

# Contaminantes emergentes en las aguas del Parque de Doñana

**Dolores Camacho-Muñoz, Julia Martín, Juan Luis Santos, Irene Aparicio y Esteban Alonso**

Departamento de Química Analítica, Escuela Politécnica Superior, Universidad de Sevilla.

## 1. INTRODUCCIÓN

El Parque Nacional de Doñana, declarado Patrimonio de la Humanidad por la UNESCO en 1994, es la reserva biológica más importante de España, y la mayor área protegida. Es un ecosistema único en toda Europa, debido a su gran diversidad ecológica. Las dunas, playas y marismas forman parte de este espacio característico que constituye una ruta de migración e hibernación preferente para miles de aves debido a las singulares condiciones que confluyen en este lugar, siendo además un refugio para especies en peligro de extinción como el lince ibérico y el águila imperial.

El Parque de Doñana presenta un equilibrio extremadamente vulnerable con necesidades ambientales especiales, en el que la calidad de las aguas superficiales juega un papel muy importante. Diversos estudios han puesto de manifiesto la presencia de metales pesados en los principales aportes hídricos del Parque [1, 2], sin embargo otros contaminantes no han recibido la atención pertinente [3, 4].

Los denominados contaminantes “emergentes” han suscitado un gran interés en el mundo científico en los últimos años. Entre ellos, los fármacos ocupan un lugar destacado ya que, aunque sus concentraciones en el medio ambiente son relativamente bajas ( $\mu\text{g L}^{-1}$  o  $\text{ng L}^{-1}$ ), en algunos casos son suficientes para provocar efectos adversos en los organismos [5, 6]. No obstante, a pesar de que su presencia en diversas matrices medioambientales (aguas residuales y superficiales y sedimentos) ha sido ampliamente

descrita [7-11], hasta el momento no existe una legislación en la que se regule la descarga de estas sustancias al medioambiente.

En este trabajo, se estudió la presencia de dieciséis fármacos en el agua residual efluente que afecta a los principales aportes hídricos de Doñana y en el agua superficial de esta área, así como el riesgo medioambiental asociado a la presencia de los fármacos. Los fármacos objeto de estudio fueron cinco antiinflamatorios (ácido salicílico, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno), dos antibióticos (sulfametoxazol y trimetoprim), un antiepiléptico (carbamecepin), un  $\beta$ -bloqueante (propranolol), un estimulante nervioso (cafeína), cuatro hormonas (17  $\alpha$ -etinilestradiol, 17  $\beta$ -estradiol, estriol y estrona) y dos reguladores lipídicos (ácido clofíbrico y gemfibrozilo).

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1 Área de estudio y puntos de muestreo**

El periodo de muestreo abarcó desde mayo del 2008 a abril de 2009. En ese periodo se tomaron un total de cuarenta y ocho muestras de agua superficial, una cada mes. Los puntos de muestreo S1 (N 37°14'39.1"; O 6°15'56.6") y S2 (N 37°6'21.2"; O 6°15'29.0") se encontraban situados en el río Guadiamar, el tercer punto (S3) (N 37°7'33.0"; O 6°29'38.4") en el arroyo La Rocina y el cuarto punto (S4) (N 37°10'27.7"; O 6°27'28.5") en el arroyo El Partido. Cada muestra fue combinación de una serie de alícuotas tomadas a la misma profundidad a lo largo de los cauces. Las muestras fueron transferidas a frascos de color topacio y almacenadas a 4°C hasta el análisis.

Durante este mismo periodo se tomaron cuatrimestralmente muestras de agua residual efluente procedentes de once estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs) y dos muestras de agua de un vertido directo. Cada muestra fue combinación de las alícuotas recogidas durante 24 horas para que fueran representativas de cada efluente.

## 2.2 Materiales y métodos

Los disolventes acetonitrilo, agua y metanol de calidad HPLC fueron suministrados por Romil Ltd. (Barcelona, España). Acetona y hexano, ambos de calidad HPLC, y ácido sulfúrico de grado analítico fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España). El dihidrógeno fosfato potásico de calidad analítica fue obtenido de Scharlau (Barcelona, España). Los principios activos ácido clofibríco, ácido salicílico, carbamacepina, diclofenaco, ketoprofeno y naproxeno fueron adquiridos a Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemania).  $17\alpha$ -Etinilestradiol,  $17\beta$ -estradiol, estriol, estrona, gemfibrozilo, ibuprofeno, propranolol, sulfametoxazol y trimetoprim (>99%) fueron obtenidos de Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemania). La cafeína fue suministrada por Merck (Darmstadt, Alemania). Se prepararon disoluciones patrón  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  de cada fármaco en metanol y se almacenaron a  $4^\circ\text{C}$ , y a partir de éstas se prepararon las disoluciones más diluidas de trabajo.

La determinación analítica se desarrolló de acuerdo al método previamente descrito por Camacho-Muñoz et al., (2009) [12], que se basa en un tratamiento de la muestra mediante extracción en fase sólida con cartuchos Oasis HLB (60 mg) (Waters, Milford, MA, USA) y su determinación mediante cromatografía líquida de alta resolución con detectores de fila de diodos y de fluorescencia situados en serie. La separación cromatográfica se realizó usando una columna tipo cartucho Zorbax Eclipse XDB- C18 (150mm x 4.6mm,  $5\mu\text{m}$ ) (Agilent, USA), protegida con una precolumna XDB-C18 (4mm x 4mm,  $5\mu\text{m}$ ) (Agilent, USA), y termostatzada a  $30^\circ\text{C}$ . La elución se realizó en gradiente con acetonitrilo y disolución 25mM de dihidrógeno fosfato potásico a un flujo de  $1.2 \text{ mL min}^{-1}$ .

## 2.3 Evaluación de riesgo toxicológico

Los riesgos potenciales de cada fármaco fueron evaluados mediante los coeficientes de riesgo (CR) calculados a partir de la relación entre (i) las concentraciones medidas de cada fármaco, para lo que se emplearon los valores medios de concentración medidos tras eliminar los valores anómalos, y (ii) las concentraciones máximas para las que no se prevén que existan efectos negativos. Las concentraciones máximas para las que no se prevén efectos

nocivos se calcularon a partir de los numerosos ensayos de toxicidad descritos en la literatura científica. Se contemplaron estudios realizados en numerosos organismos acuáticos entre los que se encuentran bacterias, algas, invertebrados y peces. Para abarcar la toxicidad de especies más sensibles a las habitualmente contempladas en esos estudios el valor de toxicidad contemplado fue 1000 veces inferior al bibliográfico. Valores de CR superiores a 1 indicarán la existencia de riesgo para los organismos acuáticos [13, 14].

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1 Presencia de fármacos en el agua residual efluente**

Todos los fármacos, excepto las hormonas 17 -etinilestradiol y estrona, se detectaron en las muestras de agua efluente analizadas (Figura 1). Los fármacos detectados con mayor frecuencia fueron el naproxeno (91%), ácido salicílico (83%), propanolol (83%), gemfibrozilo (74%) e ibuprofeno (63%), mientras que el resto de fármacos se detectaron en menos del 20% de las muestras analizadas. La carbamacepina, aunque sólo se encontró en el 37% de las muestras de agua efluente, llegó a alcanzar concentraciones de hasta  $17.3 \mu\text{g L}^{-1}$ . La persistencia de este antiepiléptico en el medio ambiente, así como su baja eliminación en los tratamientos de aguas residuales, han motivado que numerosos autores la hayan considerado marcador de contaminación antropogénica [15].

El alto consumo de los antiinflamatorios, así como su venta sin necesidad de prescripción médica, explica que estos fármacos sean los detectados en mayores concentraciones en las aguas efluente, en especial el ácido salicílico y el ibuprofeno con concentraciones medias de  $8.01$  y  $5.72 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. El resto de fármacos se detectaron a niveles de concentración media comprendida entre  $0.05$  (ácido clofíbrico) y  $1.64 \mu\text{g L}^{-1}$  (gemfibrozilo). Estos niveles de concentración fueron similares a los descritos por otros autores en aguas residuales efluente [9, 14, 16, 17]. La mayor presencia de fármacos se detectó en los efluentes que vierten al Partido (S4), seguido del Guadiamar (S1 y S2), del Guadalquivir y finalmente de la Rocina (S3).

### 3.2 Presencia de fármacos en el agua superficial

Los fármacos detectados con mayor frecuencia en las aguas superficiales analizadas fueron el ácido salicílico (92%), cafeína (63%), gemfibrozilo (83%), ibuprofeno (65%), naproxeno (65%) y propanolol (65%). Tres de los fármacos (ácido clofíbrico, estrona y sulfametoxazol) no fueron detectados en ninguna de las 48 muestras analizadas. La hormona  $17\alpha$ -etinilestradiol fue el único fármaco no detectado en agua residual y detectado en dos muestras de agua superficial en concentraciones de 0.18 y 0.28  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Tras una considerable disminución de las concentraciones medidas en los efluentes, debido principalmente a fenómenos de dilución, se observó una distribución similar de fármacos en las aguas superficiales y efluentes (Figura 1). Los antiinflamatorios fueron los fármacos presentes en mayores concentraciones, lo que revela que los efluentes de las EDARs son la principal fuente de fármacos que afectan a Doñana. Los niveles de concentración detectados en las aguas de Doñana, fueron ligeramente superiores a los detectados por otros autores en otras aguas superficiales de ríos [18, 19].

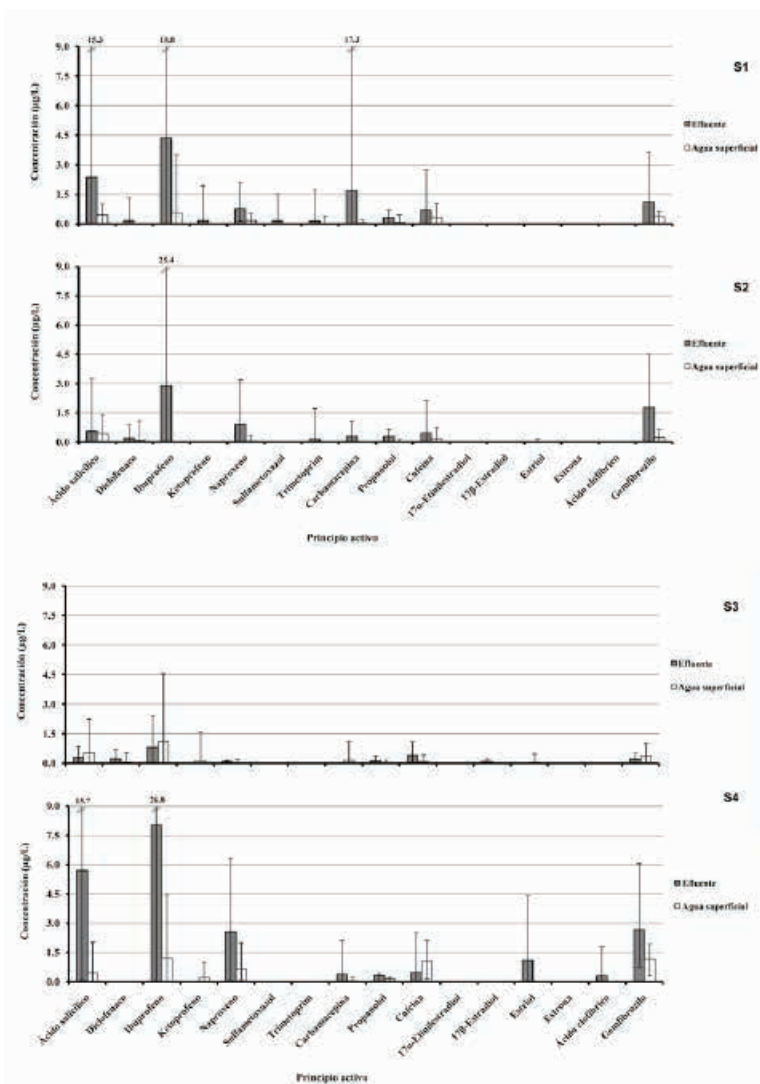


Figura 1. Concentraciones medias y máximas de cada principio activo en el agua superficial y el agua residual efluente que afecta a los puntos S1, S2, S3 y S4. Fuente: Grupo Anquimed

### 3.3 Evaluación del riesgo

La Figura 2 muestra los valores de CR calculados para cada fármaco, tal y como se describió en la sección 2.3., en las muestras de agua superficial. Bajo estas condiciones, ninguno de

los CR de los fármacos superó el valor límite de 1. Los fármacos con mayores valores medios de CR fueron el gemfibrozilo (CR = 1 en S4) e ibuprofeno (CR = 0.90 en S3 y CR = 0.88 en S4). Sin embargo, en algunos meses y en algunos puntos de muestreo concretos, los CR de varios fármacos excedieron el valor límite de 1. Los fármacos que excedieron el valor límite para el CR fueron las hormonas  $17\alpha$ -etinilestradiol (en diciembre en S1 y en septiembre en S3) y  $17\beta$ -estradiol (en junio en S1 y S2 y en octubre en S1), el antiinflamatorio ibuprofeno (en agosto en S1, en junio, julio y agosto en S3 y en septiembre en S4) y el regulador lipídico gemfibrozilo (en enero, febrero, septiembre, octubre y noviembre en S4).

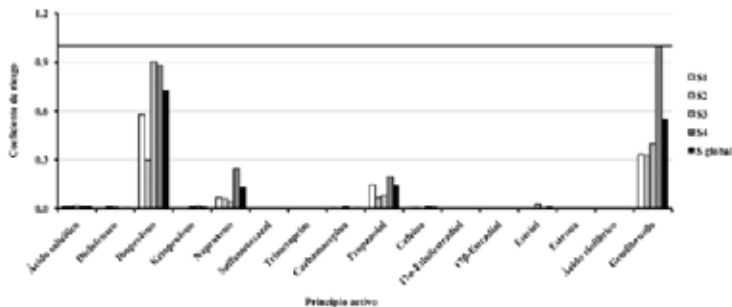


Figura 2. Coeficientes de riesgo promedio de los principios activos en cada punto de muestreo (S) de agua superficial  
Fuente: Grupo Anquimed

#### 4. CONCLUSIONES

Los 16 fármacos analizados se detectaron tanto en agua residual efluente (excepto  $17\alpha$ -etinilestradiol y estrona) como en agua superficial (excepto ácido clofibrato, estrona y sulfametoxazol). Los antiinflamatorios fueron los fármacos encontrados en mayores concentraciones, tanto en el agua residual efluente como en el agua superficial, lo que se justifica por su elevado consumo motivado por su aplicación farmacológica y su facilidad de adquisición por los pacientes al no necesitar prescripción médica. Los riesgos ecotoxicológicos de la presencia de fármacos en el medio acuático del Parque de Doñana se limitaron a algunos puntos de muestreo en meses específicos, en especial durante los meses estivales cuando el flujo de agua es menor. En cualquier caso, la presencia

de fármacos en los efluentes de las EDARs que afectan al Parque sugiere la necesidad de implementar tratamientos terciarios que mejoren la calidad de las aguas efluentes antes de ser vertidas a los principales aportes hídricos del área protegida de Doñana.

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores agradecen la financiación recibida de la Agencia Andaluza del Agua de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, y del Ministerio de Educación y Ciencia (Proyecto nº CGL2007-62281) para la realización de este trabajo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- GARRALÓN A, GÓMEZ P, TURRERO M, SÁNCHEZ M, MELÓN AM. The geochemical aspects of toxic waters retained in the Entremuros area (Spain). *Sci Total Environ* 1999; 242:27–40.
- LÓPEZ-PAMO E, BARETTINO D, ANTÓN-PACHECO C, ORTIZ G, ARRÁNZ JC, GUMIEL JC, MARTINEZ-PLEDEL B, APARICIO M, MONTOUTO O. The extent of the Aznalcóllar pyretic sludge spill and its effects on soils. *Sci Total Environ* 1999; 242:57–88.
- CAMACHO-MUÑOZ D, MARTÍN J, SANTOS JL, APARICIO I, ALONSO E. Occurrence, temporal evolution and risk assessment of pharmaceutically active compounds in Doñana Park (Spain). *J Hazard Mater* 2010; 183:602–608.
- CAMACHO-MUÑOZ MD, SANTOS JL, APARICIO I, ALONSO E. Presence of pharmaceutically active compounds in Doñana Park (Spain) main watersheds. *J Hazard Mater* 2010; 177:1159–1162.
- FENT K, WESTON AA, CAMINADA D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat Toxicol* 2006; 76:122–159.
- SANTOS LHMLM, ARAÚJO AN, FACHINI A, PENA A, DELERUEMATOS C, Montenegro MCBSM. Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *J Hazard Mater*; 2010; 175:45–95.
- COMEAU F, SURETTE C, BRUN GL, LOSIER R. The occurrence of acidic drugs and caffeine in sewage effluents and receiving waters from three coastal watersheds in Atlantic Canada. *Sci Total Environ* 2008; 396:132–146.



DÍAZ-CRUZ M, LÓPEZ DE ALDA MJ, BARCELÓ D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends Anal Chem* 2003; 22:340-351.

SANTOS JL, APARICIO I, CALLEJÓN M, ALONSO E. Occurrence of pharmaceutically active compounds during 1-year period in wastewaters from four wastewater treatment plants in Seville (Spain). *J Hazard Mater* 2009; 164:1509–1516.

KASPRZYK-HORDERN B, DINSDALE RM, GUWY AJ. The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Res* 2008; 42:3498-3518.

MARTÍN J, SANTOS JL, APARICIO I, ALONSO E. Multi-residue method for the analysis of pharmaceutical compounds in sewage sludge, compost and sediments by sonication-assisted extraction and LC determination. 2010; 33:1760-1766.

CAMACHO-MUÑOZ D, MARTÍN J, SANTOS JL, APARICIO I, ALONSO E. An affordable method for the simultaneous determination of the most studied pharmaceutical compounds as wastewater and surface water pollutants. *J Sep Sci* 2009; 32:3064-3073.

EC, Technical guidance document on risk assessment, TGD Part II. Technical Report, Institute for health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, European Commission (EC), 2003.

TAUXE-WUERSCH LF, DE ALENCASTRO D, GRANDJEAN J, TARRADELLAS. Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment. *Water Res* 2005; 39:1761–1772.

CLARAM, STRENN B, KREUZINGERN. Carbamazepine as a possible anthropogenic marker in the aquatic environment: investigations on the behavior of carbamazepine in wastewater treatment and during groundwater infiltration. *Water Res* 2004; 38:947-954.

GROS M, PETROVIC M, BARCELÓ D. Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and automated library searching. *Anal Chem* 2009; 81:898–912.

LINDQVIST N, TUHKANEN T, KRONBERG L. Occurrence of acidic pharmaceuticals in raw and treated sewages and in receiving waters. *Water Res* 2005; 39:2219–2228.

GROS M, PETROVIC M, BARCELÓ D. Wastewater treatment plants as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the

Ebro river basin (northeast Spain). *Environ Toxicol Chem* 2007; 26:1553–1562.

WIEGEL S, AULINGER A, BROCKMEYER R, HARMS H, LÖFFLER J, REINCKE H, SCHMIDT R, STACHEL B, VON TÜMPLING W, WANKE A. Pharmaceuticals in the river Elbe and its tributaries. *Chemosphere* 2004; 57:107–126.