

Determinación de compuestos emergentes en efluentes hospitalarios

Julio Llorca Pórcel, Lorena San Juan, Mariano Gomez

LABAQUA S.A.
julio.llorca@labaqua.com

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han ido introduciendo muchos requisitos legislativos que implican una adaptación de las capacidades analíticas. No sólo se ha producido un incremento en frecuencia de análisis, sino también se incrementó el número de compuestos orgánicos a determinar en las aguas. Esto está obligando a los laboratorios a adecuar continuamente su capacidad analítica introduciendo nuevas metodologías en sus análisis rutinarios y mejorando sus estrategias de análisis.

Especialmente, el análisis de nuevas sustancias emergentes se presenta como uno de los retos más importantes. Las nuevas directivas europeas¹ seleccionan una serie de compuestos a analizar en las aguas con unos requisitos de límites de determinación muy exigentes.

Este tipo de compuestos se clasifican en contaminantes prioritarios, sustancias preferentes y sustancias emergentes.

En el presente trabajo, se realiza una descripción de los retos analíticos y metodológicos que los laboratorios tienen que realizar para cubrir las demandas que estos requisitos legislativos implican enfocándose en la realización de campañas de muestreos en efluentes hospitalarios para la validación de los mismos.

SUSTANCIAS PRIORITARIAS, PREFERENTES Y EMERGENTES

La directiva marco europea sobre aguas define sustancia prioritaria como "sustancia que presenta un riesgo significativo para el medio acuático comunitario, o a través de él, incluidos los riesgos de esta índole para las aguas utilizadas para la captación de agua potable, y reguladas a través del artículo 16 de la Directiva 2000/60/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000². Entre estas sustancias se encuentran las sustancias peligrosas prioritarias. La relación de sustancias prioritarias figura en el anexo I de este real decreto.

La última revisión de la directiva, amplía el número de sustancias prioritarias de 35 a 46 además de revisar algunos límites de cuantificación requeridos. La tabla 1 muestra algunas de estas sustancias.

Tabla 1. Ejemplo de algunas sustancias prioritarias incluidas en la Directiva Marco del agua y sus límites

COMPUESTO	NCA-MA (µg/L) Directiva de 2008	NCA-MA (µg/L) Directiva de 2013
Difeniléteres bromados (Pentabromodifeniléter; congéneres nos 28, 47, 99, 100, 153 y 154)(e)	0,0002	No establece
Endosulfán	0,0005	0,0005
Nonilfenol	0,3	0,3
Octilfenol	0,01	0,01
Benzo(a)pireno	0,05	0,00017
Compuestos de tributilestaño (Cation de tributilestaño)	0,0002	0,0002
Trifluralina	0,03	0,03
Ácido perfluorooctanosulfónico y sus derivados (PFOS)	No incluida	0,00013
Heptacloro y epóxido de heptacloro	No incluidos	0,00000008

Sustancias emergentes. Además de las sustancias preferentes y prioritarias, nuevos contaminantes están surgiendo como potencialmente peligrosos para el medio ambiente. En este sentido, la Directiva Marco del agua, indica que deben de realizarse una serie de "listas de observación" las cuales deben ir incluyendo nuevos contaminantes en base a estudios medioambientales y que deben ser propuestos por los distintos Estados miembros. En marzo de 2015 ya se ha publicado una primera lista que incluye 10 nuevos compuestos³. Como se puede observar en la tabla 2, se incorporan sustancias de diversa naturaleza como fármacos, hormonas, etc. Estas sustancias están fundamentalmente presentes en efluentes hospitalarios.

Tabla 2. Lista de sustancias incluidas en la lista de observación Decisión de ejecución (UE) 2015/495 de la comisión y sus límites

Compuesto	Método analítico	Límite máximo admisible del método analítico
17-alfa-etinilestradion (EE2)	SPE-LC-MS-MS	0,035
17-Beta-Estradiol (E2)	SPE-LC-MS-MS	0,4
Diclofenaco	SPE-LC-MS-MS	10
2,6-di-tert-butil-4-metilfenol	SPE-GC-MS	3160
4-metoxicinamato de 2-etilhexilo	SPE-LC-MSMS o GC-MS	6000
Antibióticos macrólidos	SPE-LC-MS-MS	90
Metiocarb	SPE-LC-MSMS o GC-MS	10
Neonicotinoides	SPE-LC-MS-MS	9
Oxadiazón	LLE/SPE-GC-MS	88
Triatato	LLE/SPE GC-MS O LC-MS-MS	670

NUEVOS RETOS

Todo lo señalado anteriormente, obliga a los laboratorios a realizar constantes actualizaciones y mejoras en las técnicas de análisis. Estas mejoras están basadas en los siguientes aspectos:

1. Mejoras en los procesos de preparación de muestras.
2. Inversión de los equipamientos de análisis y en la formación de expertos.
3. Incorporación de herramientas de control de calidad.
4. Incorporación de nuevas técnicas de toma de muestras y análisis *on line*.

MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE MUESTRA

La preparación de muestra previa al análisis es clave para poder alcanzar los criterios que las legislaciones están exigiendo. Su finalidad se basa en 3 aspectos, concentrar la muestra para mejorar los límites de cuantificación, eliminar interferencias y preparar las muestras en las mejores condiciones para su introducción en el equipo de análisis.

Las nuevas metodologías se basan en las siguientes estrategias:

1. Automatización del proceso. De esta forma se permite asumir el análisis de mayores cantidades de muestra sin incrementar de forma notable el coste.

2. Reducción del volumen de muestra. Los costes de envío de muestras son importantes así como la manipulación de las mismas, por lo que una reducción de los volúmenes es importante.
3. Robustez, reproducibilidad y repetibilidad, reducción de la manipulación de la muestra. Estos métodos deben ser lo suficientemente robustos como para que puedan realizarse de una manera rutinaria en el laboratorio.

Las metodologías de preparación de muestras automáticas o semiautomáticas ya se han implementado en la mayoría de laboratorios. Algunos de los métodos que cumplen con estos requisitos son por ejemplo Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE^{4,5}) acoplados a cromatografía de gases. Esta técnica permite, con una reducida manipulación de las muestras y sin el uso de disolventes alcanzar las exigencias legislativas. También los sistemas de Solid Phase Extraction (SPE) *on-line*, especialmente acoplados a High Performance Liquid Chromatography (HPLC) permiten con una mínima manipulación de la muestra para lograr los requisitos legislativos⁶.

NUEVOS EQUIPOS DE ANÁLISIS

Para alcanzar los requisitos legislativos, se han producido en los últimos años la incorporación de nuevas tecnologías de análisis que permiten la realización rutinaria de análisis de compuestos emergentes y sustancias prioritarias. Especialmente los avances producidos en los detectores de masas con triple cuadrupolo han permitido que estos puedan ser

incorporados por los laboratorios de análisis rutinarios dentro de sus metodologías de análisis, dado que se ha reducido notablemente su coste y a que se ha simplificado su manejo además de aumentar su robustez, permitiendo su utilización en el análisis masivo de muestras.

INCORPORACIÓN DE MEJORAS EN LAS TOMAS DE MUESTRAS Y EN LA PRESERVACIÓN DE LAS MISMAS

En los últimos años han sido muchos los avances tecnológicos introducidos en los sistemas y equipamientos de análisis en el laboratorio. Sin embargo, los avances introducidos en la toma y preservación de las muestras son mucho más reducidos, siendo este paso tan importante o más como el de la propia analítica del laboratorio.

En el caso de la toma de muestra, esta debe ser lo más representativa posible para poder conocer el estado real de contaminación del lugar a controlar. Ya las diversas legislaciones están hablando de concentraciones promedio en el tiempo, para tener una idea clara de las variaciones en las concentraciones de los contaminantes y su efecto real sobre el medio ambiente.

Para conocer la evolución real en el tiempo de los contaminantes en un emplazamiento, se requieren una gran cantidad de muestreos puntuales en distintos días, lo que encarece muy notablemente los estudios. Además, tal y como se ha visto anteriormente, cada vez son más los compuestos que se requieren analizar y de más, lo que complica la toma de muestra de cara a poder garantizar la estabilidad de todos los compuestos.

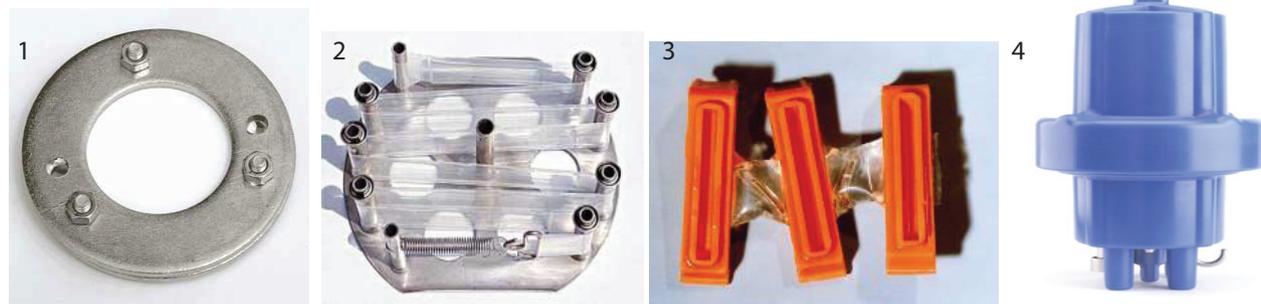
La incorporación de nuevas tecnologías para solucionar estos problemas, es crucial para conocer verdaderamente el estado real de las masas de agua. En los últimos años, en esta dirección, se están implementando técnicas de toma de muestra basadas en sistemas de muestreo pasivo o integrativo⁷. Estos sistemas, que actúan en muchos casos de forma similar a organismos bioacumuladores, están basados en un sorbente el cual retiene de forma continuada los compuestos durante días o incluso semanas. Una vez terminado el periodo de muestreo, los compuestos retenidos en esta fase sorbente, son determinados en el laboratorio y se calcula la concentración de estos contaminantes en el agua mediante diversas ecuaciones basadas en modelos de cálculo.

De esta forma se consiguen los siguientes objetivos:

1. Calcular las concentraciones promedio de la contaminación, detectando fluctuaciones y puntas de contaminación que con muestreos puntuales es muy complejo o ser requeriría de un gran despliegue en las campañas de muestreo.
2. Mejorar la estabilidad de los compuestos. En casi todos los casos, la estabilidad de los compuestos en los sorbentes es superior a la estabilidad de estos en las muestras de aguas.
3. Mejora de los límites. Dado que la adsorción de estos compuestos se produce de una forma continuada, los límites que se pueden alcanzar son, en la mayoría de casos, mucho más bajos.

Algunos ejemplos de estos sistemas se muestran en la figura 1.

Figura 1. Ejemplos de muestreadotes pasivos (1-Polar Organic Chemical Integrative Sampling (POCIS), 2-Semi Permeable Membrane Device (SPMD) y 3- Membrane enclosed sorptive coating (MESCO) y muestreadores integrativos (4-Continuous Flow Integrative Sampler (CFIS))



ANÁLISIS EN EFLUENTES HOSPITALARIOS

Se han realizado diferentes campañas de muestreo para la determinación de compuestos emergentes en efluentes hospitalarios comparando los resultados obtenidos con las técnicas anteriormente descritas, tanto muestreos puntuales como muestreos con el CFIS. La estrategia a seguir fue la realización de muestreos puntuales diarios y muestreos en continuos con el dispositivo CFIS. Estos muestreos se realizaron durante un periodo de tiempo desde octubre de 2014 a enero de 2015.

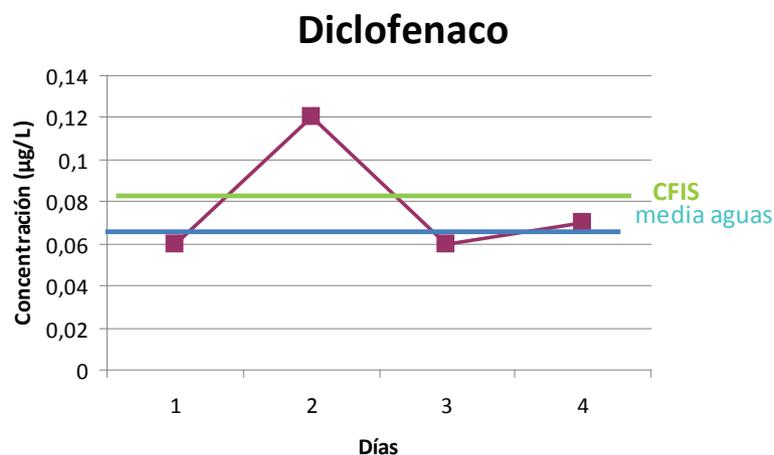
En la tabla 3 se muestra un resumen de los resultados obtenidos de los análisis utilizando estas tecnologías de análisis en efluentes hospitalarios. Como se puede observar, se detecta la presencia de diversos fármacos en estos efluentes a concentraciones elevadas, por lo que estos puntos son unos de los principales focos de contaminación. Además, se observa una fluctuación importante de las concentraciones lo que indica que deben ser controlados de una forma continua y periódica.

Tabla 3. Concentraciones máximas y mínimas de compuestos emergentes obtenidas en las campañas de muestreo de efluentes hospitalarios

Compuesto	Concentración mínima (µg/L)	Concentración máxima (µg/L)
Diclofenaco	< 0,01	0,31
Carbamazepina	< 0,01	0,21
Trimetoprim	0,05	0,81
Estriol	< 0,01	0,07
Ibuprofeno	0,05	6,1
17-alfa-etinilestradion (EE2)	< 0,01	0,02

En la figura 2 se muestra una gráfica de los resultados obtenidos para este tipo de muestreo para la determinación de diclofenaco. Como se puede observar las concentraciones promedio obtenidas con el muestreador CFIS son muy similares a las obtenidas con los muestreos puntuales, lo que indica que este tipo de tecnologías puede ser muy adecuado para la determinación en continuo de estos compuestos.

Figura 2. Comparación de los resultados obtenidos con muestreos puntuales durante una semana y las concentraciones promedio en el tiempo obtenidas con el dispositivo integrativo CFIS



CONCLUSIONES

Cada vez más se van incorporando nuevas sustancias contaminantes para su control, implicando, dada la diversidad del tipo de sustancias y de los límites que se exigen, que los laboratorios actualicen constantemente sus metodologías de análisis.

Se están incorporando nuevas técnicas para mejorar la toma de muestra y obtener mayor información sobre el estado de la contaminación. Los muestreos pasivos e integrativos están siendo incorporados y validados para este propósito.

Los resultados analíticos obtenidos para efluentes hospitalarios indican la presencia de sustancias

emergentes a elevadas concentraciones. Estas determinaciones pueden realizarse mediante muestreadores pasivos o integrativos que aseguren su control en continuo.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto 2013-CE239 Nuevas tecnologías para la detección y eliminación de micro contaminantes emergentes en aguas residuales (DEMAGUA) con financiación de fondos FEDER-INNTERCONECTA, por su apoyo en la subvención para la realización de este estudio.

REFERENCIAS

1. Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008. DO L 348.
2. Directiva 2000/60/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000. DO L 327.
3. Decisión de ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión de 20 de marzo de 2015 sobre las listas de observación. DO L 348.
4. León VM, Lorca-Pórcel J, Álvarez B, et ál. Analysis of 35 priority semivolatile compounds in water by stir bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry: Part II: Method validation. *Analytica Chimica Acta*. 2006;558(1-2):261-6.
5. Camino-Sánchez FJ, Zafra-Gómez A, Cantero-Malagón S, et ál. Validation of a method for the analysis of 77 priority persistent organic pollutants in river water by stir bar sorptive extraction in compliance with the European Water Framework Directive. *Talanta*. 2012; 30(89):322-34.
6. Díaz L, Llorca-Pórcel J, Valor I. Ultra trace determination of 31 pesticides in water samples by direct injection-rapid resolution liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta*. 2008; 624(1):90-6.
7. Vrana B, Allan IJ, Greenwood R, Mills GA, et ál. Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. *Trends in Analytical Chemistry*. 2005; 24(10):845-68.