



Universidad de Jaén

Facultad de Ciencias
Experimentales

DETERMINACIÓN DE COCAÍNA Y BENZOILECGONINA EN AGUAS SUPERFICIALES

Autor: Francisca Palomo Moral

Grado: Química

Fecha: 06/06/2024



CREA



UNIVERSIDAD
DE JAÉN



Trabajo Fin de Grado

**DETERMINACIÓN DE
COCAÍNA Y
BENZOILECGONINA EN
AGUAS SUPERFICIALES**

Alumno: Francisca Palomo Moral

Jaén, Junio, 2024

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Contaminación en el agua	2
1.2. Legislación	2
1.3. Contaminantes emergentes	6
1.4. Tipos de contaminantes emergentes	10
1.4.1. Retardantes de llama	10
1.4.2. Pesticidas	10
1.4.3. Compuestos perfluorados.....	12
1.4.4. Fármacos	13
1.4.5. Parafinas cloradas.....	13
1.4.6. Productos de cuidado personal	14
1.4.7. Plastificantes	15
1.4.8. Drogas de abuso y sus metabolitos.....	15
1.5. La cocaína como contaminante emergente	16
2. OBJETIVOS.....	20
3. METODOLOGÍA	20
4. MÉTODOS DE MUESTREO EN AGUAS SUPERFICIALES	21
5. TRATAMIENTO DE MUESTRA	25
5.1. Operaciones preliminares de la muestra.....	25
5.2. Técnicas de extracción para la determinación de cocaína en agua.....	25
5.2.1. Extracción en fase sólida.....	26
5.2.2. Microextracción líquido-líquido dispersiva	29
6. TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE COCAÍNA EN AGUA ...	31
6.1. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	31
6.1.1. Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas (HPLC-MS)	33
6.2. Cromatografía de gases	36
6.2.1. Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC-MS)	37
7. DATOS SOBRE LA CONTAMINACIÓN DE COCAÍNA Y BENZOILECGONINA EN AGUAS SUPERFICIALES	38
8. CONCLUSIÓN	43
9. BIBLIOGRAFÍA	46

RESUMEN

Los contaminantes emergentes son sustancias químicas o materiales que se han detectado recientemente en el agua, donde su presencia puede suponer una amenaza para el medio ambiente y la salud humana. Aunque se utilizarán en todo tipo de aplicaciones, no se habían podido determinar hasta la fecha, debido a la falta de métodos analíticos adecuados que detectaran concentraciones tan bajas. A pesar de ser compuestos que no están sometidos a ninguna regulación específica que limite su presencia en el agua, en un futuro podrían estar regulados si se identifica que supone un riesgo para el medio ambiente. Por esta razón, es importante idear técnicas de análisis sensibles y selectivas para la detección y cuantificación de estos contaminantes en los ecosistemas acuáticos.

Este Trabajo Fin de Grado se centra en el estudio de uno de estos contaminantes emergentes, la cocaína, así como su principal metabolito, la benzoilecgonina. Se recogen los diferentes tipos de muestreo, tratamiento de muestra y métodos de análisis para la determinación de dichas sustancias en aguas superficiales a nivel mundial.

ABSTRACT

Emerging contaminants are chemicals or materials that have recently been detected in water, where their presence may pose a threat to the environment and human health. Although they were used in all types of applications, they had not been determined to date, due to the lack of adequate analytical methods that would detect such low concentrations. Despite being compounds that are not subject to any specific regulation that limits their presence in water, in the future they could be regulated if it is determined that they pose a risk to the environment. For this reason, it is important to devise sensitive and selective analysis techniques for the detection and quantification of these contaminants in aquatic ecosystems.

This Final Degree Project focuses on the study of one of these emerging contaminants, cocaine, as well as its main metabolite, benzoylecgonine. The different types of sampling, sample treatment and analysis methods for the determination of these substances in surface waters worldwide are included.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Contaminación en el agua

El agua es un recurso natural escaso, vital para la vida y el mantenimiento del medio ambiente. Este recurso ha sufrido un deterioro alarmante debido al rápido desarrollo humano y económico.

La contaminación del agua es un grave problema, requiere políticas y técnicas adecuadas para monitorear y ejecutar estrategias para lograr soluciones. Se informa que la descarga anual de aguas residuales está en el rango de 1500 km³ (Kumar et al., 2022). A lo largo de los años se han vertido al medio grandes cantidades de sustancias bioactivas sintetizadas para su uso en diversas áreas, sin considerar las posibles consecuencias que podrían conllevar estos actos. Además de los problemas de contaminación, que comenzaron a hacerse evidentes a principios del siglo XIX, también hay que abordar la escasez de recursos, que se está volviendo alarmante debido al cambio climático, y la creciente desertificación del planeta.

Los riesgos y efectos de la contaminación del agua son difíciles de cuantificar porque las dosis tóxicas utilizadas suelen ser muy pequeñas y la presencia simultánea de varios contaminantes complica aún más el problema. Los más importantes son:

- Efectos tóxicos, cancerígenos y mutágenos.
- Impacto en la producción de alimentos.
- Restricciones para el uso de agua recreativa.
- Posibilidad de reducir el uso industrial y agrícola.

1.2. Legislación

Durante décadas, las investigaciones sobre la calidad del agua solían centrarse en nutrientes, contaminantes microbianos, metales pesados y contaminantes

prioritarios. La unión europea estableció un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas Directiva 2000/60/CE, conocida como la Directiva Marco del Agua (DMA) que entró en vigor el 22 de diciembre del 2000. Esta directiva se centra en garantizar una buena salud cualitativa y cuantitativa, es decir, en reducir y eliminar la contaminación y en garantizar que haya suficiente agua para sustentar la vida silvestre. Se aplica a las aguas superficiales interiores, de transición y costeras, así como a las aguas subterráneas. Se basa en un enfoque de distrito de cuenca fluvial para garantizar que los estados miembros de la Unión Europea cooperen para gestionar los ríos y otras masas de agua que comparten. En España se adoptó la Directiva 2000/60/CE el 20 de julio de 2001, mediante el Real Decreto Legislativo 1/2001.

La Unión Europea pretende garantizar que todas las masas de agua superficial alcancen un buen estado ecológico y químico. Para un buen estado ecológico, las aguas superficiales deben respetar ciertos niveles mínimos de los llamados elementos de calidad, incluidos los biológicos, hidromorfológicos, fisicoquímicos y los elementos de calidad en general. Para un buen estado químico, las aguas superficiales deben cumplir estándares mínimos de calidad para contaminantes seleccionados y deben reducir o eliminar gradualmente las emisiones de esas sustancias al agua.

La DMA también exige que los estados miembros establezcan y cumplan Normas de Calidad Ambiental (NCA) para controlar los niveles de concentración de estos compuestos en las aguas superficiales europeas Directiva 2008/105/CE. Sobre la base de estas NCA, los estados miembros deben establecer programas de seguimiento para tener una visión general completa del estado del agua dentro de cada demarcación hidrográfica.

Los esfuerzos de la comunidad científica se han centrado en el estudio de contaminantes químicos cuya presencia en el medio ambiente está o ha estado regulada por diversas leyes, especialmente, en el caso de los contaminantes prioritarios, estos presentan un riesgo significativo para las aguas debido a su toxicidad, persistencia y bioconcentración/bioacumulación. Los contaminantes

prioritarios están regulados según la Directiva 2013/39/UE del 12 de agosto de 2013 por la que se modifican las Directivas 2000/60/CE y 2008/105/CE en el ámbito de la política de aguas. En esta directiva se estableció un mecanismo de Lista de Vigilancia que suele incluir una serie de sustancias específicas que se consideran prioritarias para la vigilancia y el control debido a su potencial impacto en la calidad del agua, salud humana o el medio ambiente.

El propósito de la Lista de Vigilancia es identificar y priorizar aquellas sustancias que requieren una atención especial en términos de monitoreo, evaluación y posible acción regulatoria para mitigar su impacto. La comisión europea actualiza la lista de vigilancia cada dos años, sustituyendo los contaminantes con datos suficientes para evaluar el riesgo por otros nuevos contaminantes, por lo que los estados miembros deben analizar y enviar a la comisión europea los resultados de los seguimientos realizados y en base a ellos, la comisión evaluará si los contaminantes de la Lista de Observación deben incluirse en la Lista de Sustancias Prioritarias.

La Lista de Vigilancia se estableció en 2015, se actualizó en 2018, 2020 y nuevamente en 2022 (Figura 1.1.). La última lista de observación consta de las sustancias presentes en la (Figura 1.2.).



Figura 1.1. Listas de observación

Nombre de la sustancia/grupo de sustancias	N.º CAS ⁽¹⁾	N.º UE ⁽²⁾	Método analítico indicativo ⁽³⁾ ⁽⁴⁾	Límite máximo aceptable de detección o cuantificación del método (ng/l)
Sulfametoxazol ⁽⁵⁾	723-46-6	211-963-3	SPE-LC-MS-MS	100 ⁽¹¹⁾
Trimetoprim ⁽⁵⁾	738-70-5	212-006-2	SPE-LC-MS-MS	100 ⁽¹¹⁾
Venlafaxina y O-desmetilvenlafaxina ⁽⁶⁾	93413-69-5 93413-62-8	618-944-2 700-516-2	SPE-LC-MS-MS	6 ⁽¹¹⁾
<i>Compuestos azólicos ⁽⁷⁾</i>			SPE-LC-MS-MS	
Clotrimazol	23593-75-1	245-764-8		20 ⁽¹¹⁾
Fluconazol	86386-73-4	627-806-0		250 ⁽¹¹⁾
Imazalilo	35554-44-0	252-615-0		800 ⁽¹¹⁾
Ipconazol	125225-28-7	603-038-1		44 ⁽¹¹⁾
Metconazol	125116-23-6	603-031-3		29 ⁽¹¹⁾
Miconazol	22916-47-8	245-324-5		200 ⁽¹¹⁾
Penconazol	66246-88-6	266-275-6		1 700 ⁽¹¹⁾
Procloraz	67747-09-5	266-994-5		161 ⁽¹¹⁾
Tebuconazol	107534-96-3	403-640-2		240 ⁽¹¹⁾
Tetraconazol	112281-77-3	407-760-6		1 900 ⁽¹¹⁾
Dimoxistrobin Azoxistrobin ⁽⁸⁾	149961-52-4 131860-33-8	604-712-8 603-524-3	SPE-LC-MS-MS	32 ⁽¹¹⁾ 200 ⁽¹²⁾
Famoxadona	131807-57-3	603-520-1	SPE-LC-MS-MS	8,5 ⁽¹¹⁾
Diflufenicán	83164-33-4	617-446-2	SPE-LC-MS-MS	10 ⁽¹²⁾
Fipronil	120068-37-3	424-610-5	SPE-LC-MS-MS	0,77 ⁽¹²⁾
Clindamicina	18323-44-9	242-209-1	SPE-LC-MS-MS	44 ⁽¹²⁾
Ofloxacina	82419-36-1	680-263-1	SPE-LC-MS-MS	26 ⁽¹²⁾
Metformina y Guanilurea ⁽⁹⁾	657-24-9 141-83-3	211-517-8 205-504-6	SPE-LC-MS-MS	156 000 ⁽¹²⁾ 100 000 ⁽¹²⁾
<i>Agentes de protección solar ⁽¹⁰⁾</i>				
Butil-metoxidibenzoilmetano	70356-09-1	274-581-6	SPE-LC-MS-MS/ESI	3 000 ⁽¹²⁾
Octocrileno	6197-30-4	228-250-8		266 ⁽¹²⁾
Benzofenona-3	131-57-7	205-031-5		670 ⁽¹²⁾

Figura 1.2. Lista de observación de sustancias a efectos de seguimiento a nivel de la Unión (Decisión de Ejecución (UE) 2022/1307)

Las medidas legislativas adoptadas para prevenir la contaminación química del agua y los peligros que presenta, han contribuido a aliviar parcialmente esta situación. Sin embargo, la creciente demanda de agua y el continuo descubrimiento de nuevos contaminantes potencialmente peligrosos como los contaminantes emergentes indican claramente la necesidad de continuar la investigación en todas las áreas que puedan contribuir a proteger la salud humana y el medio ambiente, lograr un uso sostenible del agua, mitigar la sequía y los impactos climáticos.

Los contaminantes emergentes son compuestos para los cuales actualmente no existe ninguna regulación que requiera monitoreo o informes públicos sobre su presencia en descargas de aguas superficiales, aguas residuales o el agua potable. Debido a la falta información sobre los impactos, el destino y los niveles de concentración de los contaminantes emergentes. A los gobiernos les resulta problemático controlar su uso y también gestionar los niveles que ya se encuentran en el medio. En un futuro estos podrían estar regulados si se determinara que representan una amenaza para el medio acuático o a través de él. El riesgo está determinado atendiendo a la peligrosidad y a la concentración de las sustancias en el agua. Con respecto a la peligrosidad, gran variedad de emergentes se comportan como disruptores endocrinos (la exposición a ellos puede causar cambios en el crecimiento, desarrollo, reproducción y comportamiento de los organismos), entre otros efectos tóxicos.

La cocaína, así como su metabolito benzoilecgonina, son los contaminantes emergentes en los cuales se centra esta revisión bibliográfica. A día de hoy no se han legislado sus niveles de concentración máxima en aguas superficiales a nivel nacional o europeo.

1.3. Contaminantes emergentes

Las investigaciones sobre las propiedades del agua han llamado la atención sobre la presencia en el medio ambiente de una variedad de compuestos de origen antropogénico recientemente identificados. La aparición de estos compuestos traza en su mayoría orgánicos, conocidos como “contaminantes emergentes”, y sus efectos nocivos sobre las formas de vida acuáticas y terrestres, así como en la salud humana, es actualmente un tema de preocupación para la sociedad en general, ya que afectan significativamente a la calidad del agua y a la salud de los seres vivos.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA) define un contaminante emergente como una sustancia química o material que debido a una fuente reciente que se origina, o debido a una nueva vía que se ha desarrollado, y para la cual existe una falta de estándares de salud publicados, representa una

amenaza percibida, potencial o real para la salud humana o el medio ambiente. Los contaminantes emergentes no sólo se encuentran en las aguas residuales domésticas, sino también en las aguas superficiales y subterráneas y, por tanto, en las aguas potables (Morin-Crini et al., 2022).

Los avances en la industria química han dado lugar a la liberación de un número cada vez mayor de compuestos que son potencialmente perjudiciales para los seres humanos y los ecosistemas. Debido a la introducción o detección relativamente nueva de estos contaminantes, son compuestos sobre los cuales se sabe relativamente poco y sólo recientemente han sido reconocidos como contaminantes importantes del agua, por lo que existe un vacío en el conocimiento sobre su destino, comportamiento y efectos, así como de técnicas de tratamiento para eliminarlos eficazmente. Estos motivos son la razón por la cual no han sido regulados.

Los contaminantes emergentes son sustancias de preocupación mundial debido a su toxicidad (capacidad de una sustancia química de causar efectos nocivos cuando entran en contacto con los organismos vivos o su entorno), persistencia (resistencia a la degradación fotoquímica, biológica y/o química), bioconcentración (la sustancia tiene más afinidad con los tejidos de los organismos que con el agua), bioacumulación (proceso por el cual las sustancias químicas se acumulan en los organismos y alcanzan concentraciones superiores a las que se encuentran en el medio o en los alimentos) y transporte a larga distancia.

La disponibilidad de métodos analíticos para la determinación de contaminantes emergentes es inferior a la de otros contaminantes que han sido estudiados durante décadas, como las sustancias prioritarias. Gracias al desarrollo de nuevos métodos analíticos más sensibles, se ha podido alertar sobre la presencia de estos contaminantes en concentraciones muy bajas en las muestras de agua, a nivel mundial.

La aparición de estos contaminantes indeseables, así como los cambios en la concentración de componentes comunes del agua tienen su origen en el llamado "ciclo del agua" (Figura 1.3.), el cual combina diferentes partes del medio ambiente y

la actividad humana, aquí se produce la contaminación del agua, o más bien un cambio en su calidad. Según este ciclo, las principales fuentes y vías por las que los contaminantes ingresan al medio acuático incluyen descargas domésticas e industriales, de las actividades agrícolas, ganaderas, incluida la descarga directa de aguas residuales tratadas o sin tratar de plantas de tratamiento (PTAR) municipales, fugas de alcantarillado, y de los tanques sépticos (Damià Barceló et al., 2008).

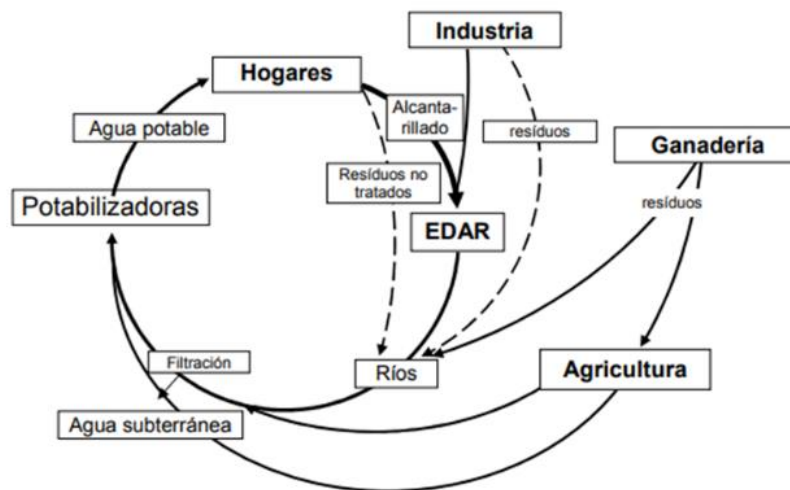


Figura 1.3. Ciclo del agua

El transporte y la conversión de contaminantes emergentes también dependen de las características fisicoquímicas y los parámetros ambientales, incluida la solubilidad en agua, la temperatura, la polaridad, la volatilidad, el contenido de materia orgánica, el pH, la precipitación, la altitud y la latitud. Estos factores deben considerarse al determinar la esperanza de vida de un contaminante emergente en el medio ambiente (Kumar et al., 2022). Normalmente, se originan en concentraciones que oscilan en el rango de partes por billón (ppb o $\mu\text{g/L}$) o partes por trillón (ppt o ng/L). Por esta razón, gran parte de las nuevas investigaciones se centran en la aparición de estos contaminantes en las aguas superficiales, ya que es más probable que contengan concentraciones más altas de contaminantes emergentes que las aguas subterráneas. Algunos de los contaminantes emergentes de aguas subterráneas más comúnmente detectados en el medio ambiente incluyen ibuprofeno, cafeína, bisfenol A, diclofenaco y carbamazepina (Kumar et al., 2022).

A pesar de los avances en las tecnologías de tratamiento, el diseño de las plantas de tratamiento actuales sigue siendo inadecuado para eliminar estos contaminantes emergentes, debido al uso ubicuo de muchos de estos compuestos y a la falta de métodos con una eficacia de eliminación adecuada, como la adsorción, la ozonización y sus combinaciones, ya que todos estos métodos tienen un elevado coste. Además, no existen en la actualidad normas sanitarias publicadas que brinden pautas en el tratamiento de estos contaminantes, por lo que es necesaria más investigación en este sentido.

El desarrollo de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes emergentes es una de las prioridades a día de hoy de las principales organizaciones dedicadas a proteger la salud pública y ambiental, como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la EPA y la Comisión Europea. Aunque aún no existe una clasificación general reconocida internacionalmente para las sustancias emergentes (Gogoi et al., 2018). Se propone una clasificación general de los contaminantes emergentes que incluye una variedad de productos de uso cotidiano, que nos están cubiertos por los programas actuales de tratamiento de agua, independientemente de su riesgo para la salud humana o el medio ambiente (Morin-Crini et al., 2022). La clasificación de contaminantes emergentes incluye:

- Productos farmacéuticos.
- Productos de cuidado personal y cosméticos.
- Sustancias industriales.
- Drogas lícitas e ilícitas.
- Pesticidas.
- Agentes biológicos.
- Persistencia involuntaria: hidrocarburos aromáticos, naftalenos, etc.
- Otras sustancias: microplásticos, radionúclidos, etc.

1.4. Tipos de contaminantes emergentes

Una amplia variedad de contaminantes emergentes está siendo estudiada en el medio acuático alrededor del mundo. Los contaminantes emergentes que requieren atención inmediata incluyen:

1.4.1. Retardantes de llama

La seguridad industrial contra incendios ha aumentado en los últimos años debido al uso de retardantes de llama químicos en muchos productos industriales. Aunque son muy útiles para prevenir incendios, daños, salvar vidas y reducir el coste económico que ocasionan, son responsables de la contaminación del agua, ya que no son eliminados totalmente en las plantas de tratamiento debido a su gran ubicuidad en el medio ambiente (se han detectado en una amplia gama de muestras, tanto humanas como animales y ambientales, así como en zonas alejadas de las zonas de mayor producción y uso). Esta circunstancia, su persistencia, bioconcentración, bioacumulación y algunos indicios de posibles efectos secundarios no completamente demostrados, como neurotoxicidad, disrupción endocrina y cáncer, han motivado la investigación y la necesidad de tomar medidas legislativas para controlarlo a nivel europeo (Pachés Giner, 2020).

La producción mundial de retardantes de llama es de 200.000 toneladas al año, de las cuales unas 47.000 toneladas son polibromodifenil éteres (Damià Barceló et al., 2008). Se utilizaron diversos métodos para el análisis, todos basados en cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), específicamente el método de dilución isotópica con GC-MS de alta resolución.

1.4.2. Pesticidas

Los pesticidas son sustancias químicas o mezclas de sustancias diseñadas para prevenir, destruir, repeler o mitigar las plagas. Los pesticidas, especialmente los más apolares, han sido objeto de estudio durante décadas debido a la normativa que los regulan, por lo que existe una gran cantidad de información sobre su existencia y destino en el medio acuático. Sin embargo, en los últimos años, el interés en estos compuestos se ha centrado en sus productos de descomposición, que hasta ahora

habían sido ignorados en gran medida y se ha demostrado que pueden ser más ubicuos y tóxicos que los compuestos originales. Los pesticidas generalizados se dividen en cuatro tipos: herbicidas, fungicidas, insecticidas y bactericidas.

Las investigaciones han demostrado que los metabolitos de los pesticidas ingresan a ambientes marítimos por escorrentía desde el sitio de aplicación y, dependiendo de la solubilidad del producto químico, estos contaminantes pueden bioacumularse en organismos vivos y plantas, siendo la principal fuente de exposición de la población los productos alimenticios de origen animal y vegetal. Generalmente, entre los pesticidas más utilizados se encuentran el endosulfán, el hexaclorociclohexano y el diclorodifeniltricloroetano (DDT) (Khan et al., 2022).

En 1978, la OMS estableció una clasificación de los plaguicidas (Tabla 1.1.), basada en su grado de toxicidad, definida como la capacidad del plaguicida de causar graves daños a la salud en un período de tiempo tras varias exposiciones (Gil et al., 2012).

Tabla 1.1. Clasificación de los plaguicidas según su toxicidad (Gil et al., 2012)

Clase	Toxicidad	Ejemplos
Clase IA	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	Eldrín, diclorvos
Clase II	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	Malatión

La vida media se define como el tiempo en el que la concentración máxima obtenida con la dosis administrada del plaguicida se ha reducido a la mitad. Esta clasificación se muestra a continuación (Tabla 1.2.).

Tabla 1.2. Clasificación de los plaguicidas según su vida media de efectividad (Gil et al., 2012)

Persistencia	Vida Media	Ejemplos
No persistente	De días hasta 12 meses	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
Moderadamente persistente	Semanas	Paratión, lannate
Persistente	De 1 a 18 meses	DDT, aldrín, dieldrín
Permanentes	De varios meses	Productos hechos a partir de mercurio, plomo, arsénico

La mayoría de los productos de degradación de pesticidas son compuestos polares para cuya determinación la cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS) es la más adecuada.

1.4.3. Compuestos perfluorados

Los compuestos perfluorados (PFC) se caracterizan por una cadena de carbono fluorado de longitud variable. Los PFC son un ejemplo de compuestos industriales que se han utilizado en una variedad de campos durante décadas, y que ahora se han descubierto como contaminantes extremadamente peligrosos y ampliamente extendidos en el medio ambiente. En el centro de las investigaciones se sitúa el perfluorooctano sulfonato o PFOS, un fluorosurfactante utilizado en espumas contra incendios, refrigerante, detergente, insecticidas, etc. Por otro lado, el ácido perfluorooctanoico o PFOA, que se utiliza para fabricar fluoropolímeros (PTFE) y fluoroelastómeros (PVDF), los cuales se emplean en una gran variedad de productos como textiles, envases de alimentos, y automóviles. Según investigaciones recientes, ambos compuestos son tóxicos y persistentes; el PFOA es carcinogénico mientras que el PFOS tiene mayor tendencia a bioacumularse.

Estos compuestos se han detectado en altas concentraciones en sangre e hígado humanos, y en aguas superficiales y subterráneas. Se ha demostrado que los PFC y

sus metabolitos son persistentes y bioacumulativos en el medio acuático y no se degradan fácilmente mediante tratamientos de aguas residuales (Wilkinson et al., 2017). Para su análisis se utilizan diversas técnicas como GC-MS y HPLC-MS, de las cuales HPLC-tándem MS con ionización por electrospray es considerada como la más adecuada.

1.4.4. *Fármacos*

Los productos farmacéuticos son un grupo de contaminantes emergentes y su presencia en el agua potable genera serias preocupaciones sobre el riesgo de efectos adversos en seres humanos y animales. Se encuentran entre las clases de sustancias químicas más utilizadas en nutrición, ayudas para el diagnóstico, remedios, tratamientos y medicina preventiva.

Las principales vías por las que estos productos llegan al medio ambiente son la excreción humana, el vertido de restos de medicamentos y el uso en la agricultura. Dependiendo de la naturaleza de la sustancia, sus metabolitos, productos de degradación, y las características de los suelos, estas sustancias pueden ingresar a las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos o persistir y acumularse en los suelos, lo que genera impactos en el ecosistema y los seres humanos a lo largo de la cadena alimentaria. Las dosis en aguas superficiales suelen ser pequeñas; sin embargo, algunas aguas residuales pueden contener hasta $\mu\text{g/L}$ (Rathi et al., 2021).

Los productos farmacéuticos que se reportan con mayor frecuencia en aguas incluyen: antibióticos, diclofenaco, ácido clofíbrico, antidepresivos, analgésicos, ácido salicílico, medicamentos antiinflamatorios, antipiréticos, betabloqueantes, nitroglicerina, lipídicos (Khan et al., 2022). Las técnicas de GC-MS y HPLC-MS son las más habituales para el análisis de fármacos.

1.4.5. *Parafinas cloradas*

Las parafinas cloradas son formulaciones industriales que consisten en una mezcla técnica de alcanos lineales policlorados, con cadenas de hidrocarburos que oscilan entre 10 y 30 C, y porcentajes de cloro comprendidos entre 30 y 70%. Estas formulaciones industriales tienen propiedades como retardantes de llama y

estabilizadores químicos. Estas sustancias están calificadas como altamente tóxicas para los organismos acuáticos y se ha observado bioacumulación en algunas especies.

Se desconoce su origen natural por lo que su contenido en el medio ambiente se debe a su producción y uso. Debido a su baja volatilidad, solubilidad en agua y propiedades lipófilas, son compuestos propensos a la adsorción en sedimentos (al mismo tiempo que son compuestos bioacumulables), donde se observan las concentraciones más altas. En aves, peces, mamíferos, etc. a niveles de hasta 12 mg/Kg. En humanos su presencia se ha detectado en diferentes órganos con concentraciones de hasta 190 ug/Kg en tejido adiposo, mientras que en el agua la concentración es mucho menor, en torno a $\mu\text{g/L}$, y las concentraciones más bajas han sido detectadas en la atmósfera (Damià Barceló et al., 2008).

El análisis de las parafinas cloradas supone un gran desafío debido a la extrema complejidad de las mezclas y la diversidad de propiedades físico-químicas. La técnica más utilizada es la GC-MS en modo de ionización negativa.

1.4.6. Productos de cuidado personal

Los productos de cuidado personal son un conjunto de sustancias químicas comunes que se utilizan para aplicación directa sobre el cuerpo humano para fines de cuidado individual y otros como, nutrición, belleza y limpieza. Generalmente, estos productos están destinados a alterar el olor, la apariencia y el tacto, además de no tener actividad bioquímica significativa.

Son productos de uso cotidiano que incluyen productos cosméticos, fragancias (compuestos de almizcle), filtros UV (protectores solares), detergentes, desodorantes y productos de limpieza que normalmente se vierten en las aguas residuales domésticas. Los filtros UV, que tienen actividad estrogénica, son los compuestos más frecuentes en aguas subterráneas y otros ambientes acuáticos (Gogoi et al., 2018). La mayoría de estas sustancias son bioactivas y se clasifican según su capacidad de retenerse y bioacumularse, representando una amenaza para la salud humana y el medio ambiente.

Dado que estos compuestos están destinados a su uso externo, en su estructura química no se producen cambios metabólicos e ingresan fácilmente al medio acuático, como las aguas residuales y avanzan hacia las EDAR, en sus estructuras nativas o biológicamente transformadas. Es recomendable continuar la investigación sobre este tipo de compuestos, particularmente para evaluar la posible alteración endocrina asociada con la exposición a filtros UV y los procesos de bioacumulación.

1.4.7. Plastificantes

Los plastificantes (PPCP) son compuestos que aumentan la plasticidad de los materiales y se utilizan comúnmente en la producción de productos/envases de plástico, resinas epoxi, revestimiento de tuberías de agua, entre otros. Los plastificantes comunes que se encuentran en el agua superficial incluyen bisfenol-A (BPA), bisfenol-S (BPS) y bisfenol-F (BPF).

El BPA, en particular, se fabrica en uno de los volúmenes más altos de cualquier PPCP del mundo, con más de 2 millones de toneladas métricas producidas anualmente. En 2011, en respuesta a la preocupación generalizada sobre la seguridad en los sectores público y científico, la Comisión Europea restringió el uso de BPA. Sin embargo, desde 2011, la producción mundial de BPA ha aumentado un 5,25% anual. En respuesta a la preocupación por la toxicidad ambiental del BPA, la EPA publicó un informe que describe 19 posibles reemplazos para el BPA y su toxicidad asociada. Los posibles reemplazos incluyen BPS, 2,4-bis(hidroxifenil)sulfona (2,4-BPS), BPF, 2,2-bis(4-hidroxi-3-metilfenil)propano (BPC) y 4,4-(1-feniletiliden)bisfenol (BPAP) entre otros. Sin embargo, cabe señalar que el informe de la EPA describe posibles reemplazos con una toxicidad similar o potencialmente mayor que la reportada para el BPA, como en el caso del BPF (Wilkinson et al., 2017).

1.4.8. Drogas de abuso y sus metabolitos

Las drogas ilícitas ingresan al sistema de aguas residuales en su forma inalterada y/o sus metabolitos activos a través de desechos humanos como la saliva y el sudor, ya sea después de su ingestión ilegal o debido a su eliminación accidental o

intencional de los laboratorios ilegales de drogas.

Tanto las drogas ilícitas como sus metabolitos son altamente resistentes a los métodos tradicionales de tratamiento de aguas. Por tanto, es necesario utilizar procesos avanzados de oxidación, ozonización, osmosis, etc. Sin embargo, la mayoría de los tratamientos no los incluyen debido a su alto coste, lo que provoca que tanto las drogas como sus metabolitos se filtren a las aguas superficiales e incluso a las aguas potables. Entre las drogas ilícitas más comúnmente estudiadas incluyen la anfetamina, la cocaína y su metabolito benzoilecgonina; heroína, MDMA y la morfina (Gil et al., 2012).

La determinación de concentración de drogas ilícitas en el medio ambiente es una herramienta indirecta para evaluar el nivel de consumo en la sociedad y los posibles efectos ecotoxicológicos. Las concentraciones en el agua disminuyen con el paso de los días y las horas; en las noches las concentraciones bajan, mientras en los fines de semana se ven incrementadas. Aunque las concentraciones de las diversas drogas y sus metabolitos en las aguas superficiales están en el rango de ng/L, no se puede excluir su posible impacto sobre la naturaleza y la salud humana. La técnica analítica más apropiada es HPLC-MS/MS, ya que es una técnica de gran fiabilidad.

En este Trabajo Fin de Grado voy a centrarme en el estudio de la cocaína como contaminante emergente en aguas superficiales.

1.5. La cocaína como contaminante emergente

El contaminante emergente en aguas superficiales seleccionado para realizar este estudio ha sido la cocaína ($C_{17}H_{21}N_3O_4$) (Figura 1.4.) o según nomenclatura IUPAC metil(1R,2R,3S,5S)-3-(benzoiloxi)-8-metil-8-azabicyclo[3.2.1]octano-2-carboxilato de metilo. La cocaína es una droga estimulante adictiva, se trata del principal éster alcaloide obtenido de las hojas de dos especies de arbustos, *Erythroxylum coca Lam* y *Erythroxylum novogranatense*. Pertenecen al grupo de las *Eritroxiláceas*, las cuales, son nativas de Sudamérica, principalmente de Colombia. Las hojas de

Erythroxylum novogranatense son las que contienen mayor proporción de alcaloides.

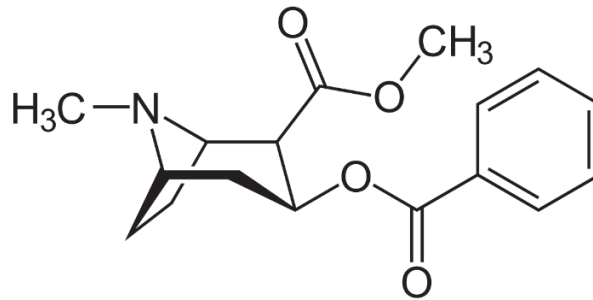


Figura 1.4. Estructura química de la cocaína

La cocaína ha sido utilizada por los pueblos indígenas desde la antigüedad (5000 a. C.) con fines mágicos, religiosos, medicinales y estimulantes. No fue hasta el año 1855, cuando un científico alemán de la Universidad de Gotinga, Albert Niemann, logró aislar por completo el alcaloide principal de la planta de la cocaína. Los primeros usos de esta sustancia estuvieron asociados con sus efectos analgésicos, pero debido a sus propiedades euforizantes y estimulantes, así como su facilidad de uso, se incrementó su uso entre la población en general. Se hizo popular en Estados Unidos entre los años 70 y 80, volviéndose ilegal en el año 1914, y en España no fue hasta 1944 cuando se introdujo en el Código Penal (González Llona et al., 2015).

La cocaína como base libre tiene un peso molecular de 303,35 g/mol, tiene la propiedad de fundirse a los 98 °C y alcanzar un punto de ebullición a los 250 °C, lo que la hace apta para ser fumada en cigarrillos, pulverizada y mezclada con tabaco entre otros, o inhalada en recipientes calientes (Flores E., 2008).

Esta droga se extrae de las hojas del arbusto por un proceso de precipitado de los alcaloides básicos que resulta en una pasta de coca, la cual tras su oxidación con ácido clorhídrico, se convierte en clorhidrato de cocaína ($C_{17}H_{22}NO_4^+ Cl^-$), que es la principal sustancia que se encuentra en la cocaína disponible ilegalmente, ya que es la más extendida y de fácil acceso entre la población. La sal de clorhidrato es soluble en agua, y está disponible en forma de polvo cristalino blanco y las vías de consumo más comunes son mediante vía nasal (*snorting*) y por vía intravenosa; por otro lado, la forma de base libre del clorhidrato de cocaína, es la cocaína base, comúnmente

denominada “Crack” (C₁₇H₂₁NO₄). El “Crack” es insoluble en agua, se presenta generalmente como cristales rosados y se obtiene calentando el clorhidrato de cocaína con una mezcla de bicarbonato de sodio o amoníaco y agua. Esta segunda vía de consumo se produce mediante inhalación o fumando.

Los efectos psicoactivos de la cocaína comienzan entre los 5 segundos y los 30 minutos tras su consumo, permaneciendo activos entre 5 y 90 minutos. La vía de administración determina la concentración en sangre, la velocidad de comienzo de la acción y la duración del efecto euforizante. Cuanto más rápido se absorbe la droga, más intensa será la euforia resultante, pero menos durará. Las vías más comunes son:

- Por vía nasal alcanza el cerebro a los 30 segundos y provoca un inicio relativamente lento del sentimiento de euforia que puede durar entre 15 y 30 minutos.
- Al fumar, la sensación de euforia aparece inmediatamente, ya que alcanza el cerebro a los 5 segundos, porque la cocaína en su forma básica atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica, pero el efecto dura solo de 5 a 10 minutos.
- Por vía intravenosa, la absorción de esta droga por el sistema nervioso central es rápida, con concentraciones máximas de cocaína en humanos entre 4-8 minutos después de la inyección, y su eliminación tarda un promedio de 20 minutos, tras la inyección.

El consumo de cocaína aparte de generar dependencia, también puede presentar complicaciones médicas graves. Algunas de las más frecuentes son efectos cardiovasculares, efectos neurológicos y en raras ocasiones, hasta la muerte.

El mecanismo de acción de la cocaína en el cuerpo humano se centra principalmente en la hendidura sináptica entre dos neuronas. Al inhibir la recaptación presináptica, la cocaína aumenta los niveles de noradrenalina, dopamina y, en menor medida, serotonina. Las acciones de la cocaína se realizan a través de diversos mecanismos:

1. La disminución de la permeabilidad de la membrana a los iones Na^+ conduce al bloqueo de la conducción nerviosa, lo que explica sus propiedades como anestésico local.

2. Actúa sobre los terminales monoaminérgicos y bloquea competitivamente los transportadores de dopamina, serotonina y noradrenalina, inhibiendo así su recaptación. Se cree que las propiedades euforizantes de la cocaína están relacionadas principalmente con sus efectos sobre los transportadores de dopamina y serotonina. El aumento de los niveles de dopamina provoca una sensación de euforia debida a la estrecha conexión entre este neurotransmisor y el sistema de recompensa cerebral. Por otro lado, el exceso de noradrenalina es responsable de la mayoría de los efectos físicos y complicaciones agudas de la cocaína, como aumento de presión arterial, dilatación pupilar, sudoración, temblor, etc. El consumo crónico también conduce a una disminución de la biodisponibilidad de serotonina.

La tasa de eliminación de la cocaína es independiente de la vía de administración. Existen dos formas de eliminación de la droga, mediante:

a) Ruptura metabólica (vía rápida).

b) Metabolización y excreción (vía lenta). Este último produce dos metabolitos principales: benzoilecgonina (alrededor del 45%, es el principal metabolito de la cocaína) y ecgonina metil éster (40%). Ninguno de estos dos metabolitos tiene actividad biológica significativa en humanos. Otros metabolitos menores incluyen ecgonina, norcocaína (2-6%) y cocaetileno. La norcocaína es un metabolito potencialmente activo, pero se produce en cantidades tan pequeñas que sus efectos en los seres humanos son insignificantes. El cocaetileno se produce cuando una persona consume alcohol junto con cocaína. Entre los metabolitos de la cocaína, el cocaetileno es de los más dañinos en seres humanos, ya que es especialmente tóxico para el corazón y en el hígado.

2. OBJETIVOS

De acuerdo con lo estipulado en el Artículo 7 del Reglamento de los Trabajos de Fin de Grado en la Facultad de Ciencias Experimentales de la UJA: “El TFG supone la realización por parte del alumnado de un proyecto, memoria o estudio en el que se integran y desarrollan contenidos formativos recibidos, y debe estar orientado a la aplicación de competencias asociadas al título de Grado” (Reglamento de los Trabajos de Fin de Grado en la Facultad de Ciencias Experimentales de la Universidad de Jaén, 2017).

El objetivo fundamental de este Trabajo Fin de Grado es realizar una revisión bibliográfica de la contaminación por cocaína y su principal metabolito en aguas superficiales, ambos de ellos contaminantes emergentes. Todo ello engloba el estudio de:

- Los diferentes tipos de muestreos en aguas superficiales, incluyendo sus ventajas y desventajas.
- Los tratamientos de muestras más comunes para muestras acuosas y analitos orgánicos, incluyendo sus ventajas y desventajas.
- Las técnicas de análisis más usualmente utilizadas, incluyendo sus ventajas y desventajas.
- Búsqueda de datos de concentraciones encontradas, límites de detección y cuantificación a nivel mundial y discusión de los mismos.

3. METODOLOGÍA

Debido al carácter bibliográfico del estudio, la metodología empleada consiste en la revisión de artículos científicos sobre contaminantes emergentes y más específicamente sobre la cocaína, que ha sido el analito escogido para el estudio.

Las bases de datos y herramientas utilizadas han sido: Google Académico, ScienceDirect, PubMed, Scopus y SpringerLink. Todas estas bases de datos han sido de gran ayuda con un fácil acceso a través de la Universidad de Jaén. Otra fuente de información utilizada ha sido el material utilizado en las diferentes asignaturas durante el transcurso del grado, como Química Analítica y Química Analítica Instrumental II.

Las etapas llevadas a cabo para realización de dicha revisión bibliográfica son: selección de las palabras clave, búsqueda de las palabras claves en las bases de datos antes mencionadas, filtrado de los resultados imponiendo ciertos criterios de búsqueda, lectura de referencias bibliográficas aparentemente válidas, además de selección y organización de la información de interés obtenida para el estudio.

Las palabras clave utilizadas con el objetivo de precisar y acotar la búsqueda de artículos científicos han sido: *determination, emerging contaminants, river, water, surface, illicit drug, cocaine*; todas las anteriores se han combinado de diferentes formas utilizando el conector AND para una búsqueda más exacta. Por otro lado, sólo se han seleccionado aquellos artículos publicados desde 2008 hasta la actualidad.

Las referencias de los artículos científicos, páginas webs, libros consultados para la elaboración del presente Trabajo Fin de Grado aparecen en el apartado final de "Bibliografía", la cual está redactada de acuerdo con el formato APA (estilo de redacción propuesto por la American Psychological Association), así como la redacción de este Trabajo de Fin de Grado se ha llevado a cabo siguiendo de acuerdo con las normas de estilo de los TFG de la Facultad de Ciencias Experimentales.

4. MÉTODOS DE MUESTREO EN AGUAS SUPERFICIALES

El muestreo se puede definir como el proceso de selección de una pequeña cantidad de material, representativo del medio, la cual será transportada y procesada en un laboratorio. Es tan importante que, en algunos casos, puede ser la principal fuente

de error durante todo el proceso analítico, siendo esta etapa una de las más importantes para obtener datos representativos que permitan una evaluación precisa de la contaminación. Por lo tanto, una vez determinado el propósito del análisis, será más conveniente desarrollar un plan de muestreo (Robles Molina et al., 2012).

Para conseguir la mayor representatividad del análisis se consideran tres tipos de muestras:

- Muestras simples, también conocidas como discretas, son aquellas tomadas en un tiempo y lugar específico para su análisis individual. La muestra es solo representativa en el momento y lugar donde fue recolectada. Por lo tanto, las muestras discretas son adecuadas cuando la composición de la muestra es independiente del tiempo. Las muestras simples se pueden recolectar de forma manual o automática.
- Las muestras compuestas es una mezcla obtenida mezclando y homogeneizando dos o más muestras simples tomadas en el mismo lugar pero en diferentes tiempos. Las muestras compuestas se pueden recolectar manualmente o mediante un muestreador automático.
- Muestras integradas es una muestra obtenida mezclando y homogeneizando muestras simples recolectadas en diferentes puntos de muestreo en el menor intervalo de tiempo posible. Este tipo de muestras son adecuadas para grandes extensiones de agua.

Es importante que las muestras de agua recolectadas sean homogéneas, representativas, y que los procesos de recolección, transporte y almacenamiento no alteren las propiedades fisicoquímicas o biológicas de las mismas. Los principales problemas que encontramos a la hora de tomar muestras acuosas son la falta de representatividad de la matriz y la integridad de la muestra hasta el momento de su análisis. Para el tipo de analito estudiado en esta revisión bibliográfica, se toman muestras integradas, ya que este tipo de muestras son las más adecuadas para grandes extensiones de agua, como ríos, pantanos, etc.

El muestreo de aguas superficiales se realiza para determinar la calidad del agua en ríos, lagos y embalses. La evaluación incluye factores de calidad biológica

(composición, abundancia de la flora y la fauna acuática), factores de calidad físicoquímicos (condiciones de temperatura, contenido de oxígeno, salinidad, nutrientes y contaminantes) y factores de calidad hidromorfológicos (caudal y flujo de las aguas, continuidad, profundidad, anchura y distancia a la fuente o la orilla).

Si nos centramos únicamente en los métodos de muestreo, nos encontraremos con dos tipos:

- El muestreo manual: el proceso de toma de muestra manual es laborioso, las muestras podrán tomarse llenando directamente el recipiente o si esto no es posible, utilizando equipos auxiliares. En el caso de tomarse directamente, la muestra se recoge en una botella de vidrio, se transporta posteriormente a un laboratorio y se analiza en función de ciertos parámetros. Al recolectar agua de río, el recipiente se sujeta por la base en posición invertida y, dándole la vuelta en sentido contrario a la corriente, quedando completamente sumergido en el agua (Asociación española de abastecimiento de agua y saneamiento, 2019).
- El muestreo automático: los equipos de muestreo automático ofrecen ventajas en muchas situaciones de muestreo porque permiten recolectar muestras continuas o de series de muestras sin intervención manual. Los muestreadores pueden funcionar en función del tiempo o en del caudal. Funcionan bombeando agua a un recipiente ubicado dentro del dispositivo y existe una variedad de sistemas de bombeo. Gran número de muestreadores automáticos temporizados están diseñados para recolectar muestras en intervalos de tiempo libremente escogidos (Asociación española de abastecimiento de agua y saneamiento, 2019).

Es necesario considerar varios parámetros al seleccionar el equipo de muestreo. Los más relevantes son los costos, la facilidad de uso, la ubicación física del punto de muestreo, la compatibilidad con los analitos y la limpieza. Las ventajas de implementar un método automático sobre el manual son: reduce los errores humanos durante el procesamiento, previene la contaminación de las muestras, reduce los costes económicos y permite un muestreo frecuente.

En la mayoría de casos sobre los que se ha realizado esta revisión bibliográfica, la toma de muestra se ha realizado de manera manual, aunque hay algunos casos en los cuales se utiliza el muestreo automático, utilizando muestreadores automáticos.

Una vez que se recolectan las muestras, es necesario almacenarlas y conservarlas de manera adecuada para minimizar cualquier cambio físico, químico y/o biológico que pueda tener lugar en una muestra desde el tiempo transcurrido desde la recolección de la muestra hasta el análisis de la misma. Si las condiciones de conservación de las muestras no son óptimas, puede ocurrir la evaporación del agua o el intercambio químico-biológico de la muestra después de su recolección de la fuente. Para la conservación del agua, generalmente se utilizan tres enfoques: refrigeración, uso de un recipiente de muestra adecuado y adición de productos químicos conservantes. Otro aspecto importante es la heterogeneidad del agua a muestrear, cuanto mayor sea la heterogeneidad, mayor será el número de muestras o submuestras necesarias para una muestra representativa (Matamoros, 2012).

El procedimiento habitual en la mayoría de los casos estudiados para el almacenamiento de las muestras, es conservarlas en la oscuridad y en el refrigerador (aproximadamente a 4°C) hasta su análisis, pero en algunos casos también se pueden congelar en botellas medio llenas en posición horizontal a -20°C.

El envase utilizado no debe alterar la composición de las muestras, dependerá de la naturaleza del compuesto, orgánico o inorgánico, el uso de un material u otro. Los recipientes más recomendados en muestreo de aguas superficiales son el vidrio y el teflón (PTFE) se utilizan para analizar compuestos orgánicos. En la mayoría de artículos revisados las botellas tereftalato de polietileno o polietileno y las botellas de vidrio ámbar, son las más comúnmente recomendadas y se utilizan para tomar muestras de contaminantes orgánicos en aguas ambientales. Estos contenedores evitan una posible degradación por radiación UV y, en la mayoría de los casos, son prelavados con detergente, agua destilada y la misma agua del muestreo. El volumen mínimo de muestra requerido depende de la concentración de los analitos en las matrices de muestra y de la sensibilidad de la metodología analítica utilizada, siendo los volúmenes habituales de este estudio los comprendidos entre 0,5-2,5 L.

5. TRATAMIENTO DE MUESTRA

5.1. Operaciones preliminares de la muestra

Los tratamientos previos son una serie de operaciones físicas que se realizan antes de iniciar el tratamiento químico propiamente dicho para adecuar la muestra a la medida. Estas operaciones dependen de la naturaleza de la muestra y de los tipos de analitos a determinar. El objetivo principal del pretratamiento de la muestra es preservar la muestra, garantizar sus propiedades físico-químicas, y evitar posibles procesos de degradación de los analitos.

Previamente a la etapa de extracción y preconcentración se suele realizar un filtrado de la muestra para eliminar posibles interferentes y facilitando la posterior preparación de la muestra, también se suele producir la adición de algún tipo de conservantes (que no afecte a los análisis posteriores) o ajuste del pH con HCl o H₂SO₄, realizado de acuerdo con las características analíticas de la muestra, estas son las estrategias comúnmente utilizadas para mantener la integridad de las muestras.

En la mayoría de los casos considerados en esta revisión bibliográfica, se requiere un paso de filtración de las muestras y un paso adicional de ajuste del pH para preservar la muestra. La filtración se realiza mediante filtros de fibra de vidrio con tamaño de poro de aproximadamente 1 µm, filtros de membrana de nailon de 0.45 µm o filtros de papel de celulosa de alrededor de 1 µm. Por otro lado, el pH de las muestras se realiza en todos los casos estudiados con ácido clorhídrico para prevenir los procesos microbiológicos.

5.2. Técnicas de extracción para la determinación de cocaína en agua

La etapa de extracción se considera otro punto crítico del análisis y, consiste en la

adecuación de la muestra para el análisis. El método de extracción elegido depende de los tipos de compuestos que se van a analizar, así como de sus propiedades físico-químicas y de las técnicas analíticas disponibles. En la actualidad es la etapa del proceso analítico que consume más tiempo y la más expuesta a errores.

Las técnicas de extracción más frecuentemente realizadas, según la revisión bibliográfica realizada son la extracción en fase sólida y la microextracción líquido-líquido dispersiva. A continuación, se desarrolla cada una de ellas.

5.2.1. Extracción en fase sólida

Varias metodologías de la EPA incluyen la extracción en fase sólida (solid-phase extraction: SPE) como procedimiento recomendado para el tratamiento de contaminantes orgánicos (Andrade-Eiroa et al., 2016).

La SPE es uno de los métodos más utilizados para la preparación de muestras líquidas y permite la extracción de analitos de un amplio rango de polaridad, principalmente polares o semipolares. Sus objetivos principales son la purificación o limpieza de la muestra, la concentración de analitos contenidos en la muestra, y la posibilidad de cambiar el disolvente. Hay muchos factores que influyen en la eficiencia del proceso de SPE, pero los dos más importantes son la capacidad del adsorbente y la retención de los analitos en él.

En su forma más simple, la SPE se realiza en cartuchos o columnas (Figura 5.1.), suelen tener formato de jeringa y están hechos de polipropileno o vidrio. Estos cartuchos contienen un material adsorbente intercalado entre dos fritas de PTFE (politetrafluoroetileno), polietileno o teflón con un tamaño de poro de aproximadamente 10-20 μm .

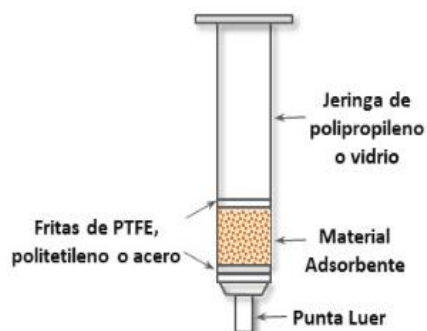


Figura 5.1. Configuración de los cartuchos empleados en extracción en fase sólida

Los materiales adsorbentes utilizados como relleno, se tratan de partículas esféricas o de forma irregular, pero tienen un tamaño de partícula mayor (unas 40 μm). El tipo y la cantidad de material adsorbente en estos cartuchos varían para adaptarse a las diferentes necesidades analíticas (Fuentes López et al., 2020).

La selectividad de la extracción se refiere a la capacidad de un adsorbente para distinguir entre los analitos de interés del resto de compuestos de la matriz o interferentes. La elección del material adsorbente es muy importante para lograr una selectividad de extracción adecuada. Para ello es necesario considerar las características de la matriz de la muestra, el tipo y la concentración de los analitos de interés, así como los compuestos presentes en la muestra que causar interferencias. En general, las etapas de la SPE (Figura 5.2.) son las siguientes:

1. Acondicionamiento

1a. En primer lugar se pasa el disolvente, el cual puede ser un disolvente orgánico o agua, a través del cartucho o columna que contiene el relleno, con el objetivo de eliminar posibles impurezas y solvatar el adsorbente, facilitando el contacto de la fase sólida con la muestra.

1b. A continuación, se equilibra el relleno del cartucho para eliminar el exceso de disolvente y acondicionar el cartucho con una disolución similar a la matriz de la muestra (polaridad, pH, etc.).

2. Carga de la muestra: consiste en introducir la muestra en el cartucho que contiene el adsorbente acondicionado por gravedad, presión, vacío o centrifugación

para que los analitos de interés queden retenidos en el relleno. Algunos componentes de la matriz pueden pasar a través del cartucho sin ser retenidos, mientras que otros pueden quedar retenidos en mayor o menor medida en la superficie del adsorbente. La carga de la muestra se puede realizar de forma manual o automática. La velocidad de flujo debe ser relativamente lenta para favorecer las interacciones entre ambas fases.

3. Lavado o elución de interferentes: gracias a esta etapa, es posible eliminar selectivamente los contaminantes no deseados. Se puede utilizar un disolvente o una mezcla de disolventes para aumentar la eficacia de esta etapa, sin afectar a la retención y posterior recuperación de los analitos.

4. Elución de los analitos una vez eliminados los interferentes: el analito de interés se eluye mediante el uso de un disolvente que anule las interacciones entre el adsorbente y dicho analito. El disolvente o mezcla de disolventes utilizados debe maximizar la interacción con el analito y minimizar la interacción con algunas sustancias que interfieren y que podrían estar presentes en el adsorbente.

5. Evaporación o concentración: en la mayoría de los procedimientos, la preparación de la muestra finaliza mediante la evaporación del eluato que contiene el analito, lo que nos permite concentrar el compuesto de interés. Opcionalmente, tras la evaporación, se puede reconstituir en un disolvente que podría ser la fase móvil de su posterior análisis cromatográfico.

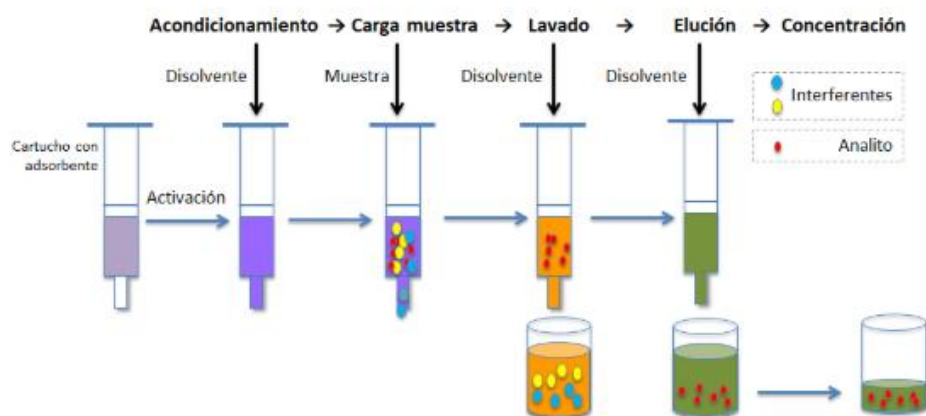


Figura 5.2. Esquema del procedimiento de extracción en fase sólida

Algunas de las ventajas de la SPE son: método más selectivo y reproducible, procedimiento rápido y sencillo, alta capacidad de automatización, reducción en el uso de disolvente orgánicos en comparación con la extracción líquido-líquido (LLE) (con el consiguiente ahorro económico y menor impacto medioambiental) y gran disponibilidad de materiales adsorbentes que amplían su campo de aplicación.

Si esta técnica esta automatizada nos referimos a una SPE “en línea” (*Online SPE*), la cual se estaría llevando a cabo una SPE convencional pero acoplada directamente a un sistema cromatográfico, lo que nos permitiría realizar el análisis de la muestra en menos tiempo y se reducirían los errores manuales.

Según la revisión bibliográfica realizada, la SPE es la técnica más utilizada para la determinación de la cocaína y su principal metabolito en aguas superficiales. Los cartuchos más utilizados son: Oasis HLB, Chromaband HR-X, Strata-X-Drug B, Oasis MCX, Phenomenex Strata-X, Strat X-33 μ . Por otro lado, los disolventes de elección más habitual son: metanol (MeOH), ácido fórmico (CH₂O₂), acetonitrilo (ACN), acetona (C₃H₆O), hidróxido de amonio (NH₄OH), amoníaco (NH₃) y acetato de etilo (C₄H₈O₂).

5.2.2. Microextracción líquido-líquido dispersiva

La microextracción líquido-líquido dispersiva, o DLLME por sus siglas en inglés (*dispersive liquid-liquid microextraction*) consiste en una versión miniaturizada de la LLE, desarrollada por Rezaee y su grupo de investigación en 2006 (Palomino Vasco, 2018).

Se emplea un sistema ternario de disolventes:

1. Muestra acuosa que contiene el analito de interés.
2. Extractante inmiscible con el agua, debe tener alta afinidad por los analitos, un buen comportamiento cromatográfico y dispersarse fácilmente en la fase acuosa. Los disolventes de extracción más comunes son disolventes clorados de alta densidad, como tetracloruro de carbono, diclorometano y cloroformo. Los volúmenes típicos de disolvente de extracción oscilan entre 10 y 250 μ L.

3. Dispersante es un disolvente orgánico miscible tanto con la muestra acuosa como con el extractante y que actúa como puente entre ambos. Ayuda a dispersar las gotitas del disolvente de extracción por toda la solución acuosa de la muestra. Como disolventes de dispersión se emplean habitualmente acetona, metanol, acetona, etanol e isopropanol, los volúmenes de este oscilan entre 0,15 y 2,5 mL.

El procedimiento de DLLME es muy sencillo y consta de los siguientes pasos:

- Mezcla de los disolventes extractante y dispersante. Al agregar el disolvente dispersante permite que el disolvente de extracción se disperse en la disolución de muestra.
- Inyección rápida de un microvolumen de la mezcla extractante en el seno de la muestra acuosa utilizando una jeringa. Las pequeñas gotas de disolventes de extracción dispersas proporcionan una gran área de superficie de contacto, por lo que el estado de equilibrio se logra en muy poco tiempo.
- Homogeneización de la mezcla y formación de emulsión.
- Centrifugación para la separación de las fases y recogida de la fase orgánica mediante una microjeringa.
- La fase de extracción puede tratarse adicionalmente o analizarse directamente este paso se aplica para obtener el equilibrio entre ambas fases, la orgánica y la acuosa. Cuanto menor sea el tiempo para lograr alcanzar ese equilibrio mejor será el proceso de extracción, sin embargo, si el tiempo es elevado el experimento sería más lento, al reducir demasiado el tiempo de extracción puede no llegar a alcanzar el equilibrio y se reduciría la extracción de analito.
- Análisis de los analitos mediante la técnica analítica más adecuada.

Los parámetros que se optimizan durante el desarrollo de un protocolo DLLME son la selección del tipo y volumen del disolvente de extracción y dispersión, el pH de la solución de muestra y la adición de un agente de sal.

Las ventajas del método son la sencillez de operación, la rapidez de extracción, alta sensibilidad y selectividad, alto factor de preconcentración, bajo coste, elevada recuperación, precisión y, además, es respetuosa con el medio ambiente por el

menor consumo de reactivos y disolventes orgánicos tóxicos. Si bien esta técnica también posee algunas desventajas como pueden ser la difícil automatización y el empleo de dispersante.

Este tipo de extracción ha sido utilizada en un solo artículo de la revisión bibliográfica llevada a cabo (Nascimento et al., 2023).

6. TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE COCAÍNA EN AGUA

El análisis de contaminantes orgánicos y metabolitos en muestras acuosas ambientales requiere de su identificación y cuantificación a nivel de trazas en matrices complejas. Por lo tanto, las técnicas analíticas deben ser específicas para la detección de estos analitos y ser lo suficientemente sensibles para garantizar niveles de cuantificación. Las técnicas que habitualmente se emplean son la CG y HPLC. Ambas se han empleado para el análisis de los analitos seleccionados.

6.1. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se desarrolló entre finales de los años 1960 y principios de los 1970. Hoy en día, es ampliamente aplicada para separaciones y purificaciones en una variedad de áreas. Durante la última década, la HPLC se ha convertido en el método elegido para el análisis de una amplia variedad de compuestos. Su principal ventaja sobre la cromatografía de gases es que los analitos no tienen que ser volátiles, por lo que las macromoléculas son adecuadas para el análisis por HPLC (Hussen, 2022).

El objetivo del método HPLC es probar, separar y cuantificar el analito principal, cualquier impureza de reacción y todos los compuestos sintéticos disponibles intermedios y cualquier degradante. La precisión, velocidad, eficiencia, sensibilidad y facilidad de operación en HPLC son muy superiores, además es un método ampliamente utilizado para el análisis cuantitativo y cualitativo.

La HPLC es un tipo de cromatografía líquida, lo que significa que la fase móvil es un líquido. La HPLC de fase reversa es el tipo más común de HPLC lo que significa que la fase móvil es relativamente polar y la fase estacionaria es relativamente apolar. Por tanto, los compuestos no polares se retendrán más que los compuestos polares. En HPLC de fase normal, la fase móvil es relativamente no polar y la fase estacionaria es relativamente polar. Otro tipo es la cromatografía de líquidos de ultra alta presión UHPLC que se caracteriza por su alta capacidad para separar y analizar compuestos en muestras complejas con alta eficiencia y velocidad; otros tipos más generales de HPLC incluyen partición, adsorción, intercambio iónico, exclusión por tamaño y cromatografía de capa fina.

La HPLC es una técnica de separación que implica la inyección de un pequeño volumen de muestra líquida en una corriente en movimiento de líquido (llamada fase móvil) que circula a través de la columna llena de partículas (fase estacionaria) a alta presión suministrada por una bomba. Cada analito avanza a lo largo del sistema con una velocidad diferente dependiendo de su afinidad por cada fase. Esto significa que cada sustancia introducida en el sistema eluirá en un tiempo diferente, después de que la muestra pase por la columna. Los componentes separados son detectados a la salida de la columna, mediante un detector.

Un equipo de HPLC se compone de varios módulos con funciones definidas. Los componentes principales del sistema HPLC son:

- Depósito fase móvil.
- Desgasificador.
- Sistema de bombeo.
- Dispositivo para la introducción de la muestra.
- Columna cromatográfica.
- Detector.
- Sistema para el tratamiento de datos y registrador.

Normalmente se hibridan técnicas de separación cromatográficas con detectores espectrométricos, para muestras con gran número de componentes de distintas concentraciones, que proporcionan elevados niveles de selectividad y sensibilidad.

Se considera hibridación instrumental al acoplamiento de dos instrumentos o técnicas que pueden funcionar por separado.

6.1.1. Cromatografía de líquidos/espectrometría de masas (HPLC-MS)

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica basada en la determinación de la relación masa/carga de especies atómicas o moleculares individuales de la muestra, permitiendo obtener información sobre su naturaleza, su composición y sobre su estructura.

La HPLC combinada con espectrometría de masas (HPLC-MS) es una poderosa técnica analítica que combina la capacidad de separación de la HPLC con la alta selectividad, sensibilidad y precisión de la espectrometría de masas para determinar el peso molecular y la estructura de los compuestos. Esta técnica permite diferenciar numerosos compuestos con tiempos de retención muy próximos, pero con diferente m/z y/o patrón de fragmentación, se puede diferenciar entre MS de alta y baja resolución. Una de las mayores ventajas de la HPLC-MS es la gran cantidad de especies detectables.

La fuente de ionización es un elemento clave, ya que actúa como interfaz de conexión de los dos equipos. Debe permitir que se compatibilizan las condiciones de salida de la muestra de los cromatógrafos con la entrada en el sistema MS que opera a vacío. Además, la fuente de ionización en HPLC-MS juega un papel esencial porque es la responsable de producir iones a partir de moléculas neutras de la muestra, previamente separadas en el cromatógrafo.

Los componentes de la muestra separados por HPLC ingresan al espectrómetro de masas a través de una interfaz donde se ionizan. Los equipos de HPLC-MS pueden tener dos tipos diferentes de interfases que se incluyen dentro de la denominada ionización a presión atmosférica (API), denominadas electrospray (ESI) e ionización química a presión atmosférica (APCI), las cuales son compatibles con la mayoría de los disolventes volátiles utilizados como fase móvil. Los métodos de ionización que se emplean en HPLC-MS son:

- ESI: el líquido que contiene el analito fluye a través de un capilar metálico

donde se le aplica un alto voltaje para producir iones a presión atmosférica. Debido a un proceso de electronebulización que ocurre en la punta del capilar metálico, se forma un aerosol de gotitas cargadas y se produce la desolvatación a través de una corriente de N₂. Las gotas se vuelven más pequeñas y se produce un fenómeno denominado fisión de Coulomb. Cuando las gotas son lo suficientemente pequeñas, se forman iones del analito en estado gaseoso. Los disolventes más comunes en ESI son el agua, el metanol y el acetonitrilo. Normalmente, se utilizan disolventes con tensión, viscosidades superficiales bajas y de alta conductividad (Figura 6.1.).

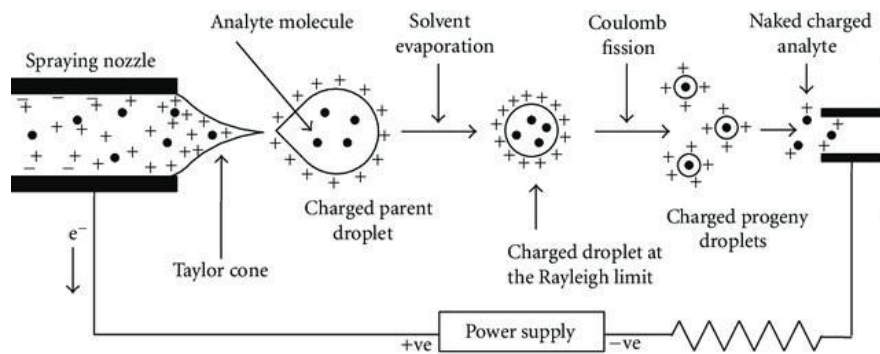


Figura 6.1. Esquema ionización por electrospray

- APCI: se puede utilizar para la ionización de analitos no volátiles neutros. En este caso, primero se produce la evaporación de la fase móvil y de los analitos por un bloque calentado térmicamente situado rodeando el capilar metálico por donde sale la disolución. Una vez las moléculas de analito pasan a fase gaseosa son ionizadas por la presencia de iones reactivos (de la fase móvil y del ambiente) que se generan por la presencia de un plasma que se forma en la punta de una aguja corona sobre la que se aplica un elevado potencial. Por efecto corona, produce electrones que, a su vez, reaccionan con las moléculas de alrededor produciendo su ionización y dando lugar a los iones. A continuación, las moléculas de la muestra se ionizan mediante procesos de transferencia de protones con estos iones reactivos que en su mayoría proceden de la fase móvil (agua y otros

disolventes). En general, el APCI es más adecuada para compuestos lipofílicos y difícilmente ionizables y se puede combinar satisfactoriamente con HPLC cuando el ESI no ofrece una ionización adecuada.

Inmediatamente después de la ionización, los iones en fase gaseosa se aceleran hacia el analizador, es decir, el área del instrumento donde los iones, dentro de un rango de masas seleccionado, se separan según su relación masa/carga (m/z) aplicando un campo eléctrico, una combinación de varios de ellos, o por medida del tiempo necesario para que los iones recorran una determinada distancia. Los tipos de analizadores más comunes en este estudio son:

- Analizador de trampa de iones: analizador de baja resolución, los iones producidos en la fuente quedan “atrapados”, durante un cierto periodo de tiempo, en un campo de radiofrecuencia dentro de un anillo toroidal situado entre dos electrodos hiperbólicos. Una vez allí, estos iones se extraen a voluntad aplicando corrientes de radiofrecuencia variables hasta su valor de resonancia y son expulsados a través de un anillo de salida.
- Analizador de tiempo de vuelo (TOF, time-of-flight): analizador de alta resolución, es uno de los analizadores más simples de los que se utilizan actualmente. Se trata de medir el tiempo necesario para que los iones se produzcan y aceleren con la misma energía en la fuente de iones hasta llegar a un electrodo colector ubicado a cierta distancia. Los iones tienen la misma energía, pero llegan al colector en diferentes tiempos, ya que también depende de su masa, carga y energía cinética.

Sin duda, la técnica más usada en gran parte de los estudios es la espectrometría de masa en tándem (MS/MS), esta técnica combina principalmente las ventajas de los analizadores por separado. Para facilitar el estudio de la fragmentación de compuestos moleculares, se construyen espectrómetros de masas, que constan de varios analizadores conectados en serie, situados en el trayecto de los iones entre la fuente y el detector. Algunas de las combinaciones posibles son: QQQ y QTOF (espectrometría de masas de tiempo de vuelo cuadrupolo). Siendo la espectrometría de masas de triple cuadrupolo (QQQ) el método más utilizado para

análisis de la cocaína y metabolitos en muestras acuosas.

6.2. Cromatografía de gases

La CG incluye todos los sistemas de cromatografía en los que la fase móvil es un gas. Puede considerarse el método de separación más importante desde su descubrimiento en 1952 por Martín y James hasta el desarrollo de la HPLC. Actualmente, la CG es un método analítico usada utilizado habitualmente en muchos laboratorios debido a su alta resolución, sensibilidad y selectividad (García Reyes, 2021).

Existen dos tipos de cromatografía de gases: la cromatografía gas-sólido (CGS) y la cromatografía gas-líquido (CGL), dependiendo de si se utiliza una fase estacionaria sólida o líquida. La primera tiene unas aplicaciones muy limitadas, por lo que, en la práctica, casi siempre se realiza la CGL.

El análisis comienza cuando se introduce una pequeña cantidad de muestra en forma de líquido o gas en el inyector, que tiene una doble función: convertirla a estado vapor e introducirla en la corriente de gas en la parte superior de la columna. Esta última se presenta como un tubo de sección delgada, enrollado en espiral, con una longitud de uno a más de cien metros, y que contiene la fase estacionaria. La fase gaseosa a la salida de la columna pasa a través del detector antes de salir al aire libre. Un cromatógrafo de gases consta de los siguientes componentes:

- Fuente de gas portador.
- Sistema para la introducción de las muestras.
- Columna cromatográfica.
- Detector.
- Sistema para el tratamiento de datos y registrador.

El gas portador, que actúa como fase móvil y transporta los componentes de la muestra a través de la columna hasta el detector, debe ser químicamente inerte al

analito, seguro de manipular y económico. Los gases más utilizados son el helio, el nitrógeno y el hidrógeno. La selección de la fase móvil generalmente se realiza en función del coste, la disponibilidad y la inercia química, así como del detector utilizado y el rendimiento de la separación.

6.2.1. *Cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC-MS)*

La GC-MS permite diferenciar numerosos compuestos con tiempos de retención muy similares pero con diferentes m/z y/o patrones de fragmentación. La robustez y selectividad únicas de GC-MS permiten un análisis cuantitativo, algo que no es posible utilizando únicamente la cromatografía.

El GC-MS es un sistema que no está a presión atmosférica. El cromatógrafo tiene la entrada de muestra a través de un septum que aísla el portal de inyección del exterior, por tanto, el sistema de vacío del espectrómetro de masas no tiene que evacuar un volumen tan grande de gases como ocurre en HPLC-MS. No obstante, la presión de trabajo del GC es mucho mayor que la del espectrómetro de masas que debe operar a vacío. Por esto, es necesario el empleo de bombas turbomoleculares interiores y bombas mecánicas exteriores, que permite que se consigan las presiones necesarias para operar el equipo MS.

Hay que asegurarse que en el tránsito del GC al MS, la muestra no se enfríe y, por tanto, condense, lo que provocaría muchos problemas y la pérdida de eficacia en la separación. Para ello, se emplea una línea de transferencia calentada que mantiene la temperatura de la muestra y de la columna en valores por encima del punto de ebullición de los componentes de la muestra con el fin de evitar procesos de condensado y el ensanchamiento de bandas asociado. La línea de transferencia está conectada con la fuente de ionización, que en los equipos de GC-MS suele ser de impacto electrónico (EI). También existen equipos de GC-MS con fuentes de ionización a presión atmosférica del tipo APCI, pero no es lo más común.

En EI las moléculas de analito entran en fase gaseosa y en estado neutro. En su camino, hacia el analizador de masas pasan y se cruzan con un haz de electrones generados por un filamento (suele ser 70 eV) que colisionan con las moléculas

neutras arrancando los electrones más externos y produciendo la ruptura de enlaces que conducen a fenómenos de fragmentación, que ocurren simultáneamente junto al proceso de ionización. Se suelen obtener iones (radicales) moleculares así como fragmentos característicos a partir de la ruptura de enlaces. Una vez se forman los iones, se aceleran y dirigen a través de una serie de lentes iónicas hasta el analizador de masas, donde los iones resultantes se separan de la muestra en función de su relación m/z .

7. DATOS SOBRE LA CONTAMINACIÓN DE COCAÍNA Y BENZOILECGONINA EN AGUAS SUPERFICIALES

En la Tabla 7.1. se recogen los datos obtenidos sobre la revisión bibliográfica realizada para la determinación de cocaína y su principal metabolito (benzoilecgonina) en aguas superficiales, provenientes en la mayoría de casos de ríos. Se ha seleccionado 29 artículos científicos para la elaboración de la tabla.

En la tabla se especifica: lugar donde se ha desarrollado el estudio, analito, tipo de muestreo, tratamiento de muestra, métodos de análisis, límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ), así como concentraciones encontradas (valor promedio y el rango de concentraciones entre paréntesis) y referencia del artículo. A continuación, se muestra la tabla:

Tabla 7.1. Investigación bibliográfica sobre determinación de cocaína y su principal metabolito en aguas superficiales

Lugar de muestreo (País)	Analito	Muestreo	Tratamiento de la muestra	Técnica analítica	Niveles encontrados (ng/L)	LOD/ LOQ (ng/L)	Referencia
España	Benzoilecgonina	19 puntos de muestreo 83 muestras de aguas superficiales Botellas de vidrio color ámbar (1L)	SPE: Oasis HLB (200 mg, 6 mL) Elución: 2 x 4 mL MeOH Evaporación N ₂ Disolver: 1 mL MeOH-H ₂ O (25:75 v/v)	HPLC-MS	16.3 (n.d.- 32,3)	-	(Robles-Molina et al., 2014)
Ecuador	Cocaína	Muestreador automático	SPE: Oasis HLB (60 mg) Elución: MeOH-CH ₂ O ₂ Evaporación N ₂	HPLC-MS/MS	(415-560)	LOQ: 1	(Voloshenko-Rossin et al., 2015)
	Benzoilecgonina				(450-917)	LOQ: 10	
Brasil	Cocaína	126 muestras de aguas superficiales Botellas de vidrio de color ámbar	SPE OASIS HLB (6cc, 500 mg)	HPLC-MS/MS	10 (2-62)	-	(Montagner et al., 2019)
	Benzoilecgonina				133 (10-1019)	-	
Brasil	Cocaína	8 puntos de muestreo Botellas color ámbar (0,5 L)	Ajuste pH: 7,0 HCl (1,0 M) SPE: Chromabond HRX (200 mg, 3 mL) Elución: 2 x 5 mL MeOH-C ₃ H ₆ O Evaporación: N ₂ Disolver: H ₂ O-ACN (95:5 v/v)	HPLC-MS/MS	(0,02–0,17)	0.003/ 0.012	(Pisetta et al., 2022)
	Benzoilecgonina				(0,01–1,1)	0.0012/ 0.0077	
Brasil	Cocaína	22 puntos de muestreo 34 muestras de aguas superficiales Matraces de color ámbar (1 L)	SPE: Oasis HLB (6 mL, 500 mg) Elución: 6 mL ACN-MeOH 60:40 (v/v) Evaporación: N ₂ Disolver: 1,0 mL CH ₂ O ₂ -ACN 90:10 (v/v)	HPLC-MS/MS	(6-62)	2/6	(Campestrini et al., 2017)
	Benzoilecgonina				(10 – 1019)	2/5	
Brasil	Cocaína	Agua superficial Botellas de vidrio de color ámbar	Ajuste pH: 7 HCl (1 M) SPE: Chromabond HRX (3 mL, 200 mg) Elución: 5 mL C ₃ H ₆ O y 2 x 5 mL MeOH Evaporación: N ₂ Disolver: 1 mL H ₂ O-ACN (95:5 v/v)	HPLC-MS/MS	(12,6 – 537)	3/12	(Pereira et al., 2016)
	Benzoilecgonina				(4,6 – 20,8)	1,2/7,7	
Brasil	Cocaína	Botellas de vidrio ámbar	Ajuste pH: 7,0 HCl (1 M) SPE: Chromabond HRX (200 mg, 3 mL) Elución: 2 x 5 mL MeOH y 5 mL C ₃ H ₆ O	HPLC-MS/MS	1,1 (0,5–1,7)	0.003/ 0.012	(Roveri et al., 2021)

	Benzoilecgonina		Evaporación: N ₂ Disolver: H ₂ O-ACN (95:5 v/v)		2,6 (1,0–4,8)	0,0012/ 0.0077	
España	Cocaína	16 muestras de aguas superficiales	SPE	HPLC-MS/MS	0,37	-	(Aguilar et al., 2014)
	Benzoilecgonina				5,59 (n.d.-78,71)	-	
España	Cocaína	77 puntos de muestreo 154 muestras de aguas superficiales Botellas de PET	SPE	HPLC-MS/MS	4 (2,8-34,2)	-	(Mastroianni, et al., 2016)
	Benzoilecgonina				4,7 (12-129)	-	
Reino Unido	Cocaína	109 muestras de aguas superficiales Contenedores de polietileno de alta densidad (2 L)	Ajuste pH: 2 HCl (0,1M) SPE: Strata-X-Drug B (60 mg, 6 mL) Elución: 2 mL C ₃ H ₈ O-C ₄ H ₈ O ₂ (15:85) y 2 x 2 mL de NH ₄ OH-C ₃ H ₈ O-C ₄ H ₈ O ₂ (10:20:70) Evaporación: N ₂ Reconstituir: 0,1 mL dsvte	HPLC-MS/MS	(0,19–0,84)	-	(Peng et al., 2019)
China	Cocaína	15 puntos de muestreo Envase de polipropileno (1 L)	Ajuste pH: 2 HCl (3 M) SPE: Oasis MCX (60 mg, 3 mL) Elución: 6 mL NH ₄ OH-ACN Evaporación: N ₂ Disolver: 1mL ACN	HPLC-QQQ-MS/MS	4.9 (n.d.–10.7)	0,5/5	(Peng et al., 2019)
	Benzoilecgonina				5.8 (n.d.–14.6)	1,2/5	
España	Cocaína	7 puntos de muestreo Agua superficial Botellas PET color ámbar (500 mL)	Online SPE	HPLC-MS/MS	71 (1,2 -103)	LOD: 0,18	(Mendoza et al., 2014)
	Benzoilecgonina				145 (10,3-823)	LOD: 0,13	
Sudáfrica	Cocaína	Agua superficial Botellas de vidrio color ámbar	Ajuste pH: 1,8 HCl SPE: Oasis MCX (60mg) Elución: 5 mL NH ₄ OH MeOH 2%- 5 mL ACN Evaporación: N ₂ Reconstitución: 1 mL MeOH 40%	UHPLC-QTOF-MS	146 (n.d.-507)	(µg/L) 0,07/0,23	(Masemola et al., 2020)
	Benzoilecgonina				148,5 (n.d.-233)	(µg/L) 0,08/0,28	
Suiza	Cocaína	22 muestras de aguas superficiales Botellas de vidrio color ámbar (2 L)	Ajuste pH: 2 HCl (37%) SPE: Oasis HLB (3 mL, 60 mg)	HPLC-MS/MS	0,4 (n.d.-3,7)	LOQ: 0,2	(Berset et al., 2010)
	Benzoilecgonina				1,6 (n.d.-11)	LOQ: 0,2	

China	Cocaína	Agua superficial Muestreador automático (2,5 L)	Ajuste pH: 2 HCl SPE: Oasis MCX Elución: 4 mL MeOH y 4 mL NH ₃ 5% MeOH Evaporación: N ₂ Disolver: 200 µL ACN-H ₂ O (5:95 v/v)	HPLC- MS/MS	(0,2- 0,7)	0,2/0,5	(Li et al., 2016)
	Benzoilecgonina				(0,8-1,4)	0,01/0,05	
España	Cocaína	16 muestras de aguas superficiales Botellas de vidrio oscuro (2,5 L)	Ajuste pH: HCl (0,5 M) SPE: Oasis HLB (6 mL/200 mg) Elución: 6 mL MeOH y 6 mL NH ₃ 2%/MeOH Evaporación: N ₂ Reconstitución: 1 mL H ₂ O-MeOH (75:25 v/v)	HPLC- MS/MS	10	0,02/0,06	(Vazquez- Roig et al., 2010)
	Benzoilecgonina				0,02	0,05/0,15	
Taiwán	Cocaína	11 puntos de muestreo Agua superficial Botellas de vidrio de color ámbar (1L)	Ajuste pH: 2 HCl SPE: Oasis MCX (150 mg, 6 mL) Elución: 3 mL MeOH y 3 mL NH ₄ OH 2% MeOH Evaporación: N ₂ Reconstitución: 0,4 mL MeOH 50%	HPLC- MS/MS	(n.d.- 0.7)	-	(Lin et al., 2010)
	Benzoilecgonina				(n.d.-1.6)	-	
Reino Unido	Cocaína	Agua superficial Botellas de color ámbar silanizadas con tapas de teflón	Ajuste pH: 1,9 HCl (31%) SPE: Oasis MCX Elución: 3 mL NH ₄ OH-MeOH 7% Evaporación: N ₂ Reconstitución: CH ₃ COOH 0,3 %- MeOH 5 %-H ₂ O	HPLC- MS/MS	6 (n.d.-14)	-	(Baker et al., 2011)
	Benzoilecgonina				26,8 (n.d.-52,5)	-	
Brasil	Cocaína	Agua superficial Botellas de vidrio color ámbar (1L)	Microextracción líquido-líquido	GC-MS	39,9	12/39,9	(Nascimento et al., 2023)
España	Benzoilecgonina	Botellas de vidrio ámbar (1L)	Online SPE	HPLC- MS/MS	29,20 (1,83-40,6)	LOD: 0,6	(Valcárcel et al., 2012)
España	Cocaína	23 puntos de muestreo Agua superficial Botella de polietileno (2,5 L)	SPE: Oasis HLB (6 mL, 200 mg) Elución: 6 mL MeOH Evaporación: N ₂ Reconstitución: 1 mL H ₂ O-MeOH (75:25 v/v)	HPLC- MS/MS	2,25 (n.d.-11.6)	0,02/0,06	(Vazquez- Roig et al., 2012)
	Benzoilecgonina				1,92 (n.d.-15,5)	0,05/0,15	
China	Benzoilecgonina	217 muestras de agua superficial	Online SPE	HPLC- MS/MS	(0,7-1,4)	-	(Yao et al., 2021)

Reino Unido	Cocaína	Botella de vidrio Agua superficial Botellas de color ámbar con tapas de teflón (2,5L)	Ajuste pH: 2 HCl (31%) SPE: Oasis MCX Elución: MeOH y NH ₄ OH 5% MeOH Evaporación: N ₂ Reconstitución: 0,5 mL fase móvil	UHPLC	(0,3-7)	-	(Kasprzyk-Hordern et al., 2008)
	Benzoilecgonina				(1-123)	-	
España	Benzoilecgonina	22 puntos de muestreo Agua superficial Botellas de vidrio de color ámbar (2L)	SPE: PhenomenexStrata-X Elución: 6 mL MeOH y 3 mL MeOH-CH ₂ Cl ₂ (1:1 v/v) Evaporación N ₂ Redisolución 1 mL H ₂ O-MeOH (9:1 v/v)	HPLC-MS/MS	25,4 (2.91–76.8)	-	(Andrés-Costa et al., 2017)
China	Cocaína	Agua superficial Botellas de PET (0,5L)	Ajuste pH: 2 HCl (37%) SPE: Oasis MCX (60 mg, 3 mL) Elución: 4 mL MeOH y 4 mL NH ₃ 5% MeOH Evaporación: N ₂ Redisolución 200 µL de ACN y 200 µL AcN-C ₂ H ₇ NO ₂ 5 M en H ₂ O (90:10 v/v)	HPLC-MS/MS	6.81 (0,053–12,9)	0,02/0,05	(Wang et al., 2016)
	Benzoilecgonina				3.85 (0,070–16,2)	0,02/0,05	
Reino Unido	Benzoilecgonina	88 muestras de aguas superficiales 23 puntos de muestreo Botella de vidrio de color ámbar	SPE: Oasis Strat X-33 µ (300 mg, 6 mL) Elución: 2 x 7 mL ACN-C ₃ H ₆ (50:50 v/v) Evaporación: rotación Reconstitución: 500 µL H ₂ O-ACN (80:20 v/v)	HPLC-MS/MS	11,4 (n.d.–107)	0,31/1,02	(Wilkinson J. et al., 2017)
Países Bajos	Cocaína	9 puntos de muestreo Agua superficial Botellas de vidrio de color ámbar	SPE: Oasis HLB (6 cc, 200 mg)	HPLC-MS/MS	2 (1–3)	-	(Van der Aa et al., 2013)
	Benzoilecgonina				5 (1–16)	-	
Bélgica	Cocaína	43 puntos de muestreo Agua superficial Botellas de vidrio	Ajuste pH: 2 HCl (37%) SPE: Oasis HLB (6 mL, 500 mg) Elución: 2 x 4 mL MeOH Evaporación: N ₂ Reconstitución: ACN-MeOH (3:1 v/v)	HPLC-MS/MS	(n.d.-753)	-	(Van Nuijs et al., 2009)
	Benzoilecgonina				(n.d.-2258)	-	
Bélgica	Cocaína	Agua superficial Botellas de vidrio (1 L)	Ajuste pH: 2 HCl (37%) SPE: OASIS HLB (6 mL, 500 mg) Elución: 2 x 4 mL MeOH	(HPLC-MS/MS)	(7-678)	LOQ: 0,5	(Gheorghe et al., 2008)
	Benzoilecgonina				(44-1898)	-	

Los datos recogidos en la tabla nos muestran la gran variedad de resultados en aguas superficiales, a nivel mundial. Estos resultados también dependen si los puntos de muestreo utilizados se encuentran tras la liberación de efluentes de EDAR, lo que provocaría valores de cocaína más altos en comparación con otras aguas superficiales. Por otra parte, en la mayoría de los estudios se ha incluido el principal metabolito de la cocaína, la benzoilecgonina este es un indicador de contaminación antropogénica, además de haber solo dos casos en los que únicamente se ha detectado la presencia de este metabolito (Robles-Molina et al., 2014) y (Andrés-Costa et al., 2017).

En la mayoría de artículos revisados se realiza una toma de muestra manual en ríos, utilizando botellas de vidrio de color ámbar (20 de los 29 casos estudiados) para el almacenamiento, el resto de casos utilizan botellas PET o contenedores de polietileno; aunque hay algunos casos en los cuales se realiza un muestreo automático lo que reduce el riesgo de error humano y los costes, además de prevenir la contaminación (Voloshenko-Rossin et al., 2015) y (Li et al., 2016).

El volumen mínimo de muestra requerido depende de la concentración de los analitos en las matrices de muestra y de la sensibilidad de la metodología analítica utilizada.

Para el pretratamiento de muestra comúnmente se suele realizar una filtración para eliminar posibles interferentes, seguida de un ajuste de pH con ácido clorhídrico, para reservar la integridad de la muestra. Se puede observar que el método de extracción más utilizado es la SPE (28 de los 29 casos estudiados) por ser el más adecuada para el analito que estamos estudiando, además de por su procedimiento rápido y sencillo, así como por su selectividad y por el ahorro de disolventes orgánicos. En algunos casos esta técnica se automatiza de forma que se realiza una *online* SPE lo que reduciría los errores manuales y se realizaría el análisis en menor tiempo (Mendoza et al., 2014), (Valcárcel et al., 2012) y (Yao et al., 2021). Entre los cartuchos más repetidos en este estudio de SPE destacan Oasis HLB (10 de 29 artículos estudiados) y Oasis MCX (7 de los 29 artículos estudiados). El disolvente más repetido para la elución ha sido metanol (MeOH) o mezcla de disolventes, MeOH con acetona, hidróxido de amonio o amoniaco, siendo el más común el primero con diferencia. Por otro lado, solo hay un caso en el que se ha realizado una

microextracción líquido-líquido dispersiva, esta técnica ofrece una extracción rápida, elevada recuperación, precisión, bajo consumo de disolventes orgánicos y bajo coste (Nascimento et al., 2023).

La técnica analítica más adecuada para la determinación de la cocaína y productos derivados es la HPLC. Esta es la técnica que sobre todo se utiliza para componentes orgánicos, tal y como es la cocaína y suele estar acoplada a un espectrómetro de masas en la mayoría de los artículos estudiados, combinando el poder de separación de la HPLC con la elevada selectividad, sensibilidad y precisión en la determinación de la masa molecular de la espectrometría de masas, proporcionando información cualitativa y cuantitativa por lo que lógico que sea una técnica tan comúnmente utilizada. Pero sin duda, el método más frecuentemente utilizado ha sido la cromatografía de líquidos acoplada a espectrometrías de masas en tándem (HPLC-MS/MS) (25 de los 29 artículos estudiados) junto con el analizador QqQ. Otro tipo de cromatografía observada es la cromatografía de líquidos de ultra alta presión (UHPLC) la cual solo ha sido observada en dos artículos (Masemola et al., 2020) y (Kasprzyk-Hordern et al., 2008) esta se caracteriza por su alta eficiencia y velocidad. Por otro lado, solo hay un caso de cromatografía de gases combinada con un espectrometría de masas, esta técnica se caracteriza por su alta selectividad y especificidad (Nascimento et al., 2023).

A la hora de seleccionar un método de análisis es importante tener en cuenta el límite de detección (LOD), que se define como la menor cantidad de analito que se puede detectar con fiabilidad. A menor LOD mayor capacidad de la técnica de detectar pequeñas cantidades de analito con precisión y mayor sensibilidad del método. Los límites de detección de cada método son apropiados para las concentraciones observadas. La técnica con menor LOD es HPLC-MS/MS, para la cocaína se han detectado los niveles de detección más bajos en 0,003 ng/L y para la benzoilecgonina 0,0012 ng/L (Pisetta et al., 2022) y (Roveri et al., 2021), respectivamente.

La concentración máxima de cocaína y benzoilecgonina ha sido encontrada en Bélgica (Van Nuijs et al., 2009), con un máximo de 753 y 2258 ng/L, respectivamente. Mientras que la concentración de cocaína y benzoilecgonina más

baja ha sido encontrada en Brasil 0,02 ng/L y 0,01 ng/L, respectivamente (Pisetta et al., 2022).

8. CONCLUSIÓN

A partir de la revisión y la investigación bibliográfica realizada, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

La contaminación de las aguas por contaminantes emergentes es un tema de preocupación para la población en general, que está incrementando su importancia en las últimas décadas, gracias al desarrollo de métodos analíticos más sensibles que permiten detectar estos contaminantes orgánicos como la cocaína, de tamaño traza o incluso ultratrazas. Este tipo de contaminación se debe sobre todo a la falta de información e investigación sobre el impacto, los efectos y destino de estos contaminantes en las aguas, unido a la ausencia de mecanismos de eliminación adecuados en las plantas de tratamiento, ya que la mayoría de estos tratamientos tiene un elevado coste. Por estas razones, acaban contaminando y degradando los sistemas acuáticos, a nivel mundial. Por lo tanto, el término “emergente” describe tanto el contaminante como la preocupación emergente sobre el contaminante como una amenaza.

La cocaína, así como otros muchos contaminantes emergentes, no se encuentran regulados por ninguna normativa a nivel global. Las concentraciones encontradas en los artículos estudiados están en el rango de ng/L a µg/L, que, aunque corresponde a contaminantes traza, pueden llegar a tener efectos muy tóxicos y persistentes en ecosistemas acuáticos debido a su continua entrada en el medio ambiente. Se debe realizar un seguimiento acerca de este tipo de contaminantes y evaluar si necesitan o no formar parte de la lista de sustancias candidatas a prioritarias, ya que puede llegar a tener un impacto muy fuerte en el medioambiente. Este estudio también nos permite tener una estimación del consumo de la población de esta droga ilícita, en los diferentes países estudiados.

Gracias a los datos obtenidos en la revisión de los artículos se observa que el

método más común en la mayoría de los casos para el muestreo de este contaminante orgánico, es un muestreo manual con almacenamiento con botellas de vidrio ámbar.

El tratamiento de muestra más utilizado principalmente en la mayoría de los casos es la extracción en fase sólida (SPE) y en cuanto a las técnicas de análisis cabe destacar que se han utilizado principalmente HPLC-MS/MS.

Los países donde se han llevado a cabo la mayor parte de los estudios de esta revisión bibliográfica son España, seguido de Brasil, China y Reino Unido.

Como conclusión, es fundamental que antes de que los impactos nocivos del cambio climático obliguen a las comunidades a reutilizar el agua sin salvaguardias adecuadas, se apliquen políticas para el control de los contaminantes en las aguas, basadas en investigaciones científicas sólidas para minimizar los posibles riesgos para la salud humana y el medio ambiente.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, J. A., Andreu, V., Vázquez, P., & Picó, Y. (2014). Presence and spatial distribution of emerging contaminants (drugs of abuse) in protected agroecological systems (L'Albufera de Valencia Coastal Wetland, Spain). *Environmental Earth Sciences*, 71, 31-37. doi:10.1007/s12665-013-2688-1
- Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., & Cerdà, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, 641-654. doi:10.1016/J.TRAC.2015.08.015
- Andrés-Costa, M. J., Pascual-Aguilar, J., Andreu, V., & Picó, Y. (2017). Assessing drugs of abuse distribution in Turia River based on geographic information system and liquid chromatography mass spectrometry. *Science of The Total Environment*, 609, 360-369. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2017.07.123
- Asociación española de abastecimiento de agua y saneamiento. (2019). *Guía para el Funcionamiento de los Laboratorios de Ensayo de Aguas*. Obtenido de https://www.aeas.es/images/publicaciones/manuales/Parte_III_Gua_AEAS_Toma_de_Muestras_revision_1_abril_2019.pdf
- Ayora Cañada, M. (2020). Tratamiento de muestra. Obtenido Universidad de Jaén.
- Baker, D. R., & Kasprzyk-Hordern, B. (2011). Multi-residue analysis of drugs of abuse in wastewater and surface water by solid-phase extraction and liquid chromatography–positive electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1218, 1620-1631. doi:10.1016/J.CHROMA.2011.01.060

- Berset, J. D., Brenneisen, R., & Mathieu, C. (2010). Analysis of illicit and illicit drugs in waste, surface and lake water samples using large volume direct injection high performance liquid chromatography – Electro spray tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS). *Chemosphere*, 81, 859-866. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2010.08.011
- Bitas, D., & Samanidou, V. (2020). *Biomedical Applications*. Elsevier eBooks. doi:10.1016/B978-0-12-816911-7.00023-2
- Bocos González, F. (2016). *Estudio conformacional de la estructura molecular de la cocaína y "el crack"*. Universidad de Valladolid. Obtenido de <https://uvadoc.uva.es/handle/10324/18880>
- BOE-A-2001-14276 Real Decreto. (2001). *Real Decreto Legislativo 1/2001, de 20 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Aguas*. Obtenido de <https://www.boe.es/eli/es/rdlg/2001/07/20/1>
- Campestrini, I., & Jardim, W. F. (2017). Occurrence of cocaine and benzoylecgonine in drinking and source water in the São Paulo State region, Brazil. *Science of The Total Environment*, 576, 374-380. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2016.10.089
- Damià Barceló, L., & López de Alda, M. J. (2008). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes*. Obtenido de https://fnca.eu/phocadownload/P.CIENTIFICO/inf_contaminacion.pdf
- Flores, E. A. (2008). Efectos de la cocaína en el ser humano. *Trastornos Adictivos*, 10, 151-165. doi:10.1016/S1575-0973(08)76362-1
- Fuentes López, A., Fernández Segovia, I., & Fuentes López, C. (2020). *Preparación de muestra mediante la extracción en fase sólida*. Obtenido de <https://acortar.link/Qcd2av>
- García Reyes, J. (2021). *Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)*. Obtenido Universidad de Jaén.
- García Reyes, J. (2021). *Hibridación instrumental: GC-MS y HPLC-MS*. Obtenido Universidad de Jaén.
- Gheorghe, A., Van Nuijs, A., Pecceu, B., Bervoets, L., Jorens, P. G., Blust, R., . . . Covaci, A. (2007). Analysis of cocaine and its principal metabolites in waste and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography–ion trap tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391, 1309-1319. doi:10.1007/s00216-007-1754-5
- Gil, M. J., Soto, A. M., Usma, J. I., & Gutiérrez, O. D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552012000200005&lng=en&tlng=es
- Gogoi, A., Mazumder, P., Tyagi, V. K., Chaminda, G. T., An, A. K., & Kumar, M. (2018). Occurrence and fate of emerging contaminants in water environment: A review. *Groundwater for Sustainable Development*, 6, 169-180. doi:10.1016/j.gsd.2017.12.009
- Hu, P., Guo, C., Zhang, Y., Lv, J., Zhang, Y., & Xu, J. (2019). Occurrence, distribution and risk assessment of abused drugs and their metabolites in a typical urban river in north China. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 13. doi:10.1007/s11783-019-1140-5
- Hussen, A. A. (2022). High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review. *Annals of Advances In Chemistry*, 6, 10-20. doi:10.29328/journal.aac.1001026
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R. M., & Guwy, A. J. (2008). The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs in surface water in South Wales, UK. *Water Research*, 42, 3498-3518. doi:10.1016/J.WATRES.2008.04.026

- Khan, S., Naushad, M., Govarathanan, M., Iqbal, J., & Alfadul, S. M. (2022). Emerging contaminants of high concern for the environment: Current trends and future research. *Environmental Research*, 207, 112609. doi:10.1016/j.envres.2021.112609
- Kumar, R., Qureshi, M., Vishwakarma, D. K., Al-Ansari, N., Kuriqi, A., Elbeltagi, A., & Saraswat, A. (2022). A review on emerging water contaminants and the application of sustainable removal technologies. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 6, 100219. doi:10.1016/J.CSCEE.2022.100219
- Li, K., Du, P., Xu, Z., Gao, T., & Li, X. (2016). Occurrence of illicit drugs in surface waters in China. *Environmental Pollution*, 213, 395-402. doi:10.1016/J.ENVPOL.2016.02.036
- Lin, A. Y., Wang, X. H., & Lin, C. F. (2010). Impact of wastewaters and hospital effluents on the occurrence of controlled substances in surface waters. *Chemosphere*, 81, 562-570. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2010.08.051
- Llona, I. G., Tumuluru, S., González-Torres, M. Á., & Gaviria, M. (2015). Cocaine: a review of addiction and treatment. *Revista de la Asociación Española de Neuropsiquiatría*, 35, 555-571. doi:10.4321/S0211-57352015000300008
- Masemola, D. P., Nxumalo, E. N., Nyoni, H., Nkambule, T. T., Mamba, B. B., & Msagati, T. A. (2020). The occurrence and exposure risk assessment of psychoactive drug residues and metabolites in aquatic environment. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 178, 112944. doi:10.1016/J.JPBA.2019.112944
- Mastroianni, N., Bleda, M. J., De Alda, M. L., & Barceló, D. (2016). Occurrence of drugs of abuse in surface water from four Spanish river basins: Spatial and temporal variations and environmental risk assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 316, 134-142. doi:10.1016/J.JHAZMAT.2016.05.025
- Matamoros, V. (2012). Muestreo integral y preparación de muestras. doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.10013-4
- Mendoza, A., Rodríguez-Gil, J. L., González-Alonso, S., Mastroianni, N., De Alda, M. L., Barceló, D., & Valcárcel, Y. (2014). Drugs of abuse and benzodiazepines in the Madrid Region (Central Spain): Seasonal variation in river waters, occurrence in tap water and potential environmental and human risk. *Environment International*, 70, 76-87. doi:10.1016/J.ENVINT.2014.05.009
- Ministerio para la transición ecológica y el reto demográfico. (s.f.). *Contaminantes emergentes*. Obtenido de <https://www.miteco.gob.es/es/agua/temas/estado-y-calidad-de-las-aguas/contaminantes-emergentes.html>
- Montagner, C. C., Sodré, F. F., Acayaba, R. D., Campestrini, I., Locatelli, M. A., Pescara, I. C., . . . Jardim, W. F. (2019). Ten Years-Snapshot of the Occurrence of Emerging Contaminants in Drinking,. *Sociedade Brasileira de Química*. doi:10.21577/0103-5053.20180232
- Morin-Crini, N., Lichtfouse, E., Liu, G., Balaram, V., Ribeiro, A. R., Lu, Z., . . . Hocquet, D. (2022). Worldwide cases of water pollution by emerging contaminants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 20, 2311-2338. doi:10.1007/s10311-022-01447-4
- Nascimento, M. M., Nascimento, M. L., Anjos, J. P., Cunha, R. L., Da Rocha, G. O., Santos, I. F., . . . De Andrade, J. B. (2023). A green method for the determination of illicit drugs in wastewater and surface waters-based on a semi-automated liquid-liquid microextraction device. *Journal of Chromatography A*, 1710, 464230. doi:10.1016/J.CHROMA.2023.464230
- National Institute on Drug Abuse. (2024). *La cocaína*. doi:<https://nida.nih.gov/es/areas-de>

- Pachés Giner, M. A. (2020). Contaminantes emergentes. Obtenido de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/142675/Pach%c3%a9s%20-%20Contaminantes%20emergentes.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Palomino Vasco, M. (2018). DLLME: Una técnica sostenible para ahorrar tiempo y dinero. Obtenido de https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/15231/1/978-84-697-4644-8_306.pdf
- Peng, Y., Gautam, L., & Hall, S. W. (2019). The detection of drugs of abuse and pharmaceuticals in drinking water using solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere*, 223, 438-447. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2019.02.040
- Pereira, C. D., Maranhão, L. A., Cortez, F. S., Pusceddu, F. H., Santos, A. R., Ribeiro, D. A., . . . Guimarães, L. L. (2016). Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone. *Science of The Total Environment*, 548-549, 148-154. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2016.01.051
- Pisetta, A.-M., Roveri, V., Guimarães, L. L., Correia, D. O., & Correia, A. T. (2022). First report on the occurrence of pharmaceuticals and cocaine in the coastal waters of Santa Catarina, Brazil, and its related ecological risk assessment. *Environmental Science And Pollution Research International*, 29, 63099-63111. doi:10.1007/s11356-022-20312-z
- Rathi, B. S., Kumar, P. S., & Show, P. L. (2021). A review on effective removal of emerging contaminants from aquatic systems: Current trends and scope for further research. *Journal of Hazardous Materials*, 409, 124413. doi:10.1016/J.JHAZMAT.2020.124413
- Robles Molina, J., Francisco, G. R., Molina Díaz, A. F.-A., Agüera, A., Gómez, M., Martínez-Bueno, M., . . . Herrera, S. (2012). *Protocolo de técnicas de muestreo y técnicas analíticas de contaminantes emergentes y prioritarios*. IMDEA AGUA. Obtenido de <http://eprints.imdea-agua.org:13000/id/eprint/54>
- Robles-Molina, J., Gilbert-López, B., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. (2014). Monitoring of selected priority and emerging contaminants in the Guadalquivir River and other related surface waters in the province of Jaén, South East Spain. *Science of The Total Environment*, 479-480, 247-257. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2014.01.121
- Roveri, V., Guimarães, L. L., Toma, W., & Correia, A. T. (2021). Occurrence and ecological risk assessment of pharmaceuticals and cocaine in the urban drainage channels of Santos beaches (São Paulo, Brazil): a neglected, but sensitive issue. *Environmental Science And Pollution Research International*, 28, 65596-65609. doi:10.1007/s11356-021-15249-8
- Unión europea. (2000). *Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas*. Obtenido de <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2000-82524>
- Unión europea. (2008). *Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas*. Obtenido de <https://www.boe.es/doue/2008/348/L00084-00097.pdf>
- Unión europea. (2013). *Directiva 2013/39/UE del parlamento europeo y del consejo del 12 de agosto de 2013*. Obtenido de <https://www.boe.es/doue/2013/226/L00001-00017.pdf>
- Universidad de Jaén. (2017). *Reglamento de los trabajos fin de grado en la facultad de ciencias experimentales de la universidad de Jaén*. Obtenido de https://facexp.ujaen.es/sites/centro_facexp/files/uploads/Trabajo%20Fin%20de%20Grado/Anexos/Reglamento%20TFG_V05_05_2021.pdf

- Valcárcel, Y., Martínez, F., González-Alonso, S., Segura, Y., Catalá, M., Molina, R., . . . Barceló, D. (2012). Drugs of abuse in surface and tap waters of the Tagus River basin: Heterogeneous photo-Fenton process is effective in their degradation. *Environment International*, *41*, 35-43. doi:10.1016/J.ENVINT.2011.12.006
- Van der Aa, M., Bijlsma, L., Emke, E., Dijkman, E., van Nuijs, A. L., van de Ven, B., . . . de Voogt, P. (2013). Risk assessment for drugs of abuse in the Dutch watercycle. *Water Research*, *47*, 1848-1857. doi:10.1016/J.WATRES.2013.01.013
- Van Nuijs, A. L., Pecceu, B., Theunis, L., Dubois, N., Charlier, C., Jorens, P. G., . . . Covaci, A. (2009). Cocaine and metabolites in waste and surface water across Belgium. *Environmental Pollution*, *157*, 123-129. doi:10.1016/J.ENVPOL.2008.07.020
- Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., & Picó, Y. (2010). SPE and LC-MS/MS determination of 14 illicit drugs in surface waters from the Natural Park of L'Albufera (València, Spain). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *397*, 2851-2864. doi:10.1007/s00216-010-3720-x
- Vazquez-Roig, P., Andreu, V., Blasco, C., Morillas, F., & Picó, Y. (2012). Spatial distribution of illicit drugs in surface waters of the natural park of Pego-Oliva Marsh (Valencia, Spain). *Environmental Science and Pollution Research*, *19*, 971-982. doi:10.1007/s11356-011-0617-y
- Voloshenko-Rossin, A., Gasser, G., Cohen, K., Gun, J., Cumbal-Flores, L., Parra-Morales, W., . . . Lev, O. (2014). merging pollutants in the Esmeraldas watershed in Ecuador: discharge and attenuation of emerging organic pollutants along the San Pedro–Guayllabamba–Esmeraldas rivers. *Environmental Science: Processes Impacts*, *17*, 41-53. doi:10.1039/c4em00394b
- Wang, D.-G., Zheng, Q.-D., Wang, X.-P., Du, J., Tian, C.-G., Wang, Z., & Ge, L.-K. (2016). Illicit drugs and their metabolites in 36 rivers that drain into the Bohai Sea and north Yellow Sea, north China. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*, 16495-16503. doi:10.1007/s11356-016-6824-9
- Wilkinson, J. L., Hooda, P. S., Swinden, J., Barker, J., & Barton, S. (2017). Spatial distribution of organic contaminants in three rivers of Southern England bound to suspended particulate material and dissolved in water. *Science of The Total Environment*, *593-594*, 487-497. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2017.03.167
- Wilkinson, J., Hooda, P. S., Barker, J., Barton, S., & Swinden, J. (2017). Occurrence, fate and transformation of emerging contaminants in water: An overarching review of the field. *Environmental Pollution*, *231*, 954-970. doi:10.1016/J.ENVPOL.2017.08.032
- Yao, B., Yan, S., Lian, L., Liu, D., Cui, J., & Song, W. (2021). Occurrence, distribution, and potential health risks of psychoactive substances in Chinese surface waters. *Journal of Hazardous Materials*, *407*, 124851. doi:10.1016/J.JHAZMAT.2020.124851