



7<sup>mo</sup>  
Congreso de  
Medio Ambiente

Actas 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM  
22 al 24 de mayo de 2012. UNLP. La Plata Argentina

## EVALUACIÓN PRELIMINAR DE LA OCURRENCIA DE CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES DE MONTEVIDEO, URUGUAY

Preliminary evaluation of emerging contaminants presence in sewage waters in  
Montevideo, Uruguay

Andrés Pérez-Parada<sup>a</sup>, Silvina Niell<sup>b</sup>, Marcos Colazzo<sup>a</sup>, Natalia Besil<sup>a</sup>,  
Verónica Cesio<sup>a</sup>, Horacio Heinzen<sup>ab</sup>

<sup>a</sup> Cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales, Departamento de Química Orgánica,  
Facultad de Química, UdelaR, Montevideo, Uruguay

<sup>b</sup> Polo Agroalimentario y Agroindustrial, Departamento de Química del Litoral, Centro  
Universitario Paysandú, UdelaR, Paysandú, Uruguay

++ 598 2924 4068, [heinzen@fq.edu.uy](mailto:heinzen@fq.edu.uy)

*Título abreviado: contaminantes emergentes en aguas residuales de Montevideo*

### ABSTRACT

The contemporary concern about pollution has recently expanded the concept from conventional pollutants to the so-called "emerging contaminants" which are not regulated and whose presence in the environment is not necessarily new, but its implications are still unknown. This group of contaminants includes biologically active products such as pharmaceuticals and personal care products or those associated with modern life. This work

presents the first monitoring of emerging contaminants in wastewater treatment plant of Punta Carretas, Montevideo whose emissary is over the Rio de la Plata. Monitored compounds includes pharmaceuticals (i.e. Ibuprofen, acetaminophen (paracetamol), dipyron, diclofenac, carbamazepine), stimulants (caffeine, nicotine and its major degradation products), pesticides (atrazine and its major degradation products, chlorpyrifos, simazines), an antimicrobial (triclosan), and plasticizers (bisphenol A, bis (2-ethylhexyl) phthalate). It was used an adapted multi-residue analytical method, based on solid phase extraction (SPE) on HLB (hydrophilic-lipophilic balance) cartridges with determination by GC-MS (gas chromatography - mass spectrometric detector). The method performance was measured by recovery tests at two levels (1 and 10 mg / L), linearity, detection and quantification limits (LODs and LOQs) and precision (measured as relative standard deviation (RSD,%). Recoveries were in the range of 74-114% for most compounds with RSD less than 20% and LODs below 0.2 g/L. The application of this method in real samples have permitted the identification and characterization of the pollutants studied in influent and effluent wastewaters. Detection frequencies and occurrence of these compounds are evaluated during an intensive monitoring campaign. The work highlights the ubiquity of residual caffeine, nicotine, paraxanthine, theobromine, carbamazepine, ibuprofen and acetaminophen in the samples analyzed as well as the lack of degradation after the treatment for the removal of these compounds.

## **RESUMEN**

La preocupación sobre la contaminación contemporánea se ha expandido recientemente de los contaminantes convencionales a los llamados “contaminantes emergentes” o “nuevos contaminantes”, que no están regulados y cuya presencia en el medioambiente no es necesariamente nueva aunque sus implicancias son aún desconocidas. Dentro de éstos se incluyen productos biológicamente activos tales como los fármacos y productos de cuidado personal, de uso domestico o todos aquellos relacionados con la vida moderna. Este trabajo presenta el primer monitoreo de contaminantes emergentes en aguas residuales de la planta de pre tratamiento de Punta Carretas, Montevideo que descarga sobre el Rio de la Plata. Los compuestos analizados incluyen fármacos (por ej. ibuprofeno, acetaminofeno (paracetamol), dipirona, diclofenac, carbamazepina), estimulantes (cafeína, nicotina y sus principales productos de degradación), pesticidas (atrazina y sus principales productos de degradación, clorfenvinfos, clorpirifos, DEET,

simazina, trifluralina), un antimicrobiano (triclosan), y plastificantes (bisphenol A, bis(2-etilhexil) ftalato). Fue empleado un método analítico multiresiduo adaptado, basado en extracción en fase sólida (SPE) en cartuchos de HLB (balance hidrofílico-lipofílico) con determinación por GC-MS (cromatografía de gases – detector espectrométrico de masas). El desempeño del método fue medido a través de ensayos de recuperaciones a dos niveles (1 y 10 µg/L), linealidad, límites de detección y cuantificación (LODs y LOQs) así como precisión (medida en forma de desviación estándar relativa (DSR, %)). Mediante el esquema propuesto, se obtuvieron recuperaciones en el rango 74-114 % para la mayoría de los compuestos, con variabilidades menores a 20% y LODs inferiores a 0.2 µg/L. La aplicación de este método en muestras reales permitió la identificación y caracterización de los contaminantes estudiados en muestras discretas de efluentes e influentes de agua residual. Son mostradas además las frecuencias de detección y evolución de estos compuestos según el transcurso del día, mediante un monitoreo intensivo realizado cada 4 horas en la planta de tratamiento durante una semana completa. Se destaca la ubicuidad de residuos de cafeína, nicotina paraxantina, teobromina, carbamazepina, ibuprofeno y acetaminofeno en las muestras analizadas, así como la insuficiente degradación en el tratamiento realizado para evitar su esparcimiento (diseminación) en el medio ambiente.

## **INTRODUCCION**

La mayor fuente de contaminación de los sistemas acuáticos deriva de las emisiones de aguas residuales, que contienen un amplio rango de contaminantes antropogénicos. La atención en la contaminación del agua se ha expandido recientemente de los contaminantes “prioritarios” o convencionales a los llamados “contaminantes emergentes” o nuevos contaminantes, cuya presencia en el

medioambiente no es nueva, pero las posibles consecuencias en la salud pública y el medio ambiente no son bien conocidos. La lista de nuevos contaminantes incluye productos de higiene personal, fármacos, drogas de abuso, productos industriales y domésticos. Muchos de estos compuestos son persistentes y omnipresentes en aguas residuales, superficiales y potables. En Uruguay al igual que en países de la región, no existe regulación específica de contaminación emergente, algo que otras normativas como la Europea está bajo consideración para algunas sustancias (Directiva 2008/105/CE, 2008). No hay evaluación del efecto de contaminantes emergentes, debido principalmente al desafío analítico que imponen el gran número de sustancias a monitorear. Por otro lado, el 60% de la población uruguaya (~1.800.000 habitantes) vive en Montevideo y su zona metropolitana. Las aguas residuales domésticas e industriales de Montevideo, son colectadas en una planta de pretratamiento (colector de Punta Carretas) que no dispone de tratamiento biológico. La disposición final de estas aguas residuales transcurre a través de un emisario subacuático en el Río de la Plata. Esto transforma a las playas y costas de Montevideo en las zonas más susceptibles por la contaminación emergente. El presente trabajo, es una evaluación preliminar de la ocurrencia de los principales contaminantes emergentes en aguas residuales recibidas (influyente) y dispuestas al Río de la Plata (efluente) por la planta de pre tratamiento de Punta Carretas en Montevideo.

Los compuestos analizados incluyen fármacos (por ej. ibuprofeno, acetaminofeno (paracetamol), dipirona, diclofenac, carbamazepina), estimulantes (caféina, nicotina y sus principales productos de degradación), pesticidas (atrazina y sus principales productos de degradación, clorpirifos, DEET), un antimicrobiano (triclosan), y

plastificantes (bisphenol A, bis(2-etilhexil) ftalato). Para las determinaciones fue empleado un método analítico multiresiduo adaptado, basado en extracción en fase sólida (SPE) en cartuchos de HLB (balance hidrofílico-lipofílico) con determinación por GC-MS (cromatografía de gases – detector espectrométrico de masas).

## **METODOLOGIA**

### **Materiales**

Los estándares de los pesticidas fueron suministrados por Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemania). El resto de estándares analíticos fueron provistos por Sigma Aldrich y Fluka (St. Louis, EE.UU). Los solventes y reactivos fueron: Acetato de etilo (AcOEt) calidad para análisis de trazas (Pharmco Products Inc., Brookfield, CT. EE.UU.). Las soluciones stock de los compuestos en estudio se prepararon en AcOEt a  $2,0 \text{ g L}^{-1}$  excepto teobromina que fue preparada en Metanol a  $2,0 \text{ g L}^{-1}$  y se guardaron a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. A partir de las soluciones estándares se prepararon soluciones mix a  $100,0 \text{ mg L}^{-1}$  de cada compuesto en AcOEt.; posteriormente de este mix se prepararon las siguientes soluciones: 0,05; 0,1; 0,5; 0,7, y  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$  en AcOEt. Se utilizó Trifenilfosfato (TPP) en AcOEt como estándar interno a una concentración de  $0,5 \text{ mg/L}$ .

### **Colección de muestras**

Las muestras fueron colectadas según procedimientos internos de acuerdo al programa de monitoreo de la planta de pre tratamiento de Punta Carretas (tratamiento físico sin tratamiento secundario biológico) que lleva a cabo el Laboratorio de Calidad Ambiental (LCA), Intendencia de Montevideo.

Las muestras fueron tomadas en envases de polipropileno, e inmediatamente conservadas a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta el análisis. Los resultados presentados comprenden una campaña entre el 18/09/2011 y el 24/09/11 donde fueron colectadas muestras cada cuatro horas (06hs; 12hs; 18hs y 24hs) del mismo día en puntos de entrada (influyente) y salida (efluente) de la planta de pretratamiento. En total fueron colectadas y analizadas 56 muestras.

### **Preparación de muestra**

Se utilizó un método multiresiduo para determinación de contaminantes emergentes según Gómez *et al.* (2007). Las muestras son ajustadas a pH 8 con  $\text{NH}_4\text{OH}$  (0,1 M) y filtradas en un sistema de filtración utilizando un filtro de poro  $0,45\mu\text{m}$  de acetato de celulosa (Millipore, Brasil). Los analitos fueron extraídas mediante extracción en fase solida (SPE) sobre una Manifold (Supelco, EE.UU) en cartuchos comerciales de OASIS HLB (balance hidrofílico – lipofílico) (Waters, EE.UU) previamente acondicionados con agua destilada ajustada a pH 8.. Se hacen pasar por el adsorbente 200 mL de muestra de agua residual. Se realiza la etapa de elución en dos etapas de 4 mL de

AcOEt. Los extractos obtenidos se juntan y evaporan, llevándolos hasta casi sequedad, donde se reconstituyen con 1 mL de solución de TPP estándar interno a 0,5 µg/L.

### **Preparación de agua residual sintética y fortificación de muestras**

Debido a la imposibilidad de conseguir muestras blanco de agua residual para esta clase de estudios se procedió a realizar ensayos de desempeño del método sobre agua residual sintética preparada según procedimientos internacionales (OECD/OCDE, 2001) tal como ensayaron previamente otros autores (Gómez *et al.*, 2007). Para ello se disuelve en un litro de agua, 160 g de peptona, 110 de urea, 30 mg de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 7 mg de NaCl, 4mg de CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 8mg de (NaCl), 2mg de Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O. Esta agua residual tiene un COD (carbono orgánico disuelto) de aproximadamente 100 mg/L (OECD/OCDE, 2001). Sobre esta agua residual sintética se procedió a fortificar para realizar ensayos de recuperación y determinación de límites de detección con soluciones mix apropiadas de los compuestos de estudio preparados en AcOEt a 10mg/L. Se realizaron recuperaciones en agua residual sintética a dos niveles de fortificación: 1 µg/L y 10 µg/L.

### **Instrumentos**

Los análisis fueron realizados utilizando un Cromatógrafo de Gases (GC) HP 6890 acoplado a un Espectrómetro de Masas (MS) HP 5973 (sistema GC-MS) en modo de ionización por impacto electrónico (EI, 70eV). Las condiciones experimentales fueron las siguientes: columna capilar HP-5 (5 % fenil, 95 %-dimetil- polisiloxano) (30 m x

0.25 mm d.i., 0.25  $\mu\text{m}$  espesor de fase); gas carrier, He (1,0 mL min<sup>-1</sup>); volumen de inyección, 1  $\mu\text{L}$ ; modo de inyección, split; radio de split, 1:12. La temperatura del MS Quadrupolo y de la Fuente fueron 150 y 230°C. El programa de temperatura utilizado fue: 80°C (durante 3 min), luego a 10°C/min hasta 295 °C donde se mantiene 10 min. El software utilizado fue MSD ChemStation D.03.00.611

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Desempeño del método**

El método analítico propuesto es una adaptación al previamente descrito por Gómez *et al.* (2007) donde se evaluaron contaminantes emergentes analizables por cromatografía de gases. En este trabajo fueron evaluados más analitos tales como BHT, metil parabeno, DEET, atrazina y sus productos de degradación etc. Se realizaron ensayos de recuperación como forma de evaluar la exactitud. La precisión fue evaluada a partir de la desviación estándar relativa (DSR, %) de los ensayos de recuperación mientras que los límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) fueron calculados utilizando el método gráfico que define al LOD como 3 Señal / Ruido obtenido mediante el software Chemstation. El LOQ fue determinado como 10 Señal / Ruido.

Por otra parte, también fue evaluada la linealidad en el rango LOQ – 1000  $\mu\text{g/L}$  cubriendo el rango de concentraciones encontradas en este estudio.

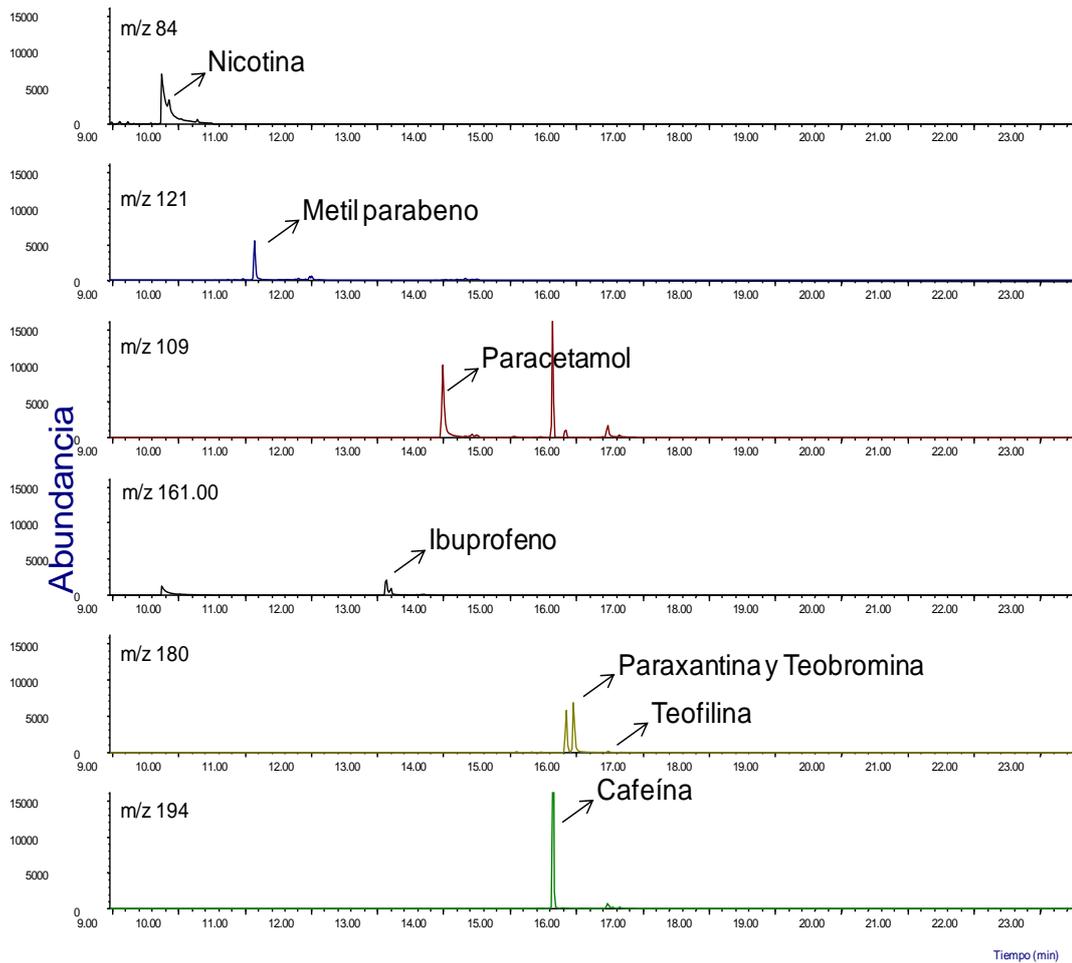
Compuesto	Tiempo de retención	Iones escaneados (m/z)	m/z cuantificación	Rec* % (DSR, %)	LOD (ng/L)
Atrazina	14.6	215, 217, 200, 202, 173	200	88.1 (9.4)	25
BHT	11.8	220, 205, 145	205	92.2 (7.1)	12
Bis(etil-hexil)ftalato	21.75	279,167, 149	149	102.1(3.2)	15
Bisfenol A	18.8	213, 214, 228, 119	213	104.3 (6.4)	33
Cafeina	15.65	194, 195, 109, 82, 67	194	92.7 (8.9)	8
Carbamazepina	20.4	193, 192, 236, 165	193	79.8 (4.3)	102
Clorpirifos	17.1	258, 286, 314	314	84.7 (8.4)	29
Cotinina	14.2	176, 119, 118, 98	98	73.7 (12.7)	60
DEET (dietil toluamida)	12,65	190, 119, 91	119	106.4 (16.3)	32
Desetil-Atrazina	13.65	172, 187, 174	172	88.5 (8.9)	35
Desisopropil-Atrazine	13.5	173, 158, 145	173	82.7 (9.2)	42
Diclofenac	18.7	214, 242, 277, 216	216	80.4 (5.3)	103
Dipirona	17.4	83, 216, 217	217	33.1 (21.0)	102
Ibuprofeno	13.15	161, 163, 206	161	102.4 (6.4)	84
Iminostilbeno	15.6	192, 193, 165	193	-	-
Metil Parabeno	11.15	152, 121, 63, 65	121	93.8 (5.2)	12
Nicotina	9.6	84, 133, 161, 162	84	80.6 (7.8)	20
Nonilfenol	14.3	107, 121,149, 163	107	79.1 (22.9)	200
Paracetamol (acetaminofeno)	13.98	109, 151, 80	109	73.8 (10.5)	120
Paraxantina	16	180, 123, 68	180	-	49
Pentaclorofenol	14.75	266, 268, 165, 200	266	66.2 (15.2)	64
Simazina	14.5	201, 186, 173	201	104.1 (6.1)	79
Teobromina	15.8	180, 109, 82	180	113.7 (12.4)	65
Teofilina	16.5	180, 123, 95, 68	180	101.8 (9.2)	69
TPP (trifenil fosfato)	20.7	325, 326, 327	326	-	-
Triclosan	18.2	288, 290, 218, 146	218	99.1 (14.1)	50

**Tabla 1.** Iones seleccionados, tiempos de retención (min), recuperaciones a 10µg/L y LODs (en ng/L) para los compuestos estudiados.

**Table 1.** Selected Ions, retention time (min), recovery to 10µg/L and LODs (in ng/L) for the studied compounds.

Mediante el esquema propuesto, se obtuvieron recuperaciones en el rango 74-114 % en la mayoría de los casos con precisiones menores a 20%. Sin embargo se obtuvieron bajas recuperaciones para el antipirético/antiinflamatorio dipirona (33.1%) posiblemente debido a que esta sufre hidrólisis (Martínez Bueno, 2007). Utilizando un factor de preconcentración de 200 veces los LODs encontrados fueron inferiores a 0.2 µg/L. La Tabla 1 muestra los iones seleccionados, tiempos de retención, porcentajes de recuperaciones obtenidos al nivel de 10 µg/L y los correspondientes LODs. Cabe la pena destacar la formación de iminoestilbeno como producto de degradación térmica de carbamazepina durante el análisis.

La Figura 1 ejemplifica el análisis simultáneo por GC-MS en una muestra real de efluente de agua residual de nicotina, metil parabeno, paracetamol ibuprofeno, cafeína y sus principales metabolitos paraxantina, teobromina y teofilina.



**Figura 1.** Cromatograma de GC-MS mostrando los iones escaneados de detección de algunos contaminantes emergentes relevantes en una muestra de efluente de agua residual de la planta de tratamiento de Montevideo.

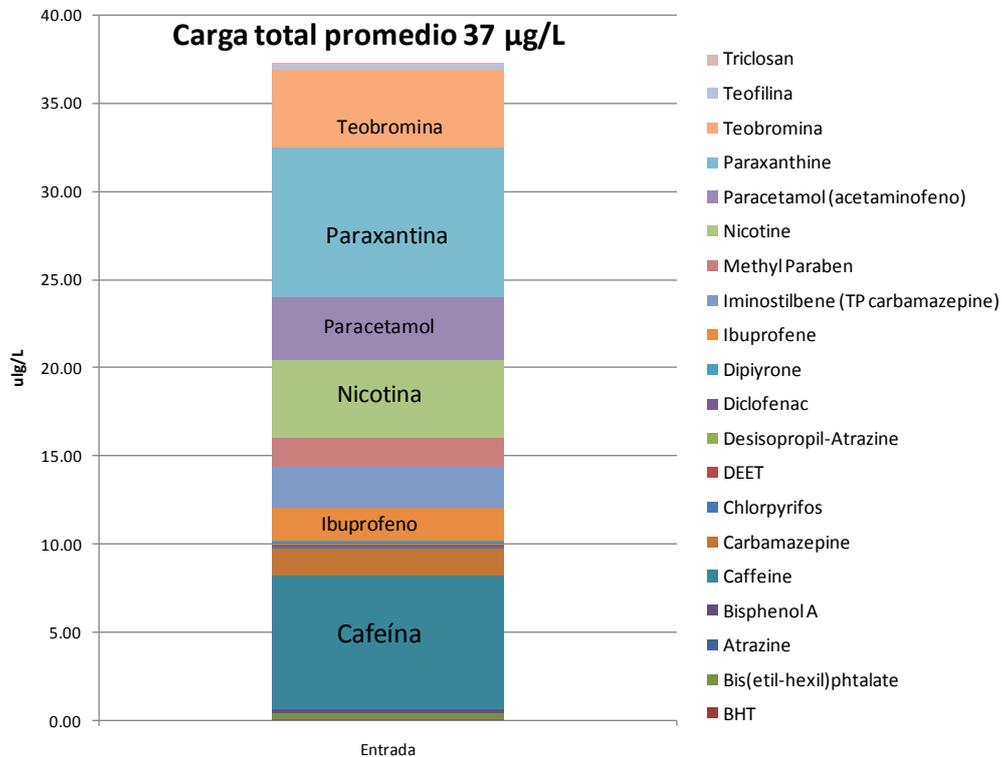
**Figure 1.** GC-MS Chromatogram showing scanned ions detecting some relevant emerging contaminants in a sewage water sample from the sewage water treatment plant in Montevideo city.

### Monitoreo de influentes y efluentes

La estrategia desarrollada se aplicó para caracterizar diferencias sustanciales entre los influentes y efluentes de agua residual durante este monitoreo semanal. Se detectaron la mayoría de los compuestos seleccionados a niveles  $\mu\text{g/L}$  exceptuando desetil atrazina y

simazina que no fueron detectados en ninguna muestra. En general, un reducido grupo de compuestos representa más de un 50% de la carga total de la contaminación por los compuestos estudiados. Estos compuestos son cafeína, paraxantina, teobromina, nicotina, paracetamol e ibuprofeno.

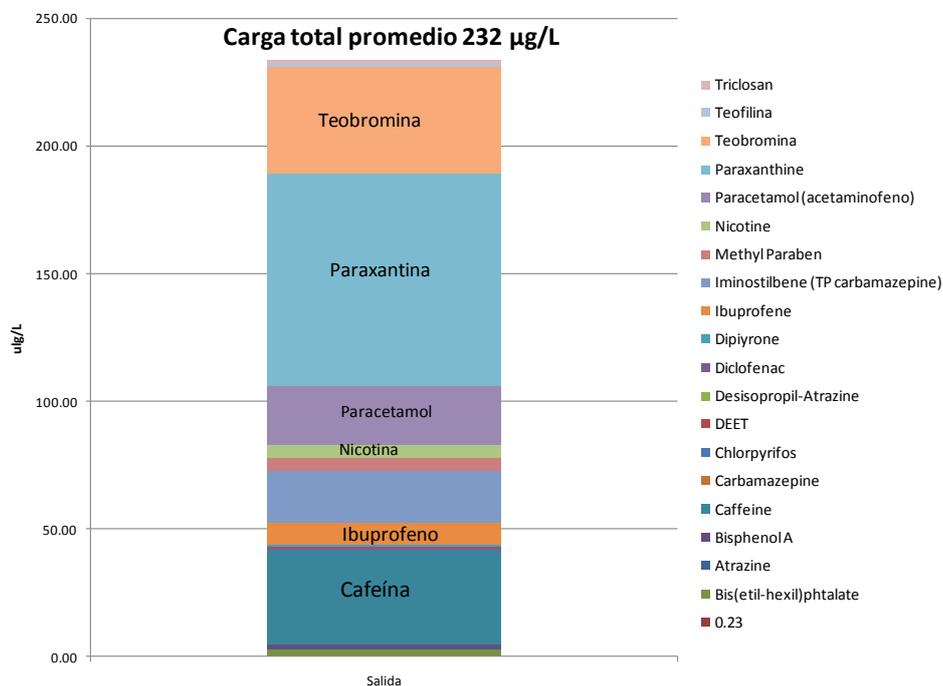
La Figura 2, muestra las contribuciones individuales a la carga total promedio de las muestras de influente. Se puede notar una carga promedio de 37  $\mu\text{g/L}$  de los contaminantes emergentes monitoreados para 28 muestras diferentes tomadas cada 4hs en el periodo de una semana.



**Figura 2.** Carga total promedio y contribuciones individuales en el periodo de una semana para influentes (muestras de entrada) de la planta de tratamiento.

**Figure 2.** Mean total content and individual contribution of chemicals during the one-week period in influent water to the water treatment plant.

Por otra parte, las muestras de efluentes de la planta de tratamiento muestran perfiles similares aunque la carga total promedio se ve incrementada a 232  $\mu\text{g/L}$ . Se puede notar que cafeína, paraxantina y teobromina son los compuestos que más experimentan un aumento en su concentración promedio. Este comportamiento podría explicarse debido a la adsorción sobre sólidos suspendidos, tal como experimento Gómez *et al.* (2007). Este mismo autor postula una liberación de los compuestos más polares tales como cafeína y sus compuestos relacionados a la fase acuosa durante procesos de decantación y filtración, al mismo tiempo que los compuestos más lipofílicos son removidos durante el tratamiento mediante absorción a los lodos.



**Figura 3.** Carga total promedio y contribuciones individuales en el periodo de una semana para efluentes (muestras de salida) de la planta de tratamiento.

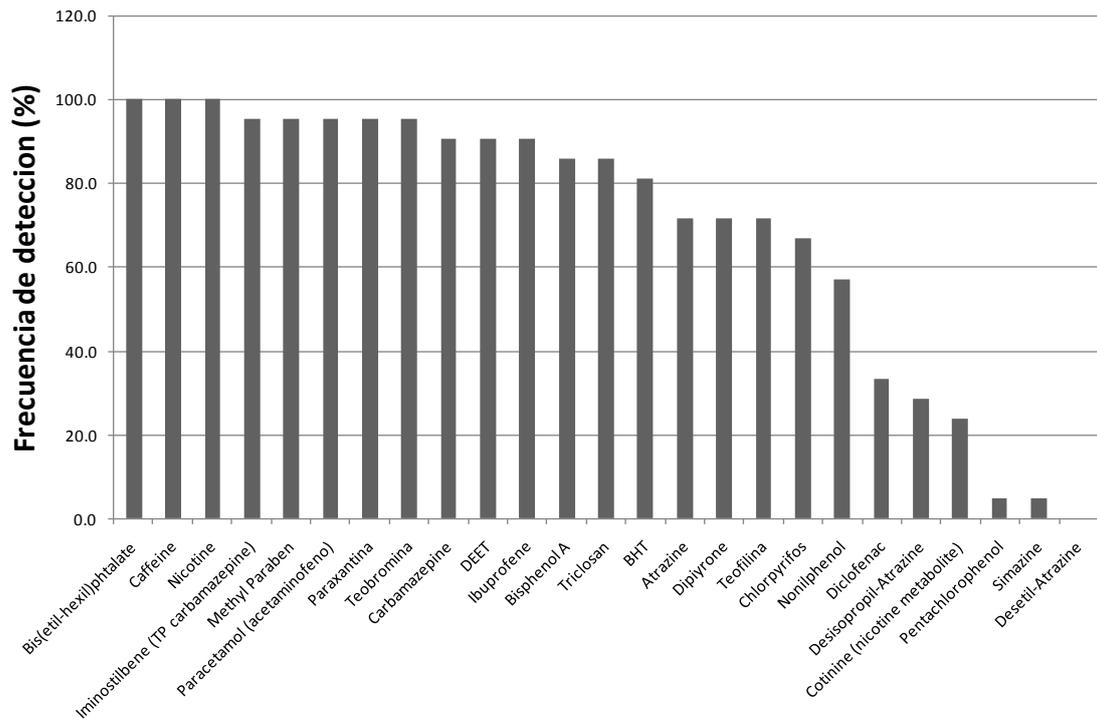
**Figure 3.** Mean total content and individual contribution of chemicals during the one-week period in effluent water from the water treatment plant.

Como se puede observar hay que destacar la importancia de los productos de degradación y metabolitos ya que de los 6 compuestos más destacados, 2 de ellos pertenecen a esta categoría (paraxantina y teobromina).

Desde el punto de vista de la frecuencia de detección, la totalidad de las muestras presentaron cafeína, nicotina y el plastificante bis(etilhexil)ftalato.

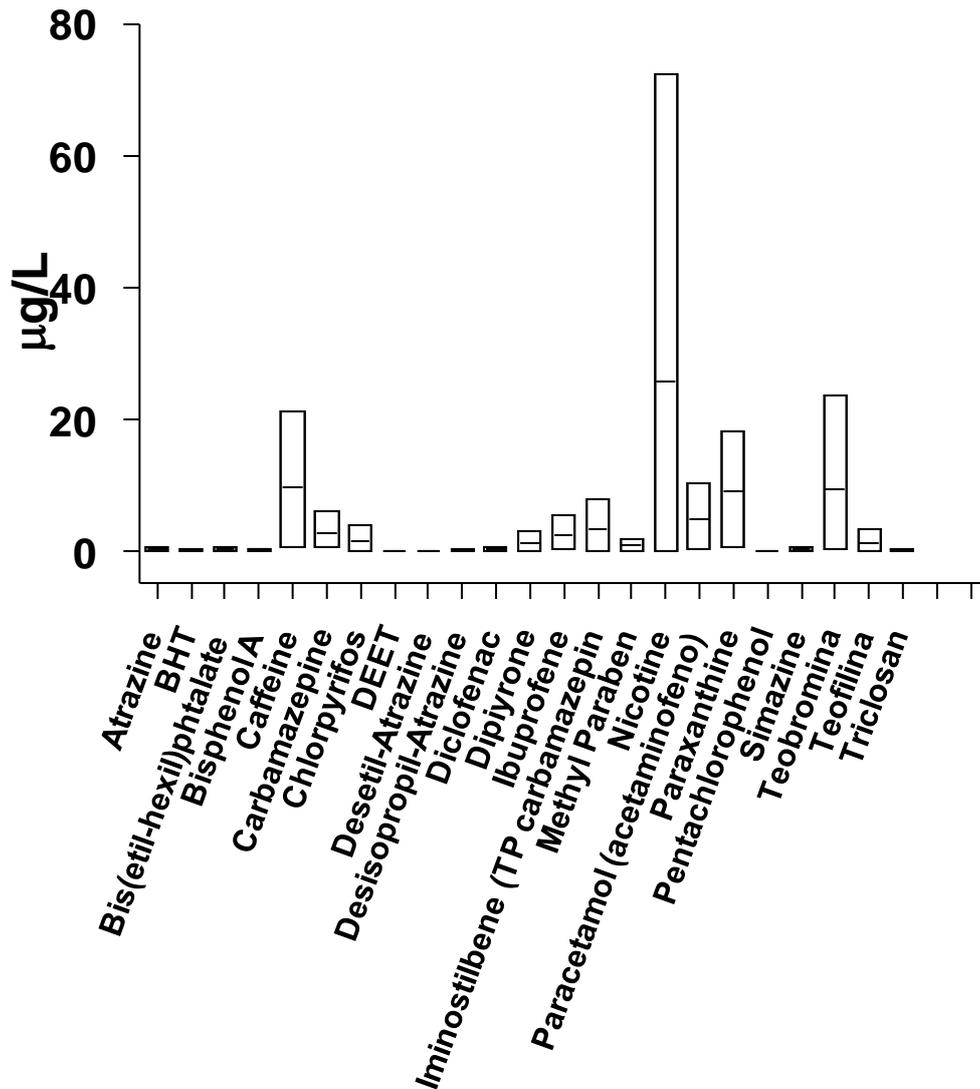
Otros compuestos como paracetamol, metil parabeno, paraxantina, teobromina iminoestilbeno y carbamazepina también presentaron muy alta ocurrencia en las muestras analizadas. Los compuestos mayormente presentes fueron estimulantes (cafeína y nicotina) seguidos por fármacos y otros compuestos presentes en productos de cuidado personal como por ejemplo metil parabeno, BHT, DEET y triclosan.

La Figura 4 ilustra los anteriores enunciados, donde además se nota que los pesticidas fueron quienes presentaron menores ocurrencias aunque fueron detectados residuos de clorpirifos y atrazina. De esta forma, se puede afirmar que las aguas residuales estudiadas presentan las mayores incidencias de contaminación emergente debido a contaminantes de origen doméstico.



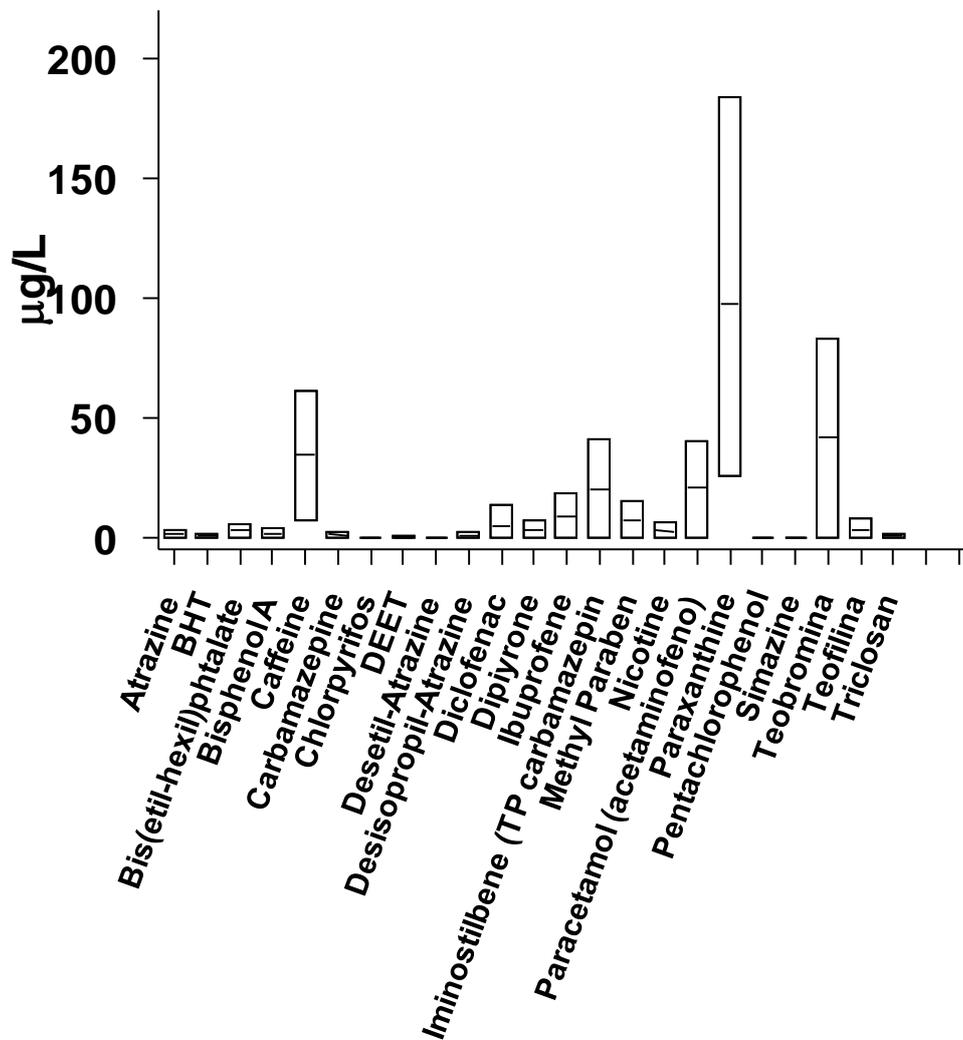
**Figura 4.** Frecuencias de detección de los compuestos analizados.

**Figure 4.** Detections frequency of the analyzed compounds.



**Figura 5.** Promedios (línea media), máximos y mínimos de concentración de los contaminantes estudiados durante el monitoreo de influentes de agua residual.

**Figure 5.** Mean (horizontal intermediate line), maximum and minimum concentration of contaminants in influent sewage waters during the monitored period.



**Figura 6.** Promedios (línea media), máximos y mínimos de concentración de los contaminantes estudiados durante el monitoreo de efluentes de agua residual.

**Figure 6.** Mean (horizontal intermediate line), maximum and minimum concentration of contaminants in effluent sewage waters during the monitored period.

Se estudió la evolución temporal de estos compuestos. Las Figuras 5 y 6 muestran los promedios de ocurrencia, máximos y mínimos encontrados para estos analitos en influentes y efluentes, respectivamente. Se nota un máximo de concentración de

nicotina de 73  $\mu\text{g/L}$  en las muestras de influente con máximos de cafeína, paraxantina y teobromina en el entorno de los 20  $\mu\text{g/L}$ .

Por otro lado, en las muestras de efluentes presentaron máximos de paraxantina (184  $\mu\text{g/L}$ ) seguido por teobromina (83  $\mu\text{g/L}$ ) evidenciando un aumento al grado de degradación durante el tratamiento de aguas residuales.

## **CONCLUSIONES**

La metodología analítica propuesta ha permitido la evaluación del estado de las aguas residuales a un grupo de contaminantes emergentes. Como se ha visto, los tratamientos que se están aplicando actualmente no son eficaces para la eliminación de este tipo de contaminación, ya que se detectan habitualmente concentraciones de los contaminantes estudiados del rango de  $\mu\text{g/L}$  en los efluentes. Los resultados obtenidos también han puesto de manifiesto que para este tipo de análisis es necesario el seguimiento de metabolitos y productos de transformación de los compuestos ya que existe degradación durante el tratamiento. Sin embargo, los niveles de contaminantes emergentes polares encontrados en aguas residuales tratadas con la tecnología propuesta son mayores en los encontrados en muestras de agua sin tratar, probablemente debido a la liberación de estos desde los sólidos suspendidos.

## AGRADECIMIENTOS

Laboratorio de Calidad Ambiental, Intendencia de Montevideo, Facultad de Química UdelaR, PEDECIBA Química y Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC, Uruguay)

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Martínez Bueno MJ, Agüera A, Gómez MJ, Hernando MD, García Reyes JF & Fernández-Alba AR. 2007: Application of liquid chromatography/quadrupole-linear ion trap mass spectrometry and time-of-flight mass spectrometry to the determination of pharmaceuticals and related contaminants in wastewater. *Analytical Chemistry*, 79: 9372-9384
- Gómez MJ, Martínez Bueno MJ, Lacorte S, Fernández-Alba AR & Agüera A. 2007. Pilot survey monitoring pharmaceuticals and related compounds in a sewage treatment plant located on the Mediterranean coast *Chemosphere*, 66: 993-1002
- OECD/OCDE. 2001. Monograph 303 A: Activated Sludge Units *OECD guideline for the testing of chemicals* 6 p
- Richardson SD & Ternes TA. 2011. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues *Analytical Chemistry*. 83: 4614-4648