

**Proyecto “DESARROLLO DE  
METODOLOGÍAS DE LABORATORIO  
PARA LA DETECCIÓN DE  
CONTAMINANTES EMERGENTES Y SU  
IDENTIFICACIÓN EN CUERPOS DE AGUA  
(AGUA SEDIMENTO) Y EN AGUAS  
RESIDUALES (EN INFLUENTE, EFLUENTE  
Y LODOS DE PTAR)”  
CLAVE: TC1214.1  
Informe final**

COORDINACIÓN: TRATAMIENTO Y CALIDAD DEL AGUA  
SUBCOORDINACIÓN: CALIDAD DEL AGUA

**MANUEL SÁNCHEZ ZARZA  
MARTHA ÁVILES FLORES  
GABRIELA MOELLER CHAVEZ  
LUIS ALBERTO GONZÁLEZ ESQUIVEL  
MINERVA SÁNCHEZ GUZMÁN  
FERNANDO SÁNCHEZ GUZMÁN  
NORMA RAMÍREZ SALINAS**

<b>Indice general</b>	
Indice de figuras.....	iii
Indice de tablas.....	iv
Resumen ejecutivo.....	v
Objetivos del proyecto.....	vii
Antecedentes Generales.....	1
4.1 Los problemas de la contaminación de aguas continentales su principal fuente es el ciclo del agua.....	1
4.2 Contaminantes emergentes.....	2
4.3 Fármacos.....	3
4.4 Surfactantes y sus metabolitos.....	5
4.4.1 Detergentes.....	6
4.5 Xantatos.....	8
4.6 Cianobacterias.....	9
4.6.1 Microcistinas.....	9
4.6.2 Detección de microcistinas en agua.....	10
5. Metodología.....	10
6.	
Resultados.....	11
6.1 Implementación de las metodologías de Xantatos y detergentes.....	11
6.1.1 Validación de Xantatos.....	13
6.1.1.1 Linealidad del método de Xantatos.....	13
6.1.1.2 Límites de detección, cuantificación, precisión y exactitud.....	14
6.1.1.3 Reproducibilidad.....	15
7. Discusión y conclusiones.....	16
6.1.2 Implementación de metodología de SAAM.....	17
6.1.2.1 Validación de SAAM.....	17
6.1.2.2 Linealidad de SAAM.....	17
6.1.2.2.2 Límites de detección, cuantificación, precisión y exactitud de SAAM.....	18
6.1.2.2.3 Reproducibilidad de SAAM.....	19
7.1 Discusión y conclusiones.....	19
6.2 Cianobacterias.....	20
6.2.1 Implementación del método para la determinación de cianotoxinas.....	20
6.2.2 Eficiencia de la columna.....	21
6.2.3 Aptitud del Sistema.....	21
6.3 Validación del Sistema.....	22
6.3.1 Linealidad del Sistema.....	22
6.3.2 Precisión del Sistema.....	23
6.3.3 Linealidad del Método.....	24
6.3.4 Precisión del método.....	27
6.3.5 Límite de cuantificación.....	27
7.2 Discusión y conclusiones.....	27

4.7 CASO DE ESTUDIO: Estudio de la presencia e identificación de fármacos y hormonas en cuerpos de agua (Río Atoyac) y en aguas residuales (influyente, efluente y lodos de PTAR).....	29
4.7.1 Descripción de la zona de estudio.....	29
4.7.1.1 Características físicas.....	29
4.7.1.2 Clima.....	29
4.7.1.3 Industrias que descargan al Río Atoyac.....	33
5.1 Metodología.....	35
5.1.1 Coordenadas de los sitios de muestreo del río Atoyac y ptar de puebla.....	35
5.1.2 Descripción de estaciones.....	36
5.1.3 Ubicación de las Plantas de tratamiento de agua residual del SOA.PAP muestreadas.....	37
5.1.4 Colecta de muestras.....	39
5.1.5 Análisis de muestras.....	40
6.5 Resultados.....	41
6.5.1 Fármacos.....	45
7.3 Conclusiones.....	60
8. Bibliografía.....	61

## Indice de figuras.

Figura 1 Ciclo del Agua.....	1
Figura 2 Espectro de absorción ultravioleta visible de Xantatos.....	11
Figura 3 Curva de calibración de Xantatos .....	12
Figura 4 Espectro de absorción de Xantatos en muestras de agua.....	16
Figura 5 Cromatograma y espectro de absorción UV-vis de MC-LR.....	20
Figura 6 Linealidad del Sistema de MC-LR.....	22
Figura 7 Linealidad del Método de MC-LR.....	25
Figura 8 Mapa de sitios de muestreo superficial en el Río Atoyac, Tlaxcala-Puebla.....	36
Figura 9 Colecta de muestras y preservación.....	39
Figura 10 Extracción en fase sólida de las muestras.....	40
Figura 11 Concentración de las muestras .....	40
Figura 12 Inyección y cromatograma de fármacos .....	40
Figura 13 Gráfico de la DBO5 en PTAR en estiaje y lluvias .....	41
Figura 14 Gráfico de SST en PTAR en estiaje y lluvias .....	42
Figura 15 Gráfico de DQO en PTAR en estiaje y lluvias .....	43
Figura 16 Gráfico de Color Verdadero en PTAR en estiaje y lluvias .....	44
Figura 17 Gráfico de Ácido Clofíbrico en el Río Atoyac .....	45
Figura 18 Gráfico de Gemfibrozil en el río Atoyac en estiaje y lluvias .....	46
Figura 19 Gráfico de Ácido Clofíbrico en plantas de tratamiento de aguas residuales.....	47
Figura 20 Gráfico de Gemfibrozil en plantas de tratamiento de aguas residuales .....	48
Figura 21 Gráfico de Amoxicilina en Río Atoyac.....	50
Figura 22 Gráfico de Amoxicilina en plantas de tratamiento de agua residual .....	50
Figura 23 Gráfico de Estrona en Río Atoyac .....	51
Figura 24 Gráfica de 17 $\beta$ -estradiol en Río Atoyac.....	52
Figura 25 Gráfica de 17 $\alpha$ -etinil estradiol en Río Atoyac.....	53
Figura 26 Gráfica de Estrona en plantas de tratamiento de agua residual.....	54
Figura 27 Gráfico de 17 $\beta$ -estradiol en plantas de tratamiento en agua residual.....	55
Figura 28 Gráfico de 17 $\alpha$ -etinil estradiol .....	56

## Índice de tablas.

Tabla 1 Linealidad del método de Xantatos .....	13
Tabla 2 Prueba de desempeño de Xantatos .....	14
Tabla 3 Reproducibilidad de Xantatos.....	15
Tabla 4 Linealidad del Método de SAAM.....	17
Tabla 5 Prueba de Desempeño de SAAM .....	18
Tabla 6 Reproducibilidad de SAAM .....	19
Tabla 7 Condiciones cromatográficas .....	21
Tabla 8 Relación de tiempo y área para Aptitud del Sistema .....	21
Tabla 9 Relación concentración-área de Linealidad del Sistema .....	22
Tabla 10 Precisión del Sistema .....	23
Tabla 11 Relación de concentraciones para Linealidad del Método .....	24
Tabla 12 Parámetros de Linealidad del Método .....	25
Tabla 13 Porcentaje de Recobro .....	26
Tabla 14 Precisión del Método .....	27
Tabla 15 Identificación de los Municipios .....	31
Tabla 16 Coberturas de alcantarillado sanitario por municipio (2005).....	32
Tabla 17 Plantas de tratamiento de aguas residuales municipales (2005).....	33
Tabla 18 Coordenadas de los sitios de muestreo.....	35
Tabla 19 Concentraciones de fármacos reguladores de lípidos en plantas de agua residual.....	49
Tabla 20 Concentraciones de los estrógenos en diferentes matrices ambientales .....	57

## **2. RESUMEN EJECUTIVO.**

La actividad que diariamente desarrollamos como sociedad implica que generamos alteraciones sobre nuestro entorno y el medio ambiente. Así, actividades tan comunes como la higiene personal o el cuidado de la salud pueden generar serios problemas en el ecosistema, dado que incorporamos a éste una serie de sustancias de diferente origen y naturaleza química, de los cuales se sabe relativamente poco respecto de su impacto en los distintos compartimentos ambientales y en el ser humano, sustancias que los investigadores han dado en denominar contaminantes emergentes.

Dentro de estos contaminantes están los productos farmacéuticos (antibióticos, antidepresivos, hormonas, etc.) y sus subproductos (metabolitos), un tema interesante de estudiar considerando que, a nivel internacional, las investigaciones en este campo se vienen desarrollando hace ya 20 años; y si bien no se trata de compuestos persistentes, su constante utilización y vertimiento los hacen estar presentes en nuestro entorno. La principal fuente de ingreso al ecosistema de este tipo de compuestos son las descargas de aguas servidas no tratadas y los efluentes de las plantas de tratamiento de esta agua; y en lo que respecta a la presencia de productos y subproductos farmacéuticos en agua para consumo humano, existe ciertamente un riesgo menor para la población, que debe ser estudiado. Actualmente las plantas de tratamiento, ya sea de agua para consumo humano como las de aguas servidas, no están diseñadas para tratar y eliminar productos y subproductos farmacéuticos, por lo que conocer de su presencia en nuestro entorno es fundamental.

Por otra parte tenemos también los contaminantes naturales que también son emergentes y estamos hablando de la problemática derivada de los florecimientos algales los cuales por el tipo de alga pueden generar una toxicidad al agua, creando la necesidad de contar con métodos que identifiquen y cuantifiquen las toxinas generadas, de atención son la microcistinas.

Estas toxinas generan problemas en las plantas tratadoras de agua potable, ya que el agua suministrada puede contenerlas al ser el cuerpo de agua una fuente de abastecimiento para las plantas potabilizadoras.

Estas toxinas han resultado ser potentes promotores de tumores hepáticos y por tanto de la aparición de especies potencialmente productoras en nuestros ambientes acuáticos por lo cual es igual de importante tener conocimiento de su presencia para aplicar un método de tratamiento para su eliminación.

En México existen pocos trabajos de investigación al respecto por lo que el Instituto Mexicano de Tecnología del Agua se ha dado a la tarea de realizar la implementación de metodologías analíticas, de extracción, separación e identificación de compuestos emergentes como la validación de estos métodos en cuerpos de agua superficiales y plantas de tratamiento de agua residual.

El presente trabajo consiste, en la implementación de metodologías de: microcistina LR por cromatografía de ultra alta resolución; nonilfenol por cromatografía gases espectrometría de masas y surfactantes por espectrofotometría de ultravioleta visible.

El proyecto presente tiene además la validación de las metodologías de análisis de fármacos (Amoxicilina, Gemfibrozil, Acido Clofíbrico) y Hormonas (Estrona, 17  $\beta$ -estradiol,  $\alpha$ -etinil estradiol) con muestras reales en la Cuenca Balsas en épocas de estiaje y de lluvias, específicamente en el Río Atoyac uno de los ríos más importantes y donde se desarrollan una variada gama de actividades, evaluándose la probable presencia de fármacos en los sistemas de tratamiento de agua residual en influente y efluente.

### 3. OBJETIVOS DEL PROYECTO.

- Desarrollar e implementar la metodología para la cuantificación de Nonilfenoles por Cromatografía de Gases-Masas.
- Realizar diagnóstico de compuestos emergentes (amoxicilina, gemfibrozil, ácido clofíbrico, 17 $\beta$ -estradiol, 17 $\alpha$ -etinil estradiol, estrona) en cuerpos de agua-sedimento a través de la realización de dos monitoreos en época de estiaje y lluvias en PTAR.
- Desarrollo e implementación de las metodologías para la identificación y cuantificación de cianotoxinas por cromatografía de líquidos.
- Desarrollar e implementar las metodologías para la presencia de surfactantes (xantatos y detergentes) por espectrofotometría de uv-vis.

## 4. ANTECEDENTES GENERALES.

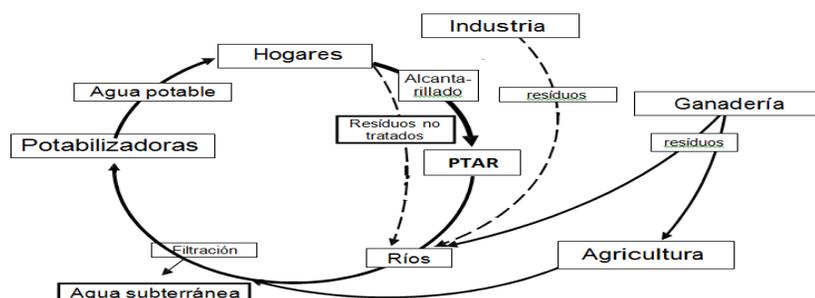
### 4.1 Los problemas de contaminación de aguas continentales su principal fuente de contaminación es el ciclo del agua.

El agua es un recurso natural escaso, indispensable para la vida humana y el sostenimiento del medio ambiente, que, como consecuencia del rápido desarrollo humano y económico y del uso inadecuado que se ha hecho de ella como medio de eliminación, ha sufrido un alarmante deterioro. Durante décadas, toneladas de sustancias biológicamente activas, sintetizadas para su uso en la agricultura, la industria, la medicina, etc., han sido vertidas al medio ambiente sin reparar en las posibles consecuencias. Al problema de la contaminación, que comenzó a hacerse notable ya a principios del siglo XIX, cabe añadir el problema de la escasez, aspecto éste que está adquiriendo proporciones alarmantes a causa del cambio climático y la creciente desertización que está sufriendo el planeta.

Las medidas legislativas que se han ido adoptando progresivamente para evitar la contaminación química del agua y los riesgos que se derivan de ella han contribuido a paliar parcialmente esta situación. Sin embargo, la creciente demanda de agua y el descubrimiento continuo de nuevos contaminantes potencialmente peligrosos dejan clara la necesidad de seguir investigando en todas aquellas áreas que puedan contribuir a proteger la salud humana y la del medio ambiente, conseguir un uso sostenible del agua y atenuar los efectos de la sequías y el cambio climático.

La aparición de elementos "no deseables" y tóxicos, y la variación en las concentraciones de los constituyentes comunes, tiene su origen en el denominado "ciclo del agua" (ver figura 1). En alguna parte de este ciclo, en el cual confluyen distintos compartimentos ambientales y actividades humanas, es donde se produce la contaminación del agua, o mejor dicho, la alteración de su calidad. De acuerdo con este ciclo, las principales vías de entrada de contaminantes en el medio ambiente acuático son las aguas residuales, entre las que se incluyen las urbanas, industriales, y las de origen agrícola o ganadero. La prevalencia de una u otra depende en gran medida del tipo de contaminación de que se trate y del nivel de depuración o atenuación natural (si existe) que experimentan.

Figura 1. Ciclo del agua



Ciclo de los contaminantes emergentes en el agua.

Los efectos que la contaminación química del agua produce son múltiples; entre los más importantes cabe destacar:

- a. Acción tóxica y cancerígena
- b. Incidencia sobre la producción de alimentos
- c. Limitación del uso del agua con fines recreativos
- d. Reducción de las posibilidades de su uso industrial y agropecuario.

Los riesgos que siguen a la contaminación del agua son difíciles de precisar, ya que muchas veces las dosis tóxicas sobre las cuales se trabaja son muy pequeñas, y el problema aún se complica más por la presencia simultánea de diversos contaminantes.

#### 4.2 Contaminantes emergentes

Durante décadas, la comunidad científica ha centrado sus esfuerzos en el estudio de los contaminantes químicos cuya presencia en el medio ambiente ha estado o está regulada en las distintas legislaciones, contaminantes en su mayoría apolares, tóxicos, persistentes y bioacumulables, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los policlorobifenilos (PCBs) o las dioxinas.

Sin embargo, en los últimos años, el desarrollo de nuevos y más sensibles métodos de análisis ha permitido alertar de la presencia de otros contaminantes, potencialmente peligrosos, denominados globalmente como emergentes.

Los contaminantes emergentes, cuyo estudio se encuentra entre las líneas de investigación prioritarias de los principales organismos dedicados a la protección de la salud pública y medioambiental, tales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA), o la Comisión Europea, se definen como contaminantes previamente desconocidos o no reconocidos como tales cuya presencia en el medio ambiente no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por las posibles consecuencias de la misma. Los contaminantes emergentes son compuestos de los cuales se sabe relativamente poco o nada acerca de su presencia e impacto en los distintos compartimentos ambientales, razón por la cual y a su vez consecuencia de que no hayan sido regulados, y de que la disponibilidad de métodos para su análisis sea nula o limitada. Otra particularidad de estos compuestos, es que debido a su elevada producción y consumo, y a la como consecuente continua introducción de los mismos en el medio ambiente, no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos (Petrovic M et al., 2003).

La lista de contaminantes emergentes incluye una amplia variedad de productos de uso diario con aplicaciones tanto industriales como domésticas. Algunos de ellos, a raíz de las intensas investigaciones llevadas a cabo en los últimos años, han sido incluidos en la lista de sustancias prioritarias en el agua. Éste es el caso de los retardantes de llama difenil éteres polibromados, los detergentes de tipo alquilfenol etoxilado y sus derivados y las parafinas cloradas. Otros compuestos, como los pesticidas, ya estaban sujetos a legislación en el agua, pero el

descubrimiento de productos de degradación tóxicos, ha renovado el interés por los mismos. Por último, en otros casos, como en el de los detergentes perfluorados, o los fármacos, la toma de conciencia del riesgo que ocasiona su presencia en el medio ambiente es relativamente

reciente, y no se tienen aún datos suficientes para una valoración apropiada de su impacto. Además, muchos de ellos, como por ejemplo los retardantes de llama bromados, los detergentes de tipo alquilfenol etoxilado y algunos fármacos, son disruptores endocrinos, lo que implica que una exposición a los mismos puede dar lugar a alteraciones en el crecimiento, desarrollo, reproducción y comportamiento de los organismos vivos, de las que una de las más alarmantes y mejor documentadas es la feminización en organismos acuáticos superiores.

Algunos equipos científicos españoles han trabajado intensamente durante los últimos años en la investigación de algunas de estas clases de contaminantes emergentes (detergentes de tipo alquilfenol etoxilado, estrógenos, retardantes de llama bromados, y algunos fármacos), como resultado de lo cual se han puesto a punto ya algunos métodos analíticos para su determinación en distintas matrices ambientales (fundamentalmente aguas superficiales y residuales, y sedimentos), y se han generado datos sobre su presencia y destino en este tipo de compartimentos ambientales. Sin embargo, otras clases de contaminantes emergentes, como los compuestos perfluorados y las parafinas cloradas han sido muy poco estudiados todavía, tanto a nivel nacional como internacional.

De acuerdo con las numerosas revisiones bibliográficas realizadas en los últimos años, entre las clases de contaminantes emergentes que demandan una mayor y más urgente atención (debido a la escasez de datos ambientales y ecotoxicológicos y de métodos para su análisis, y a las posibles consecuencias de su presencia en el medio ambiente) se encuentran:

- Toxinas de cianobacterias y algas
- Compuestos bromados retardantes de llama
- Subproductos de desinfección
- Aditivos de gasolina
- Hormonas y otros compuestos disruptores endocrinos
- Compuestos organometálicos
- Compuestos organofosforados retardantes de llama y plastificantes
- Compuestos perfluorados
- Productos de cuidado personal y fármacos
- Pesticidas polares y sus productos de degradación / transformación
- Surfactantes y sus metabolitos

#### **4.3 Fármacos**

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

Las primeras evidencias de la presencia de fármacos en el medio acuático se produjeron en los años 70 con la identificación en aguas residuales en EEUU del ácido clofibrato, que es el metabolito activo de varios reguladores de lípidos en sangre (clofibrato, etofilin clofibrato, y etofibrato). Sin embargo, no ha sido hasta principios de la década de los 90 que el tema de los fármacos en el medio ambiente ha surgido con fuerza, como demuestran los numerosos artículos

publicados desde entonces, los cuales han despertando un gran interés científico y social (tal y como ocurrió en España tras la publicación en la prensa de algunos de los resultados obtenidos por el equipo de investigación del Dr. Barceló: El Periódico, 26 Octubre 2005; El País, 17 Enero 2006; El global, 30 Enero 2006).

Entre los fármacos más prescritos en medicina humana destacan los analgésicos/antiinflamatorios como el ibuprofeno y el diclofenaco, los antiepilépticos como la carbamacepina, antibióticos como la amoxicilina y el sulfametoxazol, y los  $\beta$ - bloqueantes como el metoprolol. A éstos cabe añadir los, cada vez más, utilizados en veterinaria, en actividades como la acuicultura, la ganadería, y la avicultura. Según las propiedades físico-químicas de los fármacos y sus metabolitos y productos de degradación, y las características de los suelos, estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse pudiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica. En consecuencia, para una evaluación realista del medio acuático es necesario un estudio integrado agua subterránea-suelo/sedimento-agua superficial- suelo. Los fármacos que se han detectado en el medio ambiente acuático, ya sea directamente o sus metabolitos, incluyen analgésicos/antiinflamatorios, antibióticos, antiepilépticos,  $\beta$ -bloqueantes, reguladores de lípidos, medios de contraste en rayos X, anticonceptivos orales, esteroides y otros, como broncodilatadores, tranquilizantes, etc. (Hernando MD et al., 2006a).

Las concentraciones a las que se han encontrado en aguas superficiales (como consecuencia de una eliminación incompleta en las plantas de depuración de aguas) o en aguas subterráneas (debido a la escasa atenuación que experimentan algunos compuestos durante la filtración a través de suelos) se sitúan normalmente en el rango de ng/L o  $\mu$ g/L, mientras que en suelos y sedimentos, en donde pueden persistir durante largos periodos de tiempo (la vida media del ácido clofibrico, por ejemplo, se estima en 21 años), alcanzan concentraciones de hasta g/Kg (Hernando MD et al., 2006a; Díaz-Cruz MS, Barcelo D, 2005). Pero lo que ha despertado una mayor preocupación ha sido el hallazgo de algunos de ellos (como el ibuprofeno, el diclofenaco, la carbamacepina, o el ácido clofibrico) en aguas potables (Bedner M, Maccrehan WA, 2006).

En muchos casos, las consecuencias de su presencia en el medio ambiente no están aún claras, pero en otros el riesgo parece evidente, y alarmante. Así, por ejemplo, el diclofenaco, aparte de afectar a los riñones en los mamíferos, se ha asociado (como consecuencia de su uso en veterinaria) con la desaparición de los buitres blancos en la India y Pakistán, lo que supone, según el autor de este estudio (Fent K et al., 2006), un desastre ecológico comparable al acontecido en el pasado con el DDT. Otro ejemplo es el del propanolol, que el equipo de investigación del Dr. Barceló ha detectado en múltiples ocasiones en España (Hernando MD et al., 2006b), y que se ha visto tiene efectos sobre el zooplancton, así como sobre los organismos bentónicos. (Fent K et al., 2006).

Como resultado de las investigaciones llevadas a cabo hasta ahora, algunos fármacos están siendo considerados por la US EPA como posibles candidatos a ser incluidos en la lista de los contaminantes orgánicos prioritarios en el agua potable, como es el caso del diclofenaco (antirreumático), la carbamacepina (antiepiléptico), y el cloranfenicol (antibiótico). En la UE, por el momento, no se han fijado límites máximos en el agua potable, y por tanto, no es necesario el seguimiento de tales compuestos, sin embargo, lo más probable es que en un futuro próximo sean regulados.

Actualmente en Europa hay más de 3000 ingredientes activos permitidos para su uso en el cuidado de la salud. Sin embargo, desde que se detectara el primer residuo de ácido clofíbrico hasta el momento, únicamente unos 100 de ellos han sido alguna vez analizados en diferentes compartimentos medioambientales. La necesidad de seguir trabajando en esta línea de investigación, en la que se debe incluir el estudio de los metabolitos y los productos de transformación (Miao XS et al., 2005; Bedner M, Maccrehan WA, 2006), es, por tanto, evidente.

Por el momento el número de artículos dedicados al análisis de fármacos en aguas es muy superior al del análisis en matrices sólidas (Díaz-Cruz S et al., 2003; Diaz-Cruz MS, Barcelo D, 2005; Hernando MD et al., 2006a). Ello probablemente es debido a la gran complejidad que representa el estudio de tales matrices. Sin embargo, los avances tecnológicos habidos en el campo de la química analítica permiten afrontar hoy por hoy este reto con grandes probabilidades de éxito.

Para el análisis de fármacos se han empleado fundamentalmente la cromatografía de gases y la de líquidos con espectrometría de masas, pero la tendencia es a emplear, tanto en una como en otra, la espectrometría de masas en tándem para poder diferenciar entre posibles isómeros (Díaz-Cruz MS, Barceló D, 2005; Petrovic et al., 2005; Petrovic M, Barceló D, 2006). Los grupos de fármacos que en la actualidad se consideran más peligrosos y demandan investigación son:

- los antibióticos, por la posibilidad de que se desarrollen cepas bacterianas resistentes que hagan que estos compuestos resulten ineficaces para el fin para el que fueron diseñados (Díaz-Cruz S et al., 2003) (los antibióticos ocupan el tercer puesto en volumen de uso de todos los fármacos empleados en medicina humana, y el 70% de los empleados en medicina veterinaria),
- los medios de contraste en rayos X, porque son muy persistentes, no resultan eliminados en las plantas de tratamiento, y alcanzan fácilmente las aguas subterráneas por percolación a través de suelos.
- los citostáticos, porque debido a su gran potencia farmacológica, exhiben con frecuencia propiedades carcinogénicas, mutagénicas o embriogénicas, y, al igual que los anteriores, parecen presentar una eliminación negligible en los procesos de depuración, y
- los estrógenos, utilizados fundamentalmente como anticonceptivos y para el tratamiento de desórdenes hormonales tan frecuentes como la menopausia, que son los responsables en muchos casos de la aparición de fenómenos de feminización, hermafroditismo, y disminución de la fertilidad.

#### **4.4 Surfactantes y sus metabolitos.**

Los alquilfenoles etoxilados (APEs, por sus siglas en inglés) son una clase de surfactantes extensamente usados en la actualidad. Estos se usan en detergentes, pesticidas y productos industriales. Los octilfenoles etoxilados y nonoilfenol etoxilados, son dos de los surfactantes más vendidos. Los alquilfenoles etoxilados se descargan directamente al ambiente o a través de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. La degradación primaria de estos compuestos en las plantas de tratamiento de aguas residuales o en el ambiente, genera cadenas cortas más

persistentes de APEs y alquilfenoles, tales como nonilfenoles, octilfenoles y alquilfenoles (Giger *et al.*, 1984).

Estudios han demostrado que los alquilfenoles etoxilados son más tóxicos que las sustancias que les dan origen y poseen la capacidad para imitar las hormonas naturales por interacción con el receptor estrogénico (Jobling .y Sumpter, 1993).

Los niveles de estos metabolitos alquilfenoles etoxilados, presentes en el ambiente, pueden estar sobre el umbral necesario para inducir disrupción endócrina en la fauna acuática. Estos resultados han inquietado a la opinión pública sobre los efectos en la salud humana y al medio ambiente. Para determinar los riesgos asociados con estas sustancias, es necesario entender la distribución y el destino de los alquilfenol etoxilados y de sus metabolitos en el ambiente.

Los alquilfenoles etoxilados se manufacturan por la reacción de alquilfenoles con óxido de etileno. Una molécula de alquilfenol etoxilado consiste de dos partes: el alquilfenol y la parte etoxilada. Esta estructura hace al compuesto soluble en agua y ayuda a dispersar la mugre y la grasa de las superficies sucias en agua. También se pueden usar como detergentes, agentes adherentes, dispersantes, emulsificantes, solubilizantes y agentes espumantes. Asimismo, son importantes en aplicaciones industriales, como son: papel y celulosa, textiles, recubrimientos, pesticidas agrícolas, aceites combustibles y lubricantes, metales y plásticos. Las aplicaciones industriales comprenden el 55 % del mercado internacional. Los usos restantes incluyen productos de limpieza institucional e industrial (30%), productos de limpieza domésticos (15%) y usos misceláneos (<1%). Los alquilfenoles, además de su papel como materia prima para los alquilfenol etoxilados, se usan en la fabricación de resinas fenólicas, polímeros, estabilizantes de fuego, antioxidantes y agentes de curtiduría.

Comercialmente los más significativos son los octilfenol etoxilados y los nonilfenol etoxilados que representan el 80 % del uso de alquilfenol etoxilados. Aproximadamente se producen 500,000 toneladas anualmente en el mundo y el 60 % se descargan al ambiente acuático (Sole *et al.* 2000).

Los alquilfenol etoxilados se pueden biodegradar a través de un mecanismo por etapas, que incluye la pérdida de grupos etoxi a la forma reducida de cogeneres etoxilados (homólogos más cortos de alquilfenol etoxilados), productos carboxilados, por ejemplo alquilfenol etoxicarboxilados (APECs por sus siglas en inglés) y alquilfenoles, como nonilfenoles y octilfenoles en el ambiente (Scott y Jones 2000).

Los nonilfenoles y octilfenoles son más tóxicos que su precursor etoxilado. Además presentan un efecto que imita las hormonas estrogénicas. La ruta de exposición en humanos y la fauna para

estos químicos, es principalmente a través del agua, aunque también hay una cierta exposición a través del suelo.

Otros surfactantes específicos son los detergentes y los Xantatos.

#### **4.4.1 Detergentes.**

Los detergentes son semejantes a los jabones porque tienen en su molécula un extremo iónico soluble en agua y otro extremo no polar que desplaza a los aceites. Los detergentes tienen la

ventaja, sobre los jabones, de formar sulfatos de calcio y de magnesio solubles en agua, por lo que no forman coágulos al usarlos con aguas duras. Además como el ácido correspondiente de los sulfatos ácidos de alquilo es fuerte, sus sales (detergentes) son neutras en agua.

Los detergentes son productos que se usan para la limpieza y están formados básicamente por un agente tensoactivo que actúa modificando la tensión superficial disminuyendo la fuerza de adhesión de las partículas (mugre) a una superficie; por fosfatos que tienen un efecto ablandador del agua y flocculan y emulsionan a las partículas de mugre, y algún otro componente que actúe como solubilizante, blanqueador, bactericida, perfumes, abrillantadores ópticos (tinturas que dan a la ropa el aspecto de limpieza), etc.

Los detergentes sintéticos contienen sustancias surfactantes que ayudan en la penetración, remojo, emulsificación, dispersión, solubilización y formación de espuma. Todo esto ocurre en las interfases sólido-líquido y líquido-líquido.

La mayoría de los detergentes sintéticos son contaminantes persistentes debido a que no son descompuestos fácilmente por la acción bacteriana. A los detergentes que no son biodegradables se les llama detergentes duros y a los degradables, detergentes blandos.

El principal agente tensoactivo que se usa en los detergentes es un derivado del alquilbencensulfonato como, por ejemplo, el dodecilbencensulfonato de sodio ( $C_{12}H_{25}-C_6H_4-SO_3Na$ ) el cual puede hacer al detergente duro (no biodegradable, contaminante persistente) o blando (biodegradable, contaminante biodegradable), dependiendo del tipo de ramificaciones que tenga.

Una gran cantidad de detergentes son arilalquilsulfonatos de sodio que tienen como fórmula general,  $R-C_6H_4-SO_3Na$ , es decir, son sales de ácidos sulfónicos aromáticos con una cadena alquílica larga. Si la cadena es ramificada no pueden ser degradados por los microorganismos, por lo que se dice que son persistentes, y causan grandes problemas de contaminación del agua de lagos, ríos y depósitos subterráneos. Los arilalquilsulfonatos que tienen cadenas lineales son biodegradables.

El uso de los compuestos tensoactivos en el agua, al ser arrojados a los lagos y ríos provocan la disminución de la solubilidad del oxígeno disuelto en el agua con lo cual se dificulta la vida acuática y además, como les quitan la grasa de las plumas a las aves acuáticas les provoca que se escape el aire aislante de entre las plumas y que se mojen, lo cual puede ocasionarles la muerte por frío o porque se ahogan, de manera semejante como les ocurre con los derrames de petróleo en el mar.

Los detergentes son productos químicos sintéticos que se utilizan en grandes cantidades para la limpieza doméstica e industrial y que actúan como contaminantes del agua al ser arrojados en las aguas residuales.

El poder contaminante de los detergentes se manifiesta en los vegetales acuáticos inhibiendo el proceso de la fotosíntesis originando la muerte de la flora y la fauna acuáticas. A los peces les produce lesiones en las branquias, dificultándoles la respiración y provocándoles la muerte.

Los detergentes hechos a base de fosfatos provocan un efecto destructor en el medio ambiente porque aceleran el proceso de eutrofización o eutrofización de las aguas de lagos y ríos. Como el uso de detergentes fosfatados ha generado problemas muy graves en el agua, algunos países han prohibido el uso de detergentes de este tipo.

#### 4.5 Xantatos.

Los surfactantes de particular importancia para flotación pueden ser agrupados como sigue: A, monopolar, y B, multipolar.

Con cada grupo subdividido en tres clases en orden a facilitar la discusión de su comportamiento característico en soluciones acuosas y durante la adsorción en las interfaces:

1. Tio Compuestos, los cuales actúan principalmente como colectores para los sulfuros metálicos (xantatos).
2. No tio compuestos ionizables, los cuales pueden actuar como colectores y espumantes (por ejemplo los detergentes, los jabones).
3. Compuestos no iónicos, algunos de los cuales actúan principalmente como espumantes, mientras otros como depresores, agentes de floculación, y aún como activadores (ó colectores).

Los Xantatos son compuestos orgánicos obtenidos en reactores por reacción de bisulfuro de carbono, alcohol y un álcali; estos compuestos se caracterizan por liberar un olor a azufre y son utilizados en muchas industrias, siendo su principal aplicación en la industria minera como colector para la flotación de minerales sulfurados, esto es que adhieren a la superficie de los minerales y por acción del aire logran flotar y concentrar variedades de especies minerales bajo condiciones controladas de pH y otros agentes químicos. Estos compuestos se distribuyen durante su uso en el material colectado o concentrado, descomponiéndose en fase gaseosa a la atmósfera y disuelto en los drenajes llegando a los cuerpos de receptores, especialmente a los ríos. Estos compuestos se manifiestan porque forman espumas que flotan, el producto comercial presenta un color que puede variar desde blanco a amarillo profundo sin variaciones en su poder colector, son completamente solubles en agua, y pueden causar toxicidad en la fauna acuática en niveles de 0.1 mg/L y en la salud humana, por lo cual es necesario su evaluación analítica como parte de un programa de prevención ó contingencia.

Los xantatos utilizados como reactivos de flotación, son sales de xantatos de sodio ó potasio (ó ácido ditiocarbónico) y son hechos comercialmente de alcoholes conteniendo de 2 a 6 átomos de carbono. Los xantatos de cadena larga usualmente no son efectivos.

Los xantatos son ampliamente utilizados como excelentes promotores para todos los minerales de sulfuro. En ausencia de agentes modificadores son esencialmente no selectivos en su acción.

Generalmente a medida que el carbono de cadena larga crece, se hace más potente, pero menos selectivos. Por eso el etil xantato es el xantato más débil y el más selectivo; y el amil y exil xantato son más potentes y colectores menos selectivos. En conjunto con un agente sulfurizante, tal como el sulfuro de sodio o hidrosulfuro de sodio son buenos promotores en la flotación de minerales oxidados de plomo y cobre.

Por esta aplicación, el xantato isopropílico y el xantato amílico son los más frecuentemente utilizados.

Tanto los Xantatos como los detergentes en el agua sobre ciertos límites tienden a ser tóxicos, por lo cual dentro de los objetivos se ha considerado la implementación de la metodología para su determinación.

#### 4.6 Cianotoxinas de cianobacterias.

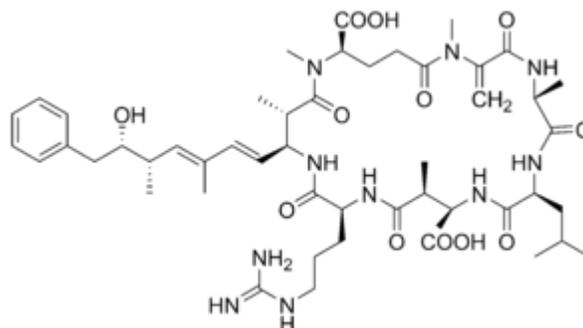
Las Cianobacteria son organismos procariotas fotosintéticos que pueden formar parte del fitoplancton de lagos y embalses y que en algunas ocasiones, si las condiciones de temperatura son favorables y abundan los nutrientes, principalmente el fósforo, pueden dar lugar a proliferaciones (“blooms”) cuando la densidad celular es muy alta.

Se considera que existe un afloramiento cuando las concentraciones celulares son del orden de 20.000 células por ml que corresponde a 10 µg/L de clorofila. Para nuestras aguas estos niveles son bastante bajos y quizás se podría hablar de valores cercanos a los 20-30 µg/L de clorofila (Quesada,2005). Estas proliferaciones son apreciables por la coloración verde-azuladas de las aguas. La eutrofización de los ambientes acuáticos, es decir el enriquecimiento de las aguas superficiales en sustancias nutritivas (N y P) principalmente en aguas lénticas favorece el crecimiento de poblaciones de cianobacterias (Reynolds,1987). Estos crecimientos masivos ocurren principalmente durante el verano y principios de otoño en los lagos y embalses eutróficos y mesotróficos y a veces se acumulan en la superficie formando espumas (“scum”).

Muchas cianobacterias al igual que otras algas fitoplanctónicas producen olores o sabores. Aunque los problemas principales es la posible producción de toxinas que disminuyen la calidad del agua y hace que el agua no sea útil para el consumo y baño (Codd et al, 1999; Kuiper-Goodman et al, 1999). Las toxinas de las cianobacterias presentan estructuras químicas muy variables (Sivonen & Jones, 1999): péptidos cíclicos como las hepatotoxinas (microcistinas, cilindrospermopsina), alcaloides de bajo peso molecular como las neurotoxinas (anatoxinas, saxitoxinas), entre otras. Existen casos registrados y bien documentados de intoxicaciones producidas por cianobacterias. En el caso de las hepatotoxinas los efectos pueden ser serios a elevadas concentraciones, fundamentalmente en el tracto gastrointestinal, y particularmente en el hígado, habiendo sido descritas muertes o afecciones graves, en varios países, causadas por dichos compuestos. En Brasil en 1985 hubo 2000 casos de gastroenteritis por agua potable, con 88 letales y en 1996 se detectó intoxicación por vía sanguínea en 130 pacientes dializados y de ellos, 60 murieron en 10 meses (Kuiper-Goodman et al, 1999). Por otro lado, está bien establecida la relación entre la exposición crónica a estos compuestos a dosis subletales y el desarrollo de cáncer de hígado (Quesada, 2003). Estos problemas para la salud humana han convertido a las cianobacterias en un foco de atención para los gestores de los recursos hídricos.

##### 4.6.1 Microcistinas

Estructura química: Son heptapéptidos cíclicos no ribosomales con particularidades solo halladas en las hepatotoxinas cianobacterias. Su estructura general es la de un ciclo compuesto: 1) D-alanina, 2) aminoácido variable, 3) ácido metilaspártico (Me-Asp) 4) aminoácido variable, 5) cadena lateral de aminoácidos específica (Adda), 6) ácido D-glutámico y 7) N-metildehidroalanina (Mdha)



Actualmente hay identificadas más de 80 microcistinas, las variaciones mas frecuentes son las que se producen por sustituciones de L-aminoácidos en las posiciones 2(X) y 4 (Y) y por desmetilaciones de los aminoácidos en posiciones 3 y/o 7.

#### 4.6.2 Detección de microcistina en agua

Existen técnicas específicas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Esta es una técnica analítica utilizada para separar los componentes de una mezcla, en función de los tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y las columnas cromatográficas. Las técnicas analíticas actuales no solo son capaces de cuantificar con exactitud una muestra, sino que pueden proporcionar información detallada sobre las variantes de las toxinas presentes.

Uno de los métodos más extensamente utilizados en HPLC para la detección de cianotoxinas implica la separación de las toxinas en una columna C18 utilizando una fase móvil agua y acetonitrilo, ambos con el 0.05% de ácido trifluoroacético (TFA).

Las técnicas de detección acoplada a HPLC más empleadas para la determinación de cianotoxinas en aguas son la detección por fotodiodeo-array (HPLC-PDA).

En resumen las investigaciones sobre el desarrollo y optimización de métodos sensibles, sencillos y rápidos que permitan una adecuada monitorización de estas toxinas, es un gran reto.

### 5. METODOLOGÍA

La metodología empleada en general para la implementación de los compuestos emergentes (Nonilfenol, xantatos, detergentes y toxinas de cianobacterias) consistió en la:

Búsqueda bibliográfica de métodos de análisis para la cuantificación de los compuestos

Selección de los métodos a implementar.

Cotización de reactivos, material y estándares.

Identificación y determinación de tiempos de retención cromatográficos de los compuestos orgánicos.

Generación de los métodos instrumentales (condiciones instrumentales de análisis).

Estandarización de métodos de análisis mediante extracción en fase sólida (bajo consumo de disolventes, es rápida y económica).

Determinación del porcentaje de recuperación de los compuestos orgánicos por extracción en fase sólida.

Validación de métodos de análisis cromatográficos de compuestos orgánicos de interés.

Cálculo de precisión exactitud, límite de detección, cuantificación y coeficiente de variación.

Elaboración de los procedimientos de amoxicilina, diclofenaco y hormonas.

Elaboración de informe

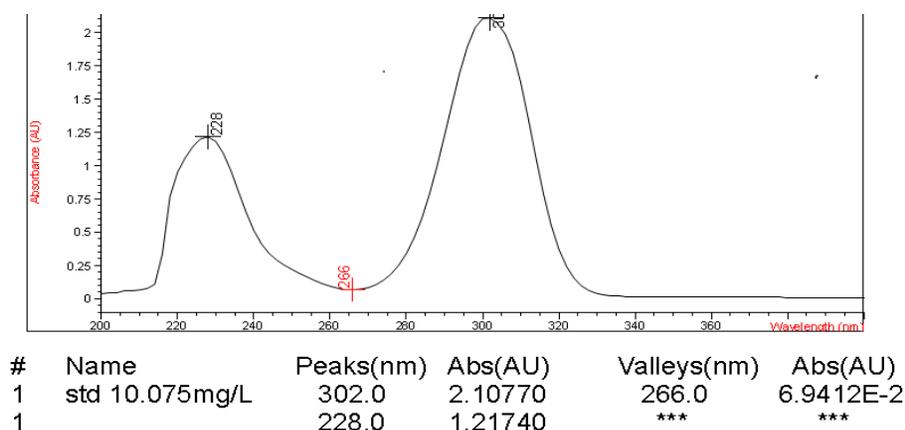
## 6. RESULTADOS.

### 6.1 Implementación de las metodologías de Xantatos y Detergentes:

Una vez revisado la bibliografía se seleccionó el método espectrofotométrico por ultravioleta visible para la determinación de los compuestos mencionados.

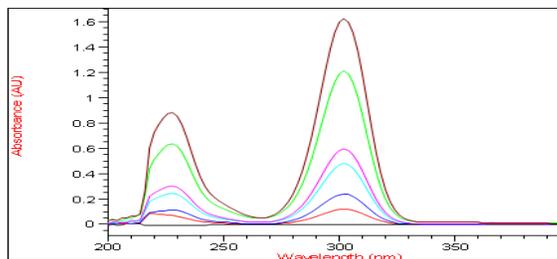
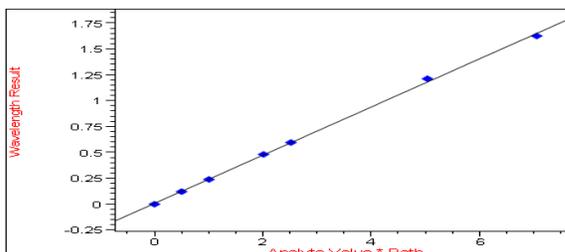
Inicialmente se preparó y corrió una solución estándar en el modo de barridos para seleccionar la longitud de onda más adecuada y con el pico más definido, como se muestra en las siguientes figuras 2 y 3.

Figura 2. Espectro de absorción ultravioleta visible de Xantatos.



A partir de esta gráfica se seleccionó la longitud de onda de 302 nm para la realización de la validación, la que consistió en preparar siete niveles de concentración conocida en agua deionizada, obteniéndose la curva de calibración siguiente con sus parámetros de la regresión lineal.

Figura 3. Curva de calibración de Xantatos.



#	Standard Name	Xantato(mg/L)	Abs<302nm>	%Error
1	bco	0.00000	-1.1597E-3	-100.00
2	std 0,25 mL	0.50376	0.11955	3.39
3	std 0,5 mL	1.00750	0.23822	1.13
4	std 1,0 mL	2.01500	0.48035	-0.97
5	std 1,25 mL	2.51880	0.59575	-0.43
6	std 2,5 mL	5.03760	1.21220	-2.63
7	std 3,5mL	7.05270	1.62490	1.56

Analyte Name Xantato  
 Number of Standards 7  
 Calibration Curve  $C = k_0 + (k_1 * A)$   
 Coefficient  $k_0$  -2.5513E-2 mg/L  
 Std.Dev. of  $k_0$  4.5023E-2 mg/L  
 Coefficient  $k_1$  4.28920 mg/L  
 Std.Dev. of  $k_1$  5.4561E-2 mg/L  
 Std.Dev. of Calibration 8.0225E-2 mg/L  
 Correl. Coeff. ( $R^2$ ) 0.99919

## 6.1.1 Validación del método de Xantatos.

### 6.1.1.1 Linealidad de Xantatos.

Se determinó la linealidad de éste parámetro mediante la preparación y lectura de tres curvas de calibración con siete niveles de concentración.

Tabla 1 Linealidad del método de Xantatos.

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA													
PRUEBA DE DESEMPEÑO LINEALIDAD DEL MÉTODO													
DÍA 1													
Parámetro: XANTATO													
Analista: Minerva Sánchez Guzmán						Espectrofotómetro: QAFQ-34							
Fecha: 2012/10/18													
Se introducen los valores de K0 y K1 de una de las tres curvas de calibración, obtenidos del espectrofotómetro conectado al Software Agilent 8453 UV/Vis ó en su defecto calcular la m y la b en el programa statgraf tomando en cuenta que la absorbancia es la variable independiente y la concentración es la variable dependiente.													
Ecuación		C = K0 + (K1*A) ó		Conc. = b + (m*A)		Curva (archivo, bitácora, folio): XANTMSG2.STD, Bitácora: C-1301, Folio: 11							
K0 ó b =		-0,0209											
K1 ó m =		4,7388											
concentración teórica mg/L	Absorbancia1 UA	Absorbancia2 UA	Absorbancia3 UA	concentración obtenida1	concentración obtenida2	concentración obtenida3	suma concentración teórica X mg/L	suma de las concentraciones obtenidas Y mg/L	x*Y	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>		
x				y1	y2	y3							
0	-0,0011597	-0,00030518	-0,00038147	-0,02639559	-0,02234619	-0,02270771	0	-0,071449483	0	0	0,001711719		
0,50376	0,11955	0,10806	0,10695	0,54562354	0,49117473	0,48591466	1,51128	1,522712928	0,76708186	0,76132241	0,775070718		
1,0075	0,23822	0,21614	0,2144	1,10797694	1,00334423	0,99509872	3,0225	3,106419888	3,12971804	3,04516875	3,224534001		
2,015	0,48035	0,43149	0,42851	2,25538258	2,02384481	2,009723188	6,045	6,28895058	12,6722354	12,180675	13,2216857		
2,5188	0,59575	0,53833	0,53871	2,8022401	2,5301382	2,531938948	7,5564	7,864317252	19,8086423	19,0330603	20,66486375		
5,0376	1,2122	1,0866	1,0923	5,72347336	5,12828008	5,15529124	15,1128	16,00704468	80,6370883	76,1322413	85,63443165		
7,0527	1,6249	1,4775	1,4807	7,67917612	6,980677	6,99584116	21,1581	21,65569428	152,731115	149,221732	156,6413908		
No de curvas				n=	3			sumatoria =	54,40608	56,37369012	269,745881	260,3742	280,1636883
puntos de la curva				t=	7			ΣX	ΣY	Σx*Y	Σx <sup>2</sup>	Σy <sup>2</sup>	
pendiente				m=	1,03578995			Conclusión: CUMPLE CRITERIO					
intercepción				b=	0,00097234			de acuerdo al punto 9 del procedimiento CAGC7-06					
				c=	2597,592			SUPERVISOR: Manuel Sánchez Zarza					
				d=	2507,83665								
				e=	2705,44452								
				f=	6747484,22								
				r <sup>2</sup> =	0,9944982								
coeficiente de correlación				r=	0,99724531								

Obteniéndose una pendiente de 1.035, una ordenada al origen de 0.0009 y un coeficiente de correlación de 0.997.

### 6.1.1.2 Límites de detección y cuantificación de Xantatos.

También se determinó los límites de detección y cuantificación, la precisión, exactitud a través de la preparación de seis soluciones blanco y de seis soluciones de concentración más baja para el límite de detección y cuantificación respectivamente.

Para el caso de la precisión y exactitud se prepararon siete soluciones de concentración más baja y se determinaron por espectrofotometría de ultravioleta visible.

Tabla 2. Prueba de desempeño de Xantatos

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA				HOJA DE CÁLCULO	
PRUEBA DE DESEMPEÑO XANTATO				DÍA 1	
ESPECTROFOTÓMETRO: QA/Q-34				Fecha: 2012/10/18	
<b>LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO</b>					
PROM					
BLANCOS:	-0,052368333		0 mg/L		
t 99% =	4,541				
LDM = B + (t) (S)					
LDM = (-0,052368333 mg/L) + (4,541) (0,4975575 mg/L)					
<b>LDM =</b>	<b>0,026 mg/L</b>				
<b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO</b>					
LDM = 10 S + X					
LDM = 10 (0,005619012mg/L) + (0,4975575mg/L)					
<b>LCM =</b>	<b>0,554 mg/L</b>				
<b>BLANCOS</b>	<b>CONC. BLANCOS</b>	<b>MUESTRA</b>	<b>CONC. CUANTIFICADA</b>	<b>CONC. TEÓRICA</b>	<b>RECUPERACIÓN (R)</b>
	<b>mg/L</b>		<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>%</b>
BCO1	-0,049925	STD1	0,50481	0,50376	100,2084326
BCO2	-0,053917	STD2	0,49918	0,50376	99,09083691
BCO3	-0,052281	STD3	0,49335	0,50376	97,93353978
BCO4	-0,051954	STD4	0,49289	0,50376	97,84222646
BCO5	-0,05215	STD5	0,49028	0,50376	97,3241226
BCO6	-0,053983	STD6	0,4963	0,50376	98,5191361
		STD7	0,50029	0,50376	99,31117993
Prom. de 4 mtras. sintéticas		X	0,4975575		Prom. de los % Recuperación R
Desv. Est. de 4 mtras sintéticas		S	0,005619012		Desv. Est. de los % Recuperación SR
PROM.BCOS		Sbco	-0,052368333		R y SR de las 7 mtras sintéticas
Desv. Est. BCOS			0,001496821		
Prom. de las 7 mtras. sintéticas		X <sub>7</sub>	0,496728571	0,50376	
Desv. Est. de las 7 mtras sintéticas		S <sub>7</sub>	0,005031896		
<b>EXACTITUD DEL MÉTODO:</b>					
Conc. Teórica (mg/L)	0,50376			Conc. Cuantificada promedio de las 7 mtras. sintéticas (X <sub>7</sub> ) =	0,496728571 mg/L
Exactitud = (Conc. cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas / Conc Teórica) * 100					
Exactitud = (0,496728571 mg/L) / (0,50376 mg/L) * 100					
<b>Exactitud =</b>	<b>98,60 %</b>				
<b>Conclusión:</b>	<b>Cumple criterio</b>				
<b>REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:</b>					
Coeficiente de Variación					
CV = (SR/R) * 100					
CV = [(0,998867786) / (98,60421062)] * 100%					
<b>CV =</b>	<b>1,01 %</b>				
<b>Conclusión:</b>	<b>Cumple criterio</b>				
<b>LÍMITES DE CONFIANZA:</b>					
LC = R ± (t95%) * SR/n				t95% =	2,447
				n =	7
				SR =	0,998867786
<b>LCS = 98,60421062 % + (2,447 * 0,998867786 / 7)</b>					
<b>Límite Superior de Confianza =</b>	<b>98,95 %</b>				
<b>LCI = 98,60421062 % - (2,447 * 0,998867786 / 7)</b>					
<b>Límite Inferior de Confianza =</b>	<b>98,26 %</b>				
<b>SESGO</b>					
SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica) / (Conc. Teórica)) * 100					
SESGO = ((0,496728571 - 0,50376) / 0,50376) * 100					
<b>SESGO =</b>	<b>1,40 %</b>	<b>Cumple criterio</b>			
<b>Conclusión:</b>	<b>Cumple criterio</b>				
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>					
Ver resultados folio 25A de ésta bitácora					
ANALISTA:	Minerva Sánchez Guzmán			SUPERVISOR:	Manuel Sánchez Zarza

Como se puede observar el límite de detección fue de 0.026 mg/L y el de cuantificación de 0.554 mg/L, con una exactitud de 98.08 % y una precisión de 1.01%.

### 6.1.1.3 Reproducibilidad de Xantatos.

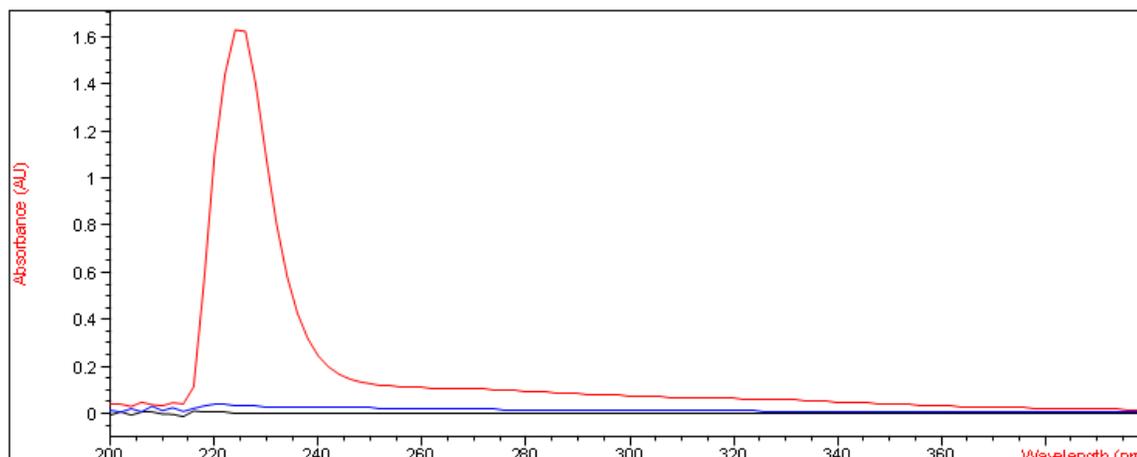
Para el caso de la reproducibilidad se prepararon siete soluciones de concentración conocida por tres días diferentes obteniéndose un porcentaje de recuperación promedio de 101.09% con una desviación estándar de 1.19%.

Tabla 3 Reproducibilidad de Xantatos

 <b>LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA</b>			
DETERMINACIÓN DE XANTATOS PRUEBA DE REPRODUCIBILIDAD			HOJA DE CÁLCULO Fecha: 2012/10/18
<b>Procedimiento:</b>	CAQAF7-14		
<b>Día 1:</b>	2012/10/09	Ver datos en la bitácora C-1301 folio 10	
<b>Día 2:</b>	2012/10/10	Ver datos en la bitácora C-1301 folio 17	
<b>Día 3:</b>	2012/10/12	Ver datos en la bitácora C-1301 folio 22	
	<b>RECUPERACIÓN</b>	<b>RECUPERACIÓN</b>	<b>RECUPERACIÓN</b>
	%	%	%
	<b>DÍA 1</b>	<b>DÍA 2</b>	<b>DÍA 3</b>
	100,2084326	101,5582817	99,85905987
	99,09083691	99,29926949	101,4530729
	97,93353978	100,0218358	101,923535
	97,84222646	99,40447832	99,70620931
	97,3241226	100,5081785	101,5225504
	98,5191361	100,8893124	100,2600445
	99,31117993	99,61489598	102,9359219
Prom.de los % Recuperación R	99,96124383	100,6397604	101,094342
Desv.Est.de los %Recuperación S	1,431560236	1,09771484	1,19302937
Cálculo del promedio de promedios y del promedio de las desviaciones estándar			
Prom.deProm.de los %Recuperación PROMR	x =	100,5651154	
Prom.Desv.Std PROM DE LOS %R	s =	1,240768149	
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>			
<b>Coefficiente de Variación (de los 3 días)</b>			
CV = (s/x) * 100			
CV = [(1,240768149/100,5651154)]* 100%			
CV = 1,23			
<b>Conclusión: Cumple criterio</b>			
<b>SUPERVISOR:</b>	Manuel Sánchez Zarza		

Por último la metodología de determinación de Xantatos se probó con muestras de agua potable y agua residual provenientes de una mina del estado de Guerrero. El siguiente gráfico señala la ausencia de este parámetro en dichas muestras.

Figura 4. Espectro de absorción de Xantatos en muestras de agua



#	Name	Dilut. Factor	Xantato(mg/L)	Abs<302nm>
1	bco	1.00000	-2.6037E-2	-1.2207E-4
2	Agua Potable	1.00000	2.6256E-2	1.2070E-2
3	Agua Residual	1.00000	0.31246	7.8796E-2

## 7. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como resultado del análisis de la linealidad del método, dicho parámetro cumplió con los criterios de aceptación establecidos y hubo una alta relación lineal entre las concentraciones de Xantatos y las absorbancias obtenidas para cada nivel de concentración.

Como se observa en las Tablas 4 y 6 se obtuvieron valores de recobro de 97.3-100.2 %, con una precisión, exactitud dentro de los límites establecidos considerados como aprobados y hubo una relación lineal entre los valores de referencia por lo que se considera que el método es exacto. Además de que cumple con los valores de límite de detección apropiados para dicha metodología en agua potable, residual.

En el parámetro de reproducibilidad, fueron necesarias al menos siete determinaciones en tres días diferentes para asegurar que el método es reproducible, cumpliendo con los criterios establecidos del coeficiente de variación para este parámetro.

Concluyendo que el método desarrollado es altamente lineal, exacto, preciso y reproducible y que se puede usar para muestras de agua potable y residual.

## 6.1.2 Implementación de la metodología de sustancias activas al azul de metileno (SAAM).

### 6.1.2.2 Validación de SAAM.

#### 6.1.2.2.1 Linealidad de sustancias activas al azul de metileno.

Para el caso de la implementación de surfactantes activos al azul de metileno se realizó la validación de la misma forma iniciando con la linealidad.

Tabla 4. Linealidad del Método de SAAM

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA												
PRUEBA DE DESEMPEÑO												
LINEALIDAD DEL MÉTODO												
Parámetro: SAAM												
Analista: Fernando Sánchez Guzmán Espectrofotómetro: QAFQ-34												
Fecha: 2012-12-05												
Se introducen los valores de K0 y K1 de una de las tres curvas de calibración, obtenidos del espectrofotómetro conectado al Software Agilent 8453 UV/Vis ó en su defecto calcular la m y la b en el programa statgraf tomando en cuenta que la absorbancia es la variable independiente y la concentración es la variable dependiente.												
Ecuación $C = K0 + (K1 \cdot A)$ ó $\text{Conc.} = b + (m \cdot A)$ Curva (archivo, bitácora, folio): SAAMF112, Bitácora: C-1229, Folio: 54												
K0 ó b = 0,019329												
K1 ó m = 3,2051												
concentración teórica	Absorbancia1	Absorbancia2	Absorbancia3	concentración	concentración	concentración	suma concentración	suma de las concentraciones	x*Y	x <sup>2</sup>	y <sup>2</sup>	
mg/L	UA	UA	UA	obtenida1	obtenida2	obtenida3	teórica X	obtenidas Y				
x				y <sub>1</sub>	y <sub>2</sub>	y <sub>3</sub>	mg/L	mg/L				
0	0,0014648	-0,0011902	0,0017853	0,02402383	0,01551429	0,025051065	0	0,064589185	0	0	0,001445393	
0,09934	0,024368	0,026138	0,025269	0,09743088	0,1031039	0,100318672	0,29802	0,300853453	0,02988678	0,02960531	0,030187027	
0,29802	0,093155	0,087265	0,081207	0,31790009	0,29902205	0,279605556	0,89406	0,896527698	0,26718318	0,26644776	0,268653922	
0,4967	0,15338	0,14798	0,13579	0,51092724	0,4936197	0,454549529	1,4901	1,459096465	0,72473321	0,74013267	0,711322323	
0,69538	0,20474	0,20399	0,20569	0,67554117	0,67313735	0,678586019	2,08614	2,027264542	1,40971922	1,45066003	1,369948754	
0,89406	0,26427	0,25822	0,27328	0,86634078	0,84694992	0,895218728	2,68218	2,608509427	2,33216394	2,39802985	2,269287083	
1,1921	0,33897	0,3309	0,34157	1,10576175	1,07989659	1,114095007	3,5763	3,299753344	3,93363596	4,26330723	3,630093371	
1,2914	0,41112	0,37837	0,37234	1,33700971	1,23204269	1,212715934	3,8742	3,781768333	4,88377563	5,00314188	4,776204089	
1,4901	0,47112	0,45323	0,45641	1,52931571	1,47197647	1,482168691	4,4703	4,483460876	6,68080505	6,66119403	6,702345313	
1,7881	0,53806	0,52301	0,51382	1,74386511	1,69562835	1,666173482	5,3643	5,105666939	9,12944305	9,59190483	8,692355085	
1,9868	0,62546	0,64211	0,61566	2,02399085	2,07735576	1,992580866	5,9604	6,093927473	12,1074151	11,8421227	12,38232441	
No de curvas			n=	3			sumatoria =	30,696	30,12141773	41,4987611	42,2465463	40,83416677
puntos de la curva			t=	11			ΣX	ΣY	Σx*Y	Σx <sup>2</sup>	Σy <sup>2</sup>	
pendiente			m=	0,98442207								
intercepción			b=	-0,00292128								
			c=	444,852079								
			d=	451,891612								
			e=	440,227697								
			f=	197893,372								
			r <sup>2</sup> =	0,99476296								
coeficiente de correlación			r=	0,99737804								
Conclusión:							CUMPLE CRITERIO de acuerdo al punto 9 del procedimiento CAGC7-06					

### 6.1.2.2.2 Límites de detección y cuantificación de SAAM.

Después con el cálculo de los límites de detección, cuantificación, exactitud y precisión.

Tabla 5. Prueba de Desempeño de SAAM

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA						HOJA DE CÁLCULO
<b>PRUEBA DE DESEMPEÑO SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO (SAAM)</b>						
<b>ESPECTROFOTÓMETRO: QAFQ-34</b>						Fecha: 2012/12/05
<b>LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO</b>						
PROM						
BLANCOS:	0,020103333		0 mg/L			<b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO</b>
t 99% =	4,541					LCM = 10 S + X
LDM = B + (t) (S)						LCM = 10 (0,005077142mg/L) + (0,298165mg/L)
LDM =	(-0,049205167 mg/L) + (4,541) (0,005077142 mg/L)					<b>LCM = 0,130 mg/L</b>
<b>LDM =</b>	<b>0,032 mg/L</b>					
<b>BLANCOS</b>	<b>CONC. BLANCOS</b>	<b>MUESTRA</b>	<b>CONC. CUANTIFICADA</b>	<b>CONC. TEÓRICA</b>	<b>RECUPERACIÓN (R)</b>	
	<b>mg/L</b>		<b>mg/L</b>	<b>mg/L</b>	<b>%</b>	
BCO1	0,022606	STD1	0,10213	0,09933972	102,8088261	
BCO2	0,025149	STD2	0,10516	0,09933972	105,8589656	
BCO3	0,022361	STD3	0,10149	0,09933972	102,1645722	
BCO4	0,016835	STD4	0,10697	0,09933972	107,6809961	
BCO5	0,020209	STD5	0,10804	0,09933972	108,758108	
BCO6	0,01346	STD6	0,092492	0,09933972	93,10676535	
		STD7	0,090927	0,09933972	91,53136329	
	Prom. de 4 mtras. sintéticas	X	0,1039375		Prom. de los % Recuperación - R	101,701371 = 101,70
	Desv. Est. de 4 mtras sintéticas	S	0,002578622		Desv. Est. de los % Recuperación SR	6,850503166 = 6,85
	PROM.BCOS	B	0,020103333		R y SR de las 7 mtras sintéticas	
	Desv. Est.BCOS	Sbco	0,004281266			
	Prom. de las 7 mtras. sintéticas	X <sub>7</sub>	0,101029857	0,09933972		
	Desv. Est. de las 7 mtras sintéticas	S <sub>7</sub>	0,006805271			
<b>EXACTITUD DEL MÉTODO:</b>						
	Conc. Teórica (mg/L)		0,09933972	Conc. Cuantificada promedio de las 7 mtras. sintéticas (X <sub>7</sub> ) =	0,101029857 mg/L	
	Exactitud = (Conc. cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas / Conc Teórica) * 100					
	Exactitud =				101,70 %	
	<b>Conclusión:</b>				<b>Cumple criterio</b>	
<b>REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:</b>						
	Coefficiente de Variación					
	CV = (SR/R) * 100					
	CV = [(6,850503166) / (101,701371)] * 100%				6,74 %	
	<b>Conclusión:</b>				<b>Cumple criterio</b>	
<b>LÍMITES DE CONFIANZA:</b>						
	LC = R ± ((t95%) * SR/n)				195% = 2,447	
					n = 7	
					SR = 6,850503166	
	LCS = 101,701371 % + (2,447 * 6,850503166/7)					
	<b>Límite Superior de Confianza =</b>				<b>104,10 %</b>	
	LCI = 101,701371 % - (2,447 * 6,850503166/7)					
	<b>Límite Inferior de Confianza =</b>				<b>99,31 %</b>	
<b>SESGO</b>						
	SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica) / (Conc. Teórica)) * 100					
	SESGO = ((0,101029857 - 0,09933972) / 0,09933972) * 100					
	<b>SESGO =</b>				<b>1,70 % Cumple criterio</b>	
	<b>Conclusión:</b>				<b>Cumple criterio</b>	
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>						
<b>Ver resultados folio de la bitácora C-</b>						
ANALISTA:	<i>Fernando Sánchez Guzmán</i>			SUPERVISOR:	<i>Filis Moreno Añorve</i>	

### 6.1.2.2.3 Reproducibilidad de SAAM

Posteriormente se calculó la reproducibilidad, a través de la preparación y lectura de siete soluciones de concentración conocida en tres días diferentes.

Tabla 6. Reproducibilidad de SAAM

 <b>LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA</b>			
DETERMINACION DE SUSTANCIAS ACTIVAS AL AZUL DE METILENO			
PRUEBA DE REPRODUCIBILIDAD		HOJA DE CÁLCULO	
		Fecha: 2012/12/05	
<b>Procedimiento:</b>	CAQAF7-14		
<b>Analista 1:</b>	Fernando Sánchez G	Ver datos en la bitácora C-1229 folio	
<b>Analista 2:</b>	Josué Villa H.	Ver datos en la bitácora C- 782 folio 63-A	
<b>Analista 3:</b>	Sandra Lara H.	Ver datos en la bitácora C- 533 folio 64-A	
	RECUPERACIÓN	RECUPERACIÓN	RECUPERACIÓN
	%	%	%
	ANALISTA 1	ANALISTA 2	ANALISTA 3
	102,8088261	104,5050445	97,69601352
	105,8589656	97,70252722	98,0834742
	102,1645722	100,6492858	93,65563746
	107,6809961	100,2697033	96,53363148
	108,758108	100,839077	98,52585843
	93,10676535	98,03216462	96,47770932
	91,53136329	101,0288682	95,75871012
Prom.de los % Recuperación R	99,60320485	98,5541218	96,67586208
Desv.Est.de los %Recuperación S	4,604628001	2,721021566	1,656652542
Cálculo del promedio de promedios y del promedio de las desviaciones estándar			
Prom.deProm.de los %Recuperación PROMR	x =	98,27772957	
Prom.Desv.Std PROMDE LOS %R	s =	2,994100703	
<b>REPRODUCIBILIDAD</b>			
<b>Coficiente de Variación (de los 3 analistas)</b>			
CV = (s/x) *100			
CV = [(3,270328428/98,3684903)]*100%			
		CV =	3,05
		<b>Conclusión:</b>	<b>Cumple criterio</b>
<b>SUPERVISOR:</b>	Filis Moreno A.		

## 7.1 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES SAAM

Como resultado del análisis de la linealidad del método, dicho parámetro cumplió con los criterios de aceptación establecidos en el procedimiento CAGC7-06 con una pendiente de 0.99, una ordenada al origen de -.0028 y un coeficiente de correlación de 0.997 lo que nos indica una muy buena relación lineal entre las concentraciones de sustancias activas al azul de metileno y las absorbancias obtenidas para cada nivel de concentración.

Por otra parte encontró un porcentaje de recobro en un intervalo de 91.5-107.6 con una exactitud del 101.7% y un coeficiente de variación de 6.74% y una reproducibilidad de 3.05 % cumpliendo ampliamente con los criterios establecidos.

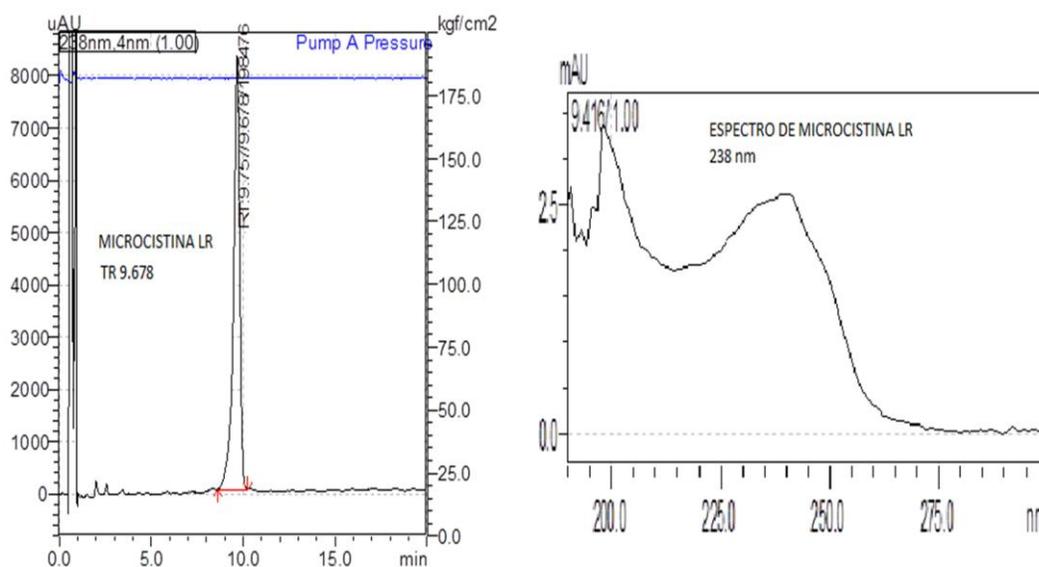
Como conclusión el método analítico desarrollado altamente lineal, exacto, preciso y muy reproducible, en agua potable, residual con límites de detección y cuantificación aceptables de 0.032 mg/L y 0.130 mg/L respectivamente.

## 6.2 CIANOTOXINAS.

### 6.2.1 Implementación de la metodología de determinación de Microcistina LR por Cromatografía de Líquidos.

En lo que respecta a las toxinas de cianobacterias (Microcistina LR), después de revisar la información bibliográfica existente para su determinación por UHPLC se inició la experimentación con el establecimiento del tiempo de retención y el espectro ultravioleta a 238 nm de longitud de onda que se genera al inyectar una solución de 5 µg/mL, la información generada se presenta a continuación.

Fig.5 Cromatograma y espectro de absorción UV-vis de microcistina LR.



Una vez conocidos el tiempo de retención y la longitud de onda se establecieron las condiciones cromatográficas para la implementación y validación de la determinación de microcistina LR por UHPLC con arreglo de diodos.

Tabla 7. Condiciones cromatográficas.

Columna:	Phenomenex Luna C18 de 50 X 3 mm 5 $\mu$
Detector:	Arreglo de Diodos
Fase móvil:	Acetonitrilo con 500 $\mu$ L TFA y Agua HPLC con 500 $\mu$ L TFA
Flujo:	1mL min <sup>-1</sup>
Temperatura auto inyector:	28°C
Temperatura horno para columna:	40°C
Longitud de onda:	238 nm
Volumen de inyección:	15 $\mu$ L
Tiempo de retención:	3.6 $\pm$ 0.1 min

### 6.2.2 Eficiencia de la columna.

- **Eficiencia de la Columna.** Se reportó una eficiencia de la columna de 1968.32 platos teóricos.
- **Resolución.** Se reportó una resolución de la columna de 2.5

### 6.2.3 Aptitud del Sistema.

Tabla 8. Relación de tiempo y área para Aptitud del Sistema

CONCENTRACIÓN ( $\mu$ g mL <sup>-1</sup> )	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	AREA
5	9.696	105232
	9.760	104074
	9.743	103226
	9.740	99088
	9.728	100849
	9.721	100051
	9.709	101757
	9.716	102238
	9.759	101031
	9.754	100736
Promedio	9.73	101493
Coeficiente variación		1.86

El coeficiente de variación en la aptitud del sistema es menor al 2% y el tiempo de retención se observa alrededor de los 9.73 minutos.

## 6.3 Validación del Sistema.

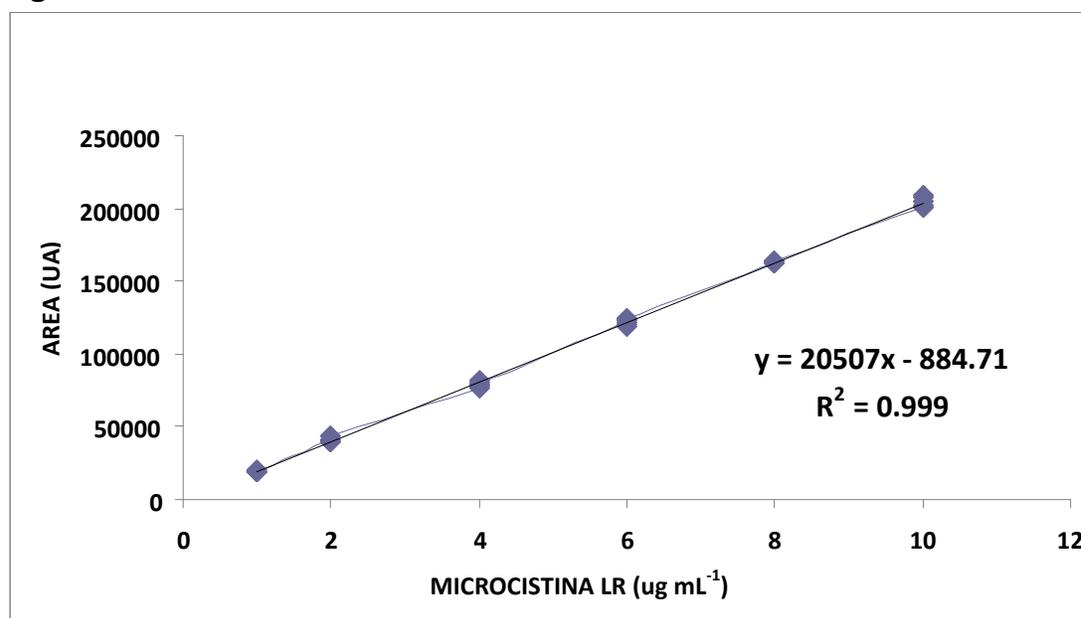
### 6.3.1 Linealidad del Sistema.

El valor  $R^2$  es mayor a 0.98. El intervalo de confianza para la pendiente se calculó con la ayuda de la herramienta "Excel" y no incluye el valor cero.

Tabla 9. Relación concentración-área de Linealidad del Sistema

Concentración $\mu\text{g mL}^{-1}$	Area
1	19514.17
2	41432.28
4	79407.33
6	122791.06
8	163118.72
10	204422.56
Pendiente	20507
Intercepto	884.71

Fig. 6. Linealidad del Sistema.



### 6.3.2 Precisión del Sistema.

Tabla 10. Precisión del Sistema.

Muestra	Concentración recuperada ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		
	1	1.02	5.175
2	1.02	5.120	10.065
3	0.96	5.080	10.048
4	1.10	4.883	9.917
5	1.05	4.929	9.920
6	1.02	5.033	9.809
<b>Promedio</b>	1.03	5.04	9.96
<b>Desviación Estandar</b>	0.05	0.11	0.10
<b>Coefficiente Variación</b>	4.45	2.23	0.98
<b>Cantidad adicionada (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	<b>1.0</b>	<b>5.0</b>	<b>10</b>

Se realizaron 6 muestras de tres concentraciones diferentes. Los Coeficientes de Variación son menores al 2%, por lo tanto aprueban este parámetro.

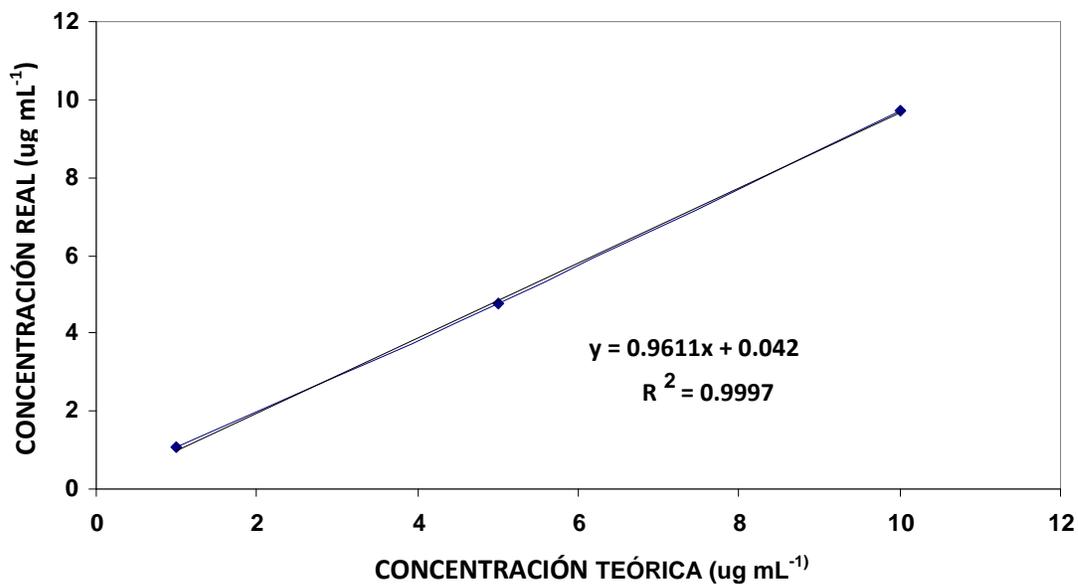
#### 6.4 Linealidad del método y porcentaje de recobro.

Se realizaron seis extracciones de tres concentraciones diferentes, el promedio de cada concentración recuperada se graficó contra la adicionada para obtener la linealidad del método.

Tabla 11. Relación de concentraciones para Linealidad del Método.

Concentración ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Relación de Areas	Concentración Recuperada ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	% Desviación	Promedio
<b>1</b>	19628.67	1.069	6.9	<b>1.06</b>
	19612.00	1.068	6.8	
	19225.00	1.049	4.9	
	20224.67	1.10	10	
	18699.67	1.022	2.2	
	20130.67	1.05	5	
<b>5</b>	104177.33	5.13	2.5	<b>4.95</b>
	94741.33	4.68	6.4	
	100062.33	4.93	1.4	
	99279.67	4.89	2.2	
	99759.33	4.92	1.6	
	94741.33	5.06	1.2	
<b>10</b>	192471.33	9.79	2.1	<b>9.85</b>
	192591.67	9.80	2.0	
	197426.33	10.04	0.4	
	190593.33	9.70	3.0	
	191284.33	9.73	2.7	
	197523.67	10.05	0.5	

Fig. 7 Linealidad del Método.



El valor  $R^2$  es mayor a 0.99. Los intervalos de confianza para la pendiente y el intercepto fueron calculados con la ayuda de "Excel".

Tabla 12. Parámetros de Linealidad del Método

Pendiente	0.9611
Intercepto	0.042
Coefficiente Correlación $r^2$	0.9997

Tabla13 . Porcentaje de Recobro.

Concentración	Area Teórica	Area Real	Recobro (%)
1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	19789	19628.67	
	19302	19612.00	
	19745	19225.00	
	19500	20224.67	
	19921	18699.67	
	19691	20130.67	
Promedio	<b>19658</b>	<b>19586.78</b>	100.36
5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	100932.0	104177.33	
	100899.5	94741.33	
	101461.5	100062.33	
	100601.0	99279.67	
	101485.5	99759.33	
	102046.0	94741.33	
Promedio	<b>101237.58</b>	<b>98793.55</b>	<b>102.47</b>
10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	200839	192471.33	
	200877	192591.67	
	200831	197426.33	
	208485	190593.33	
	208585	191284.33	
	208326	197523.67	
Promedio	<b>204657.17</b>	<b>193648.44</b>	<b>105.68</b>
<b>Recobro Promedio global</b>			<b>102.84</b>

### 6.4.1 Precisión del Método.

Tabla 14. Precisión del Método

Muestra	Concentración recuperada $\mu\text{g mL}^{-1}$		
1	1.02	5.13	9.79
2	1.02	4.68	9.80
3	0.96	4.93	10.04
4	1.1	4.89	9.70
5	1.05	4.92	9.73
6	1.02	5.06	10.05
<b>Promedio</b>	<b>1.03</b>	<b>4.93</b>	<b>9.85</b>
<b>Desviación Estandárd</b>	<b>0.05</b>	<b>0.15</b>	<b>0.15</b>
<b>Coefficiente de variación</b>	<b>4.45</b>	<b>3.13</b>	<b>1.57</b>
<b>Concentración adicionada</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>10</b>

### 6.4.2 Límite de Cuantificación.

Partiendo de la fórmula establecida para obtener el límite de cuantificación del método analítico para determinación de Microcistina LR, éste se obtuvo en la cantidad de  $0.19 \mu\text{g mL}^{-1}$

## 7.2 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como resultado del análisis de la linealidad del método, dicho parámetro cumplió con los criterios de aceptación establecidos y hubo una relación lineal entre las concentraciones de la Microcistina LR y las áreas obtenidas para cada una.

Como se observa en las Tablas 4 y 6 se obtuvieron valores de desviación estándar relativa y porcentaje de recobro dentro de los límites establecidos considerados como aprobados y hubo una relación lineal entre los valores de referencia por lo que se considera que el método es exacto.

En el parámetro de repetitividad, fueron necesarias al menos 6 determinaciones de cada concentración para asegurar que el método es preciso, con valores de coeficientes de variación menores al 2%. Según los resultados obtenidos en reproducibilidad se puede concluir que el método es aceptable.

Se logró obtener un buen límite de detección para determinar concentraciones relativamente bajas de Microcistina LR.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el método analítico desarrollado mediante cromatografía de líquidos de alta resolución permite cuantificar Microcistina LR de forma eficiente en muestras de agua potable, pues se obtienen picos finos, bien definidos y con buena resolución entre ellos.

#### **4.7 Caso de Estudio: Estudio de la presencia e identificación de fármacos y hormonas en cuerpos de agua (Río Atoyac) y en aguas residuales (influyente, efluente y lodos de PTAR).**

Dentro de los objetivos del proyecto esta:

Realizar diagnóstico de compuestos emergentes (gemfibrozil, beta estradiol, alfa etinil estradiol, estrona en cuerpos de agua (agua y sedimento) a través de la realización de dos monitoreos (época de estiaje y lluvias) en PTAR.

Para cumplir este objetivo se seleccionó el Río Atoyac por ser uno de los principales ríos de la cuenca Balsas y por su desarrollo urbano industrial comprendiendo diez plantas de tratamiento de las cuales se seleccionaron las cuatro plantas de tratamiento del Sistema Operador de Agua Potable y Alcantarillado del estado de Puebla SOAPAP.

##### **4.7.1 Descripción de la zona de estudio**

###### **4.7.1.1 Características físicas.**

###### **Cuenca del Río Atoyac.**

La cuenca del Alto Atoyac, perteneciente a la Región Hidrológica No. 18 Balsas, se localiza en el Altiplano Central de la República Mexicana, con coordenadas geográficas extremas al norte de 19° 42', al sur 18° 51' de latitud norte; al este 98° 01', al oeste 98° 39', de longitud oeste, tiene una superficie aproximada de 4,011 km<sup>2</sup>, hasta la cortina de la presa Valsequillo. Fisiográficamente está enclavada en la provincia del Eje Neovolcánico, en particular en la subprovincia de los Lagos y Volcanes de Anáhuac y políticamente en los estados de Puebla y Tlaxcala.

Los escurrimientos de aguas superficiales dentro de la cuenca del Alto Atoyac hasta la presa Valsequillo son aprovechados en el riego de las zonas de cultivo del Distrito de Riego No. 30 Valsequillo, localizado al sur de la cuenca mencionada, así como en las zonas de riego de Atlixco-Izúcar de Matamoros, en la subcuenca del río Nexapa, Ubicada al suroeste de la cuenca del Alto Atoyac.

###### **4.7.1.2 Clima.**

La región se caracteriza por tener un clima templado subhúmedo con lluvias en verano, con excepción de las partes altas pertenecientes a la zona del Parque Nacional Izta-Popo y de la Malinche, donde se presentan climas fríos y semifríos; la temperatura media varía de los 12° C a los 18° C para la zona de clima templado y de 4° C a 12° C para los climas fríos y semifríos; las precipitaciones se distribuyen en franjas que van de mayor a menor iniciando en el norte hacia el sur, alcanzando los 1,200 mm de precipitación anual hasta los 800 mm en la zona sur de la cuenca.

El río Atoyac es una de las principales corrientes que integran la cuenca del Balsas y se

forma por los deshielos que descienden desde altitudes del orden de los 4,000 msnm del flanco oriental del volcán Iztaccíhuatl, recibe por su margen izquierda las aguas del río Zahuapan con una cuenca de aportación de 1,591 km<sup>2</sup>, perteneciente en su totalidad al estado de Tlaxcala; después de la confluencia el río continúa con el nombre de río Atoyac hasta su unión con el río Nexapa en el extremo suroeste del estado de Puebla, casi en el límite con el estado de Guerrero. Otra corriente aportadora a la presa Valsequillo es el río Alseseca, con una cuenca de aportación de 244 km<sup>2</sup>, localizada completamente en el estado de Puebla y en la parte sureste de la cuenca del Alto Atoyac. La cuenca propia de aportación al vaso de la presa es de 179 km<sup>2</sup>.

El área de la cuenca dentro del estado de Puebla tiene una extensión de 2,420 km<sup>2</sup>, comprendiendo en su totalidad 12 municipios y de manera parcial otros 10. En el estado de Tlaxcala su extensión es de 1,591 km<sup>2</sup> cubriendo de manera total o parcial 48 municipios.

El área de la cuenca representa el 7% del territorio estatal y en ella habitan 2,277,743 personas al año 2007, según las proyecciones de población llevadas a cabo de acuerdo a los resultados del II Censo de Población y Vivienda 2005 y a las consideraciones de proyección del CONAPO, representando el 47% de la población total del estado.

Los 12 municipios se ubican dentro de la cuenca en toda su extensión son: Chiautzingo, Coronato, Cuautlancingo, Domingo Arenas, Juan C. Bonilla, San Andrés Cholula, San Felipe Teotlancingo, San Gregorio Atzompa, San Martín Texmelucan, San Matías Tlalancaleca, San Miguel Xoxtla y Tlaltenango; los restantes 10 municipios se encuentran en forma parcial dentro de la cuenca y son: Amozoc, Calpan, Huejotzingo, Ocoyucan, Puebla, San Jerónimo Tecuanipan, San Pedro Cholula, San Salvador el Verde, Tlahuapan, y Tzicatlacoyan. Las localidades mayores de 50 habitantes, de acuerdo a los resultados del II Censo de Población y Vivienda 2005, son 234, de las cuales 170 son menores de 2,500 habitantes y 64 mayores al mismo número.

Tabla 15. Identificación de los Municipios

Número	Municipio
015	Amozoc
114	Puebla
034	Coronato
041	Cuautlancingo
090	Juan C. Bonilla
106	Ocovucan
119	San Andrés
125	San Gregorio
136	San Miguel Xoxtla
140	San Pedro Cholula
181	Tlaltenango
026	Calpan
048	Chiautzingo
060	Domingo Arenas
074	Huejotzingo
122	San Felipe Teotlalcingo
132	San Martín Texmelucan
134	San Matías Tlalancaleca
143	San Salvador El Verde
193	Tzicatlacoyan
126	San Jerónimo
180	Tlahuapan

Respecto a la cobertura total de alcantarillado sanitario en los municipios de la cuenca, según también los resultados del conteo mencionado es de 89.01%, considerando las viviendas conectadas a redes de alcantarillado, sobre el total de viviendas, existiendo dentro de la cuenca una cobertura adicional de 5.45% por las descargas de aguas residuales que están conectada s a fosas sépticas, a grietas en el terreno o directamente a los cauces de los escurrimientos superficiales de agua.

En la tabla 16 se presentan las coberturas por municipio. Las coberturas a nivel municipal, considerando las conexiones a redes de alcantarillado, la mínima y máxima corresponden a los municipios de Tzicatlacoyan y Puebla con valores de 7.22% a 93.54% respectivamente.

Tabla 16. Coberturas de alcantarillado sanitario por municipio (2005)

MUNICIPIO	POBLACION habitantes	COBERTURA TOTAL %	COBERTURA CON CONEXIÓN A LA RED %
Amozoc	78,452	90.54	73.44
Calpan	13,319	85.06	73.54
Chiautzingo	17,167	81.22	69.27
Coronango	30,255	68.37	56.55
Cuatlaningo	55,456	96.12	88.56
Domingo Arenas	5,597	83.33	75.92
Huejotzingo	59,822	87.78	75.47
Juan C. Bonilla	14,814	80.86	45.47
Ocoyucan	21,185	75.51	57.56
Puebla	1,485,941	96.55	93.54
San Andrés Cholula	80,118	94.03	87.51
San Felipe Teotlalcingo	8,497	73.18	59.44
San Gregorio Atzompa	6,981	92.14	88.64
San Jerónimo Tecuanipan	5,226	71.62	54.07
San Martín Texmelucan	130,316	95.59	88.30
San Matías Tlaltancateca	17,069	93.02	78.42
San Miguel Xoxtla	10,664	91.83	87.72
San Pedro Cholula	113,436	91.60	85.28
San Salvador El Verde	23,937	89.07	77.40
Tlahuapan	33,831	90.86	68.22
Tlaltenango	5,676	75.40	57.19
Tzicatlacoyan	5,758	42.19	7.22
TOTAL	2,223,517	94.46	89.01

Respecto al tratamiento de las aguas residuales, en el estado de Puebla, dentro de la cuenca del Alto Atoyac, se tienen construidas 10 plantas de tratamiento de aguas municipales. La relación de plantas, incluyendo sus capacidades de diseño y los gastos de operación se indica en la tabla 17.

Tabla 17. Plantas de tratamiento de aguas residuales municipales (2005)

MUNICIPIO	PLANTA	PROCESO	GASTO DE DISEÑO L.p.s.	GASTO DE OPERACIONL. p.s.
Huejotzingo	Huejotzingo	Filtros biológicos	60.0	40.00
Huejotzingo	Sta. Ana Xalmimilulc	Lagunas de estabilización	40.0 0	0.00
Puebla	Barranca del	Primario avanzado	340.0	180.00
Puebla	San Francisco	Primario avanzado	1,100.00	1,100.00
Puebla	Atoyac Sur	Primario avanzado	400.0	200.00
Puebla	Parque Ecológico	Biodiscos	80.0	80.00
Puebla	Alseseca Sur	Primario avanzado	700.0	500.00
Tlahuapan	San Juan Cuauhtémo	Fosa séptica	4.00	2.50
Tlahuapan	Santa María Texmelucan	Reactor anaeróbico	5.00	3.80
Tlahuapan	Santiago	Lodos Activados	3.00	1.80
<b>TOTAL</b>			<b>2,732.00</b>	<b>2,108.10</b>

**FUENTE: Inventario Nacional de plantas de tratamiento 05. COMISION NACIONAL DEL AGUA**

Dentro de cuenca del Alto Atoyac existe un notable desarrollo urbano e industrial, concentrándose principalmente en las localidades de Puebla, San Martín Texmelucan, San Pedro y San Andrés Cholula, Huejotzingo, Amozoc y Cuautlancingo, sin embargo en la zona también se presentan serias desigualdades en las condiciones de desarrollo de sus habitantes, en particular con los de las zonas rurales donde existen condiciones de marginalidad alta.

#### **4.7.1.3 Industrias que descargan al Río Atoyac.**

Las ramas principales de la industria que se encuentra asentada en la cuenca son la textil, metal-mecánica, automotriz, química y alimenticia. La mayoría de la población y de las industrias realizan sus descargas de sus aguas servidas crudas directamente al río Atoyac y sus tributarios causando su contaminación y la del vaso de la presa de Valsequillo que retiene temporalmente dichas aguas para ser aprovechados posteriormente en el Distrito de Riego

030 Valsequillo. El deterioro de la calidad del agua en la presa ha reducido su uso como agua de riego y ha ido causando un efecto negativo sobre la salud de la población local, la agricultura, el turismo, la fauna nativa y la economía.

De acuerdo al Estudio de Clasificación del río Atoyac, llevado a cabo por la Comisión Nacional del Agua, se estima que el gasto medio diario de aguas residuales aportado al río Atoyac antes de su ingreso al vaso de la presa Valsequillo es de aproximadamente 4,830 litros por segundo, de los cuales el 70% corresponde a aguas residuales municipales y el 30 % a aguas residuales industriales, generando altos grados de contaminación, provocando olores desagradables y coloración en el agua, que indican un gran contenido de materia orgánica e inorgánica; nutrientes como fósforo y nitrógeno, así como sedimentos y contaminantes químicos de origen industrial.

Con base en el estudio mencionado anteriormente, se estima que el río Atoyac aporta al vaso de la presa Valsequillo 69 ton/día de contaminantes, dentro de estos, 8 ton/día corresponden a su tributario río Zahuapan y 21.5 ton/día al río San Francisco, el cual es un afluente del río Atoyac y que se encuentra dentro de la ciudad de Puebla; además de las 28 ton/día aportadas por el río Alseseca y sus afluentes.

Otro contribuyente a la contaminación de los cauces es la basura que se deposita en ellos o en sus riberas causando contaminación visual, emanando malos olores y propiciando la creación de plagas de insectos y roedores, que transmiten enfermedades a los habitantes de la cuenca.

Un aspecto fundamental, que incide directamente en el problema de la contaminación, es el representado por la falta de cumplimiento a las normas oficiales mexicanas en materia de descargas de aguas residuales como la NOM-001-ECOL-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales; la NOM-002-ECOL-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal; la NOM-003-ECOL-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se re-usen en servicios públicos y la NOM-001-CNA-1995 referente a la construcción de los sistemas de alcantarillado herméticos.

El Distrito de Riego 030 Valsequillo se localiza al sur de la presa Valsequillo dentro de los valles de Tecamachalco, San Jerónimo Tlacotepec y Tehuacán, donde son aprovechadas las aguas de la presa mencionada en beneficio de 33,380 ha, distribuidas en 6 módulos que se localizan en 16 municipios, todos dentro del estado de Puebla.

La zona de riego de Atlixco-Izúcar de Matamoros aprovecha las aguas del río Atoyac por medio de la presa derivadora Echeverría, un canal de 6.4 km y un túnel de 4.7 km para verter el agua al río Nexapa para contribuir al riego de 9,100 hectáreas, distribuidas entre unas 30 comunidades y 5,400 usuarios.

Para las zona urbanas se cuenta con el Programa de Agua Potable, Alcantarillado y Saneamiento en Zonas Urbanas (APAZU), el cual se financia a través de una mezcla de recursos aportados por

el gobierno federal, también por medio de la CONAGUA, del gobierno del estado, crédito y por los organismos operadores responsables de la prestación de los servicios. Para organismos operados que atienden a localidades de más de 50,000 habitantes se tiene además el

Programa para la Modernización de Organismos Operadores de Agua (PROMAGUA) con la participación de la iniciativa privada.

A nivel estatal los apoyos para el financiamiento de obras en los rubros de agua potable, alcantarillado y saneamiento se tienen por medio de los Fondos de Aportaciones para la Infraestructura Social Municipal (FISM) y para el fortalecimiento de los municipios del Ramo 33.

Con el apoyo de los programas mencionados la cobertura de agua potable en los municipios localizados dentro de la cuenca del Alto Atoyac se incrementó de 81.70% a 84.21% en el periodo 2000-2005 y de alcantarillado de 85.75% a 89.01% en el mismo periodo.

### 5.1 Metodología.

Con base en el Estudio de Clasificación del río Atoyac, llevado a cabo por la Comisión Nacional del Agua, se seleccionaron nueve puntos de muestreo a lo largo del río para muestras superficiales y cuatro plantas de tratamiento del SOAPAP, cuyas coordenadas se presentan a continuación.

#### 5.1.1 COORDENADAS DE LOS SITIOS DE MUESTREO DEL RÍO ATOYAC Y PTAR DE PUEBLA.

Tabla 18. Coordenadas de los sitios de muestreo.

Sitio	Latitud	Longitud
Ex Hacienda de Guadalupe	19°22'3.42"N	98°30'56.92"O
Chiautla de Arenas	19°19'2.30"N	98°27'30.90"O
Villalta	19°17'16.30"N	98°23'2.30"O
San José Atoyatenco	19°14'25.20"N	98°21'35.90"O
Puente Río Atoyac	19° 9'27.66"N	98°14'30.48"O
San Lorenzo	19° 9'22.70"N	98°14'13.00"O
Puente México	19° 4'10.86"N	98°14'27.30"O
PTAR Del Parque	19° 2'4.42"N	98°10'49.28"O
PTAR San Francisco	19° 1'20.56"N	98°13'55.48"O
PTAR Atoyac Sur	18°58'18.08"N	98°16'25.39"O
Presas Valsequillo (Sur)	18°57'57.78"N	98°16'39.24"O
PTAR Alseseca	18°57'15.01"N	98°11'24.75"O

Presa Valsequillo (Cortina)	18°54'42.48"N	98° 6'38.54"O
-----------------------------	---------------	---------------

**Figura 8 . Mapa de sitios de muestreo superficial en el Río Atoyac, Tlaxcala-Puebla.**



### 5.1.2 Descripción de estaciones

Estación 1. Estación testigo, localizada en la Exhacienda de Guadalupe, en el municipio de Tlahuapan, Estado de Puebla. Se consideró sin recibir descarga alguna.

Estación 2. Situada en el municipio de San Matías Tlalancaleca, Estado de Puebla. Recibe las descargas municipales de Tlahuapan, Domingo de Arenas, Tlalancaleca y San Lucas el Grande.

Estación 3. Localizada en la localidad de Villalta, en el municipio de Tepetitla de Lardizábal, Estado de Tlaxcala. El cauce del río al llegar a esta estación lleva las descargas municipales de San Martín Texmelucan, Santa María Moyotzingo y San Mateo Ayecac; recibe como afluentes los ríos

Atotonilco, Chiquito y Coatzala; descarga del colector industrial Quetzalcóatl (el cual lleva la descarga municipal de San Rafael Tlanalapan, dos descargas de industrias textiles, una de industria química y otras). Asimismo, recibe la descarga industrial del complejo petroquímico

Independencia PEMEX Emisor 1 y la descarga de la planta de tratamiento de aguas municipales de Villalta.

Estación 4. Situada en la localidad de San José Atoyatenco (Puente), en el municipio de Nativitas, Estado de Tlaxcala. El río Atoyac recibe como afluentes dos arroyos (uno de los cuales transporta la descarga municipal de San Mateo Tepetitla) y el río San Ignacio. Recibe la descarga de una barranca que lleva tres descargas industriales.

Estación 5. Localizada en el puente Río Atoyac en la localidad El Valor, Estado de Puebla. En este tramo, el río Atoyac recibe como afluente el río Xochiac, el cual recibe la descarga industrial del complejo PEMEX Independencia Emisor II, así como del colector industrial El Carmen y las descargas municipales de Santa María Moyotzingo y Chiautzingo. El río Xopanac también es afluente del Atoyac y transporta las descargas municipales de Huejotzingo, Xalmimilulco y una descarga industrial. Además, recibe la descarga de una industria metalúrgica y la descarga municipal de Xoxtla.

Estación 6. Situada en San Lorenzo (puente), en el municipio de Cuatlancingo, Estado de Puebla. Recibe como afluente el río Zahuapan, proveniente de Tlaxcala y uno de los más contaminados de dicho estado. Recibe la descarga municipal de Papalotla de Xicontécatl y la descarga del colector industrial Panzacola, el cual lleva descargas de varias industrias (química, textil, de polímeros, de tejidos y de poliestireno).

Estación 7. Localizada en el puente México (autopista), en el municipio de Puebla, Puebla. Recibe las descargas de varias industrias (textiles, metalúrgica, químicas, automotriz); dos de las cuales descargan sus aguas residuales a la barranca Atlapitz, que finalmente desemboca en el río (industrias eléctrica y textil); del parque industrial Camino a San Lorenzo (el cual lleva una descarga textil) y de la planta de tratamiento de Barranca del Conde. Recibe la descarga del colector Industrial 5 de mayo (industrias metalúrgica, alimenticia, automotriz, química, aceitera, bebidas, tenería); una parte de esta descarga se desvía a la planta de tratamiento de Barranca del Conde antes de desembocar en el río. También recibe la descarga del parque industrial Cuatlancingo, que traslada descargas de industrias textil y de hilados, etc.; una parte de esta descarga pasa a la planta de tratamiento de aguas residuales San Francisco y el resto va directo al río.

Estación 8. Situada en el municipio de Puebla, antes de la derivadora Echeverría. Recibe como afluentes los arroyos Atenco y Rabanillo (que transporta descargas de industrias textiles y de hilados); parte del caudal del arroyo es conducida a una planta de tratamiento (San Francisco). También tiene como afluentes los ríos San Francisco y Zapatero, el cual recibe dos descargas industriales, y del cual se desvía una parte de su caudal a una planta de tratamiento (Atoyac Sur). Finalmente, recibe las descargas de dos plantas de tratamiento de aguas residuales: San Francisco y Atoyac Sur.

Estación 9. Localizada en la cortina de la presa Manuel Ávila Camacho, en el municipio de Puebla, donde concluye el río Atoyac.

### **5.1.3 Ubicación de las Plantas de tratamiento de agua residual del SOAPAP muestreadas.**



#### San Francisco

- Dirección: Calle Kepler s/n. Col. Concepción Mayorazgo.
- Capacidad: 1,500 l.p.s.
- Población beneficiada: 648,000 habitantes



#### Atoyac Sur

Dirección: Calle 149 "C" Poniente No. 1 Col. San Bernabé Temoxtitlan.

- Capacidad: 600 l.p.s.
- Población beneficiada: 259,200 habitantes.



#### Alseeca Sur

Dirección: Calle Chietla No. 1 Col. Barrio de Chietla. San Francisco Totimehuacan.

- Capacidad: 1,000 l.p.s.
- Población beneficiada: 432,000 habitantes



#### Parque Ecológico

- Dirección: Juan de Palafox y Mendoza s/n entre 28 y 30 Sur Col. Resurgimiento.
- Capacidad: 80 l.p.s.
- Población beneficiada: 34,560 habitantes

#### 5.1.4 Colecta de muestras.

La colección de muestras para análisis de fármacos y hormonas se llevó a cabo como lo indican los cánones, tomando cuatro litros de muestra en frascos ámbar y preservando con metanol y conservaron a 4°C (Silva, Castro V. 2008, Gibson et. al. 2007), para el caso de la colección de muestras de las plantas de tratamiento se colectó a parte cinco litros de agua para análisis fisicoquímicos (DBO5, SST, Color Verdadero, Turbiedad) preservando a 4°C , 100 mililitros para el análisis de DQO preservando con ácido sulfúrico concentrado a pH menor a 2 unidades y 250 mililitros para el análisis de COT preservando con ácido sulfúrico a pH menor a 2 unidades, este último parámetro se colecto para agua superficial y agua residual. Además se determinaron en campo pH, Temperatura.

Figura. 9. Colecta de muestras y preservación.



### 5.1.5 Análisis de muestras.

Las muestras una vez colectadas y preservadas se transportaron al laboratorio de Calidad del Agua para los análisis físicoquímicos, carbono orgánico total y análisis cromatográficos para el caso de fármacos y hormonas.

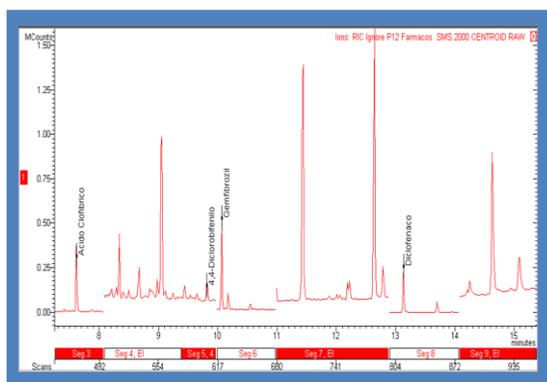
Las muestras de fármaco y hormonas fueron analizadas vía extracción en fase sólida y cromatografía de gases/espectrometría de masas.

Figura 10. Extracción en fase sólida de las muestras.      Figura 11. Concentración de las muestras



Determinación por cromatografía de gases/espectrometría de masas.

Figura 12 .Inyección y cromatograma de fármacos (ácido clofibrico, gemfibrozil y diclofenaco).

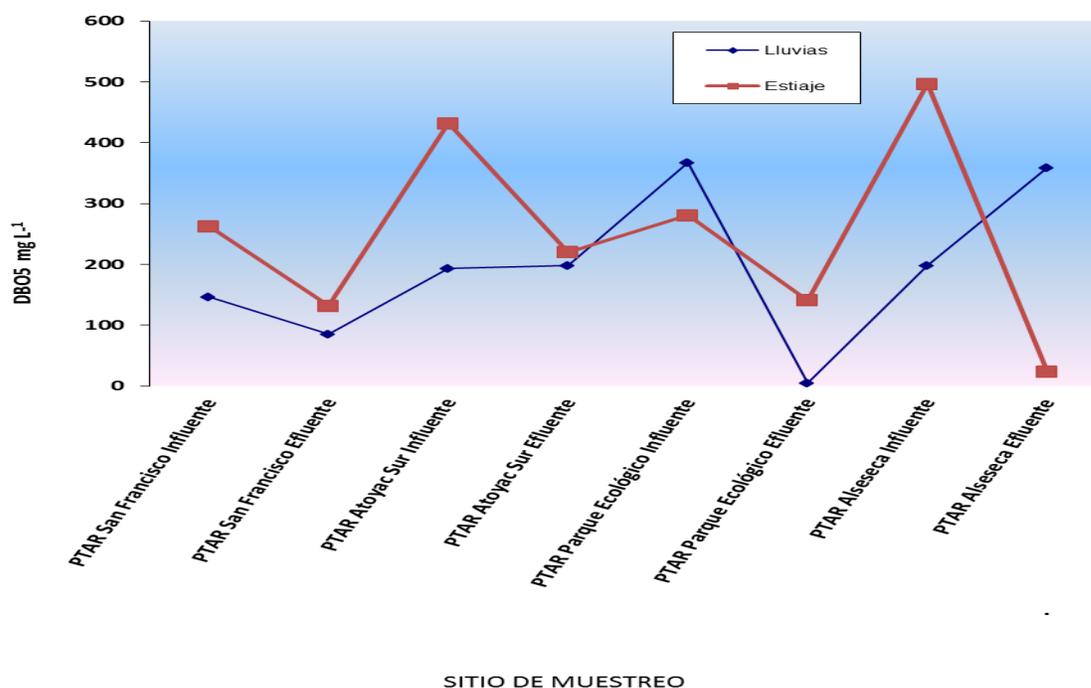


## 6.5 Resultados.

### Análisis Físicoquímicos

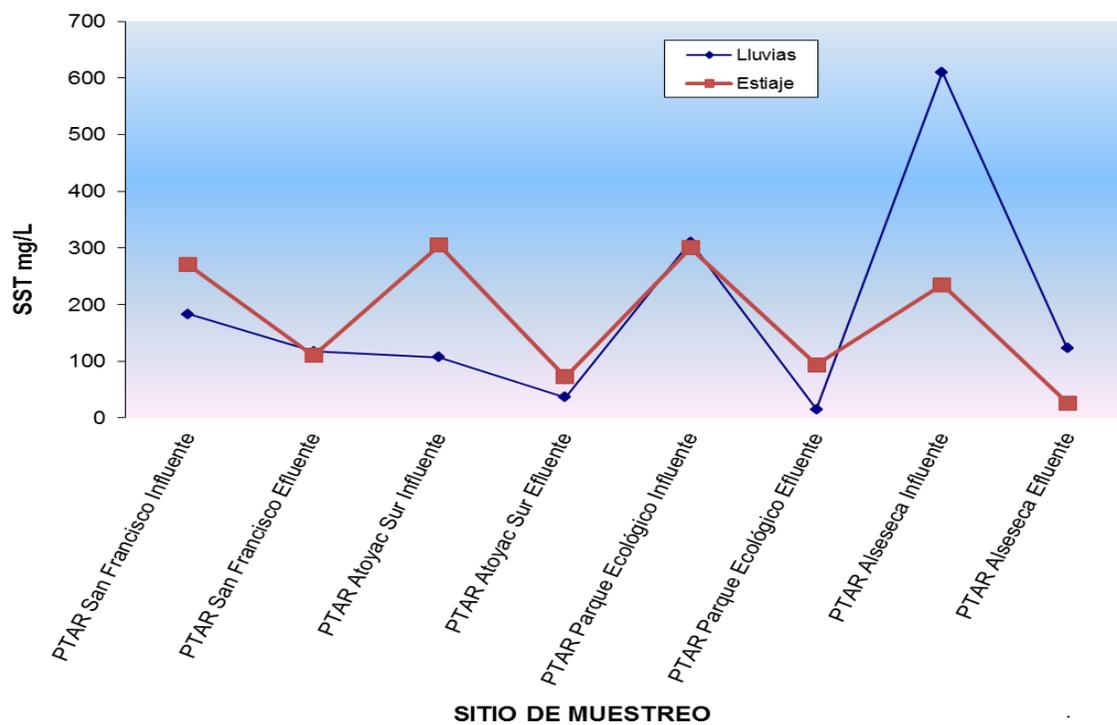
Se observa que en la mayoría de las plantas de tratamiento los valores de la DBO5 están excedidos y no cumplen con los límites máximos permisibles de la NOM-001-1996 SEMARNAT en influente y efluente (los rangos de concentración en época de lluvias es desde 4-5 a 367 mg L<sup>-1</sup>, y en estiaje es de 24 hasta 497 mg L<sup>-1</sup>) excepto en la planta del Parque Ecológico en el efluente en la época de lluvias con un valor de 4.5 menor al estipulado en la Norma de 75 mg L<sup>-1</sup>, para el caso de la planta de Alseseca se tiene un valor de 24 en época de estiaje cumpliendo con la norma.

Figura 13. Gráfico de la DBO5 en PTAR en estiaje y lluvias.



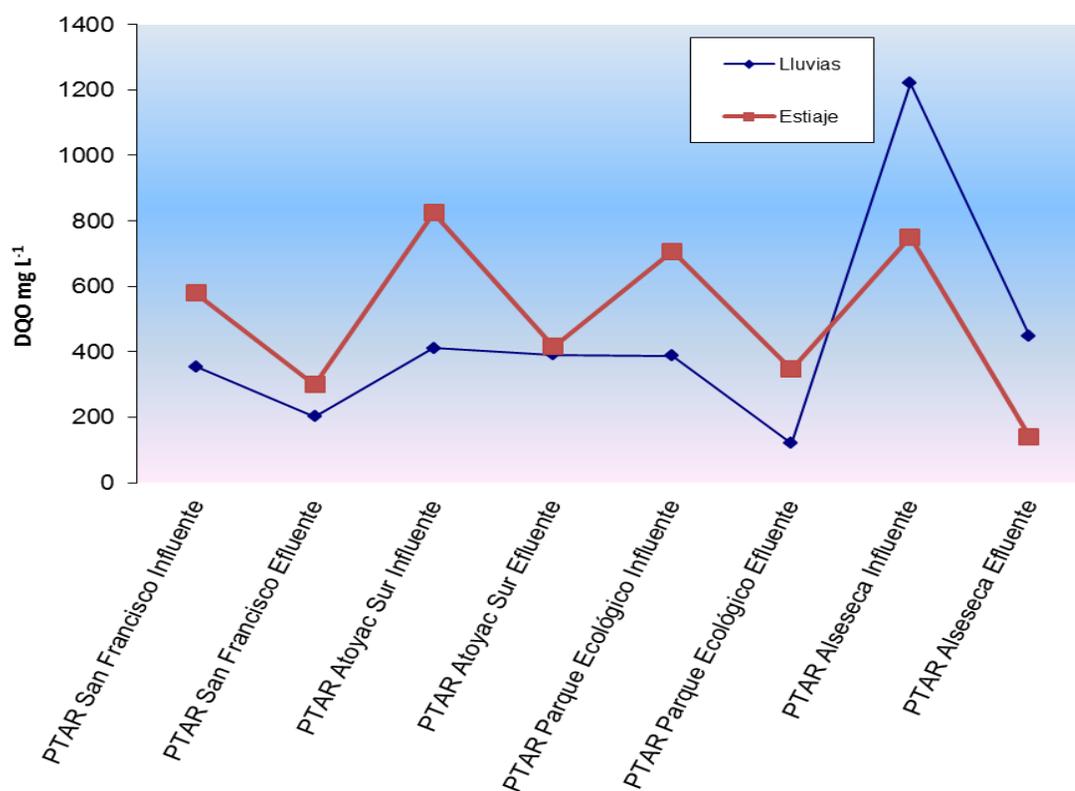
En lo que respecta a los Sólidos suspendidos totales sólo los efluentes de las plantas Atoyac Sur con 36.5 mg/L y Parque Ecológico con 15 mg/L en época de lluvias (15-610 mg L<sup>-1</sup>) cumplen con el límite permisible de la norma de 75 mg/L, mientras que en época de estiaje (26-300 mg L<sup>-1</sup>) sólo el efluente de la planta de Alseseca cumple con 26 mg/L de sólidos suspendidos totales.

Figura 14. Gráfico de SST en PTAR en estiaje y lluvias.



Para el caso de la Demanda Química de Oxígeno se observa que se tiene un alto contenido de materia orgánica no biodegradable y sólo el efluente de la planta de tratamiento del Parque Ecológico presenta un valor mínimo de  $120 \text{ mg L}^{-1}$  en el efluente en época de lluvias ( $120 - 449 \text{ mg L}^{-1}$ ) mientras que para Alseseca se tiene un valor mínimo de 141 en efluente en época de estiaje y un valor máximo de  $824 \text{ mg L}^{-1}$ .

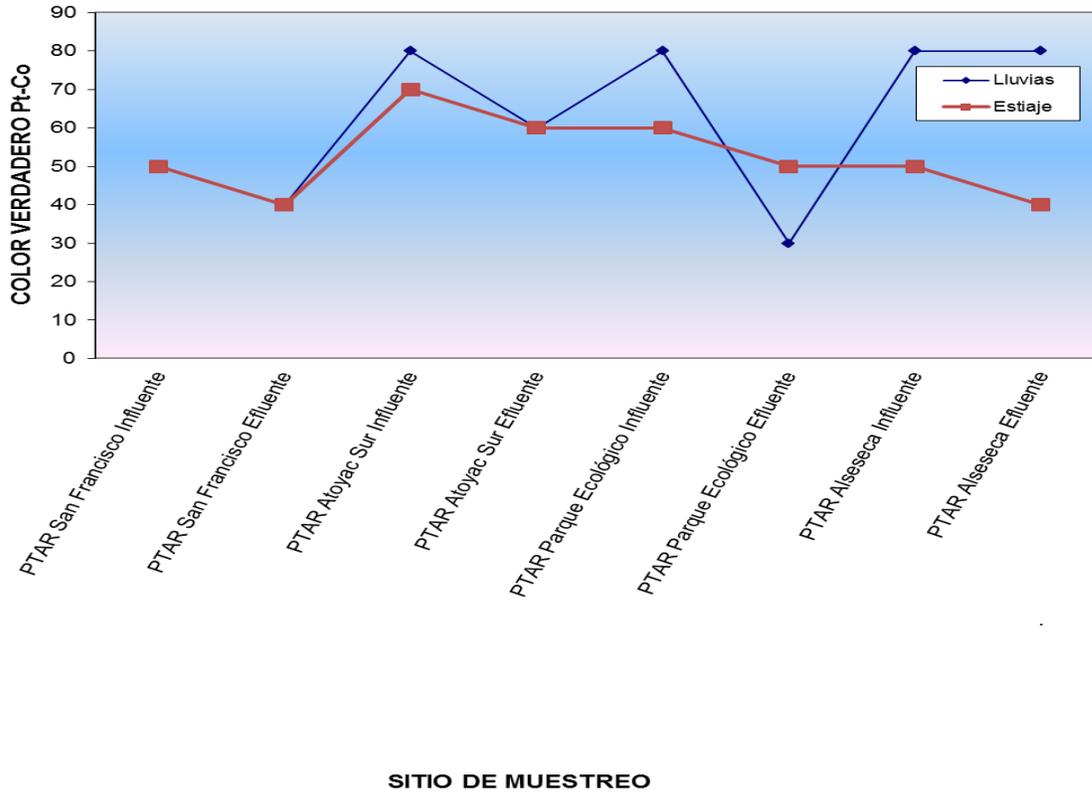
Figura 15. Gráfico de DQO en PTAR en estiaje y lluvias.



#### SITIO DE MUESTREO

En cuanto al parámetro de Color verdadero, este parámetro no está incluido en la norma NOM-001-SEMARNAT -1996, sin embargo este varía desde el rojo, amarillo y azul en el cuerpo receptor y en los influentes de las plantas de tratamiento el valor mínimo es de 50 unidades de platino cobalto en el influente en época de estiaje y lluvias, mientras que en efluente en época de estiaje el valor mínimo está dado por la planta Parque Ecológico con un valor de 40 U Pt-Co mientras que en época de lluvias se tiene un valor mínimo de 30 U Pt-Co en las plantas de San Francisco y Alseseca.

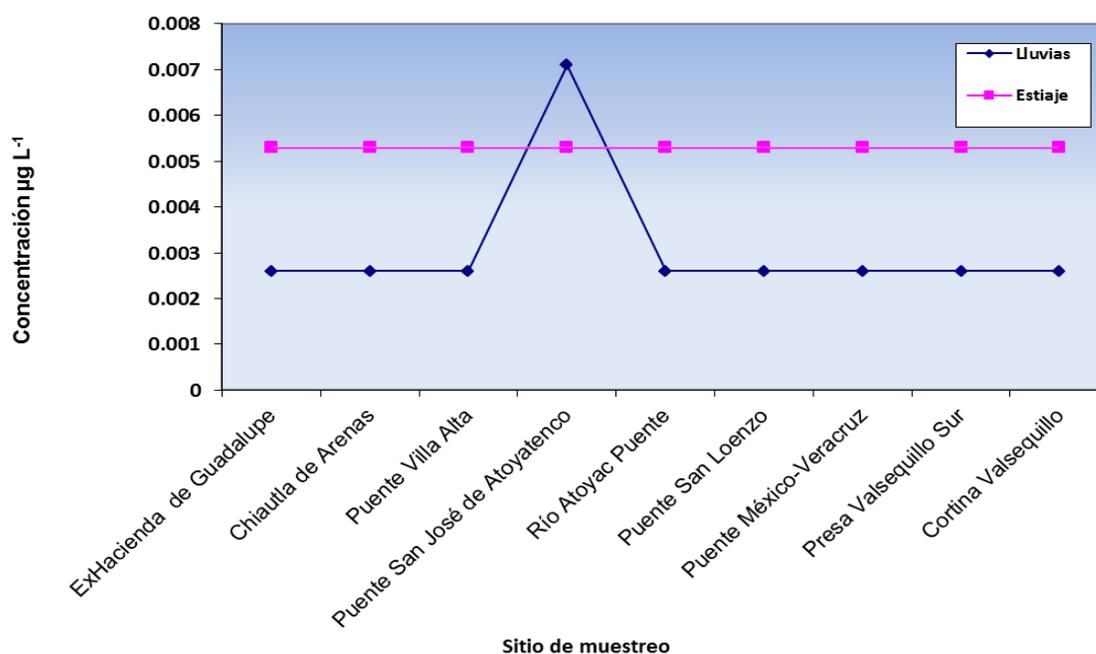
Figura 16. Gráfico de Color Verdadero en PTAR en estiaje y lluvias.



### 6.5.1 Fármacos.

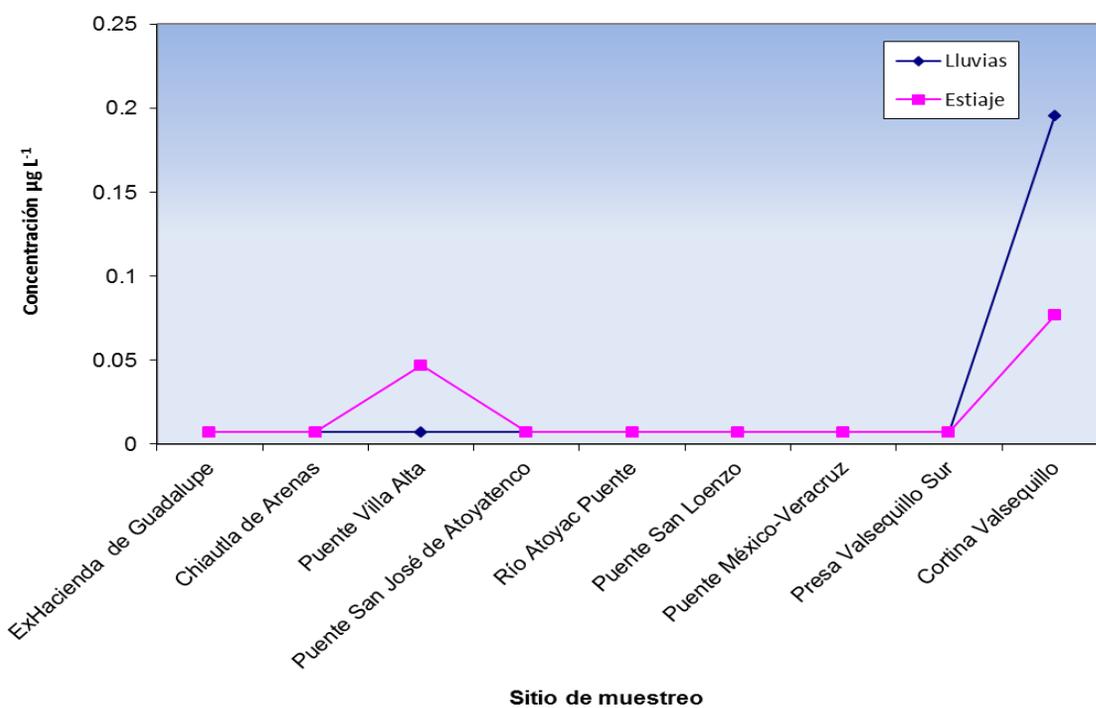
En lo que respecta a los fármacos el comportamiento del ácido clofibrico a lo largo del río Atoyac fue menor a  $0.0053 \mu\text{g L}^{-1}$  en época de lluvias y estiaje como se observa en el gráfico.

Figura 17. Gráfico de Ácido Clofibrico en el Río Atoyac



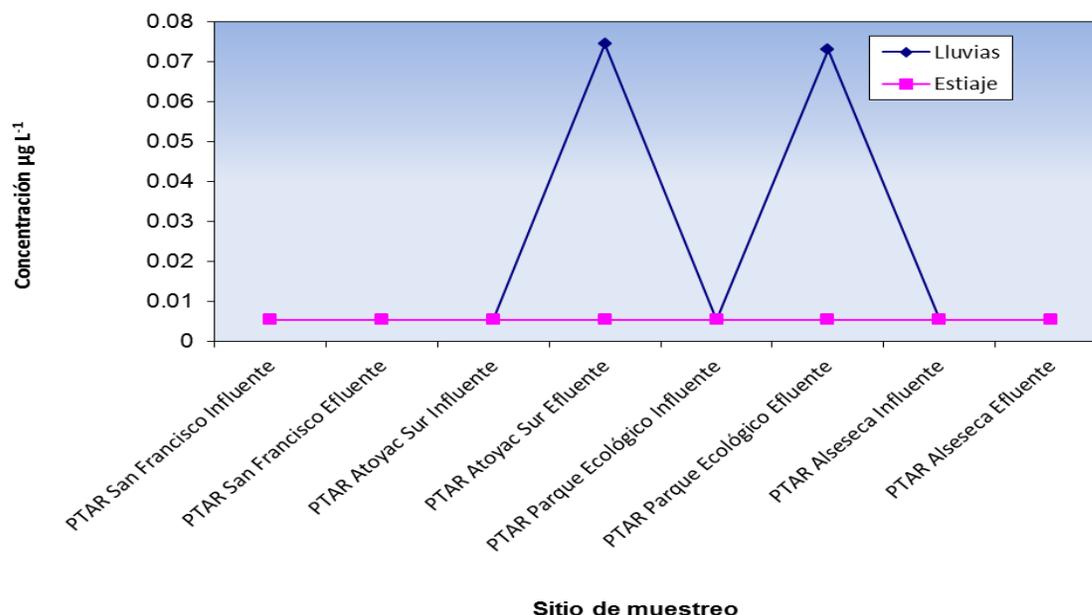
Para Gemfibrozil se encontraron concentraciones en la Cortina de Valsequillo en época de estiaje y lluvia, mientras que sólo en Villalta se encontró en época de estiaje como se indica en la figura 18.

Figura 18. Gráfico de Gemfibrozil en el río Atoyac en estiaje y lluvias



En lo que respecta a los fármacos en las plantas de tratamiento el ácido clofíbrico se encontró sólo en época de lluvias en los efluentes de las plantas de Atoyac Sur y en Parque Ecológico con valores de  $0.0745$  y  $0.073$   $\mu\text{g L}^{-1}$  como se muestra en la figura 19.

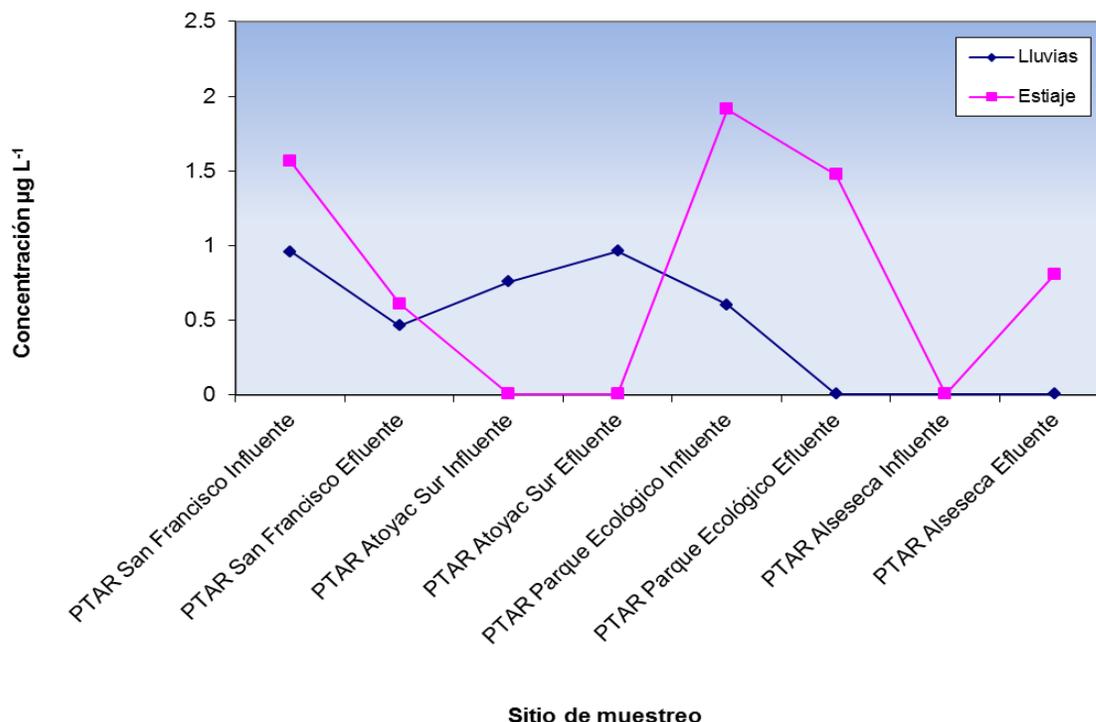
Figura 19. Gráfico de Ácido Clofíbrico en plantas de tratamiento de aguas residuales.



Sin embargo para el Gemfibrozil se presenta la siguiente figura 20, en donde se puede observar la presencia de éste fármaco en época de estiaje y lluvia en la planta de San Francisco con concentraciones de  $1.5648$  y  $0.9593$   $\mu\text{g L}^{-1}$  en el influente y posteriormente en el efluente con un 39 % y 48% de remoción de este fármaco en el efluente.

No hay presencia en la planta de Atoyac Sur en épocas de estiaje pero si en época de lluvias a una concentración de  $0.7588$   $\mu\text{g/L}$  en influente y de  $0.9645$   $\mu\text{g L}^{-1}$  en efluente, observándose más una concentración del fármaco que una disminución.

Figura 20. Gráfico de Gemfibrozil en plantas de tratamiento de aguas residuales.



Los valores encontrados de ácido clófrico en influente de PTAR (0.0071 µg/L) son menores a los informados en referencias internacionales (véase tabla 19), mientras que los resultados encontrados en los efluentes de las plantas de Atoyac Sur y Alseseca son similares a los que se reportan en referencias internacionales indicados en la tabla 19.

En lo que respecta al Gemfibrozil la presencia de este contaminante está dentro de lo reportando en referencias internacionales 0.09 a 2µg L<sup>-1</sup> en el influente y en el efluente también está en el rango reportado internacionalmente 0.001 a 5.9µg L<sup>-1</sup> como se muestra en la tabla 19.

Tabla 19. Concentraciones de fármacos reguladores de lípidos en plantas de tratamiento de aguas residuales municipales.

FÁRMACO	INFLUENTE, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	EFLUENTE, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	REFERENCIA
GEMFIBROZIL	0.453-0.965	-	Lishman <i>et al.</i> , 2006
	nd-0.36	-	Gross <i>et al.</i> , 2006
	-	1	Metcalfe <i>et al.</i> , 2003a, b
	-	4.76	Andreozzi <i>et al.</i> , 2003
	-	0.143	Rodríguez <i>et al.</i> , 2008
	0.090	-	Radjenovic, 2007a
	2	5.9	Radjenovic, 2009
	-	-	Verenitch <i>et al.</i> , 2006
	-	4.8	Pedersen <i>et al.</i> , 2005
ÁCIDO CLOFÍBRICO	nd-0.11;0.072	-	Gross <i>et al.</i> , 2006
	0.36	-	Tauxe-Wuersh <i>et al.</i> , 2005
	-	0.68	Andreozzi <i>et al.</i> , 2003
	-	0.024	Rodríguez <i>et al.</i> , 2008
	0.086	0.074	Radjenovic, 2007a
	0.06-0.15	0.001-0.12	Bernhard <i>et al.</i> , 2006
	2.6	-	Gagnon <i>et al.</i> , 2008
	-	15	Schröder, 2002
	0.052	0.017	Kasprzy <i>et al.</i> , 2008
0.14	0.04	Pedrouzo <i>et al.</i> , 2007	
-	0.163	Quintana y Reemtsma, 2004	

Con respecto a amoxicilina los resultados obtenidos fueron menores a  $15 \text{ ng L}^{-1}$  a lo largo del Río Atoyac así como en las plantas de tratamiento de aguas residuales, como se muestra en las figuras 21 y 22.

La amoxicilina es un fármaco inestable a la luz y al cambio de pH, razón por la cual no se obtuvieron resultados positivos.

Figura 21. Amoxicilina en Río Atoyac.

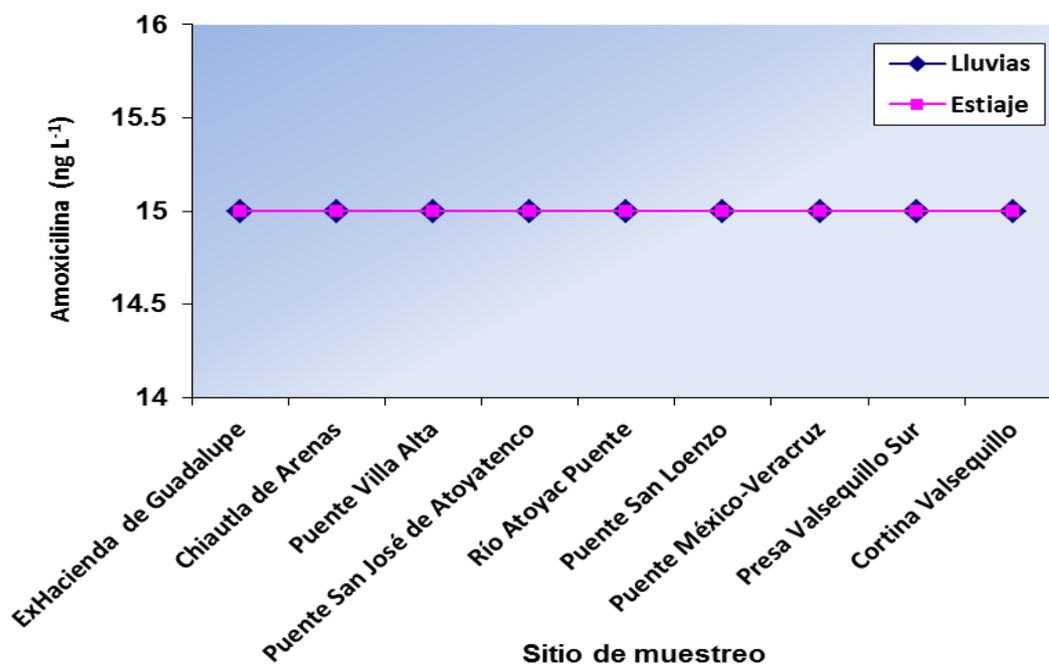
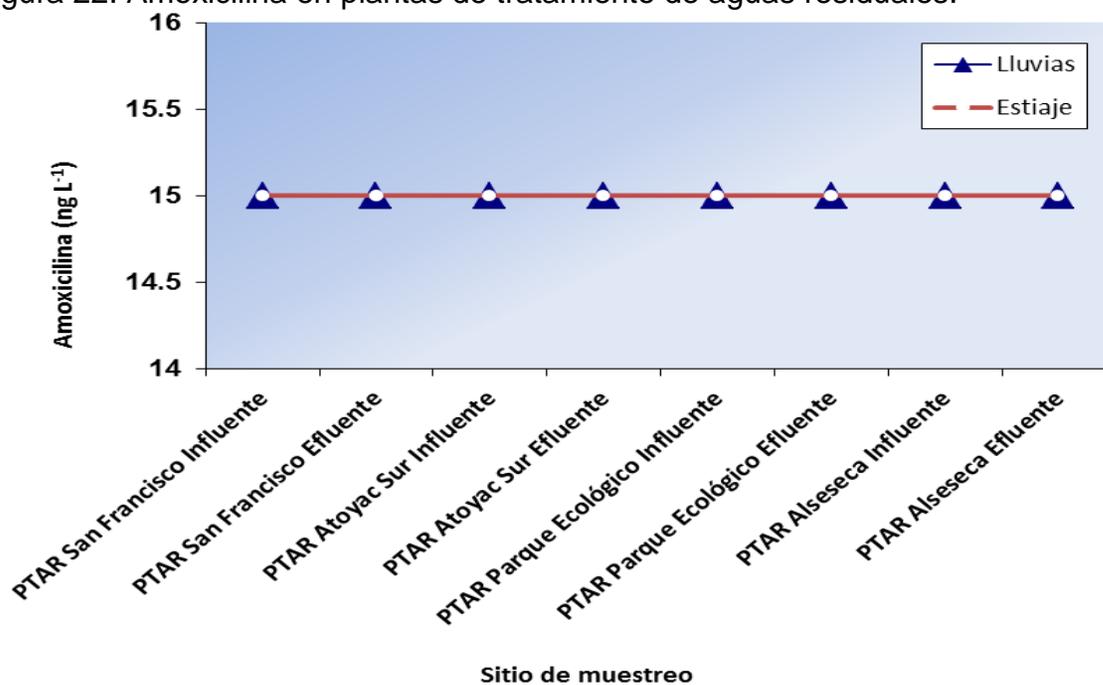


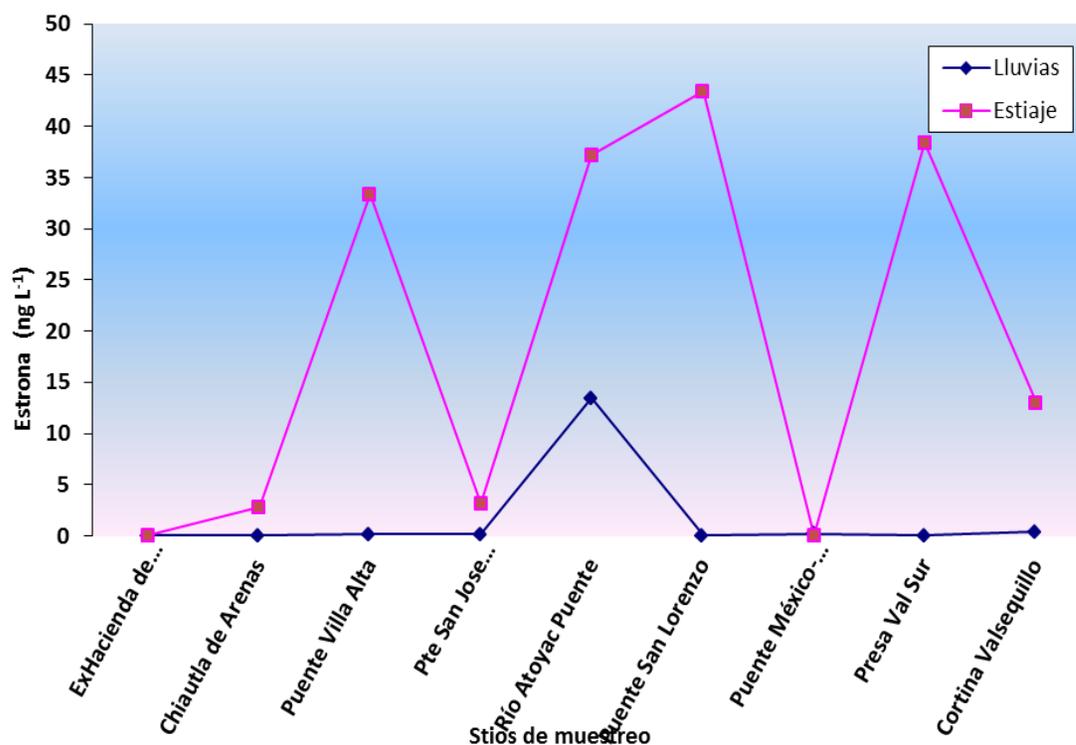
Figura 22. Amoxicilina en plantas de tratamiento de aguas residuales.



## 6.5.2 Hormonas.

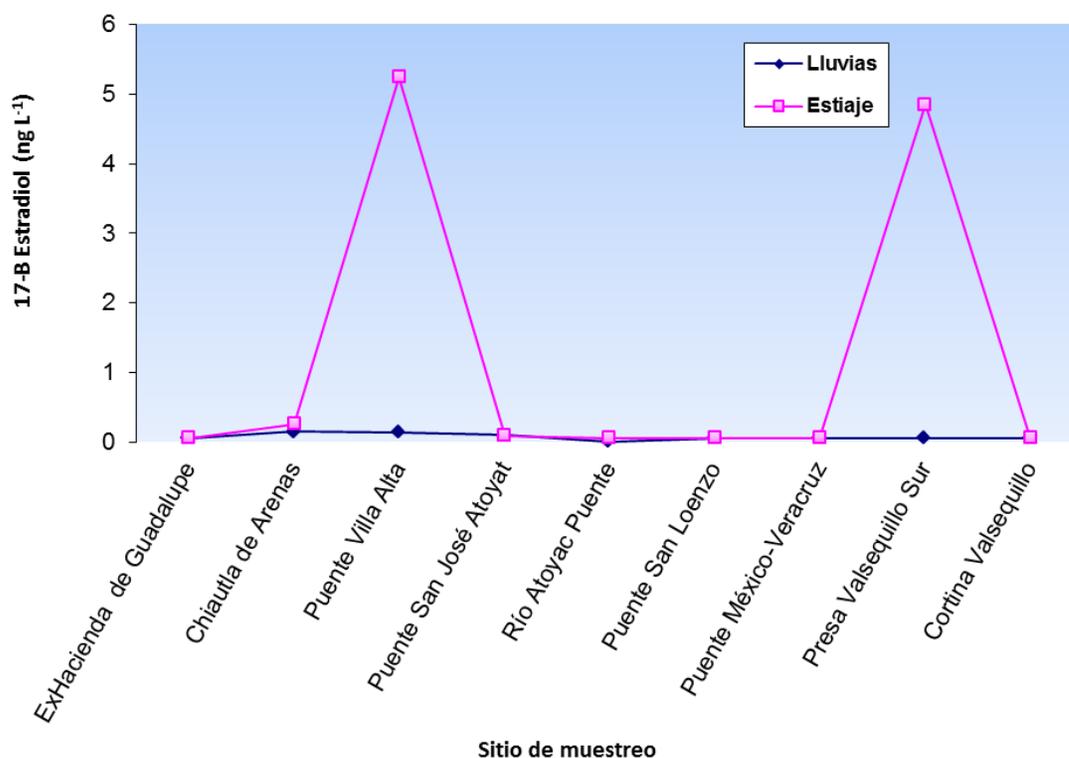
Con respecto a las hormonas estudiadas, se observó que la estrona (E1) se presentó a lo largo del Río Atoyac en un intervalo de concentraciones de 0.058 ng/L a 13.47 ng/L, teniendo su valor mínimo en el sitio 1 denominado Exhacienda de Guadaupe, y el mayor en punto 5 Río Atoyac Puente en época de lluvias, mientras que en estiaje la concentración varía desde 0.058 ng/L hasta 43.39 ng/L a lo largo del Río, presentado valores intermedios de 3, 13, 33 y 37 ng/L como se observa en la figura 23.

Figura 23. Gráfico de Estrona (E1) en el Río Atoyac.



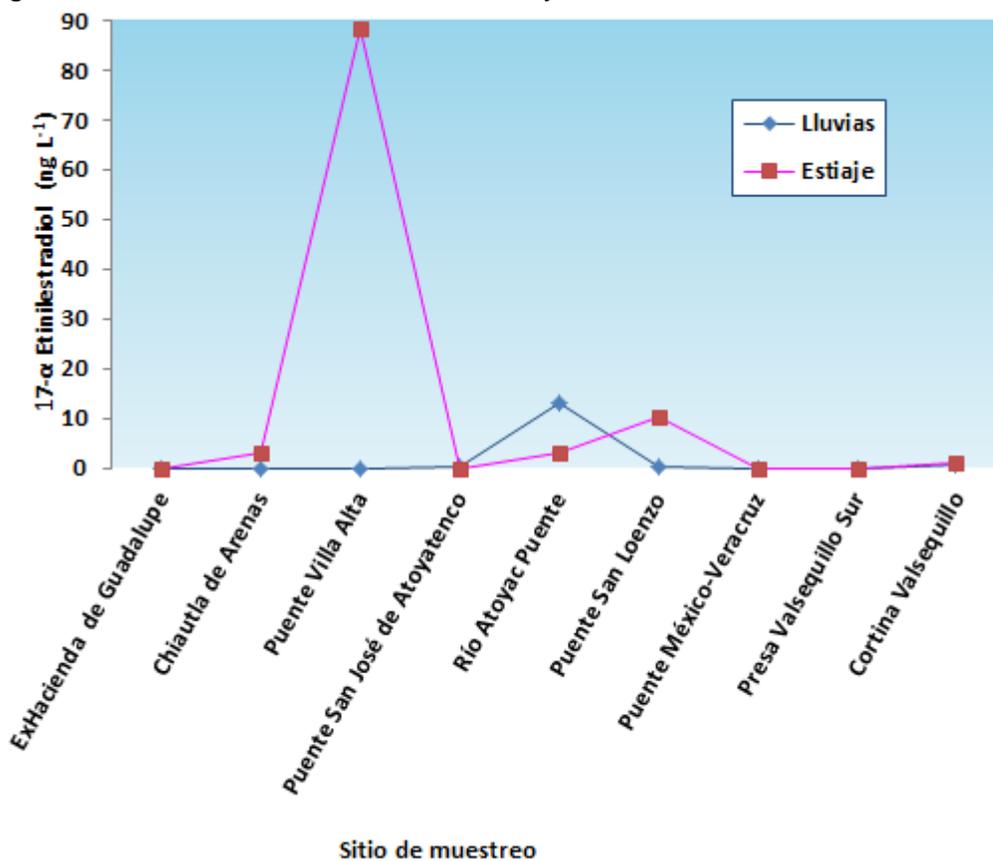
Para el caso de la hormona  $17\beta$ -estradiol se presentó en un rango de concentraciones de 0.01 ng L<sup>-1</sup> a 0.15 ng L<sup>-1</sup>, a lo largo del río en época de lluvias, mientras que en época de estiaje aumentó de 0.01 a 0.026 ng L<sup>-1</sup> como valor mínimo y se presentaron dos máximos de 4.85 y 5.24 ng L<sup>-1</sup> en Villalta y Presa Valsequillo Sur como se muestra en la figura 24.

Figura 24. 17 $\beta$ -estradiol en Río Atoyac.



En lo que respecta a la hormona 17 $\alpha$ -etinilestradiol (EE2) se presentó en un rango de 0.026 a 13.1 ng L<sup>-1</sup>, este último valor en el punto Río Atoyac Puente en la época de lluvias, mientras que en estiaje el rango es de 0.026 a 88.42 ng L<sup>-1</sup> como se muestra en la figura 25.

Figura 25. 17 $\alpha$ -etinilestradiol en Río Atoyac



En lo que respecta al comportamiento de las hormonas en las plantas de tratamiento tenemos el siguiente comportamiento en época de lluvias.

La estrona en la planta de San Francisco se encontró a una concentración de 0.57 ng L<sup>-1</sup> se mantuvo constante esta concentración tanto en el influente como en el efluente, no sucede lo mismo en la planta Atoyac Sur en donde se duplica la concentración del efluente con respecto a su influente al ir de 1.13 a 2.32.

En la planta de Parque Ecológico la concentración encontrada en el influente fue de 6.25 mientras que en el efluente fue de 0.79 ng L<sup>-1</sup> puede decirse que el tratamiento biológico abate la concentración 8.5 veces la concentración del influente de acuerdo a los resultados encontrados.

Mientras que en la Planta de Alseseca Sur la concentración presente en el influente es de 3.5 y aumenta a 10.6 ng L<sup>-1</sup>.

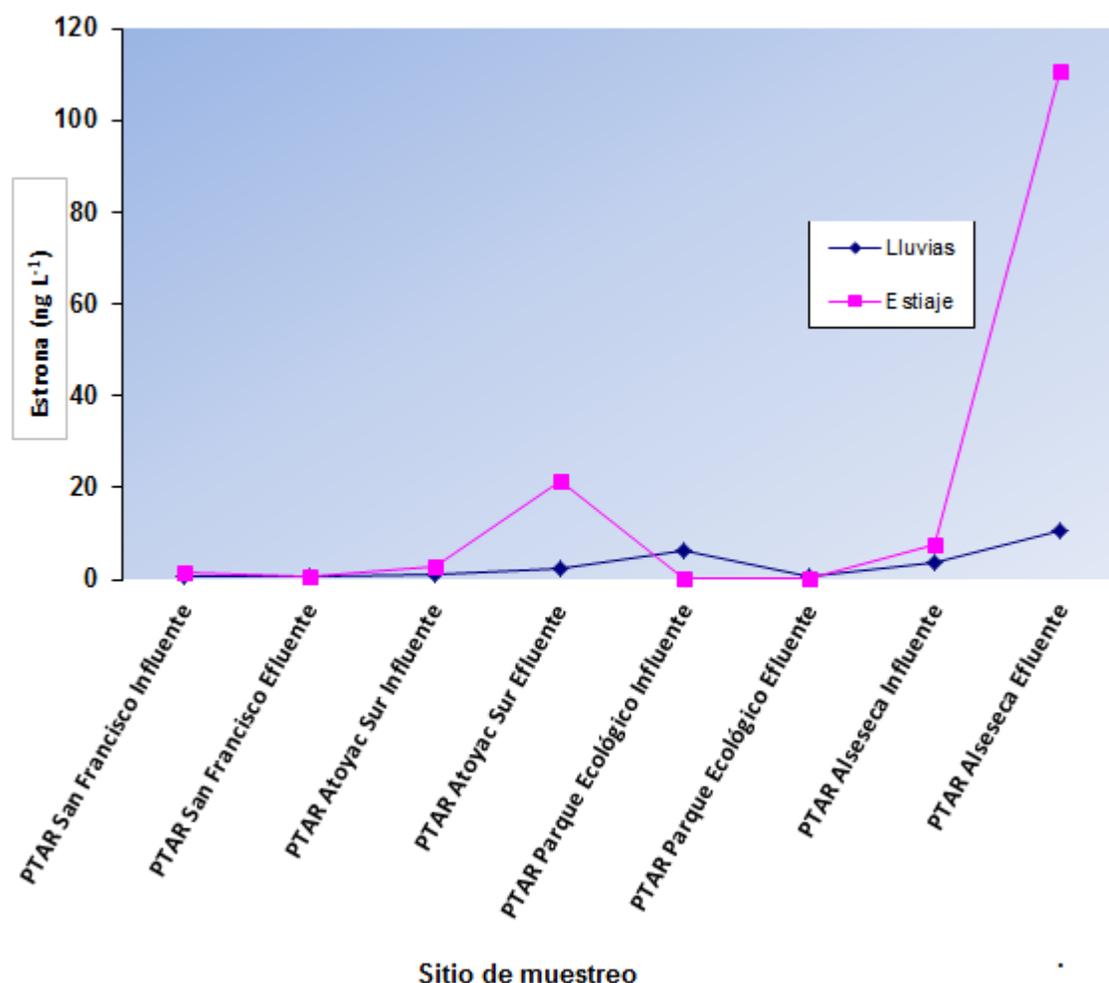
En época de estiaje en la Planta de San Francisco se observa una concentración en el influente de 1.4 y en efluente de 0.65 es decir que a diferencia de la época de lluvias la concentración

disminuye a más de la mitad de la concentración encontrada en el influente. En lo que respecta a la planta Atoyac Sur se encontró en el influente una concentración de  $2.72 \text{ ng L}^{-1}$  y en el efluente de  $21.8 \text{ ng L}^{-1}$  es decir que en aumenta.

En la planta de Parque Ecológico la concentración encontrada fue de  $0.58 \text{ ng L}^{-1}$  tanto en influente como en efluente como se muestra en la figura 24.

Es interesante observar que en la planta Alseseca la concentración encontrada en el influente es superior a la de las demás plantas con un valor de  $7.57 \text{ ng L}^{-1}$  y en el efluente es mucho mayor con una concentración de  $110 \text{ ng L}^{-1}$  como se muestra en la figura 26. Los resultados encontrados nos indican que las plantas de tratamiento primario no remueven este tipo de contaminantes como se ha publicado en las referencias internacionales.

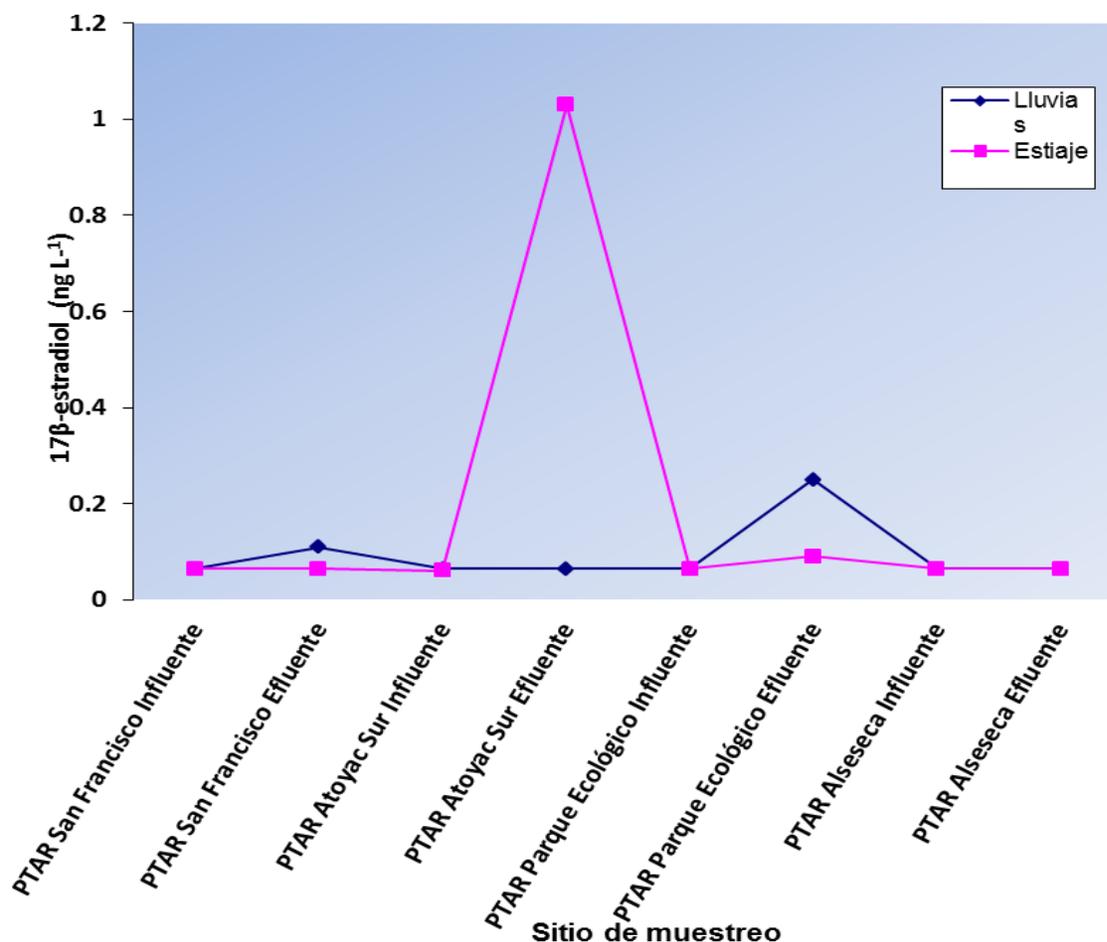
Figura 26. Estrona en plantas de tratamiento de agua residual.



En lo que respecta al  $17\beta$ -estradiol este se presentó en un rango de  $0.064$  a  $0.23 \text{ ng L}^{-1}$  en las plantas de tratamiento observándose dos máximos en los efluentes de la planta de San Francisco y en la planta Parque Ecológico con valores de  $0.11 \text{ ng L}^{-1}$  y  $0.25 \text{ ng L}^{-1}$  respectivamente en época de lluvias. Mientras que en época de estiaje la concentración encontrada tanto en influente

como en efluente fue constante en las plantas de San Francisco y en Alseseca con un valor de 0.064. Mientras que en la planta Atoyac Sur se presentó una concentración en influente de 0.06 ng L<sup>-1</sup> y en efluente de 1.03 ng L<sup>-1</sup>, valores muy similares se encontraron en la planta Parque ecológico con valores en el influente de 0.064 ng L<sup>-1</sup> y de 0.09 ng L<sup>-1</sup> en el efluente como se muestra en la figura 27.

Figura 27. 17β-estradiol en plantas de tratamiento de agua residual.



En lo que respecta al 17α-etinilestradiol, su comportamiento en época de lluvias en las plantas de tratamiento fue el siguiente:

En la planta San Francisco la concentración en el influente fue de 0.47 ng L<sup>-1</sup> mientras que en el efluente de 0.6 ng L<sup>-1</sup>. En la planta Atoyac Sur se encontró una concentración de 1.31 ng L<sup>-1</sup> en influente mientras que en efluente aumento hasta 1.98 ng L<sup>-1</sup>.

En la planta Parque Ecológico en influente la concentración presente fue de 1.45 ng L<sup>-1</sup> y en el efluente de 1.24 ng L<sup>-1</sup> es decir que sólo disminuyó 0.21 ng L<sup>-1</sup> del contaminante estudiado.

En la planta Alseseca en influente se encontró 2.54 ng L<sup>-1</sup> y en efluente de 6.93 ng L<sup>-1</sup>.

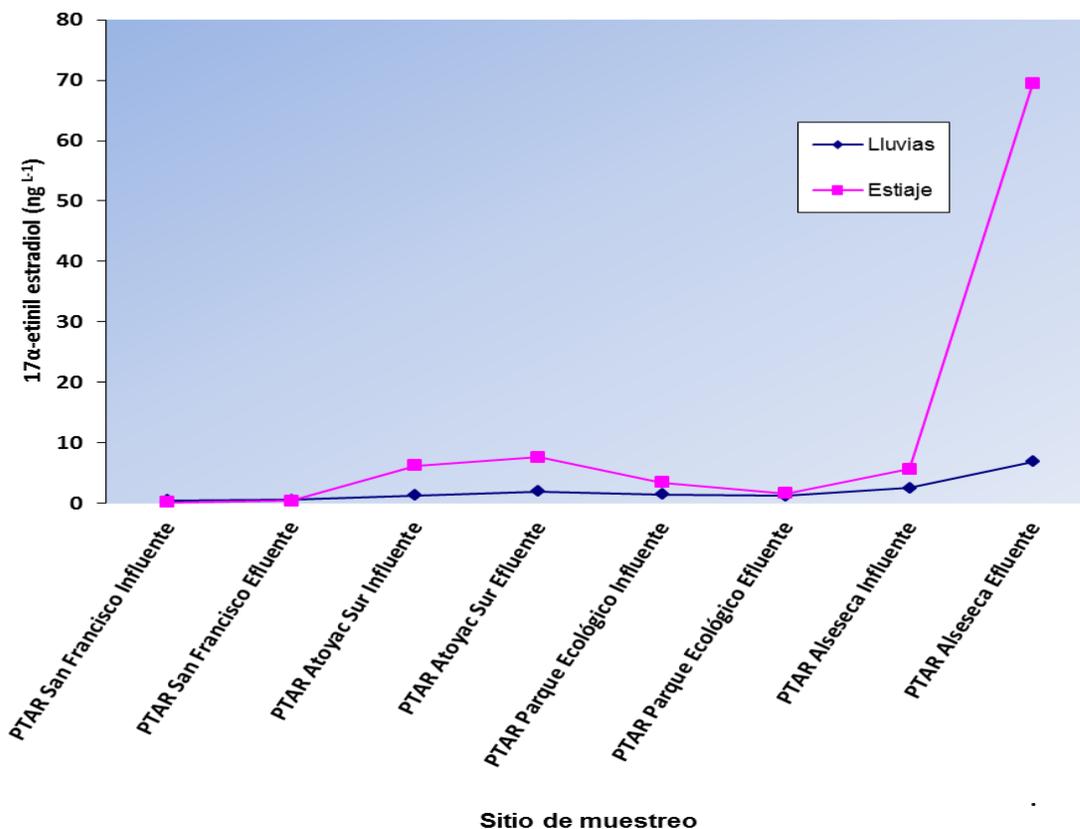
Para la época de estiaje los resultados fueron, en la planta San Francisco  $0.19\text{ng L}^{-1}$  en influente y de  $0.39\text{ng L}^{-1}$  en efluente.

En la planta Atoyac Sur la concentración en el influente fue de  $6.22\text{ng L}^{-1}$  y en el efluente de  $7.61\text{ng L}^{-1}$ .

En la planta Parque Ecológico el influente tuvo una concentración de  $3.44\text{ng L}^{-1}$  y en efluente disminuyó a  $1.68\text{ng L}^{-1}$ .

En la planta de Alseseca en el influente se presentó una concentración de  $5.65\text{ng L}^{-1}$  y en el efluente fue el valor más alto en todas las plantas con un valor de  $69.4\text{ng L}^{-1}$  como se muestra en la figura 28.

Figura 28.  $17\alpha$ -etinilestradiol en plantas de tratamiento de agua residual



La tabla 20 muestra concentraciones de hormonas en diferentes matrices reportadas en referencias internacionales.

Tabla 20 .Concentraciones de los estrógenos en diferentes matrices ambientales.

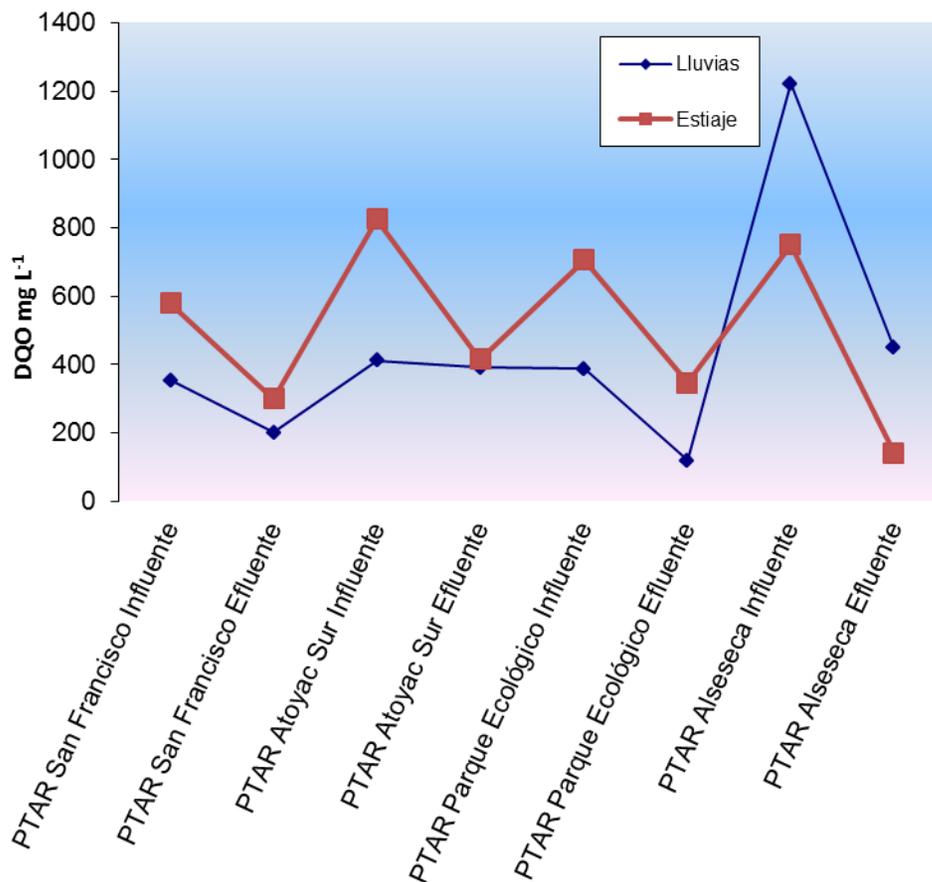
Matriz ambiental	Estrona E1 (ng L-1 )	17β-estradiol E2 (ng L-1 )	17α-etinilestradiol EE2 (ng L-1 )	Referencia
Aguas superficiales	<17	<8.8	<5.1	Bachmann et al.(2002) Ying et al. (2002)
Influente de agua residual	44-102	11-180	<120	Busch et al. (2002) Baronti et al. (2000) Solé et al. (2000)
Efluente de agua residual	<82	<21	<62	Bachmann et al. (2002)

Comparando los resultados obtenidos en Río Atoyac para estrona en época de lluvias podemos decir que la concentración se encuentra por debajo de  $17 \text{ ng L}^{-1}$  reportado a nivel internacional a lo largo de las estaciones muestreadas, sin embargo en época de estiaje la estrona presenta tres estaciones en un rango de  $33.3 \text{ ng L}^{-1}$  a  $43.39 \text{ ng L}^{-1}$  por encima de lo reportado a nivel internacional.

Con respecto a la 17β-estradiol el valor de referencia en agua superficial es menor a  $8.8 \text{ ng L}^{-1}$ , observamos que a lo largo del Río Atoyac tanto en época de lluvias como de estiaje esta concentración no se rebasa siendo el valor máximo de  $5.24 \text{ ng L}^{-1}$  en Villalta. Para el 17α-etinil estradiol el valor de comparación es de  $5.1 \text{ ng L}^{-1}$  y sólo en dos puntos se rebasa con mucho este límite por decirlo así y se presenta en el punto Río Atoyac Puente con un valor de  $13.01$  y en época de estiaje en Villalta con un valor de  $88 \text{ ng L}^{-1}$ .

En plantas de tratamiento se puede observar que los resultados obtenidos para estrona están dentro del rango de comparación encontrado en referencias internacionales de  $44-102 \text{ ng L}^{-1}$  en él influente, sólo rebasado en el efluente de la planta de Alseseca con un

valor de  $110\text{ng L}^{-1}$  comparado al de la referencia internacional de  $82\text{ng L}^{-1}$



### SITIO DE MUESTREO

Para el  $17\beta$ -estradiol los resultados en el influente y efluente de las plantas de tratamiento estudiadas están por debajo del rango de la referencia internacional de comparación.

En lo que respecta al  $17\alpha$ -etinil estradiol los resultados encontrados en los influentes de las PTAR están por debajo de la referencia internacional de  $120\text{ ng L}^{-1}$ , sin embargo para los efluentes de las plantas de tratamiento tres de ellas están por debajo de la referencia internacional de  $62\text{ ng L}^{-1}$  y sólo el efluente de la planta de Alseseca lo rebasa con un valor de  $69\text{ng L}^{-1}$ .

Otros resultados importantes son la publicación de dos artículos en congresos nacionales y uno en congreso internacional, se presenta a continuación las constancias de dichos artículos.



**La Academia Nacional de Ciencias Ambientales  
y La Universidad Autónoma Indígena de México**  
*Institución Intercultural del Estado de Sinaloa*



Otorga la presente

# CONSTANCIA

**A: Martha Avilés F., Manuel Sánchez Z., Luis A. González E.**

Por su participación con la ponencia: *"Desarrollo y validación de un método analítico para determinar diclofenaco en agua por cromatografía espectrometría de gases-masas (GC-MS) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)"*, en la modalidad oral, llevada a cabo en el XI Congreso Internacional y XVII Congreso Nacional de Ciencias Ambientales: *"Cuidar el planeta es tarea de todos"*, los días 5, 6 y 7 de junio, en el Mazatlán International Center.

Mazatlán, Sinaloa, México; a 7 de junio de 2012.



Dra. María Guadalupe Ibarra Ceceña  
Coordinadora General

XI CONGRESO INTERNACIONAL Y  
XVII CONGRESO NACIONAL DE  
CIENCIAS AMBIENTALES  
*"Cuidar el planeta es tarea de todos"*



Dr. Gustavo Enrique Rojo Martínez  
Coordinador del Comité Científico

### 7.3. Conclusiones.

El río Atoyac es un cuerpo de agua que en su nacimiento Exhacienda de Guadalupe no contiene contaminantes pero a medida que se van arrojando descargas domésticas y de pequeñas a grandes industrias del ramo textil y otras, éste se va contaminando a tal grado que no puede degradar la materia orgánica agregada que es lo que nos indican los datos de DBO5, DQO; SST ya que estos parámetros rebasan los límites permisibles de la NOM-001-SEMARNAT 1996, además de los resultados de color.

Las plantas de tratamiento no tienen la capacidad suficiente para disminuir la concentración de estos parámetros mediante los tratamientos con los que cuentan.

En lo que respecta a los contaminantes emergentes se observa que sólo se presentó en el punto San José Atoyatenco el ácido clofíbrico en época de lluvias a lo largo de Río Atoyac, mientras que el gemfibrozil tiene presencia en la presa de Valsequillo en época de estiaje y lluvias mientras que sólo en Villalta en época de estiaje, éste último resultado puede deberse a que existe cerca un hospital en esa comunidad, mientras que en la presa de Valsequillo no es de extrañar ya que todas las aguas residuales van a desembocar a este punto de muestreo.

En cuanto a amoxicilina este es un fármaco que no se detectó quizás por ser muy inestable a la luz y a los cambios de pH.

Sin embargo a pesar de haber encontrado fármacos en el Río Atoyac y que las concentraciones encontradas estén dentro del rango de las referencias internacionales es importante realizar un monitoreo más amplio para saber si se van incrementando con el tiempo o sólo se presentan en determinadas estaciones del año, ya que a la fecha no se tienen datos de estos contaminantes.

Por otra parte en lo que respecta a estos contaminantes emergentes en las plantas de tratamiento de igual forma están dentro de las referencias de comparación, pero será importante dar seguimiento para establecer su remoción mediante algún tratamiento de degradación.

Para el caso de los estrógenos también están dentro de los valores de referencia de comparación, en algunos casos estos se rebasaron en ciertos puntos de muestreo en el Río Atoyac y en las plantas de tratamiento (PTAR) y es importante contar con un programa de monitoreo para conocer si existe un patrón en el cual se presenten en mayor concentración y establecer métodos de eliminación con el fin de sanear el cuerpo de agua en el caso del Río y para las plantas de tratamiento conocer hasta que punto son capaces de disminuir este tipo de contaminantes y posteriormente establecer métodos de degradación de los mismos.

## 8. Bibliografía.

Barceló, D.; Petrovic, M. Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste. Occurrence, Analysis and Effects. The Handbook of Environmental Chemistry. Vol.5.S1, 2006.

Barceló, D.; López de Alda. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Fundación Nueva Cultura del Agua.

Petrovic, M.; Hernando, M.D.; Silva Díaz-Cruz, M.; Barceló, D. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. Journal of Chromatography A. 1067 (2005). 1-14.

Pérez, S., Aga, S. D., 2005. Recent advances in the simple preparation, liquid chromatography tandem mass spectrometric analysis and environmental fate of microcystins in water. Analytical Chemistry 24: 658-670.

Damstra T, Barlow S, Kavlock R y Van Der Kraak G, 2005. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors, An assessment prepared by an expert group on behalf of the World Health Organization, the International Labour Organisation, and the United Nations Environment Programme, International Programme on Chemical Safety.

Daughton C. y Ternes A., 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? Environ. Health Perspect. 107: 907-937.  
Dodds E y Lawson W, 1938. Molecular structure in relation to estrogenic activity compounds without a phenanthrene nucleus. Proc., Royal Society London B, 125: 222-232.

Fent K, Weston AA, Caminada D (2006) Aquatic Toxicol. 76, 122.

Guía de Validación de Métodos Analíticos; editado por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México; A.C.; registro ante la DGP F-032; edición 2002.

Hoeger B, Kollner B, Dietrich D y Hitzfeld B, 2005. Water-borne diclofenac affects kidney and gill integrity and selected immune parameters in brown trout (*Salmo trutta f. fario*). Aquat Toxicol 75:53-64.

Janssens I, Tanghe T, Verstraete W, 1997. Development of a risk assessment approach for evaluating wastewater reuse standards for agriculture. Water Sci. Technol. 35: 12.

Knepper T, Sacher F, Lange F, Brauch H, Karrenbrock F, Roeden O, Linder K, 1999.

Detection of polar organic substances relevant for drinking water. Waste Management 19 (2): 77-99.

Krishnan A, Starhis P, Permuth S, Tokes L y Feldman D.,1993. Bisphenol A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flask during autoclaving. Endocrine 132: 2279-2286.

McKinney J y Waller C, 1994. Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. Env. Health Perspective 102: 290-297. Damstra T, Barlow S, Kavlock R y Van Der Kraak G, 2005. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors, An assessment prepared by an expert group on behalf of the World Health Organization, the International Labour Organisation, and the United Nations Environment Programme, International Programme on Chemical Safety.

Petrovic M, Gonzalez S, Barcelo D (2003) TRAC-Trends Anal. Chem. 22, 685

NOM 059-SSA1-2006 Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica Dedicadas a la Fabricación de Medicamentos.

Sohoni P y Sumpter J, 1998. Several environmental estrogen are also endrogens. J. Endocrinol. 158: 327-339.

Witte W, 1998. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. Science, 279: 966-997.

Sistema Municipal de Información Ambiental Puebla octubre 2009.

Magaña, Zamora J.D; Sainz, Zamora R. O.; Castro, Ramírez J.C. .Determinación de los estimadores de rentabilidad socioeconómica del programa de rescate ecológico de los ríos Atoyac, Alseseca y la Presa de Valsequillo.Informe final por suspensión del convenio de colaboración específico número SEDURBECOP / IMT A / DP076 Subcoordinación de Planeación, Economía y Finanzas del Agua. Coordinación de Desarrollo Profesional.

Saldaña, Fabela P. Caracterización de fuentes puntuales de contaminación en el río Atoyac, México. XXX Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental Noviembre 2006.

Guerrero, Gárate N.S. Tesis de Maestría en Ciencias con mención en Minería y Medio Ambiente. Metodología de evaluación y remoción de Xantatos en procesos de flotación. Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ingeniería Geológica, Miner y Metalurgica. (2010) Lima, Peru.

Guerrero, Gárate N.S. Estudio de Surfactantes y su implicancia en el proceso de obtención de agua potable en la Planta La Atareja. XXVIII. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México, octubre 2002.

Tavera, F.J., Escudero, R., Barrera G. Identificación de los productos de descomposición del ión Xantato en medios acuosos mediante UV-visible. 4º Foro de Ingeniería e Investigación de Materiales, vol. 4 (2007), 382-387.

Bellido, D., 2006. Metabolismos de fármacos y sus implicaciones clínicas. Manual de Nutrición y metabolismo. Cap 10. 1 ed. Sep. 625p.

Farre, M., Petrovic, M., Barcelo, D. (2007). Recently developed GC/MS and LC/MS methods for determining NSAIDs in water samples. Analytical and Bionalytical Chemistry. 387, 1203-1214.

Carballa, M., Omil, F., Lema, J.M., Lomopart, M., Garcia, C., Rodriguez, I., Gomez, M., Ternes, T., 2005. Behaviour of pharmaceutical and personal care products in a sewage treatment plant of northwest Spain. Water Science and technology. 8, 29-35.

Gross, M., Petrovic, M., Barcelo, D. (2007). Wastewater treatment plant as a pathway for aquatic contamination by pharmaceuticals in the Ebro River basin (Northeast Spain). Environmental toxicology and chemistry. 26, 1553-1562.

Patterson, D.B., Brumley W.C. Kellieher, V., Ferguson, P.L. Method to determine PPCPs in the Environment: Application of U.S. EPA Methods to the Determination of Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment. Determination of Clofibric Acid in Sewage Effluent by GC/MS. Amer. Lab. 34, 20-28 (2000).

Drewes, J.E., Heberer, T., Rauch, T., Reddersen, K., 2003. Fate on pharmaceutical during Ground Water Recharge. Ground Water Monitoring and Remediation. 23, 64-72.

Flores, J., Media, V.A., Armijo, J.A., 2008. Metabolismo de los fármacos. Farmacología humana. 6 Ed. Masson Barcelona. 1540 p.

Gibson., R.et.al. 2007. Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr. A 1169, 31-39.

Johnson, P.D., Rimmer, D.A., Brown, R.H. Adaptation and application of a multiresidue method for the determination of a range of pesticides, including phenoxy acid herbicides in vegetation, based on high resolution gel permeation chromatographic clean-up gas chromatographic analysis with mass-selective detection. J. Chromatogr. A 1997; 765: 245-250 and Johnson, P.D., Rimmer, D. A., Brown, R.H. Determination of phenoxy acid herbicides in vegetation, utilizing high resolution gel permeation chromatographic clean-up methylation with trimethylsilyldiazomethane prior to gas chromatographic analysis with mass-selective detection. J. Chromatogr. A 1996; 755: 3-11.

Pedersen, J., Soliman, M., Suffet, M. (2005). Human pharmaceuticals, hormones, and personal care products ingredients in runoff from agricultural fields irrigated with

treated wastewater. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53, 1625-1632.

Quintana, B., Reemtsma, T. (2004). Sensitive determination of acidic drugs and triclosan in

surface and wastewater by ion –pair reverse-phase liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*. 18, 765-774.

Quintana, B., Rodill, R., Reemtsma, T. (2004). Suitability of hollow fiber liquid-phase micro-extraction for the determination of acidic pharmaceuticals in wastewater by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry without matrix effects. *Journal of Chromatography A*. 1061, 19-26.

Radjenovic, J., Petrovic, M., Barcelo, D. (2007a). Analysis of pharmaceuticals in wastewater and removal using a membrane bioreactor. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1365:1377.

Radjenovic, J., Petrovic, M., Barceló, D. Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment. *Trends in analytical Chemistry*, Vol. 26, No. 11, 2007.

Redersen, K., Heberer, T. Multi-compound methods for the detection of pharmaceutical residues in various waters applying solid phase extraction (SPE) and gas chromatography with mass spectrometric (GC-MS) detection. *J. Sep. Sci.* 2003, 26, 1443-1450.

Sanderson, H., Johnson, D.J., Wilson, C.J., Brain, R.A., Solomon, K.R., 2003. Probabilistic Hazard assessment of environmentally occurring pharmaceutical toxicity to fish, daphnids and algae by ECOSAR screening. *Toxicology Letters* 144, 383-395.

Siemens, J., Huschek, G., Siebe, C., Kaupenjohann, M., 2008. Concentration and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system. Mexico City-Mezquital valley. *Water Research*. 42, 2124-2134.

Yi Hua, W., Bennett, E., Maio, X., Metcalfe, C., Letcher, R. (2006). Seasonality effects on pharmaceuticals and S-Triazine herbicides in wastewater effluent and surface water from the Canadian side of the upper Detroit River. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25, 2356-2365.

Zwiener C. (2007). Occurrence and analysis of pharmaceuticals and their transformation products in drinking water treatment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 387, 1159-1162.