

Trabajo de Fin de Máster

**Determinación de contaminantes
emergentes en arena
de playas de Canarias**

Determination of emerging
contaminants in sand from
beaches in the Canary Islands

Lucía Gabriela Jung García

Tutores:

Dr. Javier Hernández Borges

Dr. Javier González Sálamo

D. JAVIER HERNÁNDEZ BORGES, CATEDRÁTICO DE QUÍMICA ANALÍTICA DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, Y D. JAVIER GONZÁLEZ SÁLAMO, CONTRATADO VIERA Y CLAVIJO DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA,

AUTORIZAN:

La presentación y defensa del Trabajo de Fin de Máster titulado "Determinación de contaminantes emergentes en arena de playas de Canarias", realizado por Dña. Lucía Gabriela Jung García, siendo desarrollado en la Unidad Departamental de Química Analítica del Departamento de Química de la Universidad de La Laguna durante el curso académico 2022 - 2023 bajo nuestra dirección.

Y para que así conste, en cumplimiento de los requisitos y a los efectos oportunos, firmamos la presente en San Cristóbal de La Laguna, a 4 de marzo de 2024.

Fdo: D. Javier Hernández Borges

Fdo: D. Javier González Sálamo

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <http://sede.ull.es/validacion>

Identificador del documento: 6254680 Código de verificación: ofU17Mnh

Firmado por: Javier Hernández Borges
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 04/03/2024 12:54:29

Javier González Sálamo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

04/03/2024 12:58:32

Resumen

En los últimos años, los contaminantes orgánicos emergentes han despertado un gran interés, llegando a convertirse en una problemática a nivel mundial debido a que muchos de ellos actúan como disruptores endocrinos, pudiendo llegar a generar efectos carcinógenos y mutágenos. Como consecuencia de ello, su presencia en el medio ambiente puede dar lugar a graves efectos en la salud humana y en los ecosistemas aun cuando se encuentran a bajas concentraciones, si bien muchos de sus efectos aún se desconocen. A pesar de esto, muchos de estos contaminantes carecen en la actualidad de una legislación que regule su presencia en el medio ambiente. Por lo general, los contaminantes emergentes se caracterizan por su pseudopersistencia al ser liberados de manera continuada, por ser bioactivos y bioacumularse en el medio ambiente. Además, estos se adsorben y acumulan en los sedimentos como la arena, constituyendo un sumidero de estos contaminantes y amenazando negativamente a los ecosistemas marinos. La determinación de este tipo de compuestos en matrices como la arena es una tarea compleja, debido a la amplia variedad de estructuras y propiedades fisicoquímicas que presentan los analitos, así como la complejidad de la matriz, existiendo muy pocos estudios en este sentido.

En este Trabajo de Fin de Máster, se ha llevado a cabo la determinación de 16 contaminantes orgánicos emergentes en muestras de arena procedentes de cuatro playas de la isla de Tenerife: Playa Grande, Playa San Juan, Almaciga y Las Teresitas. Entre los compuestos estudiados destacan 4 productos farmacéuticos, un estimulante, 8 hormonas, un filtro UV y 2 fenoles. La extracción de los contaminantes se realizó mediante la aplicación del método QuEChERS, utilizando acetonitrilo como disolvente de extracción. También se estudiaron las recuperaciones obtenidas de los diferentes analitos a tres niveles de concentración (15, 75 y 150 ng/g). Para llevar a cabo la determinación de los analitos se empleó un equipo de cromatografía líquida de ultra alta eficacia (UHPLC) con detección de espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

Abstract

In recent years, emerging organic pollutants have aroused great interest, becoming a global problem because many of them act as endocrine disruptors, potentially generating carcinogenic and mutagenic effects. As a consequence, their presence in the environment can lead to serious effects on human health and ecosystems even when they are found at low concentrations, although many of their effects are still unknown. Despite this, many of these pollutants currently lack legislation that regulates their presence in the environment. In general, emerging contaminants are characterized by their pseudopersistence as they are released continuously, being bioactive and bioaccumulating in the environment. Furthermore, they adsorb and accumulate in sediments such as sand, constituting a sink for these contaminants and negatively threatening marine ecosystems. The determination of this type of compounds in matrices such as sand is a complex task, due to the wide variety of structures and physicochemical properties that the analytes present, as well as the complexity of the matrix, there being very few studies in this regard.

In this Master's Thesis, the determination of 16 emerging organic contaminants has been carried out in sand samples from four beaches on the island of Tenerife: Playa Grande, Playa San Juan, Almaciga and Las Teresitas. Among the compounds studied, 4 pharmaceutical products stand out, 1 a stimulant, 8 hormones, a UV filter and 2 phenols. The extraction of the contaminants was carried out by applying the QuEChERS method, using acetonitrile as extraction solvent. Recoveries obtained from the different analytes at three concentration levels (15, 75 and 150 ng/g) were also studied. To carry out the determination of the analytes, ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC) equipment with tandem mass spectrometry (MS/MS) detection was used.

Agradecimientos

A pesar del extenuante camino ha valido la pena cada instante recorrido, por todas esas personas que lo han hecho más ameno y me han brindado momentos inolvidables que recordaré siempre.

En primer lugar, quería darles las gracias a mis compañeros del máster por su apoyo y las experiencias divertidas que vivimos juntos.

Gracias a mi familia, especialmente a mi madre, mi tía, mi hermana y a mi pareja, por su apoyo y amor incondicional, por escucharme y comprenderme en las situaciones difíciles de este camino, que me han llenado de fortaleza para seguir adelante con los retos que se me propongan.

También darles las gracias a mis tutores Dr. Javier Hernández Borges y Dr. Javier González Sálamo, que desde que empecé el TFM han sido unos excelentes profesores que me han ofrecido su ayuda en todo momento, siendo muy pacientes y atentos conmigo durante todo el proceso, consiguiendo así que saliera de forma satisfactoria.

Asimismo, darle las gracias a Gabriel Jiménez Skrzypek y a Cecilia Ortega Zamora por ser unos compañeros de laboratorio estupendos en este período ya que me han ayudado y guiado con todas las dudas planteadas, motivándome a que cada etapa fuese más amena y consiguiera mi objetivo.

Por último, a todos ellos infinitas gracias por convertir este reto en un gran logro para mí a nivel personal.

ÍNDICE

Glosario.....	1
1. Introducción	4
1.1. Contaminantes orgánicos	4
1.1.1. Contaminantes orgánicos persistentes	4
1.1.2. Contaminantes emergentes	6
1.2. Problemática medioambiental de los contaminantes emergentes	9
1.3. Adsorción de los contaminantes emergentes en la arena	10
1.4. Metodologías para la determinación de contaminantes emergentes en la arena	13
1.4.1. Método QuEChERS.....	18
1.4.1.1. Modificaciones del método QuEChERS	19
1.4.1.2. Ajuste del pH	19
1.4.1.3. Disolventes de extracción.....	20
1.4.1.4. Sorbentes de extracción de la d-SPE.....	20
1.4.1.5. Adición de sales.....	21
2. Objetivos	23
3. Parte experimental	24
3.1. Patrones, disolventes, reactivos y disoluciones	24
3.2. Materiales.....	26
3.3. Equipos	26
3.3.1. Instrumentos	26
3.3.2. Aparatos.....	26
3.3.3. Programas informáticos	27
3.4 Preparación de las muestras	27
3.5 Determinación mediante UHPLC-MS/MS	28
3.6. Lavado del material de vidrio.....	31
4. Resultados y discusión	32
4.1 Características de los compuestos estudiados	32
4.2 Separación cromatográfica.....	37
4.2.1. Calibrado instrumental.....	39
4.3. Aplicación del método QuEChERS	42
4.3.1. Estudio de recuperaciones	42
4.3.2. Calibrado en la matriz y estudio del efecto matriz	44
4.4. Análisis de muestras reales	48

5. Conclusiones	59
6. Referencias	60

Glosario

- 1-EHMC:** Metoxicinamato de etilhexilo
- 2-EHMC:** Metoxicinamato 2-etilhexilo
- 4-MBC:** 4-metilbencilideno-alcanfor
- ACN:** Acetonitrilo
- AOAC:** Asociación Oficial de Químicos Analíticos
- BM-DBM:** Butil-metoxi-dibenxoilmetano
- BP3:** Benzofenona 3
- BPA:** Bisfenol A
- BS:** Bencil salicilato
- BUVs:** Estabilizadores ultravioleta benzotriazoles
- BZ:** Bencil salicilato
- C₁₈:** Octadecilsilano
- CEN:** Comité Europeo de Estandarización
- CIC:** Capacidad de intercambio catiónico
- CO:** Carbono orgánico
- DDT:** Dicloro-difenil-tricloroetano
- DES:** Disolventes eutécticos profundos
- DLLME:** Microextracción líquido-líquido dispersiva
- DPX:** Extracción con pipeta desechable
- d-SPE:** Extracción en fase sólida dispersiva
- E₁:** Estrona
- 17 β -E₂:** 17 β -estradiol
- EC:** Etoirileno
- EDARs:** Estaciones depuradoras de aguas residuales
- EDP:** 2-Etilhexil-4-dimetilaminobenzoato
- 17 α -EE₂:** 17 α -etinilestradiol
- EHPABA:** Etilhexil dimetil-p-aminobenzoico
- EHS:** Salicilato de etilhexilo
- EMC:** 2-etilhexil 4-metoxicinamato
- EN:** Norma Europea
- EOPs:** Contaminantes orgánicos emergentes
- EPA:** Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos

ES: 2-etilhexil salicilato

EtAc: Acetato de etilo

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos

GAC: Química Analítica Verde

GC: Cromatografía de gases

GCB: Carbón negro grafitizado

GC-MS: Cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas

GC-MS/MS: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en tándem

GSP: Preparación de muestras verde

HS: Homosalato

IAMC: Isoamil metoxicinamato

IMC: Isoamil 4-metoxicinamato

K_d: Coeficientes de distribución

K_{ow}: Coeficiente de partición octanol-agua

LC: Cromatografía de líquidos

LC-MS: Cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas

LLE: Extracción líquido-líquido

LOD: Límite de detección

LOQ: Límite de cuantificación

MA: Metil antranilato

MAE: Extracción asistida por microondas

MO: Materia orgánica

OC: Octicrileno

ODP: Octildimetil p-ácido-aminobenzoico

PAHs: Hidrocarburos aromáticos policíclicos

PBDES: Polibromodifeniléteres

PCDD: Dioxinas policloradas

PCDF: Furanos policlorados

PCBs: Bifenilos policlorados

PCPs: Productos de cuidado personal

PDMS/DVB: Polidimetilsiloxano/divinilbenceno

PFASs: Sustancias perfluoroalquiladas

PLE: Extracción los líquidos presurizados

PS: Sustancias prioritarias

PSA: Amina primaria o secundaria

QuEChERS: Quick (rápido), easy (fácil), cheap (barato), effective (efectivo), rugged (robusto) and safe (seguro)

REACH: Organismo de Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Productos Químicos

SBSE: Microextracción por sorción con barras agitadoras

SBSDME: Microextracción por dispersión en barra de agitación

SCDS: Citrato de sodio dibásico sesquihidratado

SCTD: Citrato de sodio tribásico dihidratado

SOM: Materia orgánica del suelo

SPE: Extracción en fase sólida

SPME: Microextracción en fase sólida

TSCA: Ley de Control de Sustancias Tóxicas

UAE: Extracción asistida por ultrasonidos

UHPLC-MS/MS: Cromatografía líquida o de ultra alta resolución en tándem

USEPA: Ley de Agua Potable Segura

USSPME: Extracción por ultrasonido seguida de microextracción en fase sólida

UV: Ultravioleta

UV 326: 2-ter-butil-6-(5-clorobenzotriazol-2-yl)-4-metilfenol

UV 327: 2,4-diter-butil-6-(5-clorobenzotriazol-2-yl) fenol

UV 328: 2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-metilbutan-2-yl) fenol

UV 329: 2-(benzotriazol-2-yl)-4-(2,4,4-trimetilpenta-2-yl) fenol

UV 360: 2-(benzotriazol-2-yl)-6-[3-(benzotriazol-2-yl)-2-hidroxi-5-(2,4,4-trimetilpenta-2-yl)fenil]metil]-4-(2,4,4- trimetilpenta-2-yl) fenol

UV 571: 2-(benzotriazol-2-yl)-6-dodecil-4-metilfenol

UV-P: 2-(benzotriazol-2-yl)-4-metilfenol

VMSs: Metilsiloxan

1. Introducción

1.1. Contaminantes orgánicos

Históricamente, la contaminación ambiental ha sido un problema que ha afectado a nivel global, siempre ligada al desarrollo de la sociedad. En este sentido, el crecimiento de la metalurgia, que comenzó con la extracción de metales pesados como el plomo hace unos 5000 años, tuvo su mayor auge durante la época del Imperio Romano con la explotación de las minas de plomo, lo que provocó la contaminación del aire, agua y suelo (1). A finales del siglo XII, el rey Eduardo I de Inglaterra prohibió la quema de carbón con el fin de reducir la contaminación atmosférica (2). Sin embargo, en la Revolución Industrial entre finales del siglo XVIII y principios del siglo XIX, las ciudades industrializadas de Europa y de Estados Unidos liberaron contaminantes a través de los residuos de las industrias y fábricas. Además, durante la Revolución Industrial aumentó la introducción de contaminantes en ríos y arroyos (3).

Actualmente, la contaminación se ha incrementado a un nivel alarmante debido al aumento de la población, la industrialización y la urbanización. Todo ello ha dado lugar a la introducción de multitud de contaminantes de diversa índole en las aguas superficiales y subterráneas. Asimismo, las actividades como la minería, la deforestación y los vertederos han provocado la contaminación del suelo (4). Por lo tanto, resulta primordial aplicar medidas que minimicen sus concentraciones ya que todo ello puede provocar a largo plazo la destrucción de los ecosistemas y la extinción de especies (2, 4).

En este punto es importante mencionar que toda sustancia o materia física, química, biológica o radiológica que afecta negativamente al medio ambiente y a la salud humana al hallarse a una concentración superior a la normal se le considera contaminante. Entre ellos destacan los compuestos orgánicos volátiles (COVs), que son emitidos como gases a partir de ciertos sólidos o líquidos, los pesticidas, los compuestos fenólicos o los ftalatos, que contaminan los ríos, lagos, aguas subterráneas y el suelo debido a los vertidos de aguas residuales, entre otros (5, 6).

Atendiendo al conocimiento sobre los efectos en la salud y su persistencia en el medio ambiente, los contaminantes orgánicos se suelen clasificar en dos grandes grupos: los contaminantes orgánicos persistentes (POPs) y los emergentes (EOPs).

1.1.1. Contaminantes orgánicos persistentes

Los POPs son un grupo de compuestos químicos que pueden llegar a tener graves efectos sobre la salud humana y al medio ambiente debido a su elevada estabilidad y persistencia en suelos, sedimentos, aire y biota (7), su gran toxicidad y tendencia a bioacumularse en seres vivos y alterar la

cadena trófica (7), sus efectos mutagénicos, cancerígenos, inmunotóxicos y teratogénicos en los organismos (6), así como su capacidad para ser transportados a largas distancias, apareciendo incluso en regiones remotas como el Ártico (7).

Por todo ello, en 2001 se firmó el Convenio de Estocolmo de los Productos Orgánicos Persistentes Contaminantes, que entró en vigor el 17 de mayo de 2004, cuyo objetivo es proteger la salud humana y el medio ambiente mediante la reducción y la restricción del uso de dichos contaminantes, así como sus emisiones (8). Posteriormente, la Unión Europea decidió establecer un marco común para todos los Estados miembros para cumplir con lo impuesto por el Convenio de Estocolmo acerca de los POPs. El 20 de mayo de 2004 se instauró el Reglamento (CE) n° 850/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre los POPs (9). Tras varias modificaciones de la normativa, en 2019 se estableció el Reglamento (UE) 2019/1021, cuyo fin es proteger la salud humana y el medio ambiente ante los POPs, eliminando de forma progresiva o bien restringiendo la producción, comercialización y el uso de las sustancias recogidas en el Convenio de Estocolmo (10).

El Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente elaboró una lista de 12 POPs que figuran en el Convenio de Estocolmo: las dioxinas policloradas (PCDD), los furanos policlorados (PCDF), el hexaclorobenceno, los bifenilos policlorados (PCB), la aldrina, el clordano, el dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), dieldrina, la endrina, el heptacloro, el mirex y el toxafeno. Además, se han añadido más compuestos considerados como POPs, tales como los compuestos perfluorados (PFAs) y los polibromodifeniléteres (PBDES) (11) (Figura 1). Dichos compuestos provienen de las plantas incineradoras, el uso de plaguicidas, las centrales eléctricas, lixiviación de los vertederos, lodos de depuradora etc. y terminan introduciéndose en los océanos, ríos y arroyos (7).

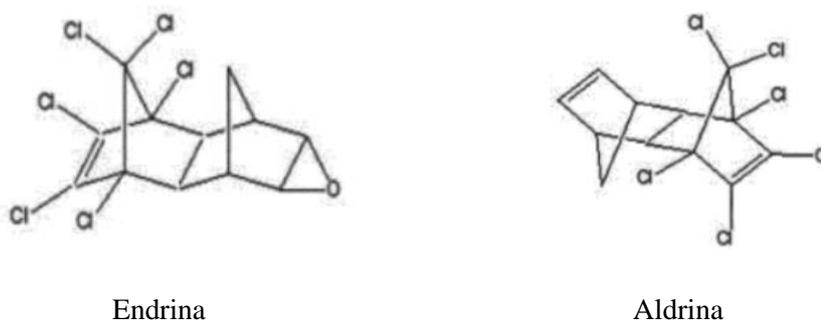
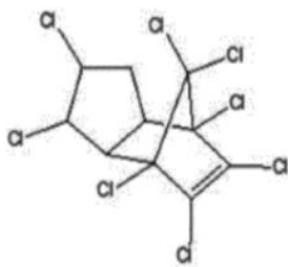
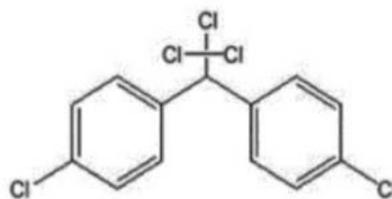


Figura 1. Estructuras químicas de algunos POPs que figuran en el Convenio de Estocolmo (12).



Clordano



DDT

Figura 1. Continuación (12).

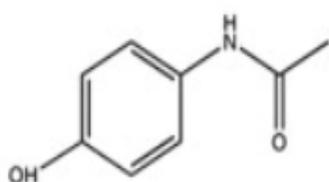
1.1.2. Contaminantes emergentes

A diferencia de los POPs, los EOPs son sustancias de origen antropogénico o natural que se han introducido recientemente a través de una determinada fuente, convirtiéndose en una amenaza percibida, potencial o real tanto para la salud humana como para el medio ambiente por sus efectos toxicológicos adversos. Además, poseen una escasa legislación que controle su presencia en el agua de uso público o en aguas residuales, entre otras (13, 14). El término “emergente” es relativo, pudiendo distinguir entre: 1) contaminantes realmente nuevos, como moléculas recientemente introducidas que aparecen en el medio ambiente, anteriormente desconocidas y que no habían sido reportadas en la bibliografía científica; 2) moléculas que ya existían en el medio ambiente y cuya presencia era conocida pero no los problemas de contaminación reales que podían ocasionar; 3) contaminantes ya considerados como tales sobre los cuáles se ha aportado nueva información que permite mejorar la comprensión de los riesgos sobre el medio ambiente y la salud (1).

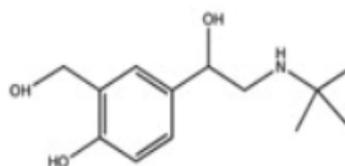
Estos contaminantes pueden ser clasificados en diferentes familias atendiendo al campo de aplicación de los mismos, incluyendo plaguicidas (glifosato, atrazina, etc.), productos de hábito de consumo (p.ej., caféina), productos de cuidado personal (p.ej., filtros UV), plastificantes (ftalatos y adipatos, etc.), surfactantes, retardantes de llama, o fármacos, entre otros (1, 15-17) (Tabla 1) (Figura 2).

Tabla 1. Clasificación general de los contaminantes emergentes (15, 18).

Grupos de contaminantes emergentes	Ejemplos
Productos farmacéuticos	
<i>Antibióticos de uso humano y veterinario</i>	<i>Amoxicilina, trimetoprima, eritromicina, etc.</i>
<i>Analgésicos y antiinflamatorios</i>	<i>Ibuprofeno, paracetamol, diclofenaco, etc.</i>
<i>Drogas ilícitas</i>	<i>Cocaína, anfetaminas, etc.</i>
<i>Reguladores lipídicos</i>	<i>Benzafibrato, ácido clofíbrico, gemfibrozilo, etc.</i>
<i>Hormonas esteroideas</i>	<i>Estradiol, estrona, estriol, testosterona, etc.</i>
<i>Ansiolíticos, antiépilépticos y otros</i>	<i>Diazepam, carbamazepina, salbutamol, etc.</i>
Productos de cuidado personal (PCPs)	
<i>Fragancias</i>	<i>Ftalatos, almizcle macrocíclico, policíclico y nitro, etc.</i>
<i>Filtros UV de cremas solares</i>	<i>Benzofenona, metilbencilideno alcanfor, etc.</i>
Disruptores endocrinos	
<i>Fenoles</i>	<i>Octifenoles, nonilfenoles, etc.</i>
<i>Retardantes de llama, dioxinas, etc.</i>	<i>Hexabromociclododecano (HBCDs), etc.</i>
<i>Pesticidas</i>	<i>Fungicidas (triazoles), herbicidas, insecticidas (neonicotinoides), etc.</i>
<i>Surfactantes y metabolitos surfactantes</i>	<i>Etoxilatos de alquifenol, 4-octifenol, 4-nonilfenol, etc.</i>
Otros contaminantes	<i>Alquilfenoles, metaloides, microplásticos, etc.</i>

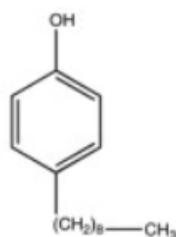


Paracetamol

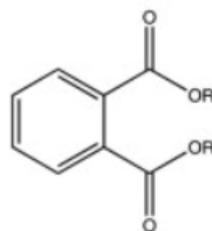


Salbutamol

Figura 2. Estructura de algunos ejemplos de EOPs (16).



Nonilfenol



Ftalatos

Figura 2. Continuación (16).

Por otro lado, a finales de 1900 y a principios del 2000, se establecieron algunos marcos regulatorios, así como la investigación de los EOPs, lo que ha permitido que el Gobierno y la comunidad científica tomara conciencia sobre el impacto de los mismos (19).

Posteriormente, se actualizó la lista de contaminantes no regulados (*Figura 1*) que generan efectos negativos en la salud, así como sus ocurrencias y niveles de exposición mediante la Ley de Agua Potable Segura, USEPA, 1996 (20). Por su parte, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA), modificó su lista de los compuestos con actividad disruptora endocrina que alteraban la cadena de suministro de alimentos y las fuentes de agua potable. Cabe destacar que, en Estados Unidos, existe la Ley de Control de Sustancias Tóxicas (TSCA) y la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) con base a la cual se monitorizan diversos productos químicos que superen o igualen sus concentraciones a 1 ppb en el medio ambiente (19).

La Directiva 2000/60/CE fue la primera normativa de política europea de aguas que definió las sustancias de elevado riesgo que debían priorizarse (21). Con el fin de monitorear y restringir la utilización de EOPs, la Unión Europea instauró en 2006 el organismo de Registro, Evaluación, Autorización y Restricción de Productos Químicos (REACH) (19).

La Directiva 2008/105/CE estableció un grupo de 33 sustancias prioritarias junto a su normativa de calidad ambiental y marcó los límites de los EOPs de los productos cosméticos presentes en las aguas superficiales (22).

Por su parte, la Directiva 2013/39/UE de la Unión Europea apostó por un control y tratamiento de un grupo de 45 sustancias prioritarias (23), teniendo en cuenta la protección de los sistemas acuáticos y la salud humana. En ella se incluyeron tres productos farmacéuticos (el diclofenaco, la hormona 17 α -etinilestradiol (17 α -EE₂) y el 17 β -estradiol (17 β -E₂)) en una lista de vigilancia de 10 sustancias para el seguimiento de la Unión Europea que se establecería en dos años (24).

En la Directiva 2015/495/UE, de 20 de marzo de 2015, se actualizó la lista de observación de sustancias para el seguimiento en la Unión Europea. Entre ellas, se añadieron además de los compuestos nombrados previamente, 3 antibióticos macrólidos (azitromicina, claritromicina y eritromicina), así como la estrona (E₁), algunos plaguicidas, un filtro UV y un antioxidante empleado como aditivo alimentario (24, 25).

Tras varias modificaciones, la normativa vigente sobre los EOPs es el Real Decreto 3/2023, de 10 de enero, cuyo objetivo principal es determinar los criterios técnico-sanitarios de la calidad del agua de consumo, su control y suministro, asegurando y optimizando su acceso, disponibilidad, salubridad y limpieza, con el fin de proteger la salud humana. Para ello, se ha incluido una lista de observación con una serie de disruptores endocrinos, que será aplicada a nivel europeo. Por último, se establecerán evaluaciones de riesgo y programas de control de las aguas superficiales y subterráneas a la hora de identificar los EOPs de la zona (26).

Finalmente, el incremento de estos compuestos en el medio ambiente favoreció la actualización de la normativa para controlar los compuestos peligrosos y optimizar el tratamiento de aguas residuales. Todo ello debe de estar regulado por la Comisión Europea y las autoridades correspondientes de los países europeos (24).

1.2. Problemática medioambiental de los contaminantes emergentes

Actualmente, la presencia de contaminantes emergentes en el medio ambiente ha aumentado notablemente debido al desarrollo de la urbanización, la industrialización y la producción agrícola. Suelen proceder de fuentes diversas como las descargas domésticas, efluentes de hospitales, aguas residuales industriales, la agricultura, la ganadería, la acuicultura y los lixiviados de los vertederos. Entre ellos, los efluentes de aguas residuales son los que más contribuyen a la introducción de estos compuestos en las aguas ya que las estaciones depuradoras generalmente llevan a cabo tratamientos convencionales que impiden su completa eliminación (15, 27).

En las últimas dos décadas, la presencia de estos contaminantes en el medio ambiente se ha convertido en una problemática a nivel mundial debido a que muchos de ellos han demostrado actuar como disruptores endocrinos, teniendo efectos carcinógenos, mutágenos, generando genotoxicidad e inmunotoxicidad y repercutiendo negativamente en la salud humana y los ecosistemas (28). Además, son capaces de modificar el equilibrio hormonal del sistema endocrino de los organismos, pudiendo generar problemáticas a nivel neurológico y reproductivo en los seres vivos, dando lugar a efectos adversos en la gestación y en las primeras etapas de la vida. La persistencia de ciertos contaminantes emergentes tales como el ibuprofeno, ciclofosfamida o pentaclorofenol, puede prolongarse incluso más de un año, dando lugar a una bioacumulación en los organismos (29).

Uno de los grupos más relevantes de contaminantes emergentes son los productos farmacéuticos y de cuidado personal empleados en medicamentos, cosméticos y fragancias. Se consideran compuestos tóxicos que se hallan en las aguas superficiales a bajas concentraciones. Sin embargo, una exposición prolongada a los mismos puede dar lugar a diversos problemas de salud, incluyendo diversos desórdenes hormonales, pudiendo llegar a afectar a la reproducción de las especies, o incluso generando resistencia bacteriana a los antibióticos (30, 31).

Se ha constatado que se generan más de 50.000 productos farmacéuticos y de cuidado personal diferentes y que se consumen unos 30 millones de toneladas a nivel mundial (31). La mayoría se introducen en el medio acuático mediante la escorrentía agrícola, la acuicultura y las industrias de productos farmacéuticos y de cuidado personal, aunque también pueden proceder de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, siendo complicada su eliminación dado que estos compuestos son persistentes, polares y tolerantes a la biodegradación (31-34). La presencia de bajas cantidades de productos farmacéuticos y de cuidado personal de los lodos de aguas residuales y los efluentes contaminan el suelo con actividades como el riego, los fertilizantes de lodos y las aplicaciones de biosólidos (35).

Los productos farmacéuticos activos presentan una elevada toxicidad para la fauna marina (peces, invertebrados y algas) debido a su capacidad para bioacumularse, dando lugar a procesos de biomagnificación. Estos compuestos actúan también como disruptores endocrinos, causando efectos similares a los descritos para las anteriores familias de contaminantes descritas (35, 36). Entre ellos destacan los antibióticos que están presentes en los ecosistemas acuáticos por su elevado consumo e inadecuada gestión. Además, no se metabolizan de forma completa en el organismo, se expulsan en las aguas residuales, lagos y ríos a través de los efluentes industriales y resultan difíciles de degradar (36).

1.3. Adsorción de los contaminantes emergentes en la arena

Las playas se ven constantemente afectadas por actividades antropogénicas como el turismo, la construcción de diversas infraestructuras y puertos, que dan lugar a la liberación de una serie de contaminantes emergentes al medio marino como consecuencia de las actividades recreativas acuáticas, las plantas de tratamiento de aguas residuales y el transporte marítimo, resultando difíciles de degradar en el agua, los sedimentos y biopelículas (37-39). Estos efectos son especialmente notables en playas de arena, donde la presión antropogénica es notablemente más elevada que en otras zonas costeras.

Las propiedades fisicoquímicas (solubilidad en agua, coeficiente de reparto octanol/agua ($\log K_{ow}$), distribución sólido-líquido, presión de vapor, polaridad) de estos contaminantes y las condiciones ambientales como el pH, contenido de materia orgánica, etc., favorecen su presencia en diferentes compartimentos ambientales (37, 38). En este sentido, es importante destacar la capacidad de sorción de estos compuestos en los sedimentos, que varía según las interacciones entre la materia orgánica y los

centros hidrofóbicos de las moléculas, así como por la solubilidad, grupos funcionales y por el sorbente con el que interactúan (sólidos en suspensión, sedimentos y biodiversidad en el medio marino) (37). Determinados contaminantes emergentes como los retardantes de llama se trasladan a distancias considerables, generando una distribución global, si bien también tienden a bioacumularse en las redes tróficas acuáticas (37-39).

La adsorción es un proceso clave que determina la ubicación y movilidad de los productos farmacéuticos y de cuidado personal en los suelos, así como diversas propiedades de los suelos tales como el pH, la materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico del suelo y la textura, los factores ambientales y la dinámica de interacción. La adsorción de los productos farmacéuticos y de cuidado personal en la matriz del suelo afecta a su movilidad, degradación, biodisponibilidad y ecotoxicidad (40, 41). En lo que respecta a la arena, la desorción de estos compuestos es mínima, indicando que disminuye la movilidad en este sedimento (42). Según los valores de pKa de los productos farmacéuticos y de cuidado personal y del pH del medio, estos compuestos pueden aparecer en forma no iónica, aniónica, catiónica o zwitteriónicas individualmente o simultáneamente. La adsorción de moléculas no iónicas depende de la partición hidrofóbica, así como de la materia orgánica del suelo mediante interacciones débiles de tipo Van der Waals y donante-aceptor de electrones. Los compuestos iónicos interactúan con los suelos mediante interacciones electrostáticas (42).

En este sentido es posible distinguir entre diferentes mecanismos de adsorción: la fisisorción, que implica las fuerzas electrostáticas, los enlaces de hidrógeno, las fuerzas de Van der Waals y las interacciones hidrofóbicas; y la quimisorción, que conlleva una serie de interacciones químicas con intercambio de electrones entre los productos farmacéuticos y de cuidado personal y los adsorbentes, tales como los minerales (41). Los productos farmacéuticos y de cuidado personal poseen distintos grados de hidrofobicidad. Los compuestos hidrofóbicos se adsorben en los sólidos del suelo, sobre todo en la zona hidrofóbica de la matriz del suelo, como, por ejemplo, las moléculas de antibióticos como la sulfonamida, que presentan una mayor hidrofobicidad y, por tanto, una mayor retención en los suelos (43).

El transporte de los productos farmacéuticos y de cuidado personal hidrofóbicos se puede efectuar de forma sencilla mediante la formación de coloides o con la materia orgánica disuelta. Estos compuestos poseen una gran polaridad, por lo que se pueden emplear para determinar la adsorción de contaminantes orgánicos no iónicos en el suelo. Determinados productos farmacéuticos y de cuidado personal se pueden cargar de forma parcial en el suelo como especies catiónicas y aniónicas dependiendo del grado de protonación o desprotonación, que cambia según el pH de la disolución. Las especies catiónicas de productos farmacéuticos y de cuidado personal poseen una mayor adsorción en la matriz del suelo a diferencia de las aniónicas ya que la mayoría de la superficie del suelo está cargada

negativamente. Por lo tanto, el intercambio catiónico desempeña un papel primordial en el proceso de sorción (41).

Los filtros UV orgánicos son productos de cuidado personal empleados en cosméticos, cremas solares y maquillaje, cuyo fin es proteger la piel frente a los efectos perjudiciales de la radiación solar (quemaduras, el fotoenvejecimiento y la prevención del cáncer de piel), de entre los que destacan los derivados de benzofenona, alcanfor y cinamato, que modifican la conformación de las proteínas, alteran el sistema inmunológico y endocrino, considerándose cancerígenos (44-46). Estos compuestos son persistentes, bioactivos y se bioacumulan en el medio ambiente. A su vez, se depositan en la arena por la aplicación de los protectores solares en la playa. Presentan una baja solubilidad y un alto coeficiente de partición octanol-agua ($K_{ow} > 3$, a excepción de ciertos derivados de benzofenona que son hidrofílicos). Gracias a su carácter hidrofóbico, son capaces de adsorberse y acumularse en sólidos en suspensión, en partículas como la arena y los sedimentos, así como en el agua de mar, ríos, lagos y organismos. Se pueden transportar mediante el oleaje y las corrientes marinas hasta alcanzar zonas del Ártico o bien áreas costeras protegidas (37, 38, 44, 47, 48). Por lo tanto, los sedimentos como la arena acumulan cantidades importantes de estos contaminantes, convirtiéndose en una grave amenaza para los ecosistemas marinos (49). Se ha demostrado que los filtros UV como el 4-metilbencilideno-alcanfor (4-MBC), octildimetil-p-aminobenzoico (ODP) y butil-metoxi-dibenzoilmetano (BM-DBM) poseen una afinidad de adsorción de moderada a fuerte en sistemas sedimento-agua. Se confirmó que la adsorción resulta eficaz para eliminar los filtros UV de los medios acuáticos y de las plantas de tratamiento de aguas residuales (50). La distribución de los contaminantes como los filtros UV en los sedimentos costeros depende de procesos como la hidrología y la composición de los sedimentos, la biotransformación, las cargas de contaminantes, etc. En ocasiones se introducen de nuevo en el agua, dando lugar a una contaminación de la misma por parte de los sedimentos. Los factores que influyen en este proceso son: la solubilidad, la textura y el contenido de carbono orgánico del sedimento (38).

Algunos de los disruptores endocrinos ambientales más comunes son las hormonas como la E_1 , el 17β - E_2 , o el 17α -EE₂ (51). Para poder estudiar los factores de exposición ambiental y los posibles riesgos, se debe conocer el destino de los disruptores endocrinos en los suelos y sedimentos. Estos compuestos son hidrofóbicos y tienden a acumularse en el suelo y los sedimentos. Su ubicación final y biodisponibilidad está influenciada por las interacciones en las interfases sólido-agua en lodos, suelos o sedimentos. Se ha demostrado que los procesos de adsorción/desorción dependen de las propiedades del suelo como el tamaño de las partículas, el área específica, la capacidad de intercambio catiónico, los minerales y la materia orgánica. Entre ellos, los factores primordiales son la materia orgánica, la capacidad de adsorción, la no linealidad y la histéresis de desorción (51). El comportamiento de estos disruptores endocrinos viene marcado por el proceso de adsorción en los suelos o sedimentos. Los coeficientes de distribución (K_d) de los disruptores endocrinos están vinculados con el carbono orgánico. Por lo tanto, las partículas finas de los suelos y sedimentos son más relevantes que las gruesas

en los procesos de sorción y transporte de los disruptores endocrinos puesto que su materia orgánica del suelo es más abundante, humidificada e hidrofóbica (52).

1.4. Metodologías para la determinación de contaminantes emergentes en la arena

Los contaminantes emergentes como los filtros UV orgánicos presentes en muestras ambientales se han convertido en un punto de interés analítico (53, 54). Estos compuestos poseen un carácter lipofílico e hidrofóbico, acumulándose en muestras sólidas como suelos, sedimentos, arena costera, lodos de depuradoras o polvo (55). Diversos estudios han constatado que los filtros UV y los disruptores endocrinos a niveles traza pueden afectar a la reproducción de los peces y provocar malformaciones (56). Cabe destacar que los artículos relacionados con estos compuestos son limitados, por lo que resulta primordial establecer un control y un seguimiento de la presencia, exposición, persistencia, así como los tipos y cantidades de los mismos ya que repercuten negativamente en los seres vivos. Por ello, se han instaurado una serie de métodos analíticos para determinar estos contaminantes emergentes e identificar su bioacumulación en los ecosistemas (53, 57).

La mayoría de los estudios realizados para la determinación de contaminantes emergentes se basan en el análisis de muestras de agua (58, 59) puesto que proliferan principalmente en las aguas residuales, superficiales y subterráneas, extendiéndose hasta regiones lejanas del Ártico (60). En el caso de las muestras sólidas los estudios son más escasos (Tabla 2), destacando la determinación de estos compuestos en sedimentos de ríos y lagos (57, 54), sedimentos costeros como la arena (44, 61) o lodos de depuradora (56, 63). La determinación de dichos compuestos resulta compleja debido a su amplia variedad de estructuras químicas y propiedades fisicoquímicas, su labilidad térmica, sus bajas concentraciones en el medio ambiente, así como por su interacción con numerosas matrices ambientales sólidas complejas (64, 60).

La etapa de preparación de la muestra es fundamental para realizar los análisis ambientales en las matrices sólidas ya que son complejas y poseen interacciones analito-matriz fuertes. Por lo general, se trata de que esta etapa permita llevar a cabo de manera simultánea la preconcentración de los analitos, así como una limpieza de la muestra con el fin de conseguir una elevada concentración de los analitos, disminuir las interferencias y el efecto matriz. Es muy importante seleccionar un método óptimo de preparación de muestra, sobre todo si se pretenden analizar numerosos compuestos de manera simultánea, abarcando desde los altamente lipofílicos hasta los moderadamente polares, o bien, aquellos que muestran propiedades básicas, ácidas o neutras (64, 53).

Es posible encontrar una amplia variedad de metodologías analíticas alineadas con los principios de la Química Analítica Verde (GAC) que utilizan técnicas de extracción avanzadas (65) para la extracción de contaminantes orgánicos emergentes de muestras de arena, tales como la

extracción líquida presurizada (PLE) (48), que emplea un sistema de extracción automática, un escaso volumen de disolvente e incrementa la rapidez de la extracción de estos compuestos (65), la extracción asistida por microondas (MAE) (66), extracción asistida por ultrasonidos (UAE) (67) y el método QuEChERS (45) que se aplica a una amplia gama de muestras y analitos. Algunos de estos métodos son capaces de miniaturizarse, disminuyendo la cantidad de muestra, reactivos, disolventes y la producción de residuos (64). También se han incluido técnicas de microextracción tales como la microextracción en fase sólida (SPME) (61, 44) o la microextracción por sorción con barras agitadoras (SBSE) (53), que son idóneas para la determinación de contaminantes emergentes en muestras sólidas ambientales.

La SPME se presenta como una alternativa muy interesante en este campo, ya que es apta para muestras sólidas a la hora de extraer filtros UV, compuestos como diclorobencenos, almizcles, retardantes de llama y piretroides. Se trata de una metodología más sostenible ya que reduce notablemente el uso de disolventes orgánicos, consigue un elevado factor de concentración, necesita tiempos de extracción cortos y se acopla automáticamente, aportando un gran rendimiento a las muestras (44). A su vez, incluye en un paso único la extracción y la preconcentración de la muestra, logrando unos niveles bajos de LOD a diferencia de otros métodos (67).

La determinación de los contaminantes orgánicos emergentes se lleva a cabo generalmente empleando la cromatografía de líquidos (LC) o la cromatografía de gases (GC) acopladas a diferentes sistemas de detección, siendo la espectrometría de masas (MS) la más utilizada (47). Recientemente, se ha propuesto el uso de biosensores que permitan analizar e identificar los contaminantes emergentes y fomenten su análisis. Tras su detección, se podría realizar un proceso de biorremediación con el fin de transformar estos contaminantes tóxicos en productos inocuos (28).

Como ejemplo de lo descrito anteriormente, Vila et al. (44) analizaron simultáneamente 11 filtros UV (derivados de benzofenona, derivados del ácido p-aminobenzoico, salicilatos, cinamatos y derivados del alcanfor) en la arena de playas de la costa de Galicia y Portugal, Islas Canarias y las playas de la isla de Mallorca. Las muestras de arena (1 g) se introdujeron en un vial donde se añadió 1 mL de agua Milli-Q, aplicando la SPME de espacio en cabeza durante 20 min a 100 °C, empleando polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB) como recubrimiento de fibra. Se efectuaron estudios de recuperaciones a tres niveles de concentración de las muestras de arena. La determinación de los analitos se llevó a cabo mediante GC-MS. Los límites de detección (LODs) del método se hallaban entre los 0,001 y los 0,09 ng/g para todos los analitos y los valores de recuperación fueron mayores al 85%. Los filtros UV más abundantes fueron el salicilato de etilhexilo (EHS), homosalato (HS), alcanfor de 4-metilbencilideno (4-MBC), metoxicinamato de 2-etilhexilo (1-EHMC) y octicrileno (OC), que rozaron concentraciones de 670 ng/g. También merece la pena mencionar el estudio realizado por Montesdeoca-Esponda et al. (66), en el que se determinaron 7 estabilizadores UV benzotriazoles (BUVs): UV-P, UV 329, UV 326, UV 328, UV 327, UV 571 y UV 360 en la arena de 3 playas turísticas

de la isla de Gran Canaria. Las muestras de arena (1g) se depositaron en un recipiente, añadiendo 2 mL de ACN. Posteriormente, se sometieron a una extracción asistida por microondas (MAE) durante 5 min a 300 W. La determinación de los analitos se llevó a cabo mediante una etapa de limpieza y preconcentración SPE en línea unido a cromatografía líquida de ultra alta definición (UHPLC) con detección MS/MS. Los límites de detección (LODs) alcanzaron los 53,3-146 ng/kg y los límites de cuantificación (LOQ) rozaron los 176-486 ng/kg. Las recuperaciones oscilaron entre 50,1% y 87,1%. La concentración de los filtros UV-328 y UV-360 en las muestras de arena fue de 0,18-24,0 ng/g.

Tabla 2. Resumen de estudios previos acerca de la determinación de contaminantes emergentes en arena de playa.

Analitos	Cantidad/ Tipos de contaminantes emergentes	Ubicación y tipo de muestra	Tratamiento de la muestra	Técnica	Referencia
EHS, HS, 4-MBC, 2-EHMC y OC	11 clases de filtros UV	Galicia, Portugal y Palma de Mallorca (arena de playa)	Cantidad: 1 g Extracción: 1 mL de agua, SPME 20 min a 100 °C, con una fibra de PDMS/DVB.	GC-MS/MS	(44)
D3, D4, D5, D6, L3, L4, L5, IMC, BZ, ES, HS, 4-MBC, EMC, BP3 Y OC, EC, MA, ODP	7 VMSS y 11 filtros UV	Portugal (arena de playa)	Cantidad: 5 g Extracción: (VMSS): 3 mL hexano, 3 min de vórtex y 10 min ultrasónicos. QuEChERS: vórtex 3 min, centrifugación (3700 rpm, 10 min). Filtros UV: Cantidad: 1 g Extracción: 1 mL agua Milli-Q y 1 g NaCl, SPME a 100 °C 20 min.	GC-MS	(45)
Fragancias, filtros UV, repelentes, disruptores endocrinos, biosidas, PAHs, PCBs, retardantes de llama y diversos tipos de pesticidas	97 contaminantes emergentes	Huelva, Cádiz y Almería (sedimentos marinos)	Cantidad: 2 g de sedimentos y 1,5 g de agentes dispersantes Extracción: Diclorometano a 100 °C, 1500 psi y 3 ciclos de extracción (5 min), PLE y limpieza de celda (1 g alúmina).	GC-MS	(48)

EHS: Salicilato de etilhexilo; **HS:** homosalato; **4-MBC:** 4-metilbencilideno-alcánfor; **2-EHMC:** Octileno; **OC:** Octileno; **(D3, D4, D5, D6):** Metilsiloxano cíclico; **(L3, L4, L5):** Metilsiloxano lineal; **IMC:** Isoamil 4-metoxinamato; **BZ:** Bencil salicilato; **ES:** 2-etilhexil salicilato; **EMC:** 2-etilhexil 4-metoxinamato, **BP3:** Benzofenona 3; **EC:** Etoerileno; **MA:** Metil antranilato; **ODP:** octildimetil p ácido-aminobenzoico. **PDMS/DVB:** polidimetilsiloxano/divinilbenceno; **VMSS:** metilsiloxano; **SPME:** microextracción en fase sólida; **PLE:** extracción líquida presurizada; **GC-MS:** cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas; **GC-MS/MS:** cromatografía de gases en tándem.

Tabla 2. Continuación.

Análitos	Cantidad/ Tipos de contaminantes emergentes	Ubicación y tipo de muestra	Tratamiento de la muestra	Técnica	Referencia
ES, HS, IMC, 4-MBC, BZ, EMC, EDP, OC	8 clases de filtros UV	Valencia y Gran Canaria (arena de playa)	Cantidad: 10 g Extracción: 5 mL acetona, vórtex 20 s, centrifugación a 5000 rpm, 10 min y DLLME	GC-MS	(61)
UV-P, UV 329, UV 326, UV 328, UV 327, UV 571 y UV 360	7 BUVS	Gran Canaria (arena de playa)	Cantidad: 1 g Extracción: 2 mL ACN, MAE 5 min a 300 W	SPE en línea y UHPLC-MS/MS	(66)
EHS, BS, HS, IAMC, BP3, 4-MBC, MA, EC, EHPABA, 2-EHMC Y OC	11 filtros UV	Galicia y Portugal (arena de playa)	Cantidad: 1 g Extracción: (USSPME y vórtex): 1 mL EtAc, 5 min. Lixiviación: 2 mL de muestra y elución con EtAc hasta 1 mL. USSPME 1 mL de MeOH 5 min, Dilución de 0,5 mL de extracto hasta los 5 mL	GC-MS/MS	(67)

ES: 2-etilhexil salicilato; HS: homosalato; IMC: isoamil 4-metoxicinamato; 4-MBC: 4-metilbencilideno-alcánfor; BZ: bencil salicilato; EMC: 2-etilhexil 4-metoxicinamato; EDP: 2-Etilhexil-4-dimetilaminobenzoato; OC: Octicrileno; UV-P: 2-(benzotriazol-2-yl)-4-metilfenol; UV 329: 2-(benzotriazol-2-yl)-4-(2,4,4-trimetilpenta-2-yl) fenol; UV 326: 2-ter-Butil-6-(5-clorobenzotriazol-2-yl)-4-metilfenol; UV 328: 2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-metilbutan-2-yl) fenol; UV 327: 2,4-diter-butil-6-(5-clorobenzotriazol-2-yl) fenol; UV 571: 2-(Benzotriazol-2-yl)-6-dodecil-4-metilfenol; EHS: Salicilato de etilhexilo; BS: bencil salicilato; IAMC: Isoamil metoxicinamato; BP3: benzofenona 3; MA: metil antranilato; EC: Etocrileno; EHPABA: etilhexil dimetil-p-aminobenzoico; 2-EHMC: metoxicinamato; ACN: acetonitrilo; DLLME: microextracción en fase sólida dispersiva; MAE: extracción asistida por microondas; USSPME: extracción ultrasónica seguida de microextracción en fase sólida; EtAc: acetato de etilo; GC-MS: cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas; GC-MS/MS: cromatografía de gases en tándem; SPE en línea: extracción en fase sólida en línea; UHPLC-MS/MS: cromatografía líquida o de ultra alta resolución en tándem.

1.4.1. Método QuEChERS

El método QuEChERS, denominado así por sus siglas en inglés, quick (rápido), easy (fácil), cheap (barato), effective (efectivo), rugged (robusto) y safe (seguro), fue introducido por Anastassiades et al. (68) en el año 2003. Se caracteriza por presentar una elevada efectividad y robustez para llevar a cabo la extracción de una amplia variedad de analitos (drogas, aminor, polifenoles,), así como el de residuos de plaguicidas. Este método ha demostrado poseer una gran versatilidad, mostrando una gran efectividad en diversas matrices sólidas y líquidas tales como alimentos, productos farmacéuticos, muestras ambientales, fluidos biológicos, micotoxinas e hidrocarburos aromáticos policíclicos (69). A diferencia de otras técnicas como la extracción en fase sólida (SPE) y líquida (LLE), se trata de un procedimiento rápido ya que tan solo requiere de dos etapas en la preparación de la muestra. Su gran rendimiento le permite extraer lotes de 10-20 muestras en 30-40 minutos y se caracteriza por un bajo consumo de disolventes (69-71). Destaca por sus recuperaciones notablemente elevadas con numerosos analitos, así como por sus resultados precisos, gracias a la utilización de un patrón interno capaz de reducir los errores en las diferentes etapas (72). En la actualidad, existen tres métodos estándar avalados por organismos reguladores internacionales como el Comité Europeo y la AOAC de Estados Unidos que utilizan el método QuEChERS: el QuEChERS original (no tamponado), QuEChERS AOAC 2007.01 (tampón de acetato) y el QuEChERS EN 15662 (tampón de citrato). Este procedimiento lo realizó en sus inicios el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (FDA), con el fin de determinar plaguicidas en vegetales, siendo avalado por la Asociación Oficial de Químicos Analíticos, AOAC (AOAC 2007.01) y en Europa a través de la norma EN 156624 (73-75). Las etapas de dichos métodos son comunes: primero se lleva a cabo una extracción líquido-líquido o sólido-líquido en una fase orgánica, empleando acetonitrilo y diferentes sales para la separación líquido-líquido. Seguidamente, se procede a la agitación, centrifugación y extracción de una alícuota del extracto orgánico en el que se realiza una segunda etapa de extracción en fase sólida dispersiva (d-SPE) usando diversos tipos de sorbentes que facilitarán la eliminación de diversos componentes de la muestra. A su vez, se realiza una limpieza o *clean up*, donde se añade una mezcla de sulfato de magnesio y un sorbente, que puede ser una amina primaria y secundaria (PSA), octadecilsilano (C₁₈), carbón negro grafitizado (GCB), o una combinación de ambos, dependiendo de la muestra analizada. Finalmente, se procede a su análisis mediante un cromatógrafo de gases o de líquidos (76).

La eficacia del método está limitada por los disolventes seleccionados y los sorbentes ya que las interferencias en la matriz, así como las sustancias co-extraídas influyen en la precisión y la fiabilidad del análisis. Por ello, se procedió a su optimización a través del estudio de los siguientes factores: el tamaño de partícula de la muestra, composición de la muestra (pH y cantidad de componentes de la matriz), disolventes de extracción, cantidad de muestra y relación muestra/disolvente, tiempo de agitación, adición de un disolvente y/o sales, tiempo de extracción y sorbentes de limpieza. A su vez, se establecieron las condiciones finales con el fin de aumentar la

simplicidad, aplicabilidad, rapidez, selectividad y recuperación de los analitos. Se tuvieron en cuenta la cantidad de material co-extraído, el agua y la coloración del extracto, las recuperaciones y los efectos matriz (77, 78).

Por otro lado, cabe destacar que la trituración de las muestras es fundamental para que sean representativas, no se produzcan pérdidas de los analitos y se consigan unos resultados significativos (68).

1.4.1.1. Modificaciones del método QuEChERS

1.4.1.2. Ajuste del pH

Debido a la gran flexibilidad del método, se introdujeron una serie de modificaciones respecto al tamaño de la muestra, los disolventes, sorbentes o bien la combinación con otros procedimientos (79) (Figura 3).



Figura 3. Esquema de las modificaciones más relevantes del Método QuEChERS original (78).

Las primeras modificaciones se aplicaron debido a que ciertos plaguicidas se ionizan o degradan en el proceso de extracción según el pH de la matriz. Por lo tanto, los analitos no son capaces de pasar a la fase orgánica o bien se degradan al empezar la LLE, dando lugar a una baja recuperación. Por ello, se han aplicado etapas de extracción/partición controladas por el pH (78).

Posteriormente, se desarrollaron dos métodos oficiales basados en el uso de un tampón de citrato (pH 5,5) con una capacidad reguladora relativamente baja (Método Estándar CEN EN 15662, fundado por Anastassiades y sus colaboradores (80) y con acetato (pH 4,75) a una concentración más elevada, para aportar una mayor fuerza amortiguadora (Método Oficial 2007.01 de la AOAC, instaurado

por Lehotay (81). Ambos se caracterizan por alcanzar un pH cercano a 5, que impide extraer correctamente los plaguicidas sensibles en condiciones ácidas o básicas como el folpet o pimetrozina en cualquier matriz. Cabe destacar que la utilización de tampones no es apta para determinadas matrices que poseen un elevado contenido en lípidos, puesto que la cantidad de material coextraído se incrementa a causa de la baja capacidad de la PSA para retenerlos a ese pH (74). Por último, se incluyó la precipitación a baja temperatura para las matrices grasas de alimentos (82) y el uso de la hidrólisis alcalina durante el análisis de plaguicidas ácidos (76).

1.4.1.3. Disolventes de extracción

Los disolventes más habituales a la hora de efectuar las extracciones son la acetona, el acetato de etilo (EtAc) y el acetonitrilo (ACN) (83, 84).

Entre ellos el más adecuado es el ACN puesto que facilita la extracción de analitos polares, presenta una gran selectividad, detectabilidad y es apto para el análisis con cromatografía de gases y líquidos acoplada a espectrometría de masas (85). Cuenta con una serie de ventajas como un bajo coste y toxicidad, menor volatilidad, una sencilla evaporación y una completa miscibilidad en el agua. Extrae una menor cantidad de la matriz y da como resultado un cromatograma más limpio a diferencia de otros disolventes (86). Es capaz de separarse fácilmente de la fase acuosa añadiendo determinadas sales y no extrae demasiado material lipofílico de las muestras en comparación con la acetona y el EtAc. Asimismo, la acetona y el ACN son aptos para la etapa de dSPE. En el caso del EtAc, es más adecuado para métodos cromatográficos de permeación en gel (GPC) (84, 87, 88).

1.4.1.4. Sorbentes de extracción de la d-SPE

La complejidad de las muestras y analitos analizados ha precisado la adición o combinación de diversos sorbentes con el fin de optimizar el rendimiento de la limpieza del extracto de ACN a través de d-SPE. A su vez, permiten la eliminación de lípidos co-extraídos durante el análisis de productos grasos y poseen mecanismos de retención que disminuyen el efecto matriz. Los más habituales en la limpieza d-SPE o *clean up* son: el carbón negro grafitizado (GCB) que genera la pérdida de compuestos lipofílicos (89-92) el C₁₈ que elimina los lípidos y esteroides, así como el PSA para extraer los ácidos orgánicos. También está la mezcla de C₁₈ junto al PSA, capaz de eliminar los compuestos co-extraídos de las matrices lipídicas, obteniendo así extractos más limpios. Se suelen emplear previo al análisis de plaguicidas de productos vegetales grasos a través de la aplicación de GC-MS/MS o LC-MS/MS (82, 93).

Otras alternativas sobresalientes de sorbentes son los basados en el óxido de circonio como el Z-sep (sílice unida a ZrO₂) y Z-Sep⁺ (ZrO₂ y C₁₈ con doble enlace a sílice), óptimos para eliminar grasas y pigmentos, el Florisil® para compuestos no polares o con baja polaridad, la tierra de diatomeas,

grafeno modificado, entre otros. De esta forma, se logran extraer numerosos plaguicidas de diversos alimentos y matrices. Cabe destacar que dichos sorbentes optimizan la limpieza de la matriz a diferencia del PSA, C₁₈ y el GCB, sin embargo, dan lugar a un aumento de la pérdida de los analitos, sobre todo de compuestos que poseen hidroxilo y ácido carboxílico. A su vez, destaca el sorbente Enhanced Matrix Removal-Lipid (eliminación mejorada de la matriz, EMR), capaz de eliminar los lípidos más característicos de la matriz de la muestra impidiendo las posibles pérdidas de analito. Además, realiza una exclusión de tamaño, así como interacciones hidrofóbicas (79, 92, 93).

El nuevo sorbente (EMR) resulta adecuado para la eliminación altamente selectiva de lípidos sin retención no deseada de analitos. Se ha demostrado que la extracción seguida de EMR d-SPE presenta una serie de ventajas tales como una preparación de muestras rápida, efectiva y robusta. Así se elimina la matriz completamente y se efectúa el análisis de numerosos residuos de pesticidas mediante GC-MS/MS y LC-MS/MS. El rendimiento de este sorbente ha sido efectivo en muestras representativas con un elevado contenido en lípidos. Además, se consiguió una limpieza adecuada y unos resultados más precisos a diferencia de otros procedimientos alternativos relacionados con el método QuEChERS (94).

Resulta primordial estudiar la eficiencia del sorbente más óptimo, puesto que los compuestos coextraídos pueden afectar o disminuir la señal analítica si se contrasta con la del estándar basado en solventes. Las matrices grasas son complejas y generan inconvenientes si el sorbente empleado no limpia de forma eficaz los extractos y elimina los co-eluyentes (93).

1.4.1.5. Adición de sales

Respecto a las sales más utilizadas en la versión original y de citrato del método QuEChERS destacaron el MgSO₄ y el NaCl en proporción 2:1 o 4:1 (MgSO₄:NaCl, p/p). En la de citrato se incluyó el citrato de sodio tribásico dihidratado (C₆H₅Na₃O₇·2H₂O, SCTD) y el citrato de sodio dibásico sesquihidratado (C₆H₆Na₂O₇·1,5 H₂O, SCDS) en una proporción de 2:1 (p/p). A su vez, en la versión de acetato se utilizaron el MgSO₄ y el acetato de sodio (NaOAc) en una proporción 6:1,5 (p/p) (75).

Se ha constatado que la adición de sales favorece la separación adecuada de las fases e influye en la extracción de los analitos (95). Por ello se estudió dicho efecto, probando con diversas sales tales como el MgSO₄, Na₂SO₄, acetato amonio con NaCl, ácido acético, SCTD, SCDS. Entre ellas, la combinación más típica en la etapa de extracción es el MgSO₄ y el NaCl, donde el NaCl promueve el efecto salting-out mientras que el MgSO₄ da lugar a un aumento de la temperatura de la disolución al hidratarse promoviendo la extracción (74, 75). Tanto el MgSO₄ como el NaCl permiten la separación de las fases del extracto de ACN en la fase acuosa y resultan idóneos para mejorar las recuperaciones de los plaguicidas polares. Además, la combinación de estas sales, así como la adición de cantidades adecuadas de las mismas serán útiles para verificar el porcentaje de agua en la fase orgánica, facilitando

el ajuste en la polaridad de fases **(68, 96, 97)**. Sin embargo, estas sales presentan una presión de vapor muy baja y se suelen depositar en forma de sólidos en la superficie de la fuente del equipo de MS, generando un menor rendimiento y problemas de mantenimiento. En el cromatógrafo de gases las sales suelen acumularse en el liner, siendo necesario cambiarlo con mayor frecuencia. Como alternativa, se introdujeron las sales de amonio ya que son más volátiles, se descomponen de forma sencilla en la cámara de ionización y son compatibles con la detección de MS tales como NH_4Cl o el acetato amónico **(98, 99)**.

2. Objetivos

El incremento de las actividades antropogénicas ha dado lugar a la aparición de contaminantes emergentes en los ecosistemas, generando efectos negativos en la salud humana y en el medio ambiente, ya que, en general, estos tienden a bioacumularse en los organismos, se comportan como disruptores endocrinos y pueden presentar toxicidad a diferentes niveles. Son introducidos en el medio ambiente, en particular, en el medio marino, principalmente a través de las estaciones depuradoras de aguas residuales (EDARs), entre otros. Tanto los sedimentos como la arena son grandes sumideros de estos compuestos debido a que se adsorben en su superficie, lo que ralentiza su degradación.

Las metodologías analíticas empleadas para la determinación de los contaminantes emergentes en arena de playa suelen ser tediosas y precisan de notables cantidades de disolventes orgánicos. Además, con frecuencia se produce un efecto matriz importante que dificulta su cuantificación, de ahí que sea primordial el desarrollo de metodologías analíticas adecuadas, perfectamente validadas y que tengan en cuenta dicho efecto matriz.

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Máster es el desarrollo de una metodología analítica basada en la aplicación del método QuEChERS, que permita la determinación y cuantificación simultánea de 16 contaminantes emergentes en arena de diversas playas de Tenerife. Además de lo anterior, también se han propuesto una serie de objetivos secundarios:

- ❖ Realizar una búsqueda bibliográfica de estudios relativos a la determinación de contaminantes emergentes presentes en arena de playa, sus problemáticas medioambientales y sus procesos de adsorción.
- ❖ Utilizar un equipo de UHPLC-MS/MS para llevar a cabo la determinación de un conjunto de contaminantes emergentes entre los que se incluyen diversos fenoles, filtros UV, productos farmacéuticos y hormonas.
- ❖ Optimizar las condiciones de extracción de los contaminantes emergentes con el fin de obtener altas recuperaciones.
- ❖ Validar la metodología analítica mediante los correspondientes estudios de precisión, calibración, veracidad y efecto matriz.

3. Parte experimental

3.1. Patrones, disolventes, reactivos y disoluciones

- Acetonitrilo para HPLC Ultra LC-MS (VWR International, $\geq 99,95\%$).
- Agua Milli-Q (conductividad de $18 \mu\text{S}/\text{cm}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$), obtenida de un equipo Purelab Ftex Elga.
- Bondesil- C_{18} (Agilent Technologies), CAS: 112926-00-8.
- Disolución de los estándares internos (ISs) ($17\text{-}\alpha\text{-etinilestradiol-d}_4$; carbamezapina- d_{10} ; bisfenol A- d_{16}) de $1 \text{ mg}/\text{L}$ en MeOH.
- Disolución patrón de los analitos seleccionados ($17\text{-}\alpha\text{-etinilestradiol}$, $17\text{-}\beta\text{-estradiol}$, bisfenol A, bisfenol F, boldenona, cafeína, carbamazepina, cortisona, ciclofosfamida, estrona, gemfibrozilo, levonorgestrel, oxibenzona, progesterona, testosterona y, trimetoprima) de $1 \text{ mg}/\text{L}$ en MeOH (ver *Tabla 3.1*).
- Disolución patrón de oxibenzona de $1 \text{ mg}/\text{L}$ en ACN (ver *Tabla 3.1*).
- EDTA (Fluka Chemika, $> 97\%$), CAS: 139-33-3.
- Etanol (EtOH) absoluto (Scharlab ®), CAS: 64-17-5.
- Metanol (MeOH) grado LC-MS (Honeywell, $\geq 99,9\%$), CAS: 67-56-1.
- MgSO_4 anhidro (Sigma Aldrich; $99,5\%$), CAS: 7487-88-9.
- NaCl (Merck; $99,5\%$), CAS: 7647-14-5.

Tabla 3.1. Fórmula molecular, masa molar, pureza, número CAS y casa comercial de los analitos utilizados en el Trabajo de Fin de Máster.

Nombre	Fórmula molecular	Masa molar (g/mol)	Pureza (%)	CAS	Casa comercial
17-α-etilgestradíol	$C_{20}H_{24}O$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
17-β-estradiol	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Bisfenol A	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Bisfenol F	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Boldenona	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Cafeína	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Carbamazepina	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Cortisona	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Ciclofosfamida	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Estrona	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Gemfibrozio	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Levonorgestrel	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Oxibenzona	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Progesterona	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Testosterona	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich
Trimetoprima	$C_{20}H_{24}O_2$	296,40	99,7	57-63-6	Sigma Aldrich

3.2. Materiales

- Espátula de acero inoxidable con microcuchara de 10 cm (VWR International).
- Filtros de fluoruro de polivinilideno (PVDF) de 0,20 μm de diámetro interno de poro (Whatman TM).
- Guantes de nitrilo (VWR International).
- Jeringas de vidrio de 2 mL (Fortuna® Optima ®).
- Matraces aforados de 10 mL (Brand).
- Matraces Erlenmeyer esmerilados (29/32) 50 mL con tapa de vidrio (Witeg).
- Pipetas Pasteur de vidrio (VWR International).
- Puntas de plástico desechables para micropipetas de 10-100 μL y 100-1000 μL (Brand).
- Tubos de centrífuga de vidrio de 50 mL y 15 mL con tapa de PP (VWR International).
- Vasos de precipitados de 100 y 250 mL (VWR International).
- Viales de vidrio para UHPLC-MS-MS de 2,0 mL, de color ámbar con tapa de rosca de PP (Agilent Technologies).

3.3. Equipos

3.3.1. Instrumentos

- Balanza analítica de 0,1 mg de precisión y 220 g de capacidad máxima de pesada, modelo 224i-1S (Sartorius).
- Cromatógrafo de líquidos de ultra alta eficacia (UHPLC) Agilent 1260 Infinity II equipado con una bomba 1260 Infinity II, un muestreador automático con control de temperatura 1260 Infinity, un horno de columna 1260 MCT y un detector de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) G6470B operado en el modo MRM (multiple reaction monitoring) equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI).
- Micropipetas regulables, modelos Transferpette® S de 10-100 μL y 100-1000 μL (Brand).

3.3.2. Aparatos

- Baño de ultrasonidos de 5,4 L de capacidad, modelo USC-600T (VWR International).

- Centrífuga para tubos de 15 mL con control de tiempo y velocidad máxima de 4000 rpm, modelo Mega Star 3,0R (VWR International).
- Estufa modelo 2000201 (J.P. Selecta S.A.).
- Mufla Carbolite® CWF 11/13 de 13 L de capacidad y temperatura máxima de 1100 °C (Carbolite).
- Rotavapor RV-8 equipado con un baño termostático HB digital (IKA®) y una bomba de vacío CVC 3000 con un controlador de vacío (VWR International).
- Sistema de purificación de agua Milli-Q Purelab Ftex Elga.

3.3.3. Programas informáticos

- *ChemSketch* para elaborar las estructuras de los analitos seleccionados.
- *Microsoft® Office Excel 365* para el tratamiento de los datos numéricos y obtención de gráficas.
- *Microsoft® Office PowerPoint 365* para la realización de esquemas y el tratamiento de los cromatogramas obtenidos.
- Programa *Enhanced MassHunter* (Agilent Technologies) para el control y manejo del cromatógrafo de líquidos.
- Programa *MassHunter Quantitative Analysis* (Agilent Technologies) para la visualización de los cromatogramas obtenidos y para el tratamiento de datos.

3.4 Preparación de las muestras

En este trabajo se analizaron muestras de arena procedentes de Playa Grande, Playa San Juan, Almáciga y Las Teresitas ubicadas en la isla de Tenerife, aplicando el método QuEChERS en combinación con UHPLC-MS/MS. Para ello, se pesaron 5 g de arena en un tubo centrífuga de 50 mL, a continuación, se añadieron 5 mL de agua Milli-Q y 5 mL de ACN. Tras agitar manualmente durante 30 segundos, y someter a vórtex durante 1 minuto, se añadieron 2 g de MgSO₄, 0,5 g de NaCl y 0,4 g de EDTA previamente pesados en un vial. A continuación, se agitó manualmente de forma enérgica durante 2 minutos, se sometió la mezcla a ultrasonidos durante 5 minutos, se centrifugó a 2500 rpm durante 5 minutos y el sobrenadante fue transferido con una pipeta Pasteur a un tubo de centrífuga de 15 mL que contenía 750 mg de MgSO₄ y 250 mg de C₁₈. Seguidamente se agitó manualmente de forma enérgica durante 2 minutos y durante 2 más en vórtex y se centrifugó durante 5 minutos a 2500 rpm.

El sobrenadante fue transferido a un matraz Erlenmeyer con una pipeta Pasteur y se evaporó en rotavapor durante unos 5 min hasta sequedad a 40 °C y 180 mbares de presión. El residuo seco fue

reconstituido en 400 μL de una mezcla agua:ACN (70:30; v/v) y se sometió a ultrasonidos durante unos segundos. Los 400 μL fueron transferidos a una jeringa de vidrio para someterlos a filtración a través de un filtro de PVDF de 0,20 μm .

Finalmente, se llevó a cabo la determinación de los contaminantes emergentes mediante UHPLC-MS/MS. Cabe destacar que se aplicó el mismo procedimiento con las muestras enriquecidas al inicio (muestras fortificadas) y al final del procedimiento (estándares en la matriz).

Por otra parte, se realizó un estudio para determinar el contenido de humedad de las muestras de arena de las distintas playas. Para ello, se lavaron diversos crisoles de porcelana con una disolución de ácido nítrico al 37%. Posteriormente, se enjuagaron con agua Milli-Q y se secaron en una estufa a 105 °C durante 24 horas. Tras ese período, los crisoles se sacaron de la estufa y se depositaron en un desecador hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. Seguidamente, se introdujo el crisol en una balanza analítica y se pesaron 10 g de arena (teniendo en cuenta el peso conjunto del crisol y la arena) y se colocó en la estufa de nuevo durante 24 horas a 105 °C. Se procedió a retirar los crisoles de la estufa y se colocaron en el desecador durante 20 minutos. Por último, se volvió a pesar el crisol con la arena seca.

3.5 Determinación mediante UHPLC-MS/MS

Para llevar a cabo la determinación de los contaminantes emergentes en las muestras de arena seleccionadas se utilizó un equipo de UHPLC-MS/MS Agilent 1260 Infinity II. La fase móvil estaba compuesta de ACN y agua Milli-Q, ambos conteniendo con un 0,05% (v/v) de NH_3 (grado LC-MS, $\geq 25\%$ p/p) a un flujo constante de 0,4 mL/min. La separación se realizó a 45 °C con una columna Infinity Lab Poroshell HPH-C18 (50 x 2,1 mm, 2,7 μm) y una precolumna Infinity Lab Poroshell HPH-C18 (5 x 2,1 mm, 2,7 μm), ambas de Agilent Technologies.

El programa de elución aplicado comenzó con una mezcla 5:95 (v/v) ACN:agua Milli-Q durante 1 minuto, se aumentó la cantidad de ACN hasta el 50% durante 2 minutos y, a continuación, hasta el 95% hasta el minuto 6. Por último, se aplicaron de nuevo las condiciones iniciales (5:95 v/v) manteniéndolas 2 minutos más, antes de la siguiente inyección. El tiempo total de análisis fue de 8 minutos y el volumen de inyección de 5 μL .

En lo que respecta a las condiciones de ionización, la temperatura del gas de secado que se fijó en la fuente de ionización fue de 210 °C, siendo su flujo de 7 L/min. A su vez, la presión de gas de nebulización fue de 25 psi y la temperatura del gas auxiliar alcanzó los 400 °C, siendo el flujo de 12 L/min. El voltaje del capilar se estableció en 3000 V y el voltaje de la entrada del espectrómetro de masas que se aplicó fue 0 V y -500 V.

En la *Tabla 3.5* se muestran las transiciones MS/MS de cuantificación y confirmación, así como las energías de colisión y el modo de polaridad de cada analito.

Tabla 3.5. Transiciones MS/MS de cuantificación y confirmación, energías de colisión y polaridad de cada analito.

Analitos		Transición (m/z)	CE (eV)	Polaridad
17α-etilestradiol	Cuantificador	295,2 \rightarrow 145,0	45	Negativa
	Cualificador	295,2 \rightarrow 158,9	45	
17β-estradiol	Cuantificador	271,2 \rightarrow 145,1	45	Negativa
	Cualificador	271,2 \rightarrow 183,1	45	
Bisfenol A	Cuantificador	227,0 \rightarrow 212,0	20	Negativa
	Cualificaoodr	227,0 \rightarrow 211,1	35	
Bisfenol F	Cuantificador	199,1 \rightarrow 93,1	22	Negativa
	Cualificador	199,1 \rightarrow 105,1	25	
Boldenona	Cuantificador	287,2 \rightarrow 121,0	20	Positiva
	Cualificador	287,2 \rightarrow 269,2	10	
Cafeina	Cuantificador	195,1 \rightarrow 138,0	20	Positiva
	Cualificador	195,1 \rightarrow 110,0	30	
Carbamazepina	Cuantificador	237,1 \rightarrow 194,1	25	Positiva
	Cualificador	237,1 \rightarrow 193,1	36	
Cortisona	Cuantificador	361,2 \rightarrow 163,1	20	Positiva
	Cualificador	361,2 \rightarrow 121,1	40	

Tabla 3.5. Continuación.

Analitos		Transición (m/z)	CE (eV)	Polaridad
Ciclofosfamida	Cuantificador	261,0 → 140,0	20	Positiva
	Cualificador	261,0 → 106,0	20	
Estrona	Cuantificador	269,2 → 145,1	46	Negativa
	Cualificador	269,2 → 159,1	40	
Gemfibrozilo	Cuantificador	249,1 → 121,0	10	Negativa
	Cualificaodr	249,1 → 127,0	13	
Levonorgestrel	Cuantificador	313,2 → 245,2	40	Positiva
	Cualificador	313,2 → 109,1	20	
Oxibenzona	Cuantificador	229,2 → 151,0	20	Positiva
	Cualificador	229,2 → 105,0	20	
Progesterona	Cuantificador	315,2 → 109,1	20	Positiva
	Cualificador	315,2 → 109,1	20	
Testosterona	Cuantificador	289,2 → 97,1	20	Positiva
	Cualificador	289,2 → 109,1	20	
Trimetoprima	Cuantificador	291,1 → 230,1	40	Positiva
	Cualificador	291,1 → 123,1	20	

3.6. Lavado del material de vidrio

El lavado del material de vidrio no volumétrico (tubos de centrifuga, vasos de precipitados y viales de 10 mL) se realizó con agua y jabón y seguidamente tres veces con agua Milli-Q. La limpieza de los viales de inyección se efectuó llevando a cabo tres lavados de 15 min en un baño de ultrasonidos; en los dos primeros se empleó una mezcla 50:50 MeOH: agua Milli-Q (v/v) y en el tercero únicamente MeOH. Por último, el material se secó en una estufa a 100 °C durante 1 hora y se introdujo en una mufla durante 5 horas a 550 °C para eliminar la materia orgánica restante.

El material de vidrio volumétrico empleado se lavó con agua y jabón y, posteriormente, se rellenó con una disolución de NoChromix® en H₂SO₄ durante 24 horas. Tras la eliminación de dicha disolución se lavó con agua Milli-Q. Por último, se realizaron tres lavados con MeOH grado HPLC-MS (pureza ≥ 99,9%) y se secó a temperatura ambiente.

4. Resultados y discusión

4.1 Características de los compuestos estudiados

En el presente Trabajo de Fin de Máster se han seleccionado 16 contaminantes emergentes, destacando 4 productos farmacéuticos, 1 estimulante, 8 hormonas, 1 filtro UV y 2 fenoles. Todos ellos han sido previamente detectados y/o cuantificados en diversos ecosistemas acuáticos (15). En la *Tabla 4.1*, se han recopilado las estructuras moleculares de los analitos seleccionados, así como sus propiedades fisicoquímicas más relevantes.

En lo que respecta a las masas molares de los compuestos estudiados, estas se encuentran entre 194,19 y 360,40 g/mol. La mayoría de los compuestos poseen un bajo peso molar a excepción de la cortisona que cuenta con un alto peso molar (360,40 g/mol). En cuanto al carácter lipofílico, este es bastante variable puesto que los valores de K_{ow} oscilan entre -0,07 y 4,80. Como es de esperar, los compuestos que poseen unos valores más elevados de K_{ow} presentan una muy baja o nula solubilidad en agua. En el caso de la presión de vapor a 25 °C, los valores están comprendidos entre $2,12 \cdot 10^{-25}$ y $3,60 \cdot 10^{-4}$ mmHg. Cabe destacar que la eritromicina presenta la presión de vapor más baja ($2,12 \cdot 10^{-25}$ mmHg), de ahí que esta sea poco volátil. El resto de poseen una cierta volatilidad ya que los valores son más elevados, alcanzando los $1,0 \cdot 10^{-9}$ y $3,60 \cdot 10^{-4}$ mmHg.

Tabla 4.1. Estructuras y propiedades fisicoquímicas de los analitos estudiados en este Trabajo de Fin de Máster.

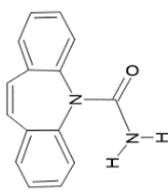
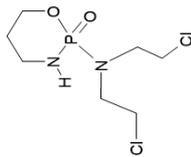
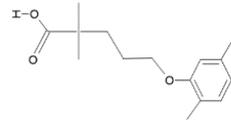
Analitos	Estructura	CAS	Fórmula molecular	MM (g/mol)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	Log K _{ow}	pKa	Punto de ebullición
Productos farmacéuticos								
Carbamazepina		298-46-4	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,27	1,84.10 ⁻⁷	2,45	15,96/13,96	411,0
Ciclofosfamida		6055-19-2	C ₇ H ₁₅ Cl ₂ N ₂ O ₂ P	261,08	4,45.10 ⁻⁵	0,097-0,76	12,78	336,1
Gemfibrozilo		25812-30-0	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250,33	3,10.10 ⁻⁵	4,8	4,5	394,7

Tabla 4.1. Continuación

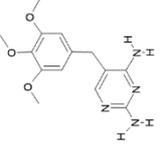
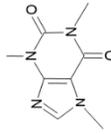
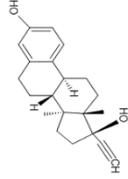
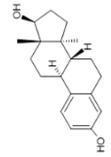
Análitos	Estructura	CAS	Fórmula molecular	MM (g/mol)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	Log K _{ow}	pKa	Punto de ebullición
Trimetoprima		738-70-5	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	290,32	9,90 · 10 ⁻⁹	0,91	17,33/7,16	405,2
Estimulante (en productos farmacéuticos) y productos de hábito de consumo								
Cafeína		58-08-2	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	194,19	9,00 · 10 ⁻⁷	-0,07	14	178
Hormonas								
17- α - etimilestradiol		57-63-6	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296,40	1,90 · 10 ⁻⁹	3,67	10,33	457,2
17- β -estradiol		50-28-2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	272,40	6,40 · 10 ⁻⁹	4,01	10,46	445,9 \pm 45,0

Tabla 4.1. Continuación

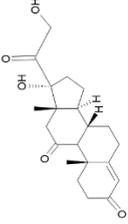
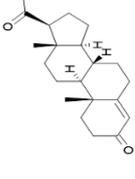
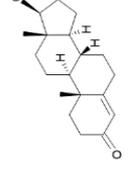
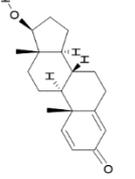
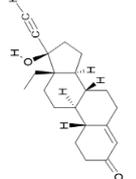
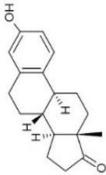
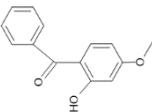
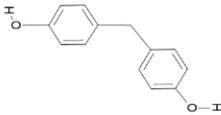
Analitos	Estructura	CAS	Fórmula molecular	MM (g/mol)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	Log K _{ow}	pKa	Punto de ebullición
Cortisona		53-06-5	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	360,40	No disponible	1,66-1,98	12,58	567,8
Progesterona		57-83-0	C ₂₁ H ₃₀ O ₂	314,50	3,60.10 ⁻⁴	3,87	18,92	394,13
Testosterona		58-22-0	C ₁₉ H ₂₈ O ₂	288,40	1,71.10 ⁻⁸	3,32	19,09	432,9
Boldenona		846-48-0	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	286,4	-	3,08-3,36	15,05	435,6
Levonorgestrel		797-63-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	312,4	1,00.10 ⁻⁹	3,25-3,66	17,91	459,1

Tabla 4.1. Continuación.

Analitos	Estructura	CAS	Fórmula molecular	MM (g/mol)	Presión de vapor (mmHg, 25 °C)	Log K _{ow}	pKa	Punto de ebullición
Estrona		53-16-7	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270,40	2.50·10 ⁻¹⁰	3,13	10,33	445,2
Filtro UV								
Oxibenzona		131-57-7	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228,24	1,42·10 ⁻⁶	3,79	-4,8/7,07	302-320
Fenoles								
Bisfenol A		80-05-7	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	228,29	4,00 ·10 ⁻⁸	3,32	9,6	360,5
Bisfenol F		620-92-8	C ₁₃ H ₁₂ O ₂	200,23	3,70·10 ⁻⁷	2,91	7,55/10,80	225-235

MM: Masa molar. Datos tomados de las bases de datos PubChem (100) y DrugBank (101)

4.2 Separación cromatográfica

Para llevar a cabo la separación y detección cromatográfica de estos 16 analitos se utilizó un equipo UHPLC acoplado a un espectrómetro de masas en tándem equipado con un triple cuadrupolo como analizador. La separación se realizó a 45 °C, empleando las condiciones de separación y de detección detalladas en la Parte Experimental. En la *Figura 4.2* se muestran los cromatogramas de los iones extraídos (transición de cuantificación) de cada analito, en los que se puede apreciar que la separación de los analitos se alcanzó a los 6 min. Como se puede observar en la figura, en general se obtiene una buena separación de los analitos, si bien la utilización del espectrómetro de masas ha permitido separar compuestos como cafeína, gemfibrozilo, trimetoprima, ciclofosfamida y bisfenol F que coeluyen. Los primeros analitos en eluir, los más polares, son la cafeína, el gemfibrozilo y la trimetoprima mientras que los últimos son el levonorgestrel, la oxibenzona y la progesterona.

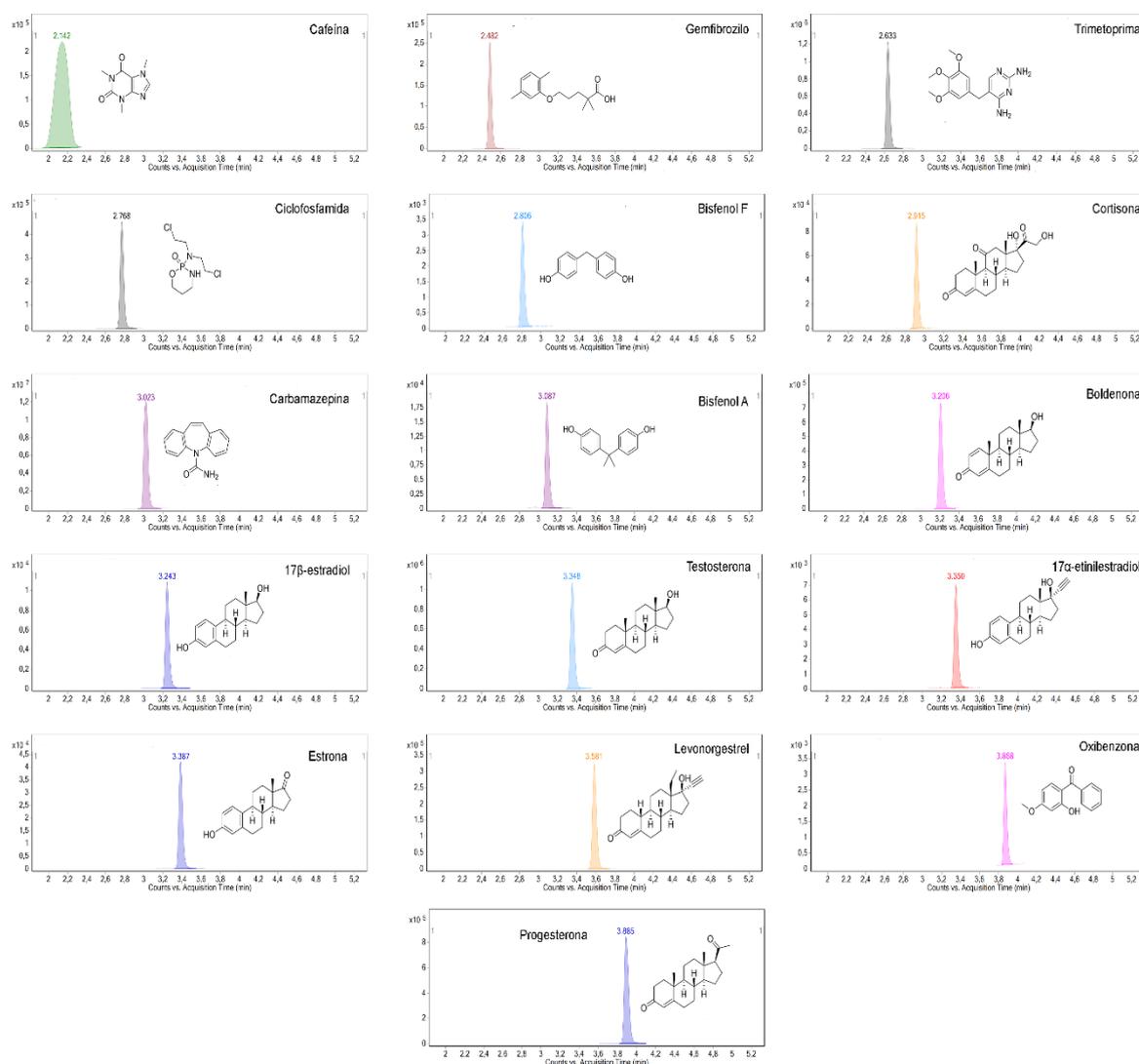


Figura 4.2. Cromatogramas UHPLC-MS/MS de los 16 analitos estudiados.

Para estudiar la repetibilidad de la separación cromatográfica, así como de las condiciones de detección, se realizó un estudio de repetibilidad intra- e interdía mediante llevando a cabo 5 inyecciones consecutivas (n=5) de una mezcla estándar de los analitos en la fase móvil inicial a tres niveles de concentración (15, 75 y 150 µg/L) en 3 días distintos (n=15).

En las *Tablas 4.2 y 4.3* se muestran los valores de la desviación estándar relativa (RSD) obtenidos tanto para los tiempos de retención como para las áreas de pico, respectivamente, en el mismo día y en días diferentes. En lo que respecta a la precisión intradía de los tiempos de retención, estas fueron inferiores al 0,2% en todos los casos, mientras que para las áreas de pico las RSDs fueron inferiores al 10,8%. En cuanto a la precisión interdía, los valores de RSDs fueron inferiores al 0,3% para los tiempos de retención e inferiores al 14,9% para las áreas de pico. A partir de dichos datos se puede concluir que la precisión tanto de la separación cromatográfica como de las condiciones de detección son adecuadas.

Tabla 4.2. Resultado del estudio de precisión intradía e interdía, expresados como RSD, para los tiempos de retención, de las condiciones de separación y de detección de los analitos seleccionados.

Analitos	Nivel 1: 15 µg/L				Nivel 2: 75 µg/L				Nivel 3: 150 µg/L			
	RSD (%) intradía (n=5)			RSD (%) interdía	RSD (%) intradía (n=5)			RSD (%) interdía	RSD (%) intradía (n=5)			RSD (%) interdía
	Día 1	Día 2	Día 3	(n=15)	Día 1	Día 2	Día 3	(n=15)	Día 1	Día 2	Día 3	(n=15)
17α-efinilestradiol	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,10	0,10	0,10	0,00	0,00	0,10
17β-estradiol	0,00	0,00	0,10	0,20	0,00	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10
Bisfenol A	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,10	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,20
Bisfenol F	0,20	0,20	0,00	0,20	0,00	0,00	0,10	0,20	0,00	0,00	0,00	0,20
Boldenona	0,00	0,10	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,20
Cafeína	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,10	0,20	0,30	0,20	0,00	0,00	0,10
Carbamazepina	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00
Cortisona	0,00	0,00	0,20	0,20	0,20	0,00	0,00	0,10	0,20	0,00	0,00	0,10
Ciclofosfamida	0,00	0,20	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10
Estrona	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,10	0,10	0,20	0,00	0,20	0,00	0,20
Gemfibrozilo	0,00	0,20	0,00	0,20	0,20	0,00	0,20	0,10	0,00	0,00	0,20	0,10
Levonorgestrel	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,00	0,20	0,10	0,00	0,00	0,00
Progesterona	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	0,00	0,10
Oxibenzona	0,10	0,00	0,10	0,20	0,10	0,10	0,00	0,10	0,00	0,00	0,10	0,10
Testosterona	0,10	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00	0,10	0,20	0,00	0,00	0,10
Trimetoprima	0,00	0,00	0,00	0,10	0,10	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,20	0,20

Tabla 4.3. Resultado del estudio de precisión intradía e interdía, expresados como RSD, para las áreas de pico, de las condiciones de separación y de detección de los analitos seleccionados.

Analitos	Nivel 1: 15 µg/L				Nivel 2: 75 µg/L				Nivel 3: 150 µg/L			
	RSD (%) intradía (n=5)			RSD (%) interdía	RSD (%) intradía (n=5)			RSD (%) interdía	RSD (%) intradía (n=5)			RSD (%) interdía
	Día 1	Día 2	Día 3	(n=15)	Día 1	Día 2	Día 3	(n=15)	Día 1	Día 2	Día 3	(n=15)
17α-etinilestradiol	6,80	6,10	3,20	5,60	1,80	1,90	6,50	3,50	1,80	1,30	3,20	3,00
17β-estradiol	3,00	2,30	2,80	9,50	1,80	3,50	2,40	4,00	5,00	4,00	10,80	6,50
Bisfenol A	6,00	5,80	7,10	8,80	0,80	2,00	0,80	5,20	3,30	0,70	4,40	4,20
Bisfenol F	8,80	7,10	7,60	9,20	5,60	0,90	2,70	10,10	2,40	8,00	3,90	6,10
Boldenona	9,80	5,20	3,90	5,30	2,00	1,30	3,30	6,80	2,80	0,70	4,10	6,50
Cafeína	5,10	5,60	1,30	11,80	1,50	1,70	1,30	14,90	3,10	1,40	4,30	4,60
Carbamazepina	5,80	2,90	1,50	14,30	2,00	0,30	2,80	6,10	2,60	2,10	3,60	12,80
Cortisona	1,50	1,10	4,80	13,90	2,20	1,60	3,50	10,90	1,10	2,30	6,30	14,70
Ciclofosfamida	3,30	2,70	2,20	11,30	3,90	2,50	3,40	6,30	2,70	2,10	1,80	10,30
Estrona	3,30	3,80	1,70	5,60	1,70	0,90	2,00	3,40	1,90	0,40	4,30	5,50
Gemfibrozilo	2,40	4,10	1,60	7,90	0,80	0,20	3,00	1,40	3,00	0,50	3,60	4,60
Levonorgestrel	2,60	4,00	2,90	7,40	1,50	0,70	3,70	2,10	1,20	1,20	2,90	7,10
Progesterona	1,50	1,60	2,80	8,50	2,00	0,50	2,70	4,00	2,00	0,90	2,00	5,90
Oxibenzona	3,20	3,10	2,90	14,20	3,90	2,00	5,10	12,40	2,80	2,10	3,60	10,70
Testosterona	2,30	3,10	1,30	11,00	4,00	0,30	1,50	2,20	2,80	4,30	3,20	2,00
Trimetoprima	7,50	8,30	2,00	9,40	4,60	2,30	1,70	10,20	5,40	5,60	3,10	13,10

4.2.1. Calibrado instrumental

En la *Tabla 4.6.* se pueden observar los parámetros de calidad del calibrado en disolvente para cada analito, incluyendo los rangos lineales estudiados, los valores de la pendiente, la ordenada del origen, así como sus intervalos de confianza y los coeficientes de determinación (R^2). Los estándares internos seleccionados fueron: el 17- α -etinilestradiol- d_4 que se utilizó para cuantificar el 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, cortisona, testosterona, progesterona, estrona, levonorgestrel y boldenona; la carbamezapina- d_{10} que se empleó para la cafeína, carbamazepina, trimetoprima, ciclofosfamida y gemfibrozilo y, en el caso del bisfenol A- d_{16} , se utilizó para cuantificar el bisfenol-A, bisfenol-F y la oxibenzona.

Como se puede observar, en general, los rangos lineales estudiados estuvieron comprendidos entre 0,5 o 2,5 µg/L y 75, 115 o 150 µg/L (dependiendo del tipo de analito). En el caso del 17- α -etinilestradiol, 17- β -estradiol, bisfenol A y el bisfenol F, el rango lineal fue 2,5-150 µg/L. Por su parte, para la boldenona, cafeína, carbamazepina, ciclofosfamida, estrona, gemfibrozilo, levonorgestrel y

oxibenzona el rango fue de 0,5-150 µg/L, para la trimetoprima fue 0,5-75 µg/L, mientras que para la progesterona y la testosterona fue 0,5-115 µg/L. Los R² fueron superiores a 0,99 para todos los analitos, constatando la adecuada linealidad del método. Cabe destacar que, debido a la buena sensibilidad instrumental, los niveles de calibración más bajos (LCLs) oscilaron entre 0,5 y 2,5 µg/L, valores que se encuentran por encima del límite de cuantificación instrumental (comprobados experimentalmente).

Tabla 4.6 Parámetros de calidad de la calibración en disolvente, junto a su rango lineal estudiado, las pendientes y ordenadas en el origen con sus respectivos intervalos de confianza, los coeficientes de determinación (R²) y el error típico (S_{y/x}) para los diversos analitos.

<i>Ecuación de regresión (n=9)</i>						
Analitos	Rango lineal	$b \pm S_b \cdot t_{(0,05; 8)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05; 8)}$	S _{y/x}	R ²	LCL (µg/L)
17α-étiltestradíol	2,5-150	-179,34 ± 505,35	294,98 ± 6,68	399,93	0,9994	2,5
17β-estradiol	2,5-150	-487,55 ± 1034,58	518,63 ± 13,66	818,78	0,9993	2,5
Bisfenol A	2,5-150	-1620,41 ± 1673,62	794,18 ± 23,43	1500,77	0,9989	2,5
Bisfenol F	2,5-150	375,74 ± 698,11	157,70 ± 10,22	550,29	0,9962	2,5
Boldenona	0,5-150	33623,75 ± 30187,75	6656,26 ± 422,77	27069,87	0,9950	0,5
Cafetina	0,5-150	36416,73 ± 74946,78	20174,33 ± 1049,61	67206,08	0,9966	0,5
Carbamazepina	0,5-150	260961,62 ± 673753,80	129778,50 ± 9,435,70	604166,7	0,9934	0,5
Cortisona	2,5-150	-2715,72 ± 2408,14	1273,82 ± 31,79	1905,83	0,9993	2,5

Tabla 4.6 Continuación.

<i>Ecuación de regresión (n=9)</i>						
Analitos	Rango lineal	$b \pm S_b \cdot t_{(0,05; 7)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05; 7)}$	$S_{y/x}$	R²	LCL ($\mu\text{g/L}$)
Ciclofosfamida	0,5-150	-11246,93 \pm 11988,49	6066,39 \pm 167,89	10750,28	0,9990	0,5
Estrona	0,5-150	-2990,93 \pm 4766,59	2106,43 \pm 66,76	4274,28	0,9987	0,5
Gemfibrozilo	0,5-150	1571,25 \pm 8470,77	4745,93 \pm 118,61	7595,88	0,9992	0,5
Levonorgestrel	0,5-150	11464,05 \pm 20261,50	4184,80 \pm 285,61	18017,27	0,9950	0,5
Oxibenzona	0,5-150	3673,55 \pm 18813,83	3065,602 \pm 294,43	16817,60	0,9934	0,5
Progesterona	0,5-115	34075,44 \pm 53873,25	15257,34 \pm 996,37	45709,14	0,9954	0,5
Testosterona	0,5-115	25327,48 \pm 44914,06	7581,94 \pm 798,22	36600,18	0,9901	0,5
Trimetoprima	0,5-75	20910,95 \pm 74532,58	21817 \pm 1956,09	58482,20	0,9928	0,5

4.3. Aplicación del método QuEChERS

En este trabajo se aplicó el método QuEChERS tradicional, utilizando para ello 5 g de cada tipo de arena, 2 g de MgSO₄ y 0,5 g de NaCl en la primera etapa de extracción y 750 mg de MgSO₄ y 250 mg de C₁₈ en la segunda etapa de extracción, variando el pH de la fase acuosa para estudiar el posible efecto del mismo en la extracción. Se pudo constatar que las recuperaciones obtenidas fueron bajas a pH 7,2 ya que se situaron entre el 43% y el 93%, a pH 9 entre 55% y el 93% y a pH 11,2 entre el 48% y el 88%. En los dos últimos casos, se alcanzaron RSDs superiores al 20% en analitos como el gemfibrozilo, estrona y levonorgestrel, con valores entre el 21% y el 48%. La cantidad de analitos con recuperaciones inferiores al 60% fueron: a pH 7,2 (9), a pH 9 (3) y a pH 11,2 (9). Teniendo en cuenta la naturaleza de los analitos seleccionados, las recuperaciones pueden ser bajas debido al elevado contenido de iones como el calcio y el magnesio que influyen negativamente en la recuperación de ciertos analitos al complejarse con estos, tal y como se ha señalado en alguna ocasión en la bibliografía (102), de ahí que se decidiera añadir EDTA a la primera etapa de extracción del método (cantidades entre 0,1 y 0,8 g). Las mejores condiciones de extracción se consiguieron al añadir 0,4 g de EDTA a pH 3,5, puesto que se observó una mejora notable de las recuperaciones que oscilaron entre el 60% y el 88,7%, con RSDs inferiores al 20%, tal y como se indicarán a continuación en el estudio de recuperaciones.

4.3.1. Estudio de recuperaciones

A continuación, se realizó un estudio de recuperaciones en dos tipos de arena: arena “dorada/blanca” procedente de Playa Grande y arena “negra” procedente de Playa San Juan (ambas playas de Tenerife), a tres niveles de concentración diferentes (15, 75 y 150 ng/g) y con cinco repeticiones para cada nivel (n=5). Para ello se enriquecieron las cinco muestras con los analitos a dichas concentraciones a partir de 3 disoluciones patrón: una disolución con 16 contaminantes emergentes de 1 mg/L en MeOH, un mix de los ISs de 1 mg/L en MeOH y una disolución con oxibenzona como filtro UV de 1 mg/L en ACN. Además de las anteriores, para cada tipo de arena se preparó un estándar en la matriz, añadiendo los analitos justo al reconstituir en la fase móvil. Las recuperaciones fueron calculadas a partir de las áreas relativas de cada analito en la muestra enriquecida y en el estándar en la matriz, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\frac{\text{Área del analito}}{\text{Área del IS}}}{\frac{\text{Área estándar en la matriz}}{\text{Área del IS}}} \times 100$$

En la *Tabla 4.5* se pueden observar los porcentajes de recuperación obtenidos para ambos tipos de arena a los distintos niveles de concentración, así como sus recuperaciones promedio y sus RSDs. Se considera que los porcentajes de recuperación son aceptables si estos se encuentran en el rango 70-

120% con RSDs inferiores al 20%, siendo también aceptables valores de recuperación inferiores siempre y cuando estos sean consistentes, es decir, que la RSD sea inferior al 20% y las recuperaciones promedio de los tres niveles se encuentren entre 30 y 140% (**103**). Siguiendo este criterio, se pueden observar que los valores obtenidos para ambos tipos de arena son en su mayoría satisfactorios, constatando la eficacia del método de extracción elegido y su utilización en el análisis de muestras reales. Para la gran mayoría de los analitos seleccionados, las recuperaciones promedio se encuentran entre el 60 y el 120%, con RSDs inferiores al 20% en todos los casos. Las recuperaciones promedio más bajas se obtuvieron para la oxibenzona (63,3% y 64,5% en ambos tipos de arena) y para la progesterona en la arena de Playa Grande (51,4%) pero siempre con RSDs incluso inferiores al 9% en las 15 extracciones llevadas a cabo. Como también se puede apreciar en la tabla, las recuperaciones fueron muy parecidas en ambos tipos de arena.

Tabla 4.5. Resultado del estudio de recuperaciones en arena de Playa Grande y Playa San Juan (se señalan en negrita las recuperaciones fuera del rango 70-120%).

Analitos	Muestras	15 ng/g	75 ng/g	150 ng/g	Promedio
		Recuperación % (RSD %)	Recuperación % (RSD %)	Recuperación % (RSD %)	Recuperación % (RSD %)
17α- etinilestradiol	Playa Grande	65,6 (9,4)	87,0 (3,3)	66,0 (5,0)	72,8 (3,7)
	San Juan	76,2 (4,5)	79,9 (6,1)	73,6 (4,4)	76,6 (2,9)
17β-estradiol	Playa Grande	71,0 (8,2)	85,8 (2,7)	68,5 (6,5)	75,1 (3,6)
	San Juan	76,0 (5,2)	82,4 (5,1)	75,4 (4,1)	77,9 (2,8)
Bisfenol A	Playa Grande	65,1 (8,6)	88,2 (1,2)	76,3 (4,4)	76,5 (3,3)
	San Juan	81,4 (9,8)	83,9 (8,1)	77,6 (5,5)	81,0 (4,3)
Bisfenol F	Playa Grande	88,1 (7,2)	76,0 (4,5)	85,8 (5,4)	83,3 (3,4)
	San Juan	81,8 (2,5)	79,9 (4,2)	80,2 (6,7)	80,6 (2,8)
Boldenona	Playa Grande	62,6 (7,2)	82,9 (4,4)	58,7 (7,4)	68,1 (3,7)
	San Juan	55,9 (10,1)	80,0 (11,5)	73,7 (3,0)	69,9 (5,2)
Cafeína	Playa Grande	85,1 (11,7)	58,9 (4,3)	69,9 (3,2)	71,3 (4,3)
	San Juan	88,7 (5,3)	77,3 (7,3)	45,5 (4,9)	70,5 (3,4)
Carbamazepina	Playa Grande	84,0 (14,5)	78,7 (7,6)	67,7 (12,4)	76,8 (6,9)
	San Juan	65,6 (10,8)	80,9 (15,0)	72,9 (6,1)	73,1 (6,5)
Cortisona	Playa Grande	68,3 (6,6)	79,5 (5,0)	63,3 (11,7)	70,4 (4,8)
	San Juan	75,0 (3,6)	67,8 (7,9)	80,7 (3,8)	74,5 (3,1)

Tabla 4.5. Continuación.

Analitos	Muestras	15 ng/g	75 ng/g	150 ng/g	Promedio
		Recuperación % (RSD %)	Recuperación % (RSD %)	Recuperación % (RSD %)	Recuperación % (RSD %)
Ciclofosfamida	Playa Grande	78,9 (11,6)	82,0 (2,7)	72,0 (14,4)	77,6 (6,2)
	San Juan	66,0 (4,9)	74,6 (9,4)	74,0 (7,2)	71,5 (4,3)
Estrona	Playa Grande	63,6 (6,0)	82,5 (4,1)	65,2 (3,7)	70,4 (2,7)
	San Juan	76,4 (3,8)	81,7 (6,1)	74,1 (3,3)	77,4 (2,6)
Gemfibrozilo	Playa Grande	70,5 (11,2)	78,7 (9,8)	63,4 (9,5)	70,9 (5,9)
	San Juan	64,5 (8,1)	76,6 (14,3)	66,3 (6,6)	69,1 (5,9)
Levonorgestrel	Playa Grande	73,3 (3,5)	71,7 (5,1)	62,5 (0,9)	69,2 (2,1)
	San Juan	72,0 (6,4)	76,9 (5,3)	75,8 (8,5)	74,9 (3,2)
Oxibenzona	Playa Grande	68,7 (19)	73,7 (13,7)	47,5 (6,2)	63,3 (8,1)
	San Juan	49,6 (6,7)	66,7 (17,7)	49,9 (18,3)	54,5 (8,8)
Progesterona	Playa Grande	51,5 (5,8)	56,2 (7,9)	46,4 (13,7)	51,4 (5,6)
	San Juan	60,0 (9,6)	84,3 (6,7)	74,0 (17,6)	72,7 (7,1)
Testosterona	Playa Grande	66,7 (3,5)	75,0 (4,6)	60,7 (3,7)	67,5 (2,3)
	San Juan	66,6 (9,6)	75,9 (6,9)	74,3 (1,8)	72,2 (4,0)
Trimetoprima	Playa Grande	69,9 (12,7)	84,2 (3,2)	69,9 (9,2)	74,7 (5,3)
	San Juan	68,3 (7,9)	77,0 (3,1)	74,7 (5,3)	73,3 (3,3)

4.3.2. Calibrado en la matriz y estudio del efecto matriz

A continuación, con el objetivo de estudiar el posible efecto matriz existente a la hora de llevar a cabo la correcta cuantificación de los analitos de interés en las matrices seleccionadas, se obtuvieron los calibrados en la matriz de ambos tipos de arena. Para ello, se llevaron a cabo 9 extracciones para cada tipo de arena, de tal forma que el extracto final fue enriquecido en todos los analitos a 9 niveles de concentración diferentes. Asimismo, también se analizó un blanco de cada arena en los que se pudo constatar que no aparecían señales relativas a cada analito a los niveles de detección del método (que se comentarán más adelante).

En la Tabla 4.6 se pueden visualizar los parámetros de calidad del calibrado en la matriz para cada analito y tipo de arena, incluyendo los rangos lineales estudiados, los valores de la pendiente, la ordenada del origen, así como sus intervalos de confianza y los coeficientes de determinación (R^2).

Como se puede observar, en general, los rangos lineales estudiados estuvieron comprendidos entre 0,5 o 2,5 µg/L y 75, 115 o 150 µg/L (dependiendo del tipo de analito), siendo los valores de R² superiores a 0,99 para todos los analitos, constatando la adecuada linealidad del método. Cabe destacar que, debido a la buena sensibilidad instrumental, los niveles de calibración más bajos oscilaron entre 0,5 y 2,5 µg/L, valores que se encuentran por encima del límite de cuantificación de las rectas (comprobados experimentalmente).

En lo que respecta a los límites de cuantificación del método, estos también están recogidos en la *Tabla 4.6*, siendo calculados a partir de los niveles de concentración más bajos de los calibrados y teniendo en cuenta los valores de recuperación obtenidos para analito y matriz. Como se puede observar, estos oscilaron entre 0,03 y 0,44 ng/g.

Si se comparan las pendientes de los calibrados en la matriz con los calibrados en el disolvente, se puede determinar el efecto matriz de la propia muestra, es decir, si se está viendo modificada la pendiente de la recta de calibrado. Para estudiar dicho efecto matriz (ME), en cromatografía de líquidos se suele hacer uso del método de *Matuszewski et al.*, (104), aplicando la siguiente fórmula a cada nivel de concentración del calibrado:

$$\text{Efecto matriz (\%)} = \frac{\frac{\text{área analito calibrado de la matriz}}{\text{área IS}}}{\frac{\text{área analito calibrado instrumental}}{\text{área IS}}} \times 100$$

A partir de la anterior fórmula se puede deducir que, si no existe ME, dicho porcentaje es del 100%. Cuando se supera el mismo, se está produciendo un aumento de la señal (*signal enhancement*) mientras que si el valor del ME es inferior al 100% se está produciendo una supresión de la señal (*signal suppression*). En general, si el ME oscila entre el 80 y el 120%, se considera que el EM es prácticamente despreciable, pudiendo llevarse a cabo un calibrado en disolvente, mientras que, si este está fuera de dicho rango, es necesario llevar a cabo el calibrado en la matriz.

En la *Figura 3* se puede observar el valor del EM para cada analito y tipo de arena, frente a los tiempos de retención. Tal y como se observa en la figura, el EM solo es despreciable para pocos analitos (es el caso de 17 α-etinilestradiol, 17-β-estradiol, bisfenol F, estrona y gemfibrozilo) con valores de EM entre 80 y 120%. Para el resto de existe una importante supresión iónica a excepción del bisfenol A y la trimetoprima para los que se produce un aumento de la señal, al superar el 120%. Por todo lo anterior, es indispensable llevar a cabo el calibrado en la matriz en ambos casos. En general, los valores de EM son parecidos en muchos casos, siendo estos mayores para la arena negra de Playa San Juan.

Tabla 4.6. Resultado del estudio de calibración en la matriz de los analitos estudiados.

Datos de calibración (n=9)									
Análitos	Matriz	Rango lineal	$b \pm S_b \cdot t_{(0,05); 7}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05); 7}$	$S_{y/x}$	R^2	LCL (µg/L)	LOQ _{méd} (ng/g)omc	Efecto matriz (%)
17α- etinilestradiol	Playa San Juan	2,5-150	46,44 ± 365,75	214,58 ± 4,84	289,47	0,9995	2,5	0,03	83,5
	Playa Grande	2,5-150	481,94 ± 694,81	308,04 ± 9,72	623,04	0,9987	2,5	0,03	115,7
17β-estradiol	Playa San Juan	2,5-150	-261,49 ± 624,81	256,75 ± 8,26	494,49	0,9989	2,5	0,13	55,2
	Playa Grande	2,5-150	538,54 ± 1245,58	419,53 ± 16,44	985,77	0,9983	2,5	0,13	92,2
Bisfenol A	Playa San Juan	7,5-150	868,14 ± 842,66	480,49 ± 13,19	753,25	0,9992	7,5	0,03	75,6
	Playa Grande	7,5-150	-3709,45 ± 4434,32	1148,36 ± 54,78	2992,94	0,9980	7,5	0,03	135,1
Bisfenol F	Playa San Juan	2,5-150	375,74 ± 698,11	157,70 ± 10,22	550,29	0,9962	2,5	0,12	85,6
	Playa Grande	2,5-150	375,74 ± 698,11	157,70 ± 10,22	550,29	0,9962	2,5	0,12	94,4
Boldenona	Playa San Juan	2,5-150	-632,71 ± 1186,70	413,98 ± 18,90	1064,13	0,9980	2,5	0,44	4,7
	Playa Grande	7,5-150	2567,82 ± 5195,33	800,73 ± 64,17	3506,57	0,9943	7,5	0,44	10,8
Cafeína	Playa San Juan	0,5-115	-57346,20 ± 9543,70	2877,70 ± 176,50	8097,43	0,9960	0,5	0,03	11,3
	Playa Grande	0,5-150	28499,82 ± 15845,30	6112,27 ± 247,99	14164,04	0,9982	0,5	0,03	44,6
Carbamazepina	Playa San Juan	0,5-150	-13450,60 ± 17143,97	6338,08 ± 240,11	15373,28	0,9982	0,5	0,03	4,0
	Playa Grande	0,5-150	8398,37 ± 8802,23	23895,94 ± 1240,53	78258,33	0,9971	0,5	0,03	16,5
Cortisona	Playa San Juan	2,5-150	-252,81 ± 468,63	183,08 ± 6,18	370,88	0,9988	2,5	0,14	15,4
	Playa Grande	2,5-150	157,66 ± 1922,72	445,38 ± 25,39	1521,67	0,9965	2,5	0,14	53,0

Tabla 4.6 Continuación.

Datos de calibración (n=9)									
Análitos	Matriz	Rango lineal	$b \pm S_b \cdot t_{(0,05; 7)}$	$a \pm S_a \cdot t_{(0,05; 7)}$	$S_{y/x}$	R^2	LCL	LOQ _{mét}	Efecto matriz (%)
Ciclofosfamida	Playa San Juan	0,5-115	-1350,68 ± 2460,72	1476,24 ± 45,50	2087,82	0,9990	0,5	0,03	24,4
	Playa Grande	0,5-150	5225,49 ± 14622,25	2896,48 ± 206,12	13002,64	0,9946	0,5	0,03	50,2
Estrona	Playa San Juan	0,5-150	-954,38 ± 1555,19	1807,49 ± 24,33	1390,17	0,9998	0,5	0,03	91,1
	Playa Grande	0,5-150	804,03 ± 3544,44	1884,64 ± 49,63	3178,36	0,9991	0,5	0,03	107,6
Gemfibrozilo	Playa San Juan	0,5-150	-9766,18 ± 16690,13	3956,90 ± 261,20	14919,24	0,9953	0,5	0,03	72,2
	Playa Grande	0,5-115	-1253,94 ± 9368,11	4827,89 ± 173,27	7948,44	0,9986	0,5	0,03	98,0
Levonorgestrel	Playa San Juan	2,5-150	41,52 ± 625,31	416,79 ± 8,24	489,54	0,9996	2,5	0,14	8,9
	Playa Grande	2,5-150	3966,79 ± 6235,29	1431,86 ± 82,22	4881,43	0,9970	2,5	0,14	34,3
Oxibenzona	Playa San Juan	0,5-150	-118,06 ± 3626,99	376,67 ± 56,76	3242,16	0,9761	0,5	0,03	9,6
	Playa Grande	0,5-115	-634,56 ± 6117,14	1334,24 ± 113,14	5190,14	0,9923	0,5	0,03	40,2
Progesterona	Playa San Juan	0,5-150	-2243,79 ± 3310,61	918,99 ± 51,80	2959,34	0,9966	0,5	0,04	9,5
	Playa Grande	0,5-115	590,41 ± 10293,52	3176,91 ± 190,38	8733,60	0,9961	0,5	0,04	34,5
Testosterona	Playa San Juan	2,5-150	224,42 ± 2844,06	1536,77 ± 37,55	2250,82	0,9994	2,5	0,03	9,5
	Playa Grande	0,5-150	7000,89 ± 15071,97	3278,91 ± 211,07	13515,31	0,9948	0,5	0,03	21,7
Trimetoprima	Playa San Juan	0,5-150	14696,57 ± 29244,25	5102,78 ± 409,55	25223,82	0,9920	0,5	0,03	25,2
	Playa Grande	0,5-150	158576,2 ± 225009,39	37982,56 ± 3171,73	200086,55	0,9925	0,5	0,03	210,7

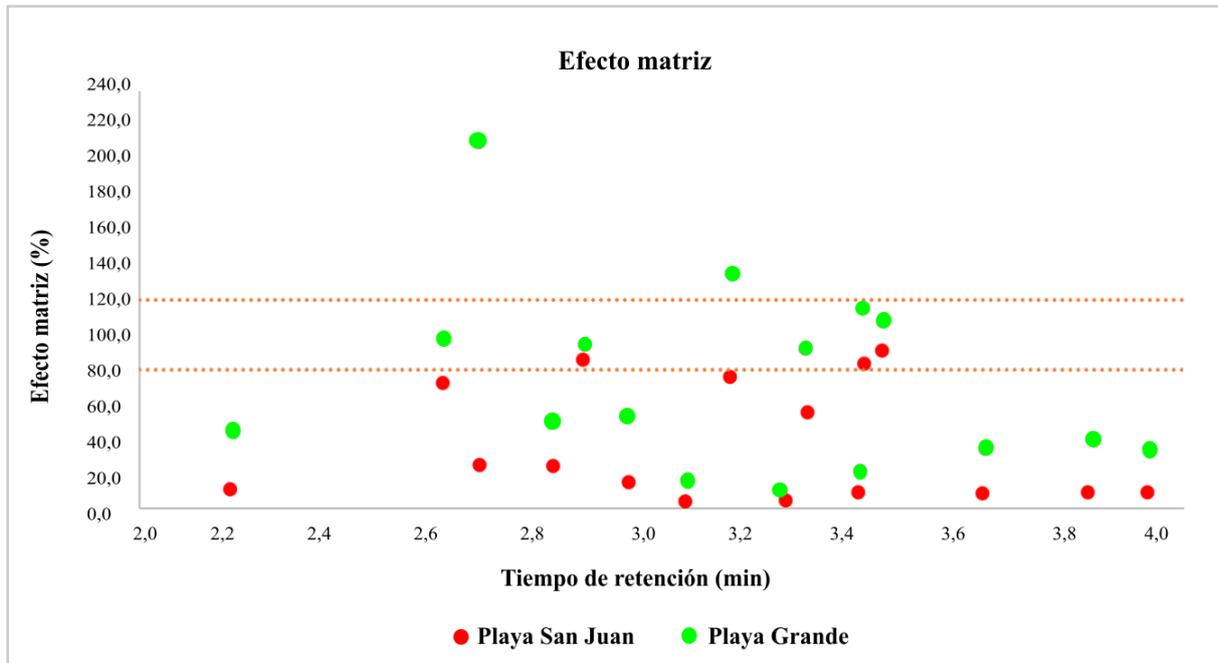


Figura 4.3. Representación del efecto matriz de cada tipo de arena frente al tiempo de retención para los 16 analitos.

4.4. Análisis de muestras reales

Con el fin de confirmar la aplicabilidad del método empleado y de cuantificar los contaminantes emergentes presentes en las muestras de arena, se efectuó un análisis de 30 muestras de arena procedentes de Playa Grande, Almáciga y Las Teresitas. Los muestreos se llevaron a cabo el 14 de septiembre de 2023 en Playa Grande y Almáciga y el 15 de diciembre de 2023 en las Teresitas. Se tomaron 5 muestras de arena húmeda y 5 muestras de arena seca equidistantes entre sí en cada playa (cada playa se dividió en 5 partes). En la siguiente figura se puede observar la localización de cada una de las playas, así como de los puntos de muestreo (*Figuras 4.4, 4.5 y 4.6*).



Figura 4.4. Puntos de muestreo en Playa Grande (105).



Figura 4.5. Puntos de muestreo en la Playa de Almáciga (105).

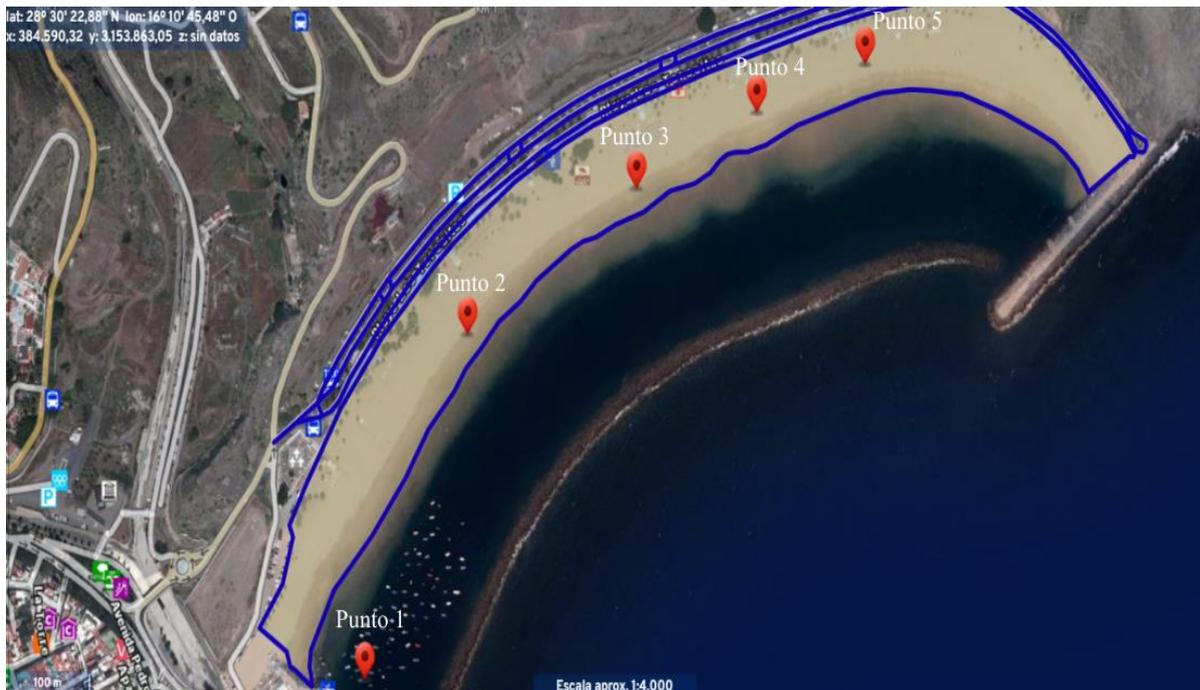


Figura 4.6. Puntos de muestreo en la Playa de Las Teresitas (105).

Una vez llegaron al laboratorio, las muestras de arena se conservaron en nevera en frascos de vidrio hasta su análisis, previo al cual se determinó el porcentaje de humedad (ver Parte Experimental) para referir el cálculo de concentraciones sobre peso seco (ver Tabla 4.8). Como se puede apreciar en dicha Tabla, en Playa Grande y en Las Teresitas la humedad de la arena seca es muy baja. Sin embargo, Playa Almáciga posee una humedad ligeramente superior en torno a 0,17-0,34%. A su vez, en Playa Grande todos los puntos de arena húmeda presentan una humedad notablemente elevada ya que abarca de 2,69-4,16%. En Playa Almáciga la humedad también alcanza valores altos en los puntos 1, 3 y 4 entre 2,09-2,99%. En el caso de las Teresitas las cifras de humedad son elevadas solo en los puntos 2 y 4 entre 2,42-3,41%.

Tabla 4.8. Resultados del estudio del porcentaje de humedad de la arena de las muestras de Playa Grande, Almáciga y Las Teresitas.

<i>Humedad (%) (RSD%)</i>										
<i>Playa</i>	<i>Arena seca</i>					<i>Arena húmeda</i>				
	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5
<i>Playa Grande</i>	0,14 (10)	0,15 (5)	0,15 (10)	0,18 (6)	0,16 (9)	3,16 (9)	3,63 (6)	4,25 (6)	4,16 (2)	2,69 (1)
<i>Almáciga</i>	0,34 (4)	0,26 (9)	0,17 (8)	0,28 (9)	0,25 (8)	2,99 (7)	1,88 (10)	2,11 (10)	2,09 (6)	1,93 (8)
<i>Las Teresitas</i>	0,04 (10)	0,03 (13)	0,03 (11)	0,04 (14)	0,03 (9)	1,24 (13)	2,42 (10)	1,434(2)	1,56 (13)	3,41 (2)

En la *Tabla 4.9* se muestran los resultados obtenidos del análisis de las muestras de arena recogidas. Los resultados obtenidos están expresados en ng/g de arena seca, para aquellas muestras que superaron el LOQ del método.

Tabla 4.9. Resultados de los análisis de las muestras de arena seca y húmeda procedentes de Playa Grande, Almáciga y Las Teresitas.

Analitos	Playa	Concentración (ng/g)													
		Arena seca					Arena húmeda								
		Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5				
17α-etiltestradíol	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
17β-estradiol	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Bisfenol A	Playa Grande	0,25 \pm 0,01	0,19 \pm 0,01	nd											
	Almáciga	0,25 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	5,11 \pm 0,01	5,04 \pm 0,01	4,79 \pm 0,01	5,08 \pm 0,01					
	Las Teresitas	0,21 \pm 0,01	0,20 \pm 0,01	0,78 \pm 0,01	nd	nd	nd	nd	5,10 \pm 0,01	4,95 \pm 0,01	nd	nd	nd	nd	nd
Boldenona	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cafeína	Playa Grande	1,24 \pm 0,03	0,96 \pm 0,03	0,65 \pm 0,03	0,53 \pm 0,03	1,21 \pm 0,03	9,01 \pm 0,03	7,22 \pm 0,03	8,03 \pm 0,03	6,53 \pm 0,03	8,25 \pm 0,03				
	Almáciga	0,10 \pm 0,03	<LOQ	0,68 \pm 0,03	<LOQ										
	Las Teresitas	1,70 \pm 0,03	0,39 \pm 0,03	0,79 \pm 0,03	0,63 \pm 0,03	0,47 \pm 0,03	<LOQ								
Carbamazepina	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cortisona	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla 4.9. Continuación.

		Concentración (ng/g)												
Análitos	Playa	Arena seca					Arena húmeda							
		Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5			
Ciclofosfamida	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
	Las Teresitas	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,68±0,05	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Estrona	Playa Grande	0,03±0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,91±0,02	0,76±0,02	0,47±0,02	0,65±0,02
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,04±0,02
Gemfibrozilo	Playa Grande	0,06±0,02	0,09±0,02	0,04±0,02	0,040±0,02	0,11±0,02	0,04±0,02	0,040±0,02	0,11±0,02	0,11±0,02	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	Nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	0,05±0,02	0,07±0,02	0,06±0,02	0,07±0,02	0,06±0,02	0,07±0,02	0,06±0,02	nd	nd	nd	nd
Levonorgestrel	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Tabla 4.9. Continuación.

		Concentración (ng/g)									
Analitos	Playa	Arena seca					Arena húmeda				
		Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5	Punto 1	Punto 2	Punto 3	Punto 4	Punto 5
Oxibenzona	Playa Grande	0,17±0,04	0,23±0,04	0,24±0,04	0,16±0,04	0,45±0,043	3,87±0,04	3,53±0,04	4,06±0,04	4,28±0,04	4,59±0,04
	Almáciga	0,23±0,04	0,28±0,04	0,28±0,04	0,30±0,04	0,18±0,04	7,28±0,04	10,24±0,043	2,95±0,04	7,66±0,04	6,40±0,04
	Las Teresitas	0,22±0,04	0,17±0,21	0,21±0,04	0,18±0,04	0,27±0,04	7,75±0,04	3,01±0,04	4,78±0,04	4,03±0,04	4,72±0,04
Progesterona	Playa Grande	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,09±0,00019	<LOQ	0,12±0,00019	<LOQ	<LOQ
	Almáciga	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Testosterona	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	Nd	<LOQ	0,04±0,00019
	Las Teresitas	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Trimetoprima	Playa Grande	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Almáciga	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	nd	nd
	Las Teresitas	<LOQ	nd	<LOQ	<LOQ	<LOQ	nd	<LOQ	<LOQ	nd	<LOQ

Respecto a los resultados obtenidos, se puede observar que en las muestras de arena de Playa Grande, Almáciga y Las Teresitas la mayoría de los analitos no pudieron ser detectados o bien se hallaron en concentraciones inferiores al LOQ del método y, por ello, no se pudieron cuantificar.

Tal y como se puede apreciar en la tabla, en las muestras de Playa Grande se encontraron concentraciones superiores al LOQ del método para el bisfenol A en dos muestras de arena seca, gemfibrozilo en arena seca (concentraciones entre 0,06 y 0,11 ng/g), oxibenzona en arena seca y húmeda (concentraciones superiores en arena húmeda, entre 3,53 y 4,59 ng/g frente a 0,16 y 0,45 ng/g), cafeína en todas las muestras (con concentraciones comprendidas entre 0,53 y 9,01 ng/g y siendo las concentraciones superiores en arena húmeda) y estrona en una muestra de arena seca y en todas las muestras de arena húmeda (concentraciones entre 0,47 y 0,91 ng/g). Las concentraciones claramente superiores en arena húmeda (en algunos casos hasta 9 veces más), sugieren que estos analitos aparecen como resultado del vertido de aguas residuales cercanas (de hecho, existen una serie de emisarios cercanos denominados EBAR muelle del Porís, conducción del desagüe del Porís y el emisario del edificio Chinchorro; *Figura 4.7.*) y que, con el paso del tiempo, de la acción de la luz solar, altas temperaturas, etc. estos analitos podrían irse degradando, de ahí las menores concentraciones. Para contrastar esta hipótesis, sería necesario analizar también las muestras de agua de manera simultánea, así como posibles metabolitos de los mismos.



Figura 4.7. Localización de los emisarios submarinos próximos a Playa Grande: EBAR muelle del Porís, conducción del desagüe del Porís y Emisario Edificio El Chinchorro (105).

En lo que respecta a Almáciga, se encontraron concentraciones por encima del LOQ del método para el bisfenol A en arena seca y húmeda (concentraciones 25 veces mayores en arena húmeda, entre

4,79 y 5,12 ng/g frente a 0,20 y 0,25 ng/g), oxibenzona en arena seca y húmeda (concentraciones hasta 58 veces mayores en arena húmeda, entre 2,95 y 10,24 ng/g frente a 0,18 y 0,30 ng/g), cafeína en concentraciones superiores al LOQ solo en dos muestras de arena seca (0,10 y 0,68 ng/g, si bien en el resto de muestras fueron detectadas pero por debajo del LOQ) y testosterona por debajo del LOQ en casi todas las muestras salvo en una en la que no fue detectada y otra en la que superó el LOQ (0,04 ng/g). Al igual que ocurría en el caso anterior, las concentraciones superiores en arena húmeda refuerzan las hipótesis anteriores, de hecho, también existen varios emisarios cercanos como la conducción del desagüe de Taganana (*Figura 4.8*).



Figura 4.8. Localización del emisario de Playa Almáciga: conducción del desagüe de Taganana (105).

Por último, en lo que respecta a las muestras de la playa de Las Teresitas, a pesar de ser una playa urbana, claramente diferente a las anteriores, solo se encontró bisfenol A por encima del LOQ en algunas muestras de arena seca y húmeda (también concentraciones superiores en el segundo caso, entre 4,95 y 5,10 ng/g frente a 0,20 y 0,78 ng/g), gemfibrozilo en arena seca en tres muestras de las 5 analizadas (concentraciones entre 0,05 y 0,07 ng/g), oxibenzona en ambos tipos de arena y también en concentraciones mayores en arena húmeda (hasta 45 veces más, entre 3,00 y 7,75 ng/g en arena seca y 0,17 y 0,27 ng/g en arena húmeda) y trimetoprima en algunas muestras de arena seca y húmeda pero por debajo del LOQ. Estos datos concuerdan también con los anteriores; de hecho, existen también varios emisarios cercanos, si bien la playa tiene una escollera y no se vierten directamente aguas residuales al interior de la misma. Como se puede apreciar, tanto el bisfenol A como la oxibenzona se hallan a elevadas concentraciones en la arena de todas las playas y por su parte la cafeína resulta abundante en Playa Grande.

En el primer caso, el bisfenol A es un disruptor endocrino presente como aditivo en numerosos productos tales como PVC, envases de alimentos, alimentos, bebidas, equipos médicos y deportivos, cosméticos, entre otros (106, 107). Se trata de uno de los compuestos con mayor impacto contaminante puesto que fue prohibido por Health Canada y la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos en la producción de envases alimentarios infantiles (108). Además, es difícilmente degradable en las plantas de tratamiento de aguas residuales y, por ello, se libera en los ecosistemas marinos y en los sedimentos, siendo capaz de bioacumularse en los organismos incluso en concentraciones de ng/L y µg/L. Diversos estudios afirman que los sedimentos se han convertido en sumideros de estos contaminantes y los transportan a distancias considerables (107). Asimismo, provoca efectos tóxicos en los organismos entre los que destacan problemas neurológicos, en la maduración sexual, el peso y la histopatología de los órganos reproductores masculinos y femeninos. Cabe destacar que dificultan el desarrollo de órganos como la glándula mamaria o ciertos tejidos (106).

Por todo ello, los impactos que producen los disruptores endocrinos en los ecosistemas aún son desconocidos, siendo necesario un control, regulación y el empleo de tecnologías eficaces que permitan su eliminación de las aguas residuales previo a su liberación en el medio ambiente. A su vez, resulta fundamental realizar un seguimiento de estos compuestos con el fin de aportar datos en tiempo real acerca de la extensión de los contaminantes para poder aplicar directrices y medidas de prevención (108).

En el segundo caso, el de la oxibenzona, se trata de uno de los filtros UV más utilizados en la actualidad puesto que se distribuye en una amplia gama de protectores solares y productos de higiene personal. Actualmente la FDA afirma que la oxibenzona es segura y eficaz, permitiéndose hasta un contenido del 6% en los protectores solares. Sin embargo, se ha detectado en productos de protección solar en cantidades elevadas que alcanzan el 10%. Su uso se ha incrementado notablemente debido a la problemática de la radiación UV y el cáncer de piel. A su vez, se halla en productos plásticos ya que impide su decoloración y degradación (109). Dicho compuesto se libera al medio ambiente a través de fuentes directas como las actividades recreativas de natación, navegación, disfrute de las playas e indirectas como los efluentes de aguas residuales (110). Su destino principal es la costa, ríos, lagos, aguas residuales y sedimentos. La oxibenzona presenta un elevado valor de K_{OW} (3,79), por lo tanto, se bioacumula en los tejidos de los animales marinos, comportándose como un disruptor endocrino y generando blanqueamiento en los corales. Además, afecta gravemente a las plantas y algas ya que limita el proceso de la fotosíntesis e impide la germinación de las semillas y su correcto desarrollo (109, 110).

Se ha detectado la presencia de oxibenzona en el 95% de los efluentes de aguas residuales y en el 86% de las aguas superficiales a nivel mundial. Las concentraciones en aguas se sitúan en torno a los 11 ng/L y 3,32 mg/L, en los sedimentos hasta 5,28 µg/L y en arenas de playa hasta los 35 µg/g (109). Por todo ello, es posible que su concentración sea tan elevada en este trabajo.

Por su parte, la cafeína es uno de los principales compuestos presentes en el café y en una amplia gama de productos tales como el té, refrescos o bebidas energéticas. También se utiliza como estimulante en un buen número de productos farmacéuticos. Tras su consumo, se metaboliza en el organismo y se excreta con las heces u orina. Posteriormente se libera en las aguas residuales a concentraciones de mg/L (111). Dicho compuesto se caracteriza por tener una elevada solubilidad y baja volatilidad, es persistente y tiende a bioacumularse y biomagnificarse en los organismos marinos. Diversos estudios afirman que se trata de un indicador antropogénico de la calidad del agua puesto que su presencia en el medio ambiente evidencia la existencia de contaminantes emergentes (112). También se considera un bioindicador humano que determina el tamaño y la dinámica de la población atendida por una planta de tratamiento de aguas residuales. De esta forma, se puede realizar un análisis del flujo de materiales en diversas matrices ambientales y de la repercusión de distintos contaminantes como los productos farmacéuticos y de higiene personal en el medio ambiente. Cabe destacar que el análisis de las aguas residuales urbanas y de los productos de excreción de diversos compuestos es un aspecto fundamental para llevar a cabo un seguimiento de los hábitos y estilos de vida de la población (111).

5. Conclusiones

La aplicación del método QuEChERS en combinación con la determinación mediante UHPLC-MS/MS ha permitido la extracción de una serie de contaminantes emergentes de diferentes tipos de arena de playa y su cuantificación en diversas muestras de Playa Grande, Almáciga y Las Teresitas.

Este método posee una serie de ventajas tales como una gran rapidez, ya que tan solo precisa dos etapas de preparación de la muestra (partición y *clean-up*) y es posible llevar a cabo extracciones simultáneas de lotes de 10-20 muestras en un tiempo reducido. Además, consume cantidades relativamente bajas de reactivos y de disolventes convencionales y las recuperaciones obtenidas son elevadas con una buena precisión.

En general, las recuperaciones obtenidas fueron satisfactorias, con porcentajes de recuperación comprendidos entre el 60 y el 120% para la práctica totalidad de los analitos con RSDs inferiores al 20%. Asimismo, se pudo constatar la existencia de un efecto matriz importante (supresión iónica en la mayoría de los casos) para la gran mayoría de los analitos, lo que hizo necesario llevar a cabo un calibrado en la matriz de la muestra.

En lo que respecta a la aplicación del método al análisis de muestras reales, y a pesar de que no se detectaron numerosos analitos, se pudo constatar la existencia de mayores concentraciones de bisfenol A, oxibenzona, cafeína y estrona en muchas de ellas, siempre a concentraciones superiores en arena húmeda.

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que los vertidos de aguas residuales que se liberan en zonas cercanas a las playas, así como el uso recreativo de la misma por parte de la población, introducen en el medio costero ciertos contaminantes emergentes, que aparecen en la arena de playa húmeda y algunos persisten también en la arena seca, en los que su concentración es, en general inferior a la encontrada en la arena húmeda.

Finalmente, cabe destacar que se debe continuar con este tipo de estudios con el fin de monitorizar los niveles de concentración de estos contaminantes emergentes vertidos en las aguas analizando tanto sus posibles fuentes (aguas residuales, entre otras) como la arena y agua de mar y de esta forma realizar un seguimiento y control de los mismos.

6. Referencias

1. Sauv , S.; Desrosiers, M. A review of what is an emerging contaminant. *Chemistry Central Journal* **2014**, *8*, 1-7 <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-15>
2. Water and Air Pollution. A&E Television Networks, 2020 <https://www.history.com/topics/natural-disasters-and-environment/water-and-air-pollution> Fecha de consulta: 20-02-2024.
3. National Ocean Service. National Oceanic and Atmospheric Administration. A brief history of pollution. https://oceanservice.noaa.gov/education/tutorial_pollution/02history.html Fecha de consulta: 20-02-2024.
4. Ukaogo, P. O.; Ewuzie, U.; Onwuka, C. V. *21 - Environmental pollution: causes, effects, and the remedies*; Chowdhary, P., Raj, A., Verma, D. and Akhter, Y., Eds.; In *Microorganisms for Sustainable Environment and Health*; Elsevier: 2020; pp 419-429 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819001-2.00021-8>
5. D’Surney, S. J.; Smith, M. D. *Chemicals of Environmental Concern*; Wexler, P., Ed.; In *Encyclopedia of Toxicology (Second Edition)*; Elsevier: New York, 2005; pp 526-530 <https://doi.org/10.1016/B0-12-369400-0/00206-4>
6. Kadadou, D.; Tizani, L.; Alsafar, H.; Hasan, S. W. Analytical methods for determining environmental contaminants of concern in water and wastewater. *MethodsX* **2024**, 102582 <https://doi.org/10.1016/j.mex.2024.102582>
7. Jacob, J. A review of the accumulation and distribution of persistent organic pollutants in the environment. **2013**.
8. Hagen, P. E.; Walls, M. P. The Stockholm Convention on persistent organic pollutants. *Nat. Resour. Environ.* **2005**, *19*, 49-52.
9. Ireland, N. National Implementation Plan for the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. **2013**.
10. Reglamento (UE) 2019/1021 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de junio de 2019 sobre contaminantes orgánicos persistentes <https://www.boe.es/doue/2019/169/L00045-00077.pdf> Fecha de consulta: 22/02/2024.
11. Lau, M. H. Y.; Leung, K. M. Y.; Wong, S. W. Y.; Wang, H.; Yan, Z. Environmental policy, legislation and management of persistent organic pollutants (POPs) in China. *Environmental Pollution* **2012**, *165*, 182-192 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.01.002>
12. Rashed, M. N.; Summers, J. K. *Persistent Organic Pollutants (POPs): Monitoring, Impact and Treatment; IntechOpen Series*, London 2022 <https://doi.org/10.5772/intechopen.100387>

13. US EPA, 2012. Water: Contaminant Candidate List 3. US. Environmental Protection Agency, Washington, DC <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/dws/ccl/ccl3.cfm>
14. Kumar, R.; Qureshi, M.; Vishwakarma, D. K.; Al-Ansari, N.; Kuriqi, A.; Elbeltagi, A.; Saraswat, A. A review on emerging water contaminants and the application of sustainable removal technologies. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* **2022**, *6*, 100219 <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2022.100219>
15. Morin-Crini, N.; Lichtfouse, E.; Liu, G.; Balaram, V.; Ribeiro, A. R. L.; Lu, Z.; Stock, F.; Carmona, E.; Teixeira, M. R.; Picos-Corrales, L. A. Worldwide cases of water pollution by emerging contaminants: a review. *Environmental Chemistry Letters* **2022**, *20*, 2311-2338 <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01447-4>
16. Wille, K.; De Brabander, H. F.; Vanhaecke, L.; De Wulf, E.; Van Caeter, P.; Janssen, C. R. Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2012**, *35*, 87-108 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.12.003>
17. Ojemaye, C. Y.; Pampanin, D. M.; Sydnes, M. O.; Green, L.; Petrik, L. The burden of emerging contaminants upon an Atlantic Ocean marine protected reserve adjacent to Camps Bay, Cape Town, South Africa. *Heliyon* **2022**, *8*, e12625 <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12625>
18. Stefanakis, A. I.; Becker, J. A. A review of emerging contaminants in water: Classification, sources, and potential risks. *Impact of water pollution on human health and environmental sustainability* **2016**, 55-80 DOI: [10.4018/978-1-7998-1210-4.ch008](https://doi.org/10.4018/978-1-7998-1210-4.ch008)
19. Puri, M.; Gandhi, K.; Kumar, M. S. Emerging environmental contaminants: A global perspective on policies and regulations. *J. Environ. Manage.* **2023**, *332*, 117344 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117344>
20. USEPA. Ultraviolet light disinfection technology in drinking water application – an overview. EPA 811-R-96-002 Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Ground Water and Drinking Water, **1996**.
21. Directive, E. C. 60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official journal of the European communities* **2000**, *22*, 2000.
22. Directive, E. C. 105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on environmental quality standards in the field of water policy, amending and subsequently repealing Council Directives 82/176. *Eec* **2008**, *83*, 84-97.
23. Directive, E. U. 39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. *Off.J.Eur.Union* **2013**, *226*, 1-17.

24. Barbosa, M. O.; Moreira, N. F.; Ribeiro, A. R.; Pereira, M. F.; Silva, A. M. Occurrence and removal of organic micropollutants: An overview of the watch list of EU Decision 2015/495. *Water Res.* **2016**, *94*, 257-279 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.047>
25. Decisión de ejecución (UE) 2015/495 de la comisión de 20 de marzo de 2015 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 <https://www.boe.es/doue/2015/078/L00040-00042.pdf> Fecha de consulta: 22/02/2024.
26. Real Decreto 3/2023, de 10 de enero, por el que se establecen los criterios técnico-sanitarios de la calidad del agua de consumo, su control y suministro. <https://www.boe.es/buscar/pdf/2023/BOE-A-2023-628-consolidado.pdf> Fecha de consulta: 22/02/2024.
27. Aristizabal-Ciro, C.; Botero-Coy, A. M.; López, F. J.; Peñuela, G. A. Monitoring pharmaceuticals and personal care products in reservoir water used for drinking water supply. *Environmental Science and Pollution Research* **2017**, *24*, 7335-7347 <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8253-1>
28. Patel, N.; Khan, M. D.; Shahane, S.; Rai, D.; Chauhan, D.; Kant, C.; Chaudhary, V. K. Emerging pollutants in aquatic environment: source, effect, and challenges in biomonitoring and bioremediation-a review. *Pollution* **2020**, *6*, 99-113 <https://doi.org/10.22059/poll.2019.285116.646>
29. Arguello-Pérez, M. Á; Mendoza-Pérez, J. A.; Tintos-Gómez, A.; Ramírez-Ayala, E.; Godínez-Domínguez, E.; Silva-Bátiz, F. d. A. Ecotoxicological analysis of emerging contaminants from wastewater discharges in the Coastal Zone of Cihuatlán (Jalisco, Mexico). *Water* **2019**, *11*, 1386 <https://doi.org/10.3390/w11071386>
30. Priya, A. K.; Gnanasekaran, L.; Rajendran, S.; Qin, J.; Vasseghian, Y. Occurrences and removal of pharmaceutical and personal care products from aquatic systems using advanced treatment- A review. *Environ. Res.* **2022**, *204*, 112298 <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112298>
31. Liu, N.; Jin, X.; Feng, C.; Wang, Z.; Wu, F.; Johnson, A. C.; Xiao, H.; Hollert, H.; Giesy, J. P. Ecological risk assessment of fifty pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Chinese surface waters: A proposed multiple-level system. *Environ. Int.* **2020a**, *136*, 105454 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105454>
32. Gracia-Lor E, Martinez M, Sancho JV, Peñuela G, Hernandez F. Multi-class determination of personal care products and pharmaceuticals in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid-chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta* **2012b**, *99*:1011–1023 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.07.091>
33. Gracia-Lor E, Sancho JV, Serrano R, Hernandez F. Occurrence and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment plants at the Spanish Mediterranean area of Valencia. *Chemosphere* **2012**, *87*:453– 462 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.025>

34. Muñoz I, Gomez JM, Molina-Díaz A, Huijbregts MAJ, Fernandez-Alba AR, García-Calvo E. Ranking potential impacts of priority and emerging pollutants in urban wastewater through life cycle impact assessment. *Chemosphere* **2008**, 74:37-44 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.029>
35. Kumar, M.; Sridharan, S.; Sawarkar, A. D.; Shakeel, A.; Anerao, P.; Mannina, G.; Sharma, P.; Pandey, A. Current research trends on emerging contaminants pharmaceutical and personal care products (PPCPs): A comprehensive review. *Sci. Total Environ.* **2023**, 859, 160031 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160031>
36. Khan, N. A.; López-Maldonado, E. A.; Majumder, A.; Singh, S.; Varshney, R.; López, J. R.; Méndez, P. F.; Ramamurthy, P. C.; Khan, M. A.; Khan, A. H.; Mubarak, N. M.; Amhad, W.; Shamshuddin, S. Z. M.; Aljundi, I. H. A state-of-art-review on emerging contaminants: Environmental chemistry, health effect, and modern treatment methods. *Chemosphere* **2023**, 344, 140264 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.140264>
37. Stec, M.; Astel, A. M. Distribution of Nine Organic UV Filters along the Shore Next to the Harbor Canals in the Middle Pomeranian Region (Northern Poland). *Water* **2023**, 15, 2403 <https://doi.org/10.3390/w15132403>
38. Pintado-Herrera, M. G.; Lara Martín, P. A. Fate and behavior of UV filters in the marine environment. *Sunscreens in Coastal Ecosystems: Occurrence, Behavior, Effect and Risk* **2020**, 59-83 https://doi.org/10.1007/698_2019_441
39. Nilsen, E.; Smalling, K. L.; Ahrens, L.; Gros, M.; Miglioranza, K. S.; Picó, Y.; Schoenfuss, H. L. Critical review: grand challenges in assessing the adverse effects of contaminants of emerging concern on aquatic food webs. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2019**, 38, 46-60 <https://doi.org/10.1002/etc.4290>
40. Qin, X.; Liu, F.; Zhao, L.; Hou, H.; Wang, G.; Li, F.; Weng, L. Adsorption of levofloxacin to goethite: batch and column studies. *Environ. Eng. Sci.* **2016**, 33, 235-241 <https://doi.org/10.1089/ees.2015.0379>
41. Chen, H.; Akhtar, L. *Chapter 3 - Fate and transport of pharmaceuticals and personal care products in soils and groundwater*; Gao, B., Ed.; In *Emerging Contaminants in Soil and Groundwater Systems*; Elsevier: **2022**; pp 49-82 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824088-5.00004-5>
42. Xu, Y.; Yu, X.; Xu, B.; Peng, D.; Guo, X. Sorption of pharmaceuticals and personal care products on soil and soil components: Influencing factors and mechanisms. *Sci. Total Environ.* **2021**, 753, 141891 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141891>
43. Conde-Cid, M.; Fernández-Calviño, D.; Fernández-Sanjurjo, M. J.; Núñez-Delgado, A.; Álvarez-Rodríguez, E.; Arias-Estévez, M. Effects of pine bark amendment on the transport of sulfonamide antibiotics in soils. *Chemosphere* **2020**, 248, 126041 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126041>

44. Vila, M.; Llompart, M.; Garcia-Jares, C.; Homem, V.; Dagnac, T. Development and optimization of a solid-phase microextraction gas chromatography–tandem mass spectrometry methodology to analyse ultraviolet filters in beach sand. *Journal of Chromatography A* **2018**, *a*, 1564, 59-68 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.06.016>
45. Capela, D.; Vila, M.; Llompart, M.; Dagnac, T.; García-Jares, C.; Alves, A.; Homem, V. Footprints in the sand – Assessing the seasonal trends of volatile methylsiloxanes and UV-filters. *Mar. Pollut. Bull.* **2019**, *140*, 9-16 <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.021>
46. Apel, C.; Tang, J.; Ebinghaus, R. Environmental occurrence and distribution of organic UV stabilizers and UV filters in the sediment of Chinese Bohai and Yellow Seas. *Environmental Pollution* **2018**, *235*, 85-94 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.051>
47. Sánchez-Brunete, C.; Miguel, E.; Albero, B.; Tadeo, J. L. Analysis of salicylate and benzophenone-type UV filters in soils and sediments by simultaneous extraction cleanup and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2011**, *1218*, 4291-4298 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.030>
48. Pintado-Herrera, M. G.; González-Mazo, E.; Lara-Martín, P. A. In-cell clean-up pressurized liquid extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry determination of hydrophobic persistent and emerging organic pollutants in coastal sediments. *Journal of Chromatography A* **2016**, *1429*, 107-118 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.12.040>
49. Clergeaud, F.; Fagervold, S. K.; Rodrigues, A. M.; Thorel, E.; Stien, D.; Lebaron, P. Transfer of 7 organic UV filters from sediment to the ragworm *Hediste diversicolor*: Bioaccumulation of benzophenone-3 and further proof of octocrylene metabolism. *Pollutants* **2022**, *2*, 23-31 <https://doi.org/10.3390/pollutants2010004>
50. Li, S.; Lu, G.; Xie, Z.; Ding, J.; Liu, J.; Li, Y. Sorption and degradation of selected organic UV filters (BM-DBM, 4-MBC, and OD-PABA) in laboratory water-sediment systems. *Environmental Science and Pollution Research* **2016**, *23*, 9679-9689 <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6126-2>
51. Hu, Y.; Yang, Q.; Sun, J.; Chen, Q.; Fan, J.; Mei, X. Adsorption and desorption behaviors of four endocrine disrupting chemicals in soils from the water-level fluctuation zone of the Three Gorges Reservoir, China. *Sustainability* **2018**, *10*, 2531 <https://doi.org/10.3390/su10072531>
52. Sun, K.; Jin, J.; Gao, B.; Zhang, Z.; Wang, Z.; Pan, Z.; Xu, D.; Zhao, Y. Sorption of 17 α -ethinyl estradiol, bisphenol A and phenanthrene to different size fractions of soil and sediment. *Chemosphere* **2012**, *88*, 577-583 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.03.034>
53. Benedé, J. L.; Chisvert, A.; Moyano, C.; Giokas, D. L.; Salvador, A. Expanding the application of stir bar sorptive-dispersive microextraction approach to solid matrices: Determination of ultraviolet filters in coastal sand samples. *Journal of Chromatography A* **2018**, *1564*, 25-33 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.06.003>

54. Rodil, R.; Moeder, M. Development of a simultaneous pressurised-liquid extraction and clean-up procedure for the determination of UV filters in sediments. *Anal. Chim. Acta* **2008**, *612*, 152-159 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.030>
55. Giokas, D. L.; Salvador, A.; Chisvert, A. UV filters: From sunscreens to human body and the environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2007**, *26*, 360-374 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.02.012>
56. Gago-Ferrero, P.; Diaz-Cruz, M. S.; Barceló, D. An overview of UV-absorbing compounds (organic UV filters) in aquatic biota. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2012**, *404*, 2597-2610 <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6067-7>
57. Jeon, H.; Chung, Y.; Ryu, J. Simultaneous determination of benzophenone-type UV filters in water and soil by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1131*, 192-202 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.07.036>
58. Montes-Grajales, D.; Fennix-Agudelo, M.; Miranda-Castro, W. Occurrence of personal care products as emerging chemicals of concern in water resources: A review. *Sci. Total Environ.* **2017**, *595*, 601-614 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.286>
59. Balakrishna, K.; Rath, A.; Praveenkumarreddy, Y.; Guruge, K. S.; Subedi, B. A review of the occurrence of pharmaceuticals and personal care products in Indian water bodies. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2017**, *137*, 113-120 <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.014>
60. Kallenborn, R.; Brorström-Lundén, E.; Reiersen, L.; Wilson, S. Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Arctic environments: indicator contaminants for assessing local and remote anthropogenic sources in a pristine ecosystem in change. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, *25*, 33001-33013 <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9726-6>
61. Tarazona, I.; Chisvert, A.; Salvador, A. Development of a gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of ultraviolet filters in beach sand samples. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 7772-7780 <https://doi.org/10.1039/C4AY01403K>
62. Gago-Ferrero, P.; Díaz-Cruz, M. S.; Barceló, D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the multi-residue analysis of organic UV filters and their transformation products in the aquatic environment. *Analytical Methods* **2013**, *5*, 355-366 <https://doi.org/10.1039/C2AY26115D>
63. Kameda, Y.; Kimura, K.; Miyazaki, M. Occurrence and profiles of organic sun-blocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes. *Environmental pollution* **2011**, *159*, 1570-1576 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.055>
64. Celeiro, M.; Llompарт, M.; Dagnac, T. Green analytical methodologies to determine personal care products in solid environmental matrices: Soils, sediments, sludge and biota - A review. *Advances in Sample Preparation* **2022**, *2*, 100013 <https://doi.org/10.1016/j.sampre.2022.100013>

65. Rodrigues, A. M.; Lebaron, P.; Downs, C. A.; Stien, D. Optimization method for quantification of sunscreen organic ultraviolet filters in coastal sands. *Journal of Separation Science* **2021**, *44*, 3338-3347 <https://doi.org/10.1002/jssc.202100400>
66. Montesdeoca-Esponda, S.; Sosa-Ferrera, Z.; Santana-Rodríguez, J. J. Microwave-assisted extraction combined with on-line solid phase extraction followed by ultra-high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric determination of benzotriazole UV stabilizers in marine sediments and sewage sludges. *Journal of separation science* **2013**, *36*, 781-788 <https://doi.org/10.1002/jssc.201200664>
67. Vila, M.; Llompart, M.; Garcia-Jares, C.; Dagnac, T. Different miniaturized extraction methodologies followed by GC–MS/MS analysis for the determination of UV filters in beach sand. *Journal of separation science* **2018b**, *41*, 3449-3458 <https://doi.org/10.1002/jssc.201800203>
68. Anastassiades M., Lehotay S.J. , Stajnbaher D. ,Schenck F.J. , Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce, *J. AOAC* **2003**, *Int.* *86*, , 412-431 <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>
69. Rejczak, T.; Tuzimski, T. A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach. *Open Chemistry* **2015**, *13*, 000010151520150109. <https://doi.org/10.1515/chem-2015-0109>
70. Muhammad, M.; Jan, M. R.; Shah, J.; Ara, B.; Akhtar, S.; Rahman, H. U. Evaluation and statistical analysis of the modified QuEChERS method for the extraction of pinoxaden from environmental and agricultural samples. *Journal of Analytical Science and Technology* **2017**, *8*, 1-10 <https://doi.org/10.1186/s40543-017-0123-z>
71. Payá, P.; Anastassiades, M.; Mack, D.; Sigalova, I.; Tasdelen, B.; Oliva, J.; Barba, A. Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2007**, *389*, 1697-1714 <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1610-7>
72. Zhao, H.; Li, M.; Liu, X.; Yang, J.; Li, X.; Chen, J.; Dai, X.; Simal-Gandara, J.; Kong, Z.; Li, Z. Simultaneous determination of succinate-dehydrogenase-inhibitor fungicide traces in cereals by QuEChERS preparation and UPLC-MS/MS analysis. *Food Chem.* **2022**, *396*, 133708 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133708>
73. Fuentes López, A.; García Martínez, E. M.; Fernández Segovia, I. Procedimiento de extracción en fase sólida dispersiva QuEChERS para el análisis de plaguicidas 2015.
74. González-Curbelo, M. Á; Socas-Rodríguez, B.; Herrera-Herrera, A. V.; González-Sálamo, J.; Hernández-Borges, J.; Rodríguez-Delgado, M. Á Evolution and applications of the QuEChERS

- method. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2015**, *71*, 169-185
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.012>
75. Perestrelo, R.; Silva, P.; Porto-Figueira, P.; Pereira, J. A. M.; Silva, C.; Medina, S.; Câmara, J. S. QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1070*, 1-28 <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>
76. Musarurwa, H.; Chimuka, L.; Pakade, V. E.; Tavengwa, N. T. Recent developments and applications of QuEChERS based techniques on food samples during pesticide analysis. *Journal of Food Composition and Analysis* **2019**, *84*, 103314 <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103314>
77. Santana-Mayor, A.; Rodríguez-Ramos, R.; Herrera-Herrera, A. V.; Socas-Rodríguez, B.; Rodríguez-Delgado, M. A. Updated overview of QuEChERS applications in food, environmental and biological analysis (2020–2023). *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2023**, *169*, 117375 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117375>
78. Ibañez, E.; Cifuentes, A. Green extraction techniques: principles, advances and applications. **2017**.
79. Santana-Mayor, Á; Socas-Rodríguez, B.; Herrera-Herrera, A. V.; Rodríguez-Delgado, M. Á Current trends in QuEChERS method. A versatile procedure for food, environmental and biological analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2019**, *116*, 214-235 DOI:10.1016/j.trac.2019.04.018.
80. CEN (European Committee for Standardization) Foods of plant origin-Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE. *QuEChERS-method.EN* **2008**, 15662, 2008.
81. Lehotay, S. J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. *J. AOAC Int.* **2007**, *90*, 485-520 <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.2.485>
82. Ferreira, J. A.; Ferreira, J. M. S.; Talamini, V.; de Fátima Facco, J.; Rizzetti, T. M.; Prestes, O. D.; Adaime, M. B.; Zanella, R.; Bottoli, C. B. G. Determination of pesticides in coconut (*Cocos nucifera* Linn.) water and pulp using modified QuEChERS and LC-MS/MS. *Food Chem.* **2016**, *213*, 616-624 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.114>
83. Tuan, S.; Tsai, H.; Hsu, S.; Li, H. Multiresidue analysis of 176 pesticides and metabolites in pre-harvested fruits and vegetables for ensuring food safety by gas chromatography and high performance liquid chromatography. *J. Food Drug Anal.* **2009**, *17*, 8. <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2611>
84. Maštovská, K.; Lehotay, S. J. Evaluation of common organic solvents for gas chromatographic analysis and stability of multiclass pesticide residues. *Journal of Chromatography A* **2004**, *1040*, 259-272 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.04.017>
85. Lehotay, S. J.; Anastassiades, M.; Majors, R. E. The QuEChERS Revolution. *Lc Gc Europe* **2010**, *23*, 418-428.

86. Štajnbaher, D.; Zupančič-Kralj, L. Multiresidue method for determination of 90 pesticides in fresh fruits and vegetables using solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2003**, *1015*, 185-198 [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01211-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01211-1)
87. Chamkasem, N.; Schenck, F. J.; Armstead, H.; Parker, A.; Wong, J. W.; Dimandja, J. D.; Mitchell, L. A Rapid Multiresidue Method for Determination of Pesticides in Fruits and Vegetables by Using Acetone Extraction/Partitioning and Solid-Phase Extraction Column Cleanup, **2009** DOI [10.13140/2.1.2578.1761](https://doi.org/10.13140/2.1.2578.1761)
88. Alsefri, S.; Balbaied, T.; Alatawi, H.; Albalawi, I.; Hogan, A.; Moore, E. Development of the QuEChERS Extraction Method for the Determination of Polychlorinated Biphenyls (Aroclor 1254) in Soil Samples by Using GC-MS. *Separations* **2023**, *10*, 250 <https://doi.org/10.3390/separations10040250>
89. Lupo, S. A.; Romesberg, R. L.; Lu, X. Automated inline pigment removal for the analysis of pesticide residues in spinach by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2020**, *1629*, 461477 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461477>
90. Leite, M.; Freitas, A.; Barbosa, J.; Ramos, F. Comprehensive assessment of different extraction methodologies for optimization and validation of an analytical multi-method for determination of emerging and regulated mycotoxins in maize by UHPLC-MS/MS. *Food Chemistry Advances* **2023**, *2*, 100145 <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100145>
91. Bernardi, G.; Kemmerich, M.; Ribeiro, L. C.; Adaime, M. B.; Zanella, R.; Prestes, O. D. An effective method for pesticide residues determination in tobacco by GC-MS/MS and UHPLC-MS/MS employing acetonitrile extraction with low-temperature precipitation and d-SPE clean-up. *Talanta* **2016**, *161*, 40-47 <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.08.015>
92. Iosif, K.; Konstantinou, I. Determination of Pesticide Residues in Olive Oil Using QuEChERS Extraction and Liquid Chromatography–Orbitrap High-Resolution Mass Spectrometry: Comparison of Different Clean-Up Sorbents and Validation Study. *Sustainability* **2023**, *15*, 8714 <https://doi.org/10.3390/su15118714>
93. López-Blanco, R.; Nortes-Méndez, R.; Robles-Molina, J.; Moreno-González, D.; Gilbert-López, B.; García-Reyes, J. F.; Molina-Díaz, A. Evaluation of different cleanup sorbents for multiresidue pesticide analysis in fatty vegetable matrices by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2016**, *1456*, 89-104 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.06.019>
94. Parrilla Vázquez, P.; Hakme, E.; Uclés, S.; Cutillas, V.; Martínez Galera, M.; Mughari, A. R.; Fernández-Alba, A. R. Large multiresidue analysis of pesticides in edible vegetable oils by using efficient solid-phase extraction sorbents based on quick, easy, cheap, effective, rugged and safe methodology followed by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2016**, *1463*, 20-31 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2016.08.008>

95. Zhou, J.; Xu, J.; Cong, J.; Cai, Z.; Zhang, J.; Wang, J.; Ren, Y. Optimization for quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction of mycotoxins and veterinary drugs by response surface methodology for application to egg and milk. *Journal of Chromatography A* **2018**, *1532*, 20-29 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.11.050>
96. Luke, M. A.; Froberg, J. E.; Masumoto, H. T. Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen, and hydrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* **1975**, *58*, 1020-1026 <https://doi.org/10.1093/jaoac/58.5.1020>
97. Lehotay, S. J.; Lightfield, A. R.; Harman-Fetcho, J. A.; Donoghue, D. J. Analysis of pesticide residues in eggs by direct sample introduction/gas chromatography/tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4589-4596. <https://doi.org/10.1021/jf0104836>
98. González-Curbelo, M. Á; Lehotay, S. J.; Hernández-Borges, J.; Rodríguez-Delgado, M. Á Use of ammonium formate in QuEChERS for high-throughput analysis of pesticides in food by fast, low-pressure gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2014**, *1358*, 75-84 <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.06.104>
99. Nanita, S. C.; Kaldon, L. G. Emerging flow injection mass spectrometry methods for high-throughput quantitative analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry* **2016**, *408*, 23-33 <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9193-1>
100. Pubchem database <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> Fecha de consulta: 18/01/2024
101. Drugbank database <https://go.drugbank.com/> Fecha de consulta: 18/01/2024
102. Jing, W.; Nakano, K.; Shen, Z.; Okuda, T. Optimization of the QuEChERS extraction method to determine Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in powder aerosol particles collected by cyclone. *Environmental Technology & Innovation* **2023**, *31*, 103141 <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103141>
103. European Commission. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed 11312/2021. https://food.ec.europa.eu/system/files/2022-02/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf (Fecha de consulta: 13/02/2024).
104. Matuszewski, B. K.; Constanzer, M. L.; Chavez-Eng, C. M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC– MS/MS. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3019-3030 <https://doi.org/10.1021/ac020361s>
105. IDECanarias. Sistema de Información Territorial de Canarias. Visor de Grafcan. <https://visor.grafcan.es/visorweb/> Fecha de consulta: 15/02/2024.
106. Vandenberg, L. N.; Prins, G. S. Clarity in the face of confusion: new studies tip the scales on bisphenol A (BPA). *Andrology* **2016**, *4*, 561 <https://doi.org/10.1111/andr.12219>

107. Gu, Y.; Yu, J.; Hu, X.; Yin, D. Characteristics of the alkylphenol and bisphenol A distributions in marine organisms and implications for human health: A case study of the East China Sea. *Sci. Total Environ.* **2016**, *539*, 460-469 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.011>
108. Sta. Ana, K. M.; Galera, K. C.; Espino, M. P. Contamination of Bisphenol A, Nonylphenol, Octylphenol, and Estrone in Major Rivers of Mega Manila, Philippines. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2024** <https://doi-org.accedys2.bbtck.ull.es/10.1002/etc.5778>
109. Scheele, A.; Sutter, K.; Karatum, O.; Danley-Thomson, A. A.; Redfern, L. K. Environmental impacts of the ultraviolet filter oxybenzone. *Sci. Total Environ.* **2023**, *863*, 160966 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160966>
110. Zhang, S.; Wang, X.; Yang, H.; Xie, Y. F. Chlorination of oxybenzone: Kinetics, transformation, disinfection byproducts formation, and genotoxicity changes. *Chemosphere* **2016**, *154*, 521-527 <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.116>
111. Senta, I.; Gracia-Lor, E.; Borsotti, A.; Zuccato, E.; Castiglioni, S. Wastewater analysis to monitor use of caffeine and nicotine and evaluation of their metabolites as biomarkers for population size assessment. *Water Res.* **2015**, *74*, 23-33 <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.02.002>
112. Choque-Quispe, D.; Herbas-De la Cruz, R. K.; Ligarda-Samanez, C. A.; Solano-Reynoso, A. M.; Buleje-Campos, D.; Choque-Quispe, Y.; Muñoz-Saenz, J. C.; Pumacayo-Sanchez, Z. O.; Sumarriva-Bustinza, L. A.; Ticona, N. A. S. Caffeine, surfactants and organic matter in a high Andean River: Chumbao River case, Apurimac, Peru. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* **2024**, *9*, 100548 <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100548>