

ANÁLISIS DE COMPUESTOS FARMACÉUTICOS Y PRODUCTOS DE CUIDADO PERSONAL (PPCPs) EN LODOS DE DEPURADORA

N. Pérez-Lemus^{1,2}

¹Departamento de Química Analítica. Facultad de Ciencias. Universidad de Valladolid. Campus Miguel Delibes. Paseo de Belén 9, 47008. Valladolid. nereida.perez@uva.es

²Instituto de Procesos Sostenibles. Universidad de Valladolid. Dr. Mergelina s/n. 47011. Valladolid

1. Introducción

El desarrollo de métodos de análisis nuevos y más sensibles que se han producido en los últimos años, han permitido alertar de la presencia de compuestos, potencialmente peligrosos, de origen antropogénico a niveles de trazas en aguas residuales, denominados “contaminantes emergentes” (CEs). Estos contaminantes son compuestos de diverso origen y naturaleza química; retardantes de llama, parafinas cloradas, pesticidas, compuestos perfluorados, compuestos farmacéuticos (PhACs), productos de cuidado personal (PCPs) y drogas de abuso, entre otros. La gran mayoría de estos contaminantes no se encuentran regulados por ninguna legislación, tanto europea como española, pero se consideran perjudiciales para el medio ambiente y la salud humana ya que pueden causar diversos efectos nocivos en los organismos, como toxicidad crónica, disrupción endocrina y bioacumulación [1].

Uno de los principales problemas de este tipo de contaminantes se encuentra en que la mayoría de ellos no se eliminan de forma adecuada y eficiente con los tratamientos actuales en las Estaciones de Depuración de Aguas Residuales (EDARs) ya que no están diseñadas para eliminar dichos contaminantes presentes a bajas concentraciones (ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$), siendo una fuente de contaminación. Por ejemplo, los lodos de depuración generados son, a menudo, empleados en actividades agrícolas y forestales, principalmente debido a su capacidad para fertilizar los suelos y el bajo impacto económico de esta práctica [2], lo que lleva a su propagación en el medio ambiente.

La lista de CEs incluye una gran variedad de productos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticas. Dentro de esa gran variedad, encontramos los compuestos farmacéuticos y productos de cuidado personal, conocidos como PPCPs (“pharmaceuticals and personal care products”), un amplio grupo empleado en el cuidado personal de la salud humana y animal. Los PPCPs engloban una amplia variedad de sustancias químicas como son los medicamentos terapéuticos o veterinarios, las fragancias y los cosméticos, empleados en el cuidado estético, en el bienestar y salud personal, así como en la industria agroalimentaria para mejorar la salud y crecimiento de los animales. Los compuestos farmacéuticos (PhACs) son los que más interés han generado, cogiendo fuerza en la década de los 90. Su uso generalizado da lugar a una descarga continua al medio ambiente, pudiendo llegar a quedarse retenidos en el

entorno o incluso acumularse, afectando al ecosistema y a los seres humanos a través de la cadena trófica [3].

Se ha observado la presencia de PPCPs en lodos de depuradora de la mayoría de las EDARs en diferentes partes del mundo. Entre los PhACs se pueden encontrar antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como ibuprofeno [4,5], naproxeno [4,5] o diclofenaco [4,5], antibióticos como enrofloxacin [6] y doxiciclina [6], anticonvulsivos o reguladores de lípidos como carbamazepina [5] y ácido clofbrico [4], respectivamente. Un caso muy particular es el de los compuestos citostáticos como vinblastina [7] o vincristina [7], diseñados y utilizados para causar la disfunción celular porque son capaces de inhibir el crecimiento desordenado de células, alterar la división celular y destruir las células que se multiplican de forma rápidamente. Por otro lado, entre los productos de cuidado personal (PCPs) se pueden encontrar conservantes como metilparabeno [4], etilparabeno [4] o propilparabeno [4], agentes antibacterianos como triclosán [4,8] o triclocarbán [8] y filtros UV como benzofenona-1 [8,9] y benzofenona-2 [8,9], considerados disruptores endocrinos ya que alteran el sistema endocrino del organismo [1].

2. El análisis de las muestras de lodo de depuradora

Diferentes estudios realizados en distintas partes del mundo han observado la presencia de PPCPs en diferentes matrices ambientales. Algunos PPCPs como diclofenaco (AINE), triclosan (agente antibacteriano de amplio espectro), triclocarbán (agente antibacteriano), propranolol (agente antihipertensivo) o el miconazol (agente antifúngico) son frecuentemente observados en lodos de depuradora de la mayoría de las EDARs [10].

Los lodos de depuradora se caracterizan por ser un residuo prácticamente líquido (más de un 95% de agua) y su composición va a depender de la carga de contaminación del agua residual inicial y de las características de los diferentes tratamientos aplicados en las aguas residuales. La matriz asociada es muy compleja, no es uniforme en su composición y, además, el lodo contiene ciertas sustancias que podrían interferir en la determinación de los compuestos de interés. Esas interferencias pueden afectar a todo el proceso analítico desde la preparación de la muestra hasta la detección instrumental. Por lo tanto, es necesario eliminarlos de las muestras mediante procedimientos de limpieza [10].

2.1. Pre-tratamiento de muestra

Las muestras de lodo recogidas de las EDARs son congeladas y liofilizadas para poder eliminar el contenido de agua que contienen las mismas y, posteriormente, almacenadas a una temperatura de -

20°C hasta su análisis. La preparación de las muestras conlleva la mayor parte del tiempo de análisis y, por lo general, incluye un proceso de extracción seguido de un paso de limpieza [10].

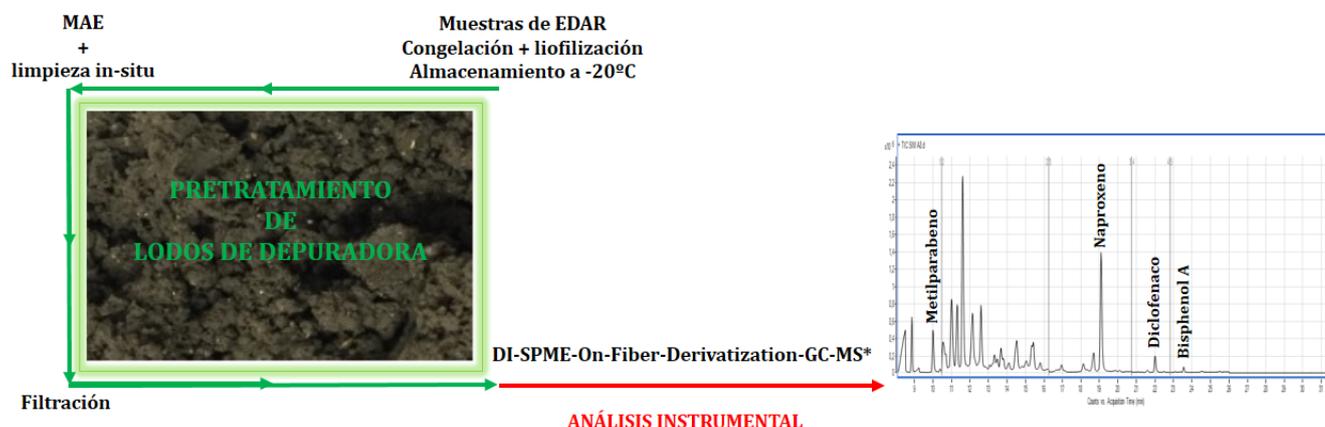


Fig.1. Metodología analítica desarrollada por Pérez-Lemus et al. (2020) [4] para la determinación de PPCPs en lodos de depuradora

2.1.1. Etapa de extracción

La extracción permite separar los analitos de interés de la muestra para un análisis posterior más sencillo ya que los lodos son muestras sólidas complejas con gran cantidad de especies capaces de interferir con los propios analitos a la hora de ejecutar su análisis. Se pueden encontrar diferentes técnicas empleadas para conseguir una extracción satisfactoria. Las técnicas utilizadas presentan las ventajas de tiempos de extracción cortos y el uso de pequeñas cantidades de disolvente, por lo que se consideran técnicas amigas del medio ambiente. La más empleada es la extracción asistida por ultrasonidos (UAE) [8,9,11]. Es un método relativamente económico en comparación con otros y de una gran simplicidad. Otras técnicas más modernas son la extracción asistida por microondas (MAE) [4,7] y la extracción de líquido presurizado (PLE) [5], siendo ambas técnicas automatizables. En el caso de MAE, permite la reducción de muestras y energía, consiguiendo reducir la generación de residuos [12]. En el caso de PLE, se considera una técnica de alto rendimiento para la determinación de una gran cantidad de analitos en muestras ambientales. Se trata de una técnica muy eficaz a la hora de extraer los analitos de interés, aunque también extrae otros compuestos presentes en la muestra, lo que implica la necesidad de una etapa de limpieza posterior a la extracción. PLE es una técnica más rápida y se obtienen mayores rendimientos en comparación con otros procedimientos de extracción convencionales. El inconveniente es el empleo de temperaturas elevadas y las extracciones poco selectivas [13]. Y sobre todo, tanto MAE como PLE presentan el elevado precio del equipo. Una técnica alternativa y

mucho más novedosa es la extracción de la matriz en fase sólida (MSPD) [14]. Esta técnica implica un proceso permitiendo la extracción y limpieza simultánea de muestras sólidas o semisólidas con una reducción significativa del consumo de disolventes y sin requerir instrumentación particularmente costosa [15,16].

2.1.2. Limpieza

En la mayoría de los casos, se necesita una etapa de limpieza posterior a la extracción, ya que algunas técnicas de extracción no son lo suficientemente selectivas como para extraer únicamente los compuestos de interés, sino que también extraen otros compuestos presentes en la muestra conocidos como interferentes, ya que interfieren y complican el análisis de los compuestos de interés de una muestra [10]. La extracción en fase sólida (SPE) es la técnica de limpieza más empleada previa al análisis debido a la poca selectividad de las técnicas de extracción empleadas o para una mejora de los propios resultados [9,11]. Esta técnica permite concentrar y separar analitos de una matriz compleja mediante una fase sólida estacionaria. Se consigue eliminar los interferentes que no han quedado retenidos y, posteriormente, los analitos de interés se analizan con la técnica analítica adecuada [10]. Algunas ventajas son el tamaño de muestra, la pequeña cantidad de volumen de elución, las reducidas limitaciones en la utilización de disolventes, el poco consumo de disolventes y, por último, las pocas posibilidades de contaminación. Una alternativa a la SPE, es la extracción dispersiva en fase sólida (d-SPE) [8], una técnica simple, de fácil manejo y adaptable. Además, es

una técnica selectiva, robusta, versátil y de bajo coste en comparación con técnicas clásicas. Entre sus ventajas, destacan la reducción del tiempo en el tratamiento de la muestra, permitiendo así analizar más cantidad de muestras en menos tiempo y la poca cantidad de disolvente requerida.

2.2. Análisis instrumental

Para valorar el comportamiento de los PPCPs en los diferentes tratamientos de muestra empleados es necesario el desarrollo de metodologías que permitan su identificación y cuantificación en distintas matrices ambientales. Las técnicas de análisis de estos contaminantes más empleadas corresponden a la cromatografía de líquidos con detector de masas en tándem (LC-MS/MS) [8,12] o cromatografía de alta

presión (UHPLC) [6,7]. El sistema UHPLC ha permitido un aumento de la resolución, la velocidad y la sensibilidad [17]. El inconveniente es que estas técnicas requieren una instrumentación compleja que no está al alcance de todos los laboratorios y, a pesar de que una gran cantidad de estos compuestos son polares y no pueden analizarse de manera sencilla por cromatografía de gases, la técnica de cromatografía de gases con detector de masas (GC-MS) puede ser efectiva para su determinación en matrices ambientales tras una derivatización de las muestras [4]. Además, la microextracción en fase sólida mediante inmersión directa es la técnica cada vez más utilizada en la actualidad para la extracción de estos contaminantes en muestras ambientales como el caso de lodos de depuradora y los últimos avances van encaminados hacia su empleo de forma automática [4].

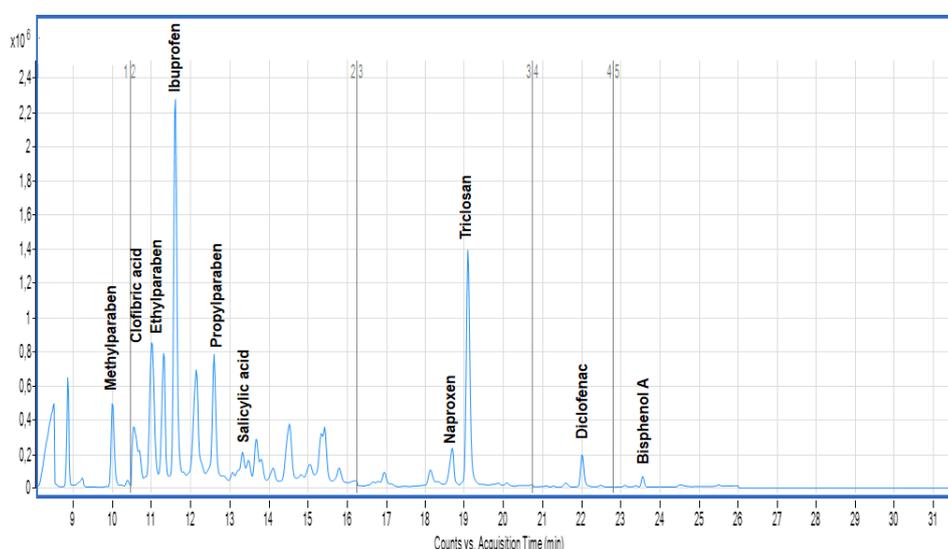


Fig. 2. Cromatograma de una muestra de lodo de depuradora después de su análisis por DI-SPME-on-fiber-derivatization-GC-MS [4]

3. Conclusiones

La mayoría de estudios realizados en los últimos años se centraron en la determinación de PPCPs en muestras de lodo de depuradora, concretamente en PhACs, debido a que gran parte de ellos son continuamente liberados al medio ambiente, convirtiéndolos en agentes contaminantes. En ciertos casos, técnicas de pre-tratamiento de muestra como MAE o PLE, o incluso más novedosas como MSPD se emplearon para la extracción de los analitos de interés, sin embargo, UAE sigue siendo la más popular ya que proporciona una muestra segura, rápida y fácil de preparar. Habitualmente, después del paso de extracción, una etapa de limpieza es necesaria ya que la extracción no es completamente selectiva, siendo SPE la técnica más empleada después de la extracción de los PPCPs en este tipo de matrices. Para el análisis de los contaminantes en muestras de lodo de depuradora, LC

acoplada a MS/MS fue la técnica principalmente seleccionada. Sin embargo, GC acoplada a MS es otra técnica empleada para el análisis de PPCPs tras una etapa de derivatización de las muestras. En la actualidad, se han desarrollado métodos analíticos cada vez más sensibles que permiten identificar y cuantificar CE, especialmente, en muestras ambientales, donde su presencia es considerablemente baja. Además, los nuevos métodos y procesos que se están desarrollando permiten reducir o incluso eliminar el uso de sustancias extremadamente nocivas, permitiendo seguir haciendo química, pero de forma sostenible y cuidando nuestra salud y la de nuestro planeta.

Agradecimientos

La autora agradece la financiación por parte del Gobierno español (MINECO-CTM2015-70722-R), de la Junta de

Castilla y León y la EU-FEDER (CLU 2017-09, UIC 071) y Red Novedar.

4. Referencias

- [1] A. Gogoi, P. Mazumder, V.K. Tyagi, G.G. Tushara Chaminda, A.K. An, M. Kumar, Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review, *Groundw. Sustain. Dev.* 6 (2018) 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2017.12.009>.
- [2] G. Llorens-Blanch, M. Badia-Fabregat, D. Lucas, S. Rodriguez-Mozaz, D. Barceló, T. Pennanen, G. Caminal, P. Blánquez, Degradation of pharmaceuticals from membrane biological reactor sludge with *Trametes versicolor*, *Environ. Sci. Process. Impacts.* 17 (2015) 429–440. <https://doi.org/10.1039/c4em00579a>.
- [3] A.J. Ebele, M. Abou-Elwafa Abdallah, S. Harrad, Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment, *Emerg. Contam.* 3 (2017) 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2016.12.004>.
- [4] N. Pérez-Lemus, R. López-Serna, S.I. Pérez-Elvira, E. Barrado, Sample pre-treatment and analytical methodology for the simultaneous determination of pharmaceuticals and personal care products in sewage sludge, *Chemosphere.* 258 (2020) 127273. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127273>.
- [5] J.L. Malvar, J.L. Santos, J. Martín, I. Aparicio, E. Alonso, Simultaneous pressurized liquid extraction and clean-up for the determination of metabolites in complex environmental solid matrices, *Microchem. J.* 152 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104370>.
- [6] R.P. Bisognin, D.B. Wolff, E. Carissimi, O.D. Prestes, R. Zanella, Occurrence and fate of pharmaceuticals in effluent and sludge from a wastewater treatment plant in Brazil, *Environ. Technol. (United Kingdom)*. (2019). <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1701561>.
- [7] S. Santana-Viera, J. Tuček, M.E. Torres-Padrón, Z. Sosa-Ferrera, J.J. Santana-Rodríguez, R. Halko, Cytostatic compounds in sludge and sediment: extraction and determination by a combination of microwave-assisted extraction and UHPLC–MS/MS, *Anal. Bioanal. Chem.* 412 (2020) 3639–3651. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02600-0>.
- [8] C. Abril, J.L. Santos, J. Martín, I. Aparicio, E. Alonso, Occurrence, fate and environmental risk of anionic surfactants, bisphenol A, perfluorinated compounds and personal care products in sludge stabilization treatments, *Sci. Total Environ.* 711 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135048>.
- [9] G.P. Black, T. Anumol, T.M. Young, Analyzing a broader spectrum of endocrine active organic contaminants in sewage sludge with high resolution LC-QTOF-MS suspect screening and QSAR toxicity prediction, *Environ. Sci. Process. Impacts.* 21 (2019) 1099–1114. <https://doi.org/10.1039/c9em00144a>.
- [10] N. Pérez-Lemus, R. López-Serna, S.I. Pérez-Elvira, E. Barrado, Analytical methodologies for the determination of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in sewage sludge: A critical review, *Anal. Chim. Acta.* 1083 (2019) 19–40. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.06.044>.
- [11] M.K. Yadav, C. Gerber, C.P. Saint, B. Van den Akker, M.D. Short, Understanding the Removal and Fate of Selected Drugs of Abuse in Sludge and Biosolids from Australian Wastewater Treatment Operations, *Engineering.* 5 (2019) 872–879. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2019.07.012>.
- [12] M. Llompарт, M. Celeiro, T. Dagnac, Microwave-assisted extraction of pharmaceuticals, personal care products and industrial contaminants in the environment, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 116 (2019) 136–150. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.04.029>.
- [13] A. Nieto, F. Borrull, E. Pocurull, R.M. Marcé, Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge, *TrAC - Trends Anal. Chem.* 29 (2010) 752–764. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.03.014>.
- [14] M.B.R. Cerqueira, L. Kupski, S.S. Caldas, E.G. Primel, Golden mussel shell and water in matrix solid phase dispersion: A suitable combination for the extraction of acetylsalicylic and salicylic acids from sewage sludge, *Microchem. J.* 148 (2019) 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.04.046>.
- [15] D. Mutavdžić Pavlovic, T. Pinušić, M. Periša, S. Babić, Optimization of matrix solid-phase dispersion for liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of 12 pharmaceuticals in sediments, *J. Chromatogr. A.* 1258 (2012) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.025>.
- [16] S. Triñanes, M.C. Casais, M.C. Mejuto, R. Cela, Matrix solid-phase dispersion followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of selective cicloxygenase-2 inhibitors in sewage sludge samples, *J. Chromatogr. A.* 1462 (2016) 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.07.044>.
- [17] M. Taleuzzaman, S. Ali, S. Gilani, I. Imam, A. Hafeez, Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) - A Review, *Austin J Anal Pharm Chem. Austin J Anal Pharm Chem.* 2 (2015) 1056–6. <http://austinpublishinggroup.com/analytical-pharmaceutical-chemistry/fulltext/ajapc-v2-id1056.php#Advantages of UPLC>.