



## **Situación actual de los contaminantes emergentes en las aguas residuales: efectos ambientales y para la salud pública**

Dra. Emma Martínez López.  
Profesora Titular Toxicología.  
Grupo de Investigación Toxicología. UMU.  
([www.sertoxmur.com](http://www.sertoxmur.com))

*Conferencia y Reunión del Grupo de Trabajo Agua y Energía de la  
Comisión Intermediterránea (CIM) de la Conferencia de Regiones  
Periféricas Marítimas (CRPM) Valencia (España, 18.10.2016)*

# LEGISLACIÓN MATERIA AGUAS

Directiva 76/464/CEE  
Directiva 96/61/CEE  
Directiva 2000/60/CE  
Directiva 2008/105/CE  
Directiva 2013/39/UE

**CONTAMINANTES  
PRIORITARIOS**

**CONTAMINANTES  
EMERGENTES**



[http://www.madrinasd.org/blogs/ciencia\\_marina/2013/02/19/133011](http://www.madrinasd.org/blogs/ciencia_marina/2013/02/19/133011)

# CONTAMINANTES PRIORITARIOS

**Alacloro**  
**Antraceno**  
**Atrazina**  
**Benceno**  
**Difeniléteres bromados**  
**Cadmio y sus compuestos**  
**Cloroalcanos**  
**Clorfenvifós**  
**Clorpirifós**  
**1,2-Dicloroetano**  
**Diclorometano**  
**Ftalato de di(2-etilhexilo) (DEHP)**  
**Diurón**  
**Endosulfán**  
**Fluranteceno**  
**Hexaclorobenceno**  
**Hexaclorobutadieno**  
**Hexaclorociclohexano**  
**Isoproturón**  
**Plomo y sus compuestos**  
**Mercurio y sus compuestos**  
**Naftaleno**  
**Níquel y sus compuestos**  
**Nonilfenoles**  
**Octilfenoles**

**Pentaclorobencenos**  
**Pentaclorofenol**  
**Hidrocarburos aromáticos policíclicos**  
**Simazina**  
**Triclorobencenos**  
**Triclorometano (cloroformo)**  
**Trifluralina**  
**Dicofol**  
**Ácido perfluoro-octano-sulfónico y sus derivados (PFOS)**  
**Quinoxifeno**  
**Dioxinas y compuestos similares**  
**Aclonifeno**  
**Bifenox**  
**Cibutrina**  
**Cipermetrina**  
**Diclorvós**  
**Hexabromociclododecanos (HBCDD)**  
**Heptacloro y époxido de heptacloro**  
**Terbutrina**

**Directiva 2013/39/UE**

# CONTAMINANTES EMERGENTES

Contaminantes previamente **desconocidos o no reconocidos** como tales, cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero si la preocupación por las posibles consecuencias de la misma.

En muchos casos, se trata de **contaminantes no controlados**, que son candidatos a ser incluidos en futuras regulaciones, en función de sus potenciales efectos sobre la salud y su mayor o menor presencia en las aguas de consumo.

Los contaminantes emergentes son compuestos de los que se tiene **escasa información** acerca de su presencia e impacto en el medio ambiente. No existen normativas sobre ellos.

Otra particularidad de estos compuestos es que, debido a su relativamente elevada producción y consumo, se **introducen continuamente** en el medio ambiente, por lo que no es necesario que sean persistentes para ocasionar efectos negativos.

# CONTAMINANTES EMERGENTES

<b>Productos farmacéuticos</b>	
Antibióticos usados en veterinaria y medicina	Trimetropim, eritromicina, lincomicina, sulfametoxazol
Analgésicos y anti-inflamatorios	Codeína, ibuprofeno, acetaminofeno, AAS, diclofenaco. Fenoprofeno
Medicamentos psiquiátricos	Diazepam
Reguladores de lípidos	Ác. Clofíbrico, Ác. Fenofíbrico, benzafibrate
B-Bloqueantes	Meoprolol, propranolol, timolol
Medios de contraste de Rayos X	Iopromide, iopamidol, diatrizoato
Esteroides y hormonas	Estradiol, estrona, estriol, dietilstilbestrol
<b>Productos de cuidado personal</b>	
Perfumes	Musks nitro, policíclicos y macrocíclicos
Agentes de protección solar	Benzofenona, metilbenzilidene camfor
Repelentes de insectos	N,N-dietiltoluamida
<b>Antisépticos</b>	Triclosan, clorofeno
<b>Detergentes tensioactivos y sus metabolitos</b>	Alquilofenoles
<b>Retardadores de llama</b>	Difenil éteres polibromados (PBDEs), tetrabromo bisfenol...
<b>Aditivos y agentes industriales</b>	Agentes quelantes (EDTA), sulfonatos aromáticos
<b>Aditivos de gasolina</b>	Dialquil éteres, metil-t-butil éter (MTBE)
<b>Subproductos de desinfección</b>	Yodo-THMs, bromoácidos, bromoacetonitrilos, bromoaldehído...

# CONTAMINANTES EMERGENTES

Contaminantes emergentes que demandan una mayor y más urgente atención (debido a la escasez de datos ambientales y ecotoxicológicos y de métodos para su análisis, y a las posibles consecuencias de su presencia en el medio ambiente) se encuentran:

- los retardantes de llama bromados
- los cloroalcanos
- los pesticidas polares
- los compuestos perfluorados
- los fármacos
- las drogas de abuso,
- y • los metabolitos y/o productos de degradación de las clases de sustancias anteriores

**cómo y dónde se liberan al medio ambiente, las vías de exposición, el destino que siguen en el medio ambiente, y evidencias firmes sobre su posible impacto y efectos.**

# PPCPs, PBPE



HUMANOS



ANIMALES



DEPURADORAS



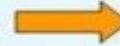
MEDIO AMBIENTE

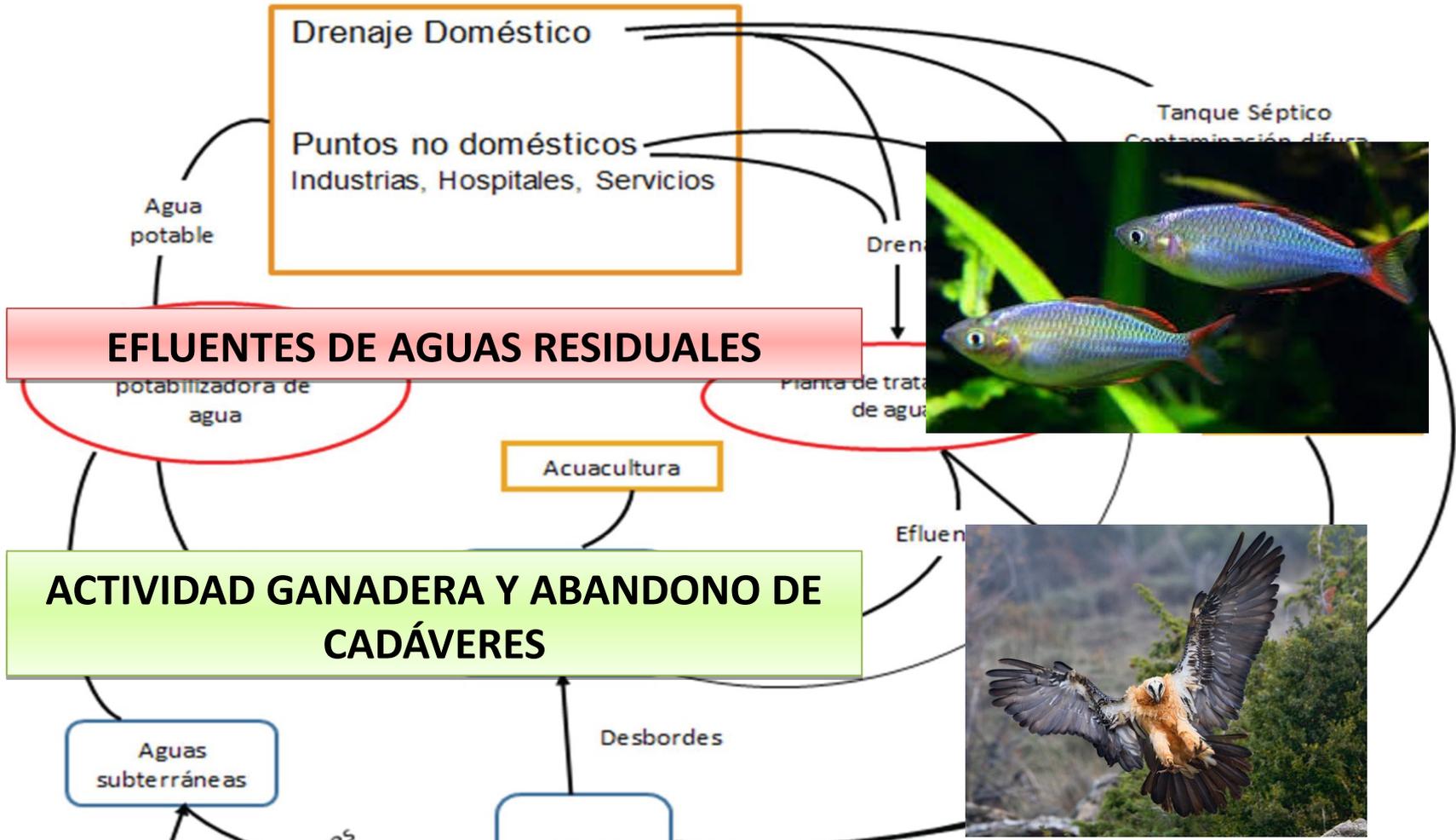


ALIMENTOS



CAMPOS DE CULTIVO

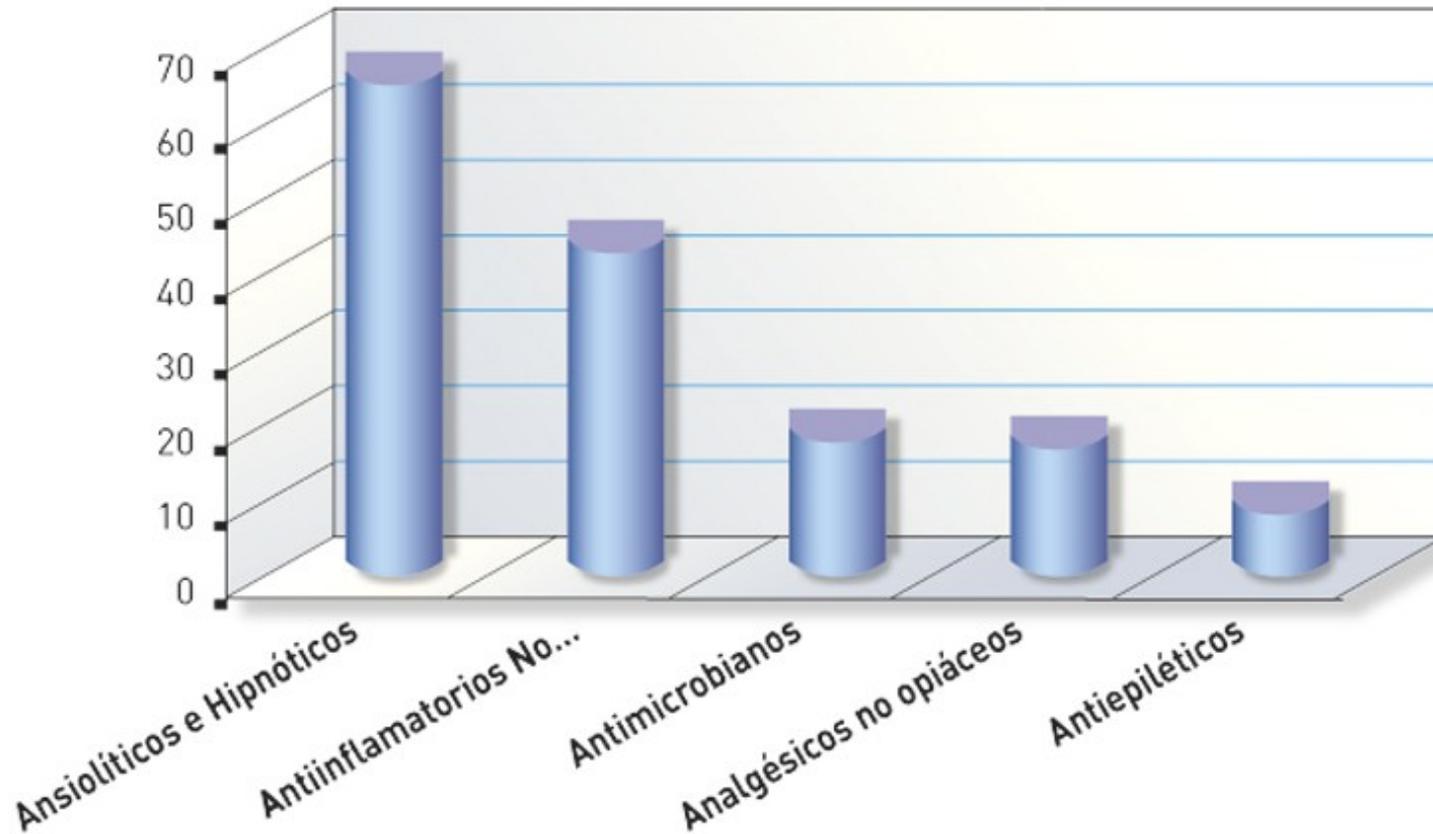




**MODELOS ECOTOXICOLOGICOS NO LOGRAN DESCRIBIR EFECTO EN COMUNIDADES ACUÁTICAS**

# FÁRMACOS

## Consumo de los grupos terapéuticos más frecuentes en España



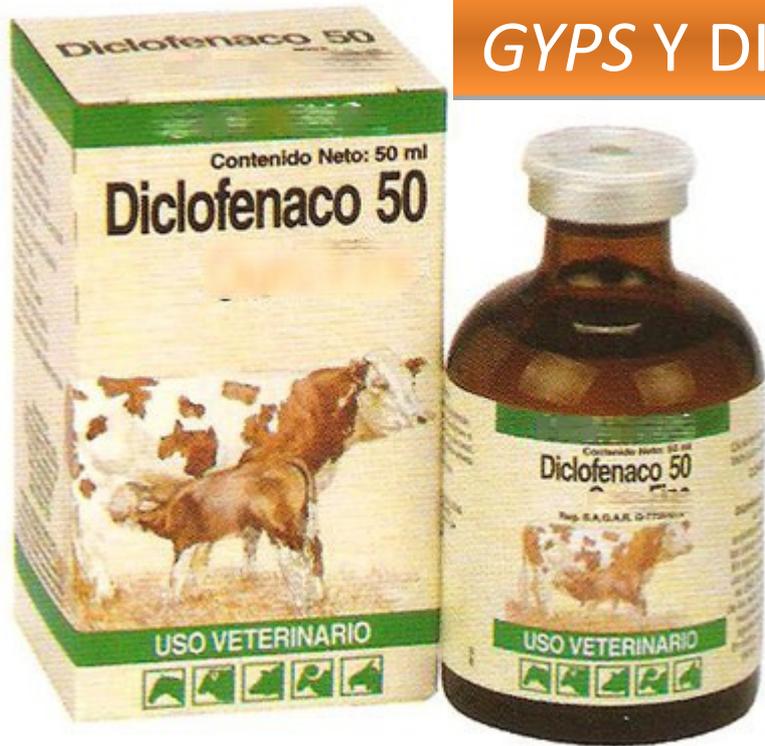
-lo  
res  
pa  
- lo  
res  
ag  
- lo  
co  
al  
pro  
-  
el  
qu  
fer

s  
n  
o  
s  
n  
y,  
s  
a  
e

# EFECTOS SOBRE MEDIO AMBIENTE



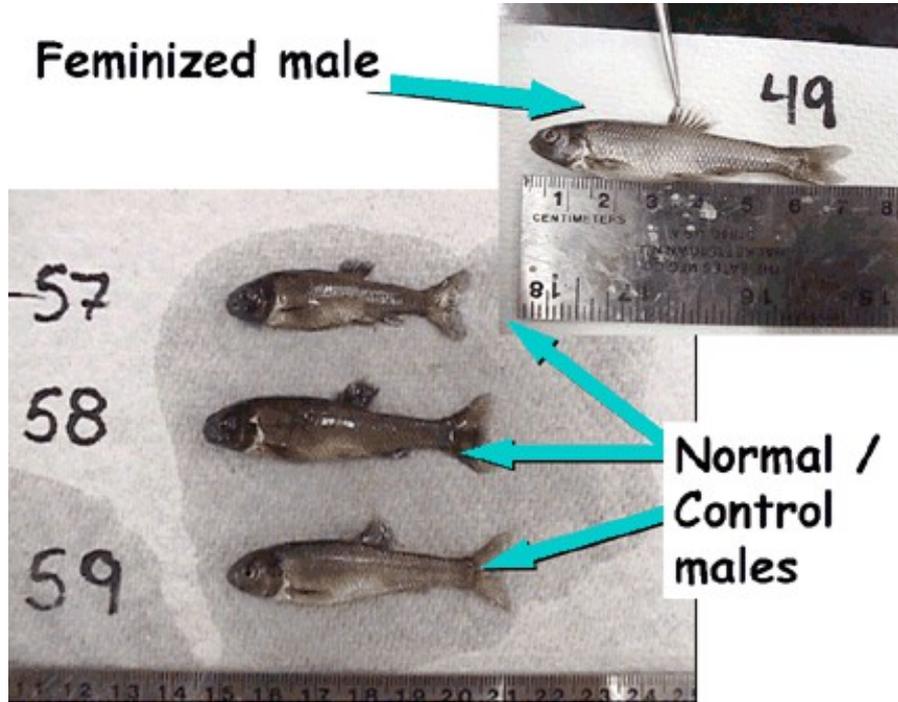
## GYPS Y DICLOFENACO



19 noviembre 2011. Los Buitres en Asia meridional se encuentra al borde de la extinción. Los Investigadores Lindsay Oaks y Richard Watson de "The Peregrine Fund" en los EE.UU., llevaron a cabo los estudios observacionales y forenses para averiguar por qué el número de aves se caía con tanta rapidez. Ellos descubrieron que los buitres estaban siendo envenenados por los residuos de un medicamento antiinflamatorio (diclofenaco) que se utiliza en el ganado y otros animales, de cuyos cuerpos se alimentan. La obra se presenta en un capítulo del nuevo libro, "Ecotoxicología de Vida Silvestre – Métodos forenses", publicado por Springer.

Parrots et al.

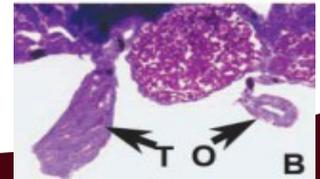
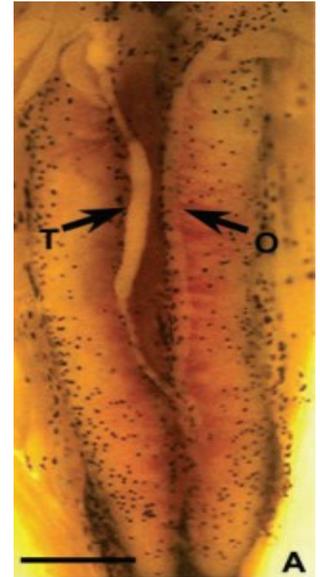
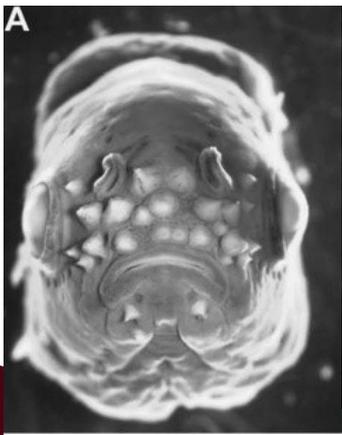
Feminized male



Normal / Control males

*Fat head minnows: male exposed to estrogen in the lab loses typical male characteristics expressed by normal or control male fish*

Chondrichthyes		No published data to date
Osteichthyes		Sex reversal; skewed sex ratios; intersex gonads (ovotestis) and reproductive ducts; shortened gonopodium; decreased semen quality; abnormal steroidogenesis
Lissamphibia		Sex reversal; skewed sex ratios; hermaphrodites; intersex gonads (ovotestis); disrupted spermatogenesis; altered testicular tubule morphology & gonadal development
Reptilia		Sex reversal; skewed sex ratios; abnormal penis development; hypospadias; disrupted steroidogenesis and gene expression patterns; decreased precloacal length
Aves		Abnormal gonadal differentiation; altered testicular tubule morphology; reduced testis size; decreased size of cloacal foam gland; decreased sperm quality
Mammalia		Abnormal genital/gonadal development; disrupted steroidogenesis and gene expression; decreased anogenital distance; cryptorchidism; hypospadias; decreased semen quality; microlithiasis; altered testicular tubule morphology



En España, se vertieron en 2010 1,19 Toneladas de Alquilfenoles desde plantas de tratamiento de aguas residuales. También se detectan en alimentos grasos, envases, productos de limpieza, cosméticos y ropa.



## Alternativas al uso de alquilfenoles

### como surfactantes

Fuente: DfE. Alternatives Assessment for Nonylphenol Ethoxyla-

Sustancia	CAS
C9-11 Alcoholes etoxilados (6 EO)	68439-46-3
C12-15 Alcoholes etoxilados (9EO)	68131-39-5
Polimero de 2 - metil - oxirano mono (2 - etilhexil) eter oxirano	64366-70-7
Oligomeros de D - Glucopiranososa, decil octil glicosidos	68515-73-1
Ácido bencenosulfónico, C10 - 13 - alquil derivados, sales de sodio	68411-30-3
Sulfato de sodio y dodecilo	151-21-3
Éter sulfato de lauril sodio	9004-82-4
Estearato de sorbitano	1338-41-6

tes. USEPA May 2012.



# EFFECTOS

- 1) Bioquímicos y moleculares
- 2) Células y tejidos
- 3) Órganos y tejidos
- 4) Efectos subletales

# Desarrollo y crecimiento

Cambios  
morfológicos  
durante la  
exposición a  
compuestos  
químicos

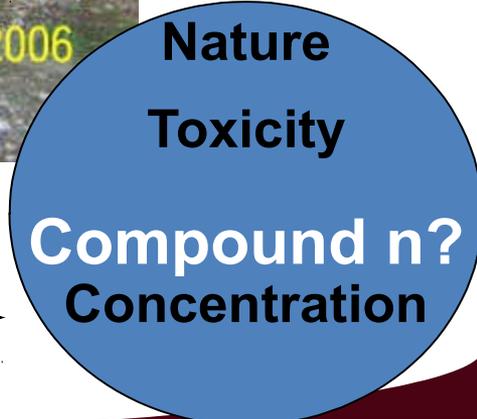
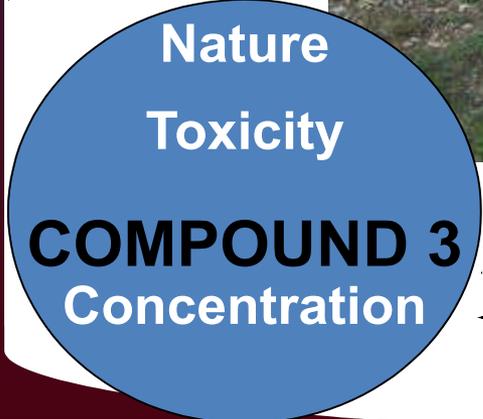
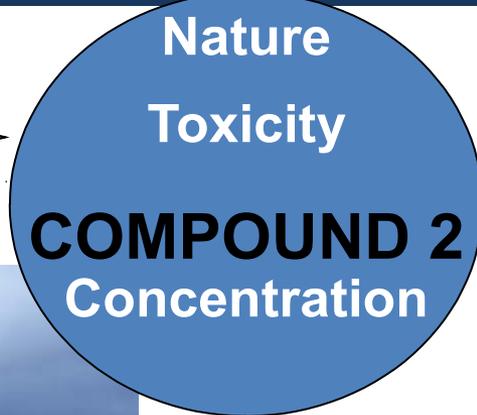
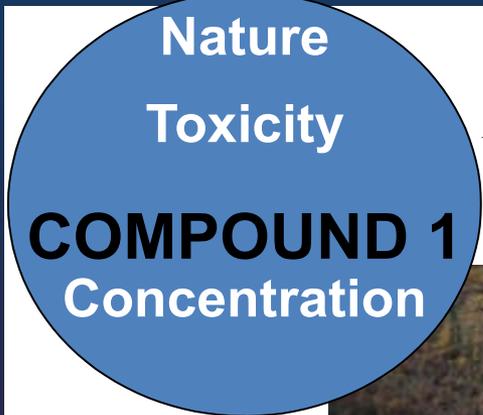


<http://www.aphotofauna.com/Mollusc-whelk-eggs-13-01-06.jpg>

# *Modificaciones comportamentales*

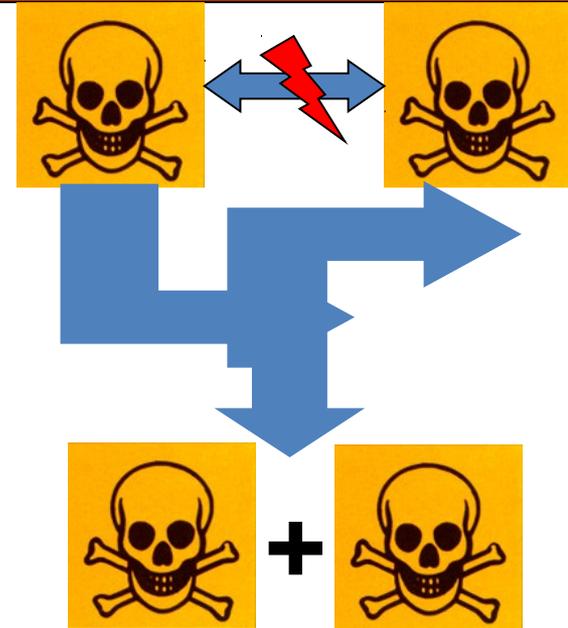
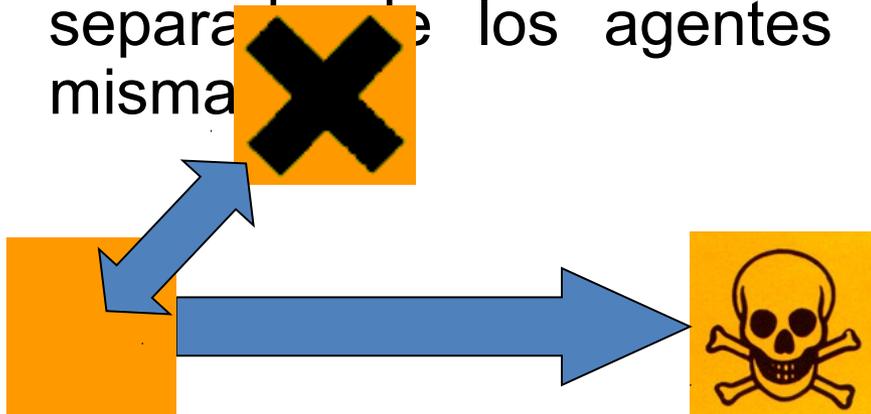


- Cambios locomoción
- Cambios en "fitness"
- Interacciones sociales



# Interacciones tóxicas

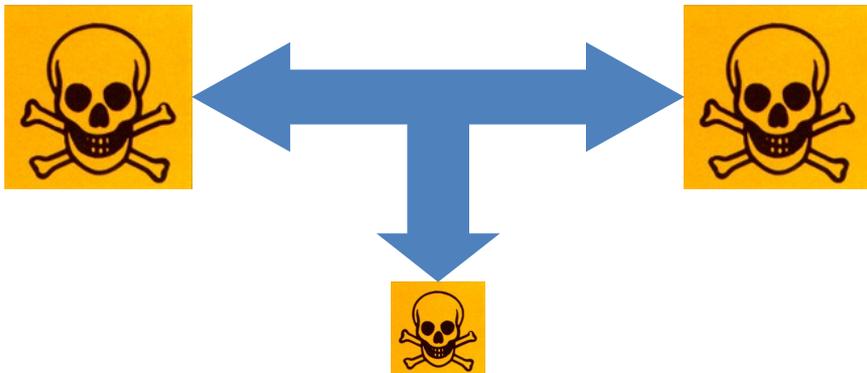
- **Efecto aditivo:** Consecuencia que sigue a la exposición a dos o más agentes físico-químicos que actúan en forma conjunta, pero no interactúan.
- El efecto total es la simple suma de los efectos de la exposición separada de los agentes en la misma



- **Potenciación:** Puede ser considerado como la acción en la que una sustancia o agente físico en una cierta dosis que no tenga un efecto adverso en sí mismo, aumenta el daño causado por otra sustancia o agente físico.

# Interacciones tóxicas

- **Sinergismo:** Interacción farmacológica o toxicológica en la que el efecto biológico combinado de dos o más sustancias es mayor de lo esperado sobre la base de la simple suma de la toxicidad de cada una de las sustancias individuales.



- **Antagonismo:** Efecto de dos o más factores que es menor que el efecto de aislamiento de una cualquiera de esos factores combinados.



**EFFLUENTES**



**Mixtures**

**Salud humana  
(Tests toxicidad)**

**Ecosistemas  
(Tests de ecotoxicidad)**

- Efectos agudos: Enfermedad/muerte
  - Efectos Subclínicos (no-letal)
    - Viabilidad población

### **EXPOSICIÓN Y EFECTOS**

Corto-plazo  
Medio-plazo  
Largo-plazo

*Efectos tóxicos in vitro*

*Efectos tóxicos in vivo*

# *Disrupción endocrina (ED) asociada a efluentes*



*Larsson et al. (2009)*

# Disrupción endocrina

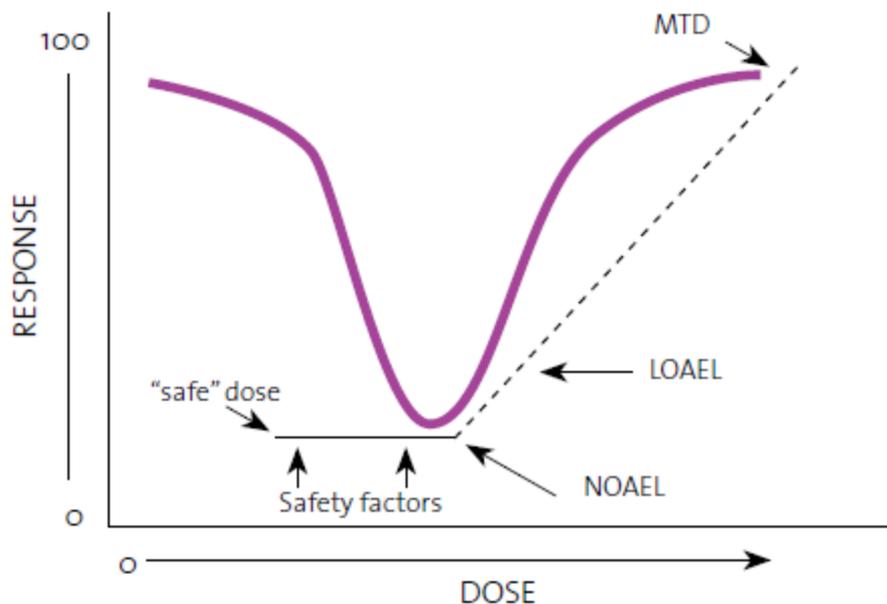
**Últimos 20 años:** Incremento de informes que relacionan efectos adversos sobre la salud reproductiva en humanos y fauna silvestre y la exposición a compuestos EDCS

## Mecanismos de interferencia con el sistema endocrino:

- 1.-** Mimetizar la acción de las hormonas (e.g. oestradiol, DDT, algunos PCBs y muchos fitoestrógenos...) por unión al receptor hormonal;
- 2.-** Antagonizar la acción de las hormonas (e.g. tamoxifen, PCBs, fungicida vinclozina);
- 3.-** Reacción directa/indirectamente con la estructura hormona para alterarla;
- 4.-** Interfiriendo con la síntesis y metabolismo de hormonas (retardantes de llamas);
- 5.-** Alterando los niveles de receptores hormonales e interfiriendo en transporte y eliminación.

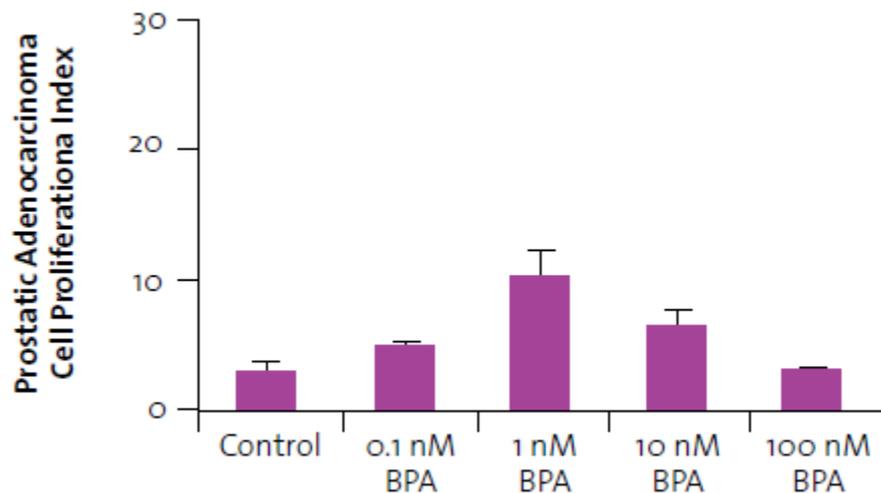
Numerosos EDC ocasionan efectos a dosis de exposición muy bajas, equivalentes a niveles de exposición actual de la población

## Cálculo de niveles de exposición seguros en ensayos de toxicidad estandarizados



Fuente: Laura N. Vandenberg, Theo Colborn, Tyrone B. Hayes, Jerrold J. Heindel, David R. Jacobs, Jr, Duk-Hee Lee, Toshi Shioda, Ana M. Soto, Frederick S. vom Saal, Wade V. Welshons, R. Thomas Zoeller, and John Peterson Myers. Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. *Endocrine Reviews*, March 14, 2012 er.2011-1050.

Los ensayos de toxicidad estandarizados en la normativa actual no detectan efectos adversos que se producen a dosis bajas, ya que cuando se encuentran niveles sin efectos adversos a dosis superiores, no siguen buscando posibles efectos negativos a dosis bajas. EDC en algunas ocasiones no presentan patrón dosis-respuesta.

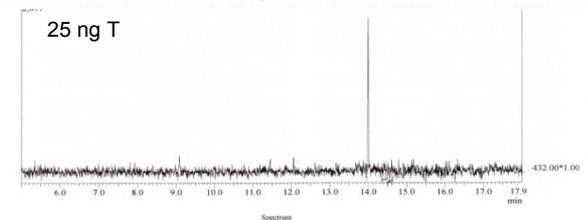
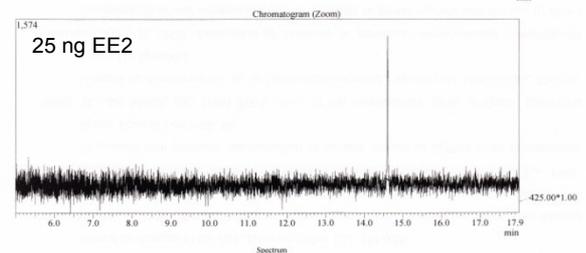
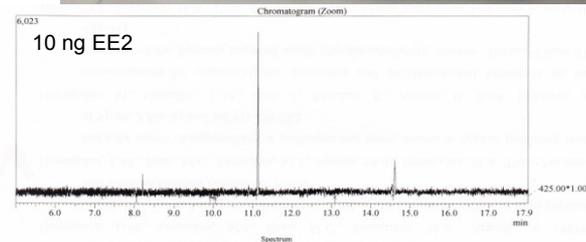


Adapted from Wetherill *et al.*

# Métodos de Análisis químico

*Análisis químicos son capaces de detectar la presencia de EDCs en sistemas acuáticos; sin embargo, presentan algunas limitaciones.*

- Conocimiento de la naturaleza de los químicos biológicamente activos
- Puntos fuertes
- Interacción en mezclas complejas (ej. Aguas residuales)
- Efectos biológicos por debajo de los límites de detección de técnicas



# Ensayo in vivo en peces de sustancias actividad endocrina

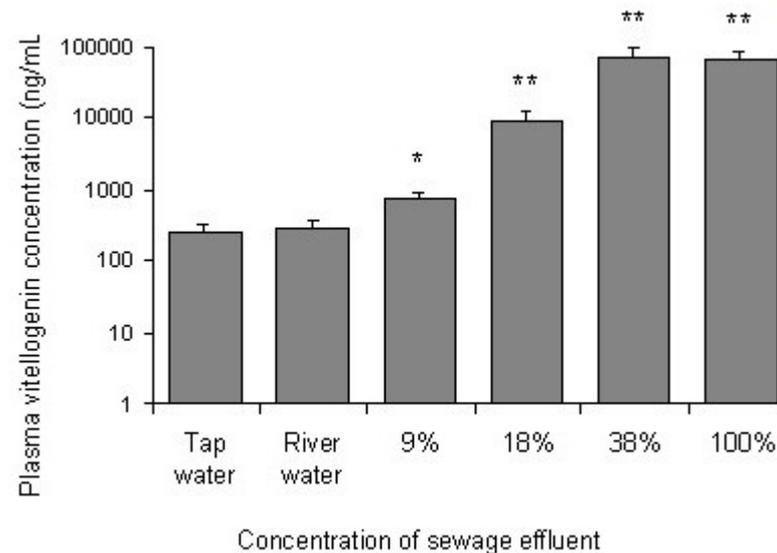
## Vitelogenina

Detección de compuestos estrogénicos mediante la medición de niveles de vitelogenina en peces machos.

Caracteres secundarios sexuales  
Determinación de vitelogenina en sangre

Exposición  
21 días

Brunel University 2010



Vitelogenina es normalmente producida por hígado de hembras ovíparas. Se necesita para el desarrollo del huevo.

# *Ensayos in vitro de disrupción endocrina*

Proporciona la evaluación de la actividad biológica de muestras ambientales

- Receptor-binding assays assess the ability of a chemical to attach to the receptor-binding site.
- Cellular bioassays such as the MCF-7 breast cancer cell proliferation assay (E-Screen), which measure the potency of a sample to induce cell proliferation, also provide a measure of estrogenicity
- Reporter gene assays that measure ER binding-dependent transcriptional and translational activity, such as ER-CALUX (Estrogen Receptor-mediated Chemical Activated LUciferase gene eXpression assay; Legler et al., 1999).

# Estrogenicidad de compuestos individuales

## E-Screen.

(PPCPs)

### Individual PPCPs

Concentration range:  
**0.01 pM to 10 μM**  
in DMSO

❖ The most representative pharmaceutical groups of compounds detected in urban wastewaters (Suárez et al, 2008)

Negative control (growth medium plus DMSO)  
Positive Control (E2) 1 nM

**6 Hormones:** 17-α-ethynilstradiol (EE2), Estrone (E1), Diethylstilbestrol, Hexestrol, Testosterone, Trenbolone.

**3 NSAIDs;** Ibuprofen, Naproxen, Diclofenac.

**4 Antibiotics:** Roxithromycin, Erythromycin, Trimethoprim, Sulfamethoxazol.

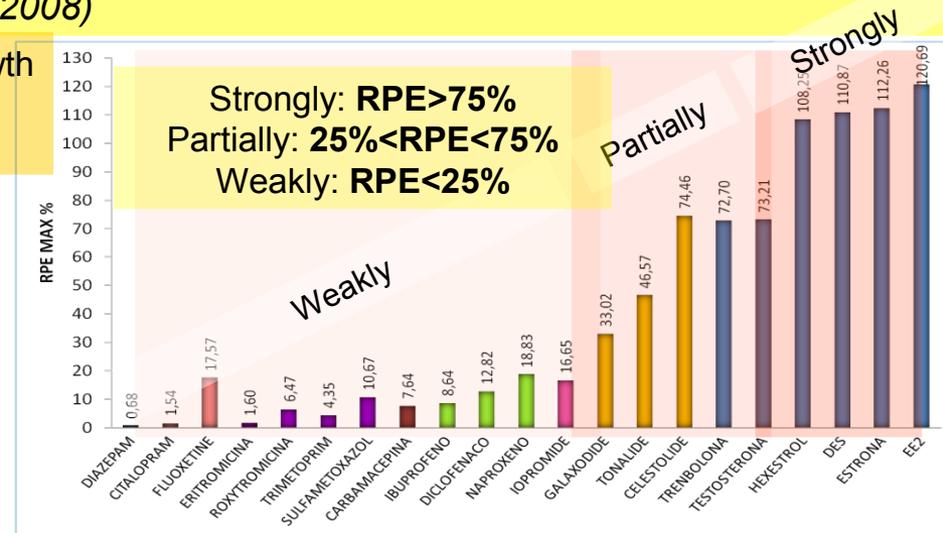
**4 CNS pharmaceuticals:**

**2 Anti-depressants:** Fluoxetine, Citalopram.

**1 Tranquilizer:** Diazepam.

**1 Antiepileptics:** Carbamazepine.

**3 Musk fragrances:** Celestolide (ADBI), Tonalide (AHTN), Galaxodide (HHCB).



Antibiotics, SNCdrugs, NSAIDs    Fragrance    Hormones

Substance	RPE <sub>max</sub> (%)	EC50	RPP
EE2	120,69	7,4*10 <sup>-12</sup>	1.5
E1	112,26	4,7*10 <sup>-11</sup>	1.5
HEX	108,25	1,9*10 <sup>-11</sup>	0.6
DES	110,87	1,6*10 <sup>-11</sup>	0.7
TEST	73,21	2,8*10 <sup>-07</sup>	3.9*10 <sup>-5</sup>
TREN	72,70	2,2*10 <sup>-08</sup>	4.9*10 <sup>-4</sup>
AHTN	46,57	1,0*10 <sup>-06</sup>	1.1*10 <sup>-6</sup>
ADBI	74,46	2,7*10 <sup>-06</sup>	4*10 <sup>-5</sup>
HHCB	33,02	1,0*10 <sup>-06</sup>	1.1*10 <sup>-5</sup>

# Estrogenicidad de PPCPs

## E-screen (MCF-7)

### Mixtures of PPCPs

**6 Hormones:** (1:1:1:1:1:1)

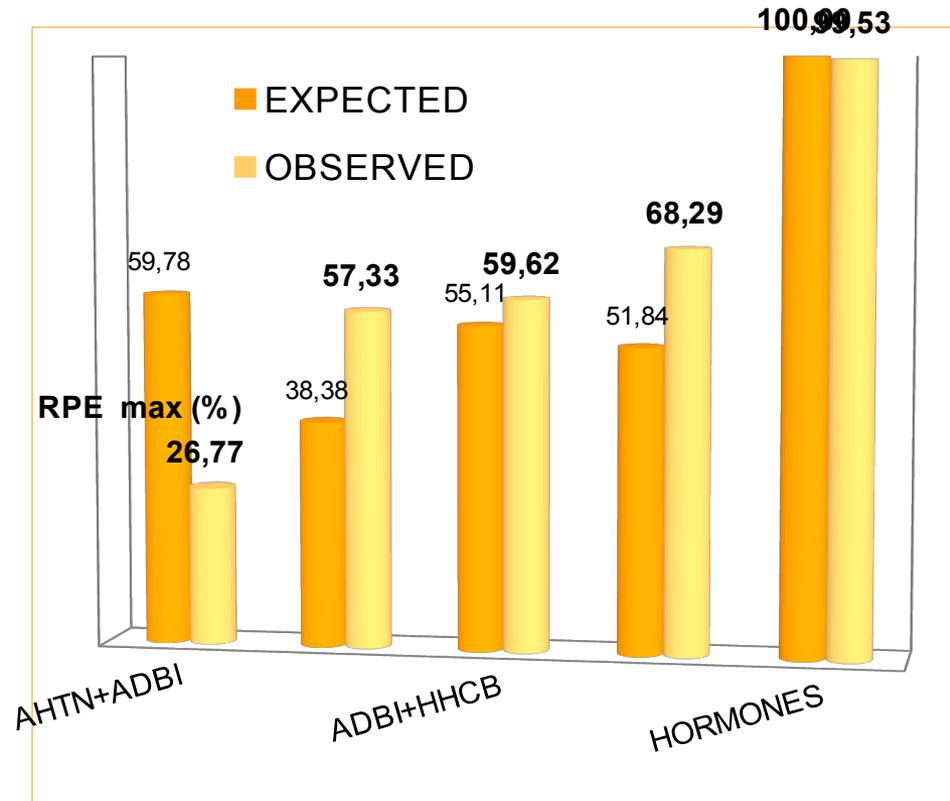
**3 NSAIDs:** (1:1:1)

**4 Antibiotics:** (1:1:1:1)

**4 CNS drugs:** (1:1:1:1)

**3 Fragrances:** (1:1:1)

- AHTN (Ton) + ADBI (Cel) (1:1)
- AHTN (Ton) + HHCB (Gal) (1:1)
- ADBI (Cel) + HHCB (Gal) (1:1)

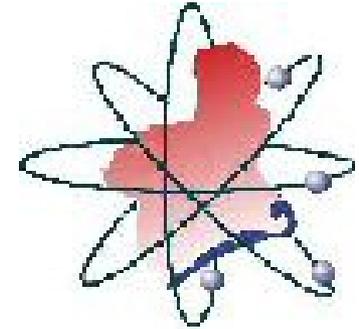


### -Pharmaceuticals mixtures

- Weakly estrogenic activity (RPE < 25%)
- Observed effect coincided with expected.

# Retos ECDS

- Pueden actuar a dosis muy bajas
- Importante el momento de exposición
- Relación dosis-efecto no es lineal
- Efecto “cóctel”, es necesario abordar el estudio de ECD como un grupo, no sustancia a sustancia
- Efecto multigeneracional, ya que interfieren en mecanismo mediante el que se expresan los genes
- Latencia (efectos muchos años después)
- Ubiquidad de la exposición
- No es posible establecer umbrales de exposición seguros a EDC



**Grupo de Toxicología (E008-12)**



**AJ García-Fernández, P. Gómez-Ramírez, MP. Aldeguer, I.Navas,  
JA. González, P. Maria-Mojica, P. Jiménez, J.Peñalver.**