


UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man on a white horse, holding a staff, set against a blue background. Above the figure is a golden crown with a cross on top. The seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "CETERA OIBUS CONSPICUA CAROLINA AC" at the top and "MALENSIS INTER CETERA COACTEM" at the bottom. The background of the seal is a light blue sky with green hills at the bottom.

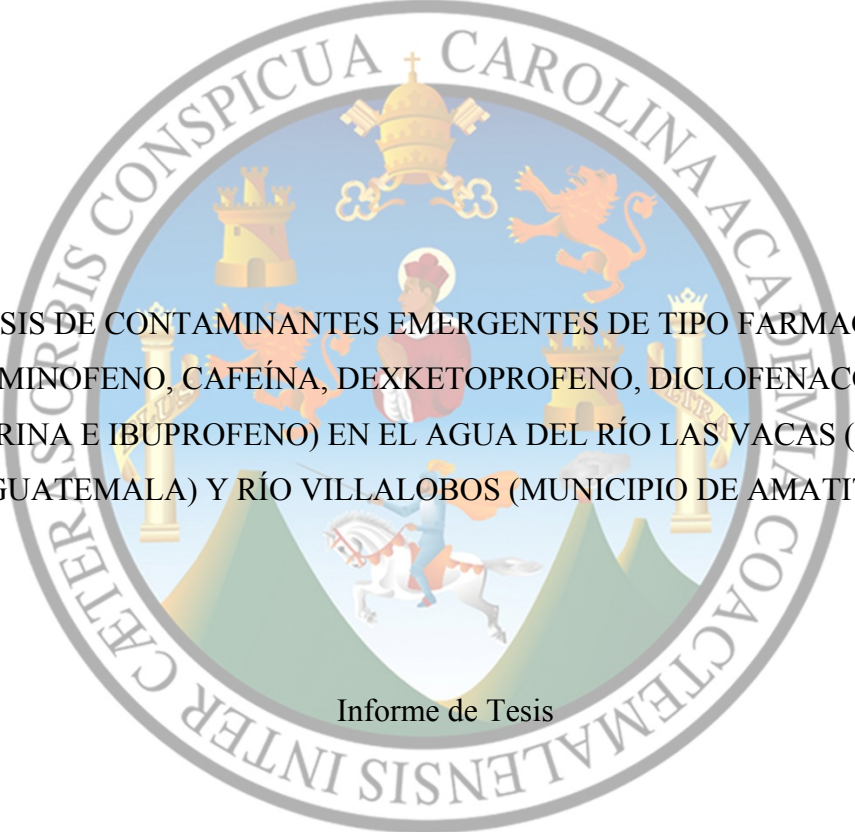
ANÁLISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES DE TIPO FARMACÉUTICO  
(ACETAMINOFENO, CAFEÍNA, DEXKETOPROFENO, DICLOFENACO SÓDICO,  
FENILEFRINA E IBUPROFENO) EN EL AGUA DEL RÍO LAS VACAS (MUNICIPIO  
DE GUATEMALA) Y RÍO VILLALOBOS (MUNICIPIO DE AMATITLÁN).

Elisandra Hernández Hernández

Químico

Guatemala, Agosto de 2013

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



ANÁLISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES DE TIPO FARMACÉUTICO  
(ACETAMINOFENO, CAFEÍNA, DEXKETOPROFENO, DICLOFENACO SÓDICO,  
FENILEFRINA E IBUPROFENO) EN EL AGUA DEL RÍO LAS VACAS (MUNICIPIO  
DE GUATEMALA) Y RÍO VILLALOBOS (MUNICIPIO DE AMATITLÁN).

Informe de Tesis

Presentado por:

Elisandra Hernández Hernández

Para optar al título de

Químico

Guatemala, Agosto de 2013

## **JUNTA DIRECTIVA**

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fayver Manuel de León Mayorga	Vocal IV
Br. Maily Graciela Córdova Audón	Vocal V

## **DEDICATORIA**

A Dios

Por esta vida tan maravillosa y por las personas que puso en mi camino

A mis padres Carlos y Esperanza

Por todo el amor desinteresado desde mi primer segundo de vida y por animarme siempre a ser mejor persona, este logro es nuestra recompensa

A mis hermanos Adeleine y Vladimir

Por todos los momentos alegres que vivimos juntos

A mi hijo Aarón Domenico

Por ser mi máxima inspiración

A mi compañero de vida William

Por ser mi apoyo durante estos años

A mi familia

Por ser parte de todo esto

A mis amigas Aura, Gaby y Vicky

Por su amistad, ayuda y apoyo

A todas las personas que de alguna u otra manera hicieron posible que este momento llegara, gracias por compartir conmigo en las buenas y en las malas.

## AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater* Tricentenaria Universidad de San Carlos de Guatemala por permitirme realizar uno de mis sueños.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por todos los conocimientos y herramientas brindadas para poder desempeñarme en lo que más me apasiona.

Al Departamento de Análisis Inorgánico: Bessie, Ricardo, Miriam, Marta, Vilma y Jhoni (QEPD), Erick (monito), Balmore, Alejandra, Lesly por hacer mi experiencia laboral placentera.

A mi asesora Bessie Oliva por su tiempo y dedicación para la elaboración de este trabajo.

A mi revisora Paty Navas por su guía y consejos.

Al Laboratorio de Investigación Química y Aplicada y al Laboratorio de Monitoreo del Aire por confiar en mí y darme la oportunidad de desarrollarme profesionalmente.

A AMSA, Parque Ecológico Cayalá y al Laboratorio Nacional de Salud por brindarme su apoyo en los muestreos y reactivos necesarios para la elaboración de este trabajo.

## INDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
I. RESUMEN.....	7
II. INTRODUCCION.....	9
III. ANTECEDENTES.....	11
A. Descripción del río Las Vacas y el río Villalobos.....	11
1. Río Las Vacas .....	12
2. Río Villalobos .....	13
B. Estudios previos realizados en el río Las Vacas y el río Villalobos.....	15
C. Contaminantes emergentes.....	16
D. Clasificación de los contaminantes emergentes .....	18
1. Los retardantes de llama bromados.....	18
2. Los cloroalcanos o parafinas cloradas .....	19
3. Los plaguicidas y sus metabolitos .....	20
4. Los compuestos perfluorados .....	21
5. Las drogas de abuso.....	22
6. Compuestos disruptores endocrinos (EDC).....	22
7. Productos farmacéuticos y de aseo personal.....	25
E. Muestreo pasivo.....	33
1. Dispositivo de membrana semipermeable (SPMD = semipermeable membrane device).....	35
2. Dispositivo para el muestreo integrado de compuestos orgánicos polares (POCIS= polar organic compounds integrative sampler).....	36
3. Usos y cuidados de muestreadores pasivos.....	38
F. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).....	40
IV. JUSTIFICACION.....	42
V. OBJETIVOS.....	44

A. Objetivo General .....	44
B. Objetivos Específicos .....	44
VI. HIPÓTESIS.....	45
VII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	46
A. Universo y muestra.....	46
B. Materiales .....	46
1. Reactivos.....	46
2. Cristalería.....	48
3. Equipo de laboratorio.....	48
4. Material de muestreo.....	50
5. Material de Laboratorio .....	50
C. Métodos .....	51
1. Obtención de las muestras por implementación de dispositivos pasivos .....	51
2. Determinación de los parámetros in situ.....	54
3. Obtención de las muestras por medio de un muestreo compuesto .....	55
4. Extracción de los analitos de los POCIS.....	57
5. Extracción en fase sólida (SPE) para la determinación de contaminantes emergentes en un muestreo compuesto. ....	58
6. Análisis por cromatografía líquida de alta eficacia -HPLC-.....	60
7. Determinación de ortofosfatos y fósforo total, método del Ácido Ascórbico .....	65
8. Determinación de nitritos.....	66
9. Determinación de nitratos y nitrógeno total, método del Salicilato de sodio .....	67
10. Determinación de Sólidos Suspendidos .....	68
11. Determinación de Sólidos Disueltos .....	69
12. Determinación de Sólidos Totales .....	69
13. Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno .....	70
14. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO) .....	72
D. Diseño de la investigación:.....	73
VIII. RESULTADOS.....	75
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	82

X. CONCLUSIONES.....	91
XI. RECOMENDACIONES.....	92
XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
XII. ANEXOS.....	101

### INDICE DE FIGURAS

No.	Título	Página
1	Cuenca del río Motagua, subcuenca del río Las Vacas	12
2	Ríos tributarios que conforman la cuenca del lago de Amatitlán	14
3	Estructura química de algunos contaminantes emergentes encontrados en matrices ambientales: estrógenos y xenoestrógenos	24
4	Origen y destino de los PPCPs en el medio ambiente	26
5	Estructura química del acetaminofeno o paracetamol	29
6	Estructura química de la cafeína	30
7	Estructura química de dexketoprofeno	30
8	Estructura química del diclofenaco sódico	31
9	Estructura química del clorhidrato de fenilefrina	32
10	Estructura química del ibuprofeno	32
11	Diagrama de un dispositivo tipo POCIS	36
12	Estructura química del polímero poli(divinilbenceno)-co-N-vinilpirrolidona	37
13	Dispositivo para el muestreo integrado de compuestos orgánicos polares -POCIS-	38
14	Canasta o contenedor de acero inoxidable para SPMD y POCIS	39
15	Muestreador pasivo con 3 filtros POCIS y canasta utilizados para la captación de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico	52
16	Colocación del muestreador pasivo (POCIS) y sujeción a una barrera de contención en el sitio de muestreo del río Villalobos	53
17	Muestreador pasivo sumergido a 20 cm de la superficie del agua en el sitio de	53



	muestreo del río Villalobos	
18	Canasta y filtros POCIS después de 30 días de exposición en el río Villalobos	54
19	Toma de muestra en un muestreo compuesto puntual para el análisis de parámetros fisicoquímicos y para la cuantificación de contaminantes emergentes en el río Villalobos	56
20	Desmontaje de los filtros POCIS del sostenedor utilizando una llave combinada	57
21	Inmersión y extracción de los contaminantes emergentes utilizando agua- metanol (3:1)	58
22	Extracción en fase sólida (SPE) de contaminantes emergentes	59
23	Cromatografo líquido de alta eficacia con detector ultravioleta utilizado para la determinación de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico	64
24	Valores promedio de la masa de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico captados en el río Villalobos utilizando muestreadores pasivos durante 30 días	80
25	Valores promedio de la masa de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico captados en el río Las Vacas utilizando muestreadores pasivos durante 34 días	81
26	Río Villalobos, punto de toma de muestra y colocación del muestreador pasivo -POCIS-: Planta de tratamiento “La Serra”	101
26	Río Las Vacas, punto de toma de muestra y colocación del muestreador pasivo -POCIS- en el Parque Ecológico Cayalá	101
28	Curva de calibración de acetaminofeno	102
29	Curva de calibración de cafeína	102
30	Curva de calibración de dexketoprofeno trometamol	103
31	Curva de calibración de diclofenaco sódico	103
32	Curva de calibración de fenilefrina	104
33	Curva de calibración de ibuprofeno	104
34	Cromatograma del estándar número seis de acetaminofeno de concentración: 100,05 µg/ml	105
35	Cromatograma de acetaminofeno del filtro número dos de la muestra del río Villalobos	106

36	Cromatograma de acetaminofeno del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas	107
37	Cromatograma del estándar número uno de cafeína de concentración: 6,25µg/ml	108
38	Cromatograma de cafeína del filtro número dos de la muestra del río Villalobos	109
39	Cromatograma de cafeína del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas	110
40	Cromatograma del estándar de fenilefrina y dexketoprofeno de concentración: 13,52 µg/ml y 27,56 µg/ml respectivamente	111
41	Cromatograma de fenilefrina y dexketoprofeno del filtro número tres de la muestra del río Villalobos	112
42	Cromatograma de fenilefrina y dexketoprofeno del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas	113
43	Cromatograma del estándar número cuatro de diclofenaco sódico de concentración: 50,00 µg/ml	114
44	Cromatograma de diclofenaco sódico del filtro número uno de la muestra del río Las Vacas	115
45	Cromatograma del estándar número tres de ibuprofeno de concentración: 26,03µg/ml	116
46	Cromatograma de ibuprofeno del filtro número dos de la muestra del río Villalobos	117
47	Cromatograma de ibuprofeno del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas	118

### INDICE DE CUADROS

No.	Titulo	Página
1	Valores Promedio de los Parámetros in situ en el río Villalobos y el río Las Vacas	75
2	Cuantificación de los Compuestos Nitrogenados en el río Villalobos y el río Las Vacas	75
3	Cuantificación de los Compuestos Fosforados (fósforo de ortofosfatos y fósforo total) en el muestreo compuesto en el río Villalobos y el río Las Vacas	76
4	Determinación de los Sólidos Sedimentables, Suspendidos, Disueltos y Totales en un muestreo compuesto en el río Villalobos y el río las Vacas	76
5	Determinación de la demanda química (DQO) y bioquímica de oxígeno (DBO) en el muestreo compuesto realizado en el río Villalobos y el río Las Vacas	77
6	Análisis de Contaminantes Emergentes en el río Villalobos utilizando muestreadores pasivos POCIS	77
7	Análisis de Contaminantes Emergentes en el río Las Vacas utilizando muestreadores pasivos POCIS	78
8	Concentración de Contaminantes Emergentes en el río Villalobos y el río Las Vacas utilizando muestreo compuesto puntual	79

## I. RESUMEN

Los contaminantes emergentes están catalogados como productos utilizados para diferentes actividades cotidianas, dentro de los cuales se pueden mencionar: medicamentos, productos para el cuidado personal, cosméticos, etc. Estos compuestos han comenzado a evaluarse en ambientes acuíferos, donde han sido encontrados sin perder su actividad, por lo que se consideran contaminantes que pueden afectar de manera directa o indirecta a la biota acuática y al ser humano.

Mediante un único muestreo y empleando la técnica de muestreo pasivo, con un dispositivo de muestreo integrado para compuestos orgánicos polares o POCIS (por sus siglas en inglés) se seleccionó un punto de muestreo tanto en el río Las Vacas como en el río Villalobos, las muestras fueron analizadas mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia, abreviado en inglés como HPLC, obteniéndose la masa en microgramos ( $\mu\text{g}$ ) de acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, fenilefrina e ibuprofeno, captados en un período de 30 días en el río Villalobos y 34 días en el río Las Vacas. El único analito que presentó valores por debajo del límite de detección, en ambos ríos fue el diclofenaco sódico.

Los resultados obtenidos como un diagnóstico preliminar de la presencia de contaminantes emergentes en el agua, reflejan la ventaja del uso de los POCIS, con los cuales se encontraron cantidades cuantificables de cada uno de los analitos mientras, que en el análisis de las muestras de un muestreo compuesto de agua no se encontró ningún contaminante; esta diferencia radica en que en el muestreo pasivo, el POCIS se sumerge en el agua y se deja por espacio de 30-35 días y el muestreo compuesto consiste en tomar muestras de agua en diferentes intervalos de tiempo, lo que constituye un volumen de agua menor en comparación con el uso de POCIS, con los cuales se capta una mayor cantidad en masa de los analitos, en este caso, contaminantes emergentes de tipo farmacéutico.

De los cinco analitos encontrados el que se extrajo en mayor cantidad en ambos ríos fue la fenilefrina, con valores promedio correspondientes a tres filtros de 93,00  $\mu\text{g}$  y 126,0

$\mu\text{g}$  en el río Villalobos y en el río Las Vacas respectivamente. Los valores promedio más bajos obtenidos de tres filtros analizados fueron los de cafeína en ambos ríos, donde se obtuvo 4,600  $\mu\text{g}$  en el río Villalobos y 7,460  $\mu\text{g}$  en el río Las Vacas.

## II. INTRODUCCION

El agua es un recurso natural, vital e indispensable para la vida y el sostenimiento del medio ambiente, que como consecuencia del acelerado desarrollo humano y económico, así como a su uso inadecuado, ha sufrido un alarmante deterioro. Durante varios años los cuerpos de agua han sido utilizados como medio de eliminación indiscriminada de toneladas de contaminantes provenientes de aguas residuales de actividades urbanas, rurales, industriales, medicinales y agrícolas, entre otras, sometiendo así a los ecosistemas acuáticos a multitud de factores y circunstancias que no constituyen elementos naturales de su hábitat y como consecuencia ha llevado a la alteración de la calidad del agua (Barceló, 2008).

El descubrimiento de nuevos contaminantes, potencialmente peligrosos, conocidos como “contaminantes emergentes” ha sido motivo de investigación en los últimos años, ya que la presencia e impacto en el medio ambiente y la salud humana ha pasado casi inadvertido. Los contaminantes emergentes provienen de distintas fuentes, poseen diferente naturaleza química, aunque la mayoría de ellos son orgánicos y tienen diversos usos. Algunas clases más relevantes de contaminantes orgánicos emergentes son: los fármacos, retardantes de llama bromados, pesticidas, cloroalcanos, esteroides, productos de aseo personal, drogas de abuso y los metabolitos de las sustancias anteriores (Becerril, 2009).

En Guatemala, se han realizado diversos estudios en el ámbito de la química medioambiental, sobre todo de evaluación de la calidad fisicoquímica y microbiológica del agua, así como de contaminantes en sedimentos de varios cuerpos de agua. No se había realizado a la fecha ninguna investigación en que se analizara la presencia de contaminantes emergentes en el agua, por lo que este estudio es el primero sobre contaminantes emergentes de tipo farmacéutico, de uso común y expendidos sin receta médica, tales como: acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno en agua del río Las Vacas y el río Villalobos.

Estos ríos fueron estudiados ya que descargan sus aguas al río Motagua y al lago de Amatitlán, respectivamente, siendo los principales tributarios de aguas residuales provenientes de la ciudad de Guatemala.

En la investigación se implementó la técnica del muestreo pasivo, utilizando dispositivos de muestreo integrado para compuestos orgánicos polares (Polar Organic Chemical Integrative Sampler POCIS) para la captación de los analitos, colocando dichos dispositivos en cada río por espacio de 30 días. Las muestras se analizaron por medio de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Adicionalmente, se determinaron los parámetros fisicoquímicos de la calidad del agua en ambos ríos mediante un muestreo compuesto.

Con los resultados obtenidos se enriquece la base de datos sobre la contaminación existente en los recursos hídricos del país, además permitirá que los tomadores de decisiones tengan información de base para poder enfrentar esta problemática, y en un futuro se puedan adoptar progresivamente medidas legislativas y de saneamiento para mejorar el estado actual de los ecosistemas acuáticos y contribuir a la disminución del impacto negativo de la contaminación y degradación del medio ambiente acuático logrando el uso sostenible del agua.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Descripción del río Las Vacas y el río Villalobos

Guatemala es un país con abundantes recursos hídricos, posee 5 lagos importantes, 18 lagunas principales y 119 lagunas menores, cubriendo un área aproximada 950 Km<sup>2</sup>. Las fuentes de agua han sido sometidas a una estresante y creciente demanda, desarrollando una situación crítica debido a la falta de una adecuada distribución geográfica de la población, que trae como consecuencia el hecho de que muchas personas carecen de acceso a la misma, a esto se suma la inexistencia de una ley de aguas que regule y controle el uso y abuso de los suministros nacionales de agua. Como resultado los cuerpos de agua del país han sido utilizados como depósitos donde se descargan aguas residuales (US. Army Corps of Engineers, 2000; INSIVUMEH, s.f.).

Los principales ríos de Guatemala están severamente contaminados, como por ejemplo los ríos: Motagua, Villalobos, Michatoya, Las Vacas y Samalá, sin embargo los ríos Las Vacas y Villalobos, son considerados como los ríos más contaminados del país porque reciben las aguas residuales de la ciudad de Guatemala, que tenía una población estimada para el 2011 de 2 541 581 habitantes (US. Army Corps of Engineers, 2000; INE, 2011).

Estos ríos están ubicados en la ciudad de Guatemala donde se encuentra aproximadamente el 60% de las empresas industriales, las cuales por falta de control en el vertido de sus aguas residuales, generan desechos que son descargados en el sistema de drenajes sin previo tratamiento convirtiéndose en un factor determinante en la contaminación de los ríos mencionados (Oliva, Callejas, & Pérez, 2001).

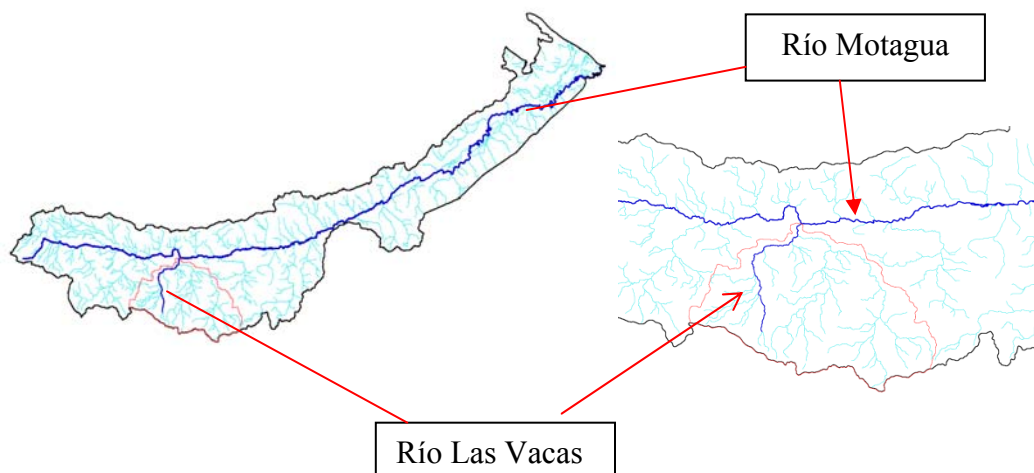


## 1. Río Las Vacas

El río Las Vacas (N 14° 37' 45,53", W 90° 29' 9,2") nace en los cerros que forman la periferia sudeste de la Ciudad de Guatemala y desemboca en dirección noreste para unirse al río Motagua en la convergencia de los límites de los departamentos de Guatemala, El Progreso y Baja Verapaz (US. Army Corps of Engineers, 2000).

La cuenca del río Las Vacas (figura 1) forma uno de los mayores desagües de la ciudad de Guatemala, recibiendo el 63 % del total de las aguas residuales generadas en la capital provenientes de drenajes domiciliarios, industriales y fluviales, por lo que es considerado como un río altamente contaminado que contribuye también a la contaminación de otros ríos principales como el río Motagua, llegando a deteriorar indirectamente al ecosistema marino del Golfo de Honduras. La mayoría de pozos ubicados en áreas aledañas al río Motagua se encuentran biológica y químicamente contaminados (US. Army Corps of Engineers, 2000; Oliva, Callejas & Pérez, 2001).

Figura 1. Cuenca del río Motagua, subcuenca del río Las Vacas



Fuente: gvSIG versión 12.0 con capas del MAGA, realizado por Ing. Amb. Alberto Franco

El río Las Vacas recibe los afluentes de los ríos: Negro, Contreras, Santa Rosita, Chinautla, El Zapote, Quezada, Chuapón, El Aguacate, Los Acoles y Los Plátanos; forma parte del caudal del río Motagua, el cual es utilizado para irrigación de plantaciones en la parte noreste del país. La cuenca del río Motagua sirve como cuerpo receptor de las aguas servidas de la ciudad de Guatemala, a través del río Las Vacas, por lo que éste último constituye el mayor foco de contaminación para el río Motagua (Oliva, Callejas & Pérez, 2001).

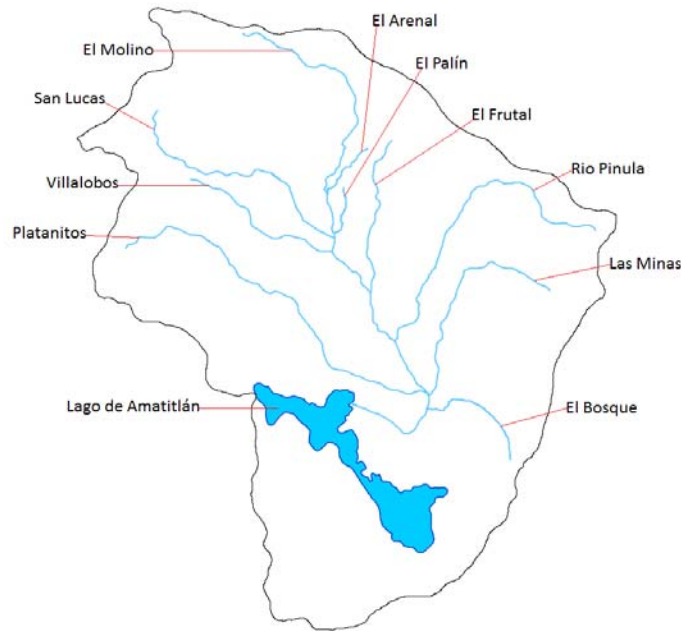
En la década de los años cuarenta se construyeron colectores para aguas residuales y pluviales que desembocarían sin ningún tratamiento en el río Las Vacas, con el fin de iniciar con el saneamiento de la ciudad de Guatemala. Las industrias de esa época también introdujeron al río directamente sus aguas residuales, y en las décadas posteriores inicia la contaminación desmedida de este cuerpo de agua. La dimensión de la ciudad de Guatemala no era la que posee actualmente, ya que factores como el crecimiento poblacional, la expansión de los límites territoriales, la concentración de industrias, la falta de tratamiento de las aguas residuales y la falta de planificación de los servicios, incidió directamente en el aumento de la contaminación de los diferentes ríos, incluyendo el río Las Vacas. A pesar de la existencia de legislación ambiental que data desde los años cincuenta, y que prohíbe mezclar, depositar o lanzar a las fuentes fluviales sustancias químicas y residuos de la producción agrícola o industrial, esta práctica es común en todos los poblados del país (DIGI & CEUR, 1999).

## **2. Río Villalobos**

El río Villalobos (N 14° 34' 40,55", W 90° 38'18,33") es un cuerpo hídrico que recibe las descargas residuales de tipo doméstico, industrial, agrícola, hospitalario, entre otros, de la parte sur de la ciudad de Guatemala, así como de los municipios de San Miguel Petapa, Villa Canales, Villa Nueva y Mixco. Fluye al sur del departamento de Guatemala desembocando en el lago de Amatitlán (figura 2), causando en éste extrema contaminación

por lo que actividades como nadar, pescar o cualquier contacto con el agua no son recomendables (García, 2002).

Figura 2. Ríos tributarios que conforman la cuenca del lago de Amatitlán



Fuente: gvSIG versión 12.0 con capas del MAGA, realizado por Ing. Amb. Alberto Franco

El lago de Amatitlán recibe la descarga de aguas residuales de uso doméstico e industrial de la ciudad de Guatemala por medio del río Villalobos el cual recibe aproximadamente el 40% de las aguas residuales de la ciudad capital. Existen 7 ríos que conforman la cuenca del lago de Amatitlán, 6 de estos ríos desembocan en el río Villalobos, y éste último va a dar directamente al lago de Amatitlán y es considerado como un río severamente contaminado. El lago de Amatitlán descarga en el río Michatoya y éste, en el Océano Pacífico, aumentando y diseminando la contaminación (US. Army Corps of Engineers, 2000; AMSA, 2008).

Un estimado realizado en 1994, revela que cerca de 22 000 m<sup>3</sup> por año de aguas residuales, 75 500 t de desechos sólidos y 500 000 t de sedimentos, eran descargados anualmente en la cuenca del lago de Amatitlán. Con 800 industrias contabilizadas en 1998, la cuenca está

altamente industrializada. Además de la descarga de residuos, la alta población, numerosas industrias y el uso excesivo de agroquímicos, contribuyen a la eutrofización del lago y a la degradación de la flora y la fauna. De las 36 plantas de tratamiento ubicadas en la cuenca del lago de Amatitlán en 1998 únicamente operaban 7, sin embargo, el panorama fue distinto en el año 2004 cuando se habilitaron 36 plantas de tratamiento y 22 oxigenadores; en el año 2000 el sistema de tratamiento de aguas residuales del lago aún se encontraba en proceso de restauración y se estima que si los esfuerzos para la recuperación del lago de Amatitlán fallan, para el año 2020 el lago se rellenará (US. Army Corps of Engineers, 2000).

### **B. Estudios previos realizados en el río Las Vacas y el río Villalobos**

En el año 2001, Oliva, Callejas y Pérez realizaron una investigación sobre los parámetros fisicoquímicos y bacteriológicos en el agua del río Las Vacas, en donde se determinó la contaminación por nutrientes, metales tóxicos y bacterias, debido a que el río Las Vacas recibe aproximadamente el 60 % de las aguas residuales de la ciudad de Guatemala impactando negativamente el río Motagua (Oliva, Callejas y Pérez, 2001; US. Army Corps of Engineers, 2000).

Estudios realizados en el río Villalobos indican que desde 1978 ya presentaba elevada contaminación de sólidos en suspensión y altas concentraciones de plomo, fósforo, potasio, sodio, nitratos, nitritos, así como contaminación por coliformes fecales, provenientes de las descargas de aguas residuales (AMSA, 2008).

García, (2002) evaluó la Demanda Química y Bioquímica de Oxígeno en el río Villalobos, concluyendo que los niveles encontrados sobrepasaban los límites máximos permisibles según la Comunidad Europea -CEE- que establece un límite máximo de 7 mg/L de O<sub>2</sub> para DBO y de 30 mg/L de O<sub>2</sub> para DQO, lo que representa desde hace varios años una amenaza para el lago de Amatitlán (García, 2002).

La Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del Lago de Amatitlán -AMSA- realiza desde 1996, monitoreos periódicos de contaminantes en el agua de la cuenca del lago de Amatitlán, que incluye al río Villalobos, principal fuente de contaminación del mismo. Los parámetros analizados son: ortofosfatos, nitratos, sólidos totales, la demanda biológica y bioquímica de oxígeno, que entre otros contribuyen a degradar la calidad del agua principalmente del lago de Amatitlán, ya que este río transporta todos los contaminantes directamente al lago. Además se ha determinado que el pez guapote o pez tigre (*Cichlasoma managüense*) que habita en el lago de Amatitlán presenta en promedio 16 ppm de plomo (García, 1997 en Gil, 2008).

### **C. Contaminantes emergentes**

Los contaminantes emergentes son compuestos químicos naturales o sintéticos de los cuales se conoce muy poco, muchas veces no son reconocidos como tales y su presencia en el medio ambiente no es reciente, sin embargo, la preocupación que existe por las posibles consecuencias e impacto negativo que ocasionan tanto al ambiente como a la salud humana ha sido la razón de investigaciones en décadas recientes. Debido a lo anteriormente expuesto, la evaluación de contaminantes emergentes en el ambiente 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) y la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA) (Barceló & López, 2008).

Los contaminantes emergentes son definidos como cualquier compuesto químico, ya sea natural o sintético, con el potencial para introducirse al medio ambiente causando daños ecológicos adversos y daños a la salud humana, que hasta ahora son desconocidos. La liberación de estas sustancias químicas en el medio ambiente se ha producido por un largo tiempo, pero este tipo de contaminación no es reconocida sino hasta el desarrollo de nuevos métodos de detección, que hasta hace poco han sido muy limitados. Por otro lado, la síntesis de nuevas sustancias químicas o cambios en el uso y la eliminación de las

sustancias químicas existentes pueden crear nuevas fuentes de contaminación emergente (USGS, 2010).

Este tipo de contaminantes son depositados en el medio ambiente de manera continua debido a su elevada producción y consumo, a pesar de que algunos de ellos no son persistentes, pueden llegar a ocasionar efectos negativos por su toxicidad, además algunos contaminantes emergentes son bioacumulables (Barceló & López, 2008).

La lista de contaminantes emergentes es amplia, e incluye una variedad de productos de uso diario en actividades tanto industriales como domésticas, tales como: detergentes, fármacos, productos de aseo personal, retardantes de llama, esteroides, hormonas, entre otros. También en esta lista se incluye a los pesticidas; que a pesar de ya estar sujetos a regulación, el descubrimiento de los productos de degradación tóxicos ha renovado el interés por los mismos. Además, muchos de ellos, como los retardantes de llama bromados, los detergentes de tipo alquifenol 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, dando lugar a la feminización en organismos acuáticos superiores (Barceló & López, 2008).

Las fuentes principales de contaminantes emergentes en el agua son (Rahman, Yanful, & Jasin, 2008):

- a) Hospitales: debido a la descarga de desechos y fármacos expirados.
- b) Ganadería: debido a hormonas y drogas inyectadas al ganado y aves de corral.
- c) Acuicultura: debido a hormonas para los peces y antibióticos que son añadidos a la comida y al agua.
- d) Desechos domésticos: debido al consumo de fármacos, descarga de fármacos vencidos a las alcantarillas con fuga y sistemas sépticos.

- e) Industrias farmacéuticas: debido a desechos industriales conteniendo fármacos, escurrimientos pluviales que transportan materia prima sin utilizar.
- f) Aguas residuales y plantas de tratamiento de aguas residuales: alcantarillado conteniendo residuos de drogas y hormonas, y plantas de tratamiento inefectivas cuya actividad deja trazas de algunos fármacos en el agua.

#### **D. Clasificación de los contaminantes emergentes**

Entre las clases de contaminantes emergentes que demandan una mayor y más urgente atención debido a que se cuenta con pocos datos ambientales y ecotoxicológicos, así como métodos para su análisis y las posibles consecuencias en el medio ambiente, se encuentran (Barceló & López, 2008):

##### **1. Los retardantes de llama bromados (BFR)**

Entre los que destacan:

- a) El tetrabromobisfenol A (TBBPA)
- b) El hexabromociclododecano (HBCD)
- c) Los polibromodifeniléteres (PBDE)

La producción de retardantes de llama a nivel mundial es de 200 000 t por año, de las cuales cerca de 47 000 corresponden a polibromodifeniléteres (PBDE) y se utilizan en una amplia variedad de productos comerciales, tales como muebles, plásticos, tejidos, pinturas, aparatos electrónicos, etc., proporcionando protección contra incendios al disminuir la velocidad de combustión, en este proceso los átomos de bromo son liberados de la molécula de PBDE, desplazando al oxígeno del aire que es el que provoca la combustión, ayudando así a prevenir y controlar el fuego (Barceló & López, 2008).

La preocupación por estos compuestos radica básicamente en su propagación, ya que se han detectado en muestras humanas, animales y medioambientales, también se han encontrado en áreas alejadas a las zonas de mayor producción y uso de éstos compuestos. Además han sido motivo de preocupación y adopción de medidas legislativas para su control en Europa por la persistencia, la biodisponibilidad, la injerencia en el desarrollo del cerebro en los mamíferos y evidencias firmes sobre posibles efectos adversos (aún no completamente demostrados) como neurotoxicidad, disrupción endocrina, cáncer, trastornos en la tiroides (Barceló & López, 2008).

## **2. Los cloroalcanos o parafinas cloradas**

Son formulaciones industriales complejas con un gran número de sustancias isoméricas, consistentes en mezclas de alcanos de cadena lineal que poseen entre uno y treinta átomos de carbono y porcentajes de cloro entre 30 y 70% (Barceló & López, 2008).

Las mezclas comerciales de parafinas cloradas se dividen según la longitud de la cadena de hidrocarburos (Barceló & López, 2008):

- De cadena corta, con 10 a 13 átomos de carbono
- De cadena media, con 14 a 17 átomos de carbono
- De cadena larga, con 18 a 30 átomos de carbono

Estas formulaciones se caracterizan por presentar una baja presión de vapor, alta viscosidad y propiedades retardantes de llama. Son utilizadas como estabilizantes en aditivos de fluidos de corte, lubricantes usados en carpintería metálica y en la industria automovilística, como plastificantes en materiales de PVC, en pinturas y adhesivos (Barceló y López, 2008). La producción mundial de las aproximadamente 200 formulaciones comerciales que existen se estima en unas 300 000 t por año, y de ellas las más utilizadas y más tóxicas son las de cadena corta (EPA & WHO, 1990).



Estas sustancias han sido calificadas como muy tóxicas para los organismos acuáticos ya que se ha observado bioacumulación en algunas especies, son persistentes y se han encontrado en material biológico procedente del Ártico lo que indica que pueden ser transportadas a grandes distancias, y presentan una degradación lenta (tanto química como biológica), por lo que estas sustancias se han incluido en la lista de sustancias prioritarias en el agua de la Unión Europea, y se han puesto limitaciones a su comercialización y uso. Por el contrario, en Estados Unidos de América (E.E.U.U.) no se han fijado límites para estos compuestos, a pesar de que las parafinas con una media de 12 átomos de carbono en su cadena y un grado de cloración del 60%, han sido catalogadas por la Agencia para la Investigación del Cáncer, como posibles carcinógenos humanos (cáncer de hígado y renal) y animales (cáncer de tiroides en ratas) (Barceló & López, 2008).

Las parafinas cloradas no tienen un origen natural conocido por lo tanto los niveles presentes en el medio ambiente son el resultado de su producción y uso (desecho inadecuado de productos y residuos, pinturas, etc.). Debido a su baja volatilidad y solubilidad en agua y a su carácter lipofílico, presentan una fuerte tendencia a adsorberse en sedimentos en donde se observan las concentraciones más altas, sobre todo en áreas próximas a zonas de producción. También tienden a bioacumularse habiéndose encontrado en aves, peces y mamíferos en niveles de hasta 12 mg/Kg. En humanos, también se ha detectado su presencia en diferentes órganos con concentraciones de hasta 190 µg/Kg en tejido adiposo, mientras que en aguas (en donde pueden estar presentes mayormente adsorbidos en el material particulado) los niveles son mucho más bajos. Estudios llevados a cabo han demostrado su presencia en niveles muy bajos en la atmósfera (Barceló & López, 2008).

### **3. Los plaguicidas y sus metabolitos**

Los plaguicidas en especial los más apolares se han estudiado durante décadas, y en consecuencia, se tiene un razonable conocimiento sobre su presencia y destino en el medio

ambiente acuático. Los programas de monitoreo en el mundo han reportado una extensa ocurrencia de plaguicidas orgánicos en los cuerpos de agua, siendo la agricultura la mayor fuente de difusión de contaminación, estando mayormente expuestos los cuerpos de agua localizados cerca de las áreas agrícolas (Pesce, Morin, Lissalde, Mountuelle, & Mazzella, 2011).

En los últimos años la preocupación en torno a los plaguicidas, se centra en los productos de degradación, que han sido en su mayor parte ignorados hasta la fecha y que sin embargo, se ha demostrado que pueden ser más ubicuos y tóxicos que los compuestos a partir de los cuales se generan (Barceló & López, 2008).

#### **4. Los compuestos perfluorados**

Los detergentes perfluorados son un claro ejemplo de compuestos de uso industrial que han sido utilizados durante décadas en un amplio número de sectores y que ahora se catalogan como contaminantes muy peligrosos y ampliamente distribuidos en el medio ambiente. Dentro de los compuestos más peligrosos de esta categoría se sitúan el perfluorooctanosulfonato (PFOS) y el ácido perfluorooctanoico (PFOA). El perfluorooctanosulfonato se ha usado como refrigerante, detergente, polímero, en preparados farmacéuticos, retardantes de llama, lubricantes, adhesivos, cosméticos, insecticidas, etc. El PFOA, por su parte, se utiliza en la fabricación de fluoropolímeros y fluoroelastómeros empleados en una gran variedad de productos comerciales como tejidos, alfombras, recipientes alimentarios, y automóviles. Ambos compuestos, según estudios recientes, son tóxicos y persistentes, el PFOA es además carcinogénico, y el PFOS presenta una fuerte tendencia a la bioacumulación. A raíz de diversas investigaciones llevadas a cabo por el principal productor de estos compuestos en E.E.U.U., y por la EPA se acordó cesar la producción de este compuesto en el año 2000. En Europa, estos compuestos no han despertado aun la atención de las autoridades, pero dada la extensiva utilización de este tipo de polímeros en todos los ámbitos cabe esperar que la problemática asociada a estos compuestos tenga similares dimensiones (Barceló & López, 2008).

## **5. Las drogas de abuso**

“ El estudio de las drogas de abuso tiene un doble objetivo: por un lado, determinar la presencia, el destino y los posibles efectos de las drogas más consumidas y sus principales metabolitos en el medio ambiente acuático y por otro, estimar a partir de los datos ambientales obtenidos en muestras de aguas superficiales o residuales, el consumo de drogas en las áreas investigadas” , por lo que es preciso realizar este tipo de estudios, de los cuales solo existen unos cuantos precedentes en el mundo (Barceló & López, 2008).

Un ejemplo de ello son los esteroides anabólicos que han sido utilizados por más de 30 años para incrementar el crecimiento de la masa muscular de humanos y animales de granja, que debido a su uso indiscriminado se ha convertido en un problema de salud pública ya que el consumo de residuos de sus metabolitos trae consigo el riesgo de desarrollar problemas neurobiológicos, genotóxicos y carcinogénicos (Zhuomin, Hongbin, & Zang, 2009).

También se ha podido estimar el consumo de drogas de abuso, al determinar la cantidad presente en muestras de agua de los ríos de un país, sobre todo en zonas urbanizadas. Tal es el caso de España donde se ha encontrado en las aguas de algunos ríos unos 300 ng/L de benzoilecgonina, el principal metabolito de la cocaína, una cantidad similar a la de ibuprofeno, pero en los ríos de las grandes ciudades se ha encontrado más cocaína que ibuprofeno, aunque en niveles muy bajos que no suponen un riesgo para las personas que beben agua del grifo, siempre y cuando sea tratada (Barceló, 2007).

## **6. Compuestos disruptores endocrinos (EDC)**

Un disruptor endocrino es un agente exógeno que interfiere con la síntesis, secreción, transporte y eliminación hormonas naturales del cuerpo, que son las responsables del

mantenimiento de la homeostasis, del desarrollo de la reproducción y el comportamiento (Pal, Gin, Lin, & Reinhard, 2010).

Los disruptores endocrinos son un diverso grupo de químicos naturales o sintéticos, absorbidos por el organismo humano o animal que después de la ingesta están sujetos a reacciones metabólicas; sin embargo una fracción significativa de las sustancias originales dejan el organismo sin metabolizar, mediante la orina o las heces liberándose al medio ambiente, donde tienen el potencial de interferir con la función normal del sistema endocrino de los seres vivos, dando respuestas no naturales en el organismo receptor, especialmente los peces que entran en contacto con ellos afectando los procesos biológicos como el crecimiento, desarrollo, maduración, reproducción y metabolismo en los animales (Mass.Government, s.f.).

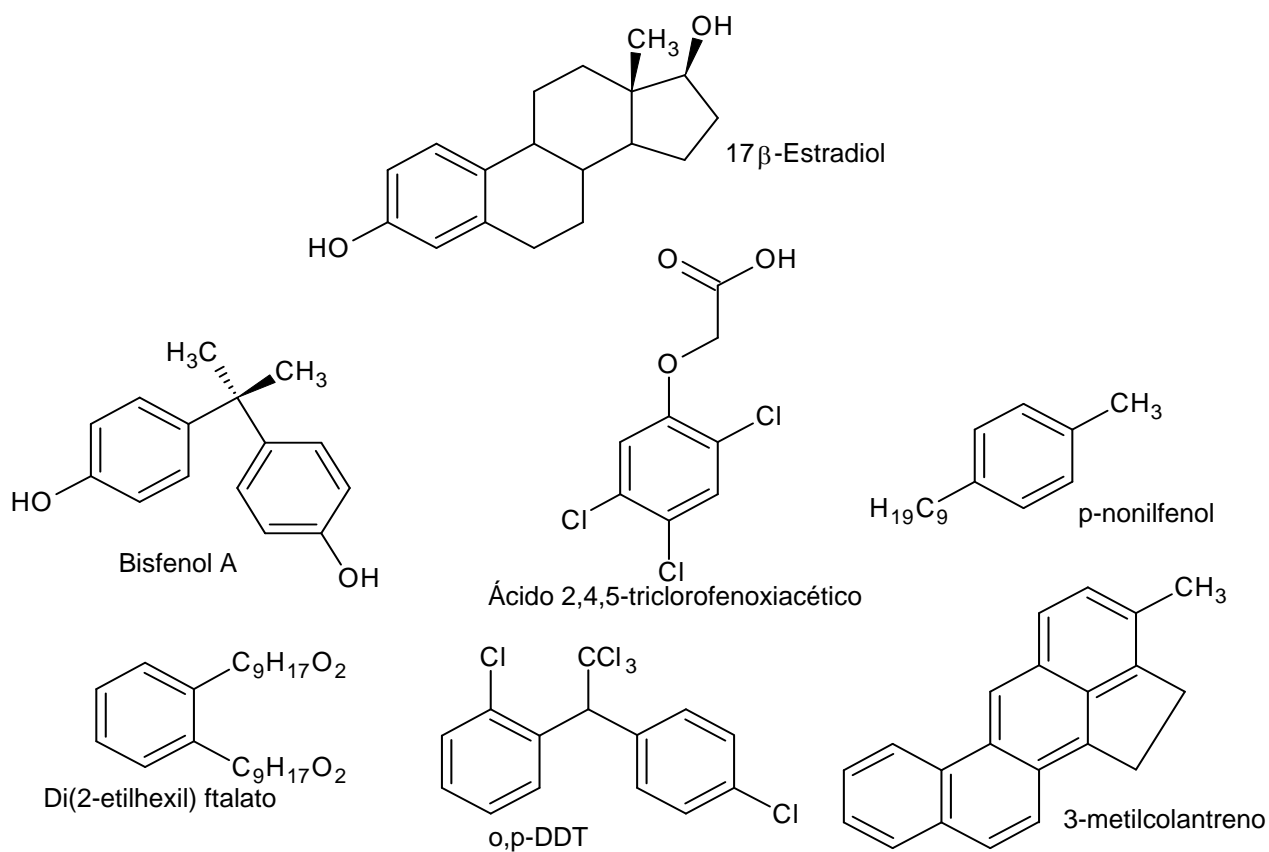
Estudios realizados han demostrado que la presencia de disruptores endocrinos en el agua declinan la calidad del esperma en especies acuáticas y aves, e incrementa la incidencia de anormalidad o desarrollo incompleto de los genitales; en mamíferos se incrementa el riesgo de cáncer de seno, testicular y de próstata (Rhombert & Seeley, 2005).

Algunos estrógenos utilizados como anticonceptivos y para el tratamiento de desórdenes hormonales frecuentes como la menopausia, son los responsables en muchos casos de la aparición de fenómenos de feminización, hermafroditismo y disminución de la fertilidad en peces (Carballa, et al, 2004).

Se ha reportado que a niveles traza (ng y µg/L) los disruptores endocrinos son altamente peligrosos para la salud humana, afectando varios tejidos no reproductivos y al sistema inmunológico. Algunas hormonas sexuales y xenoestrógenos, son fácilmente difundidos en el ambiente donde tienen el potencial de bioacumularse en la grasa corporal alcanzando una dosis considerable con el tiempo, pueden ser liberados de la grasa corporal durante períodos de hambruna y también pueden transmitirse al feto durante el embarazo o a través de la leche materna (Rahman, Yanful, & Jasin, 2008; Trenholm, 2006).

Los compuestos químicos que conforman este grupo de contaminantes emergentes han sido utilizados durante muchos años y su estudio es reciente debido a que no se habían desarrollado equipos y métodos sensibles para su determinación. Actualmente y a pesar del desarrollo de las nuevas metodologías para su detección en matrices ambientales, aún no se han publicado las normas sanitarias que regulen su presencia en el ambiente, y la información toxicológica disponible es muy limitada (Barceló, 2008).

Figura No 3. Estructura química de algunos contaminantes emergentes encontrados en matrices ambientales: estrógenos y xenoestrógenos.



Fuente: (Wright & Welbourn, 2002).

## 7. Productos farmacéuticos y de aseo personal

Los fármacos y productos de aseo personal (PPCPs: pharmaceuticals and personal care products), comprenden un diverso grupo de miles de compuestos químicos incluyendo fármacos de uso humano expendidos con o sin receta médica, medicamentos veterinarios, suplementos nutricionales y otros productos utilizados por razones estéticas, tales como perfumes, cosméticos, cremas, bloqueadores de sol y productos utilizados por la agroindustria para aumentar el crecimiento y salud del ganado (Barceló & López, 2008).

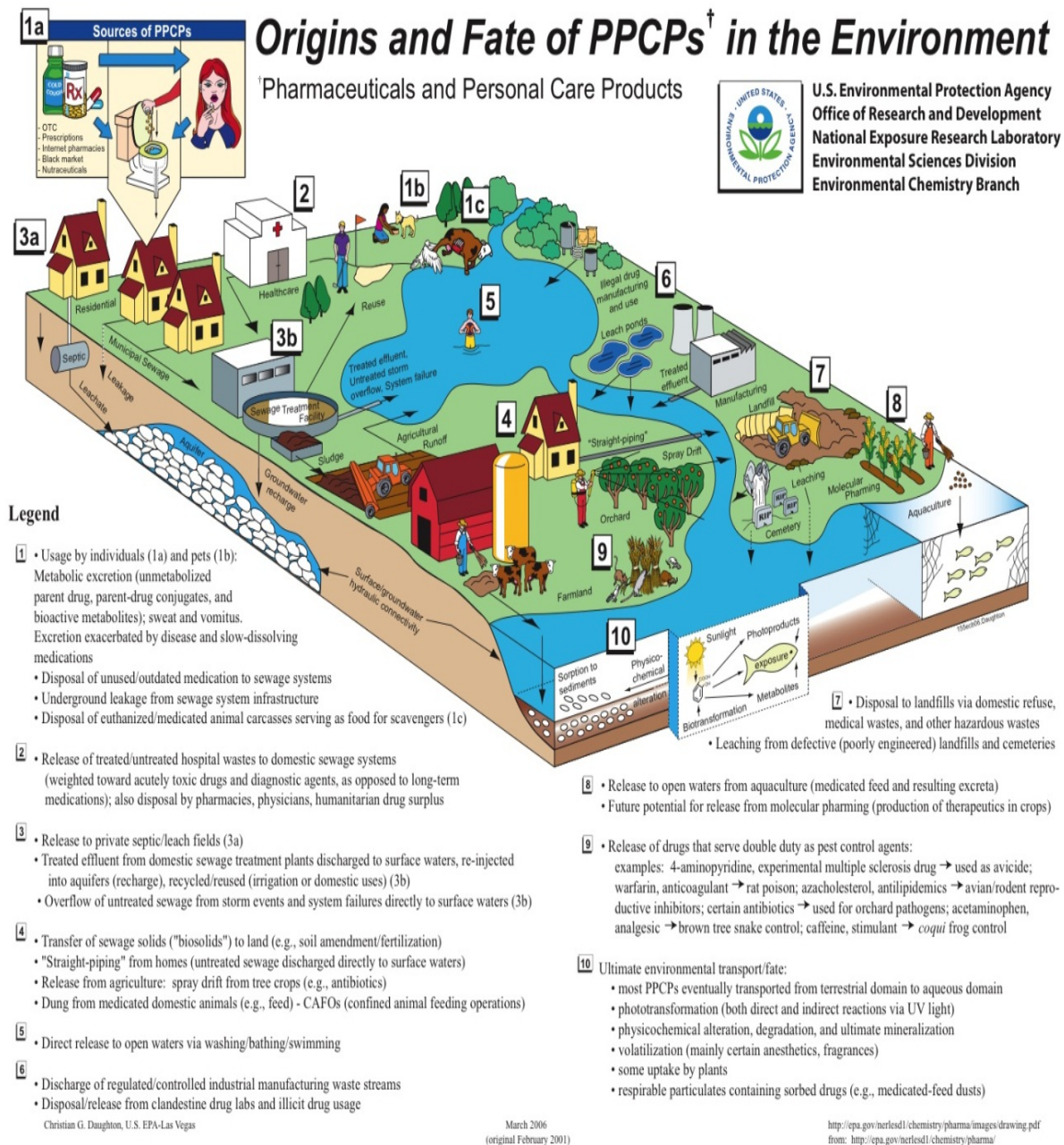
De la amplia gama de productos farmacéuticos y de aseo personal, los fármacos son los que probablemente han sido motivo de mayor preocupación y estudio en los últimos años, debido al alto consumo y elevada producción a nivel mundial. Dentro de los fármacos altamente prescritos están: los analgésicos y antiinflamatorios, como el ibuprofeno y el diclofenaco; los antiepilépticos como la carbamacepina; los antibióticos como la amoxicilina y el sulfametoxazol; los  $\beta$ -bloqueantes como el metoprolol; además están los reguladores de lípidos, medios de contraste en rayos X, anticonceptivos orales, esteroides, broncodilatadores, tranquilizantes, entre otros. La mayor preocupación radica en que la mayoría de estos compuestos mantiene su actividad farmacológica fuera de los ambientes para los que fueron diseñados (Barceló & López, 2008).

Los PPCPs pueden llegar al medio ambiente a través de diversas rutas como: aguas residuales domésticas tratadas y no tratadas, en las excretas (heces y orina) en forma de metabolitos que se forman después de su consumo humano y veterinario (ver figura 4). Ésta última constituye la fuente más importante de PPCPs, sobretodo en aguas residuales y superficiales. Otras fuentes que potencialmente pueden introducir los PPCPs en el medio ambiente son (Cal.Government, 2007; EPA, 2006):

- la lixiviación de los vertederos después de la eliminación de PPCPs caducados.
- la eliminación de los PPCPs vencidos en el inodoro del baño.
- la liberación de PPCPs absorbidos por la piel por medio de aplicación externa (lociones, cremas, etc.) a las aguas superficiales en actividades tales como natación.

- el estiércol utilizado para la modificación del suelo y la fertilización puede contener rastros y metabolitos de fármacos de uso veterinario.

Figura 4. Origen y destino de los PPCPs en el medio ambiente



Fuente: (EPA, 2001).

El interés de su estudio radica en que los PPCPs como esteroides, drogas prescritas y no prescritas, antibióticos, hormonas y fragancias han sido identificados en la última década como una fuente clave de contaminantes emergentes en aguas superficiales y subterráneas de áreas urbanizadas. Se estima que persisten durante largos periodos de tiempo y además, se ha demostrado que pueden quedar retenidos en el suelo según sus propiedades fisicoquímicas particulares, provocando una acumulación que afecta al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica, por lo que una evaluación de su presencia en matrices ambientales requiere un estudio integrado del agua subterránea- suelo/sedimento-agua superficial-suelo (Barceló & López, 2008; Albrant, 2010).

El riesgo de la presencia de PPCPs en el medio ambiente es mayor para los organismos acuáticos debido a que están continuamente expuestos a estos productos dando como consecuencia una exposición multi-generacional (Cal.Government, 2007).

Estudios realizados por científicos de universidades estadounidenses han demostrado que la exposición a medicamentos antidepresivos, retrasa el desarrollo de las extremidades en los renacuajos y tiene efectos cardiovasculares en peces. También se ha indicado que productos de cuidado personal como las fragancias provocan efectos tóxicos específicamente sobre el pez espada y otras especies marinas (Méndez-Arriaga, et al, 2008).

Para los seres humanos, el consumo de agua potable con concentraciones traza: partes por billón (ppb) y partes por trillón (ppt) de diferentes tipos de PPCPs, ha sido identificado como una de las principales vías de exposición; pero las investigaciones realizadas hasta el momento no han encontrado evidencia de efectos adversos para la salud humana (Cal.Government, 2007).

A pesar de que los efectos para los humanos no parecen estar claramente evidenciados, varios estudios demuestran que existe un riesgo innegable y alarmante, ya que las consecuencias se dan de manera indirecta. Un ejemplo de ello son los antibióticos en el agua que pueden incrementar el riesgo de que se desarrollen cepas bacterianas resistentes,



que hagan que estos compuestos resulten ineficaces para el fin para el que fueron diseñados (Barceló, 2008).

El problema no solo radica en el descarte inadecuado y la introducción al medio ambiente de los productos farmacéuticos, sino también, su alto consumo, ya que son utilizados grandes volúmenes a nivel mundial con un estimado de consumo anual mundial per cápita de 15 g, incrementándose de tres a diez veces en países desarrollados; donde se consume entre 50 g y 150 g de productos farmacéuticos. Los antibióticos ocupan el tercer puesto en volumen de uso de todos los fármacos utilizados en medicina humana y representan el 70% de los empleados en medicina veterinaria (Barceló & López, 2008; Pal, Gin, Lin, & Reinhard, 2010).

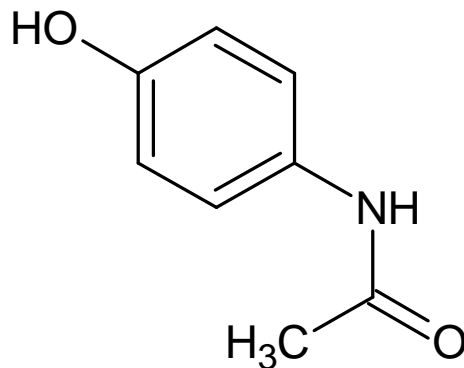
De las investigaciones llevadas a cabo hasta ahora, solo algunos fármacos están siendo considerados por la Agencia Estadounidense de Protección del Medio Ambiente -U.S. EPA- como posibles candidatos a ser incluidos en la lista de los contaminantes orgánicos prioritarios en el agua potable, como es el caso del diclofenaco (antiinflamatorio no esteroideo -AINES-), la carbamacepina (antiepiléptico) y el cloranfenicol (antibiótico), sin embargo por el momento no se han fijado límites máximos en el agua potable. Con los avances tecnológicos se mejorará la capacidad de identificarlos y establecer el impacto que tienen en la salud humana y el medio ambiente, lo más probable es que en un futuro próximo sean regulados ya que a pesar que se desconoce la cantidad de contaminantes farmacéuticos que se encuentran en el agua, se puede asegurar que se trata de un problema sanitario a escala mundial, para el cual no existe todavía un marco legal definido (Méndez-Arriaga, et al, 2008).

De la amplia lista de fármacos existentes, en el presente estudio únicamente se analizaron seis fármacos: acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno, ya que son de uso común y además son expendidos sin receta médica. A continuación se describen los principales usos y estructuras de los fármacos estudiados:

**a) Acetaminofeno o paracetamol**

Es un analgésico y antipirético para-aminofenólico que está indicado para el tratamiento a corto plazo del dolor moderado; especialmente después de cirugía y para el tratamiento a corto plazo de la fiebre. El paracetamol se metaboliza principalmente en el hígado y es eliminado por la orina, aproximadamente el 90% en 24 horas (Kern-Pharma, 2012).

Figura 5. Estructura química del acetaminofeno o paracetamol. Nombre IUPAC: 4'-hidroxiacetanilida. Peso molecular: 151,5 g/mol

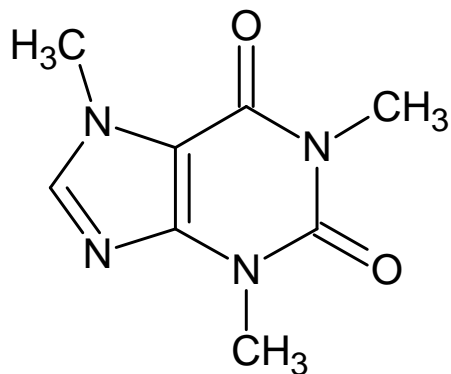


Fuente: (USP, 2006).

**b) Cafeína**

Es un alcaloide presente naturalmente en 60 especies de plantas entre ellas: el café, el té y el cacao, también es utilizada ampliamente para la preparación de bebidas carbonatadas, con alto contenido de cafeína. Se utiliza en algunos medicamentos como psicoestimulante, analgésico y broncodilatador. La administración de cafeína provoca un aumento de la presión arterial; se absorbe por el tracto intestinal de forma rápida y completa, presentando una biodisponibilidad del 100% (Pardo, Álvarez, Tafalla y Farré, 2007).

Figura 6. Estructura química de la cafeína. Nombre IUPAC: 1,3,7-trimetilxantina. Peso molecular 194,19 g/mol

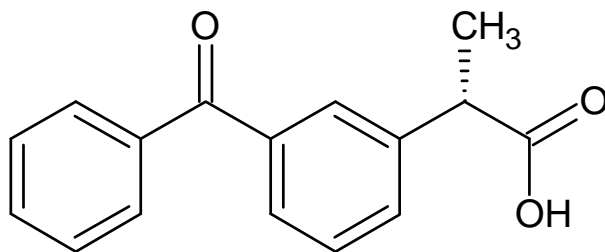


Fuente: (USP, 2006).

### c) Dexketoprofeno

El dexketoprofeno es un fármaco perteneciente a la familia de los AINEs (antiinflamatorio no esteroideo). Debido a su acción analgésica está indicado en el tratamiento sintomático del dolor agudo, del dolor de intensidad leve o moderada, tal como dolor de tipo muscular o de las articulaciones, dolor menstrual, dolor dental. También es conocido como Dexketoprofeno Trometamol (Wechter, 1998).

Figura 7. Estructura química del dexketoprofeno. Nombre IUPAC: Ácido (2S)-2-[3-(benzoil)fenil]propanoico. Peso molecular: 254.28 g/mol

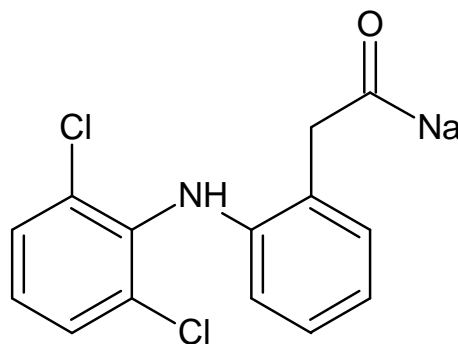


Fuente: (USP, 2006).

#### d) Diclofenaco sódico

Es un antiinflamatorio que posee actividades analgésicas y antipiréticas. Está indicado por vía oral e intramuscular para el tratamiento de enfermedades reumáticas agudas, artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, artrosis, lumbalgia, gota en fase aguda, inflamación postraumática y postoperatoria, cólico renal y biliar, migraña aguda, y como profilaxis para dolor postoperatorio y dismenorrea. Este fármaco es de rápida y completa absorción, aunque, esta se vuelve lenta al administrarse simultáneamente con los alimentos. Alcanza concentraciones máximas en término de 2 a 3 horas (UNAM, 2007).

Figura 8. Estructura química del diclofenaco sódico. Nombre IUPAC: [o-(2,6-dicloroanilino)fenil] acetato de sodio. Peso molecular 318,13 g/mol



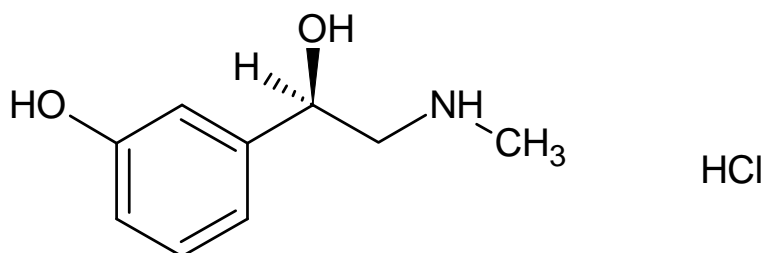
Fuente: (USP, 2006).

#### e) Fenilefrina

La fenilefrina es utilizada para aliviar los síntomas (no trata la causa, ni acelera la recuperación) de la gripe y del resfriado; aliviando las molestias nasales, las alergias y la fiebre del heno. La fenilefrina es un potente vasoconstrictor (descongestionante nasal) actúa disminuyendo la inflamación de los vasos sanguíneos en los conductos nasales. También es aplicada tópicamente sobre los ojos produciendo midriasis, siendo utilizada con fines de diagnóstico en el examen del fondo de ojo. La fenilefrina se absorbe de forma irregular siendo, además rápidamente metabolizada en el hígado y en el intestino, pero se

desconocen cuáles son los metabolitos (Instituto Químico Biológico, 2004; Instituto Nacional de Salud de E.E.U.U., 2011).

Figura 9. Estructura química del clorhidrato de fenilefrina. Nombre IUPAC: Clorhidrato de alcohol (-)-m-hidroxi- $\alpha$ -[(metilamino)metil]bencílico. Peso molecular 203,67 g/mol

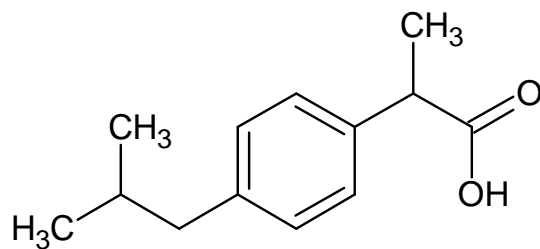


Fuente: (USP, 2006).

#### f) Ibuprofeno

Es un fármaco analgésico antiinflamatorio no esteroideo, que posee propiedades antipiréticas. Es un derivado del ácido fenilpropiónico, útil para el alivio sintomático de los dolores ocasionales, leves o moderados; como dolores de cabeza, dentales, menstruales, musculares (contracturas) o de espalda (lumbalgia). Se absorbe por vía oral de forma completa y tiene una biodisponibilidad del 80% (Instituto Químico Biológico, 2004; Instituto Nacional de Salud de E.E.U.U., 2011).

Figura 10. Estructura química del ibuprofeno. Nombre IUPAC: Ácido ( $\pm$ )-2-(p-isobutilfenil) propiónico. Peso molecular 206,28 g/mol



Fuente: (USP, 2006).

### **E. Muestreo pasivo**

La mayoría de monitoreos acuáticos consisten en la toma de muestras de agua en recipientes herméticos en un punto y tiempo específico, pero existen contaminantes presentes en el agua únicamente a niveles traza para lo cual son requeridos grandes volúmenes de muestra para poder coleccionar la cantidad suficiente de analito, y así determinar su presencia o ausencia. Así mismo la concentración de estos contaminantes en el agua no es constante, y los episodios en donde se incrementa su concentración pueden no coincidir con el momento de adquisición de la muestra. El incremento en la frecuencia de monitoreo y la instalación de monitores automáticos que tomen numerosas muestras de agua durante un período de tiempo son soluciones que resultan costosas e imprácticas, ya que es difícil encontrar un lugar seguro para la instalación, y algunas muestras requieren un pretratamiento antes de ser analizadas. Es por ello que se ha planteado el uso de muestreadores pasivos, que resultan herramientas satisfactorias para la medición de contaminantes en disoluciones acuosas y que se encuentran en bajas concentraciones, prescindiendo de coleccionar grandes volúmenes de agua para obtener el analito de interés (Branislav, Graham, Ian, Dominiak, Svensson, & Knutsson, 2005).

La aplicación de la tecnología de muestreo pasivo para monitorear contaminantes orgánicos emergentes en el ambiente fue utilizado por primera vez en 1990, y fue a partir de esta fecha que se han ido reconociendo mundialmente como herramientas efectivas en investigación ambiental ya que tienen la ventaja de no poseer partes móviles o mecánicas y no necesitan electricidad o derivados del petróleo para funcionar (Álvarez, 2010).

Las diferentes aplicaciones para el uso de muestreadores pasivos dependen del grado de complejidad y objetivos de la investigación, y han sido ampliamente empleados en campos de estudio como (Branislav, Graham, Ian, Dominiak, Svensson, & Knutsson, 2005):

- a. Proyección de presencia y ausencia de contaminantes.
- b. Investigación de las tendencias en los niveles de contaminantes del agua.

- c. Monitoreo de la distribución espacial de los contaminantes, fuentes de contaminación y difusión.
- d. Especiación de contaminantes.
- e. Evaluación del destino de contaminantes y la distribución en los compartimentos ambientales.
- f. Medición de las concentraciones promedio ponderada en el tiempo (TWA= time weighted average) de contaminantes en el agua.
- g. La evaluación de la toxicidad de los contaminantes biodisponibles.

Actualmente existen dos tipos de muestreadores pasivos utilizados comúnmente para contaminantes orgánicos: el dispositivo de membrana semipermeable (SPMD) y el muestreador integrado para compuestos polares orgánicos (POCIS), ambos comparten ciertas características de diseño como una barrera entre el medio muestreado (en este caso agua) y la fase receptora que es la que determina la velocidad a la cual las moléculas de analito son colectadas. Esta fase define la selectividad, restringiendo la clase de analitos o especies muestreadas. Ambos dispositivos tienen un tiempo promedio de exposición de 30 días, aunque se han realizado muestreos pasivos de una semana y de un año (depende del objetivo del estudio) pero no es lo más común debido a que, en los períodos de exposición muy cortos pasan volúmenes muy pequeños de agua a través del muestreador y no se logra captar la cantidad suficiente de analito, debido a que estos se encuentran en concentraciones muy bajas; y con una exposición prolongada se puede producir un equilibrio entre el muestreador y ciertos compuestos que no sean de interés, inhibiendo la habilidad del muestreador de acumular más analito. Además existe el riesgo de daño o pérdida del muestreador por vandalismo al estar expuesto por más tiempo. Los muestreadores pasivos están diseñados para que una vez expuestos al agua, logren colectar la cantidad máxima de moléculas de analito que se encuentran a niveles muy bajos ya sea por difusión o permeabilidad. La tasa de absorción de los analitos depende del diseño del muestreador, de las propiedades fisicoquímicas y variables medioambientales como la turbulencia del agua, temperatura y pH. Una vez colectada la muestra, los pasos futuros en el procesamiento de la muestra usualmente son los mismos métodos que se utilizan en una pre-concentración y

un análisis químico. Estos incluyen extracción y desorción de los analitos, análisis instrumental y procesamiento de datos (Álvarez, 2010).

La elección del tipo de muestreador que se utilizará depende de los compuestos de interés que se quieran analizar. Algunas veces SPMD y POCIS son utilizados simultáneamente para obtener una muestra con un rango más amplio de contaminantes orgánicos de los que se puede obtener con un solo muestreador (Álvarez, Cranor, Perkins, Clark, & Smith, 2008).

### **1. Dispositivo de membrana semipermeable (SPMD = semipermeable membrane device)**

El SPMD es un tubo aplanado de polietileno de baja densidad relleno con aproximadamente 1 ml de trioleína y sellado en ambos extremos. Generalmente utilizado para muestrear compuestos orgánicos neutros o hidrofóbicos con un  $\log K_{ow} > 3$ . ( $K_{ow}$  es el coeficiente de reparto octanol-agua también llamado coeficiente de partición o de reparto). (Álvarez, 2010).

Los compuestos hidrofóbicos pasan fácilmente y se acumulan en la trioleína que se encuentra en el interior de la membrana del SPMD. Dentro de los compuestos que se pueden capturar con SPMD y que cumplen con un  $\log K_{ow} > 3$  se encuentran los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), bifenilospoliclorados, pesticidas clorados, difeniléteres polibromados (PBDE), dioxinas y furanos. La mayoría de contaminantes hidrofóbicos que se han encontrado en efluentes de aguas residuales como fragancias, triclosan y ftalatos se han podido captar con SPMD. Compuestos ionizados y metales no pueden pasar la membrana (Álvarez, 2010).

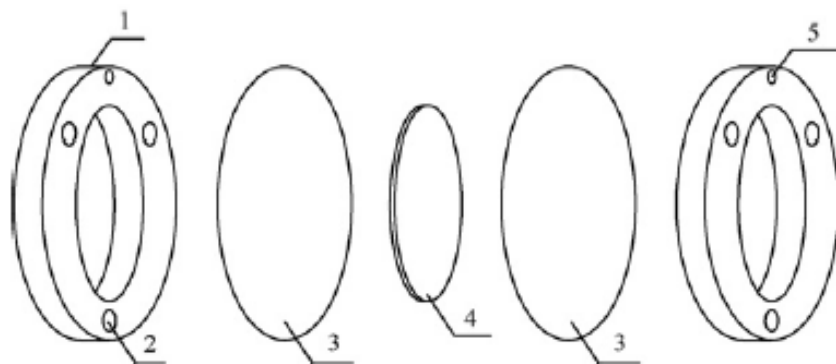


## 2. Dispositivo para el muestreo integrado de compuestos orgánicos polares (POCIS= polar organic compounds integrative sampler)

Los POCIS son útiles para muestrear compuestos orgánicos hidrofílicos (más solubles en agua) con un  $\log K_{ow} < 3$ . Estos incluyen la mayoría de los fármacos, drogas ilícitas, pesticidas polares, retardantes de llama, surfactantes, metabolitos y productos de degradación. Sin embargo, aunque los  $K_{ow}$  de las hormonas esteroides, fragancias, triclosan y otros compuestos relacionados a efluentes de aguas residuales, son generalmente mayores a 3 son muestreados de preferencia con un dispositivo tipo POCIS (Álvarez, 2010).

El POCIS comprende una fase receptora de un material sólido (sorbente o absorbente) intercalado entre dos membranas microporosas de polietersulfona de 47 mm de diámetro y un tamaño de poro de  $0,1\mu\text{m}$  que limitan la difusión. El tipo de absorbente usado se puede cambiar para captar ciertos compuestos o químicos en específico (ver figura 11) (Branislav, Graham, Ian, Dominiak, Svensson, & Knutsson, 2005).

Figura 11. Diagrama de un dispositivo tipo POCIS (1: anillos sostenedores de acero inoxidable, 2: tornillos, 3: membrana de polietersulfona, 4: absorbente: OASIS HLB o polidivinilbenceno-co-N-vinilpirrolidona , 5: agujero)



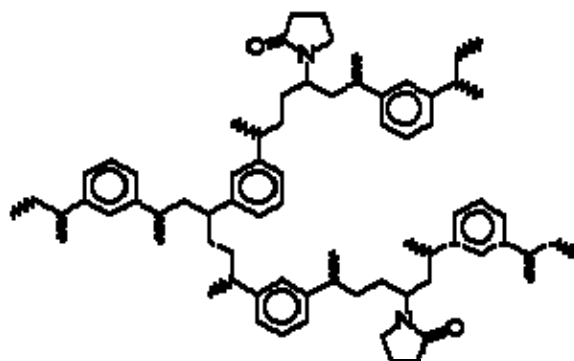
Fuente: (Zhang, Hibberd, & Zhou, 2007).

Existen dos variantes de POCIS que están disponibles comercialmente y son comúnmente conocidos como POCIS para pesticidas o genéricos (Pest-POCIS) y POCIS para fármacos (pharm-POCIS), la diferencia radica en el sólido absorbente que capta el analito (Álvarez, 2010; Söderström, Lindberg, & Fick, 2008).

Los POCIS para pesticidas o genéricos consisten en 200 mg una mezcla trifásica de absorbentes en fase sólida: Isolute ENV<sup>®</sup> + (compuesto no polar e hidrofóbico) y S-X3 en una relación 80:20 W:W que se encuentra dispersada en Ambersorb<sup>®</sup> 1500 o 572 BioBeads<sup>®</sup>. Esta mezcla trifásica se encuentra encapsulada en medio de dos membranas de polietersulfona (PES). Este tipo de POCIS es el más utilizado para muestrear la mayoría de pesticidas y hormonas naturales y sintéticas (Álvarez, 2010; Branislav, Graham, Ian, Dominiak, Svensson, & Knutsson, 2005).

Los POCIS para fármacos contienen 200 mg de un copolímero de poli(divinilbenceno)-co-N-vinilpirrolidona (ver figura 12); comercializado como Oasis HLB en fase sólida (hydrophilic-lipophilic balance) y es utilizado como absorbente universal en análisis medioambiental para extracción de aguas superficiales y residuales, de una amplia variedad de sustancias químicas con múltiples grupos funcionales que se encuentran a nivel traza, especialmente la mayoría de fármacos (Álvarez, 2010; Branislav, Graham, Ian, Dominiak, Svensson, & Knutsson, 2005; Hongxia, Helm, Paterson, & Metcalfe, 2010).

Figura 12. Estructura química del polímero poli(divinilbenceno)-co-N-vinilpirrolidona, responsable de la captación de compuestos orgánicos de tipo farmacéutico



Fuente: [www.waters.nl](http://www.waters.nl)

Cada unidad POCIS tiene un área superficial efectiva de intercambio de  $41 \text{ cm}^2$  y un área superficial total de intercambio (químico) por masa de absorbente de  $\approx 180 \text{ cm}^2 / \text{g}$ . Estas medidas se ajustan a un POCIS estándar (ver figura 13). Para colocar el muestreador en el campo es necesario tener tres o seis unidades de POCIS para cada punto de muestreo (depende del diseño del equipo muestreador). Para los POCIS de seis unidades se combinan dos unidades de 3 POCIS acomodados en una canasta de acero inoxidable resultando una repetición por duplicado de cada punto de muestreo, para realización de pruebas en el laboratorio (Álvarez, 2010; Söderström, Lindberg, & Fick, 2008).

Figura 13. Dispositivo para el muestreo integrado de compuestos orgánicos polares - POCIS-



Fuente: (Álvarez, 2010).

### 3. Usos y cuidados de muestreadores pasivos

Tanto los SPMD como los POCIS se colocan dentro de una canasta o contenedor utilizados comúnmente para proteger el muestreador pasivo de los daños, y permitir el adecuado movimiento de agua a través de la canasta. Las aberturas de la canasta deben ser lo suficientemente pequeñas para prevenir que organismos acuáticos entren a la canasta y

causen daño en la fase receptora de los muestreadores. El material del que están contruidos los contenedores o canastas debe ser durable y libre de cualquier compuesto que pueda contaminar la fase sólida. Generalmente son manufacturados de acero inoxidable y recubiertos con una capa de aceites que sirven para evitar corrosión. Los componentes plásticos pueden desprender compuestos orgánicos e inorgánicos que pueden eventualmente ser absorbidos por el muestreador pasivo contaminándolo (ver figura 14) (Álvarez, 2010).

Figura 14. Canasta o contenedor de acero inoxidable para SPMD (a la izquierda) y para POCIS (derecha).



Fuente: (Álvarez, 2010).

El factor más importante en el sitio de muestreo es que el muestreador pasivo permanezca completamente sumergido durante el periodo de exposición. Si los muestreadores entran en contacto con el aire durante la exposición, existe la posibilidad de contaminación por las corrientes de aire y la pérdida de los compuestos atrapados. El vandalismo constituye un riesgo en el uso de los muestreadores pasivos en el campo, ya que pueden ser removidos del agua resultando en la pérdida del mismo y de los datos que se pudieron recolectar, por lo que se debe tener cuidado al elegir el lugar correcto donde serán colocados (Álvarez, 2010).

Tomar en cuenta al momento de colocar el muestreador, que algunos contaminantes como hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH), polibromodifeniléteres (PBDE) y algunos fármacos, se degradan rápidamente bajo la exposición al sol. Si se va a muestrear con SPMD hay que tomar en cuenta que la membrana de polietileno es transparente a la radiación ultravioleta y será necesario un sistema que proteja al muestreador de los rayos UV. Esto no ocurre con los POCIS ya que la membrana de polietersulfona que recubre la fase receptora es opaca por lo tanto la fotodegradación no es un problema (Álvarez, 2010).

Los SPMD son extremadamente sensibles a aceites, pinturas, solventes, humo de cigarrillos, fragancias, desodorantes, bloqueadores solares, etc., por lo que es estrictamente necesario utilizar guantes, evitar lociones, repelentes y polvos, durante la manipulación de los muestreadores y si el personal de campo los utiliza; indicar el tipo, marca e ingrediente activo en las hojas de campo y asegurarse que el área de muestreo esté libre de una capa de aceites o solventes flotante (Álvarez, 2010).

#### **F. Cromatografía líquida de alta eficacia (High performance liquid chromatography -HPLC-)**

La cromatografía líquida de alta eficacia, es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. Las separaciones se logran por procesos de partición, adsorción o intercambio iónico, según el tipo de fase estacionaria empleada. La HPLC tiene ciertas ventajas: los compuestos que se van a analizar se disuelven en un disolvente adecuado y la mayoría de las separaciones tienen lugar a temperatura ambiente. Por lo tanto, los fármacos, aun siendo compuestos no volátiles o térmicamente inestables, pueden ser analizados por HPLC sin descomposición o sin necesidad de hacer derivados volátiles. La mayoría de los análisis farmacéuticos se basan en la cromatografía de partición y se completan dentro de los 30 minutos de corrida (USP, 2006).

Se han realizado diversos estudios utilizando HPLC como técnica analítica de cuantificación, específicamente de fármacos, sin embargo, hasta hace un par de décadas

estos compuestos se cuantifican en matrices ambientales acuáticas, en donde se detectan en concentraciones de partes por trillón (ppt).

Este tipo de estudios se han llevado a cabo mayormente en países europeos y en E.E. U.U., En Alemania se realizó un estudio apoyado por el Ministerio de Ambiente de ese país, y se analizaron alrededor de 60 fármacos incluyendo sus metabolitos de degradación, utilizando HPLC con detector de masas para la cuantificación. Dentro de los compuestos encontrados están: antibióticos, disruptores endocrinos y analgésicos, entre otros. Este tipo de sustancias fueron encontradas tanto en aguas residuales como en aguas superficiales (Sacher, Lange, Braunch & Blankerhorn, 2001).

En California, E.E. U.U., se realizó un estudio donde se evaluaron las concentraciones de 14 compuestos farmacéuticos en aguas subterráneas usadas para el suministro de agua potable en 1231 muestras, donde se detectaron concentraciones de acetaminofeno (1,89  $\mu\text{g/L}$ ), cafeína (0,29  $\mu\text{g/L}$ ), carbamacepina (0,24  $\mu\text{g/L}$ ), codeína (0,214  $\mu\text{g/L}$ ), sulfametoxazol (0,17  $\mu\text{g/L}$ ), entre otros analitos (Fram & Belitz, 2011).

#### IV. JUSTIFICACION

En Guatemala, se han realizado numerosas investigaciones sobre los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de varios cuerpos de agua, sin embargo, hasta el inicio de este estudio no se había determinado la presencia de contaminantes emergentes en el agua. Este tipo de compuestos han adquirido especial interés porque se sabe poco o nada sobre ellos en el ambiente, razón por la cual también carecen de legislación y control, aunque su presencia en el medio ambiente no es nueva, sus efectos potencialmente negativos y consecuencias para los ecosistemas sobre todo acuáticos, han sido el motor para el estudio de los mismos, en años recientes. (Barceló & López, 2008).

Los contaminantes emergentes comprenden una extensa lista de sustancias químicas, pero los que probablemente suponen mayor preocupación son los fármacos debido a su elevada producción y consumo, por lo que su análisis es de suma importancia ya que representan un riesgo debido a los problemas que causan, dentro de los que se han documentado: disrupción endocrina, daños a los riñones en los mamíferos, bioacumulación, pudiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica (Vaz, 2007).

En la presente investigación, se analizaron contaminantes emergentes de tipo farmacéutico de uso común, específicamente de acetaminofeno, cafeína, diclofenaco sódico, dexketoprofeno, fenilefrina e ibuprofeno en el río Las Vacas y el río Villalobos.

Estos ríos que desembocan en el río Motagua y en el lago de Amatitlán, respectivamente son los principales focos de contaminación de las aguas de dichos cuerpos de agua, presentando concentraciones altas de fosfatos, nitratos, nitritos, sólidos, metales pesados, entre otros debido a las descargas diarias domiciliarias, industriales, agrícolas y hospitalarias de la zona metropolitana (Gil, 2008).

Debido a lo anteriormente expuesto, se presume la presencia de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico en estos ríos debido a la falta de control, al uso y dispersión de

fármacos en matrices ambientales a través de las descargas residuales tanto hospitalarias como domiciliarias. La investigación se realizó implementando el uso de muestreadores pasivos tipo POCIS, que se dejaron sumergidos tanto en el río Villalobos como en Las Vacas por 30 y 34 días respectivamente, con lo que se incrementa el volumen de la muestra de agua en cada río y se mejora por lo tanto, el límite de detección de los analitos.

Este tipo de muestreo pasivo no se había realizado en Guatemala, por lo que se estableció la línea base al realizar un monitoreo inicial, cuyo uso continuo aportará mayor información sobre los cuidados, calibración, rendimiento de extracción, etc., optimizando en un futuro, el método de muestreo.

El objetivo principal de la investigación fue contribuir a la generación de información única sobre contaminantes que hasta ahora no han sido tomados en cuenta para el diagnóstico de la calidad del agua. La información generada proporcionará una mejor perspectiva sobre la situación actual de estos cuerpos de agua, y contribuirá a que las personas encargadas de la toma de decisiones, tengan la información necesaria para que en un futuro se puedan tomar las medidas necesarias para disminuir la contaminación causada.



## **V. OBJETIVOS**

### **A. Objetivo General**

Analizar la presencia de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico en el agua del río Las Vacas, municipio de Guatemala y en el río Villalobos, municipio de Amatitlán, ambos del departamento de Guatemala.

### **B. Objetivos Específicos**

1. Analizar la presencia de acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno en el agua del río Las Vacas, municipio de Guatemala.
2. Analizar la presencia de acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno en el agua del río Villalobos, municipio de Amatitlán.
3. Implementar la metodología de muestreo pasivo utilizando un dispositivo de muestreo integrado para compuestos orgánicos polares (POCIS) para la determinación de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico en el agua del río Las Vacas y en el río Villalobos.
4. Cuantificar los contaminantes emergentes de origen farmacéutico en el agua del río Las Vacas y en el río Villalobos, cuya presencia se confirme mediante un único muestreo pasivo de 30 días.
5. Determinar los parámetros de la calidad fisicoquímica del agua como: pH, conductividad, temperatura, oxígeno disuelto, sólidos suspendidos, disueltos y totales, nitratos, nitritos, ortofosfatos, fósforo total, nitrógeno total, DBO y DQO mediante un muestreo compuesto.

## **VI. HIPÓTESIS**

El uso de muestreadores pasivos de poli(divinilbenceno)-co-N-vinilpirrolidona o pharm-POCIS durante un período de 30 días permite cuantificar la masa de acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno en el agua del río Villalobos y el río las Vacas, municipio de Amatitlán y Guatemala, respectivamente.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo y muestra

El universo estuvo comprendido por el agua del río Las Vacas del municipio de Guatemala y el agua del río Villalobos del municipio de Amatitlán. La muestra estuvo constituida por la masa de acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno captada por los muestreadores pasivos (POCIS) durante un lapso de 30 días en el río Villalobos y 34 días en el río Las Vacas.

Debido a que se cuantificó la masa de 5 de los 6 analitos propuestos mediante el muestreo pasivo utilizando POCIS, se procedió a cuantificar los contaminantes emergentes en muestras de agua de ambos ríos, en donde la muestra estuvo constituida por 500 ml de agua provenientes de un muestreo compuesto puntual que se realizó tomando 1 L de muestra cada hora durante un período de cuatro horas, en los puntos de muestreo ubicados en el mismo sitio donde se dejaron los muestreadores pasivos (ver figuras 25 y 26 en Anexos).

Para la determinación de los parámetros fisicoquímicos en aguas naturales del río Las Vacas y el río Villalobos, la muestra estuvo constituida por 1 L de agua proveniente de un muestreo compuesto puntual que se realizó tomando 1 L de agua a cada hora durante un periodo de cuatro horas en el mismo sitio donde se colocaron los muestreadores pasivos.

### B. Materiales

#### 1. Reactivos

El análisis requirió de disolventes grado HPLC, reactivos de alta pureza y agua de baja conductividad y baja absorción UV.

- Acetonitrilo  $\text{CH}_3\text{CN}$  grado HPLC
- Ácido ascórbico  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$  grado reactivo

- Ácido clorhídrico HCl grado reactivo
- Ácido fosfórico H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> grado reactivo
- Ácido sulfúrico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> grado reactivo
- Agua desionizada
- Agua ultrapura
- Almidón C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub> grado reactivo
- Cloruro de amonio NH<sub>4</sub>Cl grado reactivo
- Cloruro de Calcio CaCl<sub>2</sub> grado reactivo
- Cloruro Férrico FeCl<sub>3</sub> grado reactivo
- Dicromato de potasio K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> grado reactivo
- Estándar de acetaminofeno o paracetamol C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>
- Estándar de cafeína C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>
- Estándar dexketoprofeno trometamol C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>
- Estándar de diclofenaco sódico C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>Cl<sub>2</sub>NNaO<sub>2</sub>
- Estándar de clorhidrato de fenilefrina C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> · HCl
- Estándar de ibuprofeno C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>
- Fosfato diácido de potasio KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> grado reactivo
- Fosfato dibásico de potasio K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> grado reactivo
- Fosfato monoácido de sodio Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> grado reactivo
- Fosfato monobásico de sodio NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> grado reactivo
- Heptamolibdato de amonio tetrahidratado (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O grado reactivo
- Hidróxido de sodio NaOH grado reactivo
- Metanol CH<sub>3</sub>OH grado HPLC
- N-(1-naftil)etilendiamina diclorhidrato C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub> grado reactivo
- Nitrato de potasio KNO<sub>3</sub> grado reactivo
- Nitrito de Sodio NaNO<sub>2</sub> para análisis
- Nitruro de sodio Na<sub>3</sub>N grado reactivo
- Oxidotartrato de antimonil (III) potasio hemihidrato C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>KO<sub>7</sub>Sb · 0,5 H<sub>2</sub>O grado reactivo

- Peroxidisulfato de potasio  $K_2S_2O_8$  grado reactivo
- Salicilato de sodio  $C_7H_5NaO_3$  grado reactivo
- Sulfanilamida  $C_6H_8N_2O_2S$  grado reactivo
- Sulfato de manganeso heptahidratado  $MnSO_4 \cdot 7H_2O$  grado reactivo
- Tartrato doble de sodio y potasio tetrahidratado  $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$  para análisis
- Tiosulfato de sodio pentahidratado  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$  grado reactivo
- Yoduro de Sodio NaI grado reactivo

## 2. Cristalería

- Balones aforados de 2, 25, 50, 100, 1000 y 2000 ml
- Balones aforados de 50 ml color ámbar
- Beakers de vidrio 5, 50, 100 y 250 ml
- Beakers de plástico de 50 y 100 ml
- Probetas de vidrio de 10, 25, 50 y 100 ml
- Probetas de plástico de 50 y 10 ml
- Botellas de vidrio graduadas de 1 L marca Kimax ® con tapón de polipropileno
- Agitadores de vidrio
- Kitasato de 1 L de capacidad
- Cápsulas de porcelana de 100 ml de capacidad
- Botellas Winkler para DBO de 300 ml de capacidad
- Bureta de vidrio de 10 ml de capacidad ( $0,02 \text{ ml} \pm 0,05 \text{ ml}$  a  $20^\circ\text{C}$ )

## 3. Equipo de laboratorio

- Cromatografo líquido de alta eficacia marca Merck-Hitachi ®, modelo LaChrom, con detector UV- Visible equipado con software Delta Data Station versión 4.1

- Columna cromatográfica con fase estacionaria RP-18e marca LiChrospher ®, dimensiones: 4.0 mm D.I. x 250 mm, tamaño de partícula: 5 µm
- Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible marca Thermo Scientific ®, modelo Evolution 300, con lámpara de xenón y paquete software VISIONPro
- Balanza analítica marca RADWAG ®, modelo XA60/220/X, capacidad de 220 g
- Fotómetro marca MERCK ® modelo Spectroquant NOVA 60
- Digestor marca HACH modelo DRB 200
- Rotavapor marca Heidolph ®, modelo LABOROTA 4000 eco
- Baño ultrasónico marca Branson modelo 2510
- Embudo de filtración al vacío de vidrio marca Whatman ®, capacidad de 250 ml, tamaño de filtro 47 mm
- Pipeta automática electrónica de volumen variable (0,1 a 50 ml) marca Eppendorf ®, modelo Multipette Stream/Repeater Xstream, software 03.01.00
- Pipeta automática de volumen variable (0,5-5 ml) marca Brand ®, modelo Transferpette
- Pipeta automática de volumen variable (10-1000 µl) marca Brand ®, modelo Transferpette
- Bomba de vacío para uso interno marca Rocker ®, 1,8 hp, 115 v, capacidad máxima de vacío 650 mm de Hg
- Purificador para agua ultrapura marca ELGA ®, modelo purelab option – Q DV-25
- Horno convencional marca PREMLAB Ovens ®
- Desecadora tipo gabinete con módulo de secado eléctrico marca As One ®
- Incubadora marca HACH modelo 205
- Viales para DQO marca Merck provistos 3 ml de mezcla oxidante (ácido crómico, ácido sulfúrico, sulfato de plata y sulfato de mercurio), para lecturas de bajo rango (10-150 mg O<sub>2</sub>/L)
- Estufa con agitación magnética marca CORNING ® modelo PC-420D
- Colector de Vacío (Manifold Vacuum Processing Station) marca Agilent de diez puertos

#### 4. Material de muestreo

- Muestreadores pasivos tipo POCIS farmacéutico rellenos de: poli(divinilbenceno)-co-N-vinilpirrolidona
- Sujetadores de acero inoxidable para POCIS
- Canasta de acero inoxidable para POCIS
- Sonda para medir pH, potencial redox y temperatura marca HACH ®
- Sonda para medir conductividad, TDS y temperatura marca HACH ®
- Sonda para medir oxígeno disuelto (% y mg/L) y temperatura marca HACH ®
- Multímetro para medir pH, potencial redox, conductividad, TDS, oxígeno disuelto y temperatura marca HACH ® modelo HQ40d multi, con buffers de calibración, solución de enjuague y 4 baterías AA
- Botellas de polipropileno L- Agrín ®, 1 L de capacidad
- Conos imhoff de policarbonato marca Nalgene ®, 1 L de capacidad
- Base de metal para conos de Imhoff
- Hielera marca Igloo ® de 45 L

#### 5. Material de Laboratorio

- Puntas de polipropileno para pipeta automática electrónica marca Eppendorf Combitips ®, volúmenes: 0,1, 0,2, 1, 5, 10, 25 y 50 ml
- Puntas para pipeta automática marca Brand ®, volúmenes: 0,5 a 5 ml
- Puntas para pipeta automática marca Brand ®, volúmenes: 100 a 1000 µl
- Jeringa de vidrio para HPLC de 50 µL marca Thermo Scientific ®
- Viales certificados para HPLC marca Waters ® de 9 mm, color ámbar, con tapón de rosca de PTFE y septo de silicón
- Filtros de fibra de vidrio marca MFS, grado GC 50 de 47 mm de diámetro
- Filtros de poliamida marca Sartorius Stedim ®, tamaño de poro: 0,45 µm para filtrar solventes

- Filtros de jeringa de HPLC marca Spartan® de 30 mm de diámetro y 0,45 µm
- Cartuchos para extracción en fase sólida marca AccuBOND ODS-C18
- Termómetro de mercurio con escala de -10 a 160 °C
- Espátulas de acero inoxidable
- Pinzas de acero inoxidable
- Agitador o barra magnética pequeña
- Gradilla
- Micropipetas de plástico de 2-3 ml de capacidad
- Licuadora marca OSTER ® de 1,25 L de capacidad
- Guantes de nitrilo marca Ambiderm ® talla M
- Papel aluminio marca Diamond ®, dimensiones: 3,48 m<sup>3</sup> (7,62 m de largo x 45, 7 cm de ancho)
- Papel mayordomo
- Pizetas de 125 y 250 ml
- Papel parafilm 4" x 125"
- Llave combinada para tuercas

## **C. Métodos**

### **1. Obtención de las muestras por implementación de dispositivos pasivos**

(Álvarez, 2010; Álvarez, Cranor, Perkins, Clark, & Smith, 2008).

- 1.1. La manipulación de los muestreadores se realizó con guantes y con las manos limpias teniendo el cuidado de que ningún producto cosmético entrara en contacto con la membrana receptora de los muestreadores antes de ser expuestos.
- 1.2. El sostenedor ensamblado (al sostenedor se sujetaron 3 filtros POCIS) se transportó al campo en recipientes herméticos que no fueron abiertos sino hasta antes de usarse para evitar la contaminación con compuestos químicos presentes en el aire (ver figura 15).



Figura 15. Muestreador pasivo con 3 filtros POCIS y canasta utilizados para la captación de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico



Fuente: Fotografía tomada por William Gularte

1.3. Los muestreadores con POCIS vírgenes se introdujeron en la canasta o contenedor ajustando bien todos los tornillos y se sumergieron a 30 cm de la superficie del agua, fueron colocados en zonas seguras que poseían vigilancia, en el río Villalobos se colocó en la planta de tratamiento de aguas residuales “La Serra” antes de iniciar el tratamiento, y en el río Las Vacas se colocó en el Parque Ecológico Cayalá, esto se hizo para minimizar el riesgo del pérdida del mismo, además se evitaron zonas rocosas donde pueden crecer organismos dentro y fuera de la canasta. Se utilizó alambre de amarre para sujetar las canastas que contienen los muestreadores y para hacer más segura la posición de las mismas (ver figura 16 y 17).

Figura 16. Colocación del muestreador pasivo (POCIS) y sujeción a una barrera de contención en el sitio de muestreo del río Villalobos



Fuente: Fotografía tomada por: William Gularte

Figura 17. Muestreador pasivo sumergido a 20 cm de la superficie del agua en el sitio de muestreo del río Villalobos



Fuente: Fotografía tomada por Elisandra Hernández

- 1.4. El muestreador pasivo POCIS se expuso durante 30 días en el río Villalobos y durante 34 días en el río Las Vacas (figura 18).
- 1.5. Al finalizar el período de exposición se lavó únicamente la canasta y el sostenedor con abundante agua desionizada para remover sales, sedimentos y crecimiento biológico, tratando de no lavar la fase receptora que contiene los analitos.

Figura 18. Canasta y filtros POCIS después de 30 días de exposición en el río Villalobos



Fuente: Fotografía tomada por Elisandra Hernández

- 1.6. Las canastas conteniendo los POCIS se envolvieron en papel de aluminio previamente lavado con metanol y se almacenaron en una hielera a 4 °C donde se transportaron al laboratorio para la extracción de los analitos de interés.

## 2. Determinación de los parámetros in situ

(INVEMAR, 2003)

- 2.1 Temperatura:** se introdujo directamente el equipo de medición (la sonda) en la columna de agua a 25 cm por debajo de la superficie, y se esperó hasta obtener una lectura estable.

**2.2 pH:** Después de calibrar el equipo y enjuagar completamente el electrodo con agua destilada, se introdujo el sensor de pH directamente en la columna de agua a 25 cm por debajo de la superficie y se esperó a que se estabilizara la lectura, aproximadamente 30s después se registró el valor de pH. Se enjuagó el electrodo con abundante agua desionizada y se colocó su respectivo protector.

**2.3 Conductividad y Oxígeno Disuelto:** Se introdujo directamente cada una de las sondas en la columna de agua a 25 cm por debajo de la superficie, procurando sumergirla siempre a la misma profundidad que se tomaron los parámetros anteriores y se esperó hasta obtener una lectura estable. Se enjuagó el electrodo con abundante agua desionizada y se colocó su respectivo protector.

**2.4 Sólidos sedimentables:** Se llenó un cono de sedimentación de Imhoff a la marca de enrase de 1000 ml con una muestra de agua bien mezclada, la muestra se dejó reposar por 45 min, se raspó ligeramente los lados del cono con una varilla de agitación y se dejó 15 min más, al final se registró el volumen del material sedimentado en el fondo del cono ml/L.

### **3. Obtención de las muestras por medio de un muestreo compuesto**

(Togola & Budzinski, 2008).

3.1. En el sitio de muestreo se enjuagó el envase de polipropileno L-Agrín de tres a cuatro veces con el agua del río, después se llenó completamente el envase (1 L) sin dejar burbujas de aire, este procedimiento corresponde a un muestreo simple (figura 19).

Figura 19. Toma de muestra de un muestreo compuesto puntual para el análisis de parámetros fisicoquímicos y para la cuantificación de contaminantes emergentes en el río Villalobos



Fuente: Fotografía tomada por William Gularte

- 3.2. Cada botella con muestra fue debidamente rotulada y almacenada en una hielera a una temperatura de 4 °C y se transportó al laboratorio.
- 3.3. Se mezcló y homogenizó todo el volumen de las muestras simples colectadas (4 L) en el mismo punto de muestreo, en un recipiente de 5 L de capacidad y se tomaron dos muestras: una de 500 ml para el análisis de contaminantes emergentes y una de 1 L para el análisis de los parámetros fisicoquímicos.  
**Recomendación:** para aguas naturales tomar 1 L de muestra y para aguas residuales 500 ml.
- 3.4. Inmediatamente después de que se colectó la muestra compuesta para determinar los contaminantes emergentes (500 ml) se filtró con filtros de fibra de vidrio GS/A de 0,25  $\mu\text{m}$  para separar la fase disuelta de las partículas.
- 3.5. Las muestras fueron conservadas a 4 °C hasta el análisis de los parámetros fisicoquímicos y de HPLC.

#### 4. Extracción de los analitos de los POCIS

(Arditsoglou & Voutsas, 2007; Hongxia, Helm, Paterson, & Metcalfe, 2010; Jones-Lepp, 2004).

4.1. Se desmontó cada filtro expuesto del muestreador POCIS cuidadosamente, este procedimiento se realizó con guantes y una llave combinada (figura 20).

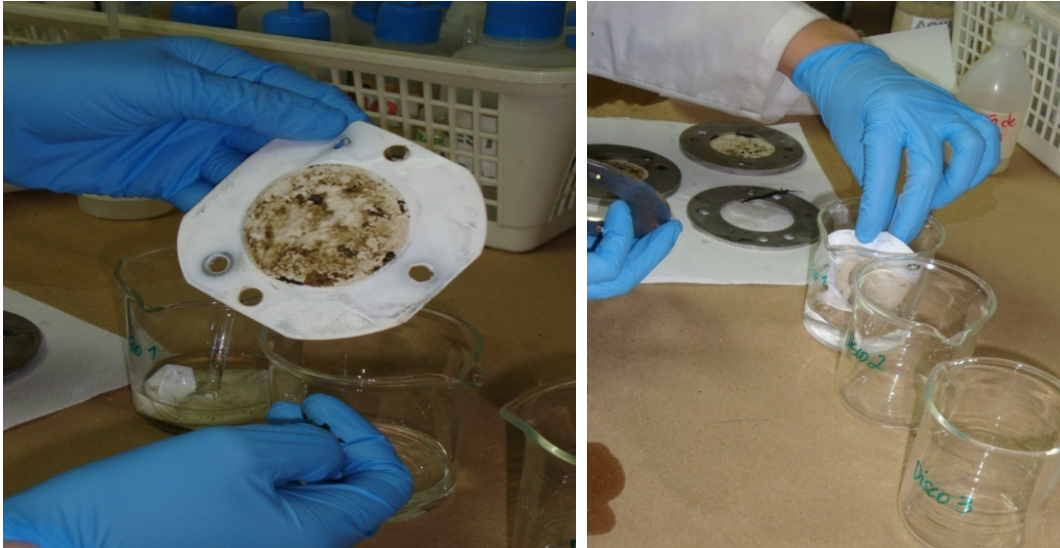
Figura 20. Desmontaje de los filtros POCIS del sostenedor utilizando una llave combinada



Fuente: Fotografía tomada por Balmore Valladares

4.2. Se transfirió con pinzas el filtro absorbente a un beaker y se añadió 50 ml de una mezcla agua: metanol (75:25), mezclando con un agitador de vidrio para promover la recuperación los compuestos químicos de interés (figura 21).

Figura 21. Inmersión y extracción de los contaminantes emergentes utilizando agua-metanol (3:1)



Fuente: Fotografía tomada por Balmore Valladares

- 4.3. Se reconcentró el extracto, reduciendo el volumen inicial (50 ml) a aproximadamente 1,50 ml con el rotavapor y se aforó a un balón de 2,00 ml con la misma mezcla agua: metanol (75:25).
- 4.4. El reconcentrado se transfirió al vial de inyección y se realizó el análisis por HPLC- UV de cada analito en las muestras colectadas.

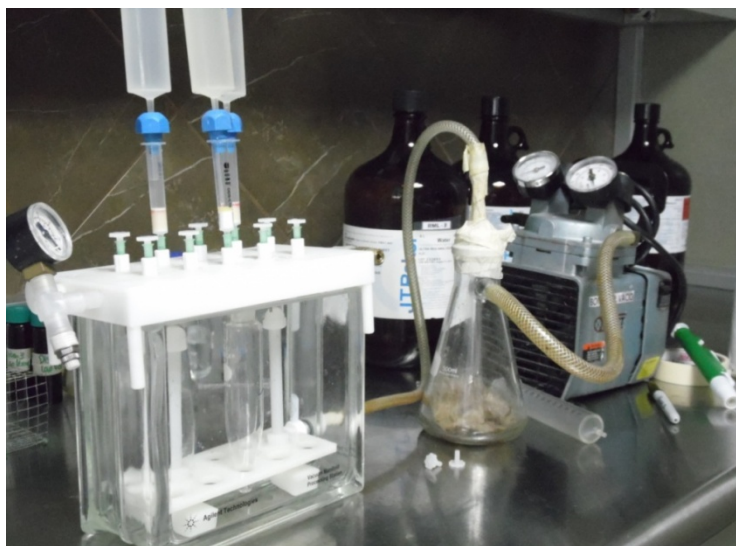
## **5. Extracción en fase sólida (SPE) para la determinación de contaminantes emergentes en una muestra compuesta**

(Togola & Budzinski, 2008).

- 5.1 Se colocaron los cartuchos de extracción en fase sólida en el “manifold” conectado a una corriente de vacío para que el flujo de muestra que pasa por el absorbente sea constante.

- 5.2 **Acondicionamiento:** Se eluyeron 10,00 ml de agua y posteriormente 30,0 ml de metanol para humedecer una cantidad de 3 ml de la fase adsorbente en la columna o cartucho de extracción en fase sólida.
- 5.3 **Carga de la muestra:** Se eluyeron 500 ml de la muestra por la parte superior del cartucho a un flujo constante de 20 gotas por minuto para asegurar una retención óptima de los analitos de interés (figura 22).
- 5.4 **Secado:** Las trazas de solvente se eliminaron haciendo circular aire (vacío) a través de la columna durante 2 min. Esta etapa mejora el rendimiento de extracción.
- 5.5 **Elución o Extracción:** Los analitos de interés se eluyeron con 10 ml de una solución metanol: agua (75:25).
- 5.6 **Post-tratamiento o reconcentración:** Para mantener alto el factor de concentración fue necesario evaporar el solvente de extracción y reconstituir el eluato proveniente de la extracción en fase sólida, esto se hizo pasando una corriente de nitrógeno hasta obtener un volumen aproximado de 1,50 ml. El volumen de muestra concentrada se aforó en balón de 2,00 ml, posteriormente se transfirió a un vial de inyección y se realizó el análisis por HPLC.

Figura 22. Extracción en fase sólida (SPE) de contaminantes emergentes



Fuente: Fotografía tomada por Aura Osorio



## 6. Análisis por cromatografía líquida de alta eficacia -HPLC-

### a) Acetaminofeno o Paracetamol (USP, 2006).

1. Se realizó el análisis por HPLC (ver figura 23) ajustando el detector a una longitud de onda de 243 nm. El flujo fue de 1,00 ml/min y se trabajó a temperatura ambiente.
2. Se preparó la fase móvil mezclando agua y metanol (3:1), se desgasificó y se filtró.
3. Se secó una porción del estándar de acetaminofeno en una desecadora provista de gel de sílice durante 18 h antes de preparar la solución del estándar.
4. Se preparó la solución estándar, pesando 5,0276 mg de paracetamol (pureza 99,5%) y se aforó a 50,0 ml con la fase móvil preparada.
5. A partir de la solución estándar preparada se hicieron cinco estándares con concentraciones de: 2,50; 5,0; 10,0; 32,0; 48,2 y 100,05  $\mu\text{g/ml}$ .
6. Se inyectaron 20,00  $\mu\text{l}$  del estándar de menor concentración de acetaminofeno o paracetamol y se esperó la respuesta del equipo. Este procedimiento se repitió con cada estándar y se obtuvo la curva de calibración y el coeficiente de correlación lineal (ver figura 28 en Anexos).
7. Se inyectó al cromatografo 20,00  $\mu\text{l}$  de la solución que contiene el extracto concentrado proveniente de los muestreadores pasivos, se registró la respuesta del equipo.
8. Debido a que la masa del acetaminofeno o paracetamol captado es cuantificable en las muestras colectadas por muestreo pasivo, se realizó la inyección de 20,00  $\mu\text{l}$  del extracto proveniente de 500 ml de muestra del muestreo compuesto utilizando exactamente las mismas condiciones (columna, fase móvil, flujo, temperatura, etc.) que se utilizaron para la determinación de acetaminofeno a partir de los muestreadores pasivos y se esperó la respuesta del equipo (ver figuras 34, 35 y 36 en Anexos).

**b) Cafeína (USP, 2006).**

1. Se realizó el análisis por HPLC ajustando el detector a una longitud de onda de 275 nm. El flujo fue de 1,00 ml/min y se trabajó a temperatura ambiente.
2. La fase móvil estaba constituida únicamente por metanol, se desgasificó y se filtró.
3. Se preparó la solución estándar, pesando 4,9950 mg de cafeína (pureza 100,1%) y se aforó a 50,00 ml con la fase móvil. **Nota:** No fue necesario secar el estándar de cafeína antes de usar. El envase se mantuvo herméticamente cerrado y protegido de la luz.
4. A partir de la solución estándar preparada se hicieron cinco estándares con concentraciones de: 6,25; 12,5; 25; 50 y 100,0 µg/ml.
5. Se inyectaron 20,00 µl del estándar de menor concentración de cafeína y se esperó la respuesta del equipo. Este procedimiento se repitió con cada estándar y se obtuvo la curva de calibración y el coeficiente de correlación lineal (ver figura 29 en Anexos).
6. Se inyectó al cromatografo 20,00 µl de la solución que contiene el extracto concentrado proveniente de los muestreadores pasivos, se registró la respuesta del equipo.
7. Debido a que la masa de cafeína captada es cuantificable en las muestras colectadas por muestreo pasivo, se realizó la inyección de 20,00 µl del extracto proveniente de 500 ml de muestra del muestreo compuesto utilizando exactamente las mismas condiciones (columna, fase móvil, flujo, temperatura, etc.) que se utilizaron para la determinación de cafeína a partir de los muestreadores pasivos y se esperó la respuesta del equipo (ver figuras 37, 38 y 39 en Anexos).

**c) Diclofenaco sódico (USP, 2006).**

1. Se realizó el análisis por HPLC ajustando el detector a una longitud de onda de 254 nm. El flujo fue de 1,00 ml/min y se trabajó a temperatura ambiente.

2. La fase móvil está constituida por una mezcla de solución amortiguadora de fosfatos ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$ ) a  $\text{pH } 2,5 \pm 0,2$  ajustado con ácido fosfórico y metanol (30:70), se desgasificó y se filtró.
3. Se secó una porción de diclofenaco sódico a  $105^\circ\text{C}$  durante tres horas antes de usar. Se mantuvo en un envase herméticamente cerrado y protegido de la luz.
4. Se preparó la solución estándar, pesando 5,0100 mg de diclofenaco (pureza 99,8%) y se aforó a 50,0 ml con la fase móvil.
5. A partir de la solución estándar preparada se hicieron cinco estándares con concentraciones de: 6,25; 12,5; 25; 50 y 100,0  $\mu\text{g/ml}$ .
6. Se inyectaron 20,00  $\mu\text{l}$  del estándar de menor concentración de diclofenaco sódico y se esperó la respuesta del equipo. Este procedimiento se repitió con cada estándar y se obtuvo la curva de calibración y el coeficiente de correlación lineal (ver figura 31 en Anexos).
7. Se inyectó al cromatografo 20,00  $\mu\text{l}$  de la solución que contiene el extracto concentrado proveniente de los muestreadores pasivos, se registró la respuesta del equipo.
8. Debido a que la masa de diclofenaco sódico no es cuantificable, no fue necesario realizar la inyección del extracto proveniente de 500 ml de muestra del muestreo compuesto (ver figuras 43 y 44 en Anexos).

**d) Dexketoprofeno y Fenilefrina (USP, 2006).**

1. Se realizó el análisis por HPLC ajustando el detector a una longitud de onda de 220 nm. El flujo fue de 1,00 ml/min y se trabajó a temperatura ambiente.
2. Se preparó la fase móvil mezclando buffer de fosfatos a  $\text{pH } 2,5$  y metanol (45:55) se desgasificó y se filtró.
3. Se preparó la solución estándar conteniendo los dos compuestos, para ello se pesó 5.0105 mg de dexketoprofeno trometamol (100.19 %) y 2,4548 mg de fenilefrina (pureza 110,11%) y se aforó a 50,0 ml con la fase móvil preparada.

4. A partir de la solución estándar preparada se hicieron cinco estándares con concentraciones de: 3,38; 6,76; 13,52; 27,03 y 54,06  $\mu\text{g/ml}$  de fenilefrina y con concentraciones de: 6,89; 13,78; 27,56; 55,11 y 110,21  $\mu\text{g/ml}$  de dexketoprofeno.
5. Se inyectaron 20,00  $\mu\text{l}$  del estándar de menor concentración de ambos compuestos (dexketoprofeno y fenilefrina) y se esperó la respuesta del equipo. Este procedimiento se repitió con cada estándar y se obtuvieron ambas curvas de calibración y coeficientes de correlación lineal (ver figuras 30 y 32 en Anexos).
6. Se inyectó al cromatografo 20,00  $\mu\text{l}$  de la solución que contiene el extracto concentrado proveniente de los muestreadores pasivos, se registró la respuesta del equipo.
7. Debido a que la masa de dexketoprofeno y fenilefrina captados es cuantificable en las muestras colectadas por muestreo pasivo, se realizó la inyección de 20,00  $\mu\text{l}$  del extracto proveniente de 500 ml de muestra del muestreo compuesto utilizando exactamente las mismas condiciones (columna, fase móvil, flujo, temperatura, etc.) que se utilizaron para la determinación de dexketoprofeno y fenilefrina a partir de los muestreadores pasivos y se esperó la respuesta del equipo (ver figuras 40, 41 y 42 en Anexos).

e) **Ibuprofeno** (USP, 2006)

1. Se realizó el análisis por HPLC ajustando el detector a una longitud de onda de 214 nm. El flujo fue de 1,00 ml/min y se trabajó a temperatura ambiente.
2. Se preparó la fase móvil mezclando metanol y agua (75:25) se desgasificó y se filtró.
3. Se preparó la solución estándar, pesando 5,1997 mg de ibuprofeno (pureza 100,14%) y se aforó a 50,0 ml con la fase móvil preparada.
4. A partir de la solución estándar preparada se hicieron cinco estándares con concentraciones de: 6,51; 13,02; 26,03; 52,07 y 104,14  $\mu\text{g/ml}$ .
5. Se inyectaron 20,00  $\mu\text{l}$  del estándar de menor concentración de ibuprofeno y se esperó la respuesta del equipo. Este procedimiento se repitió con cada estándar y se

obtuvo la curva de calibración y el coeficiente de correlación lineal (ver figura 33 en Anexos).

6. Se inyectó al cromatografo 20,00  $\mu$ l de la solución que contiene el extracto concentrado proveniente de los muestreadores pasivos, se registró la respuesta del equipo.
7. Debido a que la masa de ibuprofeno captado es cuantificable en las muestras colectadas por muestreo pasivo, se realizó la inyección de 20  $\mu$ l del extracto proveniente de 500 ml de muestra del muestreo compuesto utilizando exactamente las mismas condiciones (columna, fase móvil, flujo, temperatura, etc.) que se utilizaron para la determinación de ibuprofeno a partir de los muestreadores pasivos y se esperó la respuesta del equipo (ver figuras 45, 46 y 47 en Anexos).

Figura 23. Cromatografo líquido de alta eficacia con detector ultravioleta utilizado para la determinación de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico



Fuente: Fotografía tomada por Aura Osorio

## 7. Determinación de ortofosfatos y fósforo total, método del Ácido Ascórbico

(APHA, AWWA, & WFE, 1999)

- 7.1. Toda la cristalería se lavó con detergente libre de fosfatos, seguidamente de ácido clorhídrico 6 N y por último se enjuagó con agua ultrapura de 5 a 6 veces.
- 7.2. Se secaron de 3,00 a 4,00 g de  $K_2HPO_4 \cdot 10 H_2O$  grado reactivo a 103 °C por 1 h en horno convencional.
- 7.3. Se pesaron exactamente 2,810 g de la sal seca y se aforaron a 500 ml con agua ultrapura (DDW: double- distilled water), se hizo una dilución 1:100 de la solución anterior.
- 7.4. Se realizó una curva de calibración a partir de la solución 1:100, tomando las siguientes alícuotas: 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 400  $\mu$ l, 600  $\mu$ l, 800  $\mu$ L, 1ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml y 10 ml, las cuales se aforaron a 100 ml.
- 7.5. Para la determinación de ortofosfatos ir directamente al numeral 7.13
- 7.6. Se pesó 0,06 g de peroxodisulfato de potasio en tubos de ensayo de 50 ml de capacidad con tapón de rosca.
- 7.7. En cada tubo se agregaron 30 ml de muestra, 30 ml de cada patrón y 30 ml de agua ultrapura (blanco), por duplicado.
- 7.8. Los estándares, blancos y muestras se colocaron en un beaker con agua destilada y se calentó en un horno convencional por 3 h, el agua del beaker debía estar ebullendo durante el proceso.
- 7.9. Después del calentamiento los tubos se enfriaron a temperatura ambiente y se sirvieron por duplicado 25 ml de cada muestra, blanco y estándares en tubos de ensayo.
- 7.10. Se preparó el reactivo Armstrong mezclando 122 ml de ácido sulfúrico concentrado con 800 ml de agua ultrapura, mientras la solución aún estaba caliente se agregó 10,50 g de molibdato de amonio y 0,3 g de tartrato de antimonil potasio, y se calentó para disolver, al enfriarse se aforó 1 L con agua ultrapura.
- 7.11. Se pesaron 3,00 g de ácido ascórbico y se aforó a 100 ml con agua ultrapura.

- 7.12. A cada muestra, blanco y estándar se añadió 2,5 ml del reactivo Armstrong y 0,5 ml de ácido ascórbico.
- 7.13. Se agitó y se dejó que se llevara a cabo la reacción por 20 minutos. Las muestras son estables por 2 h.
- 7.14. Se midió la absorbancia a 880 nm con un espectrofotómetro UV-VIS.

## **8. Determinación de nitritos**

(APHA, AWWA, & WFE, 1999).

- 8.1 Se preparó una solución de sulfanilamida disolviendo 5,00 g del reactivo en 50 ml de ácido clorhídrico y aforando a 500 ml con agua destilada.
- 8.2 Se preparó una solución de N-(1-naftil) etilendiamina disolviendo 0,5 g del reactivo en 500 ml de agua destilada.
- 8.3 Se preparó una solución stock de nitrito disolviendo 0,4936 g de nitrito de sodio exento de agua y aforar a 100 ml con agua destilada.
- 8.4 Se hizo una dilución 1/1000 a partir de la solución stock anterior.
- 8.5 A partir de la dilución 1/1000 tomaron las siguientes alícuotas: 0,05; 0,2; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5 ml en balones aforados de 50 ml.
- 8.6 Cada muestra y estándar se sirvió por duplicado agregando 25 ml de cada uno en tubos de ensayo. Se hizo un blanco con 25 ml de agua desionizada.
- 8.7 Al blanco, las muestras y los estándares se les agregó 0,50 ml de solución de sulfanilamida y se dejó reaccionar de 2 a 8 min, posteriormente se añadió 0,50 ml de solución de N-(1-naftil) etilendiamina.
- 8.8 Se midió la absorbancia entre 10 min y 2 h a 550 nm en un espectrofotómetro UV-VIS.

## **9. Determinación de nitratos y nitrógeno total, método del Salicilato de sodio**

(APHA, AWWA, & WFE, 1999).

El rango de este método se encuentra entre 0.1 y 2 mg de nitrógeno de nitratos por litro. Muestras con mayores concentraciones requieren un volumen inicial menor.

- 9.1. Se preparó una solución de salicilato de sodio disolviendo 0,50 g de salicilato de sodio en 100 ml de agua desionizada. La solución debe prepararse fresca.
- 9.2. Se preparó una solución de hidróxido de sodio – tartrato de sodio disolviendo 400 g de hidróxido de sodio en de 800 ml de agua destilada. Luego de enfriar se agregó 50 g de tartrato de sodio y potasio y se disolvió, la solución se llevó a 1 L y se almacenó en botella plástica.
- 9.3. Se preparó una solución stock de nitrato de potasio disolviendo 0,7220 g del reactivo en agua ultrapura y se aforó a 1 L. Se diluyó la solución stock 10 veces (1/10).
- 9.4. A partir de la solución 1/10, se tomaron las siguientes alícuotas: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 2,0; 3,0 y 4,0 ml en beakers de vidrio de 50 ml. No fue necesario agregar agua destilada para completar a 25 ml ya que el próximo paso fue la evaporación.
- 9.5. Se sirvieron 25,00 ml de agua ultrapura (blanco), de cada estándar y de cada muestra y a cada uno se le añadió 1 ml de la solución de salicilato de sodio.
- 9.6. Las muestras, el blanco y la curva se evaporaron en un horno convencional a 100 °C hasta sequedad.
- 9.7. Mientras el beaker aún estaba caliente, se disolvió el residuo seco con 1 ml de ácido sulfúrico concentrado y agua desionizada raspando las paredes del beaker con un agitador de vidrio y realizando lavados cuantitativos, el contenido del beaker se trasvasó a un balón de 100 ml. No aforar el balón.
- 9.8. En cada balón que contenía el blanco, las muestras y los estándares se añadieron 7 ml de solución de hidróxido de sodio – tartrato de sodio, se aforó a 100 ml y se homogenizó.
- 9.9. Se midió la absorbancia tan pronto como fue posible a 420 nm con un espectrofotómetro UV-VIS.



- 9.10. Para la determinación del nitrógeno total las muestras se oxidaron colocando 0,31 g de peroxidisulfato de potasio y 25,00 ml de muestra en un tubo de ensayo son rosca.
- 9.11. Los tubos con muestra fueron introducidos en un beaker con agua ebuliendo por 2 h luego de las cuales se sigue el proceso para la determinación de nitratos.

## **10. Determinación de Sólidos Suspendedos**

(INVEMAR, 2003).

Nota: Debido a que las muestras están preservadas a 4 °C, antes de ser filtradas se llevaron temperatura ambiente.

- 10.1. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro que fueron almacenados en una desecadora previo a su uso.
- 10.2. Se tomaron cuidado los filtros de fibra de vidrio, utilizando para ello una pinza plástica o de acero inoxidable.
- 10.3. Cada uno de los filtros fue identificado en el borde con una numeración adecuada para cada muestreo, previo a ser pesados.
- 10.4. Los filtros se pesaron en balanza analítica y se anotó el peso.
- 10.5. Se preparó el sistema de filtración, el cual consiste en botella vidrio de 250 ml con embudo de plástico de rosca.
- 10.6. Se conectó el sistema al vacío utilizando mangueras de corosil.
- 10.7. Se agitó la botella que contiene la muestra durante 3 min para homogenizarla.
- 10.8. Con una pipeta automática se midieron 100 ml de muestra y se hicieron pasar por el sistema de filtración al vacío.
- 10.9. El filtro se sacó del sistema de filtración con mucho cuidado, utilizando una pinza de acero inoxidable.
- 10.10. El filtro se colocó en medio de dos vidrios de reloj y se dejó en una desecadora para eliminar la humedad.

- 10.11. Los filtros secos se pesaron en balanza analítica y se anotó el peso del filtro más la muestra.

## **11. Determinación de Sólidos Disueltos**

(INVEMAR, 2003).

- 11.1. Se identificó con un marcador indeleble la cápsula de porcelana que se utilizará para la medición.
- 11.2. Se llevó a peso constante la cápsula de porcelana, colocando la cápsula de porcelana dentro de un horno a 80 °C durante 30 min aproximadamente. Luego de calentar la cápsula ya no puede ser tocada con las manos.
- 11.3. Se retiró la cápsula de porcelana del horno utilizando para ello una pinza de acero inoxidable.
- 11.4. Se colocó la cápsula de porcelana dentro de una desecadora hasta que se enfriara.
- 11.5. Se pesó la cápsula de porcelana en la balanza analítica y se anotó el peso.
- 11.6. Se vertieron los 100 ml de agua que fue filtrada en el análisis de sólidos suspendidos dentro de la cápsula de porcelana.
- 11.7. Se tomó la cápsula de porcelana con una pinza y colocó dentro de un horno a 85 °C por 24 h para que el agua se evapore completamente.
- 11.8. Se retiró la cápsula del horno utilizando para ello una pinza y se colocó dentro de una desecadora hasta que llegara a temperatura ambiente.
- 11.9. La cápsula de porcelana se pesó en balanza analítica, se anotó el peso y se calcularon los sólidos disueltos por diferencia.

## **12. Determinación de Sólidos Totales**

(INVEMAR, 2003)

Nota: Las muestras de agua están preservadas a 4 °C. Antes de ser medidas deben llevarse a temperatura ambiente.

- 12.1. Se identificó con marcador indeleble la cápsula de porcelana a ser utilizada.
- 12.2. Se llevó a peso constante la cápsula de porcelana a utilizar, colocando la cápsula de porcelana dentro de un horno a 80 °C durante 30 min aproximadamente. **Nota:** luego de calentar la cápsula ya no puede ser tocada con las manos.
- 12.3. Se retiró la cápsula de porcelana del horno utilizando para ello una pinza y se colocó dentro de una desecadora hasta que se enfriara.
- 12.4. La botella que contiene la muestra se agitó durante 3 min para homogenizarla.
- 12.5. Se midieron 100 ml de la muestra de agua con pipeta automática y se colocaron dentro de la cápsula de porcelana, la cápsula no fue tomada con la mano, ya que estaba tarada.
- 12.6. La cápsula de porcelana se colocó dentro de un horno convencional a 85 °C por 24 h para que el agua se evaporara. Si el tiempo no ha sido suficiente se deja la cápsula dentro del horno a la misma temperatura, hasta que esté completamente seca.
- 12.7. Se retiró la cápsula del horno utilizando para ello una pinza y se colocó dentro de una desecadora para que se enfriara.
- 12.8. La capsula de porcelana se pesó en balanza analítica, se anotó el peso y se calculó por diferencia.

### **13. Determinación de la Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)**

(APHA, AWWA, & WFE, 1999).

- 13.1. Se preparó el reactivo alcalino yodurado de azida de sodio disolviendo 50,0 g de hidróxido de sodio y 13,50 g de yoduro de sodio en 100 ml con agua destilada.
- 13.2. Se disolvió 1,00 g de azida de sodio o nitrato de sodio en 4,00 ml de agua destilada y se agregó 95,00 ml de la solución anterior agitando continuamente.
- 13.3. Se disolvió 1,00 g de almidón soluble en 100 ml de agua destilada caliente.

- 13.4. Se preparó una solución patrón de dicromato de potasio, pesando 0,0617 g del reactivo previamente seco a 103 °C por 2 h, y se aforó a 50 ml con agua destilada. Esta solución tiene una concentración de 0,025 N.
- 13.5. Se preparó una solución de sulfato de manganeso monohidratado disolviendo 36,40 g del reactivo en 100 ml de agua destilada.
- 13.6. Se preparó una solución estándar de tiosulfato de sodio pentahidratado disolviendo 2,05 g de tiosulfato de sodio pentahidratado y se añadieron 0,40 g de hidróxido de sodio para preservar la solución, se aforó con agua destilada a 1 L. Esta solución tiene una concentración aproximada de 0,025 N.
- 13.7. Se preparó el nutriente A pesando 0,425 g fosfato diácido de potasio, 1,088 g fosfato monoácido de potasio, 1,670 g fosfato monoácido de sodio y 0,085 g cloruro de amonio y se disolvió con 50 ml de agua destilada.
- 13.8. El nutriente B se preparó pesando 1,125 g sulfato de magnesio heptahidratado y se disolvió con 50 ml de agua destilada.
- 13.9. Para el nutriente C se pesaron 1,375 g cloruro de calcio y se disolvió con 50 ml de agua destilada.
- 13.10. Se preparó el nutriente D pesando 0,015 g cloruro férrico y se disolvió con 50 ml de agua destilada.
- 13.11. Se estandarizó la solución de tiosulfato de sodio pentahidratado utilizando la solución patrón de dicromato de potasio como patrón primario y almidón como indicador.
- 13.12. Se tomaron seis botellas winkler de DBO, en tres de ellas se colocaron exactamente 50 ml de la muestra del río Las Vacas y en las tres botellas restantes se colocó exactamente 1 ml de la muestra del río Villalobos, para obtener diluciones de 50/300 y de 1/300 respectivamente.
- Nota:** el volumen de alícuota de muestra puede variar dependiendo del grado de contaminación del agua, cuanto se presuma un grado de contaminación mayor, menor deberá ser el volumen de muestra tomado.
- 13.13. A cada botella winkler se le añadió 1 ml de cada uno de los nutrientes A, B, C, D y 1 ml de cultivo de bacterias.

- 13.14. Se completó con agua destilada hasta el cuello de la botella y se tapó evitando que quedaran burbujas de aire.
- 13.15. Se hicieron dos blancos (tres botellas por blanco) con agua destilada, siguiendo el procedimiento anterior.
- 13.16. De las tres botellas (muestras y blanco), dos se colocaron en incubación a 20 °C durante 5 días exactos, luego se sigue el procedimiento a partir del numeral 13.17.
- 13.17. A la botella restante se le agregó 1,00 ml de solución de sulfato de manganeso heptahidratado y 1 ml del reactivo alcalino yodurado de azida de sodio procurando no introducir burbujas a la botella, se colocó cuidadosamente el tapón para excluir burbujas de aire y se mezcló varias veces por inversión.
- 13.18. Cuando el precipitado formado sedimentó lo suficiente (aproximadamente la mitad del volumen del frasco) se añadió 1,50 ml de ácido sulfúrico concentrado y se volvió a tapar la botella mezclando por inversión varias veces hasta que se disolvió el precipitado completamente.
- 13.19. Con una pipeta automática se tomaron 201 ml de esta muestra y se tituló con tiosulfato de sodio previamente estandarizado hasta un color amarillo pajizo, en este momento se agregaron 0,50 ml de la solución de almidón preparada previamente y se obtuvo un color azul.
- 13.20. Se continuó con la valoración con tiosulfato gota a gota hasta la desaparición del color azul.

#### **14. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)**

(APHA, AWWA, & WFE, 1999).

Nota: La mezcla de reactivos del vial es sensible a la luz. Mantener los viales sin usar en un contenedor opaco, dentro del refrigerador si es posible.

- 14.1. La muestra ácida se homogenizó en una licuadora por 3 min debido a la cantidad sólidos que la muestra presentaba.
- 14.2. Se removió la tapa del vial de digestión con reactivos para DQO, para el rango apropiado.

Rango de concentración (mg O <sub>2</sub> /L)	Vial para DQO
0 a 150	Bajo Rango
0 a 1,500	Alto Rango
0 a 15,000	Mas Alto Rango

- 14.3. Se colocó el vial a un ángulo de 45° y se añadieron 3,00 ml de muestra previamente homogenizada dentro del vial. Se hicieron tres réplicas para mayor exactitud. Se hizo un blanco con agua ultrapura.
- 14.4. Se colocó la tapa al vial y se lavó por fuera con agua desionizada y se secó con una toalla de papel.
- 14.5. Los viales se colocaron en un digestor previamente calentado a 150 °C por 2 h.
- 14.6. Cuando cesó el proceso de digestión se esperó a que los viales se enfriaran y se efectuó lectura según el programa del fotómetro a utilizar.

#### **D. Diseño de la investigación:**

La presente investigación es de carácter descriptivo, no experimental, transeccional o transversal en el tiempo, donde se determinó la presencia de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico (acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno), utilizando cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

El muestreo fue único, por conveniencia y se utilizó la técnica de muestreo pasivo mediante el empleo de dispositivos de muestreo integrado para compuestos orgánicos polares

(POCIS), que captaron contaminantes emergentes de tipo farmacéutico (acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, diclofenaco sódico, fenilefrina e ibuprofeno) debido a que se encuentran en muy bajas concentraciones. El muestreo pasivo se realizó dejando en el agua el POCIS durante un lapso de 30 días en el río Villalobos y 34 días en el río Las Vacas durante la época seca del presente año, ya que cuando el caudal de los ríos aumenta estos compuestos tienden a diseminarse y estar en menor cantidad dificultando así su identificación.

Adicionalmente se realizó la cuantificación de los analitos cuya presencia se confirmó al realizar el análisis de las muestras provenientes de los muestreadores pasivos. La cuantificación se hizo mediante la extracción en fase sólida de los analitos de una muestra proveniente de un muestreo compuesto puntual, y se utilizaron exactamente las mismas condiciones que las que se utilizaron para el análisis de los muestreadores pasivos.

El análisis de los datos obtenidos se realizó con estadística descriptiva utilizando medidas de tendencia central y de dispersión. Los resultados obtenidos se colocaron en tablas a conveniencia para visualizar mejor los resultados de la cuantificación de los contaminantes de interés.

Para los parámetros fisicoquímicos y la concentración de contaminantes emergentes se calculó la desviación estándar como medida de variabilidad o dispersión. Para los resultados de los parámetros fisicoquímicos se calculó el intervalo de confianza al 95 %, y para los contaminantes emergentes se calculó la incertidumbre de los datos obtenidos por medio del rango  $\pm 2$  veces la desviación estándar.

## VIII. RESULTADOS

Cuadro 1. Valores Promedio de los Parámetros in situ en el río Villalobos y el río Las Vacas

Estación de muestreo	pH	Potencial Redox (mV)	Oxígeno Disuelto mg/L	%	Conductividad $\mu\text{S/cm}$	TDS mg/L	Temperatura del agua $^{\circ}\text{C}$
<b>Río Villalobos</b>	8,03	-50,86	2,018	24,72	584	317	20,09
<b>Río Las Vacas</b>	8,85	-95,35	1,390	17,75	514	281	19,40

Fuente: Datos de campo

Los datos fueron obtenidos con sondas multiparamétricas, en un muestreo compuesto puntual, tomando las medidas en intervalos de una hora, por espacio de cuatro horas, los muestreos se realizaron el 19 de noviembre de 2012 en el río Villalobos y el 02 de febrero de 2013 en el río Las Vacas, ambos ríos fueron muestreados en época seca.

Cuadro 2. Cuantificación de los Compuestos Nitrogenados en el río Villalobos y el río Las Vacas

	Nitrógeno de nitritos ( $\text{N}/\text{NO}_2^-$ ) mg/L $\pm$ I.C.	Nitrógeno de nitratos ( $\text{N}/\text{NO}_3^-$ ) mg/L $\pm$ I.C.	Nitrógeno total mg/L $\pm$ I.C.
<b>Río Villalobos</b>	0,0063 $\pm$ 0,0005	0,0523 $\pm$ 0,0079	0,2813 $\pm$ 0,0186
<b>Río Las Vacas</b>	0,0056 $\pm$ 0,0002	0,0989 $\pm$ 0,0065	0,6533 $\pm$ 0,0091

Fuente: Datos experimentales

El intervalo de confianza (I.C.) fue calculado con el 95 % de confianza. Los datos obtenidos corresponden al análisis de una muestra tomada en un muestreo compuesto puntual en río Las Vacas y en el río Villalobos. La sumatoria de los compuestos que contienen nitrógeno inorgánico (nitritos y nitratos) y las que contienen nitrógeno orgánico



(por ejemplo: aminoácidos, urea, amidas, que no fueron analizados) dan como resultado el nitrógeno total.

Cuadro 3. Cuantificación de los Compuestos Fosforados (fósforo de ortofosfatos y fósforo total) en el muestreo compuesto en el río Villalobos y el río Las Vacas

	<b>Fósforo de o-fosfatos (P/PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>)</b>	<b>Fósforo total</b>
	mg/L ± I.C.	mg/L ± I.C.
<b>Río Villalobos</b>	1,8771 ± 0,0214	2,2545 ± 0,0155
<b>Río Las Vacas</b>	2,0875 ± 0,1086	3,1468 ± 0,0189

Fuente: Datos experimentales

El intervalo de confianza (I.C.) fue calculado con el 95 % de confianza. Los resultados obtenidos corresponden a una muestra compuesta puntual tomada en ambos ríos, donde se cuantificó la especie inorgánica de ortofosfato, que se encuentra en mayor cantidad que las especies orgánicas, además es la forma disponible y asimilable para la biota acuática. El fósforo total que incluye especies tanto inorgánicas como orgánicas.

Cuadro 4. Determinación de los Sólidos Sedimentables, Suspendidos, Disueltos y Totales en un muestreo compuesto en el río Villalobos y el río las Vacas

	<b>Sólidos Sedimentables</b>	<b>Sólidos Suspendidos</b>	<b>Sólidos Disueltos</b>	<b>Sólidos Totales</b>
	ml/L	mg/L	mg/L	mg/L
<b>Río Villalobos</b>	0,8	131	511	666
<b>Río Las Vacas</b>	0,1	10	375	394

Fuente: Datos experimentales

La determinación de los sólidos sedimentables se realizó mediante la utilización de los conos de Imhoff en el lugar del muestreo en el río Las Vacas y el río Villalobos. Los resultados de sólidos suspendidos, disueltos y totales fueron obtenidos en el laboratorio.

Cuadro 5. Determinación de la demanda química (DQO) y bioquímica de oxígeno (DBO) en el muestreo compuesto realizado en el río Villalobos y el río Las Vacas

	<b>DBO</b>	<b>DQO</b>
	mg O <sub>2</sub> /L ± I.C.	mg O <sub>2</sub> /L ± I.C.
<b>Río Villalobos</b>	93,49 ± 0,38	151,32 ± 1,63
<b>Río Las Vacas</b>	18,25 ± 0,15	74,00 ± 3,72

Fuente: Datos experimentales

El intervalo de confianza (I.C.) fue calculado con el 95 % de confianza. La determinación de la demanda bioquímica de oxígeno se realizó mediante el método de Winkler modificado, mientras que la determinación de la demanda química de oxígeno se realizó mediante una digestión en un medio ácido fuertemente oxidante.

Cuadro 6. Análisis de Contaminantes Emergentes en el río Villalobos utilizando muestreadores pasivos POCIS

	<b>Acetaminofeno</b>	<b>Cafeína</b>	<b>Dexketoprofeno</b>	<b>Diclofenaco Sódico</b>	<b>Fenilefrina</b>	<b>Ibuprofeno</b>
	µg	µg	µg	µg	µg	µg
<b>Filtro 1</b>	8,313	< 0,329	50,54	< 0,750	94,00	< 0,179
<b>Filtro 2</b>	34,38	4,600	29,47	< 0,750	134,0	33,22
<b>Filtro 3</b>	48,70	< 0,329	26,20	< 0,750	52,00	33,22
<b><math>\bar{X} \pm 2s</math></b>	30,46 ± 40,96	4,600	35,40 ± 26,42	< 0,750	93,00 ± 82,00	33,22

L.D. =límite de detección

Fuente: Datos experimentales

L.D.<sub>(acetaminofeno)</sub> = 0,668 µg

L.D.<sub>(cafeína)</sub> = 0,329 µg

L.D.<sub>(dexketoprofeno)</sub> = 0,173 µg

L.D.<sub>(diclofenaco sódico)</sub> = 0,750 µg

L.D.<sub>(fenilefrina)</sub> = 0,344 µg

L.D.<sub>(ibuprofeno)</sub> = 0,179 µg

Los resultados obtenidos, con un 95 % de confianza corresponden a un muestreador pasivo POCIS con tres filtros, colocado en el río Villalobos durante 30 días, captando los compuestos farmacéuticos de interés. Después de la exposición, los analitos se extrajeron de los filtros y se analizaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia.

Cuadro 7. Análisis de Contaminantes Emergentes en el río Las Vacas utilizando muestreadores pasivos POCIS

	Acetaminofeno	Cafeína	Dexketoprofeno	Diclofenaco Sódico	Fenilefrina	Ibuprofeno
	µg	µg	µg	µg	µg	µg
<b>Filtro 1</b>	15,72	< 0,329	58,82	< 0,750	126,0	< 0,179
<b>Filtro 2</b>	16,00	< 0,329	< 0,173	< 0,750	< 0,344	< 0,179
<b>Filtro 3</b>	15,25	7,460	< 0,173	< 0,750	< 0,344	13,98
<b><math>\bar{X} \pm 2s</math></b>	15,66 ± 0,758	7,460	58,82	< 0,750	126,0	13,98

L.D. =límite de detección

Fuente: Datos experimentales

L.D.<sub>(acetaminofeno)</sub> = 0,668 µg

L.D.<sub>(cafeína)</sub> = 0,329 µg

L.D.<sub>(dexketoprofeno)</sub> = 0,173 µg

L.D.<sub>(diclofenaco sódico)</sub> = 0,750 µg

L.D.<sub>(fenilefrina)</sub> = 0,344 µg

L.D.<sub>(ibuprofeno)</sub> = 0,179 µg

Los resultados obtenidos corresponden a un muestreador pasivo POCIS con tres filtros, colocado en el río Las Vacas durante 34 días, captando los compuestos farmacéuticos de interés. Después de la exposición, los analitos se extrajeron de los filtros y se analizaron mediante cromatografía líquida de alta eficacia.

Cuadro 8. Concentración de Contaminantes Emergentes en el río Villalobos y el río Las Vacas utilizando muestreo compuesto puntual

	Acetaminofeno	Cafeína	Dexketoprofeno	Diclofenaco Sódico	Fenilefrina	Ibuprofeno
	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml	µg/ml
<b>Río Villalobos</b>	< 0,334	< 0,165	< 0,087	< 0,375	< 0,172	< 0,089
<b>Río Las Vacas</b>	< 0,334	< 0,165	< 0,087	< 0,375	< 0,172	< 0,089

L.D. =límite de detección

Fuente: Datos experimentales

L.D.<sub>(acetaminofeno)</sub> = 0,334 µg/ml

L.D.<sub>(cafeína)</sub> = 0,165 µg/ml

L.D.<sub>(dexketoprofeno)</sub> = 0,087 µg/ml

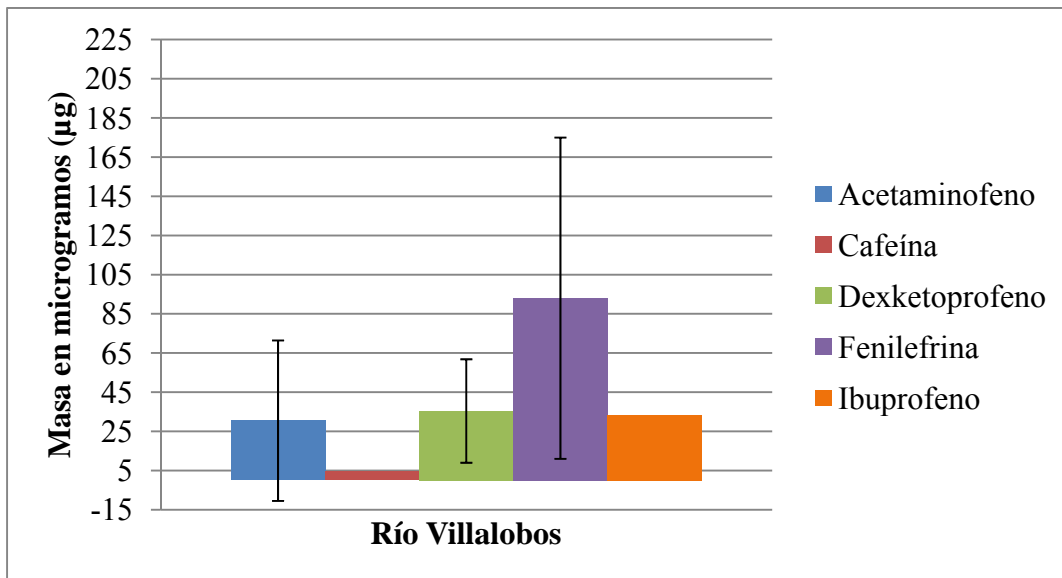
L.D.<sub>(diclofenaco sódico)</sub> = 0,375µg/ml

L.D.<sub>(fenilefrina)</sub> = 0,172µg/ml

L.D.<sub>(ibuprofeno)</sub> = 0,089 µg/ml

El muestreo compuesto puntual consistió en tomar un litro de muestra de agua a cada hora, por espacio de cuatro horas. Las muestras tomadas se mezclaron y se tomó una única muestra compuesta de 500 ml, los compuestos farmacéuticos de interés se extrajeron mediante extracción en fase sólida y se analizaron por medio de cromatografía líquida de alta eficacia, en donde no se encontró ninguno de los analitos en cantidades detectables, al haber estado por debajo del límite de detección.

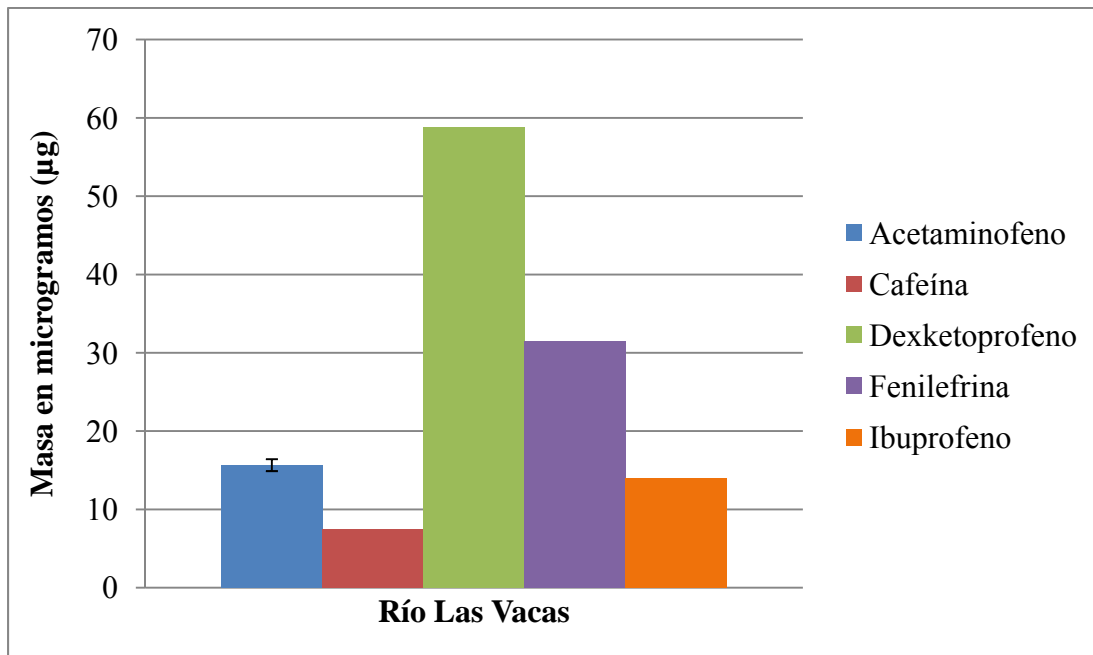
Figura 24. Valores promedio de la masa de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico captados en el río Villalobos utilizando muestreadores pasivos durante 30 días



Fuente: Datos experimentales

Los resultados obtenidos corresponden al valor promedio de la masa en microgramos ( $\mu\text{g}$ ) captada por tres filtros colocados en el río Villalobos, en la figura No. 24, se evidencia que el analito que se encontró en mayor cantidad fue la fenilefrina y el que se obtuvo en menor cantidad fue la cafeína. La incertidumbre se calculó con el rango  $\pm 2s$  (95% de confianza) únicamente para los analitos donde se encontraron valores por arriba del límite de detección en los tres filtros. La variabilidad observada se debe a que este tipo de contaminantes se encuentran en cantidades traza.

Figura 25. Valores promedio de la masa de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico captados en el río Las Vacas utilizando muestreadores pasivos durante 34 días



Fuente: Datos experimentales

Los resultados obtenidos corresponden al valor promedio de la masa en microgramos ( $\mu\text{g}$ ) captada por tres filtros colocados en el río Las Vacas, en la figura No. 25, se evidencia que el analito que se encontró en mayor concentración fue la fenilefrina y el que se obtuvo en menor concentración fue la cafeína. La incertidumbre se calculó con el rango  $\pm 2s$  (95% de confianza) únicamente para el acetaminofeno, ya que se encontraron valores por arriba del límite de detección en los tres filtros. La variabilidad observada se debe a que este tipo de contaminantes se encuentran en cantidades traza.

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### Parámetros Físicoquímicos:

Los valores de pH obtenidos para el río Villalobos y el río Las vacas fueron en promedio 8,03 y 8,85 respectivamente, lo que indica un pH ligeramente alcalino para ambos cuerpos de agua. Este valor de pH tomado "in situ" tiene influencia directa en la especiación química y la solubilidad de especies orgánicas e inorgánicas (nutrientes) en agua así como en la movilidad de los metales pesados muchos de ellos tóxicos para algunos microorganismos, por lo que un cambio drástico de pH altera la dinámica química de las especies en el agua.

La temperatura promedio del agua del río Villalobos fue de 20,09 °C y del río Las Vacas fue de 19,37 °C, este es un factor abiótico muy importante que tiene influencia directa sobre los valores de oxígeno disuelto obtenidos, que fueron de 2,018 mg/L (24,72%) para el río Villalobos y de 1,3875 mg/L (17,57 %) para el río Las Vacas, estos valores muestran condiciones de hipoxia/anoxia en ambos ríos lo que indica una evidente contaminación proveniente de condiciones sépticas de materia orgánica oxidable. Esto trae como consecuencia una inmediata e intensa actividad bacteriana, ocasionando un aumento en la actividad respiratoria y por ende una disminución del oxígeno disuelto. Además cabe mencionar la influencia que tiene el caudal sobre los valores de oxígeno disuelto, los cuales disminuyen en época seca, lo que puede explicar los valores obtenidos ya que el muestreo se realizó durante la época seca, el mes de noviembre en el río Villalobos y en el mes de febrero en el río Las Vacas.

Sin embargo, la temperatura de ambos ríos no estaba elevada si se compara con otros cuerpos de agua, el lago de Atitlán, por ejemplo, presentó valores que oscilan de 21,61 hasta 24, 00 °C y niveles promedio de oxígeno disuelto de 7,01 mg /L (98. 65 %), según la investigación realizada por Oliva y Pérez en el 2009, lo que evidencia bajos niveles de oxígeno disuelto tanto en el río Villalobos como en el río Las Vacas, en comparación con al lago Atitlán que se considera un lago oligotrófico.

Otro factor que hace que el valor de oxígeno disuelto (OD) descienda es la presencia de detergentes en el agua, disminuyendo la solubilidad del oxígeno atmosférico a través de la superficie del agua, posiblemente puede tener relación con los niveles de fósforo determinados, ya que gran parte de ellos provienen de detergentes y pudieron afectar los niveles de oxígeno disuelto.

Los niveles de materia sólida suspendida o disuelta en el agua también tienen efecto en la cantidad de oxígeno disuelto, ya que el material suspendido absorbe calor de la luz, lo que hace que la temperatura aumente, reduciendo así la concentración del oxígeno en el agua, lo que tiene como consecuencia una disminución en la calidad del agua, ya que aparte de disminuir el OD, eventualmente este material sólido puede favorecer la adhesión de metales pesados y pesticidas.

Los valores obtenidos en el río Villalobos fueron de 131 mg/L de sólidos suspendidos, 511 mg/L de sólidos disueltos y 666 mg/L de sólidos totales, mientras que para el río de las Vacas fueron de: 10 mg/L de sólidos suspendidos, 375 mg/L de sólidos disueltos y 394 mg/L de sólidos totales. Estas cantidades de sólidos que están llegando a estos cuerpos de agua probablemente provienen de la erosión provocada por el mal uso del suelo y malas prácticas agrícolas, lo que trae como consecuencia un deterioro significativo en la calidad de agua, no solo de los cuerpos receptores, en este caso el río Villalobos y el río Las Vacas, sino de los cuerpos de agua a donde estos últimos desembocan.

Los valores obtenidos de sólidos disueltos en ambos ríos sobrepasan el promedio establecido para ríos a nivel mundial que es de 120 ppm, sin embargo dependiendo del estado de nutrientes y salinidad de cada cuerpo de agua se encontraran diferencias significativas. La norma oficial mexicana NOM-001-ECOL-1996 establece un límite máximo permisible diario de 40 mg/L de sólidos suspendidos para ríos donde se quiere proteger la vida acuática, éste límite es superado por el valor obtenido para el río Villalobos, pero no por el del río Las Vacas, lo que evidencia una mayor contaminación por sólidos en el río Villalobos.



Las concentraciones de nitrógeno proveniente de nitritos obtenidas en el río Villalobos fueron de: 0,0063 mg/L y de 0,0056 mg/L para el río Las Vacas. Las concentraciones de nitratos en este estudio fueron de 0.0523 mg/L para el río Villalobos y 0.0980 mg/L para el río Las Vacas. La mayor concentración de nitratos se debe a que los nitritos son menos estables y más reactivos que los nitratos, oxidándose lentamente a nitratos con el paso del tiempo. La presencia de nitratos en el agua se debe al uso excesivo de fertilizantes nitrogenados y a la contaminación causada por la descargas de aguas residuales domésticas.

En conclusión, la suma de las especies nitrogenadas, es decir, el nitrógeno total en el río Villalobos fue de 0,2813 mg/L y en el río Las Vacas fue de 0,6533 mg/L, estos resultados superan significativamente -evidenciando alto grado de contaminación- los criterios establecidos por la U.S. EPA para nitrógeno total en diferentes ríos y arroyos situados en diferentes eco-regiones alrededor de Estados Unidos, cuyos valores oscilan entre 0,0007 y 0,00326 mg/L y que según la EPA, funcionan como una guía que puede utilizarse como punto de partida para establecer los estándares de la calidad del agua de otros ríos y arroyos.

De las formas de fosfatos presentes (orgánicas e inorgánicas) el más importante es el fósforo de ortofosfato, debido a que es la forma disponible para la vida acuática. Los niveles de ortofosfatos y de fósforo total obtenidos fue 0,2813 mg/L para el río Villalobos y 0,6533 mg/L para el río Las Vacas; mientras que el fósforo total fue de 2,4545 mg/L para el río Villalobos y de 3,1468 mg/L para el río Las Vacas, estos niveles provienen de las descargas de aguas que contienen como residuo detergentes comerciales (que fue observado durante el muestreo) y de los productos fertilizantes. Ambos valores superan significativamente los valores guía establecidos por la EPA para ortofosfatos y fósforo total en aguas de ríos y arroyos, que van desde 0,003 mg/L a 0,157 mg/L (EPA, 2000b). Los valores más altos tanto de nitrógeno total como de fósforo total se presentaron en el río Las Vacas.

Otros parámetros importantes para la determinación de la calidad de agua, es la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y la demanda química de oxígeno (DQO). El valor de DBO

mide el oxígeno consumido por los organismos vivos (principalmente bacterias) utilizando como alimento materia orgánica, de manera indirecta se mide el contenido del material biodegradable. Así el oxígeno consumido por material biodegradable fue de: 93,49 mg de O<sub>2</sub>/L para el río Villalobos y de 18,25 mg de O<sub>2</sub>/L para el río Las Vacas, lo que indica que el río Villalobos presenta mayor cantidad de materia orgánica, coincidiendo con la cantidades de sólidos encontrados, por lo que se puede inferir que muchos de esos sólidos son materia orgánica degradable.

La Comisión Nacional del Agua de México (CONAGUA), estableció gradientes que van desde una condición natural hasta valores que evidencian la influencia antropogénica o indicios de aportaciones importantes de descargas de aguas residuales municipales y no municipales. Esta guía establece valores de DBO  $\leq 3$  mg O<sub>2</sub>/L para aguas no contaminadas, si se obtiene un valor de DBO  $\leq 6$  y mayor a 6, el agua se clasifica como aceptable, y un valor mayor a 30 mg O<sub>2</sub>/L y  $\leq 120$  mg O<sub>2</sub>/L para aguas contaminadas con descargas residuales crudas, principalmente de origen municipal. Para valores por arriba de 120 mg O<sub>2</sub>/L se consideran aguas fuertemente contaminadas e impactadas con descargas residuales crudas municipales y no municipales.

Según las guías establecidas por la CONAGUA, la DBO de agua del río Las Vacas se clasifica como aceptable, mientras que la del río Villalobos se clasifica como contaminada con descargas de aguas residuales. Esta clasificación se basa únicamente en los valores de la DBO, sin embargo, para una clasificación más general es necesario analizar otros parámetros fisicoquímicos que indiquen la calidad del agua.

El ensayo de la DQO también se emplea para la medición de la materia orgánica presente en aguas residuales tanto industriales como municipales que tengan compuestos tóxicos para la vida biológica. La DQO de un agua residual suele ser mayor que su correspondiente DBO, debido al mayor número de compuestos que se oxidan por vía química frente a los que se oxidan por vía biológica. El valor de DQO obtenido para el río Villalobos fue de  $151,32 \pm 1.63$  mg/L y para el río Las Vacas fue de  $74,00 \pm 3.72$  mg/L ambos valores superan a sus correspondientes valores de DBO.

Los valores para DQO establecidos por la CONAGUA fijan valores  $\leq 10$  mg O<sub>2</sub>/L para aguas no contaminadas, si el valor es  $\leq 20$  mg O<sub>2</sub>/L y mayor de 10 se considera agua de buena calidad y valores mayores a 40 mg O<sub>2</sub>/L pero inferiores a 120 mg O<sub>2</sub>/L son aguas contaminadas, cualquier valor por arriba de 120 mg O<sub>2</sub>/L se consideran aguas fuertemente contaminadas. Entonces, según las guías establecidas por la CONAGUA, el agua del río Las Vacas se clasifica como agua contaminada, mientras que el río Villalobos se clasifica como agua fuertemente contaminada, de acuerdo al parámetro de DQO. En ambas determinaciones, tanto de DBO como DQO se evidencia que el agua del río Villalobos se encuentra más contaminada que la del río Las Vacas.

La determinación de ambos parámetros es importante ya que cantidades considerables de DBO y DQO o el aumento en las mismas reflejan una alta concentración de material orgánico, que a su vez disminuye los niveles de oxígeno disponible, evitando así el crecimiento de otro tipo de vida acuática y causando graves daños a la flora y fauna acuática (Vásquez & Cortéz, 1996).

En 2008, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos en el río Villalobos, encontrándose valores de: 7,84 de pH, 3,95 mg/L de oxígeno disuelto, los valores para fósforo y nitrógeno total fueron de 14,362 mg/L y 19,28 mg/L respectivamente. Los valores de la DQO y DBO fueron de 642 y 347 mg/L O<sub>2</sub> (Gil, 2008).

Según el estudio realizado en el río Las Vacas en el año 2000, se determinaron los parámetros fisicoquímicos en varios puntos de este río, el valor promedio de pH encontrado en el sitio de muestreo de Cayalá (donde se realizó el muestreo pasivo y el muestreo compuesto para este estudio) fue de 7,58. Las concentraciones de nitritos, nitratos y nitrógeno total fueron: 0,142 mg/L, 0,62 mg/L y 7,3 mg/L respectivamente, mientras que los valores encontrados para fósforo total fueron de 0,67 mg/L. El valor de la DBO fue de 15 mg/L y el de la DQO fue 50 mg/L O<sub>2</sub> (Oliva, Callejas y Pérez, 2001).

Los valores obtenidos hace más una década en el río Las Vacas y hace cinco años en el río Villalobos, reflejan que el agua de ambos ríos se encontraba contaminada e incluso algunos valores superaban significativamente los límites máximos permisibles.

Al comparar los resultados de estos estudios con los datos obtenidos, se demuestra que la mayoría de los valores han disminuido, sin embargo aun existe un evidente deterioro del ecosistema, ya que ambos ríos han sido utilizados como depósitos de aguas residuales de la capital del país, por lo que se esperaba encontrar altos niveles de contaminación, y se presumiéndose que se encontrarían cantidades cuantificables de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico.

### **Contaminantes Emergentes:**

Los contaminantes emergentes analizados en este estudio son fármacos de fácil acceso y de venta libre. El estudio se realizó en ríos contaminados debido a la necesidad de realizar un diagnóstico sobre la presencia de los mismos en el medio ambiente acuático de Guatemala.

De los seis fármacos propuestos: acetaminofeno o paracetamol (analgésico y antipirético) cafeína (estimulante), diclofenaco sódico (antiinflamatorio no esteroideo -AINES-), dexketoprofeno (AINES), fenilefrina (descongestionante nasal) e ibuprofeno (AINES), cinco de ellos se encontraron en cantidades cuantificables mediante la captación por muestreo pasivo y su posterior análisis por HPLC. El único fármaco que no se encontró en las muestras analizadas fue el diclofenaco sódico.

La presencia en cantidades cuantificables de la mayoría de los analitos propuestos para este estudio se debe a varias razones: la primera fue debido al método de muestreo pasivo que permitió captar los analitos de interés en un tiempo prolongado. La segunda razón se debe a que probablemente el caudal es menor en la época seca, que fue la época cuando se realizó el muestreo, esto provoca una mayor concentración de éstos en el agua, sin embargo se han realizado estudios en otros países donde se observaron altas concentraciones de antiinflamatorios durante la época de invierno, esto como consecuencia del mayor consumo de este tipo de medicamentos como tratamiento de una gran variedad de enfermedades estacionales.

Los valores promedio obtenidos en el cuadro No. 6 y 7 muestran la cuantificación de la masa en microgramos de cinco de los seis analitos propuestos, esto se logró mediante la

captación de los mismos mediante un muestreo pasivo durante un lapso de 30 días en el río Villalobos y de 34 días en el río Las Vacas. La mayor efectividad del muestreo pasivo se demostró al compararse con los resultados de un muestreo compuesto realizado tomando muestras a cada hora por espacio de cuatro horas en cada cuerpo de agua, en el que no se logró detectar ninguno de los analitos antes mencionados.

No fue posible calcular la incertidumbre de todos los valores obtenidos, el cálculo se hizo únicamente para aquellos analitos cuyos valores hayan sobrepasado el límite de detección en los tres filtros, para los cuales además se calculó la media o promedio y la incertidumbre mediante el intervalo  $\pm 2s$ . Debido a que en los filtros POCIS analizados, algunos contaminantes emergentes no superaban el límite de detección al realizar las repeticiones, se utilizó únicamente una estimación puntual del valor detectado.

Los resultados muestran una gran variabilidad e incertidumbre, a pesar de que los tres filtros fueron colocados en la misma canasta receptora, lo que evidencia que la captación de los contaminantes emergentes no es homogénea, esto se debe probablemente a la geometría del muestreador pasivo y a la forma de colocación en el cuerpo receptor. Este error sistemático se podría disminuir al colocar adecuadamente y en la misma posición el muestreador, de tal manera que los filtros contenidos en la canasta reciban la muestra equitativamente.

La variabilidad también se puede explicar debido a que este tipo de sustancias se encuentran en cantidades traza, por lo que la reproducibilidad de los datos es más difícil, obteniendo resultados significativamente diferentes en el mismo sitio de muestreo.

Fue posible cuantificar la masa de cinco fármacos de uso común colectada por períodos de 30 y 34 días utilizando la técnica de muestreo pasivo con POCIS, donde los resultados obtenidos fueron de: 30,46  $\mu\text{g}$  de acetaminofeno, 4,600  $\mu\text{g}$  de cafeína, 35,40  $\mu\text{g}$  de dexketoprofeno, 93,00  $\mu\text{g}$  de fenilefrina y 33,22  $\mu\text{g}$  de ibuprofeno en el río Villalobos (Cuadro 6). En el río Las Vacas las cantidades encontradas fueron de: 15,66  $\mu\text{g}$  de acetaminofeno, 7,460  $\mu\text{g}$  de cafeína, 58,82  $\mu\text{g}$  de dexketoprofeno, 126,0  $\mu\text{g}$  fenilefrina y 13,98  $\mu\text{g}$  de ibuprofeno (Cuadro 7). Se calculó únicamente la masa de cada analito captada

por los muestreadores en el período de exposición, y debido a que no se midió el caudal, no fue posible reportar la concentración o carga contaminante de cada fármaco.

Cabe resaltar el hecho de que la captación de contaminantes está directamente relacionada con la elección del punto de muestreo. En el río Las Vacas, por ejemplo, se colocó el muestreador pasivo en el parque Ecológico Cayalá, pero la colocación del POCIS río abajo, donde convergen otros ríos que tienen el aporte de aguas residuales hospitalarias, probablemente haría que los valores cuantificados de contaminantes emergentes se elevaran.

A pesar de que se trata de ríos con poca vida acuática y altos niveles de contaminación, el problema principal radica en que el río Villalobos desemboca en el lago de Amatitlán y el río Las Vacas por su parte, desemboca en el río Motagua, donde el agua es utilizada para suministro y riego y en algunos sitios para la pesca. Además existe la amenaza de que el río Motagua, a pesar de ser un ecosistema altamente dañado, corre por el oriente del país y su desembocadura representa una amenaza para el mar Caribe donde se pueden llegar a manifestar las consecuencias.

La presencia de este tipo de contaminantes en el agua se debe básicamente a la mala disposición de los productos farmacéuticos vencidos, que son desechados en el desagüe sin ningún tratamiento previo. Además la existencia de pocas o de ninguna planta de tratamiento de aguas residuales que posean tratamiento terciario. Otro factor que influye en encontrar contaminantes emergentes en el agua es la eliminación de medicamentos sin degradación y como metabolitos a través de la orina, que si bien es cierto es en menor porcentaje, la suma de varios medicamentos ingeridos sin receta médica por varias personas tienen un efecto mayor.

Es importante resaltar el efecto sinérgico que este tipo de sustancias puedan llegar a tener al interactuar farmacológica o toxicológicamente con la biota acuática, desarrollando un efecto biológico combinado mayor que la suma de cada uno de ellos por separado.

A pesar de la amplia gama de estudios realizados en otros países sobre contaminantes emergentes, aun existen vacíos de información, lo cual debe ser motivo de preocupación y de estudios posteriores y en un futuro proponer que estos sean incluidos en las regulaciones con el fin de mejorar la calidad de nuestros recursos hídricos.

## X. CONCLUSIONES

1. Se demostró que la problemática de los contaminantes emergentes en Guatemala es evidente, al haberse identificado acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, fenilefrina e ibuprofeno en el agua del río Villalobos y el río Las Vacas. Estos resultados representan un diagnóstico preliminar sobre este tipo de compuestos que hasta ahora no habían sido analizados en Guatemala.
2. Se cuantificó la masa de acetaminofeno, cafeína, dexketoprofeno, fenilefrina e ibuprofeno extraída del agua en ambos ríos, por medio de un muestreo pasivo utilizando POCIS por períodos de 30 a 34 días, obteniendo la mayor cantidad de fenilefrina tanto en el río Las Vacas como en el río Villalobos.
3. Se implementó la metodología de muestreo pasivo utilizando un dispositivo de muestreo integrado para compuestos orgánicos polares (POCIS), específicamente de tipo farmacéutico, que no había sido utilizada en Guatemala.
4. Se comprobó la ventaja de utilizar muestreadores pasivos frente a un muestreo compuesto puntual, ya que en el primero se cuantificó la masa de cinco de los seis fármacos propuestos, mientras que para el segundo no se logró detectar ninguno de ellos.
5. Mediante el análisis de parámetros fisicoquímicos se comprobó que el agua de ambos ríos se encuentra severamente contaminada debido a las altas concentraciones de nutrientes encontrados como: nitritos, nitratos, nitrógeno total, ortofosfatos y fósforo total, así como los valores de la DBO y DQO obtenidos.



## XI. RECOMENDACIONES

1. Debido a que el muestreo de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico se ha determinado de forma puntual, se recomienda realizar monitoreos constantes para la obtención de datos en las diferentes épocas (seca y lluviosa) y en diferentes sitios de muestreo para establecer un diagnóstico más exacto sobre la presencia de este tipo de contaminantes en el agua.
2. Realizar estudios de biodisponibilidad o bioensayos de contaminantes emergentes de tipo farmacéutico, en donde se mida la velocidad a la que la dosis administrada de cierto fármaco llegue al tejido sobre el cuál realiza su actividad, ya que se necesitan más datos para describir los efectos que producen a la biota acuática.
3. Evaluar el impacto ambiental y ecológico de los compuestos farmacéuticos antes de ser puestos en el mercado ya que a pesar de ser seguros para el consumo humano, no queda totalmente definido su impacto sobre el medio ambiente.
4. Establecer programas de concientización de la población para la eliminación adecuada y retorno de medicamentos no utilizados o caducos para evitar descartar medicamentos en el drenaje, ya que existe evidencia de que la mayoría de fármacos no son degradados por el proceso de tratamiento de aguas residuales y en consecuencia, se liberan en el medio ambiente.
5. Evaluar la eficacia actual de las plantas de tratamiento de agua contra contaminantes emergentes, y proponer proyectos de investigación innovadores y de bajo costo que apunten específicamente a su eliminación, mediante convenios con universidades e instituciones dedicadas al cuidado del medio ambiente.
6. Realizar el estudio de los metabolitos que son los productos de degradación de los medicamentos y de otros compuestos farmacéuticos como: antibióticos, anticonvulsivos, ansiolíticos, antidepresivos y otros.

7. Realizar el estudio en cuerpos de agua naturales importantes en el país, ya que hasta el momento no se tiene información de la presencia de contaminantes emergentes en este tipo de ecosistemas, y así evitar y/o mitigar a tiempo los daños provocados por la contaminación de éste tipo de sustancias.
8. Reforzar los estudios realizados con determinaciones de caudales haciendo mediciones a diferentes horas del día, en diferentes días y en varias épocas del año de ambos ríos para poder determinar con exactitud la carga contaminante de compuestos farmacéuticos.
9. Realizar la calibración del muestreador pasivo para poder establecer el rendimiento de extracción y determinar con exactitud la cantidad extraída de analito que pasó por el punto de muestreo.
10. Disminuir la cantidad de fosfatos y nitratos en los vertidos, promoviendo el uso de detergentes con baja proporción de fosfatos y no excediendo el uso de fertilizantes nitrogenados en su lugar aprovechar los desechos agrícolas y ganaderos como abono.

## XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albrant, D. H. (2010). *Pharmaceutical waste and the problem of the emerging contaminants (CE)*. Drug Topics. 40-50. Recuperado de <http://www.drugtopics.com>
- Álvarez, D.A., (2010). Guidelines for Use of the Semipermeable Membrane Device (SPMD) and the Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS), Part 4 of Section D Water Quality In Environmental Monitoring Studies: U.S. Geological Survey, Techniques and Methods 1-D4.
- Álvarez, D. A., Cranor, W. L., Perkins, S. D., Clark, R. C., & Smith, S. B. (2008). Chemical and Toxicological Assessment of Organic Contaminants in Surface Water Using Passive Samplers [Electronic version]. *Journal of Environmental Quality* , 37(3), 1024-1033. doi: 10.2134/jeq2006.0463
- American Psychological Association. (2009). *Publication Manual of the American Psychological Association* (6<sup>th</sup> ed.). Washington, DC: Author.
- AMSA. (2008). *Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca del lago de Amatitlán. ¿Qué es AMSA?*. Recuperado de <http://www.amsa.gob.gt/blog/?cat=3>
- APHA, AWWA, & WFE. (1999). *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. Washington, DC: Author.
- Arditsoglou, A., & Voutsas, D. (2008). Passive sampling of selected endocrine disrupting compounds using polar organic chemical integrative samplers [Electronic Version]. *Environmental Pollution*, 156, 316-324. doi: 10.1016/j.envpol.2008.02.007
- Barceló, D. (2007). En los ríos urbanos hay más cocaína que ibuprofeno. *Público. es* [En línea]. Recuperado de <http://www.publico.es/ciencias/28713/en-los-rios-urbanos-hay-mas-cocaina-que-ibuprofeno>

- Barceló, D., & López, M. (2008). *Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Convenio Universidad de Sevilla-Ministerio de Medio Ambiente*. Barcelona: Fundacion Nueva Cultura del Agua.
- Becerril, J. E. (2009). Contaminantes emergentes en el agua [En línea]. *Digital Universitaria* , 10 (8), 2-7. Recuperado de:  
<http://www.revista.unam.mx/vol.10/num8/art54/art54.pdf>
- Branislav, V., Graham, A. M., Ian, J. A., Dominiak, E., Svensson, K., & Knutsson, J. (2005). Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water [Electronic version]. *Trends in Analytical Chemistry* , 24(19), 845-868.  
doi:10.1016/j.trac.2005.06.006
- Cal.Government. (2007). *Pharmaceutical Waste*. Recuperado de  
<http://www.dtsc.ca.gov/AssessingRisk/PPCP>
- Carballa, M., Omil, F., Lema, J., Llompart, M., García.-Jares, C., Rodríguez, I., Gómez, M., et.al. (2004). Behavior of phamaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant [Electronic version]. *Water Research*, 38(12), 2918- 2926.  
doi:10.1016/j.watres.2004.03.02
- DIGI, & CEUR. (1999). *La contaminación de la cuenca norte de la ciudad de Guatemala y la gestión ambiental de los pobladores de Santa Cruz Chinautla*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- EPA. (2006). *Pharmaceutical and Personal Care Productos (PPCPs)*. Recuperado de  
<http://www.epa.gov/ppcp/>
- EPA. (2000b). *Nutrient Criteria Technical Guidance Manual: Rivers and Streams*. Recuperado de <http://www2.epa.gov/nutrient-policy-data/ecoregional-nutrient-criteria-documents-rivers-streams>

EPA, & WHO. (1990). *United Nations Environmental Programme. Environmental Health Criteria 181 Chlorinated Paraffins*. Recuperado de <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc181.htm>

Fram, M. S., Belitz, K., (2011). Occurrence and concentrations of pharmaceuticals compounds in groundwater used for public drinking-water supply in California [Electronic Version]. *Science of Total Environment*, 409, 3409-3417. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.05.053

García, H.O. (2002). *Cuantificación de la Calidad del Agua del Río Villalobos en época seca y lluviosa en un período de 24 horas 2 veces al mes en un punto previo a la entrada al Lago de Amatitlán*. (Tesis de Maestría), Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Gil, N.E. (2008). *Interpretación quimiométrica de la calidad del agua de los ríos que conforman la microcuenca del Río Villalobos, principal tributario del Lago de Amatitlán, durante los años 1996 a 2006*. (Tesis de Químico Biólogo), Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Hongxia, L., Helm, P. A., Paterson, G., & Metcalfe, C. D. (2010). The effects of dissolved organic matter and pH on sampling rates for polar organic chemical integrative samplers (POCIS) [Electronic version]. *Chemosphere*, 81(3), 271-280. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.12.071

INSIVUMEH. (s.f.). *Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Metrología e Hidrología /Programa de Hidrología*. Recuperado de <http://www.insivumeh.gob.gt/hidrologia/rios%20de%20guate.htm#PRINCIPALES>  
RIOS DE GUATEMALA

Instituto Nacional de Estadística. (2011). *Población en Guatemala (demografía)*. Recuperado de: <http://www.ine.gob.gt/np/poblacion/index.htm>

- Instituto Nacional de Salud de E.E.U.U. (2011). *Medline Plus*. Recuperado de <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/>
- Instituto Químico Biológico. (2004). *Medciclopedia: Diccionario ilustrado de términos médicos*. Recuperado de: <http://www.iqb.es/diccio/diccio1.htm>
- INVEMAR. (2003). *Manual de Técnicas Analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos: aguas, sedimentos y organismos*, Santa Marta, Colombia: Cargraphics.
- Jones-Lepp, T. L. (2004). Polar Organic Chemical Integrative Sampling (POCIS) and LC-ES/ITMS for Assessing. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(4), 427-439.
- Kern-Pharma. (2012). *Ficha Técnica del Paracetamol*. Recuperado de: <http://www.kernpharma.com/wp-content/uploads/2012/03/Paracetamol-500x20.pdf>
- Mass.Government. (s.f.). *Emerging Contaminants: Pharmaceutical & personal care products*. Recuperado de <http://www.mass.gov/dep/toxics/stypes/ppcpedc.htm>
- Méndez-Arriaga, F., Torres-Palma, R. A., Pétrier, C., Esplugas, S., Gimenez, J., & Pulgarin C. (2008). Ultrasonic treatment of water contaminated with ibuprofen [Electronic version]. *Water Research*, 42(16), 4243-4248. doi:10.1016/j.envpol.2010.11.034
- Oliva, B. E., Callejas B. C., & Pérez, J. F. (2001). *Caracterización fisicoquímica y bacteriológica de las aguas del Río Las Vacas*. Guatemala: Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Pal, A., Gin, K. Y. H., Lin, A. Y. C., & Reinhard, M. (2010). Impacts of emerging organic contaminants on freshwater resources: Review of recent occurrences, sources, fate and effects [Electronic version]. *Science of the Total Environment*, 408(24), 6062-6069. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.09.026
- Pardo, R., Álvarez, Y., Tafalla, D., & Farré, M. (2007). Cafeína: un nutriente, un fármaco o una droga de abuso [En línea]. *Adicciones*, 19(3), 225-238.

- Pesce, S., Morin, S., Lissalde, S., Mountuelle, B., & Mazzella, N. (2011). Combining polar organic chemical integrative samplers (POCIS) with toxicity testing to evaluate pesticide mixture effects on natural phototrophic biofilms [Electronic version]. *Environmental Pollution*, 159(3), 735-741. doi:10.1016/j.envpol.2010.11.034
- Ponencia recuperada on-line Dévier, M. H., Tapie, N., Creusot, N., Le Menach, K., Porcher, J.M., Aït-Aïssa, S., et. al. (2011, Septiembre). Passive samplers and associated endocrine disruption assessment in water. Trabajo presentado en el Taller de proyectos NATO Sfp 982590. North Atlantic Treaty Organization. Bordeaux, Francia. Recuperado de [http://www.irb.hr/natosavariver/files/NATO\\_Devier\\_2010.pdf](http://www.irb.hr/natosavariver/files/NATO_Devier_2010.pdf)
- Rahman, M. F., Yanful, E. K., & Jasim, S. Y. (2009). Occurrences of the endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals in the aquatic environment and their removal from drinking water: Challenges in the context of the developing world [Electronic version]. *Desalination*, 248, 578-585. doi:10.1016/j.desal.2008.05.105
- Rhomberg, L., & Seeley, M. (2005). Environmental hormone disruptors. *Encyclopedia of Toxicology*, 205-208.
- Sacher, F., Lange, F. T., Braunch, H. J., Blankerhonor, I. (2001). Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany [Electronic version]. *Journal of Chromatography A*, 938, 100-210 .
- Söderström, H., Lindberg, R. H., & Fick, F. (2009). Strategies for monitoring the emerging polar organic contaminants in water with emphasis on integrative passive sampling [Electronic version]. *Journal of Chromatography A*, 1216(3), 623-630. doi:10.1016/j.chroma.2008.08.030
- Trenholm, R. A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Rexing, D. J., & Snyder, S.A. (2006). Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry [Electronic version]. *Chemosphere* , 65, 1991-1998.

- Togola, A., Budzinski, H. (2008). Multi-residue analysis of pharmaceutical compounds in aqueous samples [Electronic version]. *Journal of Chromatography A*, 1177, 150-150. doi: 10.1016/j.chroma.2007.10.105
- UNAM. (2007). *Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general*. Recuperado de [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Diclofenaco%20Iny.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Diclofenaco%20Iny.htm)
- US Army Corps of Engineers, Mobile District, & Topographic Engineering Center. (2000). *Water Resources Assesment of Guatemala*. United States: United States Southern Command.
- USGS. (2010). *Emerging Contaminants on the Enviroment*. Toxic Substances Hydrology Program. Recuperado de <http://toxics.usgs.gov/regional/emc/html>
- U. S. Pharmacopeial -USP-. (2006). *Farmacopea de los Estados Unidos de América USP 30* (25 ed.). Rockvile, MD: Port City Press.
- Vásquez, D., & Cortés, G. M. (1996). *Validación del método instrumental para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno*. (Tesis de Ingeniería Química), Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, México.
- Vaz, D. A. (2007). *Contaminantes Emergentes: Contaminación del agua, Nuevos desafíos y Soluciones*. Fundación Empresa Universidad de Granada. Recuperado de <http://www.ugr.es/~mgroman/archivos/Mojacar/charla1.pdf>
- Wetcher, W.J. (1998). Dexketoprofen Trometamol. *The Journal of Clinical Pharmacology* [Electronic version]. 38, 1S-2S
- Wright, D. A., & Welbourn, P. (2002). *Environmental Toxicology*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- Zhang, Z., Hibberd, A., & Zhou, J. L. (2007). Analysis of emerging contaminants in sewage effluent and river water: Comparison between spot and passive sampling



[Electronic version]. *Analytica Chimica Acta* 607, 37- 44. doi:  
10.1016/j.aca.2007.11.024

Zhuomin, Z., Hongbin, D., Zang, L., Chen, X., Liu, W., & Chen, G. (2009). Direct  
determination of anabolic steroids in pig urine by a new SPME-GC-MS method  
[Electronic version]. *Talanta*, 78(3), 1083-1089. doi: 10.1016/j.talanta.2009.01.022

## XII. ANEXOS

Figura 26. Río Villalobos, punto de toma de muestra y colocación del muestreador pasivo – POCIS-: Planta de tratamiento “La Serra”



Fuente: Fotografía tomada por Elisandra Hernández

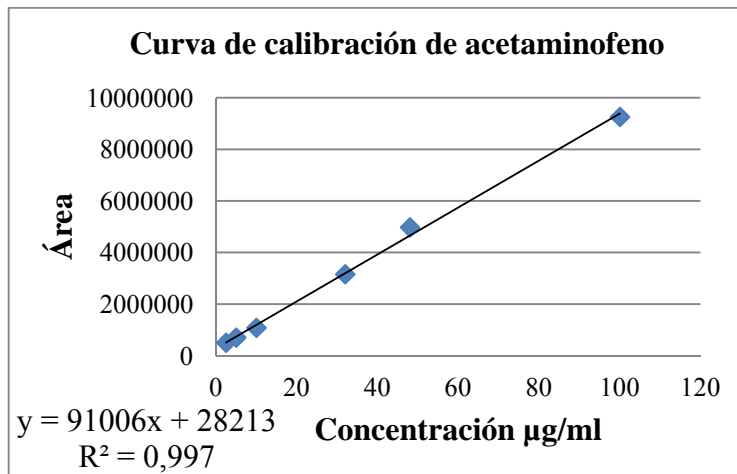
Figura 27. Río Las Vacas, punto de toma de muestra y colocación del muestreador pasivo - POCIS- en el Parque Ecológico Cayalá



Fuente: Fotografía tomada por: Elisandra Hernández

Figura 28. Curva de calibración de acetaminofeno

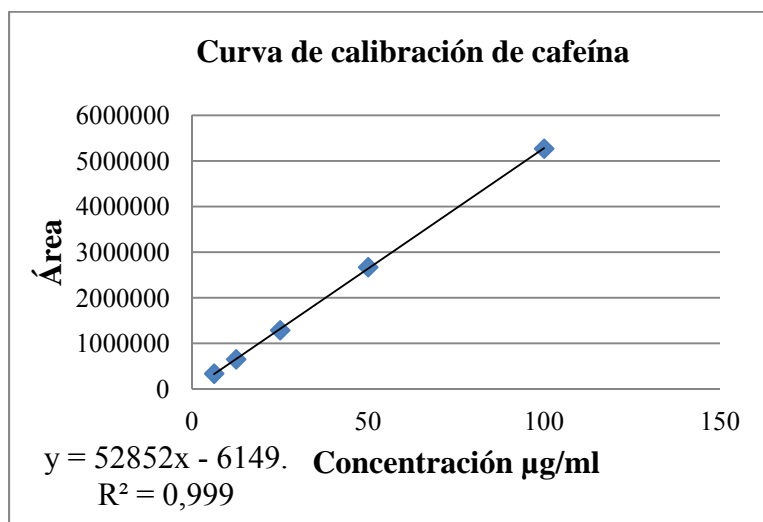
Concentración µg/ml	Área	Tiempo de retención
2,50	501774	2,41
5,00	701273	2,43
10,00	1078918	2,43
32,00	3158059	2,44
48,02	4976092	2,44
100,05	9256805	2,45



Fuente: Datos experimentales

Figura 29. Curva de calibración de cafeína

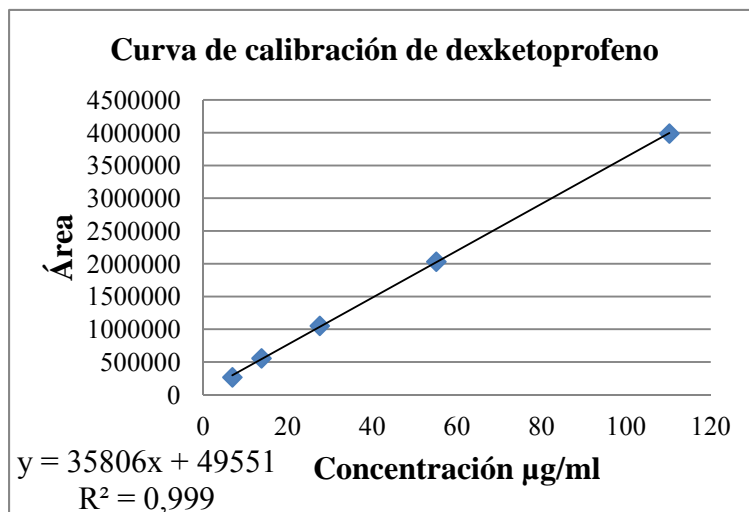
Concentración µg/ml	Área	Tiempo de Retención
6,25	334071	4,41
12,50	649305	4,39
25,00	1286412	4,38
50,00	2670086	4,38
100,00	5269436	4,36



Fuente: Datos experimentales

Figura 30. Curva de calibración de dexketoprofeno trometamol

Concentración µg/ml	Área	Tiempo de Retención
6,89	266936	3,98
13,78	556036	3,98
27,56	1052121	3,97
55,11	2031253	3,99
110,21	3987751	3,99



Fuente: Datos experimentales

Figura 31. Curva de calibración de diclofenaco sódico

Concentración µg/ml	Área	Tiempo de Retención
6,25	981293	7,34
12,50	1996575	7,35
25,00	3874700	7,36
50,00	7956400	7,36
100,00	15667534	7,36

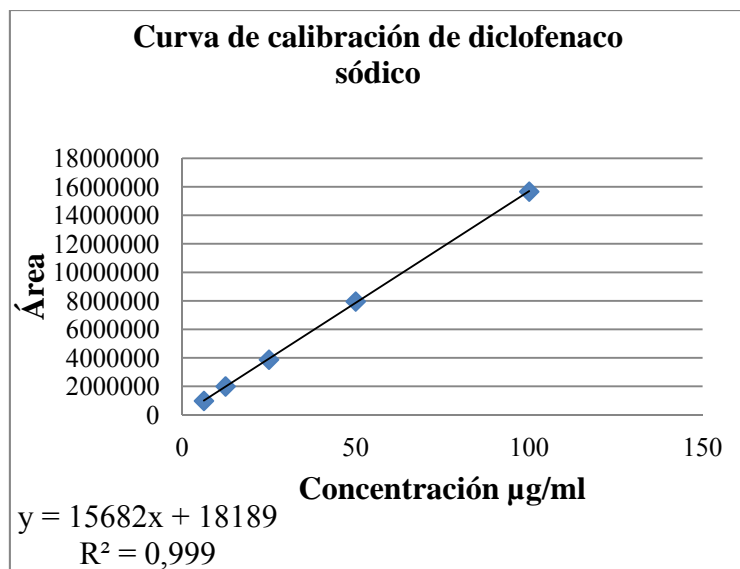
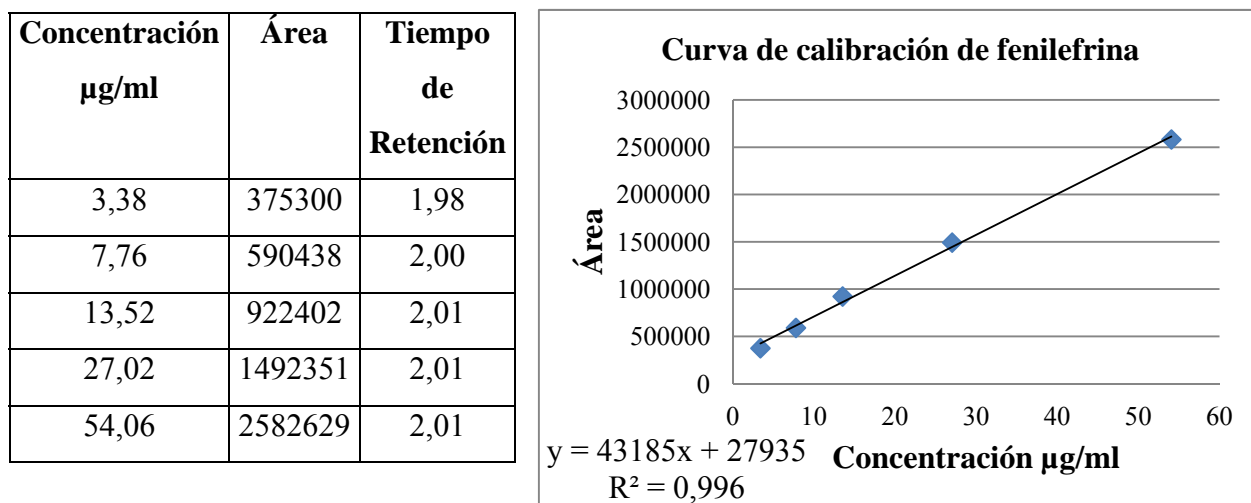
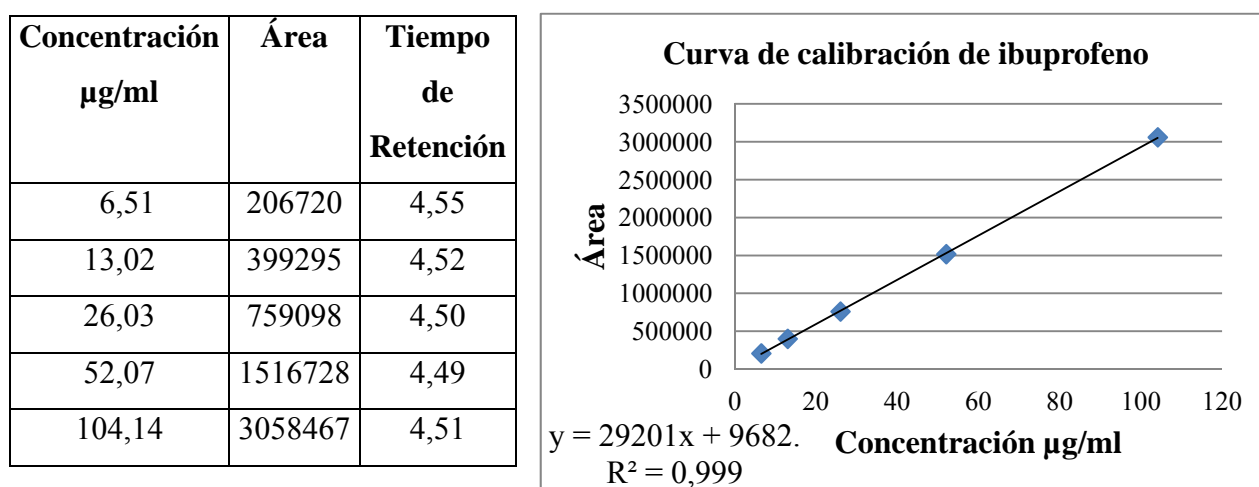


Figura 32. Curva de calibración de fenilefrina



Fuente: Datos experimentales

Figura 33. Curva de calibración de ibuprofeno



Fuente: Datos experimentales

Figura 34. Cromatograma del estándar número seis de acetaminofeno de concentración:  
100,05 µg/ml

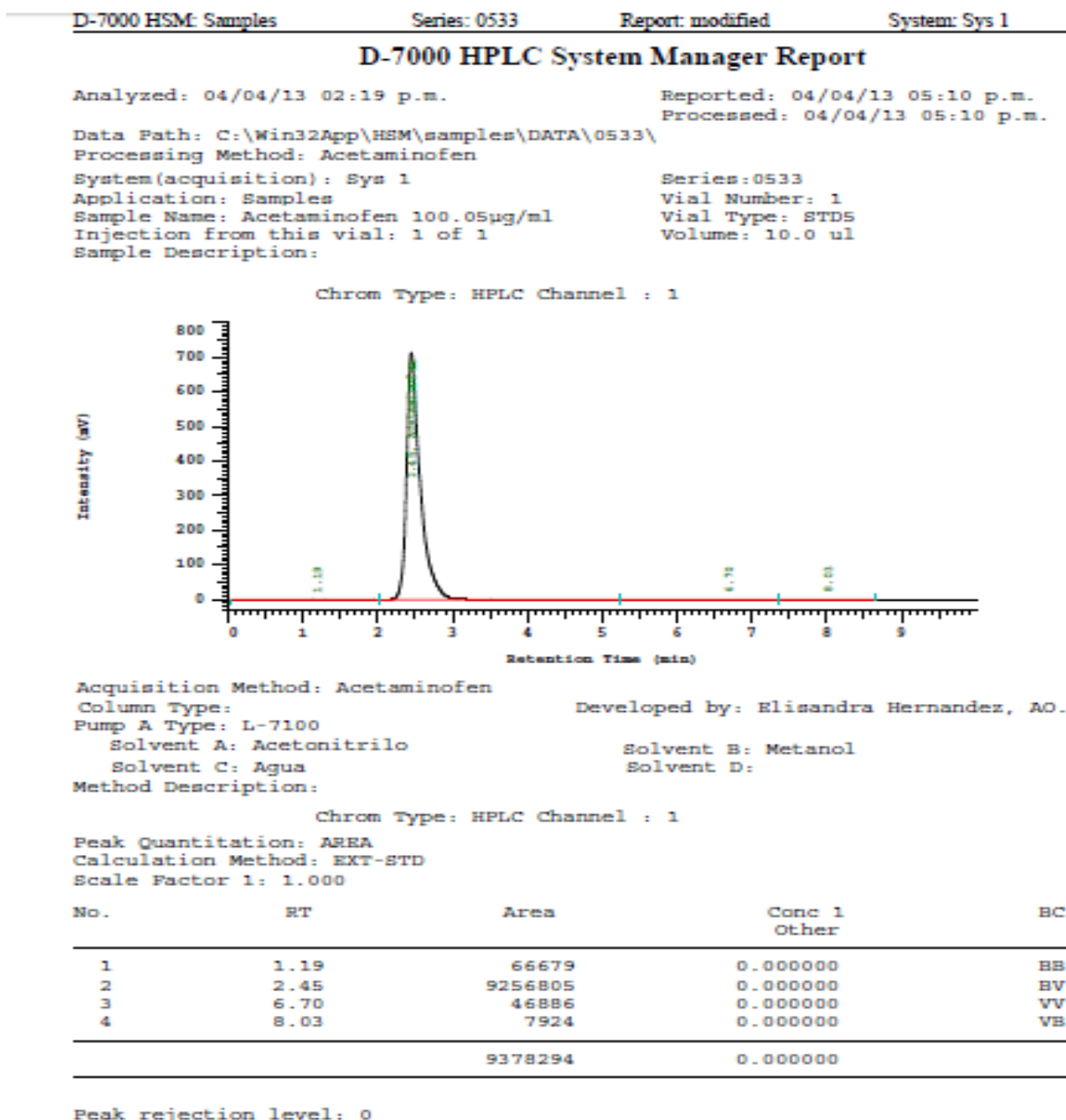


Figura 35. Cromatograma de acetaminofeno del filtro número dos de la muestra del río Villalobos.

D-7000 HSM: Samples      Series: 0533      Report: modified      System: Sys 1

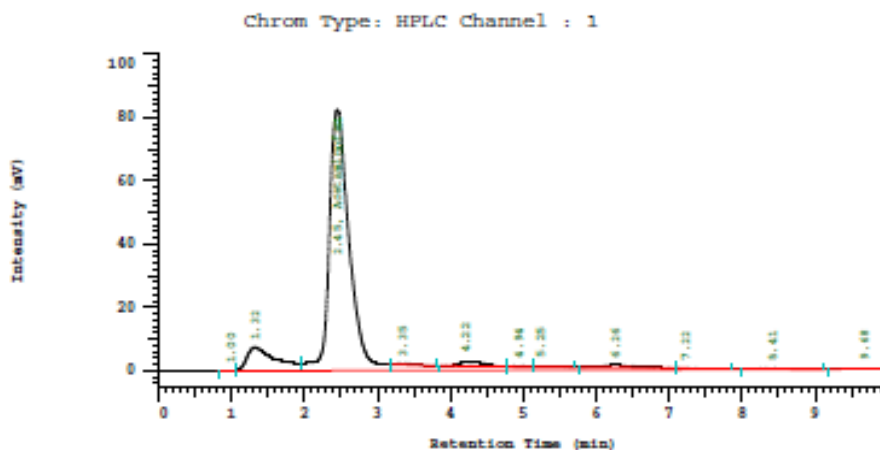
---

**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 04/04/13 03:26 p.m.      Reported: 04/04/13 05:13 p.m.  
 Processed: 04/04/13 05:13 p.m.

Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0533\  
 Processing Method: Acetaminofen

System(acquisition): Sys 1      Series:0533  
 Application: Samples      Vial Number: 1  
 Sample Name: Muestra 2 río Villalobos      Vial Type: UNK  
 Injection from this vial: 1 of 1      Volume: 10.0 ul  
 Sample Description:



Acquisition Method: Acetaminofen      Developed by: Elisandra Hernandez, AO.  
 Column Type:  
 Pump A Type: L-7100  
 Solvent A: Acetonitrilo      Solvent B: Metanol  
 Solvent C: Agua      Solvent D:  
 Method Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA  
 Calculation Method: EXT-STD  
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Area	Conc 1	BC
1	1.00	556	0.000000	BV
2	1.32	208781	0.000000	VV
3	2.45	1846559	0.000000	VV
4	3.35	9382	0.000000	TBB
5	4.22	33092	0.000000	TBV
6	4.94	6047	0.000000	TVV
7	5.25	7464	0.000000	TVB
8	6.26	34689	0.000000	TBV
9	7.22	5105	0.000000	TVB
10	8.41	9956	0.000000	TBB
11	9.68	4564	0.000000	BB
		2166195	0.000000	

Fuente: Datos experimentales

Figura 36. Cromatograma de acetaminofeno del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas

D-7000 HSM: Samples      Series: 0533      Report: modified      System: Sys 1

---

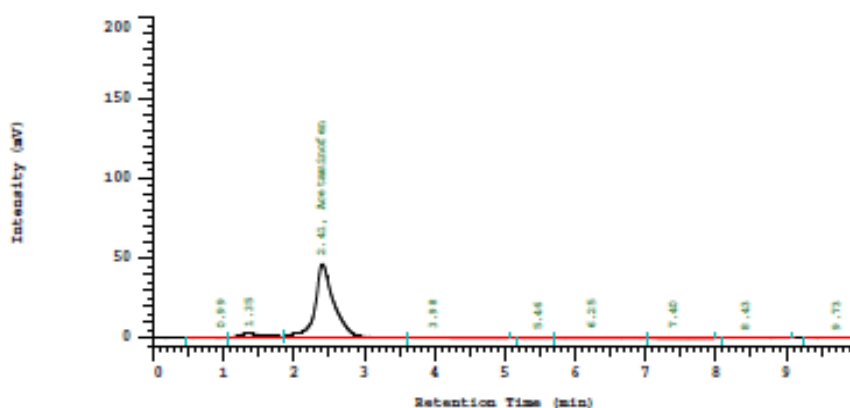
**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 04/04/13 04:25 p.m.      Reported: 04/04/13 05:17 p.m.  
 Processed: 04/04/13 05:17 p.m.

Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0533\  
 Processing Method: Acetaminofen

System(acquisition): Sys 1      Series:0533  
 Application: Samples      Vial Number: 1  
 Sample Name: Muestra 3 Las Vacas      Vial Type: UNK  
 Injection from this vial: 1 of 1      Volume: 10.0 ul  
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Acetaminofen  
 Column Type:      Developed by: Elisandra Hernandez, AO.  
 Pump A Type: L-7100  
 Solvent A: Acetonitrilo      Solvent B: Metanol  
 Solvent C: Agua      Solvent D:  
 Method Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1

Peak Quantitation: AREA  
 Calculation Method: EXT-STD  
 Scale Factor 1: 1.000

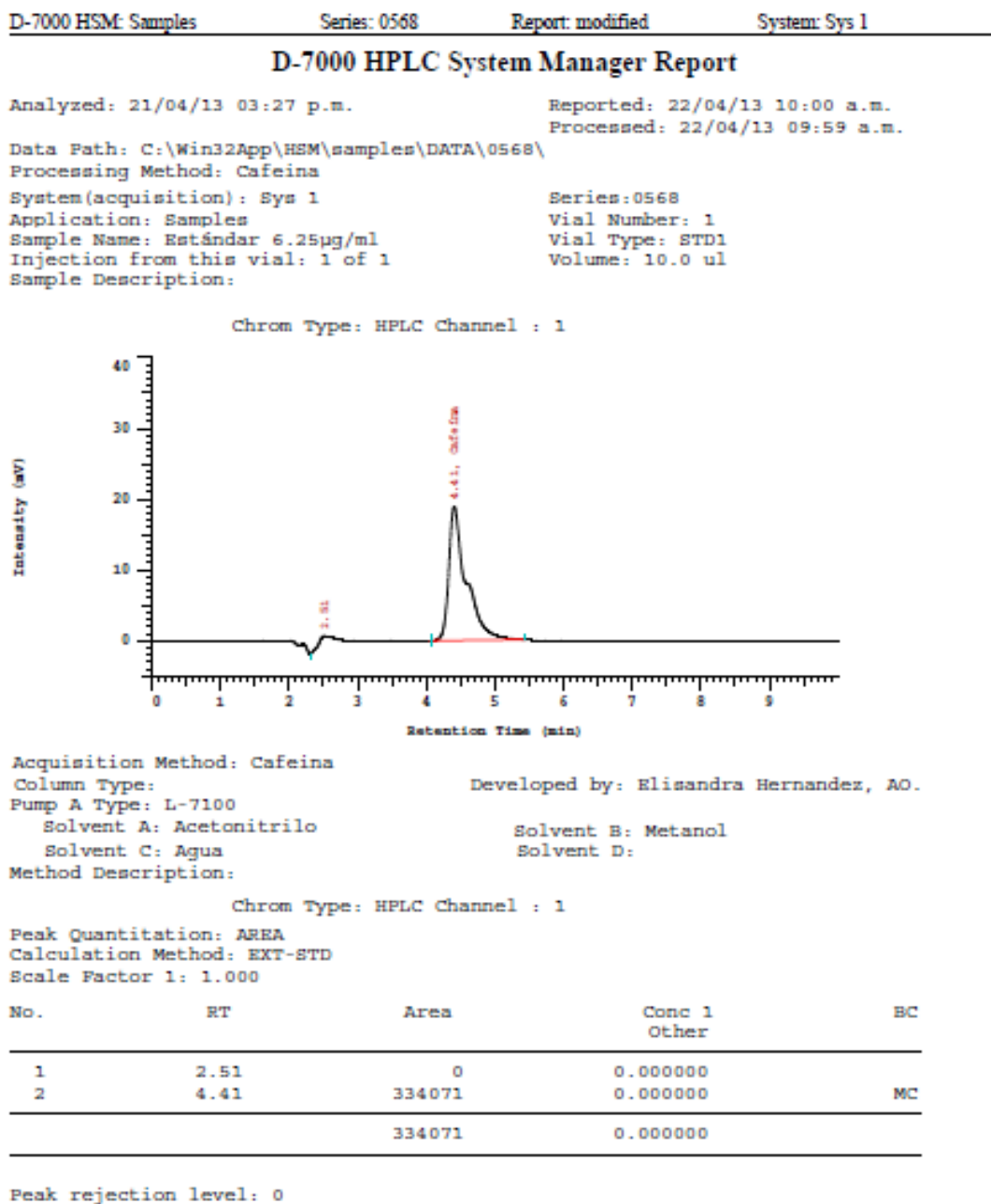
No.	RT	Area	Conc 1	BC
1	0.99	4259	0.000000	BV
2	1.35	87341	0.000000	VV
3	2.41	976250	0.000000	VV
4	3.98	7806	0.000000	TBB
5	5.46	1226	0.000000	TBV
6	6.25	21229	0.000000	TVV
7	7.40	6554	0.000000	TVB
8	8.43	2184	0.000000	TBB
9	9.73	1648	0.000000	BB
		1108497	0.000000	

Peak rejection level: 0

Fuente: Datos Experimentales

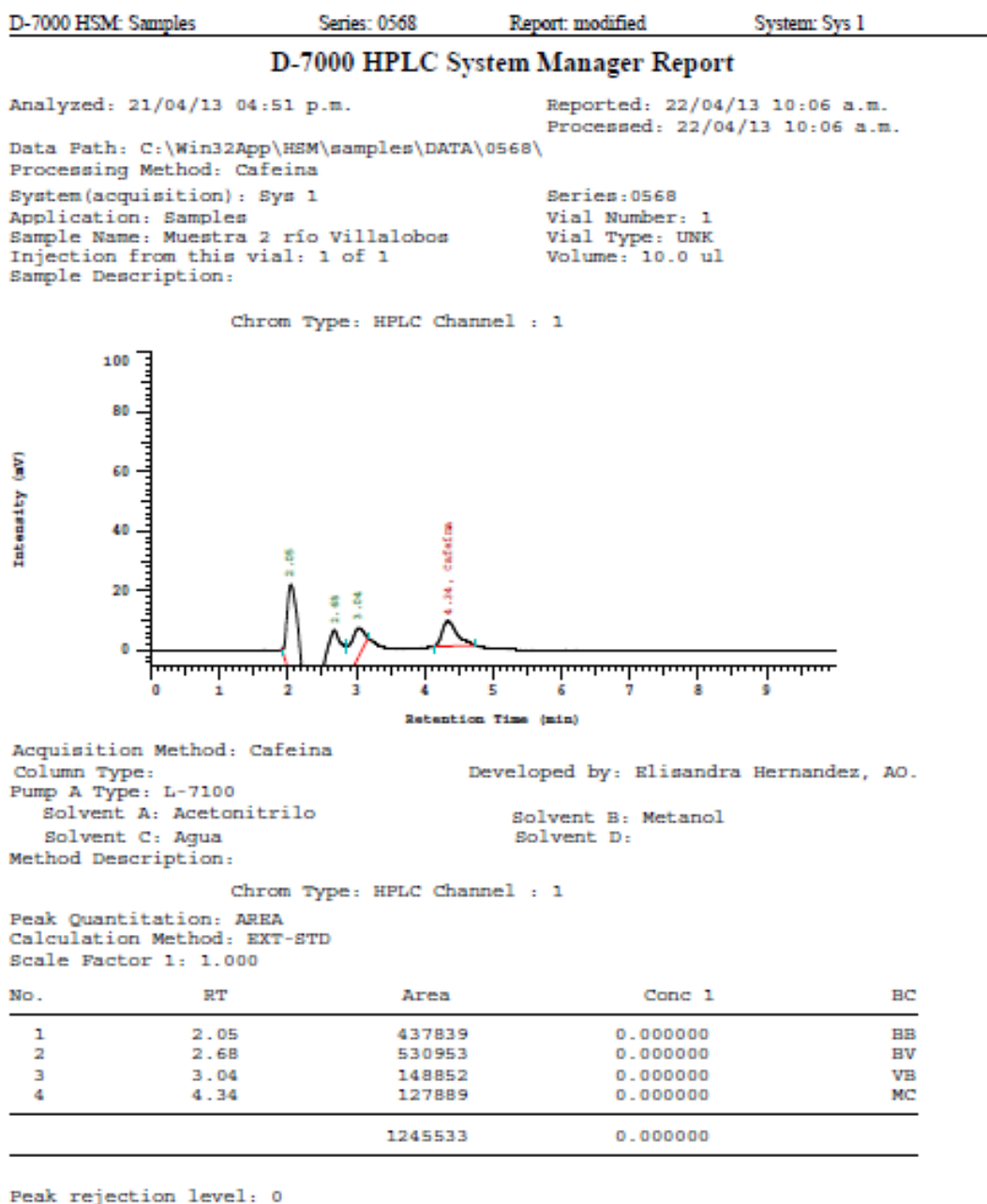


Figura 37. Cromatograma del estándar número uno de cafeína de concentración: 6,25µg/ml



Fuente: Datos experimentales

Figura 38. Cromatograma de cafeína del filtro número dos de la muestra del río Villalobos



Fuente: Datos experimentales

Figura 39. Cromatograma de cafeína del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas

D-7000 HSM: Samples      Series: 0568      Report: modified      System: Sys 1

---

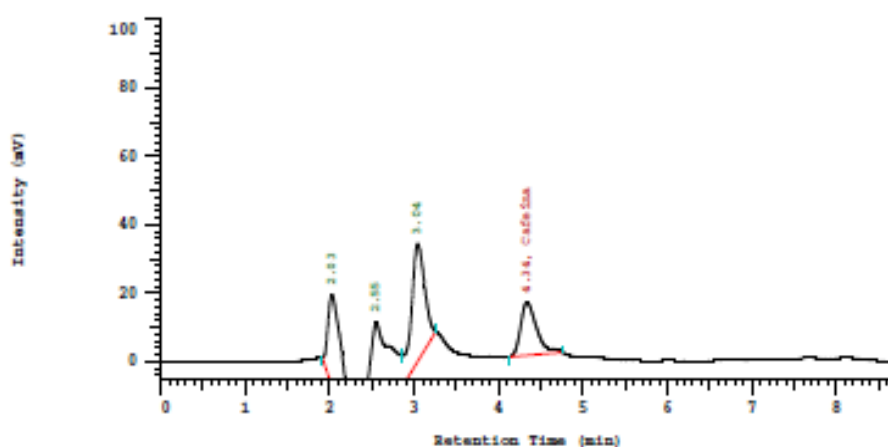
**D-7000 HPLC System Manager Report**

Analyzed: 21/04/13 06:19 p.m.      Reported: 22/04/13 10:11 a.m.  
 Processed: 22/04/13 10:11 a.m.

Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0568\  
 Processing Method: Cafeina

System(acquisition): Sys 1      Series:0568  
 Application: Samples      Vial Number: 1  
 Sample Name: Muestra 3 las Vacas      Vial Type: UNK  
 Injection from this vial: 1 of 1      Volume: 10.0 ul  
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Cafeina      Developed by: Elisandra Hernandez, AO.  
 Column Type:  
 Pump A Type: L-7100      Solvent B: Metanol  
 Solvent A: Acetonitrilo      Solvent D:  
 Solvent C: Agua

Method Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1

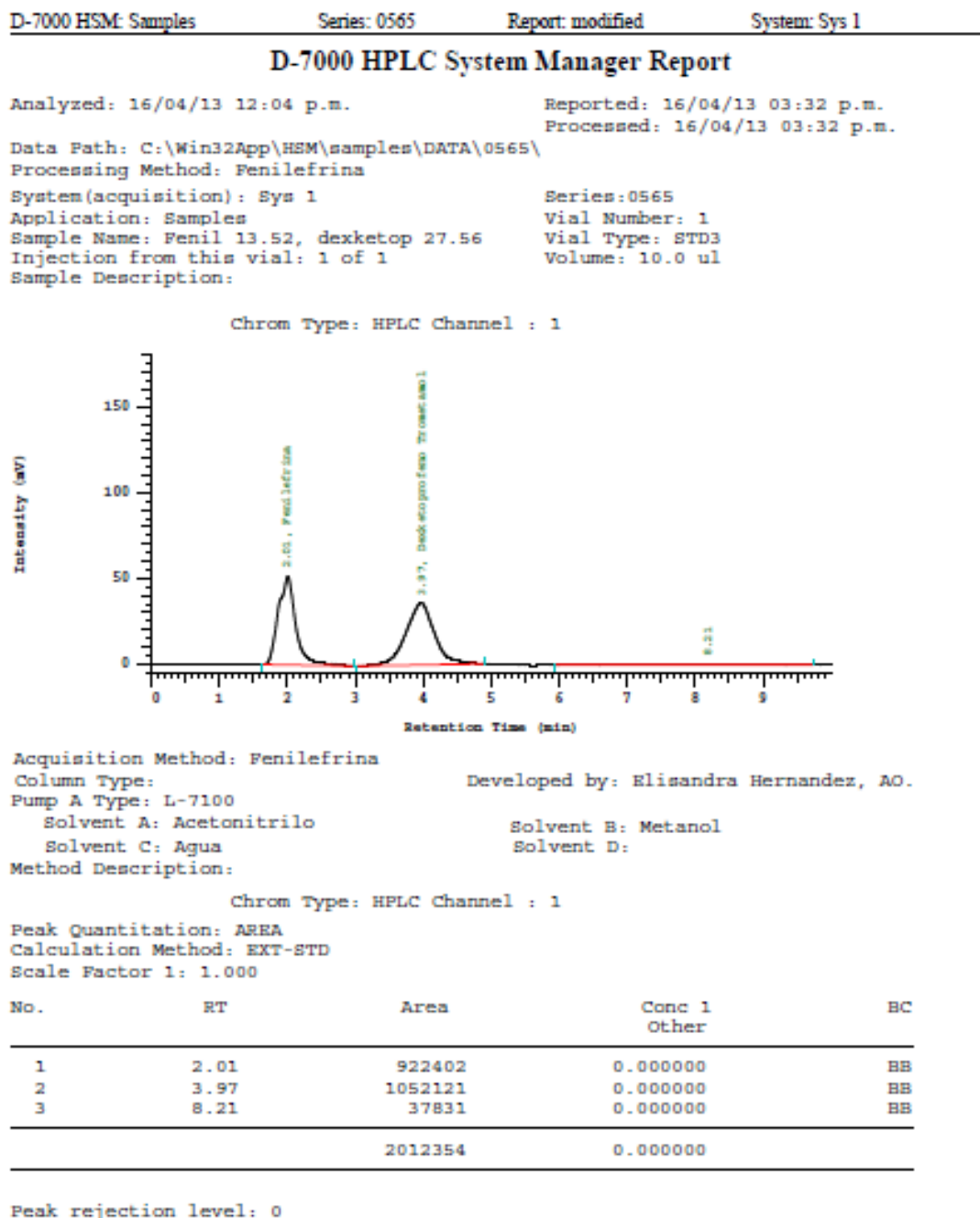
Peak Quantitation: AREA  
 Calculation Method: EXT-STD  
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Area	Conc 1	BC
1	2.03	338132	0.000000	BB
2	2.55	547209	0.000000	BV
3	3.04	388019	0.000000	VB
4	4.34	203288	0.000000	MC
		1476648	0.000000	

Peak rejection level: 0

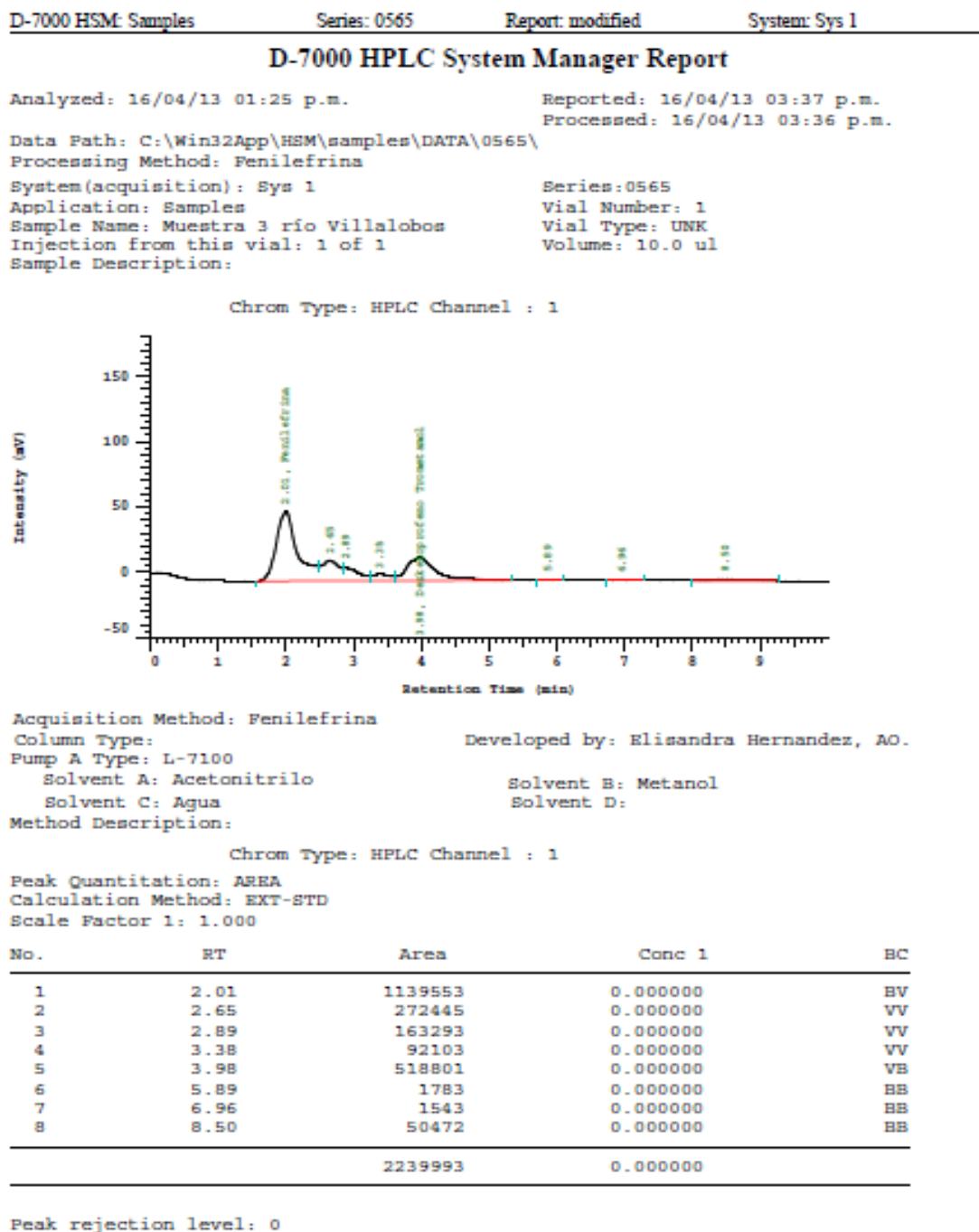
Fuente: Datos experimentales

Figura 40. Cromatograma del estándar de fenilefrina y dexketoprofeno de concentración: 13,52 µg/ml y 27,56 µg/ml y respectivamente



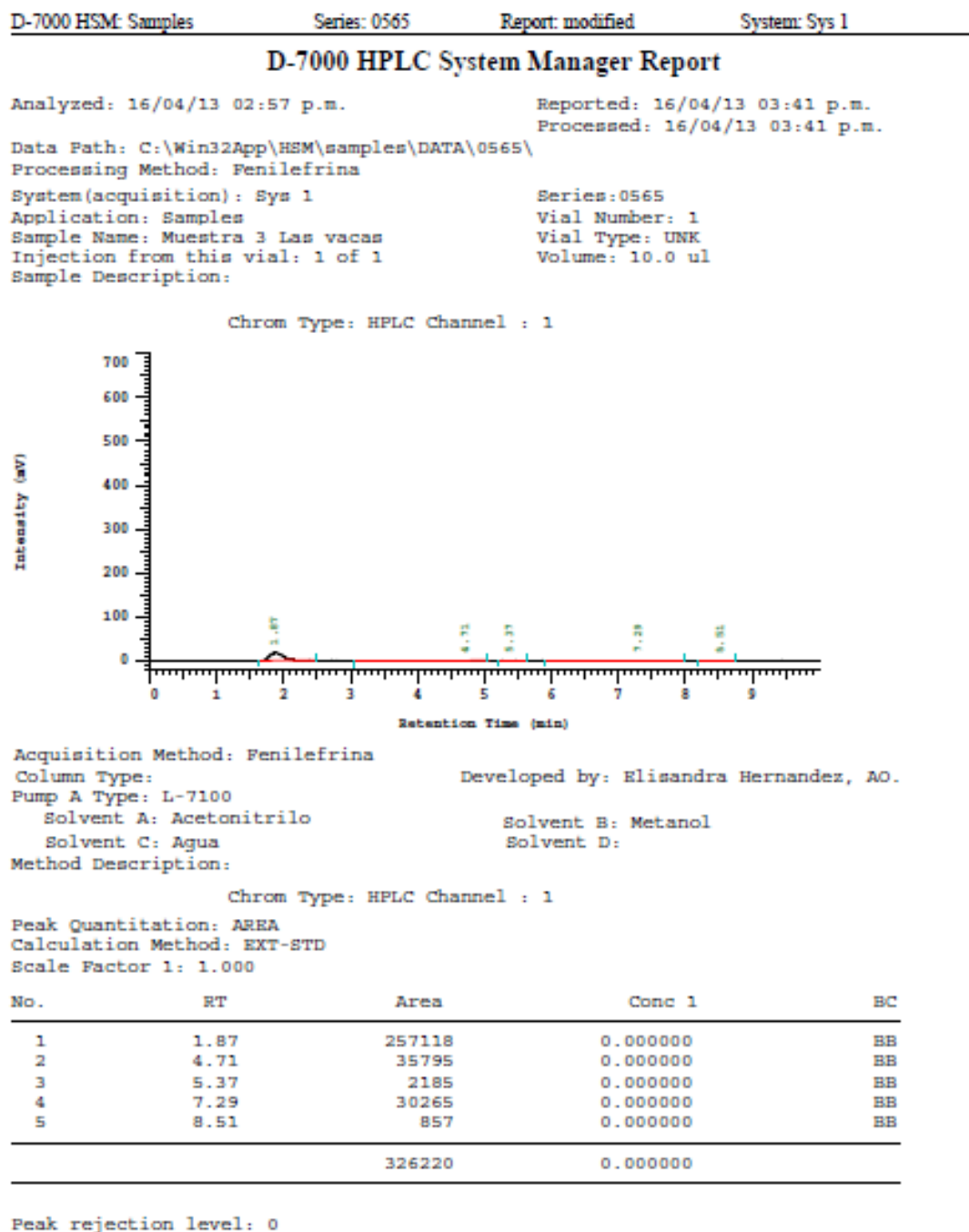
Fuente: Datos experimentales

Figura 41. Cromatograma de fenilefrina y dexketoprofeno del filtro número tres de la muestra del río Villalobos



Fuente: Datos experimentales

Figura 42. Cromatograma de fenilefrina y dexketoprofeno del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas



Fuente: Datos experimentales

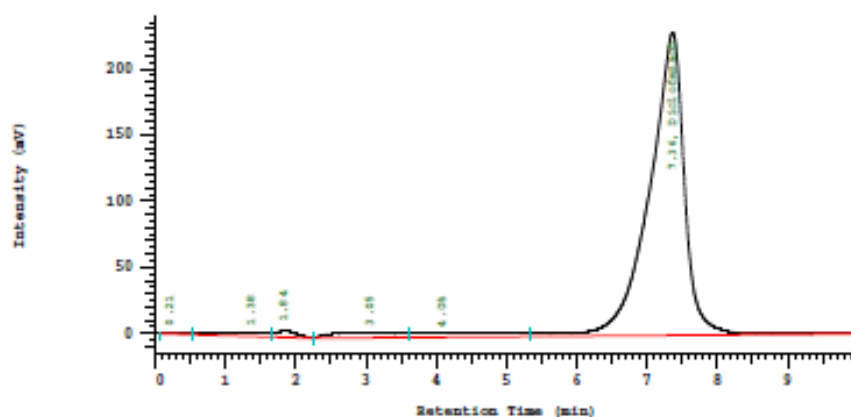
Figura 43. Cromatograma del estándar número cuatro de diclofenaco sódico de concentración: 50 µg/ml

D-7000 HSM: Samples Series: 0625 Report: modified System: Sys 1

### D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 24/04/13 03:38 p.m. Reported: 24/04/13 04:25 p.m.  
 Processed: 24/04/13 04:25 p.m.  
 Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0625\  
 Processing Method: Diclofenaco  
 System(acquisition): Sys 1 Series: 0625  
 Application: Samples Vial Number: 1  
 Sample Name: Diclofenaco 50µg/mL Vial Type: STD1  
 Injection from this vial: 1 of 1 Volume: 10.0 ul  
 Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Diclofenaco  
 Column Type: Developed by: AO  
 Pump A Type: L-7100  
 Solvent A: Acetonitrilo Solvent B: Metanol  
 Solvent C: Fosfatos Solvent D:  
 Method Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1

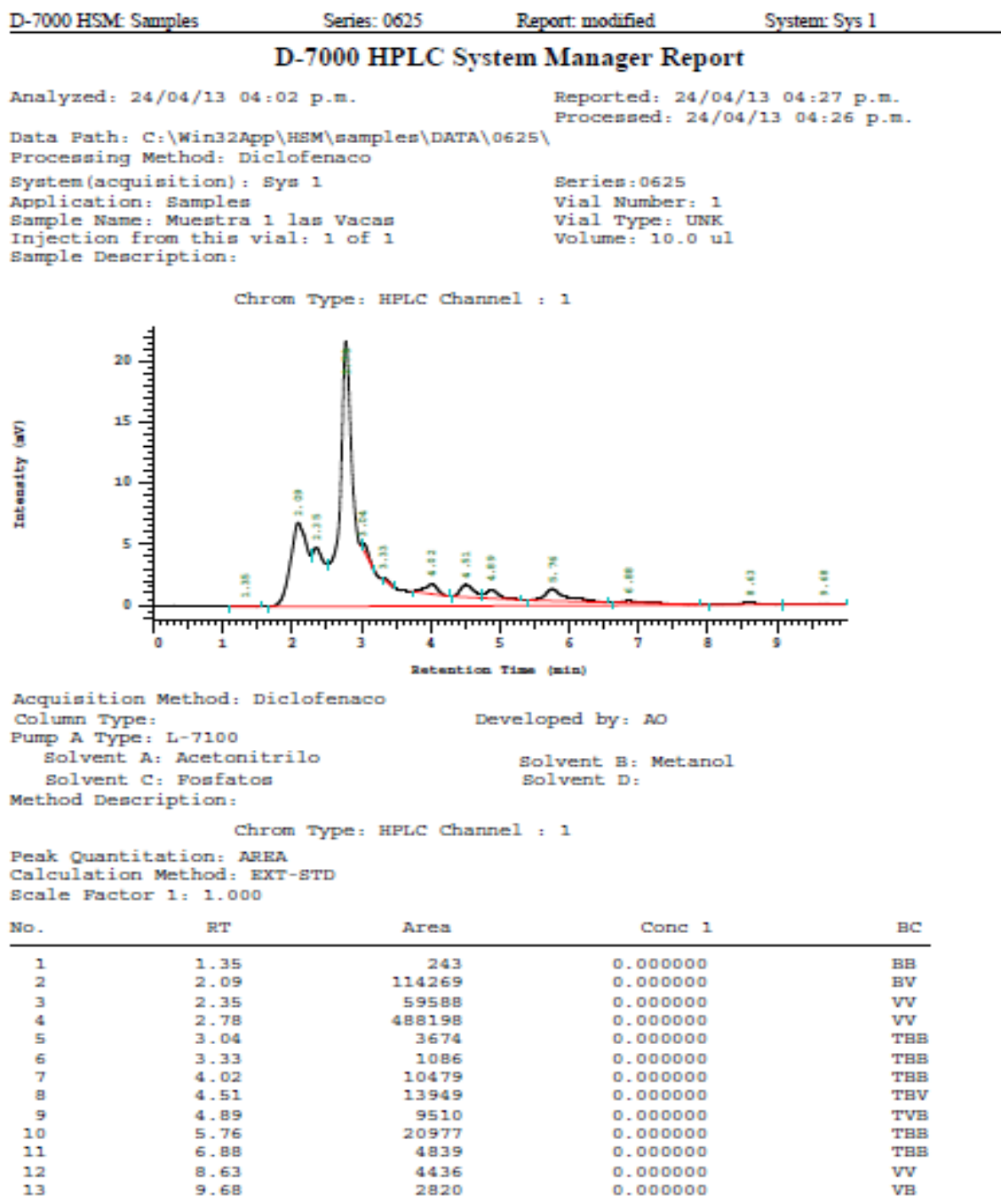
Peak Quantitation: AREA  
 Calculation Method: EXT-STD  
 Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Area	Conc 1 Other	BC
1	0.21	9901	0.000000	BV
2	1.38	111215	0.000000	VV
3	1.84	103593	0.000000	VB
4	3.05	234915	0.000000	BV
5	4.08	242629	0.000000	VV
6	7.36	7956400	0.000000	VB
		8658653	0.000000	

Peak rejection level: 0

Fuente: Datos experimentales

Figura 44. Cromatograma de diclofenaco sódico del filtro número uno de la muestra del río Las Vacas



Fuente: datos experimentales



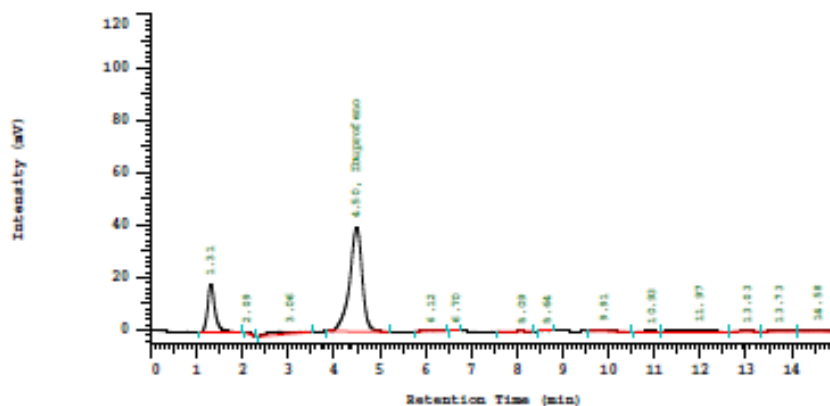
Figura 45. Cromatograma del estándar número tres de ibuprofeno de concentración:  
26,03µg/ml

D-7000 HSM: Samples Series: 0545 Report: modified System: Sys 1

### D-7000 HPLC System Manager Report

Analyzed: 08/04/13 03:15 p.m. Reported: 08/04/13 10:19 p.m.  
Processed: 08/04/13 10:19 p.m.  
Data Path: C:\Win32App\HSM\samples\DATA\0545\  
Processing Method: Ibuprofeno  
System(acquisition): Sys 1 Series:0545  
Application: Samples Vial Number: 1  
Sample Name: Estándar ibuprofeno 26.03µg/ml Vial Type: STD3  
Injection from this vial: 1 of 1 Volume: 10.0 ul  
Sample Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Acquisition Method: Ibuprofeno  
Column Type: Developed by: Elisandra Hernandez, AO.  
Pump A Type: L-7100  
Solvent A: Acetonitrilo Solvent B: Metanol  
Solvent C: Agua Solvent D:  
Method Description:

Chrom Type: HPLC Channel : 1

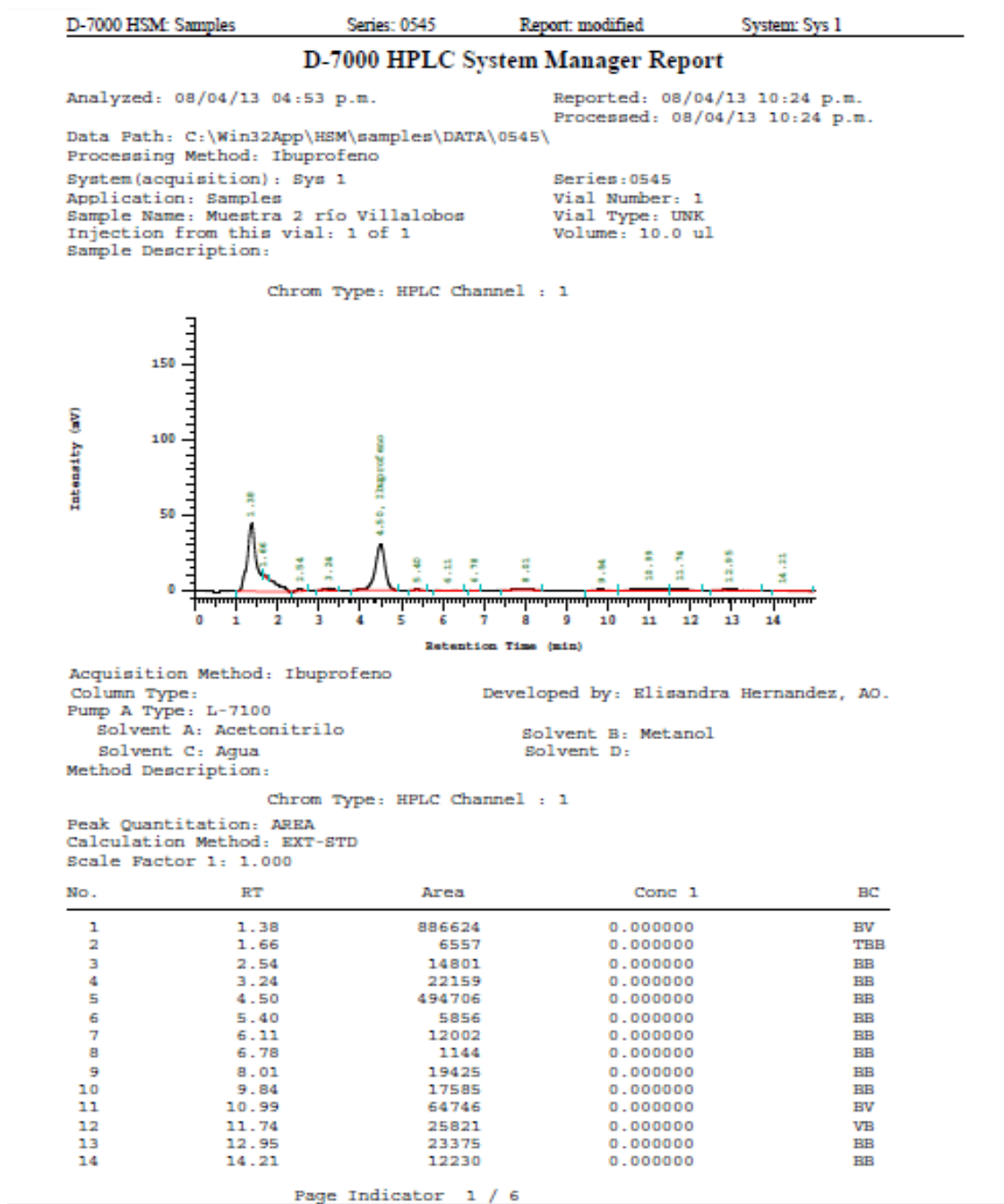
Peak Quantitation: AREA  
Calculation Method: EXT-STD  
Scale Factor 1: 1.000

No.	RT	Area	Conc 1 Other	BC
1	1.31	204888	0.000000	BB
2	2.09	6281	0.000000	BB
3	3.06	51801	0.000000	BB
4	4.50	759098	0.000000	BB
5	6.12	5708	0.000000	BB
6	6.70	405	0.000000	BB
7	8.09	2447	0.000000	BB
8	8.64	1086	0.000000	BB
9	9.91	11005	0.000000	BB
10	10.93	8553	0.000000	BV
11	11.97	43859	0.000000	VB
12	13.03	10831	0.000000	BV
13	13.73	15871	0.000000	VV

Page Indicator 1 / 7

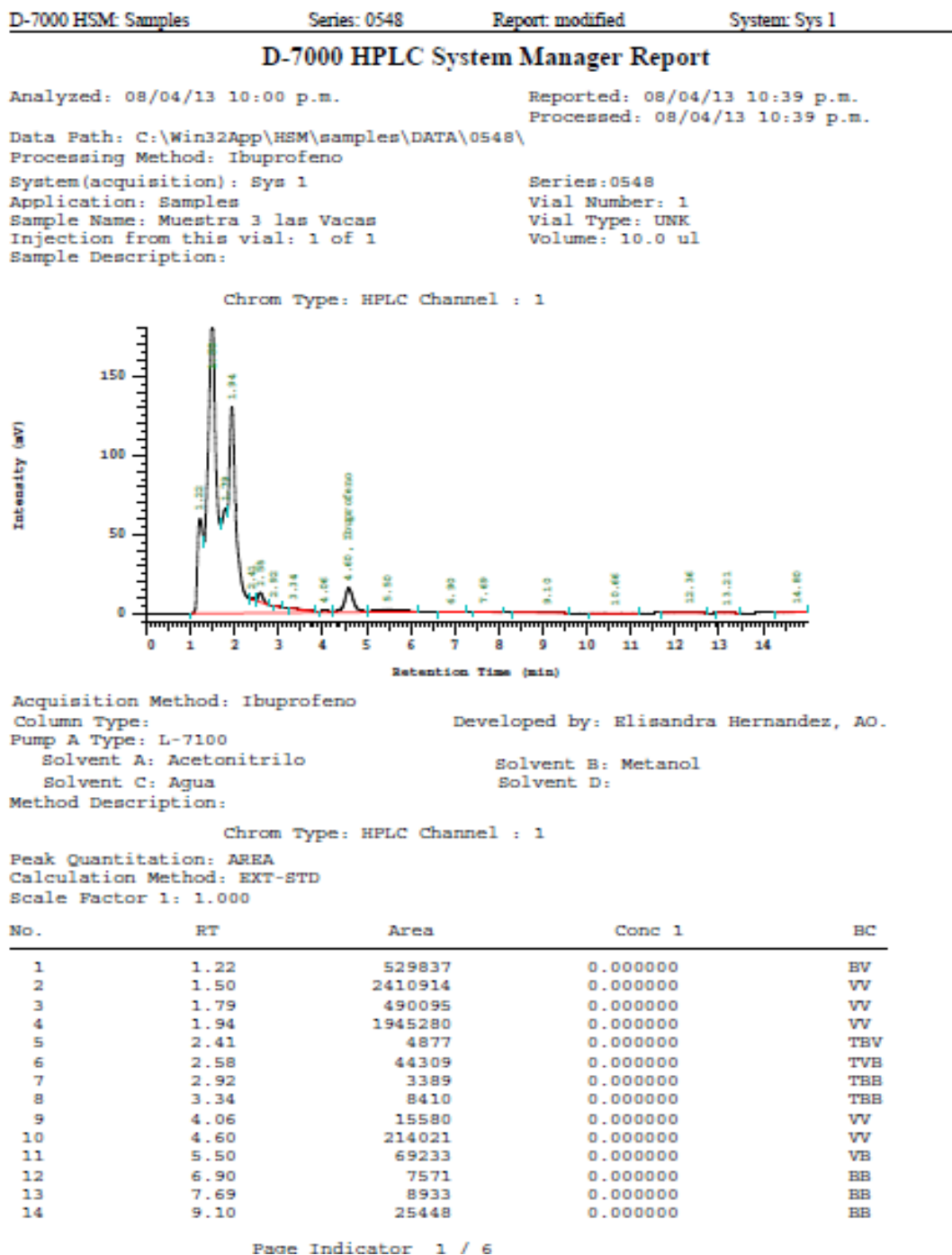
Fuente: Datos experimentales

Figura 46. Cromatograma de ibuprofeno del filtro número dos de la muestra del río Villalobos



Fuente: Datos experimentales

Figura 47. Cromatograma de ibuprofeno del filtro número tres de la muestra del río Las Vacas



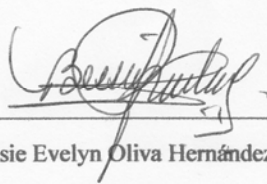
Fuente: Datos experimentales



---

Elisandra Hernández Hernández

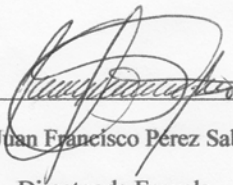
Autora



---

Licda. Bessie Evelyn Oliva Hernández de Sandoval

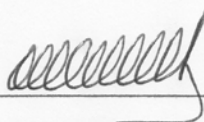
Asesora



---

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Director de Escuela



---

Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

Decano