

# **PROYECTO “MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA”**

**CLAVE: TC1602.1**

## **Informe Final**

COORDINACIÓN: TRATAMIENTO Y CALIDAD DEL AGUA

SUBCOORDINACIÓN: CALIDAD DEL AGUA

MARTHA AVILÉS FLORES  
MANUEL SÁNCHEZ ZARZA  
JACOBO TAPIA ACOSTA

México, 2016

## RESUMEN EJECUTIVO

En México los contaminantes emergentes son compuestos no regulados, que pueden ser candidatos a estarlo en el futuro, dependiendo de la investigación sobre sus potenciales efectos tóxicos y de los datos disponibles que puedan demostrar su existencia. La presencia y el destino de los compuestos farmacéuticos activos en el ambiente acuático constituye uno de los eventos emergentes en la química ambiental.

Estos compuestos generan efectos tóxicos crónicos tales como: estrogénicos, genotóxicos, cancerígenos y teratogénicos, así como resistencia antibiótica. Además, se detectan medicamentos y se cuantifican indicadores de contaminación en las corrientes de aguas residuales, ríos, aguas superficiales y subterráneas, donde descargan los efluentes, tratados o sin tratar.

Los contaminantes emergentes, que probablemente suscitan mayor preocupación y estudio en los últimos años son los fármacos y en particular, los antibióticos. De acuerdo a las propiedades físico-químicas de los fármacos, sus metabolitos, 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.

El consumo de fármacos en muchos países se cifra en toneladas por año y los más usados son los antibióticos, se emplean en cantidades similares a la de los pesticidas. En agua potable se ha identificado la presencia de ibuprofeno, diclofenaco, carbamacepina y ácido clofíbrico.

El objetivo del proyecto “Métodos analíticos para determinación de compuestos emergentes en agua” con duración de 3 años (TC1402.1, C1502.1 y TC1602.1) era desarrollar metodologías para determinar 50 compuestos emergentes pero únicamente se validaron métodos para 25 fármacos; debido a que el aire acondicionado del área de cromatografía de líquidos-masas triple cuadrupolo se descompuso y éste es indispensable para equilibrar la temperatura a 20°C debido a que el calor generado por el detector de masas es aproximadamente 35°C. A esta temperatura se produce la degradación de los contaminantes emergentes en estudio sin poderlos cuantificar.

El desarrollo y validación de metodologías analíticas implicó extracción en fase sólida (SPE) que facilita el aislamiento de los compuestos desde la matriz de la muestra y su concentración y dilución en un disolvente orgánico. Los métodos desarrollados se aplicaron al análisis de muestras reales de agua de pozo de los estados de Morelos, Hidalgo, Zacatecas, agua de río de Chetumal, Q. Roo y efluente de dos plantas de tratamiento de agua residual del estado de Morelos y Distrito Federal. Los emergentes validados en la tercera etapa (TC1602.1) fueron diclofenaco, naproxeno, indometacina, ácido clofíbrico, sulfadiazina, sulfametazina, sulfamerazona, estrona, estradiol y pravastatina. Los porcentajes de recuperación fueron de 70 a 109%. Los métodos analíticos son aplicables para la determinación cuantitativa de distintas matrices de agua en México.

# ÍNDICE

	Página
<b>Introducción</b>	1
<b>Objetivo</b>	3
Metodología	3
Reactivos y materiales	3
Método analítico	4
Validación de métodos	4
Extracción de contaminantes	5
Desarrollo implementación y optimización de fármacos tercera parte	6
Aplicación de métodos	7
<b>Resultados</b>	8
Desarrollo método analítico	8
Validación de metodologías	9
Linealidad, Exactitud, Precisión, Límite de detección, Límite de cuantificación	9
Extracción en fase sólida	11
Aplicabilidad método con muestras reales	12
Publicación de dos artículos	14
Conclusiones	15
Referencias	16

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla Núm.</b>	<b>Descripción tabla</b>	<b>Página Núm.</b>
Tabla 1	Fármacos en agua potable, superficial y residual	2
Tabla 2	Compuestos emergentes tercera etapa	6
Tabla 3	Condiciones cromatográficas	7
Tabla 4	Parámetros optimizados de diez compuestos emergentes	9
Tabla 5	Validación de fármacos	10
Tabla 6	Fármacos identificados con agua distintas matrices	13

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura Núm.</b>	<b>Descripción figuras</b>	<b>Página Núm.</b>
Figura 1	Parámetros de validación de método analítico	5
Figura 2	Equipo de extracción	6
Figura 3	Cartuchos de carbono 18	6
Figura 4	Cromatógrafo de líquidos-detector de masas triple cuadrupolo	7
Figura 5	Cromatograma compuestos emergentes	10
Figura 6	Etapas método extracción	11
Figura 7	Recobro extracción de diez fármacos	12
Figura 8	Diagrama muestras reales de fármacos	13
Figura 9	Diagrama muestras adicionadas de contaminantes emergentes	14

## Introducción

Los fármacos, sus metabolitos, productos de degradación y características de los suelos, pueden contaminar los acuíferos o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse afectando al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica (Barceló y López, 2012). Estos compuestos corresponden, en la mayoría de los casos, a contaminantes no regulados, que son candidatos a regulación futura, dependiendo de investigaciones sobre sus efectos potenciales en la salud y los datos de monitoreo con respecto a su incidencia (Becerril, 2012).

El consumo de fármacos en muchos países se cifra en toneladas por año, y muchos de los más usados, entre ellos los antibióticos, se emplean en cantidades similares a los pesticidas (Jones et al, 2001).

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 et al, 2006).

Los disruptores endocrinos presentan en común la propiedad de alterar el equilibrio hormonal del sistema endocrino de los organismos. Esta alteración puede generarse mediante bloqueo de la acción hormonal por competición con el receptor hormonal, suplantación o mimesis de las hormonas endógenas, o mediante aumento o disminución de los niveles de actividad hormonal.

El desequilibrio del sistema endocrino puede tener consecuencias neurológicas o reproductivas en los seres vivos, ya que las hormonas están implicadas en el control de la reproducción, la diferenciación sexual, la coordinación de órganos, la organización del cerebro, y el metabolismo, entre otras, representando un especial peligro durante la fase de gestación y en las etapas iniciales de la vida (Márquez y Nuñez, 2012). En general, las formas de exposición y las vías de entrada de los contaminantes hormonales son muy diversas, pero debido a su acumulación en la cadena alimentaria, la vía digestiva es la principal ruta de exposición para el hombre.

La UNODC (United Nation Office of Drugs and Crime) en su Informe Mundial de Drogas de 2012, ha reportado que en 2010, alrededor de 230 millones de personas por todo el mundo (5% de la población comprendida entre los 15 y 64 años de edad) consumen drogas de forma ilícita al menos una vez en 2010, lo que genera grandes vertimientos a las aguas residuales por medio de las heces y orina de este tipo de contaminantes (Iagua, 2013).

La presencia de fármacos fue reportada por primera vez en el año de 1976 en Estados Unidos, en donde se detectó ácido clofíbrico en un intervalo de concentración de 0.8 a 2 µg/L en agua residual tratada (Garrison *et al.*, 1976). Subsecuentemente, fueron detectados en ríos del Reino Unido en 1981, en donde las concentraciones se encontraron por arriba de 1µg/L (Richardson y Bowron, 1985). El ibuprofeno y el naproxeno fueron identificados en aguas residuales en Canadá (Rogers, 1996). Sin embargo, los fármacos han sido detectados en el ambiente con mayor frecuencia a partir de 1990. En la Tabla 1 se presentan estudios recientes en materia de fármacos en agua residual, agua superficial agua potable en diversos países.

Tabla 1 Fármacos en agua potable, superficial y residual.

País	Tipo de Agua	Contaminante emergente	Concentración (ng L <sup>-1</sup> )	Referencia
Alemania	Agua Superficial	Gemfibrozil,	52	Ternes, 1998
		Ácido clofíbrico,	66	
	Agua de grifo	Diclofenaco,	150	Heberer, 1998 y 2002
		Ibuprofeno,	70	
		Ácido salicílico	25	
Brasil	Agua residual	Ácido clofíbrico	165-270	Daughton y Ternes, 1999
		Diclofenaco,	800	
		Ketoprofeno,	500	
		Naproxeno	600	
Canadá	Agua Superficial	Ácido clofíbrico,	15	Metcalf <i>et al.</i> , 2003, Miao <i>et al.</i> , 2002; Hua <i>et al.</i> , 2004
		Diclofenaco,	26	
		Ibuprofeno,	64	
		Ketoprofeno,	12	
		Naproxeno	94	
España	Agua residual	Ibuprofeno,	2600 – 5700	Carballa <i>et al.</i> , 2004
		Naproxeno	1800 – 4600	
		Estradiol	55 – 101	Hernando <i>et al.</i> ,2004
		Estrona	70 - 95	
Estados Unidos	Agua potable	Ibuprofeno	1000	Verliefde, <i>et al.</i> ,2006
		Estradiol	2.3	
		Estrona	21.7	
Finlandia	Agua residual	Ibuprofeno	13100	Lindqvist <i>et al.</i> ,2005
		Naproxeno,	4900	
		Ketoprofeno	2000	

Inglaterra	Agua de río	Estradiol Estrona	50 80	Desbrow <i>et al.</i> ,1998
Holanda	Agua potable	Ibuprofeno	23	Verliefde, <i>et al.</i> ,2006
México	Humedal Xochimilco	Estradiol Estrona	1.68 10.38	Díaz <i>et al.</i> , 2013

---

En México no se cuenta con suficiente información de la presencia y destino de fármacos presentes en el medio ambiente, específicamente en fuentes de abastecimiento, motivo por el cual es primordial desarrollar metodologías de análisis para la identificación y cuantificación de compuestos emergentes en concentraciones traza ( $\text{ng L}^{-1}$ ).

En este proyecto se implementa, desarrolla y valida métodos analíticos para identificar y cuantificar contaminantes emergentes en agua por cromatografía líquida – detector de masas triple cuadrupolo, comprobando su aplicabilidad con muestras de agua de pozo, agua de río y agua residual de una planta de tratamiento de distintos estados del país.

## Objetivo

Desarrollo e implementación de metodologías para la identificación y cuantificación de compuestos emergentes en aguas subterráneas y superficiales. Parte 3.

## Metodología

### Reactivos y materiales

Estándares diclofenaco, naproxeno, indometacina, ácido clofibrico, sulfadiazina, sulfametazina, sulfamerazona, estrona, estradiol y pravastatina grado USP marca Sigma, Metanol, Acetonitrilo y Agua grado Masas y grado HPLC, Cartuchos/Precolumna (C18) HLB Oasis de 3mL y 60 mg y Bond Elut de 3 mL. Fase móvil: Formato amonio 5 milimolar : Acetonitrilo-metanol 60:40. La determinación se desarrolló en un Cromatógrafo de Líquidos-Espectrometría de masas triple cuadrupolo (LC-MS) marca Shimadzu modelo 8040.

## Contaminantes emergentes estudiados

La selección del método depende de las propiedades físicas y químicas del compuesto, el análisis por cromatografía de líquidos-masas (LC-MS) es adecuado para la cuantificación de contaminantes que son más polares y muy solubles en agua.

Los compuestos se seleccionaron de acuerdo con los siguientes criterios: presencia en agua superficial y agua residual, éstos han sido reportados por varios autores en concentraciones de  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , sin embargo estas concentraciones son suficientes para causar efectos adversos en los ecosistemas acuáticos a nivel reproductivo.

## Método analítico

La implementación del método analítico es experimental, la elección de la fase móvil y los tiempos de retención están dados por las condiciones particulares de cada uno de los compuestos a separar.

La detección de contaminantes emergentes se realizó por medio de un análisis cualitativo y consiste en detectar la presencia de los fármacos en base al tiempo de retención, la masa del ión del analito (ión molecular) y las masas de los iones producto.

El tiempo de retención corresponde al tiempo transcurrido desde que se inyecta la muestra en el cromatógrafo, hasta la detección del máximo del pico. Tanto el tiempo de retención como los iones característicos son únicos para cada compuesto; cada determinación se realizó con múltiple reacción monitoreada (MRM) en modo positivo y negativo.

## Validación de metodologías

El método fue probado para evaluar linealidad, exactitud, precisión y límites de cuantificación de contaminantes emergentes: diclofenaco, naproxeno, indometacina, ácido clofibrico, sulfadiazina, sulfametazina, sulfamerazona, estrona, estradiol y pravastatina. Las concentraciones del método fueron 10, 20, 30, 40, 60, 80 y  $100 \text{ ng mL}^{-1}$ . (Figura 1)



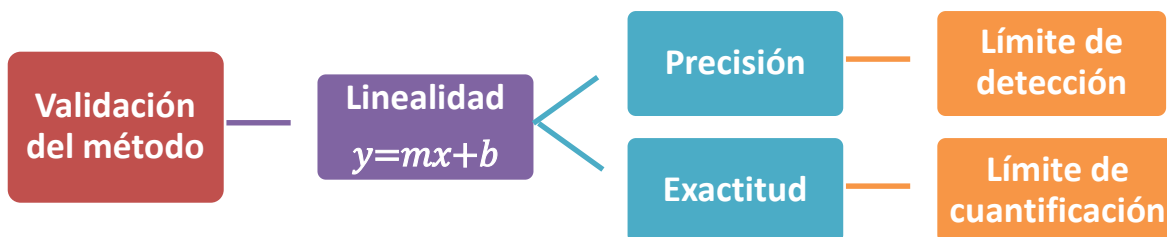


Figura 1. Parámetros de validación de método analítico.

La recuperación de los analitos de interés es uno de los pasos más importantes en la validación del método, debido a que se refiere a la eficiencia de todo el proceso analítico desarrollado y se reporta como porcentaje de analito obtenido después del proceso de extracción.

Los límites de detección y cuantificación son parámetros que determinan la capacidad de análisis del método analítico. El límite de detección es la mínima concentración de analito en una muestra que se puede detectar en un proceso de análisis con un nivel aceptable de confianza, pero no necesariamente cuantificada (Katerman, 1981; Long y Winefordner, 1983; Shah *et al.*, 1992). El límite de cuantificación es la concentración mínima de analito que puede determinar el equipo. (cromatógrafo de líquidos –detector de masas triple cuadrupolo)

#### Extracción de contaminantes

En la eficiencia de extracción de analitos polares o semipolares influyen varios factores, los más importantes son la capacidad del absorbente y la retención de los analitos. La selección de cartucho C18 depende de las propiedades físicas y químicas del compuesto. Los adsorbentes de balance hidrofílico – lipofílico, Oasis® HLB tienen un relleno de fase reversa, adecuado para la extracción en fase sólida de una amplia gama de compuestos, su composición consiste en una combinación de dos monómeros: N-vinilpirrolidona (hidrofílica) y divinilbenceno (lipofílica). Esta combinación proporciona una capacidad de retención superior en fase reversa, con una capacidad especial para optimizar la retención de los analitos polares.

La determinación de los fármacos se realizó en un equipo de extracción (Figura 2) en base al método extracción en fase sólida (SPE) que consiste en hacer pasar la muestra a través de un cartucho empacado con un adsorbente sólido (Figura 3), de forma que los analitos quedan retenidos en él y puedan eluirse con un disolvente apropiado.



Figura 2 Equipo de extracción



Figura 3 Cartuchos Carbono C18

### Desarrollo, implementación y optimización de fármacos tercera parte

Los métodos se inician con la detección de contaminantes emergentes (Tabla 2) mediante un análisis cualitativo el cual consiste en identificar la presencia de los fármacos del tiempo e retención y los iones característicos (ión molecular e iones producto).

Cada determinación se realizó con múltiple reacción monitoreada (MRM) en modo positivo en cromatógrafo de líquidos Nexera con detector de masas triple cuadrupolo marca Shimadzu modelo 8340 (figura 4), este equipo consta tres cuadrupolos colocados en serie; el primero se utiliza para escanear un rango de m/z preseleccionado y aislar un ion en particular. El segundo conocido como celda de colisión enfoca y trasmite los iones mientras se aplica gas argón para provocar la fragmentación por colisión inducida del ion precursor seleccionado; el tercero sirve para analizar los fragmentos generados en la celda de colisión y eliminar los fragmentos neutros.

Tabla 2 Compuestos emergentes tercera etapa

Fármacos ácidos	Naproxeno, Diclofenaco, Indometacina, Acido Clofibrico, Sulfadiazina, Sulfamerazina, Sulfametazina
Fármacos neutros	Estrona, Estradiol, Pravastatina

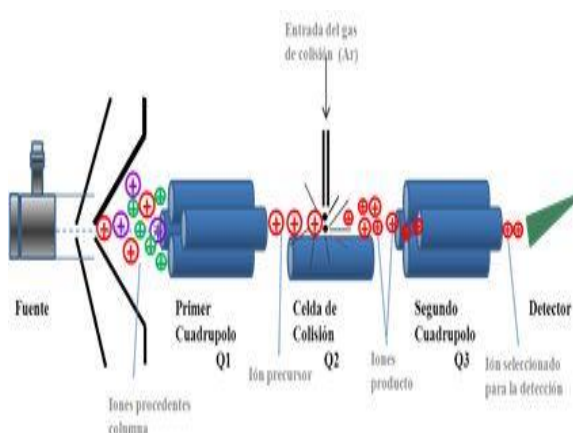


Figura 4 Cromatógrafo de líquidos-detector de masas triple cuadrupolo

Los métodos se realizaron con las condiciones instrumentales detalladas en la tabla 3.

Tabla 3 Condiciones cromatográficas

Condiciones instrumentales	
Detector masas	Triple Cuadrupolo
Cromatógrafo	UHPLC Nexera
Elución	Gradiente
Flujo	0.4 mL min <sup>-1</sup>
Volumen inyección	15 µL
Columnas	Raptor Biphenil C18 2.7 µm, 100 X 2.8mm Gemini C18 3µm, 50 X 2mm
Temperatura	40°C
Gas nebulización	2.0 L min <sup>-1</sup>
Drying gas	10 L min <sup>-1</sup>
Interface	ESI

### Aplicación de método a muestras reales.

Para calibrar el método analítico se colectaron y analizaron muestras de agua de pozo de los estados de: Morelos, Hidalgo y Zacatecas, agua de río de Chetumal Quintana Roo y efluente de plantas de tratamiento de agua residual de Morelos y centro comercial D.F., con el fin de cuantificar la presencia de contaminantes emergentes.

## **Publicación artículos.**

Con los resultados obtenidos del proyecto de compuestos emergentes se publicaron dos artículos de divulgación en congresos Internacionales y Nacionales

## **Resultados**

Cabe hacer hincapié que el proyecto TC1602.1 tercera etapa no se terminó y no se pudieron cumplir los objetivos planteados a causa de que desde el mes de mayo se descompuso el aire acondicionado del área de cromatografía de líquidos-masas y éste es indispensable para equilibrar la temperatura a 20°C, ya que el calor que genera el detector de masas genera es de aproximadamente 35°C. A esta temperatura se produce la degradación de los compuestos emergentes en estudio sin poderlos cuantificar.

Se validaron 10 métodos para contaminantes de los 45 fármacos establecidos en el objetivo del proyecto TC1602.1.

Los diez compuestos emergentes validados fueron: antibióticos, antiinflamatorios, antilipémicos, estatina y hormonas seleccionados pertenecen a diferentes grupos químicos, éstos han sido reportados en altas concentraciones en agua de pozo, agua de río y agua residual; además tienen el potencial de llegar a las fuentes de abastecimiento, representando un riesgo a la salud humana y al ambiente.

## **Desarrollo método analítico**

El método se inició con la identificación de los compuestos mediante un análisis cualitativo el cual consiste en identificar la presencia de los fármacos por medio del tiempo de retención y los iones característicos. La separación de los analitos se realiza en un tiempo total de análisis de 10 minutos. En la tabla 4 se presentan los datos obtenidos.

Los tiempos de retención obtenidos y los iones característicos son los esperados de acuerdo a las condiciones del método desarrollado y a la naturaleza química de los compuestos.

Tabla 4 Parámetros optimizados de diez compuestos emergentes

<b>Analito</b>	<b>Ión Precursor (m/z)</b>	<b>Ión Producto (m/z)</b>	<b>Tiempo Retención (min)</b>	<b>Energía colisión (V)</b>
Sulfadiazina	251	156	5.33	20
Sulfamerazina	265	156	5.87	20
Sulfametazina	279	189	6.17	25
Estrona	269	145	5.7	37
Estradiol	271	145	5.66	45
Pravastatina	423	321	3.9	13
Ácido clofibrico	213	127	5.28	12
Diclofenaco	294	250	6.33	15
Indometacina	356	312	6.52	10
Naproxeno	229	170	6.00	10

### Validación de metodologías

Los parámetros para la validación son:

**Linealidad.** El método resultó ser lineal en el intervalo de concentraciones de 3 a 50 ng.L<sup>-1</sup> y de 10 a 100 ng.L<sup>-1</sup>, con un coeficiente de correlación de 0.99. Los datos de regresión mostraron una buena relación lineal sobre el rango de concentraciones estudiadas, demostrando la idoneidad del método para el análisis.

**Exactitud.** La exactitud de un método analítico es la cercanía de los resultados al valor verdadero, se determinó mediante la aplicación del procedimiento analítico en los estudios de recuperación, donde se fortifican disoluciones de muestras con una cantidad conocida de compuestos emergentes.

**Precisión.** La repetibilidad se realizó a tres concentraciones 10, 40 y 100 ng.mL<sup>-1</sup>, en el análisis estadístico se determinaron los valores promedio, desviación estándar y coeficiente de variación entre las lecturas obtenidas.

Los límites de detección y cuantificación son parámetros que determinan la capacidad de análisis del método analítico. En la tabla 5 se presentan los parámetros de los contaminantes emergentes.

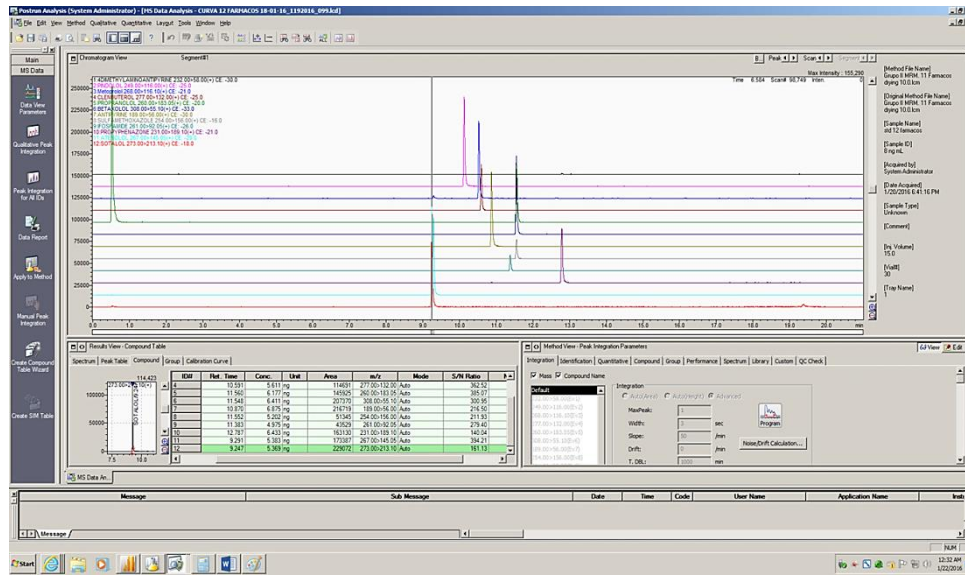


Figura 5 Cromatograma compuestos emergentes

Tabla 5 Validación de fármacos

Analito	Linealidad (r <sup>2</sup> )	Exactitud (%)	Límite Cuantificación (ng L <sup>-1</sup> )	Límite Confianza (%)
Sulfadiazina	0.99	91.3	3.39	93
Sulfamerazina	0.99	99.0	3.65	101
Sulfametazina	0.99	93.0	3.25	94
Estrona	0.99	95	11.8	94
Estradiol	0.99	97	11.0	98
Pravastatina	0.99	94	10.9	94
Ácido clofíbrico	0.99	99	0.045	100
Diclofenaco	0.99	99	0.05	100
Indometacina	0.99	104	0.045	104
Naproxeno	0.99	96	0.051	97
<b>Criterios Validación</b>	<b>0.99</b>	<b>80-120</b>		
	<b>m ~ 1</b>			
	<b>b ~ 0</b>			

## Extracción en fase solida (SPE)

En la extracción en fase sólida, se emplearon estándares de alta pureza y al menos dos concentraciones fueron adicionadas a las muestras de agua de pozo, río y residual con el fin de determinar los porcentajes de recuperación.

La separación se realizó en una columna C18 en fase reversa y dos fases móviles agua-formato de amonio 5 milimolar (mM): acetonitrilo- metanol ( 60:40) y agua-acetonitrilo 90:10: metanol-acetonitrilo (80:20).

El efecto de pH sobre la eficiencia de la extracción es un parámetro muy importante, debido a las diferentes polaridades de los compuestos, la retención aumenta conforme el pH maximiza la concentración de la forma iónica de los solutos.

Un pH bajo asegura que las bases fuertes estén en su forma iónica protonada y que los ácidos débiles presentes estén en su forma no iónica. El proceso de extracción consta de cuatro etapas (figura 6): acondicionamiento del cartucho, adsorción de la muestra, lavado del cartucho y elución del analito.

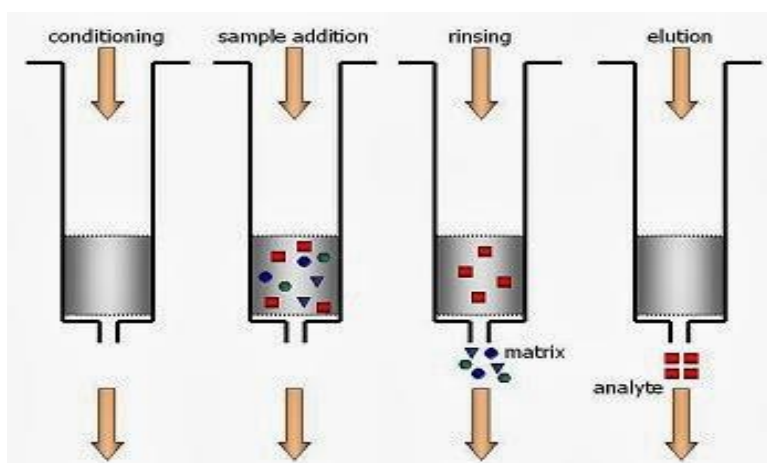


Figura 6 Etapas método extracción

Se realizaron ensayos con varios tipos de columnas C18: Bond Elut 3mL/200 mg, Cromabond, Strata, SCX, los mejores porcentajes de recobro se obtuvieron con Oasis 3mL/60 mg y Bond Elut 3mL/200mg.

En la figura 7 se muestran los porcentajes de recuperación de los diez fármacos analizados, éstos se encuentran en el intervalo de 70 a 109%. Las recuperaciones y la precisión del método se consideran aceptables de acuerdo a lo establecido por el Documento N° SANCO/2007/3131 de la Comisión Europea (European Commission, 2007).

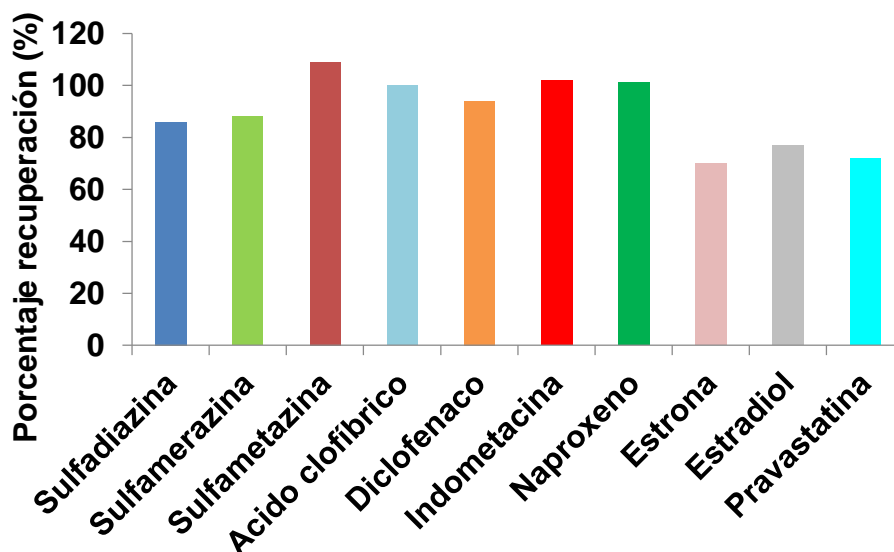


Figura 7 Recobro de fármacos

Los recobros obtenidos son confiables, debido a la optimización de los métodos analíticos y el proceso de extracción; que permiten la retención de un amplio rango de compuestos polares y no polares, proporcionando datos reproducibles para compuestos emergentes ácidos básicos y neutros.

### Aplicabilidad método con muestras reales

La aplicabilidad del método se comprobó analizando muestras reales de distintas matrices del país. Se realizó muestreo de agua de pozo de los estados de Morelos, Hidalgo y Zacatecas; el agua de río se colectó en Chetumal, Q. Roo y efluentes de agua residual de plantas de tratamiento en Distrito Federal y Morelos.

En las distintas muestras de agua de pozo y río no se determinó presencia de fármacos validados a excepción del pozo del estado de Hidalgo donde se identificaron concentraciones trazas de estrona y estradiol ( $1.05$  y  $0.85$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (tabla 6). En la figura 8 se presenta un cromatograma donde se aprecia la ausencia de compuestos.

En los efluentes de las plantas de tratamiento de agua residual de Texcal Morelos se identifican trazas de sulfadiazina ( $1.35$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), sulfamerazina ( $2.23$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), sulfametazina ( $2.00$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), sulfametoxazol ( $192$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), diclofenaco ( $3.2$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), naproxeno ( $1.86$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), estrona ( $2.25$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y estradiol ( $1.32$   $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ).



En el centro comercial de Distrito Federal se detectaron concentraciones traza de sulfamerazina ( $1.20 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ) y sulfametoxazol ( $89 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ), valores que se encuentran por debajo de los reportados en literatura internacional. (tabla 6)

Tabla 6 Fármacos identificados con agua distintas matrices

Contaminante ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Pozo Hidalgo	Pozo Morelos	Pozo Zacatecas	Valores Pozo referen ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Río Chetumal Q.Roo	PTAR Morelos	PTAR D.F.	Valores PTAR referencia ( $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ )
Sulfadiazina	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	1.35	n.d.	-
Sulfamerazina	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	2.23	1.20	-
Sulfametazina	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	2.00	n.d.	<b>2,200</b>
Sulfametoxazol	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	192	89	
Ác. clofíbrico	n.d.	n.d.	n.d.	<b>16</b>	n.d.	n.d.	n.d.	-
Diclofenaco	n.d.	n.d.	n.d.	<b>150</b>	n.d.	3.2	n.d.	<b>800</b>
Indometacina	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-
Naproxeno	n.d.	n.d.	n.d.	<b>94</b>	n.d.	1.86	n.d.	<b>4900</b>
Estrona	1.05	n.d.	n.d.	<b>21.7</b>	n.d.	2.25	n.d.	<b>95</b>
Estradiol	0.85	n.d.	n.d.	<b>2.3</b>	n.d.	1.32	n.d.	<b>101</b>
Pravastatina	n.d.	n.d.	n.d.	-	n.d.	n.d.	n.d.	-

n.d. No detectado



Figura 8 Diagrama muestras reales de fármacos

Ante la ausencia de compuestos emergentes y para comprobar la aplicabilidad del método, se prepararon muestras fortificadas adicionando concentraciones conocidas de estándar de los diferentes compuestos emergentes. En la figura 9 se muestra un cromatograma, donde se muestra la presencia de los diferentes fármacos.

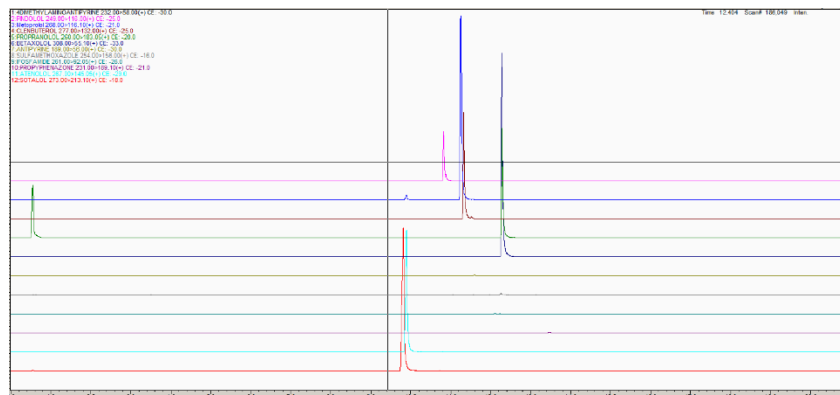


Figura 9 Diagrama muestras adicionadas de contaminantes.

## Publicación de artículos de divulgación

M. Avilés, M. Sánchez y J. Tapia. 2016. Validación de metodologías para determinar fármacos en muestras de agua por cromatografía de líquidos – espectrometría de masas. **XV Congreso Internacional y XXI Congreso Nacional de Ciencias Ambientales. Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias.**

M. Avilés, M. Sánchez y J. Tapia. 2016. Development and validation of an analytical methodology for determining compound emerging in water samples liquid chromatography – mass spectrometry. **59° Congreso Internacional del agua, saneamiento, ambiente y energías renovables de ACODAL y el XXXV Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental de AIDIS.**

## Conclusiones

- En el proyecto TC 1602.1 tercera etapa no se cumplieron los objetivos planteados que era desarrollar metodologías para determinar 45 compuestos emergentes, a causa de que el aire acondicionado del área de cromatografía de líquidos-masas se descompuso en el mes de mayo y éste es indispensable para equilibrar la temperatura a 20°C ya que el calor generado por el detector de masas es de aproximadamente 35°C. A esta temperatura se produce la degradación de los compuestos en estudio sin poderlos cuantificar.
- Se validaron 10 métodos para los contaminantes emergentes sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina, ácido clofíbrico, diclofenaco, indometacina, naproxeno, estrona, estradiol y pravastatina, los cuales son lineales, exactos, precisos, confiables y reproducibles demostrando eficiencias de recuperación promedio de 70 a 110 % .
- Se comprobó la aplicabilidad de los distintos métodos analizando muestras reales de agua de pozo de los estados de Morelos, Hidalgo, Zacatecas; agua de río de Chetumal, Q. Roo, así como el efluente de dos plantas de tratamiento de agua residual del estado de Morelos y Distrito Federal.
- En las muestras de agua de pozo y río no se detectó la presencia de los fármacos estudiados a excepción del pozo de Hidalgo, donde se identificaron trazas de estrona y estradiol (1.05 y 0.85 ng·L<sup>-1</sup>)
- En los efluentes de las plantas de tratamiento de agua residual de Texcal Morelos se identifican trazas de sulfadiazina (1.35 ng·L<sup>-1</sup>), sulfamerazina (2.23 ng·L<sup>-1</sup>), sulfametazina (2.00 ng·L<sup>-1</sup>), sulfametoxazol (192 ng·L<sup>-1</sup>), diclofenaco (3.2 ng·L<sup>-1</sup>), naproxeno (1.86 ng·L<sup>-1</sup>), estrona (2.25 ng·L<sup>-1</sup>) y estradiol (1.32 ng·L<sup>-1</sup>). En el centro comercial de Distrito Federal se detectaron concentraciones traza de sulfamerazina (1.20 ng·L<sup>-1</sup>) y sulfametoxazol (89 ng·L<sup>-1</sup>).
- Durante los tres años del proyecto “Métodos analíticos para determinación de compuestos emergentes en agua” (TC1402.1, TC1502.1, TC1602.1) se desarrollaron y validaron metodologías para 25 compuestos emergentes mediante cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (LC-MS), las cuales son aplicables a muestras de distintas matrices de agua en nuestro país.

## Referencias

Arslan-Alaton I. y Caglayan A. 2006. Toxicity and biodegradability assessment of raw and ozonated procaine penicillin G formulation effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63:131-40.

Barceló D. y López M. 2012. Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Disponible desde internet en <http://www.unizar.es/fnca/varios/panel/15.pdf>. Consultado el 1 de mayo de 2014.

Becerril J. 2012. Optimización de metodologías analíticas para la determinación de contaminantes emergentes en aguas de abastecimiento y residuales. Universidad de Santiago de Compostela. Disponible desde internet en: <http://minerva.usc.es/handle/10347/6150>. Consultado el 1 de mayo de 2014.

Bedner M. y Mac Crehan W. 2006. Transformation of Acetaminophen by Chlorination Produces the Toxicants 1,4-Benzoquinone and N-Acetyl-p-benzoquinone Imine. *Environ. Sci. Technol.*, 40:516–52240.

Garrison, A.W, Pope, J. D; Allen, F. R. 1976. Identification and analysis of organic pollutants in water, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor MI. pp 517-556.

Heberer T. 2002. Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters*, 131: 5-7.

Hernando M, Mezcuca M, Fernández-Alba A, y Barceló D. (2006a). Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments. *Talanta*, 69:334-342.

Iagua. 2013. Recuperado el 20 de Noviembre de 2013, de <http://www.iagua.es/blogs/gaiaema/la-contaminacion-emergente-del-medio-fluvial>.

Jones O, Voulvoulis N, y Lester J. 2001. Human pharmaceuticals in the aquatic environment: a review. *Environmental Technology*. 22:1383–1394.

Kummerer K. 2001. Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources. A review. *Chemosphere* , 45:957-69.

Kümmerer K, Al-Ahmad A, y Mersch-Sundermann V. 2000. Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and effect of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere* , 40:767-73.

Ramos C, Espinosa M, Lloréns M, López M, y Pellón A. 2005. Tratamiento de las aguas residuales provenientes de la industria de medicamentos. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 36:39-44.

## Referencias

Richardson, M.L. J.M. Bowron. 1985. The fate of pharmaceuticals chemicals in the aquatic environmental. J. Pharm. Pharmacol 37 pp 1-12.

Roggers, H.R. 1996. Sources behavior and fate of organic contaminants during sewage treatment and in sewage sludges. Sci. Total Environ., 185:3-26.

Ternes T. 1998. Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers. Water research, 32:3245-3260.

Zuccato E, Castiglioni S, Fanelli R, Reitano G, Bagnati R, Chiabrando C, Pomati F, Rossetti C, y Calamari D. 2006. Pharmaceuticals in the environment in Italy: Causes, occurrence, effects and control. Environmental Science and Pollution Research, 13:15-21.

