

Fitorremediación de contaminantes emergentes de origen farmacéutico en humedales flotantes**Phytoremediation of pharmaceutical emerging contaminants in floating wetlands**

Giselle Mariza Duré¹, Leónida Medina García^{1,2}, Sergio Rodríguez Bonet², Francisco Ferreira³, Pablo Heleno Sezerino⁴ & Tomás López Arias¹

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Grupo Wetlands Paraguay, Laboratorio de Biotecnología Ambiental, Departamento de Biotecnología, San Lorenzo, Paraguay.

²Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología, Departamento de Investigación y Desarrollo, Organismo de Investigación y Asistencia Tecnológica, Asunción, Paraguay.

³Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biotecnología, Laboratorio de Recursos Vegetales, San Lorenzo, Paraguay.

⁴Universidad Federal de Santa Catarina, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, Centro Tecnológico, Florianópolis, Brasil
Autor correspondiente: E-mail: giselledure@facen.una.py.

Resumen: Los contaminantes emergentes, también denominados microcontaminantes, son compuestos de distintos orígenes y naturaleza que durante mucho tiempo han sido ignorados debido a su baja concentración. La presencia de compuestos farmacéuticos en cuerpos de agua y sus efectos ecotoxicológicos se han convertido en un tema de interés mundial. El objetivo del trabajo aquí presentado fue evaluar la remoción del ibuprofeno y paracetamol desde un efluente doméstico mediante la macrófita acuática *Typha dominguensis* en sistemas de humedales flotantes a escala de mesocosmos. Los ejemplares de *T. dominguensis* fueron colectados de los humedales del Lago Ypacaraí, trasladadas y aclimatadas en el invernadero 30 días antes del inicio del experimento. Se diseñaron y construyeron los sistemas flotantes con el fin de que las raíces y rizomas permanezcan sumergidos. El ensayo se realizó desde un efluente doméstico con la adición de los fármacos en estudio a una concentración de 25 mg.L⁻¹. La constante de velocidad de decaimiento del ibuprofeno fue de K: 0,004 días⁻¹, y el t_{1/2} = 10,1 días⁻¹. Para el paracetamol fue de K: 0,106 días⁻¹, y el t_{1/2} = 6,5 días⁻¹, alcanzando porcentajes de remoción de 65,1% del ibuprofeno, 86,5 % del paracetamol, en el tratamiento empleado. El contenido de clorofila no se vio afectado por la exposición a los fármacos en estudio.

Palabras clave: contaminantes emergentes; humedales flotantes; *Typha dominguensis*; efluente doméstico, paracetamol, ibuprofeno.

Abstract: The emerging pollutants, or micropollutants, are compounds of different origin and nature that have been ignored for a long time due to their low concentration. The presence of pharmaceutical compounds in water bodies, and their ecotoxicological effects, became a topic of worldwide interest. The objective of this work was to evaluate the removal of ibuprofen and paracetamol from a domestic effluent by the aquatic macrophyte *Typha dominguensis* in floating wetland systems at the mesocosm scale. Specimens of *T. dominguensis* were collected from the Ypacaraí Lake wetlands, transferred and acclimatized in the greenhouse during 30 days before the start of the experiment. Floating systems were designed and built so that the roots and rhizomes remained submerged. The test was carried out from a domestic effluent with the addition of the study drugs at a concentration of 25 mg.L⁻¹. The decay rate constant of ibuprofen was K: 0.004 days⁻¹, and its t_{1/2} = 10.1 days⁻¹. For paracetamol was K: 0.106 days⁻¹, and t_{1/2} = 6.5 days⁻¹, reaching removal percentages of 65.1% for the ibuprofen, 86.5% for the paracetamol, during the treatment. The chlorophyll content was not affected by the exposure to the drugs under study.

Key words: emerging pollutants; Floating vegetation; *Typha dominguensis*; domestic effluent, paracetamol, ibuprofen.

Introducción

Los contaminantes emergentes también denominados microcontaminantes, son compuestos de distintos origen y naturaleza que durante mucho tiempo

han sido ignorados debido a su baja concentración en el orden de mg/L o ng/L (Barceló & López, 2012) Hasta hace muy poco no se habían considerado como perjudiciales y hasta el momento no se cuenta

Recibido: 26/07/2022 Aceptado: 25/11/2022



2078-399X/2022 Facultad de Ciencias Exactas y Naturales - Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay. Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>).

con normas regulatorias. Dentro de este grupo se encuentran actualmente los productos derivados de los domisanitarios y fármacos en general, sustancias químicas como pesticidas, productos de cuidado personal, plastificantes, hidrocarburos, hormonas y drogas ilícitas, muchos de ellos se comportan como disruptores endocrinos, provocando efectos negativos sobre la salud humana y el medio ambiente.

La presencia de compuestos farmacéuticos en cuerpos de agua y sus efectos ecotoxicológicos se han convertido en un tema de interés mundial. Se encuentran en el medio ambiente por la eliminación ineficiente en los procesos de tratamientos convencionales, primarios, secundarios y biológicos, empleados en las estaciones depuradoras de las aguas residuales y aún con los tratamientos terciarios generalmente más costoso y complejos, pueden no ser suficientes para la eliminación total de los microcontaminantes. La mayoría de los microcontaminantes no se metabolizan completamente después de la ingestión humana y como resultados de sus metabolitos y algunos compuestos originales se excretan y llegan a los sistemas de alcantarillado, y en alguna degradación del contaminante pueden generar producto con mayor toxicidad y persistencia que el propio precursor (Gilabert Belmonte, 2019; Hijosa Valsero *et al.*, 2019).

Los microcontaminantes orgánicos de origen farmacéuticos más estudiados son el ibuprofeno y el paracetamol y han sido seleccionados para la investigación debido a su alto consumo en todo el mundo y encontrados en ambientes acuáticos de acuerdo su persistencia, baja degradación y los posibles efectos en el ambiente (Zhang *et al.*, 2017). En la actualidad se han desarrollado diversas metodologías de

remediación entre ellas la fitorremediación y el empleo de humedales construidos que hace uso de los sistemas con macrófitas, llamados también filtros verdes o biofiltros, con el fin reducir la concentración o peligrosidad de contaminantes orgánicos e inorgánicos. La fitorremediación es una alternativa de remediación que propone la aplicación de humedales construidos, una ecotecnología para eliminar los contaminantes convencionales y también los productos farmacéuticos en general (Verlicchi & Zambello, 2014). En este contexto es relativamente nueva y los mecanismos que implican en la eliminación de contaminantes pueden estar clasificados por procesos bióticos (degradación microbiológica, biopelícula, absorción, desintoxicación de raíces y plantas) y procesos fisicoquímicos (evaporación, fotodegradación, oxidación, hidrólisis, retención o absorción de raíces en el lecho de grava). (Kurade *et al.*, 2021; Hijosa Valsero, *et al.* 2019).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la cinética de remoción del ibuprofeno, paracetamol y el contenido de clorofila desde un efluente doméstico mediante la macrófita acuática *Typha dominguensis* en humedales flotantes a escala de mesocosmos y analizando los fármacos mediante cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

Materiales y Métodos

Sitio de estudio

Los ejemplares de *T. dominguensis* fueron colectados de los humedales del Lago Ypacaraí (Latitud 25°21.978' S; longitud 57°18.179' O). Las macrófitas fueron trasladadas y aclimatadas en el invernadero 30 días antes del inicio del experimento para su adaptación y reproducción. (Fig. 1)



Figura 1. Vista frontal del invernadero (izquierda) y aclimatación de ejemplares en condiciones de invernadero (centro y derecha).

Durante la aclimatación para el ensayo preliminar, se realizó el reemplazo gradual del agua de origen por el agua de grifo con nutrientes APHA Modificado (Peterson and Moody, 1997). En el ensayo final se realizó el mismo procedimiento con el reemplazo gradual del agua de origen por el efluente a tratar. El cual se obtuvo del registro sanitario de salida de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN).

El montaje del experimento se realizó en el invernadero del Laboratorio de Biotecnología Ambiental de la FACEN.

Diseño Experimental

Se realizó un diseño en bloques completamente al azar, a una concentración de 25 mg.L⁻¹ de cada fármaco. Los controles positivos se realizaron con los contaminantes y sin plantas. Como control biológico se utilizaron las plantas sin los contaminantes presentes en el agua. (Fig. 2)

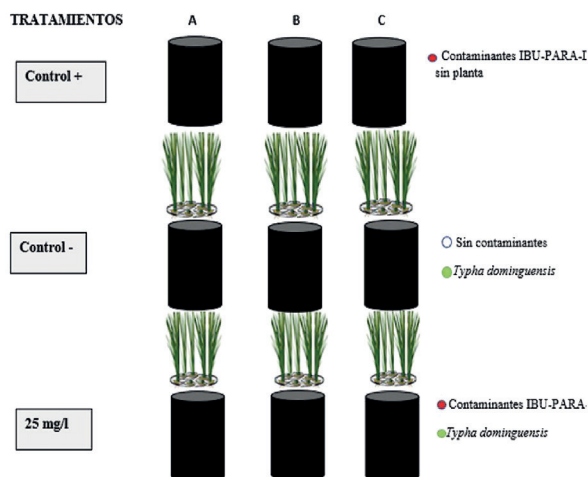


Figura 2. Representación esquemática del ensayo.

Compuestos farmacéuticos

Los compuestos comerciales del paracetamol, ibuprofeno fueron adquiridos de farmacias locales, en su presentación en tabletas con principios activos de 400 mg de ibuprofeno, paracetamol de 500 mg. Se pesaron 10 tabletas y se realizaron los cálculos de los pesos promedios del principio activo con

las concentraciones ensayadas, se trituraron para homogeneizar, luego se agregaron a cada unidad experimental correspondiente cantidad adecuada para tener 25 ml/L de cada fármaco.

Toma de muestras

El tiempo en las condiciones de exposición fue de 14 días. En cada unidad experimental se tomaron alícuotas de 10 mL de las aguas del tratamiento (Fig. 3) y controles en los siguientes tiempos: 0, 1, 2, 7, 10, 14 días de exposición, en frascos adecuados y refrigerados hasta el momento del análisis.

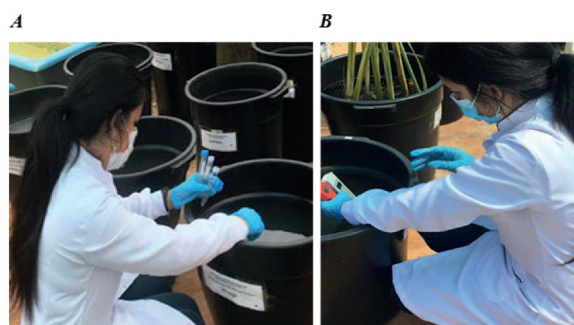


Figura 3. Labores en el invernadero. A) Toma de muestras en los tratamientos. B) Observaciones y mediciones in situ de algunos parámetros fisicoquímicos.

Ensayo de remoción de contaminantes emergentes en efluente a escala de mesocosmos

El experimento consistió en colocar 9 recipientes (60 L) con tres réplicas a una sola concentración final de cada fármaco, así como los controles en las mismas condiciones, con control biológico (efluente + macrófitas) y controles positivos (efluente + 25 mg.L⁻¹ de los contaminantes sin las macrófitas). Para proporcionar la flotabilidad de las macrófitas se diseñó y construyó un soporte con un marco de hierro (diámetro: 40 cm) y una red de PVC (diámetro: 20 mm), donde se dispusieron 7 plantas en cada recipiente (Fig. 4). El volumen total en cada unidad experimental fue de 40 litros de efluente proveniente de la FACEN, con la adición de los fármacos.

Análisis cromatográfico

Las alícuotas de muestras colectadas y refrigeradas

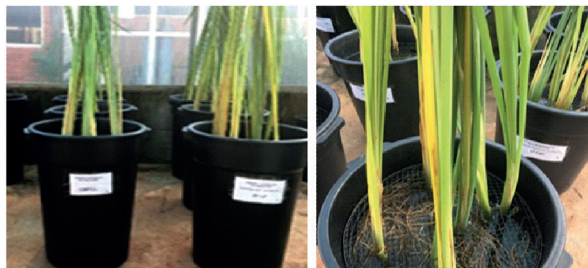


Figura 4. Montaje del ensayo en el invernadero.

fueron analizadas en el Departamento de Investigación y Desarrollo Instituto de Tecnología, Normalización y Metrología (INTN). Las muestras se filtraron a través de filtros de jeringa de poliamida de 0,45 μm y los análisis se realizaron por HPLC-UV (Fig. 5).



Figura 5. Lectura de las muestras y equipo de HPLC utilizados en la cuantificación de contaminantes emergentes. Laboratorio del Departamento de Investigación y desarrollo OIAT-INTN.

Para la selección de la longitud de onda del detector UV, se preparó una solución de un estándar de 25 mg/L de cada analito, realizando un barrido espectral UV-Vis en el rango de 200 a 400 nm, determinando la longitud de onda que puede aplicarse en común para ambos analitos.

Las muestras se leyeron a 230 nm por triplicado en las siguientes condiciones: columna C18, fase móvil, acetonitrilo y buffer de fosfato (1:1) a pH 6, detector UV-Vis a 230 nm, volumen de inyección 10 microlitro, velocidad del flujo 1 mL por minuto, temperatura a 40 °C.

Determinación de clorofila

Se realizaron determinaciones de contenido de clorofila en las macrófitas, se homogeneizaron 0,1 g de hoja del material vegetal fresco en 10ml de etanol absoluto. Se centrifugaron a aproximadamente 2500 rpm durante 5 min a 15 °C. La cuantificación

de la clorofila se realizó mediante lecturas espectrofotométricas a 664nm (Wintermans y de Mots 1965). Estos procedimientos se llevaron a cabo en laboratorio de Instrumental del Departamento de Química de FACEN (Fig. 6).

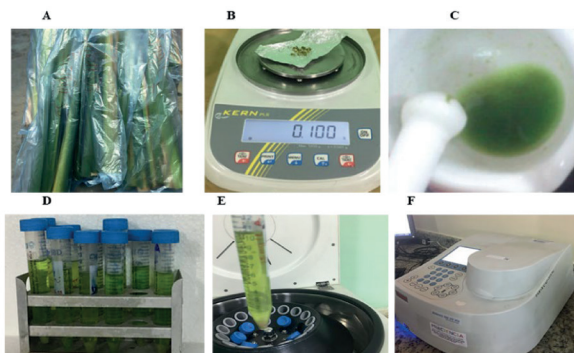


Figura 6. Determinación de clorofila para los tratamientos con *Typha domingensis*. A) Muestra en bruto. B) pesado. C) molienda. D) Extracción con etanol. E) Centrifugado. F) lecturas espectrofotométrica.

Análisis de resultados

Para la evaluación de los resultados de los experimentos se realizó el análisis de la varianza ANOVA, Prueba T, a un nivel de confiabilidad de valor $P < 0.05$. Los resultados se analizaron con el paquete estadístico SPSS.

Resultados y Discusión

La *Typha domingensis* no mostró signo de fitotoxicidad en las condiciones de estudio para la mezcla de paracetamol e ibuprofeno. El ensayo de la cinética de remoción de los fármacos en las condiciones de ensayo y el sistema empleado muestra

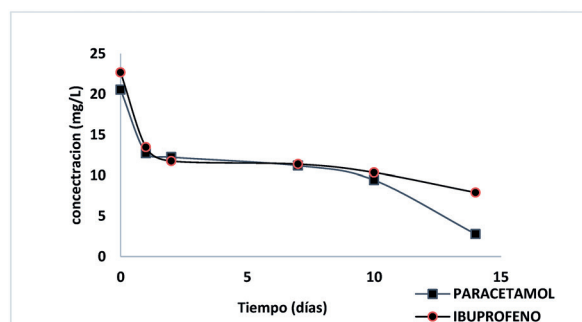


Figura 7. Variación de la concentración del paracetamol y el ibuprofeno en el tratamiento empleado.

que ambos fármacos presentan distintos órdenes de decaimiento de la concentración inicial. (Figura 7)

La mayor parte del decaimiento de la concentración ocurrió en los primeros tres días para el paracetamol con decaimiento exponencial, luego gradual, ajustándose mejor a un modelo cinético de primer orden con $R^2 = 0,782$ con una constante de velocidad de decaimiento K : 0,106 días⁻¹ y tiempo de vida media del analito $t_{1/2} = 6,5$ días⁻¹, (Figura 8) en el caso del ibuprofeno, el decaimiento exponencial se observó en los primeros 2 días y luego un decaimiento gradual lento, ajustando relativamente mejor a un modelo de segundo orden con R^2 : 0,808, constante de velocidad de decaimiento de la concentración K : 0,004 días⁻¹ y tiempo de vida media del analito $t_{1/2} = 10,16$ días⁻¹.

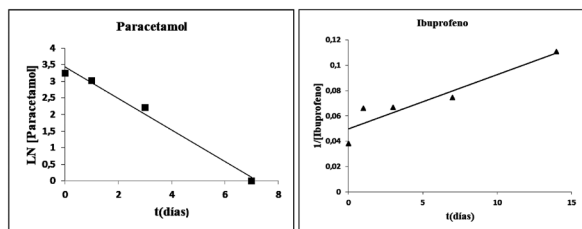


Figura 8. Ajuste de cinética del paracetamol y el ibuprofeno.

Como se observa en la Figura 9, las eficiencias de remoción para el compuesto del paracetamol fueron de 86,5 %, lo que se considera relativamente alto, 65,1 % de ibuprofeno, respectivamente, mientras que para el control fue de 7,2 % para el compuesto del paracetamol y 3,6 % de ibuprofeno, atribuyendo a la biodegradación como uno de los principales mecanismos de eliminación.

Los resultados obtenidos del análisis estadístico y el porcentaje de remoción de contaminantes se encontraron diferencias significativas sobre los fármacos estudiados $P < 0,05$. Al final del experimento se observó crecimiento de nuevos brotes y raíces, por lo que las plantas toleraron las condiciones del efluente y mostraron una tasa de crecimiento positiva. La remoción podría estar relacionados por acumulación de materia orgánica en la superficie de la planta y disponibilidad para los microorganismos. Según Lin *et al.* (2016) menciona que el ibuprofeno se elimina por biodegradación o absorción de la

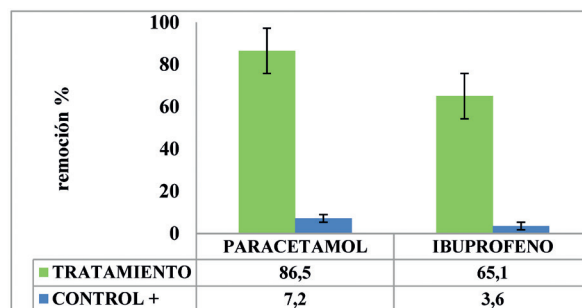


Figura 9. Eficiencia de remoción de los fármacos.

planta, y la eficiencia de eliminación depende en gran medida de la biomasa y los exudados de la planta y biopelículas formadas en sus superficies.

Según Matamoros *et al.*, (2012) la concentración inicial de ibuprofeno y la densidad de la biomasa de la planta podrían estar relacionados directamente en la eliminación través de la biodegradación atribuyendo al principal mecanismo y la absorción de la planta. Los autores también mencionan que el ibuprofeno es un compuesto biodegradable pero no así fotodegradable por la generación de exudados por las plantas y la actividad microbiana asociada al biofilm en la superficie de las plantas.

El acetaminofén, conocido como paracetamol, es un compuesto neutro, soluble con $\log K_{ow}$ de 0,46 y un pK_a de 9,4. Según Lin *et al.*, (2010), la biodegradación es uno de los principales mecanismos para la eliminación del paracetamol en humedales construidos. Vymazal *et al.*, (2017) observaron remoción del acetaminofén del 86% al 99% en sistemas CW plantados con *P. australis* y *P. australis* y *P. arundinacea*, indicando que la remoción esta correlacionado directamente con la temperatura de entrada del efluente.

Determinación de clorofila en macrófitas

Se realizó la determinación del contenido de clorofila en las macrófitas (Tabla 1), con el fin de observar si el desarrollo de las macrófitas se ve afectado por la presencia de los contaminantes en estudio, se obtuvieron los valores del contenido de clorofila tanto en los ejemplares del control expuestas sin la presencia de contaminantes, y en los tratamientos de las macrófitas expuestas a los contaminantes.

Tratamientos	Promedio (g Clorofila/100g de peso fresco)	P valor Prueba T
Control negativo	9,20	0,625
Tratamiento	9,90	0,650

Tabla 1. Concentración de Clorofila y P valor.

El análisis estadístico de los datos indica que la cantidad de clorofila entre la muestra evaluada del tratamiento con *Typha dominguensis* y el control negativo no poseen diferencias significativas ($P > 0,05$). La variable del contenido de clorofila no estaría relacionada con los efectos de los contaminantes en el tratamiento, puesto que a los 7 días del inicio del experimento, se observa cambios en la coloración de las hojas en el tratamiento y el control negativo, esta condición pueden estar atribuidas a la falta de nutrientes. (Fig. 10).

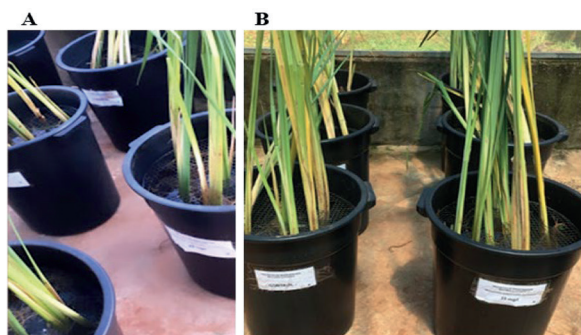


Figura 10. Tratamientos en humedal flotante (A) y control negativo (B) a los 7 días del inicio del experimento.

Sin embargo, se observó crecimiento de nuevos brotes y raíces, al final del experimento, por lo que las plantas toleraron las condiciones del efluente y mostraron una tasa de crecimiento positiva (Fig. 11)

Conclusiones

Los resultados obtenidos permiten concluir que los ejemplares colectados para adaptación y reproducción resultaron exitosos, donde los ensayos se realizaron con los nuevos ejemplares en condiciones de invernadero. Las eficiencias de remoción al final del ensayo fueron en un 86,5 % para el compuesto del paracetamol, 65,1 % de ibuprofeno.

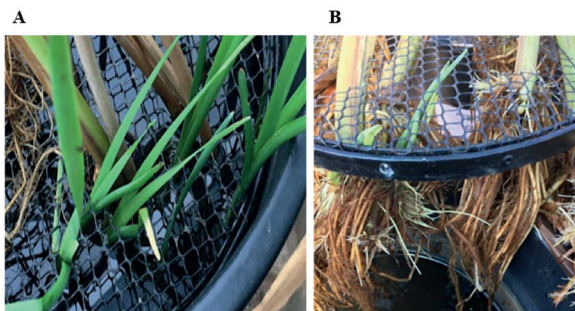


Figura 11. Crecimientos de nuevos brotes (A) y raíces (B) al final al final del experimento.

Las macrófitas mostraron tolerancia a las condiciones del ensayo lo que permitió demostrar una tasa de crecimiento positiva al final del experimento. El contenido de clorofila no se encontró diferencias significativas, por lo tanto, no se vio afectado a la exposición de los fármacos en el tratamiento empleado.

Agradecimientos

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología Conacyt por Financiamiento de la Maestría. Instituto Nacional de Tecnología Normalización y Tecnología INTN por el desarrollo de la metodología analítica. A mis Orientadores, Profesionales y amigos que apoyaron y acompañaron el proyecto.

Literatura Citada

- Barceló, D., & López, M. J. (2008). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes*. Panel Científico-Técnico de Seguimiento de la Política de Aguas. Sevilla: Fundación Nueva Cultura del Agua / Universidad de Sevilla / Ministerio de Medio Ambiente. 26 pp. [Consulted: 23.ii.2022]. <https://fnca.eu/phocadownload/P.CIENTIFICO/inf_contaminacion.pdf>.
- Ekowati, Y., Buttiglieri, G., Ferrero, G., Valle-Sistac, J., Diaz-Cruz M.S., Barceló, D. & Rodríguez-Roda, I. (2016). Occurrence of pharmaceuticals and UV filters in swimming pools and spas. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(14): 14431–14441.
- Hijosa-Valsero, M., Reyes-Contreras, C., Domín-

- guez, C., Bécáres, E., & Bayona, J.M. (2016). Behaviour of pharmaceuticals and personal care products in constructed wetland compartments: Influent, effluent, pore water, substrate and plant roots. *Chemosphere*, 145: 508–517.
- Kaur, R., Talan, A., Tiwari, B., Pilli, S., Sellamuthu, B. & Tyagi, R.D. (2020). Constructed wetlands for the removal of organic micropollutants. Pp. 87-140, in Varjani, S., Pandey, A. Tyagi, R.D. Ngo H.H. & Larroche, C. (Eds.). *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Emerging Organic Micropollutants*. Amsterdam: Elsevier BV. xxii + 565 pp.
- Lin, A.Y.C., Lin, C.A., Tung, H.H. & Chary, N.S. (2010). Potential for biodegradation and sorption of acetaminophen, caffeine, propranolol and acebutolol in lab-scale aqueous environments. *Journal of Hazardous Materials*, 183(1-3): 242–250.
- Li, Y., Zhu, G., Ng, W.J. & Tan, S.K. (2014). A review on removing pharmaceutical contaminants from wastewater by constructed wetlands: design, performance and mechanism. *Science of the Total Environment*, 468: 908–932.
- Lin, Y.L., & Li, B.K. (2016). Removal of pharmaceuticals and personal care products by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 58: 318–323.
- Madera-Parra, C.A., Jiménez-B, E.M., Toro-Vélez, A.F., Lara-Borrero, J.A., Bedoya-Ríos, D.F., & Duque-Pardo, V. (2018). Estudio exploratorio de la presencia de microcontaminantes en el ciclo urbano del agua en Colombia: caso de estudio Santiago de Cali. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(3): 475–487.
- Matamoros, V. & Salvadó, V. (2012). Evaluation of the seasonal performance of a water reclamation pond-constructed wetland system for removing emerging contaminants. *Chemosphere*, 86(2): 111–117.
- Patiño, Y., Díaz, E. & Ordóñez, S. (2014). Microcontaminantes emergentes en aguas: tipos y sistemas de tratamiento. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 5(2): 1–20.
- Pavlineri, N., Tsihrintzis, N.T. & Tsihrintzis, V.A. (2017). Constructed Floating Wetlands: A review of research, design, operation and management aspects, and data meta-analysis. *Chemical Engineering Journal*, 308: 1120–1132.
- Vymazal, J., Březinová, T. D., Koželuh, M. & Kule, L. (2017). Occurrence and removal of pharmaceuticals in four full-scale constructed wetlands in the Czech Republic—the first year of monitoring. *Ecological Engineering*, 98: 354–364.
- Vymazal, J. (2011). Plants used in constructed wetlands with horizontal subsurface flow: a review. *Hydrobiologia*, 674(1): 133–156.
- Verlicchi, P. & Zambello, E. (2014). How efficient are constructed wetlands in removing pharmaceuticals from untreated and treated urban wastewaters? a review. *Science of the Total Environment*, 470-471: 1281–1306.
- Zhang, L., Lv, T., Zhang, Y., Stein, O.R., Arias, C.A., Brix, H. & Carvalho, P.N. (2017). Effects of constructed wetland design on ibuprofen removal—A mesocosm scale study. *Science of the total environment*, 609: 38–45.
- Zhang, L., Lyu, T., Zhang, Y., Button, M., Arias, C.A., Weber, K.P. & Carvalho, P.N. (2018). Impacts of design configuration and plants on the functionality of the microbial community of mesocosm-scale constructed wetlands treating ibuprofen. *Water Research*, 131: 228–238.