

CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES TRATADAS: RIESGOS AMBIENTALES SOBRE UN HUMEDAL RAMSAR

Emilio Moreno⁽¹⁾, María Gómez Pozuelos⁽¹⁾, Cristina Postigo⁽²⁾, Inmaculada de Vicente^(1,3), José María Conde-Porcuna^(1,3)

⁽¹⁾Instituto del Agua, Universidad de Granada, 18071 Granada, mariagomezp@ugr.es, emiliojml@ugr.es, jmconde@ugr.es, ivicente@ugr.es

⁽²⁾Departamento de Ingeniería Civil, E.T.S. de Ingeniería de Caminos, Canales y Puertos, Universidad de Granada, 18071, Granada, cristina.postigo@ugr.es

⁽³⁾Departamento de Ecología, Universidad de Granada, 18071 Granada

RESUMEN

Este estudio investigó la presencia y distribución de contaminantes emergentes en aguas superficiales en Fuente de Piedra (Málaga, España), un humedal Ramsar relevante por su valor ecológico y que recibe aguas residuales tratadas de una depuradora próxima al área de estudio. Se establecieron 5 estaciones de muestreo a lo largo del flujo de agua que discurre a través de una serie de lagunas seminaturales desde la depuradora hasta la laguna de Fuente de Piedra. Los resultados revelaron la presencia de un total de 34 contaminantes emergentes detectados de manera habitual en todas las muestras analizadas durante un periodo de 4 meses. Los contaminantes más abundantes fueron fármacos (13), seguidos de pesticidas (11), drogas y sustancias estimulantes (9) y productos de cuidado personal (1). La evolución espacio-temporal de 6 contaminantes emergentes seleccionados (cafeína, benzoilecgonina, naproxeno, ofloxacina, imidacloprid y diazinón) mostró concentraciones decrecientes de estos contaminantes a su paso por las lagunas seminaturales, lo que demuestra el papel depurador de dichas lagunas. Las estimaciones de los cocientes de riesgo revelaron un riesgo moderado-alto de la cafeína para los dos niveles tróficos (zooplancton y fitoplancton), un rango bajo o sin riesgo-medio de ofloxacina y diazinón sólo para el zooplancton, y de naproxeno para los dos niveles tróficos, y por último un riesgo bajo o sin riesgo de benzoilecgonina e imidacloprid para los dos niveles tróficos. Estos resultados permitirán en un futuro llevar a cabo ensayos ecotoxicológicos para ver los efectos de distintas concentraciones de estos contaminantes sobre diferentes especies acuáticas representativas.

Palabras clave: contaminantes emergentes, humedal, Fuente de Piedra, toxicidad, aguas residuales tratadas

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de agua dulce se encuentran en la actualidad ante una alarmante situación de riesgo debido al acelerado crecimiento de la población mundial, las prácticas agrícolas extensivas y la industrialización que han incrementado la escasez de recursos hídricos y provocado la entrada de numerosos contaminantes químicos en el medio ambiente. Algunos humedales mediterráneos, destacando en particular el humedal Ramsar Fuente de Piedra (Málaga, España), se encuentran fuertemente afectados por las entradas de contaminantes que provienen de las descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales (de-los-Ríos-Mérida *et al.*, 2017, 2021), haciendo necesario un mayor seguimiento de este tipo de contaminantes así como técnicas más eficientes en las plantas de tratamiento para conseguir una mejora en la calidad del agua de los sistemas acuáticos receptores.

La mayoría de estos contaminantes son los denominados contaminantes emergentes (CE). Los CE son sustancias químicas que pueden ser de síntesis o naturales, aunque también se incluyen microorganismos que no se encuentran regularmente monitoreados en los sistemas de tratamiento de aguas residuales convencionales y que pueden provocar efectos adversos para la salud humana y el medio ambiente (Kumar *et al.*, 2022). Los CE tienen una naturaleza muy compleja, incluyendo, entre otros, productos farmacéuticos, de cuidado personal y limpieza, drogas, pesticidas y productos químicos industriales. La mayoría de los CE no se encuentran incluidos en las listas de vigilancia de contaminantes de la Unión Europea debido, esencialmente, a la dificultad para su identificación y cuantificación de manera rutinaria. La principal vía de entrada a los sistemas acuáticos de los productos farmacéuticos, de cuidado personal y las drogas son fuentes de contaminación puntuales como los vertidos de aguas residuales urbanas tratadas y sin tratar. En el caso de los pesticidas, la vía de entrada más importante está representada por las fuentes de contaminación difusas como las actividades agrícolas y ganaderas (Cabeza *et al.*, 2012). Aunque las plantas de tratamiento de aguas residuales actúan como una primera barrera contra la entrada y propagación de los CE a los sistemas acuáticos, sus técnicas de eliminación hasta el momento son insuficientes (Pal *et al.*, 2010). Por ello es necesario desarrollar nuevas tecnologías que permitan una retirada de CE más eficientes y mitiguen su impacto en el medio ambiente.

Numerosos estudios han destacado la presencia de CE en diferentes partes del mundo, que abarcan una amplia gama de sistemas acuáticos, incluidas cuencas de captación de agua dulce, efluentes de aguas residuales, lagos, ríos, embalses, estuarios y aguas marinas (Pal *et al.*, 2010). En el caso de Fuente de Piedra se han detectado CE como la benzoilecgonina, metabolito de la cocaína, fármacos como el naproxeno o pesticidas como la carbendazima en aguas subterráneas (Vadillo-Pérez *et al.*, 2018). La identificación y cuantificación de estos contaminantes en aguas superficiales de Fuente de Piedra es esencial para comprender su impacto potencial en los ecosistemas acuáticos en general, y en los humedales mediterráneos en particular, y que puedan ser candidatos para futuras regulaciones.

Si bien los CE se suelen presentar, en general, en concentraciones muy bajas (en concentraciones de ng L^{-1} a $\mu\text{g L}^{-1}$) en el medio ambiente, pueden llegar a representar un peligro real para los organismos acuáticos como resultado de su bioacumulación (Gheorghe *et al.*, 2016). A pesar de que muchos de los CE se degradan, el continuo aporte procedente de las aguas residuales provoca una contaminación generalizada de los recursos hídricos, haciendo que se consideren pseudopersistentes (Cabeza *et al.*, 2012). Por tanto, los efectos adversos de estos contaminantes sobre la vida acuática ante una exposición prolongada deben ser crucial. De todo esto se deduce la necesidad de conocer los valores críticos de los CE sobre los organismos acuáticos y sus efectos a largo plazo.

2. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como objetivos específicos: 1. Estudiar la presencia y distribución de CE en Fuente de Piedra para conocer la calidad del agua que discurre por las lagunas seminaturales desde las proximidades a la depuradora hasta la laguna de Fuente de Piedra. 2. Comprobar el papel depurador de las lagunas seminaturales para la eliminación de CE. 3. Establecer los coeficientes de riesgo de los seis CE seleccionados en Fuente de Piedra para planificar futuros experimentos de toxicidad que permitan identificar los potenciales riesgos en especies nativas del humedal.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

Fuente de Piedra ($37^{\circ}6'N$, $4^{\circ}44'W$) es un humedal endorreico, hipereutrófico e hipersalino con una gran extensión (13.5 km^2 ; eje-NE: 6.8 km; eje-SE: 2.5 km), incluido en la convención Ramsar en 1983 y declarado como Reserva Natural regional en 1983. Para evaluar la contaminación en Fuente de Piedra se realizó un monitoreo de los CE a lo largo de seis muestreos, desde diciembre de 2022 a marzo de 2023 en las cinco estaciones de muestreo establecidas en las inmediaciones de la reserva natural de Fuente de Piedra para obtener una representación adecuada de la presencia de CE. Las cinco estaciones de muestreo están conectadas a lo largo del recorrido que realizan los efluentes desde la planta de tratamiento de aguas residuales a la laguna de Fuente de Piedra (Figura 1): Estación A, ubicada en la salida de la planta de tratamiento de aguas residuales; Estación B, canal que conecta el Laguneto (27801 m^2 , profundidad máxima 1.42 m) con la Laguna de los Juncarees (9222 m^2 , profundidad máxima 0.39 m); Estación C, punto de salida de la Laguna de los Juncarees al canal que conecta ésta con Los Juncarees (19828 m^2 , profundidad máxima 0.20 m) (de los Ríos-Mérida *et al.*, 2017); Estación D, Los Juncarees; Estación E, Laguna de Fuente de Piedra, en un punto próximo a la salida del canal que conecta Los Juncarees con la laguna de Fuente de Piedra (Figura 1). Las

muestras se tomaron en botellas ámbar estériles de polietileno de 250 mL con tapones de Teflón, se transportaron al laboratorio en condiciones controladas de temperatura y posteriormente se congelaron y conservaron en oscuridad hasta el momento de su análisis para minimizar la degradación y contaminación.



Figura 1. Mapa con la localización del lugar de estudio, estaciones de muestreo y flujo de agua desde la planta de tratamiento de aguas residuales hasta la laguna de Fuente de Piedra. Adaptado de [Fuente de Piedra], de Google, s.f., <https://goo.gl/maps/XVuJhRZLNmecY2h29>. Todos los derechos reservados 2023 por Google. Adaptado con permiso del autor.

3.2. Reactivos químicos

Todos los reactivos químicos utilizados en el estudio fueron de grado analítico. Los 55 CE evaluados en el estudio consistieron en productos farmacéuticos, pesticidas, productos para el cuidado personal y drogas. La selección de los CE objetivo se realizó en base a la información encontrada en la literatura sobre su ocurrencia y ubicuidad en ambientes acuáticos (Vadillo- Pérez *et al.*, 2018; Mahmut *et al.*, 2022).

3.3. Análisis de contaminantes emergentes

Para la identificación y cuantificación de los CE, las muestras se filtraron usando membranas de fibra de vidrio de tamaño de poro de 1 μm . Se utilizó la técnica de extracción en fase sólida para extraer y preconcentrar los compuestos objeto de estudio del agua. Previo a la extracción de la muestra, se añadió a la misma una mezcla de compuestos marcados isotó-

picamente a una concentración de 40 ng L⁻¹, 14 mL de EDTA 0.1 M y se ajustó el pH del agua a 4.5. Para la extracción se utilizaron cartuchos Oasis HLB (200 mg, Waters) condicionados secuencialmente con 6 mL de metanol y 6 mL agua. Una vez se pasó la muestra por el cartucho se lavó el mismo con 5 mL de agua y se secó durante 30 min, para la posterior elución de los compuestos orgánicos objeto de estudio con 2 alícuotas de 3,5 mL de metanol. El extracto obtenido se evaporó a sequedad bajo una corriente suave de nitrógeno y se resuspendió en 1 mL de agua:metanol (95:5, v/v). El extracto se filtró usando un filtro de 0.45 µm de Polyethyl sulfone (PES) antes de su análisis mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS).

Para el análisis HPLC-MS/MS se usó un equipo 1260 Infinity II acoplado a un 6450 LC/TQ de Agilent mediante una interfase de electrospray, operado en positivo (50 compuestos) y negativo (16 compuestos). La separación de los compuestos en el análisis con electrospray positiva se consiguió aplicando un gradiente lineal de solvente orgánico usando una fase móvil compuesta de metanol y agua con 0.1% de ácido fórmico y una columna Gemini de Phenomenex (2.1 x 100 mm, 2.3 µm de tamaño de partícula). En el modo de ionización negativo se utilizó una fase móvil compuesta de metanol y agua con 0.2 mM de NH₄F y una columna XSelect de Waters (2.1 x 100 mm, 2.3 µm de tamaño de partícula). La adquisición de masas se hizo en el modo de monitorización de reacciones múltiples (MRM), registrando las transiciones del ión molecular de cada compuesto a dos de sus fragmentos mayoritarios (uno en el caso de los compuestos marcados isotópicamente). La identificación positiva se hizo en base al tiempo de retención de los compuestos, la presencia de las dos transiciones MRM y la relación entre las áreas de estas transiciones. Para la adquisición y el tratamiento de los datos se usó el software Mass Hunter v10.1.

La cuantificación de los compuestos se realizó usando el método de patrón interno, normalizando la señal de los compuestos a un determinado compuesto marcado isotópicamente (su análogo o un compuesto con un tiempo de retención cercano).

3.4. Evaluación de riesgos ecotoxicológicos

La evaluación del riesgo ecotoxicológico de los CE se realizó calculando los cocientes de riesgo (RQ, de las siglas en inglés *Risk Quotation*) para dos niveles tróficos, algas y zooplancton debido a que en Fuente de Piedra no hay peces, y usando la siguiente ecuación (Comisión Europea, 2003):

$$RQ = MEC_{\max} / PNEC$$

MEC_{max} es la concentración máxima medida del contaminante emergente en las muestras de agua (MEC, de las siglas en inglés *Measured Enviromental Concentration*). PNEC es la concentración ambiental prevista del contaminante emergente en el agua que no tiene efec-

to (PNEC, de las siglas en inglés *Predicted No Effect Concentration*). El PNEC se calculó dividiendo la dosis letal media (LC_{50}) o la mitad de la concentración efectiva máxima (EC_{50}) por un factor de evaluación AF (AF, de las siglas en inglés *Assessment Factor*). Los valores de EC_{50} o LC_{50} se dividen por un AF de 1000 usando sólo datos de toxicidad aguda o a corto plazo para los dos niveles tróficos del ecosistema (Andrés-Costa *et al.*, 2017). Los valores de LC_{50} y EC_{50} para *Daphnia magna* y algas se obtuvieron de otras publicaciones (consultar tabla 3).

$$PNEC = (EC_{50} \text{ o } LC_{50})/1000$$

El nivel de riesgo se evaluó de acuerdo con el criterio de clasificación de riesgo de la siguiente manera: riesgo bajo o sin riesgo para $RQ < 0.01$, riesgo bajo o moderado para $RQ = 0.01-0.1$, riesgo medio para $RQ = 0.1-1$, y riesgo alto para $RQ > 1$ (Andrés-Costa *et al.*, 2017).

3.5. Análisis estadísticos

Los valores medios de los CE seleccionados para el estudio se compararon entre estaciones mediante un t-test pareado cuando los datos cumplieron las asunciones de normalidad. La normalidad se comprobó mediante las pruebas de Shapiro-Wilk. Se utilizó la prueba no paramétrica para muestras emparejadas de Wilcoxon cuando no se cumplió la asunción de normalidad. Los datos están expresados como media $\pm$ error estándar.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Listado de presencia-ausencia de contaminantes emergentes

De los 55 CE analizados, se detectaron 44 de los cuales sólo se pudieron cuantificar 33 debido a que los valores de recuperación del método fueron muy bajos o los blancos presentaron mucha concentración. Los 33 CE se encontraron en al menos una de las estaciones durante el periodo de muestreo, con 11 no detectados en ningún caso (Tabla 1). Los compuestos dominantes fueron mayoritariamente la cafeína (media=3.180 $\mu\text{g L}^{-1} \pm$ error estándar=5.725), benzoilecgonina (1.276 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 2.031$), teofilina (0.444 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.774$) y cotinina (0.354 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.652$) del grupo de las drogas o sustancias estimulantes, el naproxeno (1.045 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 1.690$), gabapentín (0.878 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.475$), acetaminofén (0.573 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 1.193$), hidroclorotiazida (0.277 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.497$) y ofloxacina (0.172 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.338$) del grupo de los productos farmacéuticos, y el imidacloprid (0.052 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.053$), carbendacima (0.025 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.014$) y diazinón (0.017 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.019$) del grupo de los pesticidas (Figura 2). También destacar la presencia del compuesto BP4 (0.372 $\mu\text{g L}^{-1} \pm 0.283$) usado como filtro solar en productos del cuidado personal.

Compuesto	Tipo	Subtipo	Presente
6-Acetil morfina	Droga/Sustancia estimulante		
Anfetamina	Droga/Sustancia estimulante		X
Benzoilecgonina	Droga/Sustancia estimulante		X
Cafeína	Droga/Sustancia estimulante		X
Cocaína	Droga/Sustancia estimulante		X
Cotinina	Droga/Sustancia estimulante		X
Ketamina	Droga/Sustancia estimulante		X
MDMA	Droga/Sustancia estimulante		X
Metanfetamina	Droga/Sustancia estimulante		
Teofilina	Droga/Sustancia estimulante		X
THC-COOH	Droga/Sustancia estimulante		X
Acetamiprid	Pesticida	Insecticida neonicotinoide	X
Atrazina	Pesticida	Herbicida	X
Carbendazima	Pesticida	Fungicida	X
Clotianidina	Pesticida	Insecticida neonicotinoide	
Deisopropil-atrazina	Pesticida	Herbicida	X
Desetil-atrazina	Pesticida	Herbicida	X
Diazinón	Pesticida	Insecticida organofosforado	X
Dimetoato	Pesticida	Insecticida organofosforado	X
Diuron	Pesticida	Herbicida	X
Fluometuron	Pesticida	Herbicida	X
Imidacloprid	Pesticida	Insecticida neonicotinoide	X
Malatión	Pesticida	Insecticida organofosforado	
Simazina	Pesticida	Herbicida	X
Terb-desatrazina	Pesticida	Herbicida	
Terbutilazina	Pesticida	Herbicida	X
Thiametoxam	Pesticida	Insecticida neonicotinoide	
Tiacloprid	Pesticida	Insecticida neonicotinoide	
Acetaminofén	Producto farmacéutico	Analgésico	X
Amoxicilina	Producto farmacéutico	Antibiótico	
Androstenediona	Producto farmacéutico	Hormona	

Compuesto	Tipo	Subtipo	Presente
Bezafibrato	Producto farmacéutico	Hipolipemiantes	
Carbamazepina	Producto farmacéutico	Anticonvulsivo	X
Diclofenaco	Producto farmacéutico	Antiinflamatorio	
Fluoxetina	Producto farmacéutico	Antidepresivo	
Furosemida	Producto farmacéutico	Diurético	
Gabapentin	Producto farmacéutico	Anticonvulsivos	
Gemfibrozilo	Producto farmacéutico	Hipolipemiantes	X
Hidroclorotiazida	Producto farmacéutico	Diurético	X
Ibuprofeno	Producto farmacéutico	Antiinflamatorio	
Ketoprofeno	Producto farmacéutico	Antiinflamatorio	X
Metformina	Producto farmacéutico	Antihiperglucemiantes	
Morfina	Producto farmacéutico	Analgésico	X
Naproxeno	Producto farmacéutico	Antiinflamatorio	X
Ofloxacina	Producto farmacéutico	Antibiótico	
Propranolol	Producto farmacéutico	Beta bloqueante	
Sertralina	Producto farmacéutico	Antidepresivo	
Sulfametoxazol	Producto farmacéutico	Antibiótico	X
Tebuconazole	Producto farmacéutico	Fungicida	X
Testosterona	Producto farmacéutico	Hormona	
Trimetoprim	Producto farmacéutico	Antibiótico	X
Vancomicina	Producto farmacéutico	Antibiótico	
BP4	Producto cuidado personal	Filtro solar	X
Nonilfenol	Producto limpieza		
Octilfenol	Producto limpieza		

Tabla 1. Listado de contaminantes emergentes estudiados en este trabajo.

Todos estos CE se encuentran de manera habitual en efluentes de aguas residuales tratadas (Nikolaou *et al.*, 2007). Estudios previos realizados en aguas subterráneas de Fuente de Piedra registraron la presencia de benzoilecgonina, cocaína, naproxeno ofloxacina, carben-dacima, desetil atrazina y deisopropil atrazina (Vadillo-Pérez *et al.*, 2018).

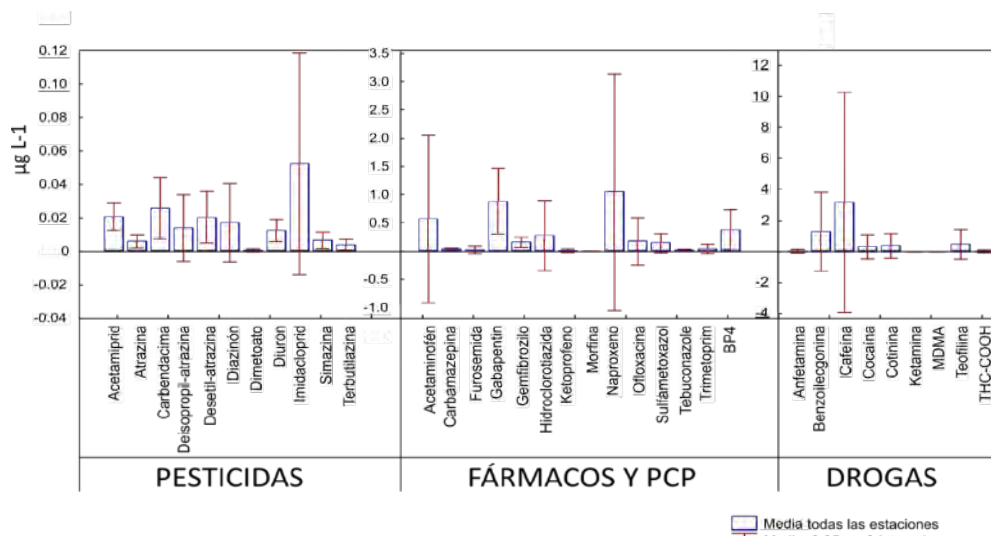


Figura 2. Valores de las concentraciones medias de los contaminantes emergentes detectados en las muestras de agua de Fuente de Piedra.

La cafeína, benzoilecgonina, teofilina y cotinina fueron las drogas y sustancias estimulantes detectadas con mayor frecuencia y en concentraciones más altas en las muestras recogidas en la estación A. Resulta llamativa la diversidad de CE presentes en las aguas de Fuente de Piedra teniendo en cuenta que el núcleo poblacional más próximo (Fuente de Piedra) es de reducidas dimensiones (2787 habitantes según el INE a 1 de enero de 2022).

4.2. Evolución espacio-temporal de la concentración de contaminantes emergentes seleccionados

Teniendo en cuenta la concentración y la frecuencia de aparición de los CE en las cinco estaciones de muestreo, se seleccionaron los siguientes contaminantes para estudiar su evolución espacio-temporal: cafeína, benzoilecgonina, naproxeno, ofloxacina, diazinón e imidacloprid. Las drogas y sustancias estimulantes son el grupo de contaminantes más detectado en las muestras de agua destacando la cafeína y la benzoilecgonina, seguido de los productos farmacéuticos naproxeno y ofloxacina y finalmente los pesticidas diazinón e imidacloprid. Como era esperable, las concentraciones de estos CE fueron más altas en la estación A en todas las fechas excepto el día 17 de marzo de 2023 que la estación A presentó concentraciones más bajas de cafeína, benzoilecgonina y naproxeno respecto al resto de estaciones. Tratándose de los contaminantes con concentraciones más altas y con mayor presencia en las estaciones de muestreo es posible que se hubiera producido una menor entrada de estos contaminantes en la estación A y un efecto de concentración en las estaciones B, C

y D. Las concentraciones más bajas registradas en la estación B respecto a la estación C pueden deberse a que la estación B se encuentra situada en un canal de agua que discurre de manera continua y que conecta la laguna del Laguneto con la Laguna de los Juncas, lo que facilitaría la presencia de estos CE pero dificultaría su acumulación.

La cafeína es uno de los CE con mayor presencia en sistemas acuáticos con un amplio rango de valores (Nikolau *et al.*, 2007) y el que se registró con valores más altos en Fuente de Piedra (Figura 2). Los niveles de cafeína en Fuente de Piedra ($0.0011\text{--}33.1662\ \mu\text{g L}^{-1}$) fueron en su mayoría superiores a los encontrados en el río Tajo (Fernández *et al.*, 2010), pero comparables e incluso inferiores a los encontrados en aguas superficiales próximas a los efluentes de estaciones de tratamiento de aguas urbanas griegas y canadienses (Thomaidi *et al.*, 2015; Chhipi-Shrestha *et al.*, 2022). Las concentraciones de cafeína se van reduciendo a lo largo de las estaciones hasta que llega a la laguna de Fuente de Piedra (estación E) en la que los niveles se mantienen bastante bajos respecto a las estaciones B y C (Figura 3). Estas diferencias fueron significativas (Tabla 2) ($p\text{-valor} = 0.03$ de las estaciones A, B y C respecto a la estación E). Estos resultados muestran la existencia de una mejoría en la calidad del agua a medida que ésta circula a través de las lagunas seminaturales. En este sentido, los resultados obtenidos por de-los-Ríos-Mérida *et al.* (2017) destacaron la relevancia de las lagunas seminaturales presentes en el entorno de Fuente de Piedra como elementos clave en la reducción de la concentración de nutrientes y, por ende, en la mitigación de la eutrofización en el humedal receptor. Por tanto, los resultados de nuestro trabajo confirman el papel depurador de estos humedales seminaturales. En general, la benzoilecgonina registró valores mínimos inferiores a $0.001\ \mu\text{g L}^{-1}$ y máximos de $12.469\ \mu\text{g L}^{-1}$. La benzoilecgonina es el principal metabolito de la cocaína, la droga más abundante en los sistemas acuáticos a escala mundial (Pal *et al.*, 2013). La benzoilecgonina estuvo presente en las cinco estaciones a lo largo de las seis fechas en las que se tomaron muestras (Figura 3). Los valores de benzoilecgonina fueron más altos en la estación A en los tres primeros muestreos (Figura 3), siendo significativamente diferentes entre las estaciones A y B, estaciones A y E, y estaciones C-E (Tabla 2). La benzoilecgonina se ha registrado con anterioridad en aguas subterráneas de Fuente de Piedra (Vadillo-Pérez *et al.*, 2018), pero falta más información que cuantifique en qué concentraciones está presente este contaminante en aguas de sistemas naturales.

El producto farmacéutico con más presencia en Fuente de Piedra y que además presentó los valores máximos más altos fue el naproxeno ($8.586\ \mu\text{g L}^{-1}$ en la estación A) (Figura 3). Es uno de los analgésicos más consumidos y presentes en efluentes de depuradoras (Hernando *et al.*, 2006). La concentración de naproxeno se fue reduciendo de manera significativa, en concreto se han observado valores significativamente más altos en la estación A que en el resto de las estaciones (tabla 3). También se ha detectado en aguas subterráneas del entorno de Fuente de Piedra (Vadillo-Pérez *et al.*, 2018). La ofloxacina presentó un valor máximo de $1.354\ \mu\text{g L}^{-1}$, registrado en la estación A (Figura 3). Se observaron diferencias significativas entre la estación A y el resto de las estaciones, y la estación B con las estaciones D y E (Tabla 3).

En cuanto a los principales pesticidas, el diazinón registró el valor de concentración más alto en Fuente de Piedra, aunque las concentraciones se mantuvieron relativamente bajas en todos los muestreos con valores mínimos inferiores a $0.0001 \mu\text{g L}^{-1}$ y máximos de $0.2611 \mu\text{g L}^{-1}$. El registro de la concentración más alta correspondió a la estación A, seguida de la estación C, que incluso presentó puntualmente valores de concentración más altos que la estación A (Figura 3). El insecticida neonicotinoide imidacloprid registró concentraciones mínimas inferiores a $0.0001 \mu\text{g L}^{-1}$ y máximas de $0.2309 \mu\text{g L}^{-1}$. Las concentraciones de este contaminante en la estación A fueron significativamente superiores al resto de estaciones (Tabla 2). La estación B también presentó diferencias significativas respecto a la estación D y estación E (Tabla 3). Estas diferencias pueden estar relacionadas con las explotaciones agrarias próximas a la estación B.

En general, los valores decrecientes de estos CE a lo largo de la circulación del agua confirman el efecto depurador que representan las lagunas seminaturales desde la depuradora hasta la laguna de Fuente de Piedra (de-los Ríos-Mérida *et al.*, 2017; de-los-Ríos-Mérida *et al.*, 2021).

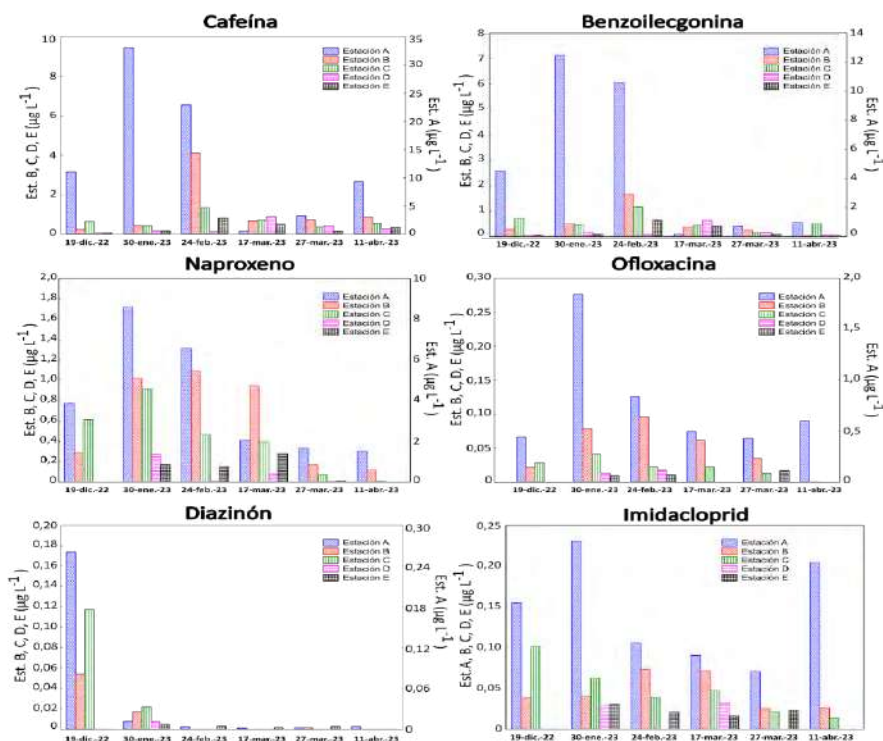


Figura 3. Evolución temporal de los contaminantes emergentes cafeína, benzoilecgonina, naproxeno, ofloxacina, diazinón e imidacloprid.

Contaminante	Par de estaciones									
	A-B	A-C	A-D	A-E	B-C	B-D	B-E	C-D	C-E	D-E
Cafeína	0.06 ²	0.06 ²	0.06 ²	0.03 ²	0.56 ²	0.06 ²	0.03 ²	0.15 ²	0.03 ²	0.56 ²
Benzoilecgonina	0.04 ¹	0.07 ¹	0.05 ¹	0.04 ¹	0.44 ¹	0.18 ¹	0.05 ¹	0.06 ¹	0.03 ¹	0.79 ¹
Naproxeno	<0.01 ¹	<0.01 ¹	<0.01 ¹	<0.01 ¹	0.38 ¹	<0.01 ¹	<0.01 ¹	<0.01 ¹	0.03 ¹	0.27 ¹
Ofloxacina	0.03 ²	0.03 ²	<0.01 ²	0.03 ²	0.09 ²	0.03 ²	0.03 ²	0.05 ²	0.10 ²	0.10 ²
Diazinón	0.31 ²	0.31 ²	0.31 ²	0.21 ²	0.42 ²	0.18 ²	0.78 ²	0.37 ²	0.78 ²	0.58 ²
Imidacloprid	0.03 ²	0.03 ²	0.03 ²	0.03 ²	0.84 ²	0.03 ²	0.03 ²	0.06 ²	0.06 ²	0.41 ²

Tabla 2. P-valores de los t-test pareados¹ y pruebas de muestras pareadas de Wilcoxon² de los contaminantes emergentes seleccionados para el estudio entre las cinco estaciones. Se muestran marcados en negrita los p-valores significativos.

4.3. Evaluación de riesgos ambientales

La evaluación del riesgo ambiental se estimó mediante el cociente de riesgo estimado (RQ) para una selección de CE elegidos en base a sus concentraciones, presencia en las cinco estaciones y registros en otros estudios en Fuente de Piedra (Vadillo-Pérez *et al.*, 2018). Los cocientes de riesgo estimados se calcularon utilizando los valores de las concentraciones máximas medidas (MEC_{max}) y los valores PNEC para dos niveles tróficos seleccionados (zooplancton y fitoplancton) y se presentan en la tabla 3. La estima del RQ para la cafeína podría suponer un riesgo moderado o alto para los organismos acuáticos de Fuente de Piedra, mientras que supondría un riesgo medio el fármaco naproxeno (Tabla 3). El resto de los contaminantes (benzoilecgonina, ofloxacina, imidacloprid y diazinón) presentaron cocientes de riesgo bajos o sin riesgo para los organismos acuáticos de Fuente de Piedra. Sin embargo, al tratarse en algunos casos de CE persistentes en el agua, la exposición crónica a estos CE podría tener efectos tóxicos. Además, la entrada continua de estos contaminantes desde la planta de tratamiento de aguas residuales convertiría al resto de CE en pseudopersistentes.

4.4. Recopilación bibliográfica de los efectos de los contaminantes emergentes en organismos planctónicos

Algunas especies de algas y zooplanctónicas son organismos modelo comúnmente utilizados en experimentos de toxicidad debido a que representan los dos primeros eslabones de la cadena trófica, son fáciles de manejar y cultivar por su pequeño tamaño, presentan ciclos reproductivos rápidos y a su alta sensibilidad a la presencia de sustancias tóxicas (Álvarez-Manzaneda *et al.*, 2017). En el caso del zooplancton, la mayor parte de los estudios utilizan el cladócer *Daphnia magna*. La cafeína provoca efectos perjudiciales para las algas y moderado o bajo para *Daphnia magna* (Rodríguez-Gil *et al.*, 2018). Sin embargo, está de-

mostrado el efecto de la cafeína como inhibidor del crecimiento de las algas (Tousova *et al.*, 2018). Por tanto, la cafeína en las concentraciones registradas puede suponer un riesgo alto para los dos niveles tróficos presentes en Fuente de Piedra.

Contaminan. emergente	Zooplankton			Algas			Ref.
	PNEC (µg/L)	MEC _{max} /PNEC	RQ	PNEC (µg/L)	MEC _{max} /PNEC	RQ	
Cafeína	11.9	0.069-2.787	Moderado-Alto	15	0.054-2.211	Moderado-Alto	(1)
Benzoilecgonina	6805	<0.001-0.002	Bajo o sin riesgo	12042	<0.001-0.001	Bajo o sin riesgo	(2)
Naproxeno	15	0.018-0.572	Bajo o sin riesgo-Medio	22	0.012-0.390	Bajo o sin riesgo-Medio	(3)
Ofloxacina	17.41	<0.001-0.106	Bajo o sin riesgo-Medio	1.44	<0.001-<0.001	Bajo o sin riesgo	(4)
Imidacloprid	56.6	<0.001-0.004	Bajo o sin riesgo	389	<0.001-0.001	Bajo o sin riesgo	(5)
Diazinón	0.96	<0.001-0.272	Bajo o sin riesgo-Medio	69	<0.001-0.004	Bajo o sin riesgo	(6)

Tabla 3. Los valores de los cocientes de riesgo RQ de los contaminantes emergentes seleccionados se calcularon a partir del cociente entre las concentraciones máximas medidas (MEC_{max}) en Fuente de Piedra y los valores PNEC a partir de los valores EC₅₀ o LC₅₀ para los dos niveles tróficos (zooplankton y algas) publicados en otros trabajos. (1) Rodríguez-Gil *et al.*, 2018, (2) Andrés-Costa *et al.*, 2014, (3) Sanderson *et al.*, 2003, (4) Cunningham *et al.*, 2006, (5) Tišler *et al.*, 2009, (6) Nagato *et al.*, 2016

La benzoilecgonina con las concentraciones registradas presentó un cociente de riesgo estimado bajo o sin riesgo (Tabla 3). Este valor indica un efecto bajo o nulo en organismos acuáticos de Fuente de Piedra. Sin embargo, a concentraciones similares a las encontradas en Fuente de Piedra (0.1341 µg L⁻¹ - 12.4697 µg L⁻¹, RQ <0,01), en otros sistemas acuáticos se ha demostrado que concentraciones entre 0.5 µg L⁻¹ y 1.0 µg L⁻¹ pueden inducir estrés oxidativo en *Daphnia magna*, disminuyendo su capacidad de natación y reduciendo la reproducción (Parolini *et al.*, 2018).

En cuanto a los medicamentos, el valor estimado del cociente de riesgo para el naproxeno se incluyó en el rango de riesgo medio para los dos niveles tróficos presentes en Fuente de Piedra (Tabla 3). Los resultados de Gheorghe *et al.* (2016) sobre los efectos del naproxeno en *Daphnia magna* mostraron que la exposición a concentraciones en agua relevantes (0.01 µg L⁻¹ a 2.5 µg L⁻¹) apenas afectaron su crecimiento y reproducción. Estos fármacos tampoco afectaron negativamente el crecimiento de diferentes especies de algas.

El valor estimado del cociente de riesgo para la ofloxacina fue de riesgo medio para el zooplancton y bajo o sin riesgo para las algas (Tabla 3). Los experimentos de toxicidad aguda en *Daphnia magna* han revelado que la exposición a ofloxacina a concentraciones altas ($5000 \mu\text{g L}^{-1}$) puede afectar negativamente a la supervivencia y reproducción (Nguyen *et al.*, 2021). La exposición de algas a la ofloxacina puede inhibir el crecimiento y la fotosíntesis.

Las concentraciones de imidacloprid no excedieron los límites establecidos, para insecticidas neonicotinoides en aguas, para producir efectos a largo plazo en invertebrados acuáticos según la US-EPA ($0.01 \mu\text{g L}^{-1}$ para el imidacloprid; US-EPA, 2021). Este pesticida, al igual que otros neonicotinoides, ha mostrado una toxicidad aguda baja en *Daphnia magna*, sin embargo, puede provocar efectos adversos en esta especie de cladócono cuando se combina con otros pesticidas e incluso con metales pesados (Mahmut *et al.*, 2022).

El diazinón está presente en concentraciones relativamente bajas a lo largo del tiempo en Fuente de Piedra ($<0,0001 \mu\text{g L}^{-1}$ - $0,2611 \mu\text{g L}^{-1}$) aunque alcanzando valores que lo incluyen en el rango medio ($0.045 \mu\text{g L}^{-1}$ - $0.09 \mu\text{g L}^{-1}$) para organismos acuáticos como *Daphnia magna* con posibles consecuencias negativas (Nagato *et al.*, 2016). En cambio, parece ser que las algas presentan un rango de tolerancia más alto y el coeficiente de riesgo estimado estaría dentro del valor bajo o sin riesgo (Tabla 3). Este insecticida organofosforado a concentraciones bajas (0.0005 - $0.0200 \mu\text{g L}^{-1}$) puede estimular el crecimiento de la microalga *Chlorella vulgaris* pero ejercer un efecto perjudicial si está presente a niveles más altos (0.0400 - $0.1000 \mu\text{g L}^{-1}$) (Kurade *et al.*, 2016).

5. CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo muestran la presencia de un elevado número de CE en las aguas residuales tratadas que provienen de la depuradora de la localidad de Fuente de Piedra. Cabe destacar la diversidad de contaminantes que se registraron, siendo los fármacos los mayoritarios, seguidos de pesticidas, drogas y productos de cuidado personal. Los resultados revelan que todos los CE estudiados estaban presentes de manera habitual, lo que indica la necesidad de realizar un seguimiento continuo de estos contaminantes que ayuden a mejorar la calidad de las aguas en Fuente de Piedra.

El estudio de la evolución espacio temporal de los CE seleccionados (cafeína, benzoilecgonina, naproxeno, ofloxacina, diazinón e imidacloprid), mostró unas concentraciones más altas de estos contaminantes en la estación de muestreo más próxima a la depuradora que iban decreciendo entre estaciones hasta llegar a la laguna de Fuente de Piedra. Este resultado pone de manifiesto que en líneas generales la calidad del agua mejora a medida que circula a través de las lagunas seminaturales.

Las estimas de los cocientes de riesgo (RQ) revelaron que la presencia de los CE en Fuente de Piedra puede inducir un riesgo acuático moderado o bajo, pero la entrada continúa de estos contaminantes los hace pseudopersistentes pudiendo tener consecuencias negativas para las comunidades planctónicas a largo plazo.

Estos resultados son determinantes para la planificación de estudios de toxicidad en organismos acuáticos (fitoplancton y zooplancton) para comprobar los efectos de los contaminantes seleccionados. Los resultados obtenidos serán de gran utilidad para evaluar el riesgo asociado a la presencia de estos contaminantes en el medio ambiente acuático y para desarrollar estrategias de gestión adecuadas para su eliminación o reducción.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los siguientes proyectos: PID2021-122429OB-I00 del MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ FEDER *Una manera de hacer Europa* y por los proyectos TED2021-129384B-C21 y TED2021.129384B.C22 financiados por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por EU NextGenerationEU/ PRTR.

REFERENCIAS

- Álvarez-Manzaneda, I., Ramos-Rodríguez, E., López-Rodríguez, M. J., Parra, G., Funes, A., De Vicente, I. (2017) Acute and chronic effects of magnetic microparticles potentially used in lake restoration on *Daphnia magna* and *Chironomus* sp. *Journal of hazardous materials*, 322, 437-444.
- Andrés-Costa, M. J., Rubio-López, N., Suárez-Varela, M. M., & Pico, Y. (2014) Occurrence and removal of drugs of abuse in wastewater treatment plants of Valencia (Spain). *Environmental Pollution*, 194, 152-162.
- Andrés-Costa, M. J., Pascual-Aguilar, J., Andreu, V., Picó, Y. (2017) Assessing drugs of abuse distribution in Turia River based on geographic information system and liquid chromatography mass spectrometry. *Science of the Total Environment*, 609, 360-369.
- Cabeza, Y., Candela, L., Ronen, D., Teijon, G. (2012) Monitoring the occurrence of emerging contaminants in treated wastewater and groundwater between 2008 and 2010. The Baix Llobregat (Barcelona, Spain). *Journal of Hazardous Materials*, 239-240. 32-39.
- Chhipi-Shrestha, G., Rodriguez, M., Behmel, S., Pulicharla, R., Proulx, F., Hewage, K., Sadiq, R. (2022) Probabilistic framework for assessing ecological risk of contaminants of emerging concern: application to a Canadian lake system. *Chemosphere*, 287, p. 131910
- Cunningham, V.L., Buzby, M., Huthcinson, T., Mastrocco, F., Parke, N., Roden, N., (2006). Effects of human pharmaceuticals on aquatic life: next steps. *Environmental Science and Technology*, 40, 3456-3462.

- De-los-Ríos-Mérida, J., Reul, A., Muñoz, M., Arijo, S., Tapia-Paniagua, S., Rendón-Martos, M., Guerrero, F. (2017). How efficient are semi-natural ponds in assimilating wastewater effluents? Application to Fuente de Piedra Ramsar, Mediterranean Salt Lake (South of Spain). *Water*, 9(8), 600.
- De-los-Ríos-Mérida, J., Guerrero, F., Arijo, S., Muñoz, M., Álvarez-Manzaneda, I., García-Márquez, J., Bautista, B., Rendón-Martos, M., Reul, A. (2021). Wastewater discharge through a stream into a Mediterranean Ramsar wetland: Evaluation and proposal of a nature-based treatment system. *Sustainability*, 13(6), 3540.
- Fernández, C., González-Doncel, M., Pro, J., Carbonell, G., Tarazona, J. V. (2010). Occurrence of pharmaceutically active compounds in surface waters of the Henares-Jarama-Tajo river system (Madrid, Spain) and a potential risk characterization. *Science of the Total Environment*, 408(3), 543-551.
- Gheorghe, S., Petre, J., Lucaciu, I., Stoica, C., Nita-Lazar, M. (2016). Risk screening of pharmaceutical compounds in Romanian aquatic environment. *Environmental monitoring and assessment*, 188, 1-16.
- Gibbons, S.E., Wang, C., Ma, Y.F., (2011). Determination of pharmaceutical and personal care products in wastewater by capillary electrophoresis with UV detection. *Talanta* 84: 1163–1168.
- 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 (2), 334–342.
- Kumar, R., Qureshi, M., Vishwakarma, D. K., Al-Ansari, N., Kuriqi, A., Elbeltagi, A., Saraswat, A. (2022). A review on emerging water contaminants and the application of sustainable removal technologies. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 6, 100219.
- Kurade, M. B., Kim, J. R., Govindwar, S. P., & Jeon, B. H. (2016). Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. *Algal research*, 20, 126-134.
- Mahmut, K., Demiray, G.A., Sevgiler, Y. (2022). Oxidative and osmoregulatory effects of imidacloprid, cadmium, and their combinations on *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 95, October 2022, 103963.
- Nagato ,E.G., Simpson, A.J., Simpson, M.J. (2016). Metabolomics reveals energetic impairments in *Daphnia magna* exposed to diazinon, malathion and bisphenol-A. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)* 170, 175–186
- Nguyen, T. D., Itayama, T., Ramaraj, R., Iwami, N., Shimizu, K., Dao, T. S., Pham, T.L., Maseda, H. (2022). Physiological response of *Simocephalus vetulus* to five antibiotics and their mixture under 48-h acute exposure. *Science of The Total Environment*, 829, 154585.
- Nikolaou, A., Meric, S., Fatta, D. (2007). Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387, 1225-1234.
- Pal, A., Gin, K.Y.H., Lin, A.Y.C., Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: review of recent occurrences, sources, fate and effects. *Science of the Total Environment*. 408(24), 6062–6069.

- Parolini, M., De Felice, B., Ferrario, C., Salgueiro-González, N., Castiglioni, S., Finizio, A., Tremolada, P. (2018). Benzoylcegonine exposure induced oxidative stress and altered swimming behavior and reproduction in *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*, 232, 236-244.
- Sanderson, H., Johnson, 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. *Toxicology Letter*, 144, 383-395.
- Rodríguez-Gil, J. L., Cáceres, N., Dafouz, R., Valcárcel, Y. (2018). Caffeine and paraxanthine in aquatic systems: Global exposure distributions and probabilistic risk assessment. *Science of the Total Environment*, 612, 1058-1071.
- Tišler, T., Jemec, A., Mozetič, B., Trebše, P. (2009). Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76(7), 907-914.
- Thomaidi, V.S., Stasinakis, A.S., Borova, V.L., Thomaidis, N.S. (2015) Is there a risk for the aquatic environment due to the existence of emerging organic contaminants in treated domestic wastewater? Greece as a case-study. *Journal of Hazardous Materials*. 283: 740-7.
- Tousova, Z., Froment, J., Oswald, P., Slobodník, J., Hilscherova, K., Thomas, K. V., Tollefsen, K.E., Reid, M., Langford, K., Blaha, L. (2018). Identification of algal growth inhibitors in treated waste water using effect-directed analysis based on non-target screening techniques. *Journal of hazardous materials*, 358, 494-502.
- US-EPA, 2000. Methodology for deriving ambient water quality criteria for the protection of human health. US Environmental Protection Agency, Washington, D.C., USA. pp. 180.
- Vadillo-Perez, I., Jiménez-Gavilán, P., Aranda, J. L., Denguir Bujanow, F., Luque Espinar, J. A., Benavente Herrera, J. (2018). Presencia y distribución de contaminantes emergentes en cuatro cuencas antropizadas del sur de la Península Ibérica. En: *Agua subterránea, medioambiente, salud y patrimonio: Congreso Ibérico sobre Agua subterránea, medio ambiente, salud y patrimonio* (pp. 691-700). Grupo Español.

