J.E., 2002. Estimation of pharmaceutical residues in primary and secondary sewage sludge based on quantities of use and fugacity modelling. *Water Sci. and Technol.* 46(3), 105–113.
- Kinney C.A., Furlong E.T., Werner S.L., Cahill J.D., 2006. Presence and distribution of wastewater-derived pharmaceuticals in soil irrigated with reclaimed water. *Environ. Toxicol. Chem.* 25(2), 317–326.
- Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B., Buxton H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36(6), 1202–1211.
- Kosjek T., Heath E., Krbavčič A., 2005. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. *Environ. Int.* 31(5), 679–685.
- Košutić K., Furač L., Sipos L., Kunst B., 2005. Removal of arsenic and pesticides from drinking water by nanofiltration membranes. *Sep. and Purif. Technol.* 46(2), 137–144.
- Koutsouba V., Heberer T., Fuhrmann B., Schmidt-Baumler K., Tsipi D., Hiskia A., 2003. Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography–mass spectrometry. *Chemosphere* 51(2), 69–75.

- 
- Kreuzinger N., Clara M., Strenn B., Vogel B., 2004. Investigation on the behaviour of selected pharmaceuticals in the groundwater after infiltration of treated wastewater. *Water Sci. Technol.* 50, 221–228.
- Kuehn W., Mueller U., 2000. Riverbank filtration: An overview. *J. AWWA* 92(12), 60–69.
- Kumagani T., Inoue T., Mihara Y., Ebina K., Yolota K., 2006. Influence of drugs in the oxygen uptake rate and biosorption of activated sludge. *Biol. Pharm. Bull.* 29 (1), 183–186.
- Kümmerer K., Henninger A., 2003. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clin. Microbiol. Inf.* 9, 1203–1214.
- Kümmerer K., Steger-Hartmann T., Meyer M., 1997. Biodegradability of the anti-tumour agent ifosfamide and its occurrence in hospital effluents and communal sewage. *Water Res.* 31(11), 2705–2710.
- Lamas J.P., Salgado-Petinal C., García-Jares C., Llompert M., Cela R., Gómez M., 2004. Solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry for the analysis of selective serotonin reuptake inhibitors in environmental water. *J. Chromatogr. A* 1046, 241–247
- Lange F., Cornelissen S., Kubac D., Sein M.M., Von Sonntag J., Hannich C.B., Golloch A., Heipieper H.J., Möder M., Von Sonntag C., 2006. Degradation of macrolide antibiotics by ozone: A mechanistic case study with clarithromycin. *Chemosphere*, in press
- Larsen T.A., Lienert J., Joss A., Siegrist H., 2004. How to avoid pharmaceuticals in the aquatic environment. *J. Biotechnol.* 113, 295–304.
- Latch D.E., Packer J.L., Arnold W.A., McNeill K., 2003. Photochemical conversion of triclosan to 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution. *J. Photochem. Photobiol. A* 158(1), 63–66.

- 
- Leaver M.J., Wright J., George S.G., 1998. A peroxisomal proliferator-activated receptor gene from the marine flatfish, the plaice (*Pleuronectes platessa*) *Mar. Environ. Res.* 46, 75–79.
- Lee H.-B., Peart T.E., Svoboda M.L., 2005. Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1094, 122–129.
- Lee N.M., Welander T., 1996. Reducing sludge production in aerobic wastewater treatment through manipulation of the ecosystem. *Water Res.* 30, 1781–1790.
- Leff L.G., McArthur J.V., Shimkets L.J., 1993. Spatial and temporal variability of antibiotic resistance in freshwater bacterial assemblages. *FEMS Microbiology Ecology* 13(2), 135–143.
- Lin W.-C., Chen H.-C., Ding W.-H., 2005. Determination of pharmaceutical residues in waters by solid-phase extraction and large-volume on-line derivatization with gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1065, 279–285
- Lindberg R.H., Wennberg P., Johansson M.I., Tysklind M., Andersson B.A.V., 2005. Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden. *Environ. Sci. Technol.* 39(10), 3421–3429.
- Lindqvist N., Tuhkanen T., Kronberg L., 2005. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving water. *Water Res.* 39, 2219–2228.
- Lindsey M.E., Meyer M., Thurman E.M., 2001. Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. *Anal. Chem.* 73(19), 4640–4646.

- 
- Lishman L., Smyth S.A., Sarafin K., Kleywegt S., Toito J., Peart T., Lee B., Servos M., Beland M., Seto P., 2006. Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Sci Total Environ*, in press.
- Löffler D., Römbke J., Meller M., Ternes T.A., 2005. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. *Environ. Sci. Technol.* 39(14), 5209–5218.
- Löffler D., Ternes T.A., 2003. Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1021, 133–144.
- Lopez de Alda M.J., Díaz-Cruz S., Petrovic M., Barceló D., 2003. Liquid chromatography–(tandem) mass spectrometry of selected emerging pollutants (steroid sex hormones, drugs and alkylphenolic surfactants) in the aquatic environment. *J. Chromatogr. A* 1000, 503–526.
- Lopez de Alda M.J., Barceló D., 2001. Use of solid-phase extraction in various of its modalities for sample preparation in the determination of estrogens and progestogens in sediment and water. *J. Chromatogr. A* 938, 145–153.
- 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. *Environ. Sci. Technol.* 40(3), 687–695.
- Maldonado M.I., Malato S., Pérez-Estrada L.A., Gernjak W., Oller I., Doménech X., Peral J., 2006. Partial degradation of five pesticides and an industrial pollutant by ozonation in a pilot-plant scale reactor. *J. Hazard. Mater.*, in press
- Malinowsky E.R., 1980. Factor analysis in chemistry. Wiley, Nueva York..

- Malintan N.T., Mohd M.A., 2006. Determination of sulfonamides in selected Malaysian swine wastewater by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatography A.*, In Press.
- Marchese S., Parret D., Gentili A., Curini R., Pastori F., 2003. Determination of non-steroidal anti-inflammatory drugs in surface water and wastewater by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chromatographia* 58, 263–269.
- Marques C.R., Abrantes N., Goncalves F., 2004. Life-history traits of standard and autochthonous cladocerans. I. Acute and chronic effects of acetylsalicylic acid *Environ. Toxicol.* 19(5), 518–526.
- Martín M.J., Pablos F., González A.G., 1999. Simultaneous determination of caffeine and non-steroidal anti-inflammatory drugs in pharmaceutical formulations and blood plasma by reversed-phase HPLC from linear gradient elution. *Talanta* 49(2), 453–459.
- Metcalf C.D., Koenig B.G., Bennie D.T., Servos, M., Ternes T.A., Hirsch R., 2003a. Occurrence of neutral and acidic drugs in the effluents of Canadian sewage treatment plants. *Environ. Toxicol. Chem.* 22 (12), 2872–2880.
- Metcalf C.D., Miao X.-S., Koenig B.G., Struger J., 2003b. Distribution of acidic and neutral drugs in surface waters near sewage treatment plants in the lower great lakes, Canada. *Environ. Toxicol. Chem.* 22(12), 2881–2889.
- Metcalf-Eddy., 2000. Ingeniería Sanitaria. Tratamiento y reutilización de aguas residuales. Labor, Barcelona.
- Meylan W., 1993. SRC-LOGWON para windows, VI 53a, ed SRC, Syracuse, NY.
- Miao X.-S., Metcalfe C.D., 2003. Determination of carbamazepine and its metabolites in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 75, 3731–3738.

- 
- Miao X.-S., Koenig B.G., Metcalfe C.D., 2002. Analysis of acidic drugs in the effluents of sewage treatment plants using liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 952, 139–147.
- Miller J.C. y Miller J.N., 2002. Estadística y quimiometría para química analítica. Addison-Wesley Iberoamericana, 4ª edición, Méjico.
- Mimeault C., Woodhouse A.J., Miao X.-S., Metcalfe C.D., Moon T.W. Trudeau V.L., 2005. The human lipid regulator, gemfibrozil bioconcentrates and reduces testosterone in the goldfish, *Carassius auratus*. *Aquat. Toxicol.* 73(1), 44–54.
- Moeder M., Schrader S., Winkler M., Popp P., 2000. Solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry of biologically active substances in water samples. *J. Chromatogr. A* 873, 95–106.
- Nimrod A.C., Benson W.H., 1998. Reproduction and development of Japanese medaka following an early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquat. Toxicol.* 44, 141–156.
- Nowara A., Burhenne V., Spiteller M., 1997. Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. *J. Agric. Food Chem.* 45. 1459–1463.
- Okumura T., Nishikawa Y., 1996. Gas chromatography—mass spectrometry determination of triclosans in water, sediment and fish samples via methylation with diazomethane. *Anal. Chim. Acta* 325(3), 175–184.
- Öllers S., Singer H.P., Fässler P., Müller S.R., 2001. Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low-ng/l level in surface and waste water. *J. Chromatogr. A.* 911, 225–234.
- Onda K., Nakamura Y., Miya A., Katsu Y., 2003. The behavior of estrogenic substances in the biological treatment process of sewage. *Water Sci Technol* 47, 109–116.

- Papastephanou C., Frantz M., 1997. Sulfamethazine. Analytical Profiles of drug substances 7, 401–422.
- Patyna P.J., Davi R.A., Parkerton T.F., Brown R.P., Cooper K.R., 1999. A proposed multigeneration protocol for Japanese medaka (*Oryzias latipes*) to evaluate effects of endocrine disruptors. *Sci. Total Environ.* 233, 211–220.
- Paxeus N., 2004. Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine,  $\beta$ -blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water Sci. Technol.* 50 (5), 253–260.
- Perez S., Eichhorn P., Aga D.S., 2005. Evaluating the biodegradability of sulfamethazine, sulfamethoxazole, sulfathiazole and trimethoprim at different stages of sewage treatment. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 1361–1367.
- Petrovic M., Gros M., Barcelo D., 2006. Multi-residue analysis of pharmaceuticals in wastewater by ultra-performance liquid chromatography–quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, in press.
- Petrovic M., Eljarrat E., Lopez de Alda M.J., Barceló D., 2001. Analysis and environmental levels of endocrine-disrupting compounds in freshwater sediments. *Trends Anal. Chem.* 20(11), 637–648.
- Putschew A., Schittko S., Jekel M., 2001. Quantification of triiodinated benzene derivatives and X-ray contrast media in water samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 930, 127–134.
- Quintana J.B., Weiss S., Reemtsma T., 2005. Pathways and metabolites of microbial degradation of selected acidic pharmaceutical and their occurrence in municipal wastewater treated by a membrane bioreactor. *Water Res.* 39, 2654–2664.

- Quintana J.B., Rodil R., Reemtsma T., 2004. Suitability of hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry without matrix effects. *J. Chromatogr. A* 1061(1), 19–26.
- Rabølle M., Spliid N.H., 2000. Sorption and mobility of metronidazole, olaquinox, oxytetracycline and tylosin in soil. *Chemosphere* 40, 715–722.
- Ramis G., Álvarez-Coque M.C., 2001. Quimiometría. Ed. Síntesis S.A., Madrid.
- Reddersen K., Heberer T., 2003. Multi-compound methods for the determination of pharmaceuticals residues in various waters applying solid phase extraction (SPE) and gas chromatography with mass spectrometric (GC-MS) detection. *J. Sep. Sci.* 26, 1443–1450.
- Reemtsma T., 2001. The use of liquid chromatography-atmospheric pressure ionization-mass spectrometry in water analysis – Part II: Obstacles. *Trends Anal. Chem.* 20, 533–542.
- Ren N., Chen Z., Wang A., Hu D., 2005. Removal of organic pollutants and analysis of MLSS-COD removal relationship at different HRTs in a submerged membrane bioreactor. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 55(4), 279–284.
- Renew J.E., Huang C.-H., 2004. Simultaneous determination of fluoroquinolone, sulfonamide, and trimethoprim antibiotics in wastewater using tandem solid phase extraction and liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1042, 113–121.
- Reverté S., Borrull F., Pocurull E., Marcé R.M., 2003. Determination of antibiotic compounds in water by solid-phase extraction–high-performance liquid chromatography–(electrospray) mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1010(2), 225–232.

- 
- Richards S.M., Wilson C.J., Johnson D.J., Castle D.M., Lam M., Mabury S.A., Sibley P.K., Solomon K.R., 2004. Effects of pharmaceutical mixtures in aquatic microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.* 23(4), 1035–1042.
- Richardson M.L., Bowron J.L., 1985. The fate of pharmaceuticals chemicals in the aquatic environment – a review. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 1–12.
- Roberts P.H., Thomas K.V., 2006. The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment. *Sci. Total. Environ.* 356, 143–153.
- Rodier J., 1990. Análisis de aguas. 2ª reimpr. Omega D.L., Barcelona.
- Rodríguez I., Carpinteiro J., Quintana J.B., Carro A.M., Lorenzo R.A., Cela R., 2004. Solid-phase microextraction with on-fiber derivatization for the análisis of anti-inflammatory drugs in water samples. *J Chromatogr. A* 1024, 1–8.
- Rodríguez I., Quintana J.B., Carpinteiro J., Carro A.M., Lorenzo R.A., Cela R., 2003. Determination of acidic drugs in sewage water by gas chromatography–mass spectrometry as *tert.*-butyldimethylsilyl derivatives. *J. Chromatogr. A* 985, 265–274.
- Ruyter B., Andersen Ø., Dehli A., Östlund Farrants A.-K., Gjøen T., Thomassen M.S., 1997. Peroxisome proliferator activated receptors in Atlantic salmon (*Salmo salar*): effects on PPAR transcription and acyl-CoA oxidase activity in hepatocytes by peroxisome proliferators and fatty acids. *BBA-Lipid. Lipid. Met.* 1348(3), 33–338.
- Sacher F., Lange F.T., Brauch H.-J., Blankenhorn I., 2001. Pharmaceuticals in groundwaters Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *J. Chromatogr. A* 938, 199–210.

- 
- Salem A.A., Barsoum B.N., Izake E.L., 2004. Spectrophotometric and fluorimetric determination of diazepam, bromazepam and clonazepam in pharmaceutical and urine samples. *Spectrochim. Acta A* 60(4), 771–780.
- Sanderson H., Jonson D.J., Wilson C.J. Brain R. A., Solomon K. R., 2003. Probabilistic hazard assessment of environmentally occurring pharmaceuticals toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. *Toxicol. Lett.* 144, 383–395.
- Schäfer A.I., Nghiem L.D. Waite T.D., 2003. Removal of the natural hormone estrone from aqueous solutions using nanofiltration and reverse osmosis. *Environ. Sci. Technol.* 37, 182–188.
- Scheytt T., Mersmann P., Lindstädt R., Heberer T., 2005. Determination of sorption coefficients of pharmaceutically active substances carbamazepine, diclofenac, and ibuprofen, in sandy sediments. *Chemosphere* 60(2), 245–253.
- Schmitt M., Gellert G., Ludwig J., Lichtenberg-Fraté H., 2005. Assessment of cyto- and genotoxic effects of a variety of chemicals using *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 33(1), 56–63.
- Schwab B.W., Hayes E.P., Fiori J.M., Mastrocco F.J., Roden N.M., Cragin D., Meyerhoff R.D., D'Aco V.J., Anderson P.D., 2005. Human pharmaceuticals in US surface waters: A human health risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 42(3), 296–312.
- Schwaiger J., Ferling H., Mallow U., Wintermayr H., Negele R.D., 2004. Toxic effects of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. Part I: Histopathological alterations and bioaccumulation in rainbow trout. *Aquat. Toxicol.* 68(2), 141–150.
- Schwarzenbach R.P., Gschwend P.M., Imboden D.M., 2003. Environmental Organic Chemistry. Wiley-Interscience, Hoboken, NJ.

- 
- Sedlak D.L., Pinkston K.E., 2001. Factors affecting the concentrations of pharmaceuticals released to the aquatic environment *Water Resour.* 120, 56–64.
- Seiler J., 2002. Pharmacodynamic activity of drugs and ecotoxicology –can the two be connected? *Toxicol. Lett.* 131, 105–115.
- Seiler R.L., Zaugg S.D., Thomas J.M., Howcroft D.L., 1999. Caffeine and pharmaceuticals as indicators of waste water contamination in wells. *Ground Water* 37(3), 405–410.
- Servos M.R., Bennie D.T., Burnison B.K., Jurkovic A., McInnis R., Neheli T., Schnell A., Seto P., Smyth S.A., Ternes T.A., 2005. Distribution of estrogens, 17 $\beta$ -estradiol and estrone, in Canadian municipal wastewater treatment plants. *Sci. Total Environ.* 3366, 155–170.
- Siegener R. and Chen R.F., 2002. Caffeine in Boston Harbour seawater. *Mar. Pollut. Bull.* 44, 383–387.
- Sithole B.B., Guy R.D., 1987. Models for tetracycline in aquatic environments, II. Interaction with humic substances. *Water, Air, Soil. Pollut.* 32, 315–321.
- Soliman M.A., Pedersen J.A., Suffet I.H., 2004. Rapid gas chromatography–mass spectrometry screening method for human pharmaceuticals, hormones, antioxidants and plasticizers in water. *J. Chromatogr. A* 1029, 223–237
- Song W.C., Brash A.R., 1991. Purification of an allene oxide synthase and identification of the enzyme as a cytochrome-P-450. *Science* 253(5021), 781–784.
- Soulet B., Tauxe A., Tarradellas J., 2002. Analysis of acidic drugs in Swiss wastewater. *J. Environ. Anal. Chem.* 82(10), 659 – 667.

- 
- Stackelberg P.E., Furlong E.T., Meyer M.T., Zaugg S.D., Henderson A.K., Reissman D.B., 2004. Persistence of pharmaceutical compounds and other organic wastewater contaminants in a conventional drinking-water-treatment plant. *Sci. Total Environ.* 329, 99–113.
- Stan H.J., Heberer T., 1997. Pharmaceuticals in the aquatic environment. *Anal. Mag.* 25(7), 20–23.
- Steger-Hartmann T., Kümmerer K., Hartmann A., 1997. Biological degradation of cyclophosphamide and its occurrence in sewage water *Ecotoxicol. Environ. Safe.* 36(2), 174–179.
- Stolker A.A.M., Niesing W., Hogendoorn E.A., Versteegh J.F.M., Fuchs R., Brinkman U.A., 2004. Liquid chromatography with triple-quadrupole or quadrupole-time of flight mass spectrometry for screening and confirmation of residues of pharmaceuticals in water. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 955–963.
- Stuer-Lauridsen F., Birkved M., Hansen L.P., Lützhof H.-C. H., Halling-Sorensen B., 2000. Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 40, 783–793.
- Stumpf M., Ternes T.A., Wilken R-D., Rodrigues S.V., Baumann W., 1999. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio of Janeiro, Brazil. *Sci Total Environ.* 225, 135–141.
- Svenson A., Allard A.-S., Ek M., 2003. Removal of estrogenicity in Swedish municipal sewage treatment plants. *Water Res.* 37, 4433–4443.
- Takacs-Novak K., Jozan M., Hermecz I., Szasz G., 1992. Lipophilicity of antibacterial fluoroquinolones. *Int. J. Pharm.* 79, 89–96.
- Tauxe-Wuersch A., De Alencastro L.F., Grandjean D., Tarradellas J., 2006. Trace determination of tamoxifen and 5-fluorouracil in hospital and urban wastewaters. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 86(7), 473–485.

- Tauxe-Wuersch A., De Alencastro L.F., Grandjean D., Tarradellas J., 2005. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res.* 3, 1761–1772.
- Ternes T.A., Bonerz M., Herrmann N., Löffler D., Keller E., Lacida B.B., Alder A.C., 2005. Determination of pharmaceuticals, iodinated contrast media and musk fragrances in sludge by LC tandem MS and GC/MS. *J. Chromatogr. A* 1067, 213–223.
- Ternes T., Janex-Habibi M.-L., Knacker T., Kreuzinger N., Siegrist H., 2004. Assessment of technologies for the removal of pharmaceuticals and personal care products in sewage and drinking water facilities to improve the indirect potable water reuse. Project Acronym POSEIDON. Contract No. EVK1-CT-2000-00047.
- Ternes T.A., Stüber J., Herrmann N., McDowell D., Ried A., Kampmann M., Teiser B., 2003. Ozonation: a tool for removal of pharmaceuticals, contrast media and musk fragrances from wastewater? *Water Res.* 37, 1976–1982.
- Ternes T.A., 2001. Pharmaceuticals and metabolites as contaminants of the aquatic environment. In: Daughton C.G., Jones-Lepp T. (Eds.), *Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Scientific and Regulatory Issues*. Symposium Series 791, American Chemical Society, Washington D.C., 39–54.
- Ternes T., Bonerz M., Schmidt T., 2001. Determination of neutral pharmaceuticals in wastewater and rivers by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 938, 175–185.
- Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.-D., Servos M., 1999. Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants I. Investigations in Germany, Canada and Brazil, *Sci. Total Environ.* 225, 81–90.
- Ternes T.A., 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. *Water Res.* 32(11), 3245–3260.

- 
- Thaker, 2005. Pharmaceutical data elude researchers. *Environ. Sci. Technol.* 139 (9), 193A–194A.
- Thomas K.V., Hilton M.J., 2004. The occurrence of selected human pharmaceutical compounds in UK estuaries. *Mar. Pollut. Bull.* 49, 436–444.
- Tixier C., Singer H.P., Oellers S., Müller S.R., 2003. Occurrence and fate of carbamazepine, chlofibric acid, diclofenac, ketoprofen and naproxen in surface waters. *Environ. Sci. Technol.* 37(6), 1061–1068.
- Tjaden U.R., De Bruijn E.A., 1990. Chromatographic analysis of anticancer drugs. *J. Chromatogr. B* 531, 235–294.
- Tolls J., 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils : a review. *Environ. Sci. Technol.* 35(17), 3397–3406.
- U.S. EPA, 1999. Search in Ecotoxicology Database System (U.S. EPA MED-Duluth) [http://www.epa.gov/medecotx/ecotox\\_home.htm](http://www.epa.gov/medecotx/ecotox_home.htm).
- Urase T., Kikuta T., 2005. Separate estimation of adsorption and degradation of pharmaceuticals substances and estrogens in the activated sludge process. *Water Res.* 39, 1289–1300.
- 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. *Anal. Chem.* 75(22), 6265–6274.
- Verenitch S.S., Lowe C.J., Mazumder A., 2006. Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1116, 193–203.
- Wan H., Holmén A., Någård M., Lindberg W., 2002. Rapid screening of pKa values of pharmaceuticals by pressure-assisted capillary electrophoresis combined with short-end injection. *J. Chromatogr. A* 979, 369–377.

- Webb S., Ternes T., Gibert M., Olejniczak K., 2003. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicol. Lett.* 142(3), 157–167.
- Weigel S., Kallenborn R., Hünnerfuss H., 2004. Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples and ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1023, 183–195.
- Weigel S., Kuhlmann J., Hünnerfuss H., 2002. Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants: occurrence and distribution of clofibric acid, caffeine and DEET in the North Sea. *Sci. Total Environ.* 295, 131–141.
- Williams R.J., Jürgens M.D., Johnson A.C., 1999. Initial predictions of the concentrations and distribution of 17 $\beta$ -oestradiol, oestrone and ethinyl oestradiol in 3 English rivers. *Water Res.* 33(7), 1663–1671.
- Wollenberger L., Halling-Sørensen B., Kusk O.K., 2000. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere* 40(7), 723–730.
- Ying G.G., Kookana R.S., Ru Y.J., 2002. Occurrence and fate of hormone steroids in Environment. *Environ. Int.* 28, 545–551.
- Yoon Y., Westerhoff P., Snyder S.A., Wer E.C., 2006. Nanofiltration and ultrafiltration of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals and personal care products. *J. Membr. Sci.* 270, 88–100.
- Zanella R., Primel E.G., Gonçalves F.F., Martins A.F., 2000. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for the determination of clomazone residues in surface water. *J. Chromatogr. A* 904, 257–262.
- Zhang Y., Van der Bruggen B., Chen G.X., Braeken L., Vandecasteele C., 2004. Removal of pesticides by nanofiltration: effect of the water matrix. *Sep. and Purif. Technol.* 38(2), 163–172.

Zuccato M.D.E., Calamari D., Natangelo M., Fanelli R., 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet* 355(9217), 1789–1790.

Zuehlke S., Duennbier U., Heberer T., 2004. Determination of polar drug residues in Sewage and Surface Water Applying Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 76, 6548–6554.