



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

**Determinación de
contaminantes orgánicos
prioritarios y emergentes
en aguas superficiales
mediante cromatografía
acoplada a espectrometría
de masas**

Alumna: Rosalía Mengíbar García

Junio, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Facultad de Ciencias Experimentales

Trabajo Fin de Grado

Determinación de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes en aguas superficiales mediante cromatografía acoplada a espectrometría de masas

Alumna: Rosalía Mengíbar García

Jaén, Junio de 2020

Fdo. Rosalía Mengíbar García

Resumen

En este trabajo de fin de grado se ha realizado una revisión de los principales métodos de análisis de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes y de los niveles de contaminación detectados en diferentes estudios de monitorización realizados en aguas de España y de otros países de la Unión Europea. Como técnicas de extracción, las más empleadas son la extracción líquido-líquido (LLE) y la extracción en fase sólida (SPE). Para la separación y el análisis, se emplean la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (LC-MS). Además, se ha comprobado que el ciclo de planificación actual tiene un papel fundamental en la mejora del estado químico de las masas de agua superficiales en España, y que a nivel europeo ha habido mejoras en el medio ambiente debido al incremento de los controles de los contaminantes más conocidos.

Abstract

In this work, a review of the main methods of analysis of priority and emerging organic pollutants and of the levels of contamination detected in different monitoring studies carried out in waters of Spain and other countries of the European Union has been accomplished. As extraction techniques, the most used are liquid-liquid extraction (LLE) and solid phase extraction (SPE). For separation and analysis, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) are used. In addition, it has been verified that the current planning cycle plays a fundamental role in improving the chemical state of surface water bodies in Spain, and that at European level there have been improvements in the environment due to increased controls on best known contaminants.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Problemática general del agua.....	5
1.2. Contaminantes prioritarios.....	7
1.3. Normativas europeas sobre calidad de las aguas y presencia de contaminantes orgánicos en aguas superficiales.....	8
1.4. Contaminantes emergentes.....	15
2. OBJETIVOS.....	17
3. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN EMPLEADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS.....	17
3.1. Extracción líquido-líquido (LLE).....	18
3.2. Extracción en fase sólida (SPE).....	20
3.3. Extracción por absorción con barras agitadoras (SBSE).....	21
3.4. Microextracción en fase sólida con extracción en espacio de cabeza (HS-SPME)	22
4. TÉCNICAS DE SEPARACIÓN Y ANÁLISIS EMPLEADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS.....	25
4.1. Cromatografía de líquidos (LC)	25
4.2. Cromatografía de gases (GC)	26
4.3. Espectrometría de masas (MS)	29
4.4. Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC-MS).....	29
4.5. Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas (LC-MS).....	31
5. ESTUDIO DEL NIVEL DE CONTAMINACIÓN DETECTADO EN AGUAS SUPERFICIALES EN ESPAÑA Y EN OTROS PAÍSES DE LA UNIÓN EUROPEA.....	32
6. CONCLUSIONES.....	44
7. BIBLIOGRAFÍA.....	45

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Problemática general del agua

El agua conserva los ecosistemas y regula el clima, por lo que es un patrimonio que hay que proteger y defender. La cantidad de agua dulce que puede emplearse para el uso directo de los seres humanos supone menos del 1% de la existente en el planeta (Comisión Europea, 2019). Esto hace que cada vez sea mayor la competencia por el agua, lo que conlleva a su vez un riesgo para la economía, las comunidades y los ecosistemas de los que estas dependen. Una solución para solventar los problemas de escasez de agua consiste en la reutilización de la misma. Así, las aguas residuales pueden ser tratadas con el fin de poder ser vertidas nuevamente al medio. La depuración de estas aguas residuales es necesaria, ya que estas contienen contaminantes como patógenos, productos químicos orgánicos e inorgánicos, basura y desechos visibles en el agua.

A este problema de abastecimiento, hay que sumar la problemática que supone el empleo de plaguicidas para la producción de los cultivos, ya que estos originan efectos perjudiciales. La búsqueda de la productividad a corto plazo por encima de la sostenibilidad ecológica, ha dejado un saldo a nivel mundial de contaminación y envenenamiento. La dispersión de estos plaguicidas va a depender de factores como sus propiedades físicas y químicas, las condiciones meteorológicas de la zona y las condiciones geomorfológicas de los suelos. Debido a esto, los pesticidas pueden llegar a las aguas superficiales y a las subterráneas. Además, hay que añadir el hecho de que, en muchos países, parte de la población se provee de agua proveniente de canales y acequias que suele estar contaminada. Esto deriva en la muerte de millones de personas al año como consecuencia de enfermedades causadas por el mal uso del agua.

Durante décadas de progreso científico y tecnológico, multitud de sustancias químicas fueron liberadas al medio, sin una evaluación previa acerca de los posibles efectos ambientales y toxicológicos. La preocupación sobre las posibles consecuencias adversas de estos contaminantes no surge hasta la década de los 60, con el origen de la conciencia ambiental (Polo Piñeiro M., 2017).

A partir de ese momento, una gran cantidad de sustancias peligrosas para la salud humana y/o el medio ambiente han sido detectadas en muestras ambientales. Este es

el caso de los contaminantes orgánicos prioritarios, entre los que se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), los bifenilos policlorados (PCBs), las dioxinas, los contaminantes fenólicos, o algunos pesticidas. Como consecuencia de estas investigaciones, la utilización de estos compuestos ha sido prohibida o limitada mediante la implementación de distintas legislaciones, tanto nacionales como internacionales, para disminuir la exposición a los mismos. Por otra parte, en los últimos años, otras clases de contaminantes orgánicos anteriormente consideradas inocuas o con toxicidad menos conocida están empezando a ser investigados. Son los llamados contaminantes emergentes. Dentro de este grupo se encuentran productos de uso diario, tales como detergentes, fármacos, productos para el cuidado y la higiene personal, plásticos o compuestos ignífugos (Polo Piñeiro M., 2017).

Por todas estas razones, resulta necesario conocer cuáles son los contaminantes que existen en el agua, para así poder desarrollar y aplicar métodos analíticos que permitan evaluar y controlar las concentraciones de estos compuestos en las aguas superficiales.

La UE ha elaborado una lista de 45 contaminantes prioritarios (Comisión Europea, 2000; Comisión Europea, 2004) para ser controlados y mantenidos bajo ciertos niveles en aguas superficiales (Comisión Europea, 2008). Esta lista se encuentra bajo continuas modificaciones desde el marco de la persistencia en el ciclo del agua (Comisión Europea, 2013).

España es uno de los países con mayor escasez de agua en Europa y, como consecuencia, es uno de los países que más agua reutiliza. Para efectuar esta práctica de forma segura es imprescindible conocer los contaminantes presentes. En línea con lo anterior, se han llevado a cabo algunos estudios en las cuencas del Ebro, Guadalquivir, Júcar y Llobregat, en los que se ha descubierto la presencia de pesticidas y fármacos, aparte de numerosos contaminantes industriales (Kuzmanović et al., 2015), debido a que estos no han sido eliminados en las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs).

Por otro lado, la presencia de contaminantes en Jaén se debe principalmente a la agricultura y en menor medida a actividades industriales, puesto que Jaén es la mayor región productora de aceite de oliva a nivel mundial. Estas actividades pueden conducir a una contaminación de las aguas debido al elevado empleo de pesticidas

con el fin de controlar las plagas del olivar (Robles Molina et al., 2014). De igual forma, en Jaén pueden situarse diversas fuentes hidrológicas contaminadas, por lo que resulta conveniente desarrollar nuevos métodos analíticos para la evaluación y el control de aguas en la provincia.

1.2. Contaminantes prioritarios

La Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo propone una estrategia para luchar contra la contaminación de las aguas. Esta estrategia conlleva la identificación de sustancias prioritarias entre aquellas que suponen un peligro relevante en la Unión para el medio acuático o a través de este. Por ello, la UE ha confeccionado una lista de 45 contaminantes prioritarios para facilitar su control bajo determinados niveles en aguas superficiales (Comisión Europea, 2013).

Pertenecen a esta lista sustancias como metales pesados, contaminantes orgánicos como plaguicidas, HAPs o surfactantes.

Los HAPs son sustancias constituidas esencialmente durante la combustión incompleta de materia orgánica (carbón, petróleo, carne preparada en la parrilla, etc.). Constituyen un grupo de más de 100 sustancias químicas diferentes, y se encuentran generalmente como una mezcla de dos o más de estos compuestos.

Los HAPs acceden al medio ambiente mayormente a través de las emisiones al aire de los volcanes, los incendios forestales, la quema de madera en los hogares y los gases de los tubos de escape de automóviles y camiones. También pueden entrar a las aguas de superficie a través de las descargas de las plantas industriales y las plantas de tratamiento de aguas residuales. Son compuestos dañinos para los seres humanos, algunos de ellos incluso son considerados como posibles carcinógenos humanos.

Por otro lado, los plaguicidas son productos químicos usados para controlar plagas (insectos, ácaros, hongos, oomicetos, bacterias, virus, nematodos, caracoles, roedores y malezas) que afectan los cultivos. En la agricultura habitual desempeñan una labor crucial para lograr y conservar niveles altos de productividad y rentabilidad. Sin embargo, el empleo de plaguicidas origina perjuicios considerables para la salud y el medio ambiente. Por esta razón se desarrolló una herramienta con el fin de ser usada por los organismos estatales y no gubernamentales cuando trabajan en la

prevención de los daños causados por el mal uso de los plaguicidas: el código internacional de conducta para la distribución y uso de plaguicidas (Código Internacional). Se trata de un documento de orientación de la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y Agricultura (FAO).

Por último, los difenil éteres polibromados (PBDE) son un grupo de sustancias químicas con propiedades semejantes, que se utilizan como mezclas en aplicaciones industriales. Se caracterizan por ser líquidos densos que se descomponen cuando se calientan por encima de 200°C. Son compuestos no volátiles e insolubles en agua, presentando una inflamabilidad bastante escasa. Se desconocen algunos de los efectos que ocasiona esta sustancia sobre la salud del ser humano, aunque una exposición prolongada puede provocar alteraciones hepáticas.

1.3. Normativa europea sobre calidad de las aguas y presencia de contaminantes orgánicos en aguas superficiales

La Unión Europea ha llevado a cabo, desde los años 70 y hasta la actualidad, una expansión y reorganización de su política en materia de agua. Antes de que tuviese lugar la incorporación de España en la Unión Europea, ya existían una serie de directivas relativas a la calidad requerida para las aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable. A continuación, se recogen todas las directivas existentes antes de que España se uniera a la Unión Europea:

- Directiva 75/440/CEE del Consejo, de 16 de junio de 1975, relativa a la calidad requerida para las aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable de los Estados miembros.
- Decisión 77/795/CEE del Consejo, de 12 de diciembre de 1977, por la cual se establece un procedimiento común de intercambio de informaciones relativo a la calidad de las aguas continentales superficiales en la comunidad.
- Directiva 79/869/CEE del Consejo, de 9 de octubre de 1979, relativa a los métodos de medida y a la frecuencia de los muestreos y del análisis de las aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable en los Estados miembros.

España se incorporó a la Unión Europea en 1986, estando en ese momento en vigor la **Ley de Aguas 29/1985** (Comisión Europea, 1985). Esta ley expresaba la importancia del agua como recurso indispensable para la vida y distinguía entre aguas

superficiales y subterráneas, explicando que ambos tipos de aguas deben estar disponibles con la calidad precisa, en función de las directrices de la planificación económica. Para conseguir esto, se planteaba llevar a cabo una planificación previa hidrológica, así como establecer la presencia de unas instituciones adecuadas para la eficaz administración del recurso. Esta medida surgió también con el objetivo de armonizar e igualar la legislación española y europea.

En 1991, entraron en vigor dos nuevas directivas: la **Directiva 91/271/CEE** del Consejo (Comisión Europea, 1991), de 21 de mayo de 1991, y la **Directiva 91/676/CEE** del Consejo (Comisión Europea, 1991), de 12 de diciembre de 1991. La primera se centraba en el tratamiento de las aguas residuales urbanas, y tenía por objeto proteger el medio ambiente en la UE de las repercusiones negativas producidas por las aguas residuales urbanas e implantar normas de recogida, tratamiento y vertido de aguas residuales. Para ello, los países de la UE debían recoger y tratar las aguas residuales, aplicando distintos tratamientos en función de la población de las zonas urbanas, así como garantizar un mantenimiento adecuado de las instalaciones de tratamiento y controlar la eliminación y reutilización de los lodos residuales. Por otro lado, la segunda directiva adoptada en 1991 versaba sobre la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos empleados en la agricultura, dado que el nitrógeno en altas concentraciones es perjudicial para la naturaleza y el ser humano y el uso agrícola de los nitratos puede constituir una de las principales fuentes de contaminación de aguas. Su finalidad era disminuir la contaminación del agua provocada por los nitratos y proceder de manera preventiva contra nuevas contaminaciones. Para conseguir esto, los países de la UE debían designar zonas vulnerables de verse afectadas por altos niveles de nitratos y elaborar programas de acción para estas zonas, así como llevar a cabo un amplio programa de control y analizar la concentración de nitratos en aguas subterráneas y superficiales periódicamente.

En el año 1998, se formuló la **Directiva 98/83/CE** del Consejo (Comisión Europea, 1998), de 3 de noviembre, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. El objetivo de esta directiva era establecer normas para el agua potable y proteger la salud pública de los efectos adversos de cualquier contaminación asegurando la limpieza de las aguas que van a ser consumidas por el ser humano. Entre las medidas que los países de la UE debían tomar se incluía garantizar la no

presencia de microorganismos o sustancias perjudiciales para la salud humana, controlar las aguas regularmente en los lugares de tomas de muestra e inhabilitar o limitar el abastecimiento de agua considerada como un posible peligro para la salud pública.

Debido al continuo incremento de la demanda de agua de buena calidad en cantidades suficientes para los más diversos usos, en el año 2000 la UE estableció la **Directiva 2000/60/CE o Directiva Marco del Agua** del Parlamento Europeo y del Consejo (Comisión Europea, 2001). En ella se establecen las normas para frenar el desgaste de las masas de agua de la UE y alcanzar así un buen estado de los ríos, lagos y aguas subterráneas. Esto incluía el cuidado de todas las formas de agua, la recuperación de los ecosistemas existentes en esas masas de agua, la disminución de la contaminación de las aguas y garantizar el uso sostenible del agua por parte de particulares y empresas. Las autoridades nacionales debían analizar las características de las cuencas hidrográficas, controlar el estado del agua en cada cuenca, registrar las zonas que requieren una especial atención y elaborar y aplicar “planes hidrológicos de cuenca”.

Dada la creciente inquietud sobre la presencia de contaminantes orgánicos, en 2001 se publicó la **Decisión 2455/2001/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo (Comisión Europea, 2001). En ella se recoge la primera lista de sustancias prioritarias (compuesta por 33 sustancias) en el ámbito de la política de aguas, y con ella se modifica la Directiva 2000/60/CE. Estas 33 sustancias prioritarias vienen recogidas en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas (Decisión nº 2455/2001/CE).

Nombre de la sustancia prioritaria			
1. Alacloro	9. Cloropirifos ¹	17. Hexaclorobutadieno ¹	25. Octilfenoles ¹
2. Antraceno ¹	10. 1,2-dicloroetano	18. Hexaclorociclohexano ¹	26. Pentaclorobenceno ¹
3. Atrazina ¹	11. Diclorometano	19. Isoproturón ¹	27. Pentaclorofenol
4. Benceno	12. Di (2-etilhexil)ftalato (DEHP) ¹	20. Plomo y sus compuestos ¹	28. Hidrocarburos poliaromáticos ¹

5. Difeniléteres bromados ¹	13. Diurón ¹	21. Mercurio y sus compuestos ¹	29. Simazina ¹
6. Cadmio y sus compuestos ¹	14. Endosulfán ¹	22. Naftaleno ¹	30. Compuestos del tributiltín ¹
7. C ₁₀₋₁₃ -cloroalcanos ¹	15. Fluoranteno	23. Níquel y sus compuestos	31. Triclorobencenos ¹
8. Clorofenvinfos ¹	16. Hexaclorobenceno ¹	24. Nonilfenoles ¹	32. Triclorometano (cloroformo)
			33. Trifluralina ¹

¹ **Sustancias identificada como sustancia peligrosa prioritaria**

El marco legal estableció el **Real Decreto RD/140/2003** (B.O.E., 2003) en el que se responden las demandas de las sociedades europeas y por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria para el abastecimiento y el control de calidad de aguas potables de consumo público. Este Real Decreto expande su ámbito a aguas de consumo y a todas las aguas de uso doméstico, así como a aguas empleadas en la industria alimentaria. En función de la composición del agua y del uso al que vaya a ser destinado se define su calidad. En consecuencia, deben cumplir con las exigencias de calidad de este decreto las aguas destinadas al suministro de la población.

En el año 2006 se publicaron tres directivas: **Directiva 2006/7/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo, **Directiva 2006/11/CE**, de la Comisión y el Parlamento Europeo y **Directiva 2006/118/CE**. En la Directiva 2006/7/CE (Comisión Europea, 2006), los objetivos son controlar la calidad de las aguas de baño, implementar medidas de mejora de la gestión y poner información a disposición del público. Además, complementa a la Directiva 2000/60/CE sobre la protección y la gestión del agua. Por otro lado, la Directiva 2006/11/CE (Comisión Europea, 2006), establece normas de protección y de prevención de la contaminación causada por el vertido de determinadas sustancias en el medio acuático. Su aplicación va dirigida a las aguas interiores superficiales, a las aguas de mar territoriales y a las aguas interiores del litoral. Para combatir la contaminación se elaboraron dos listas de sustancias peligrosas: se deben eliminar los vertidos de las sustancias que aparecen en la lista I, mientras que los vertidos de las sustancias de la lista II deben reducirse.

Por otra parte, la Directiva 2006/118/CE (Comisión Europea, 2006) trata sobre la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro. Incorpora medidas de evaluación del estado químico de las aguas y medidas destinadas a reducir la presencia de contaminantes. Para ello se establecen una serie de criterios para evaluar el estado químico de las aguas.

En 2007, en España se implantó el **Real Decreto 1620/2007** (B.O.E., 2007). En él se hace necesario establecer una regulación reglamentaria más íntegra y detallada que permita dar las soluciones necesarias respecto a la reutilización. Por ello, se explica el concepto de reutilización y se incluye la denominación de aguas regeneradas. Se disponen los requisitos indispensables para llevar a cabo la labor de utilización de aguas regeneradas, los recursos para lograr la concesión exigida en la ley, así como disposiciones que conciernen a los usos permitidos y requerimientos de calidad precisas en cada caso.

En 2008, se publicó la **Directiva 2008/105/CE** (Comisión Europea, 2008) del Parlamento Europeo y del Consejo. Esta directiva establece normas de calidad ambiental (NCA) referentes a la presencia de sustancias prioritarias y otros ocho contaminantes en aguas superficiales. Las NCA se fundamentan en límites para las concentraciones de dichas sustancias, es decir, consisten en establecer umbrales que no deben superarse si se pretende alcanzar un estado químico aceptable. Existen dos tipos de normas: un umbral de concentración media de la sustancia en cuestión para asegurar protección contra la exposición a largo plazo, y una concentración máxima admisible de la sustancia en cuestión para garantizar protección contra la exposición a corto plazo. Estas normas están relacionadas con la Directiva Marco del Agua.

En 2013 surgió la **Directiva 2013/39/UE** (Comisión Europea, 2013) del Parlamento Europeo y del Consejo, por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE. Esta directiva actualizó las NCA de 7 de las 33 sustancias prioritarias basándose en nuevos conocimientos científicos sobre las propiedades de las mismas. Además, se incluyeron 12 sustancias prioritarias identificadas posteriormente. En la **Tabla 2** se recogen estas nuevas 12 sustancias introducidas por esta directiva.

Tabla 2. Listado de las 12 sustancias prioritarias introducidas por la Directiva 2013/39/CE (Comisión Europea, 2013).

Nombre de la sustancia prioritaria			
1. Dicofo ¹	4. Dioxinas y compuestos similares ¹	7. Cibutrina	10. Hexabromo-ciclododecanos (HBCDD) ¹
2. Ácido perfluoro-octano-sulfónico y sus derivados (PFOS) ¹	5. Aclonifeno	8. Cipermetrina	11. Heptacloro y epóxido de heptacloro ¹
3. Quinoxifeno ¹	6. Bifenox	9. Diclorvós	12. Terbutrina

¹Sustancia identificada como sustancia peligrosa prioritaria

En 2015 se publicó la **Decisión de Ejecución (UE) 2015/495** (Comisión Europea, 2015), por la que se creó una lista de observación de sustancias con el objetivo de llevar a cabo un seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas. Esta lista está recogida en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Lista de observación de sustancias con el objetivo de llevar a cabo un seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas (Comisión Europea, 2015).

Nombre de la sustancia/grupo de sustancias	Método analítico indicativo	Límite máximo aceptable de detección del método (ng/l)
17-alfa-Etinilestradiol (EE2)	SPE-LC-MS-MS en grandes volúmenes	0,035
17-beta-Estradiol (E2), estrona (E1)	SPE-LC-MS-MS	0,4
Diclofenaco	SPE-LC-MS-MS	10
2,6-di-terc-Butil-4-metilfenol	SPE-GC-MS	3160
4-Metoxycinamato de 2-etilhexilo	SPE-LC-MS-MS o GC-MS	6000
Antibióticos macrólidos	SPE-LC-MS-MS	90

Metiocarb	SPE-LC-MS-MS 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

En 2018, se publicó la **Decisión de Ejecución 2018/840/CE** (Comisión Europea, 2018), que incluye la lista de observación (**Tabla 4**) más reciente de las sustancias sobre las que deben recabarse datos de seguimiento.

Tabla 4. Lista de observación más reciente de las sustancias sobre las que deben recabarse datos de seguimiento (Comisión Europea, 2018).

Nombre de la sustancia/grupo de sustancias	Método analítico indicativo	Límite máximo aceptable de detección del método (ng/l)
17-alfa-Etinilestradiol (EE2)	SPE-LC-MS-MS en grandes volúmenes	0,035
17-beta-estradiol (E2), estrona (E1)	SPE, LC-MS-MS	0,4
Antibióticos macrólidos	SPE, LC-MS-MS	19
Metiocarb	SPE, LC-MS-MS o GC-MS	2
Neonicotinoides	SPE, LC-MS-MS	8,3
Metaflumizona	LLE, LC-MS-MS o SPE, LC-MS-MS	65
Amoxicilina	SPE, LC-MS-MS	78
Ciprofloxacina	SPE, LC-MS-MS	89

En conclusión, en la década de los 90, se intentó solucionar los inconvenientes relacionados con la contaminación proveniente de aguas residuales urbanas, del sector agrícola y de las grandes instalaciones industriales, mediante la directiva de

Aguas Residuales Urbanas. Sin embargo, hasta el año 2000 con la Directiva Marco del Agua (DMA), no se inició la obligación de la Comisión de presentar propuestas específicas, para identificar sustancias alarmantes para ser clasificadas como prioritarias o peligrosas y, por tanto, de su control ambiental.

En España, desde la publicación de la Ley de Aguas, de 2 de agosto de 1985 y, sobre todo, desde su incorporación a la Unión Europea (UE), han sido muchas las medidas legislativas que se han ido adaptando progresivamente con el objetivo de proteger los recursos hídricos existentes y de armonizar nuestra legislación con la europea.

Actualmente, la normativa vigente en materia de aguas se encuentra disociada en una amplia variedad de herramientas legislativas que presentan distinto nivel de competencia (europeo, nacional o autonómico), ámbito de aplicación y aspectos a regular (Robles-Molina et al., 2013).

1.4. Contaminantes emergentes

Aparte de los 45 contaminantes prioritarios recogidos por la UE en una lista para facilitar su control bajo determinados niveles en aguas superficiales, existen otros contaminantes que aún deben ser regulados, existiendo la posibilidad de ingresar a la lista de sustancias prioritarias en futuras actualizaciones, dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia (Comisión Europea, 2013).

La regulación de estos contaminantes es escasa, ya que se desconocen sus efectos, además de que no se dispone de un inventario de “todas” las especies químicas presentes en una muestra ambiental, por limitaciones analíticas.

La particularidad primordial es que para provocar efectos nocivos no es indispensable que perduren en el medio, y esto es debido a que se puede contrarrestar su eliminación o conversión con su constante inserción en el mismo dada su alta producción y uso (Comisión Europea, 2013).

Dentro de este grupo de contaminantes, se pueden hallar compuestos farmacéuticos, plaguicidas, surfactantes, productos de higiene personal, drogas ilegales, retardantes de llama, subproductos de desinfección y aditivos de la gasolina.

En la **Tabla 5** se recogen los ejemplos típicos de contaminantes emergentes.

Tabla 5. Ejemplos típicos de contaminantes emergentes.

<u>Clases de compuestos emergentes</u>	
Productos farmacéuticos, antibióticos y analgésicos	Eritromicina, aspirina, ibuprofeno, diclofenaco y aceclofenaco, diazepam, propanolol, codeína, paracetamol, amoxicilina, hidroclorothiazida
Drogas ilegales	Cocaína, éxtasis, etc.
Hormonas sexuales	
Anticonceptivos	Estrona, estriol, estradiol, dietilbestrol
Productos personales Perfumes Protección solar Insecticidas	Hidrocarburos aromáticos policíclicos Benzofenona N,N-dietil-toluamida Cipermetrina
Antisépticos	Triclosan, clorofeno
Detergentes y metabolitos	Alquifenoles
Retardantes de llama	Difeniletil éteres polibromados, bisfenol-A, tris(2-cloroetil)fosfato
Aditivos de la gasolina	Metil-t-butil éter
Aditivos y productos industriales	AEDT, sulfonatos aromáticos
Desinfección	Yodo, bromatos
Subproductos desinfección aguas	THM, cloritos-cloratos, ácidos haloacéticos, halo nitrilos, bromoaldehídos, NDMA

De todos los contaminantes emergentes, los que probablemente provocan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos y, en particular, los antibióticos. El consumo de fármacos en los países de la UE es de toneladas por año, siendo la mayor parte de los más usados, entre ellos los antibióticos, empleados en cantidades similares a las de los pesticidas (Jones et al., 2001).

Las propiedades fisicoquímicas de los fármacos definen su perseverancia en el ambiente y favorecen su bioacumulación. Además, a diferencia de otros contaminantes en el agua, son moléculas que presentan actividad biológica sobre diferentes organismos. Estos compuestos se encuentran en bajas concentraciones (generalmente en partes por millón o partes por trillón) (Kuster et al., 2008).

Por otra parte, el consumo de drogas además de ser un problema social, también afecta al medio ambiente. No solo generan daño a las personas que las consumen, sino que también pueden generar efectos en las personas que utilizan aguas contaminadas con ellas o sus metabolitos.

Tanto los fármacos como las drogas de abuso pueden aparecer en el agua residual ya sea en su forma original, o como derivados metabolizados.

2. OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo de fin de grado son los siguientes:

1. Revisar los métodos principales de análisis de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes.
2. Revisar los estudios de monitorización de dichos contaminantes en aguas superficiales de España y de otros países pertenecientes a la Unión Europea.

3. TÉCNICAS DE EXTRACCIÓN EMPLEADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS

A la hora de analizar contaminantes orgánicos en agua, es preciso emplear métodos sensibles y selectivos, para que puedan ser aplicables a un elevado número de compuestos.

Las etapas de cualquier proceso analítico son: toma de muestra, tratamiento de muestra, análisis y resultados.

En primer lugar, la etapa de toma de muestra es de gran importancia. El plan de toma de muestra debe asegurar que la muestra final sea similar a la del cuerpo de agua que se tiene que analizar, que posea sus características esenciales y que sea reproducible. Al aumentar el número y volumen de las muestras, aumenta la representatividad. Una vez que la etapa de muestreo se ha llevado a cabo, la muestra

ha de ser almacenada correctamente y llevada al laboratorio, donde tendrán lugar el resto de etapas del análisis.

El tratamiento de muestra es considerado como un punto crítico en el proceso analítico, ya que influye notablemente en el resultado. Para llevar a cabo el tratamiento de muestras acuosas medioambientales se emplea una etapa de extracción. El método de extracción elegido va a depender de la naturaleza y de las propiedades físico-químicas de los compuestos que se quieren analizar. Para la extracción de analitos apolares se suele emplear extracción líquido-líquido, mientras que, para la extracción de analitos polares, se suele emplear extracción en fase sólida. Para los semipolares se suelen usar ambas (Robles-Molina et al., 2013).

3.1. Extracción líquido-líquido (LLE)

La extracción líquido-líquido (LLE) es un método eficaz para separar componentes de una mezcla. Dicha separación se lleva a cabo debido a la diferencia de solubilidad del compuesto a extraer en dos disolventes diferentes. Este compuesto, al agitarse con dos disolventes inmiscibles, se distribuye entre ambos. La relación de concentraciones del compuesto en cada disolvente, a una temperatura determinada, es siempre constante, y esta constante es lo que se conoce como *coeficiente de distribución o de reparto* ($K = \text{concentración en el disolvente 2} / \text{concentración en el disolvente 1}$). Conviene que esta constante sea lo más elevada posible.

El procedimiento experimental consiste en verter a un embudo de decantación la disolución que se va a extraer y seguidamente el disolvente extractor, que debe ser inmiscible con el agua y con una polaridad similar a la de los analitos. Para aumentar la selectividad de la técnica se pueden adicionar sales inorgánicas, cuya función es facilitar el paso del analito a la fase orgánica (Robles-Molina et al., 2013).

A continuación, se agita la mezcla y se espera hasta que las fases se separen por completo y se observe claramente la interfase de separación. Finalmente, se recoge la fase orgánica, que contiene a los analitos, y se desecha la fase acuosa. Cabe decir que para obtener mayor cantidad de analito en la fase de interés se suele repetir la extracción varias veces (Robles-Molina et al., 2013).

Las principales ventajas que presenta esta técnica son su sencillez y que no requiere de filtración previa en el caso de muestras acuosas. Por otro lado, presenta varios

inconvenientes, entre los que se encuentran la gran cantidad de disolvente necesaria, los bajos valores de la constante de reparto, las interferencias de matriz y la formación de emulsiones (Robles-Molina et al., 2013).

La extracción líquido-líquido es la técnica más empleada para la extracción de especies orgánicas en muestras acuosas (González Gago, A., 2012). Para ello, se mezcla la muestra acuosa con un disolvente orgánico, produciéndose así el abandono de los compuestos orgánicos hidrófobos de la fase acuosa para incorporarse a la fase orgánica. De este modo, los analitos se separan de posibles interferentes, al mismo tiempo que se preconcentran en la fase orgánica si el volumen final de la fase orgánica es menor que el volumen original de la muestra de agua.

Con esta técnica se pueden llegar a obtener recuperaciones y límites de detección equiparables e incluso mejores a los obtenidos con otras técnicas de extracción y preconcentración.

A pesar de las desventajas anteriormente expuestas, la LLE sigue utilizándose en la actualidad para el control de contaminantes orgánicos en aguas, ya que es el método de preparación de muestra recomendado por algunos organismos reguladores en sus métodos normalizados (González Gago, A., 2012).

En los últimos años se han llevado a cabo algunos cambios que permiten explotar sus ventajas para eludir o reducir los problemas de la LLE. De esta forma, han surgido algunas técnicas que se basan en el mismo principio que la LLE, pero que minimizan en gran medida la cantidad de disolvente usado para realizar la extracción. Estas nuevas técnicas reciben el nombre de microextracción con disolventes (SME) o, más frecuentemente, microextracción en fase líquida (LPME).

Por otra parte, la microextracción en gota (SDME) es una miniaturización de la LLE en la que la fase extractante es una microgota (1-10 μl) de un disolvente orgánico, un líquido iónico o un surfactante, que queda suspendida en la aguja de una microjeringa que perfora el vial en el que se encuentra la muestra acuosa. Una vez alcanzado el equilibrio entre la muestra y la fase extractante, la gota se retira y se inyecta en el cromatógrafo de gases para la separación y detección de los analitos. La SDME permite trabajar tanto en el modo de inmersión directa como en el modo de espacio de cabeza. Entre las ventajas de La SDME se encuentran la sencillez, el bajo precio, la rapidez y el empleo de pequeñas cantidades de disolvente. Además, en un solo

paso se llevan a cabo las etapas de extracción, preconcentración e inyección de la muestra. Sin embargo, la SDME no es exhaustiva, ya que solo se extrae y se preconcentra una pequeña fracción de analito. Por otro lado, las aplicaciones de esta técnica van dirigidas a la extracción y determinación de bisfenol A y alquil fenoles, en agua potable y orina, en la extracción y determinación de aditivos industriales en complementos alimenticios y en el análisis de filtros UV en la orina humana (Viera-Santana, S.; Santana-Rodríguez, JJ., 2013).

3.2. Extracción en fase sólida (SPE)

La técnica de extracción en fase sólida (SPE) se ha usado mucho para la extracción de contaminantes orgánicos de muestras líquidas, especialmente para muestras de origen biológico, como sangre o leche (González Gago, A., 2012).

La SPE es una técnica de preparación de muestra que se puede usar tanto para purificar la muestra como para la preconcentración del analito. En ella, se emplea un soporte sólido (cartucho) que dispone de un adsorbente sólido, de modo que los analitos son adsorbidos en el cartucho y luego son eluidos del mismo de acuerdo a sus diferentes afinidades entre el adsorbente y la fase móvil.

Entre los objetivos de esta técnica se encuentran el enriquecimiento de trazas mediante la preconcentración, la eliminación de interferentes, el almacenamiento de analitos volátiles, el fraccionamiento de la muestra y el cambio de disolvente.

Los dos factores más importantes que influyen en la eficiencia de la SPE son la capacidad del adsorbente y la retención de los analitos en él.

Las interacciones analito-adsorbente pueden estar basadas en enlaces de hidrógeno, interacciones polares o apolares, intercambio aniónico o catiónico y exclusión por tamaño, en función del adsorbente empleado. Los adsorbentes de balance hidrofílico-lipofílico, como el Oasis® HLB (Waters) son los más empleados. Oasis® HLB es un relleno de fase reversa con una gran capacidad especial para mejorar la retención de los analitos polares.

El procedimiento general de la SPE consta de 5 etapas: acondicionamiento, carga de muestra, lavado, secado y elución.

En la etapa de acondicionamiento, tiene lugar la activación del adsorbente. Esto se consigue al pasar un solvente adecuado a través del cartucho, de modo que así se

permite la interacción entre el analito y la fase estacionaria. Por otro lado, en la etapa de carga de muestra, se aplica la muestra y los interferentes pasan a través de la columna sin ser retenidos. A continuación, en la etapa de lavado se eliminan restos de compuestos que puedan interferir. Después, en la etapa de secado se lleva a cabo la eliminación de las trazas del solvente mediante el paso de aire a través de la columna, consiguiendo así mejorar el rendimiento de la extracción. Por último, en la etapa de elución se hace pasar un solvente adecuado para eluir los compuestos de interés; este solvente debe tener la máxima interacción con el analito y una interacción mínima con las demás impurezas.

Con esta técnica se resuelven la mayoría de las desventajas que presenta la LLE, puesto que reduce el consumo de disolvente, mejora la reproducibilidad y es fácil de miniaturizar y automatizar.

3.3. Extracción por absorción con barras agitadoras (SBSE)

La técnica de extracción por absorción con barras agitadoras consiste en la extracción de los analitos de la matriz mediante la agitación con una barra magnética recubierta de un polímero que adsorbe los compuestos, para posteriormente ser desorbidos mediante desorción térmica o química. La barra magnética agitadora, también denominada Twister™, consiste en una barra de vidrio recubierta de una fase polimérica de polidimetilsiloxano (PDMS), y en cuyo interior se encuentra un imán. A diferencia de la SPME, la cantidad de recubrimiento polimérico es mucho mayor, y por consiguiente la eficacia del método se ve aumentada entre 2 y 3 órdenes de magnitud. (Viera-Santana, S.; Santana-Rodríguez, JJ., 2013).

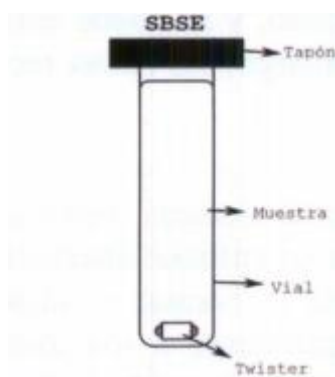


Figura 1. Esquema de la SBSE (Viera-Santana, S.; Santana-Rodríguez, JJ., 2013).

Existen varios modelos diferentes de Twister, cuyas variaciones residen en la longitud (10 y 20 mm) y el grosor del recubrimiento (0,5 y 1 mm), lo que influye en el volumen de PSDM que podrá ser depositado.

En la actualidad, solo se comercializan barras con recubrimiento de PSDM, por lo que no es posible llevar a cabo la extracción de compuestos muy polares empleando esta técnica.

Entre las ventajas de esta técnica, se encuentran la facilidad de muestreo y el transporte de las muestras desde el punto de muestreo hasta el laboratorio. Esto es debido a que la extracción se puede llevar a cabo en el punto de muestreo, dado que las barras con los analitos pueden ser almacenadas a 4°C durante una semana.

Como desventajas predomina la necesidad de un sistema de desorción térmica, como PTV, con el fin de que los analitos sean extraídos de la fase estacionaria y puedan ser introducidos en la columna de GC, ya que esto resulta un tanto caro.

3.4. Microextracción en fase sólida con extracción en espacio de cabeza (HS-SPME)

La técnica de SPME consiste en poner en contacto la muestra con una microfibra recubierta de un material extractante. Este recubrimiento retiene los analitos por absorción, si se trata de un polímero líquido, o por adsorción, en el caso recubrimientos sólidos. Esta técnica es especialmente útil para la preconcentración de compuestos volátiles y semivolátiles.

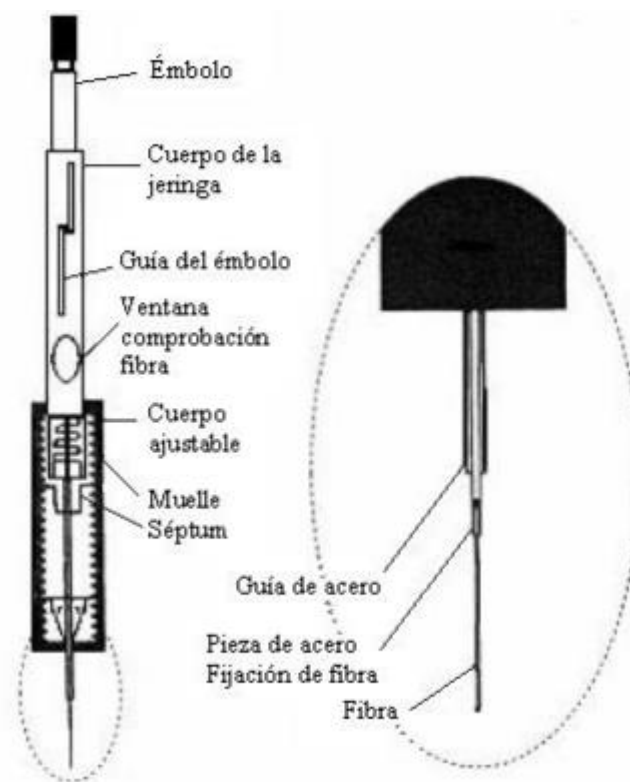


Figura 2. Esquema del soporte de fibra (Polo Piñeiro M., 2017).

La SPME consta de dos etapas: extracción y posterior desorción. En la etapa de extracción, se introduce la protección dentro de la cual se encuentra la fibra a través del septum del vial donde se encuentra la muestra y, seguidamente, se empuja el émbolo para exponer la fibra a la muestra y que tenga lugar la extracción de los analitos.

Tras un tiempo establecido (tiempo de extracción) se hace ascender la fibra de nuevo a su protección y se extrae del vial. Rápidamente se coloca el dispositivo en el instrumento de análisis, donde los analitos son liberados, bien por desorción térmica, por calentamiento en el inyector de un cromatógrafo de gases (CG), o por desorción en disolventes orgánicos, por contacto con la fase móvil de HPLC. (Polo Piñeiro, M., 2007).

En el modo de extracción de espacio de cabeza, los analitos son extraídos de la fase gas en equilibrio con la muestra líquida. Para ello, las muestras deben estar contenidas en viales herméticamente cerrados. Este tipo de extracción resulta más ventajoso que otros dado que se consigue proteger la fibra de los efectos nocivos provocados por sustancias no volátiles presentes en la matriz de la muestra. Además,

la extracción de compuestos volátiles usando esta técnica es más rápida que en inmersión, ya que los coeficientes de difusión en la fase gas son varios órdenes de magnitud superiores a los de la fase líquida. (Polo Piñeiro, M., 2007). En la **Figura 3** se puede ver un esquema de cómo se lleva a cabo este tipo de extracción.

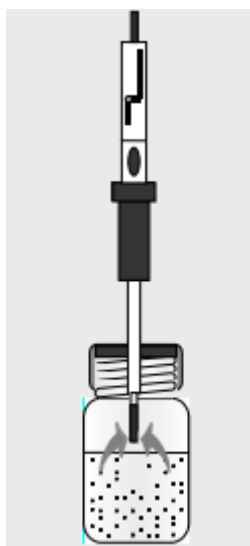


Figura 3. Extracción en espacio de cabeza (Polo Piñeiro M., 2017).

La SPME presenta numerosas ventajas, entre las que se encuentran el bajo coste, la posibilidad de automatización, el uso de pequeños volúmenes de muestra y la eliminación de grandes cantidades de disolvente para llevar a cabo la preconcentración. Como desventaja predomina su baja reproducibilidad. Los límites de detección y las recuperaciones obtenidos con esta técnica van a depender sobre todo de la fibra seleccionada (tipo de recubrimiento y espesor) y de las condiciones de trabajo (temperatura y tiempo de extracción, efecto salino, pH de la muestra, volumen de muestra, volumen del espacio de cabeza, agitación de la muestra y forma del vial, adición de un disolvente y derivatización), que deben ser previamente optimizadas. (Viera-Santana, S.; Santana-Rodríguez, JJ., 2013).

En la actualidad, hay fibras con distintos recubrimientos, por lo que la SPME se puede usar para la determinación de una gran variedad de compuestos. Los primeros recubrimientos distribuidos fueron los de PDMS y poliacrilato (PA). Las fibras más empleadas son las de PDMS (polímero lineal) y, además, son las más convenientes para los analitos apolares, aunque, en determinados casos, también pueden ser usadas para la determinación de analitos moderadamente polares. Un ejemplo de aplicación de esta técnica ha sido la extracción y preconcentración de compuestos

perfluorados en aguas superficiales y residuales (Viera-Santana, S.; Santana-Rodríguez, JJ., 2013). A diferencia de las fibras de PDMS, las de PA, son apropiadas para analitos polares y, a pesar de que el recubrimiento es un polímero sólido, debido a su baja densidad los analitos son adsorbidos por la fibra al igual que en las fibras de PDMS.

4. TÉCNICAS DE SEPARACIÓN Y ANÁLISIS EMPLEADAS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONTAMINANTES ORGÁNICOS

En lo referente a la etapa de análisis, las técnicas analíticas tienen que ser específicas para la detección de estos analitos y ser lo suficientemente sensibles para permitir alcanzar bajos niveles de cuantificación. Por tanto, para la correcta cuantificación de este tipo de sustancias en matrices acuosas medioambientales, se necesitan técnicas analíticas avanzadas, como la cromatografía de gases o líquida y la espectrometría de masas.

4.1. Cromatografía de líquidos (LC)

La cromatografía es una técnica de separación que se basa en la distribución de las sustancias en dos fases, una móvil y otra estacionaria. Según el tipo de interacción entre el analito y la fase estacionaria, la cromatografía puede ser de adsorción, de reparto, de cambio iónico, de exclusión y de afinidad. En la cromatografía de líquidos (LC) la más utilizada es la cromatografía de reparto, que consigue la separación de sustancias tomando como base su diferente distribución entre dos fases líquidas inmiscibles. El coeficiente de reparto es un valor característico de cada sustancia en cada sistema de separación.

Un cromatógrafo de HPLC está formado por los siguientes componentes: reservorio de fase móvil, bomba impulsora, inyector, columna, detector y registro, como se puede ver en la **Figura 4**.

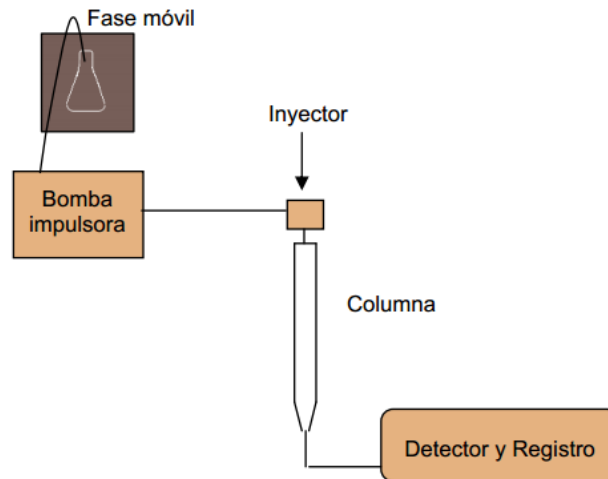


Figura 4. Esquema de los componentes de un cromatógrafo de líquidos

La bomba de estos cromatógrafos puede trabajar en modo isocrático o en modo gradiente. En el modo isocrático la composición de la fase móvil permanece constante durante todo el proceso, mientras que en el modo gradiente, la composición de la fase móvil va cambiando durante la cromatografía.

Por otro lado, se utiliza un gran número de detectores diferentes a la salida de la columna, siendo los más empleados los espectrómetros UV y visible, fluorímetros y detectores electroquímicos. En la actualidad, para el análisis de distintos tipos de contaminantes en diferentes matrices, el acoplamiento con espectrometría de masas es la modalidad más extendida, ya que permite analizar un gran número de analitos y presenta mucha sensibilidad.

En la cromatografía de reparto líquido-líquido, las superficies de un sólido se recubren con un líquido (fase estacionaria) inmisible con el líquido que constituye la fase móvil. La separación se produce por la distribución relativa de los componentes entre la fase móvil y la fase estacionaria. Las fases líquidas estacionarias son normalmente polares, y las fases móviles son no polares. Esta combinación de fase estacionaria polar y fase móvil no polar se conoce como cromatografía líquida en fase normal. Cuando la fase estacionaria es no polar y se utilizan como fase móvil sistemas acuosos, la cromatografía se denomina en fase inversa.

4.2. Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía de gases (GC) consiste en hacer pasar el analito en forma gaseosa a través de la columna, siendo arrastrado por una fase móvil en estado gaseoso (normalmente He, N₂ o H₂). La separación por cromatografía de gases requiere que los solutos sean volátiles. En el caso de que no lo sean, deben modificarse químicamente por un proceso denominado derivatización, ya que con esto se consigue aumentar la volatilidad transformando los grupos funcionales polares (hidroxilo, amino, cetona) en grupos no polares (trimetilsilil, monoxima). La fase estacionaria puede ser un sólido adsorbente o un líquido retenido en un soporte sólido o impregnando las paredes de una columna capilar. Por tanto, en función de cuál sea la fase estacionaria, se distingue entre cromatografía gas-sólido (cromatografía de adsorción) y cromatografía gas-líquido.

La separación en la cromatografía gas-sólido se produce por las diferencias de volatilidad de la mezcla de los solutos cromatografiados, y por su capacidad de ser adsorbidos por el sólido activo. Por otro lado, en el caso de la cromatografía gas-líquido, el fundamento de separación se basa en las diferencias de volatilidad y solubilidad de la mezcla de los solutos a separar. Debido a los problemas que presenta la cromatografía gas-sólido (falta de linealidad de las isothermas de adsorción, tiempos de retención muy grandes y falta de reproducibilidad), la cromatografía gas-líquido es la más empleada (Valcárcel Cases, M.; Gómez Hens A.,1988).

Los componentes de un cromatógrafo de gases son: sistema de suministro de gas portador, sistema de introducción de la muestra, sistema de termostatación u horno, columna, sistema de detección, registrador e integrador-computador.

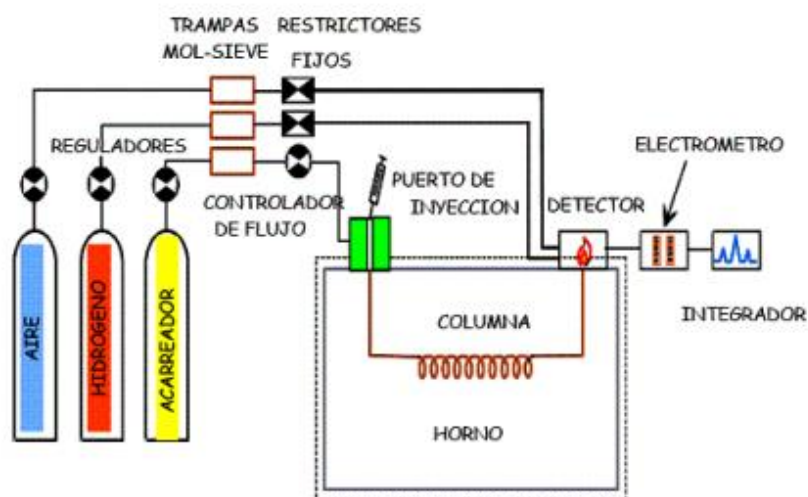


Figura 5. Diagrama esquemático de un cromatógrafo de gases

El espécimen volátil se disuelve en un disolvente orgánico adecuado. Los más utilizados son la acetona, el hexano y el acetato de etilo. Se introduce el espécimen con una microjeringa en un bloque con una temperatura elevada. Se produce la evaporación de los componentes de la mezcla, que son arrastrados por el flujo del gas. Los productos volátiles se separan en la columna según su reparto entre la fase líquida estacionaria y la fase gaseosa móvil. Los productos separados son detectados a la salida de la columna. Los principales detectores son los de conductividad térmica, los de ionización de llama (FID), los de fotoionización, los termoiónicos selectivos, los de nitrógeno/fósforo (NPD) y los de captura electrónica. Sin embargo, actualmente, el acoplamiento con el MS resulta más ventajoso que el uso de detectores convencionales. Por último, la señal generada se comunica a un registro que lleva acoplado un integrador para la medida del área de los picos correspondientes a cada una de las sustancias separadas.

Existen 2 tipos de columnas: las empaquetadas y las capilares, que son las que más se usan en la actualidad (Robles Molina et al., 2014). Además, existen 2 métodos de trabajo: el isoterma, en el que la temperatura es constante debido a que los analitos tienen un punto de fusión similar, y de esta forma la separación es óptima, y el de gradiente de temperatura, en el que los analitos tienen diferente punto de ebullición, por lo que se producirá un aumento progresivo de la temperatura, provocando una elución gradual de los analitos. Este último es el más utilizado ya que se consigue disminuir los tiempos de análisis y se mejora considerablemente la resolución.

4.3. Espectrometría de masas (MS)

Actualmente, la espectrometría de masas (MS) es la técnica más utilizada para la detección de diversos tipos de contaminantes orgánicos. La espectrometría de masas es una técnica analítica que permite estudiar compuestos de naturaleza diversa y obtener información tanto cualitativa como cuantitativa. Empleando el análisis por espectrometría de masas se puede adquirir información estructural y de la masa molecular del compuesto analizado, además de detectar su presencia y/o cuantificar su concentración. Para ello, es necesario ionizar las moléculas usando diversos procedimientos, siendo el más habitual la técnica de impacto electrónico. Esta técnica consiste en el bombardeo de la muestra (previamente vaporizada usando alto vacío y una fuente de calor) con una corriente de electrones a gran velocidad. Este proceso se lleva a cabo en la fuente de ionización. Los iones generados son acelerados hacia un analizador y separados en función de su relación masa/carga mediante la aplicación de campos eléctricos, magnéticos o simplemente determinando el tiempo de llegada al detector. Los iones, al llegar al detector, originan una señal eléctrica que es procesada, ampliada y trasladada a un ordenador. El registro generado se denomina espectro de masas y en él se representan las abundancias iónicas obtenidas atendiendo a la relación masa/carga de los iones detectados.

El espectrómetro de masas consta de un sistema de introducción de muestras (directa o a partir de un cromatógrafo), una fuente de iones, un analizador para la separación de iones y un sistema detector y registrador.

Para generar el acoplamiento se emplean interfases o fuentes de ionización. Se usa uno u otro en función de: el tipo de cromatografía que vaya a llevarse a cabo, el tipo de muestra que se quiera analizar y sus propiedades, la polaridad y el peso molecular de los analitos. En el caso de HPLC, se suelen emplear fuentes de ionización de presión atmosférica (API), electrospray (ESI), ionización química a presión atmosférica (APCI) y fotoionización a presión atmosférica (APPI), mientras que para la GC se utilizan fuentes de ionización de impacto electrónico (EI) y de ionización química (CI). Una adecuada ionización de los analitos es primordial para lograr un buen análisis y detección por parte del MS (Robles Molina et al., 2014).

4.4. Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS)

Los instrumentos que combinan la cromatografía de gases y la espectrometría de masas (GC-MS) constituyen el método más apropiado para la identificación de cientos de componentes que están presentes en sistemas naturales y biológicos, como es el caso de contaminantes en aguas.

Hay que tener en cuenta a la hora de llevar a cabo el acoplamiento GC-MS la incompatibilidad que existe entre ambas técnicas, puesto que la GC opera en fase gaseosa, con pequeñas cantidades de muestras y a presión atmosférica, mientras que la MS trabaja en fase gaseosa, con pequeñas cantidades de muestra y a alto vacío. Debido a esto, surgió la necesidad de desarrollar interfaces específicas que hagan posible la interconexión. A pesar de esto, con la introducción de la columna capilar se eliminó la necesidad de usar esta interfase, dado que requieren un flujo de 1 o 2 ml/min de gas, cantidades que son compatibles con los sistemas de vacío presentes en espectrómetros de masas (Requena A. et al., VI-1-3).

Por otro lado, la elección del gas portador cuando se va a utilizar GC-MS es esencial, ya que el espectrómetro de masas es muy sensible a las impurezas de oxígeno, agua e hidrocarburos. Esto puede repercutir aumentando el ruido de línea base, lo que implica una reducción de la sensibilidad del analizador.

Las etapas del análisis empleando GC-MS son las siguientes: evaporación del analito en inyector del cromatógrafo de gases, separación en la columna, transferencia al espectrómetro de masas, ionización y detección. A medida que los diferentes componentes de una mezcla van pasando por la columna del cromatógrafo se van separando. Cuando la abandonan están separados, y a continuación se introducen en el espectrómetro de masas. Allí es donde tiene lugar la fragmentación y el análisis en función de las relaciones carga/masa de los iones. Los espectros de masas resultantes se pueden comparar con otros incluidos en librerías informáticas para identificar el compuesto que se está analizando.

Como se ha comentado antes, el acoplamiento de GC-MS se hace mediante ionización por impacto electrónico y mediante ionización química. Cuando las moléculas de una sustancia volátil interactúan con un haz de electrones originado en un filamento metálico a elevadas temperaturas, pueden ocurrir dos cosas: que estas se conviertan en iones positivos o que se produzca una fragmentación. Normalmente

se usan haces de electrones con una energía de 70 electrón-voltios, lo que produce una fragmentación relevante (Requena A. et al., V-1-10).

Una manera alternativa de producir iones es la ionización química, que implica reacciones químicas. Se hace reaccionar la muestra con una especie pobre en electrones (cargada positivamente) originada a partir de impacto electrónico. Esta especie se suele estabilizar cediendo un ion hidrógeno a la muestra, que queda cargada positivamente y se introduce en el espectrómetro de masas.

La principal diferencia entre los espectrómetros de masas basados en ionización química y los de impacto electrónico es la presión, puesto que la que requieren los primeros es mucho menor. Además, estos suelen producir menos fragmentación, por lo que la intensidad del pico correspondiente al ion molecular es mucho mayor.

4.5. Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas (LC/MS)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS) es una importante técnica analítica que combina el poder de separación del HPLC con la gran selectividad, sensibilidad y precisión en la identificación de analitos la espectrometría de masas. Los componentes de la muestra separados en el HPLC, entran en el espectrómetro de masas a través de una interfase donde van a ser ionizados. Como se ha comentado anteriormente, el acoplamiento de esta técnica se lleva a cabo mediante fuentes de ionización de presión atmosférica (API), electrospray (ESI), ionización química a presión atmosférica (APCI) y fotoionización a presión atmosférica (APPI).

La ionización a presión atmosférica tiene un elevado rendimiento, y dentro de este sistema de interfase las ionizaciones más empleadas son las siguientes:

- Ionización por electrospray (ESI): consiste en la aplicación una tensión de 3-6 KV entre el capilar de entrada de la muestra y el electrodo cilíndrico que rodea al capilar, que provoca que la muestra, cuando sale del capilar, constituya un aerosol de pequeñas gotas con una alta carga eléctrica en su superficie. En la cámara de desolvatación, la gota va reduciendo su tamaño debido a la evaporación del disolvente, por lo que cuando las fuerzas coulombianas de repulsión de las cargas superficiales vencen la tensión superficial de las gotas, estas explotan y se

transfieren dichas cargas hacia los analitos. Este tipo de ionización se usa para el análisis de compuestos polares, termolábiles o con peso moleculares > 1000 uma.

- Ionización química a presión atmosférica (APCI): la muestra se disuelve en un disolvente y se bombea a través de un capilar dentro de un tubo de cuarzo sin carga. Al final del capilar, pero aún dentro del tubo, la muestra se convierte en un aerosol y luego se vaporiza con la ayuda de gas nitrógeno y calentándola a una temperatura muy alta (350-550°C). A continuación, el disolvente en estado gas y la muestra son sometidos a una fuerte descarga que genera un plasma de iones reactivos del disolvente, originando un mecanismo de ionización química, normalmente por adición o cesión de un protón. Este tipo de ionización se emplea para el análisis de compuestos poco polares.
- Fotoionización a presión atmosférica (APPI): consiste en usar una lámpara de descarga que genera fotones cuyas longitudes de onda están en el rango del ultravioleta. Si los fotones son absorbidos por moléculas con una energía de ionización menor que la energía de los fotones, se produce la ionización de las moléculas.

5. ESTUDIO DEL NIVEL DE CONTAMINACIÓN DETECTADO EN AGUAS SUPERFICIALES EN ESPAÑA Y EN OTROS PAÍSES DE LA UNIÓN EUROPEA

La contaminación del agua por pesticidas utilizados en la agricultura es actualmente una preocupación importante tanto en España como en Europa en su conjunto, lo que lleva a la necesidad de evaluar la calidad del agua y el riesgo ecológico en áreas de agricultura intensiva. Es por ello que se han realizado numerosos estudios de monitoreo de residuos de pesticidas y de ciertos productos de degradación en aguas superficiales españolas. A continuación, se van a exponer los estudios más recientes y relevantes llevados a cabo en distintas cuencas hidrográficas de España.

Entre los años 2009 y 2010 se realizó un estudio de aguas superficiales ubicadas en diferentes puntos de la provincia de Jaén con el objetivo de monitorear un número total de 373 compuestos pertenecientes a diferentes familias (pesticidas, PAHs, drogas de abuso, nitrosaminas, productos farmacéuticos...) (Robles-Molina, J. et al., 2014a).

El análisis de las muestras se llevó a cabo utilizando dos métodos analíticos diferentes dependiendo de la gran variedad de características fisicoquímicas diferentes de los

contaminantes probados. El tratamiento de la muestra aplicado para el aislamiento y la preconcentración de compuestos volátiles no polares y semipolares fue una LLE con hexano seguida de GC acoplada a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo para el análisis. Por otro lado, se realizó un procedimiento de SPE para el aislamiento y la preconcentración de compuestos polares y semipolares, seguido de LC acoplada a un espectrómetro de masas de tiempo de vuelo para el análisis (Robles-Molina, J. et al., 2014a).

Tabla 6. Resumen de resultados para los compuestos detectados en el río Guadalquivir (11 muestras) (Robles-Molina, J. et al., 2014a).

Compuesto	Familia	Método	Media (ng/L)	C máx (ng/L)
Efedrina	Drogas de abuso	LC-MS	7,2	7,2
Fenilefrina	Drogas de abuso	LC-MS	27,9	47,8
Benzoilecgonina	Metabolito de cocaína	LC-MS	16,3	32,3
Cafeína	LS	LC-MS	91,9	233
Teobromina	LS (metabolito de cafeína)	LC-MS	260,3	827,9
Teofilina	LS (metabolito de cafeína)	LC-MS	164,1	455,8
Nicotina	LS	LC-MS	24,4	44,9
Cotinina	LS (metabolito de nicotina)	LC-MS	44,8	113
Acenaftileno	PAH	GC-MS	16,4	45,4
Fluoreno	PAH	GC-MS	1,7	4,6
Fenantreno	PAH	GC-MS	10,1	25,3
Pireno	PAH	GC-MS	8,9	27,2
4,4'-DDE	Pesticidas	GC-MS	1,5	2,8
DEET	Pesticidas	LC-MS	4,0	5,7
Diazinón	Pesticidas	GC-MS	61,5	234,5
Diflufenican	Pesticidas	LC-MS	15,8	15,8

Dimetoato	Pesticidas	LC-MS	1908,6	5166,9
Difenilamina	Pesticidas	LC-MS	148,9	220,4
Fenhexamida	Pesticidas	LC-MS	27,7	27,7
Fluometuron	Pesticidas	LC-MS	79,9	272,1
Alfa-HCH	Pesticidas	GC-MS	15,1	15,1
Beta-HCH	Pesticidas	GC-MS	2,8	2,8
Gamma-HCH	Pesticidas	GC-MS	1,9	1,9
Metoxicloro	Pesticidas	GC-MS	1,0	1
Oxifluorfen	Pesticidas	GC-MS	13,7	51,1
Procimidona	Pesticidas	GC-MS	1,2	1,2
Tebuconazol	Pesticidas	LC-MS	5,6	14,2
Terbutilazina	Pesticidas	LC-MS	102,2	534
Desetil terbutilazina	Metabolito de terbutilazina	LC-MS	54,3	172
Fenazona	Productos farmacéuticos	LC-MS	3,6	3,6
Atenolol	Productos farmacéuticos	LC-MS	6,2	10,2
Codeína	Productos farmacéuticos	LC-MS	40,4	96,9
Lincomicina	Productos farmacéuticos	LC-MS	9,9	13,9
Paracetamol	Productos farmacéuticos	LC-MS	979,6	2694,5
Antraceno	PAH prioritario	GC-MS	4,2	4,2
1,2,4, TCB	Pesticidas prioritarios	GC-MS	1,0	1,5
Atrazina	Pesticidas prioritarios	LC-MS	2,2	2,2
Clorfenvinfos B	Pesticidas prioritarios	GC-MS	1,4	1,8
Etil clorpirifós	Pesticidas prioritarios	GC-MS	13,8	41,3

Diuron	Pesticidas prioritarios	GC-MS	6,4	19,4
Hexaclorobutadieno	Pesticidas prioritarios	GC-MS	1,3	1,3
Hexaclorobenceno	Pesticidas prioritarios	GC-MS	20,1	79,6
Pentaclorobenceno	Pesticidas prioritarios	GC-MS	4,7	4,7
Simazina	Pesticidas prioritarios	LC-MS	56,3	195,2

Los compuestos detectados con mayor frecuencia en el río Guadalquivir que pertenecen al grupo de pesticidas fueron oxifluorfenol y terbutilazina, que aparecieron en todas las muestras analizadas. Otros pesticidas detectados con frecuencia fueron 4,4'-DDE en el 91% de las muestras, difenilamina y desetil terbutilazina en el 73% de las muestras y fluometuron y tebuconazol en el 64% y 54% de las muestras estudiadas, respectivamente. Las sustancias prioritarias encontradas con mayor frecuencia fueron etil clorpirifós, diuron y hexaclorobenceno, aunque solo este último se encontró en niveles de concentración por encima de su respectivo estándar de calidad ambiental establecido por la UE (Directiva 2013/39/UE) en el río Guadalquivir (Robles-Molina, J. et al., 2014a).

La aplicación de los dos métodos a las muestras del río Guadalimar dio un perfil de compuestos detectados similar al encontrado en el Guadalquivir. En el río Guadalimar, el límite de concentración máxima permitido (100 ng/L) para clorpirifós se superó ligeramente en una muestra con una concentración de 119,0 ng/L (Robles-Molina, J. et al., 2014a).

La principal contaminación química de los ríos estudiados podría estar asociada a la actividad agrícola en la zona, puesto que el perfil de los pesticidas encontrados se corresponde con las prácticas actuales y anteriores asociadas al olivar (Robles-Molina, J. et al., 2014a).

Durante los años 2016 y 2017 se llevó a cabo una campaña de monitoreo sobre aguas naturales y tratadas en el área metropolitana de Barcelona. Los resultados mostraron que la contaminación por pesticidas en el tramo bajo del río Llobregat y en su acuífero

es severa (Quintana, J., et al., 2019). En la **Tabla 7** se recogen los niveles de concentración detectados durante dos años de monitoreo, siendo la cabendazima la sustancia que más se repite en mayor concentración en los diferentes puntos de muestreo.

El método analítico de extracción en línea-UHPLC/MS/MS empleado en este estudio para la determinación de pesticidas polares y semipolares en muestras de agua natural es adecuado para su determinación a niveles de ng/L. De hecho, se ha demostrado un buen rendimiento en términos de linealidad, precisión, veracidad, incertidumbre y límites de detección y cuantificación para la mayoría de los compuestos bajo los requisitos de acreditación EN ISO/IEC 17025:2005 (Quintana, J., et al., 2019).

Tabla 7. Resultados de pesticidas detectados durante dos años de monitoreo (LC: límite de cuantificación) (Quintana, J., et al., 2019).

PUNTO DE MUESTREO	MUESTRAS ANALIZADAS (2016-2017)	SUSTANCIAS CON MAYOR CONCENTRACIÓN	MEDIA (ng/L)	CONCENTRACIÓN MÁXIMA (ng/L)	MÉTODO
Llobregat-1	13	Carbendazima Clortolurón	<LC 10	1054 228	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Cardener-1	5	Prosulfocarb 2,4-D	<LC <LC	34 32	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Cardener-2	11	Carbendazima Imidacloprid	<LC 12	94 31	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Llobregat-2	12	Carbendazima Propoconazol	36 <LC	269 82	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Noya-1	6	2,4-D Prosulfocarb	26 7	855 104	On-line extraction- UHPLC/MS/MS

Noya-2	22	Carbendazima Dimetoato	2623 <LC	9574 415	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Noya-3	27	Carbendazima Simazina	1990 30	16866 456	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Llobregat-3	4	Bentazón Dimetoato	<LC <LC	13 10	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Rubí-1	21	Propiconazol Diurón	274 805	2216 2127	On-line extraction- UHPLC/MS/MS
Llobregat-4	27	Carbendazima Metazacloro	92 13	1425 995	On-line extraction- UHPLC/MS/MS

En otro estudio, se monitorizaron los pesticidas y los contaminantes de origen puntual en 16 sitios de muestreo de la cuenca superior del río Tajo durante la primavera, el verano y el otoño de 2016 (Rico, A., et al., 2019). En la **Tabla 8** se recogen los datos de concentración de las sustancias químicas encontradas. El monitoreo químico realizado en este estudio muestra que algunos sitios de la cuenca alta del río Tajo, dominados principalmente por el uso de la tierra agrícola y/o urbana, están altamente contaminados.

Las etapas de limpieza y de preconcentración se llevaron a cabo mediante SPE, y el método analítico empleado fue LC-MS/MS. La supresión de la señal en el extracto de SPE fue el efecto más comúnmente encontrado para la mayoría de los compuestos en muestras de agua con altos niveles de contenido orgánico y de nutrientes. Para lograr una cuantificación fiable y precisa, se minimizó este efecto diluyendo todas las muestras con MeOH:agua (10:90, v/v) antes del análisis LC-MS/MS (Rico, A., et al., 2019).

En general, la frecuencia de detección de los pesticidas fue relativamente alta, con cuatro compuestos presentes en el 90% de las muestras: el insecticida imidacloprid,

los herbicidas simazina y terbutilazina, y el fungicida carbendazima. Sin embargo, en muchos casos, las concentraciones medidas fueron muy bajas.

Tabla 8. Concentración de las sustancias químicas encontradas en los 16 sitios de muestreo de la cuenca superior del río Tajo. (n.d.: no detectado) (Rico, A., et al., 2019).

Sustancia química	Media (ng/L)	Concentración máxima (ng/L)	Sustancia química	Media (ng/L)	Concentración máxima (ng/L)
Carbofurano	n.d.	n.d.	Ibuprofeno	11,2	2761
Etil clorpirifós	n.d.	n.d.	Ketoprofeno	31,44	356
Diazinón	0,11	2,11	Loratadina	5,38	26,2
Dimetoato	0,76	21,2	Naproxeno	339	1404
Imidacloprid	2,68	21,2	Omeprazol	1,06	392
Malatión	n.d.	n.d.	Salbutamol	2,82	10,22
Metolcarb	n.d.	n.d.	Valsartán	154	3337
Pirimicarb	0,06	0,35	Venlafaxina	9,98	614
Espinosin-A	n.d.	n.d.	Amoxicilina	1,71	15,1
Clortolurún	1,07	20,0	Azitromicina	5,06	1032
Diuron	22,9	109	Ciprofloxacino	8,70	786
Metribuzina	0,48	15,3	Eritromicina	0,44	17,8
Simazina	1,85	261	Lincomicina	0,95	11,06
Terbutrina	0,71	45,4	Metronidazol	21,8	131
Terbutilazina	0,32	16,1	Sulfametoxazol	9,42	5962
Carbendazima	2,13	118	Trimetoprima	4,42	1288
Kresoxim metil	n.d.	n.d.	Tilosina	n.d.	n.d.
Propiconazol	4,96	21,8	Estradiol, 17-beta-(E2)	0,41	0,83
Espiroxamina	3,76	3,76	Estrona	0,86	17,25
Tebuconazol	1,67	447	Progesterona	n.d.	n.d.
Acetaminofén	10,8	9825	Testosterona	3,68	4,15
Atenolol	29,3	673	Anfetamina	n.d.	n.d.
Carbamazepina	9,04	342	Cafeína	107	5870
Citalopram	3,97	25,7	Nicotina	39,3	598,6
Diclofenac	35,4	440	Paraxantina	826	57,586

Gemfibrozil	40,0	798	Tributilfosfato	25,3	1075
-------------	------	-----	-----------------	------	------

El siguiente estudio incluyó el monitoreo de residuos de pesticidas y ciertos productos de degradación en aguas superficiales y subterráneas del área de viñedos de la Denominación de Origen (DO) Jumilla. Las muestras de agua se recolectaron entre diciembre de 2016 y enero de 2017 en las diferentes áreas de DO Jumilla. Sesenta y nueve pesticidas fueron seleccionados y evaluados en veintidós puntos de muestreo utilizando un método analítico de residuos múltiples, basado en extracción en SPE y análisis por LC-ESI-MS, proporcionando resultados fiables (Herrero-Hernández, E., 2020). Los resultados de este estudio se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Número de muestras positivas con concentraciones inferiores y superiores a 0.1 µg/L y concentraciones promedio para los pesticidas detectados en las muestras analizadas (Herrero-Hernández, E., 2020).

Pesticida	Concentración media ± SD (µg/L)	C máx (µg/L)	Pesticida	Concentración media ± SD (µg/L)	C máx (µg/L)
<u>Fungicidas</u>			Diazoxon	0,222 ± 0,147	0,528
Carbendazima	0,097 ± 0,061	0,238	Indoxacarb	0,081 ± 0,026	0,145
Metalaxil	0,017	0,017	Hexitiazox	0,099 ± 0,026	0,129
Boscalida	0,081	0,081	λ-Cialotrina	0,369 ± 0,281	0,940
Fenbuconazol	0,068 ± 0,008	0,073	<u>Herbicidas</u>		
Kresoxim-metil	0,033 ± 0,005	0,040	Terbutilazina	0,258 ± 0,260	0,760
Bupirimato	0,112 ± 0,036	0,166	Clortolurón	0,137 ± 0,104	0,257
<u>Insecticidas</u>			Linurón	0,208 ± 0,212	0,358
Acefato	0,088	0,088	Lenacilo	0,048 ± 0,001	0,049
Pirimicarb	0,013 ± 0,001	0,015	Flufenacet	0,070 ± 0,036	0,104
Clorpirifós	0,136 ± 0,028	0,173	Metolacoloro	0,054 ± 0,009	0,061
Clorpirifón-oxon	0,028 ± 0,002	0,030	Diflufenican	0,177 ± 0,156	0,503
Metoxifenocida	0,065 ± 0,004	0,070	Pendimetalina	0,255 ± 0,148	0,526
Cipermetrina	0,257 ± 0,148	0,420	Oxifluorfen	0,147 ± 0,089	0,279
Diazinón	0,604 ± 0,403	1,049			

Los compuestos más presentes fueron los insecticidas indoxacarb y pirimicarb, y los compuestos encontrados en la concentración más alta fueron los insecticidas diazinón y λ -Cialotrina.

Por otro lado, la DMA establece ciclos iterativos de planificación de 6 años que comienzan con la caracterización del distrito de cuenca, el monitoreo y la evaluación del estado, el establecimiento de objetivos y, finalmente, el desarrollo del programa de medidas y su implementación (Comisión Europea, 2012b). Después de la aprobación del plan, el monitoreo y la evaluación de la efectividad de las medidas proporcionan la información básica para el próximo ciclo de planificación.

Según la DMA, el estado de una masa de agua superficial se define tanto por su estado ecológico como químico, siendo este último el que informa sobre el grado de contaminación de las sustancias prioritarias, incluidos metales, pesticidas y diversos productos químicos industriales.

Se registra un buen estado químico cuando una masa de agua cumple con todos los estándares de calidad ambiental establecidos en el Artículo 16 (“Estrategias contra la contaminación del agua”) y en el anexo IX (“Valores límite de emisión y estándares de calidad ambiental”) de la DMA, y en otras legislaciones comunitarias de la UE que establecen normas de calidad medioambiental. De lo contrario, la masa de agua se registrará como incapaz de alcanzar un buen estado químico y, por lo tanto, se clasificará como en mal estado químico (Wilaarts, B. et al., 2014).

El instrumento legal español que apoya la implementación de la DMA es la denominada Instrucción de Planificación Hidrológica (IPH), que se desarrolló con el objetivo de proporcionar orientación técnica sobre cómo desarrollar planes de gestión de cuencas fluviales.

La **Figura 6** resume los resultados de la evaluación del estado químico de las masas de agua superficiales en España en la primera fase de planificación de la cuenca (2009-2015).

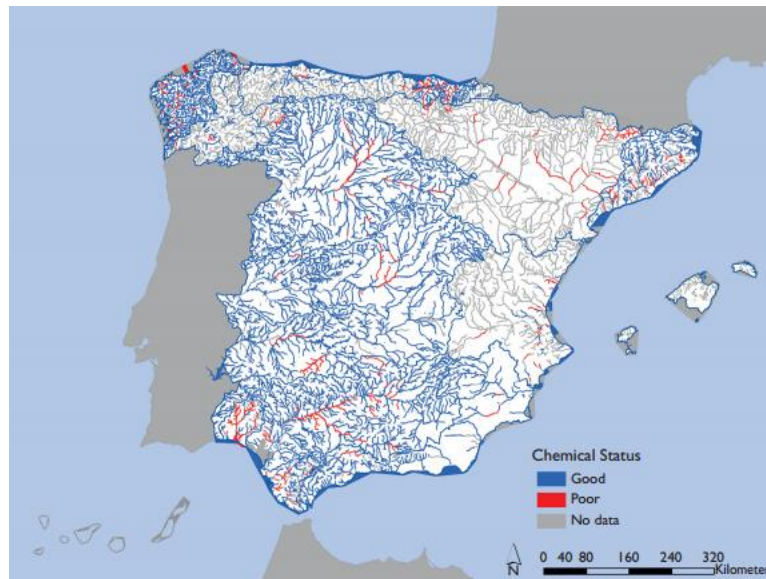


Figura 6. Estado químico de los ríos, lagos y zonas de transición y costeras españolas (Wilaarts, B. et al., 2014)

La mayoría de las cuencas tienen la mayoría de sus masas de agua en buen estado químico, aunque existe una brecha de información importante en las cuencas del Ebro y Júcar en el este de España. Se encuentran problemas químicos específicos en los ríos aguas abajo de las grandes ciudades, como por ejemplo el río Tago superior aguas abajo de la región metropolitana de Madrid, la cuenca media del Guadalquivir o el distrito de la cuenca fluvial catalana alrededor del área metropolitana de Barcelona. También se encuentran problemas agudos de contaminación química en áreas agrícolas importantes, como en las cuencas de los ríos Duero, Guadiana y Guadalquivir (Wilaarts, B. et al., 2014).

La Unión Europea (UE) y las políticas internacionales han abordado la contaminación del agua y el medio ambiente durante casi 50 años. La contaminación química bruta, se ha abordado con éxito en muchos casos. Sin embargo, en su reciente informe basado en datos de los Estados miembros sobre la aplicación de la Directiva Marco del Agua (2000/60/CE), la Agencia Europea del Medio Ambiente (AEMA) descubrió que solo el 38% de las aguas superficiales de la UE están en buen estado químico. El 46% no logra un buen estado químico y el 16% está en un estado químico desconocido (Agencia Europea de Medio Ambiente, 2018).

El estado químico de las aguas superficiales bajo la DMA se evalúa en relación con una lista relativamente corta de contaminantes históricamente importantes. La

concentración de una sustancia en el agua se compara con un estándar de calidad ambiental (ECA) establecido para una sola sustancia.

La mayoría de los fallos en el estado químico de las aguas superficiales se pueden atribuir a tres grupos de sustancias, de las cuales todas son persistentes y ampliamente distribuidas: mercurio y sus compuestos, hidrocarburos aromáticos policíclicos y difeniléteres polibromados (pBDEs).

La DMA evalúa el estado químico y ecológico de las masas de agua superficiales por separado. El estado químico de las aguas superficiales bajo la DMA se basa en una comparación de las concentraciones medidas de sustancias prioritarias (establecidas en toda la UE) con los niveles objetivo establecidos en el ECA.

Las sustancias prioritarias y los contaminantes específicos de las cuencas hidrográficas que exceden con mayor frecuencia los estándares ambientales según los informes recientes de la DMA se muestran en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Lista de contaminantes que exceden con mayor frecuencia los ECA en masas de agua superficiales en los Estados miembros (Agencia Europea de Medio Ambiente, 2018).

Contaminante	Tipo de sustancia/compuesto químico	Número de estados miembros que exceden los ECA	Número de masas de aguas que exceden los ECA
Contaminación principalmente por deposición atmosférica			
Mercurio	Metal	22	45739
Benzo(g,h,i)perileno + indeno (1,2,3-cd)-pireno	PAH	13	3080
Fluoranteno	PAH	13	1324
Benzo(a)pireno	PAH	11	1627
Benzo(b)fluoranteno + benzo(k) fluoranteno	PAH	10	460
Antraceno	PAH	9	102
Fenantreno	PAH	4	68

Contaminación principalmente por asentamientos urbanos			
DEHP	Plastificante	11	101
4-Nonilfenol	Surfactante	8	184
pBDEs	Retardantes de llama	7	23320
Contaminación por metales			
Cadmio	Metal	19	991
Níquel	Metal	18	600
Plomo	Metal	17	413
Zinc	Metal	18	1454
Cobre	Metal	16	808
Arsénico	Metaloide	14	385
Cromo	Metal	10	110
Cianuro (total + libre)	Ion	8	72
Contaminación proveniente de la agricultura			
HCH	Insecticida	10	104
Isoproturón	Herbicida, biocida	7	198
MCPA	Herbicida	6	159
Metolacloro	Herbicida	6	139
Terbutilazina	Herbicida	6	51
2-4 D	Herbicida	4	18
Malatión	Insecticida	4	13
Paratión	Insecticida	4	7
Contaminación proveniente de la navegación			
Tributil estaño	Biocida	14	659

Se puede ver que las sustancias químicas que causan más daños en el estado químico son el mercurio y los pBDEs.

Además, en la **Tabla 11** se recogen las concentraciones medias de los contaminantes específicos de las cuencas hidrográficas con una comparación entre los estándares nacionales mínimos y máximos para los ECAs promedio anuales.

Tabla 11. Contaminantes específicos de las cuencas hidrográficas con el mayor número de países que reportan fallas, con una comparación entre los estándares nacionales mínimos y máximos para los ECAs promedio anuales (Agencia Europea de Medio Ambiente, 2018).

Nombre de la sustancia	Número de estados miembros que exceden los ECA	Mínimo (µg/L)	Máximo (µg/L)	Media (µg/L)
Zinc	18	3,1	1000	34
Cobre	16	0,5	120	8
Arsénico	14	0,5	50	10
Cromo	10	0,6	50	5
Cianuro total	4	0,6	300	25
Cianuro libre	5	1	50	5
MCPA	6	0,1	1,6	0,6
Metalocloro	6	0,1	1	0,2
Terbutilazina	6	0,2	1	0,5
2-4D	4	0,1	20	0,3
Malatión	4	0,0008	0,2	0,01
Paratión	4	0,0002	0,01	0,005

6. CONCLUSIONES

Los contaminantes orgánicos son muy importantes en el análisis químico debido a la preocupación existente en torno a los efectos perjudiciales asociados a su distribución en el medio ambiente y, en concreto, en los recursos hídricos como consecuencia del uso de plaguicidas en el ámbito de la agricultura. Para ello, existen determinadas técnicas de extracción y de separación empleadas en el análisis de estos contaminantes. Entre las técnicas de extracción, la más empleada es la extracción líquido-líquido, puesto que es el método de preparación de muestra recomendado por algunos organismos reguladores en sus métodos normalizados.

En cuanto a las técnicas de detección, la espectrometría de masas es la técnica más utilizada para la detección de diversos tipos de contaminantes orgánicos. Además, los instrumentos que combinan la cromatografía de gases y la espectrometría de masas constituyen la técnica más adecuada para la identificación de numerosos contaminantes en aguas. Por otro lado, la cromatografía líquida de alta resolución acoplada a la espectrometría de masas también es una importante técnica analítica empleada para este fin, puesto que combina el poder de separación del HPLC con la gran selectividad, sensibilidad y precisión en la identificación de analitos de la espectrometría de masas.

En referencia a los niveles de contaminación de las aguas superficiales españolas, las sustancias químicas que en general se detectan con más frecuencia y/o en mayor concentración son el fungicida carbendazima, los insecticidas indoxacarb, pirimicarb, diazinón y etil clorpirifós y los herbicidas simazina, terbutilazina y diuron. El ciclo de planificación actual ha significado un importante paso adelante para mejorar la comprensión del estado ecológico y químico de las masas de agua superficiales en España. En general, la mayoría de las cuencas tienen la mayor parte de sus masas de agua en buen estado químico, excepto los ríos de las grandes ciudades y las áreas agrícolas importantes.

Además, es importante destacar que a nivel europeo ha habido mejoras en el medio ambiente como resultado del aumento de los controles de los contaminantes más conocidos, siendo el mercurio y los pBDEs los contaminantes que causan más daños en el estado químico, y el zinc, el cianuro y el arsénico los contaminantes específicos de las cuencas hidrográficas encontrados en mayor concentración. Sin embargo, menos de la mitad de las aguas superficiales europeas se encuentran en un buen estado químico.

Una vez liberados en el medio ambiente acuático, los productos químicos nocivos persistentes son muy difíciles de controlar y pueden tener efectos duraderos. Por ello se necesitan formas efectivas de proteger nuestros recursos hídricos para garantizar su sostenibilidad a largo plazo.

7. BIBLIOGRAFÍA

Dirección General de Medio Ambiente (Comisión Europea) (2019). *Escasez de agua y sequía en la Unión Europea*. Oficina de Publicaciones de la Unión Europea.

Kuzmanović, M., Ginebreda, A., Petrović, M., & Barceló, D. (2015). Risk assessment based prioritization of 200 organic micropollutants in 4 Iberian rivers. *Science of the Total Environment*, 503–504, 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.056>

Marín, R. (2017). Contaminación emergente: sustancias prioritarias y preferentes, productos farmacéuticos, drogas de abuso, disruptores endocrinos, microplásticos y patógenos emergentes. *TecnoAqua*, 24, 66-77.

Richardson S.D.; Ternes, T.A. (2018). Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*, 90, 398-428.

Comisión Europea (1985). Ley 29/85, de 2 de agosto, de Aguas.

Comisión Europea (1991). Directiva 91/271/CEE del Consejo, de 21 de mayo, sobre el tratamiento de las aguas residuales urbanas (DO L 135 de 30.5.1991, pp. 40-52).

Comisión Europea (1991). Directiva 91/676/CEE del Consejo, de 12 de diciembre, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura.

Comisión Europea (1998). Directiva 98/83/CE del Consejo, de 3 de noviembre, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano.

Comisión Europea (2000). Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.

Comisión Europea (2001). Decisión nº 2455/2001/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 20 de noviembre, por la que se aprueba la lista de sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE.

Comisión Europea (2003). Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano.

Comisión Europea (2004). Reglamento (CE) Nº 850/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre contaminantes orgánicos persistentes y por el que se modifica la Directiva 79/117/CE.

Comisión Europea (2006). Directiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de febrero, relativa a la gestión de la calidad de las aguas de baño y por la que se deroga la Directiva 76/160/CEE.

Comisión Europea (2006). Directiva 2006/11/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de febrero, relativa a la contaminación causada por determinadas sustancias peligrosas vertidas en el medio acuático de la Comunidad.

Comisión Europea (2006). Directiva 2006/118/CE relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro (Directiva de aguas subterráneas).

Comisión Europea (2007). Real Decreto 1620/2007, de 7 de diciembre, por el que se establece el régimen jurídico de la reutilización de las aguas depuradas.

Comisión Europea (2008). Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan ulteriormente las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE.

Comisión Europea (2015). Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión, de 20 de marzo, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo.

Comisión Europea (2018). Decisión de Ejecución (UE) 2018/840 de la Comisión, de 5 de junio, por la que se establece una lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión en el ámbito de la política de aguas, de conformidad con la Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, y se deroga la Decisión de Ejecución (UE) 2015/495 de la Comisión

Comisión Europea (2013). Directiva 2013/39/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de agosto de 2013, por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en cuanto a las sustancias prioritarias en el ámbito de la política de aguas.

Robles-Molina, J.; Gilbert-López, B.; García-Reyes, J.F.; Molina-Díaz, A. (2013). Comparative evaluation of liquid-liquid extraction, solid-phase extraction and solid-

phase microextraction for the gas chromatography-mass spectrometry determination of multiclass priority organic contaminants in wastewater. *Talanta*, 117, 382-391.

Robles-Molina, J.; Gilbert-López, B.; García-Reyes, J.F.; Molina-Díaz, A. (2014a). Monitoring of selected priority and emerging contaminants in the Guadalquivir River and other related surface waters in the province of Jaén, South East Spain. *Science of the Total Environment*, 479-480, 247-257.

Robles-Molina, J.; Lara-Ortega, F.J.; Gilbert-López, B.; García-Reyes, J.F.; Molina-Díaz, A. (2014b). Multi-residue method for the determination of over 400 priority and emerging pollutants in water and wastewater by solid-phase extraction and liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1350, 30-43.

Robles Molina, J. (2014c). *Desarrollo de metodologías analíticas mediante cromatografía/espectrometría de masas para el control de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes en aguas residuales y superficiales*. (Tesis Doctoral), Universidad de Jaén.

Valcárcel Cases, M.; Gómez Hens A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. (pp. 615-618). Barcelona: Reverté S.A.

C. Harris, D. (2007). *Análisis químico cuantitativo*. (p.579) Barcelona: Reverté S.A.

Polo Piñeiro, M. (2007). *Desarrollo de nuevos métodos de microextracción en fase sólida para la determinación de contaminantes emergentes en matrices acuosas*. (Tesis Doctoral). Universidad de Santiago de Compostela.

Viera-Santana, S.; Santana-Rodríguez, JJ. (2013). Técnicas analíticas avanzadas para la extracción y preconcentración de contaminantes emergentes en muestras líquidas. *Rev. Acad. Canar. Cienc.*, XXV, 77-95.

González Gago, A. (2012). *Desarrollo de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes orgánicos halogenados en muestras de interés medioambiental mediante espectrometría de masas (MS)*. (Tesis doctoral). Universidad de Oviedo.

Requena A.; Quintanilla R.; Bolarín J.M.; Vázquez A.; Bastida A.; Zúñiga J.; Tomás L.M. *Nuevas Tecnologías y Contaminación de Atmósferas, para PYMEs*. VI-1-3.

Universidad de Murcia. Recuperado de <https://www.um.es/LEQ/Atmosferas/Ch-VI-1/F61s3p3.htm>

Requena A.; Quintanilla R.; Bolarín J.M.; Vázquez A.; Bastida A.; Zúñiga J.; Tomás L.M. *Nuevas Tecnologías y Contaminación de Atmósferas, para PYMEs*. V-1-10. Universidad de Murcia. Recuperado de <https://www.um.es/LEQ/Atmosferas/Ch-V-1/F51s10p1.htm>

Agencia Europea de Medio Ambiente (AEMA) (2018). Chemical in European waters. Knowledge developments. No 18/2018.

Wilaarts, B.; Ballesteros Olza, M.; Hernandez-Mora, N. (2014). Ten years of the Water Framework Directive in Spain: An overview of the ecological and chemical status of surface water bodies. En Pedro Martinez-Santos, Maite M. Aldaya, M. Ramón Llamas (Ed.), *Integrated Water Resources Management in the 21st Century: Revisiting the paradigm*. (pp. 99-120). Madrid: CRC Press.

Comisión Europea (2012b): Informe de la Comisión al Parlamento Europeo y al Consejo sobre la aplicación de la Directiva Marco del Agua (2000/60/CE). Planes hidrológicos de cuenca.

Quintana, J., De la Cal, A., Boleda, M. R. (2019). Monitoring the complex occurrence of pesticides in the Llobregat basin, natural and drinking waters in Barcelona metropolitan area (Catalonia, NE Spain) by a validated multi-residue online analytical method. *Science of the Total Environment*, 692, 952-965. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.317>

Rico, A., Arenas-Sánchez, A., Alonso-Alonso, C., López-Heras, I., Nozal, L., Rivas-Tabares, D., Vighi, M. (2019). Identification of contaminants of concern in the upper Tagus river basin (central Spain). Part 1: Screening, quantitative analysis and comparison of sampling methods. *Science of the Total Environment*, 666, 1058-1070. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.250>

Herrero-Hernández, E., Simón-Egea, A.B., Sánchez-Martín, M.J., Rodríguez-Cruza, M.S., Andrades, M.S. (2020). Monitoring and environmental risk assessment of pesticide residues and some of their degradation products in natural waters of the Spanish vineyard region included in the Denomination of Origin Jumilla. *Environmental Pollution*, 264. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114666>