



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDOS  
FARMACÉUTICOS EN AGUAS  
RESIDUALES, DESARROLLO Y  
OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO  
ANALÍTICO**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**INGENIERA QUÍMICA**

PRESENTA:

**VERONICA ATENEA LUNA SABÁS**

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. RICHARD WILLIAM GIBSON

CIUDAD UNIVERSITARIA, MÉXICO  
ABRIL 2009





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**CONTENIDO**

<b>I. Introducción</b>	<b>III</b>
<b>II. Objetivos</b>	<b>V</b>
II.1    Objetivos generales	V
II.2    Objetivos específicos	V
<b>III. Alcances</b>	<b>VII</b>
<b>IV. Resumen</b>	<b>IX</b>
<b>Capítulo 1. Antecedentes</b>	<b>1</b>
1.1    Compuestos orgánicos en el medioambiente	1
1.2    El uso excesivo de compuestos orgánicos artificiales	1
1.3    Detección de compuestos persistentes en el medio ambiente	2
1.4    Compuestos orgánicos en la vida cotidiana	3
1.5    La presencia de “compuestos emergentes” en el medio ambiente	3
1.6    Concentraciones reportadas en aguas residuales	4
1.7    Efectos de estos compuestos en el medio ambiente	5
1.8    Descripción de los ácidos farmacéuticos	6
1.9    Análisis de ácidos farmacéuticos (extracción)	8
<b>Capítulo 2. Metodología</b>	<b>11</b>
2.1    Reactivos químicos	11
2.2    Equipos	12
2.3    Procedimientos generales	13
2.3.1    Preparación de disoluciones madre de estándares	13
2.3.2    Preparación de ésteres metílicos	13
2.3.3    Preparación de N-ter-butildimetilsilil ésteres	14
2.3.4    Preparación de trimetilsilil ésteres	15
2.4    Parámetros de investigación para MTBSTFA	15
2.5    Preparación del estándar interno (ésteres metílicos)	16
2.6    Análisis de aguas residuales	16
2.7    Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas	22

<b>Capítulo 3. Resultados y discusión.</b>	<b>25</b>
3.1 Comparación de las diferentes derivatizaciones	25
3.2 Descripción de los cromatogramas y espectros de masa	25
3.2.1 Metalización con metanol/BF <sub>3</sub>	25
3.2.2 Sililación con BSTFA	27
3.2.3 Sililación con MTBSTFA	29
3.3 Elección del derivado más adecuado.	31
3.4 Selección de los estándares internos	32
3.5 Parámetros de derivatización investigados	32
3.5.1 Variación de tiempo de reacción	32
3.5.2 Variación de temperatura de reacción	34
3.5.3 Variación de la cantidad de derivatizante	35
3.6 Resumen de las mejores condiciones de derivatización	37
3.7 Aplicación de la técnica	37
<b>Capítulo 4. Conclusiones</b>	<b>41</b>
<b>Anexo A. Características de los ácidos farmacéuticos</b>	<b>43</b>
A.1 Ácidos farmacéuticos	43
<b>Anexo B. Datos de muestreo 1 y 2</b>	<b>47</b>
B.1 Muestreo 1	47
B.1.1 Lote 1	47
B.2 Muestreo 2	49
B.2.1 Lote 2	49
<b>V. Índice de abreviaturas</b>	<b>XI</b>
<b>VI. Índice de tablas</b>	<b>XIII</b>
<b>VII. Índice de figuras</b>	<b>XV</b>
<b>VIII. Bibliografía</b>	<b>XVII</b>

## I. INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de compuestos orgánicos que vienen del uso de productos que utilizamos en nuestra vida cotidiana, como los surfactantes y productos de cuidado personal, entre otros, están contaminando el medio ambiente a través de las descargas de aguas residuales principalmente. Muchos de estos compuestos son activos biológicamente y su introducción continua al medio ambiente los hace ser pseudo-persistentes.

Métodos adecuados para el análisis de estas clases de compuestos son importantes para monitorear concentraciones y apoyar a investigaciones que busquen el posible daño a ecosistemas naturales y la contaminación de mantos acuíferos por medio de la absorción del suelo. Esta información puede ayudar en el desarrollo de normas que controlen los niveles de estos compuestos, ya que hoy en día no existen.

Una clase de estos contaminantes emergentes son los ácidos farmacéuticos como el ibuprofeno, el naproxeno y el diclofenaco, que la mayoría de la población utiliza. Los métodos más comunes para cuantificar estos compuestos utilizan un equipo cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas que requiere una derivatización previa antes del análisis final para remover el hidrogeno (ácido) de la estructura de la molécula. En la literatura hay reportes de diferentes procesos para derivatizar estos ácidos como: alquilación y sililación. Estos procesos resultan ser muy confusos para una derivatización más adecuada y no hay indicios en la literatura de una comparación de los agentes derivatizantes, ni un estudio adecuado de los parámetros de reacción como temperatura, tiempo de reacción y volúmenes de reactivos.

El objetivo de este proyecto es determinar cual es el mejor agente derivatizante para este tipo de compuestos y encontrar las condiciones adecuadas para hacer que la reacción se lleve a cabo. Finalmente se comprobará las ventajas del proceso con muestras de la planta de tratamiento de la universidad.

## **II. OBJETIVOS**

### **II.1 Objetivos generales**

- Determinar el tipo de agentes específicos (derivatizantes) para una derivatización mas adecuada para un grupo de ácidos farmacéuticos (contaminantes en el medio ambiente) para permitir su análisis por CG-EM.
- Establecer los valores apropiados de los parámetros (temperatura, tiempo, volumen y matriz de reactivo) para lograr una derivatización adecuada del agente de derivatización elegido.
- Comprobar que el procedimiento desarrollado funcione, con muestras reales de la planta de tratamiento en Ciudad Universitaria.

### **II.2 Objetivos específicos**

- Hacer una comparación de los tres agentes derivatizantes (BSTFA; MTBSTFA y  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$ ) para la derivatización de ácidos farmacéuticos.
- Elegir el agente de derivatización más adecuado basándose en la forma de los picos del cromatograma, sensibilidad y los espectros de masa generados.
- Establecer los valores apropiados de los parámetros (temperatura, tiempo, volumen) utilizando el agente seleccionado.
- Repetir el procedimiento anterior (investigación de parámetros) en presencia de la matriz.
- Se analizara dos veces las aguas residuales por medio de muestras reales tomadas de la planta de tratamiento aguas residuales de Ciudad Universitaria.
- Investigar la remoción de ácidos durante tres diferentes tratamientos en la planta de tratamiento de aguas residuales en Ciudad Universitaria.

### III. ALCANCES

- Buscar un tipo de derivatizante adecuado por medio de una alquilación partiendo de los compuestos BSTFA y MTBSTFA y  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$ .
- El estudio se limita solo a una reacción para derivatización. Variar las condiciones de la reacción de derivatización para encontrar el medio adecuado para que esta se lleve a cabo. Modificar los parámetros de temperatura de reacción, volumen de derivatizante, tiempo de reacción, matriz.
- Determinar los valores apropiados de las variables para establecer un rango adecuado para cada una.
- La aplicación de este método y el muestreo en la Planta de Tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria.
- Indagar la remoción de ácidos en diferentes tratamientos que conforman la planta de Tratamiento de aguas residuales de Ciudad Universitaria.

#### IV. RESUMEN

El agua residual proviene de diferentes fuentes, por lo que, la naturaleza de los contaminantes presentes es compleja. Existen comunidades donde esta agua es utilizada para regar cultivos, sin haber aplicado un tratamiento previo, debido a esto, hay un riesgo de contaminar el agua subterránea con compuestos de naturaleza polar, como los ácidos, alcoholes ó fenoles. Hay evidencia de altas concentraciones de algunos ácidos de origen farmacéutico presentes en aguas residuales, de ahí la importancia de tener métodos analíticos que permitan su cuantificación.

Este tipo de compuestos se puede analizar por cromatografía de gases, sin embargo es bien sabido que estos compuestos tiene un grupo carboxilo que interacciona fuertemente como la fase de la columna cromatográfica, por lo que es necesario cambiar el grupo polar, por otro menos polar que facilite su análisis. Lo anterior se puede lograr mediante un proceso de derivatización.

Los objetivos del proyecto son encontrar un agente derivatizante adecuado para este tipo de análisis partiendo de una comparación con otros agentes, para que después encontrar las condiciones óptimas para realizar la derivatización de algunos ácidos farmacéuticos.

Una derivatización muy común es por medio de una reacción de sililación. Se estudiarán tres agentes específicos para la sililación, N-tert-butyl dimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamide (MTBSTFA), N, O-bis (trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) y MeOH/BF<sub>3</sub>. Las variables a investigar para encontrar las condiciones óptimas de derivatización son: temperatura, tiempo de reacción y cantidades de los reactivos. La cuantificación de los compuestos, se ve altamente beneficiada con el uso de estándares internos semejantes a los compuestos con los cuales se trabajan, ya que son parámetros de corrección que sirven para verificar el análisis final. Debido a que en la actualidad no hay un estándar interno adecuado y para cubrir las necesidades de esta investigación se preparan estándares internos (ácidos metilados). Por ultimo para el análisis de estos compuestos se utilizara un sistema acoplado de cromatografía de gases-espectrometría de masas. Se aplicará la metodología al análisis de aguas residuales. Para redondear la investigación se va a aplicar la metodología que se encuentre como óptima a muestras de agua residual, para incorporarla a un procedimiento para analizar las concentraciones de ácidos en muestras de la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria, con el objetivo de entender la remoción de estos compuestos durante los procesos de tratamiento.



## **CAPITULO 1 ANTECEDENTES**

---

### **Objetivo del capítulo**

Explicar la idea y desarrollo del análisis de los contaminantes orgánicos (específicamente los plaguicidas) en el medio ambiente e introducir los contaminantes conocidos como compuestos emergentes. Enfocar en la clase de emergentes farmacéuticos, en particular ácidos farmacéuticos y discutir los métodos modernos que se usa para su análisis. Identificar el proceso de derivatización como un proceso importante para el análisis por cromatografía de gases.

---

### **1.1 Compuestos orgánicos en el medio ambiente**

La Tierra tiene una estructura compuesta por cuatro grandes capas: la geosfera, la hidrosfera, la atmósfera y la biosfera. Estas capas poseen compuestos orgánicos naturales en diferentes composiciones químicas que son parte importante en el comportamiento geológico. Estos compuestos orgánicos naturales a su vez interaccionan mediante un proceso de circulación entre las distintas zonas ó compartimentos de la Tierra, donde intervienen reacciones químicas, y el resultado de estos procesos químicos, físicos, biológicos y geológicos es la formación de ciclos.

La transformación y el reuso de compuestos orgánicos naturales son esenciales para el equilibrio de la vida en nuestro planeta. Sin embargo, la naturaleza no está acostumbrada a manejar las moléculas orgánicas creadas por el hombre y por eso, a veces, estos compuestos no pueden ser fácilmente transformados (sintetizados) y usados después de ser liberados en el medio ambiente. Algunos de estos compuestos artificiales se mineralizan fácilmente pero algunos se mantienen en el ambiente y se describe como compuestos persistentes.

### **1.2 El uso excesivo de compuestos orgánicos artificiales**

Una clase importante de estos compuestos artificiales fueron sintetizados para ser utilizados como plaguicidas, específicamente compuestos orgánicos clorados. En la década de los 40's se comenzó a utilizar una serie de compuestos de alta estabilidad que no se degradaban rápidamente y que, una vez introducidos al medio ambiente, han dado lugar a los contaminantes orgánicos persistentes. Estos compuestos han penetrado en el medio ambiente de forma progresiva hasta alcanzar concentraciones significativas. En este último sentido, no había una comprensión sobre las consecuencias indirectas de estas acciones, sobre todo, para la salud humana, ya que son difíciles de predecir y deben de ser vigiladas <sup>[1]</sup>.

Las propiedades específicas que hacen que se distribuyan por todo el planeta, se deben en gran parte a que son compuestos que una vez fabricados no se destruyen de manera significativa y una proporción de estos compuestos han quedado retenidos en el medio ambiente. Los compuestos

orgánicos persistentes son, además, liposolubles, semi-volátiles y tóxicos en el medio, produciendo efectos nocivos incluso sobre organismos superiores que viven en hábitats lejanos a las zonas de producción o uso. <sup>[1]</sup>

En las últimas décadas se ha producido la liberación al ambiente de una gran cantidad y diversidad de compuestos contaminantes. Los compuestos cloroaromáticos son tóxicos y bioacumulables, lo que los convierte en contaminantes cuya eliminación es prioritaria.

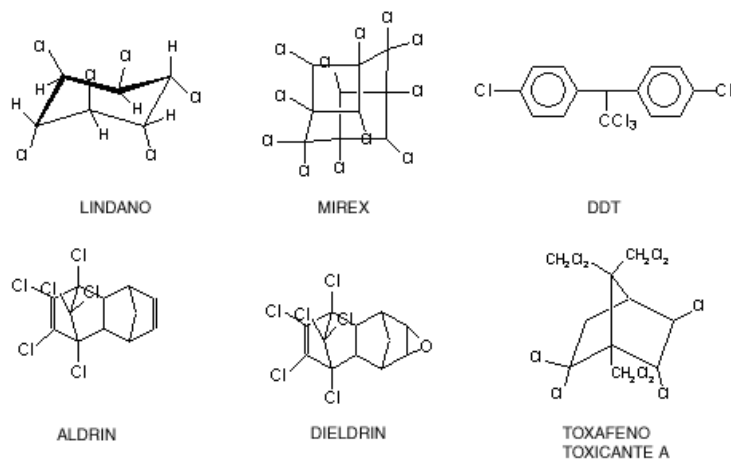


Figura 1.1 Estructuras moleculares de diferentes plaguicidas.

Se empezó a reconocer en la década de los 60's la introducción de estos nuevos compuestos artificiales que pueden causar problemas ambientales, un indicio de esto fue la publicación de la divulgación *Silent Spring* (1962), de Rachel Louise Carson <sup>[2]</sup>. En el escrito evidencia por medio de anécdotas los devastadores efectos que los pesticidas, sobre todo el 1,1,1-Tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano (DDT), tenían sobre la vida silvestre, en particular las aves. El valor inspirador que contribuyó a la puesta en marcha de la moderna "conciencia ambiental", tuvo una enorme influencia para consolidar el movimiento ecologista. En la figura 1.1 se muestran estructuras moleculares de diferentes plaguicidas órgano-clorados.

### 1.3 Detección de compuestos persistentes en el medio ambiente

Lo anterior contribuyó a la puesta en marcha de la moderna conciencia ambiental. Sin embargo, fue la pauta para que en las últimas décadas, se iniciaran y desarrollaran diferentes investigaciones aumentando el interés sobre el desarrollo de técnicas analíticas que permitan detectar y supervisar los niveles de contaminantes en el medio ambiente. Este tipo de análisis ha percatado la presencia de otros compuestos artificiales muy persistentes, por ejemplo, bi-fenoles poli-clorados (PCBs por sus siglas en inglés).

Desde los años 70's, se han hecho evaluaciones del impacto de la contaminación por químicos, estos generalmente se han enfocado a los denominados contaminantes prioritarios, especialmente en aquellos descritos colectivamente como contaminantes “persistentes, bioacumulativos y tóxicos” (PBT). El nivel de estos compuestos en los ecosistemas aumentó rápidamente en órdenes de magnitud debido al uso en exceso sin una debida precaución de estos compuestos orgánicos persistentes <sup>[1]</sup>. Muchos compuestos de este tipo están prohibidos, a consecuencia de esto las concentraciones están bajando lentamente en diferentes lugares donde son detectados.

#### 1.4 Compuestos orgánicos en la vida cotidiana

En los últimos 20 años los investigadores se han dado cuenta que los contaminantes prioritarios solo ocupan un lugar de una larga lista de contaminantes que afectan al ambiente. Durante el siglo veinte y especialmente en recientes décadas, la sociedad ha demandado productos que proporcionen mayores beneficios para las diversas actividades a realizar, de tal forma que se optimice el tiempo para realizar dicha actividad, se disminuya el costo y se aumenten los beneficios, lo cual ha derivado en la necesidad de crear y modificar moléculas orgánicas.

En la actualidad se utilizaron más a menudo una serie de compuestos orgánicos que era común ver dentro de los ingredientes que constituyen productos de cuidado personal (por ejemplo shampoo, jabón de tocador, desodorante, bronceadores, cremas, pasta de dientes, aceites y bloqueadores solares, etc.), de limpieza (surfactantes), fármacos (por ejemplo analgésicos y anti-bióticos), plásticos, disolventes y plaguicidas. A continuación las figuras 1.2 y 1.3 muestran diferentes ejemplos de productos de limpieza y de cuidado personal.



Figura 1.2 Productos de limpieza surfactantes.



Figura 1.3 Productos de cuidado personal

#### 1.5 La presencia de “compuestos emergentes” en el medio ambiente

Todos estos compuestos que no se han considerado como contaminantes y que no fueron regulados como los PBTs fueron etiquetado “contaminantes emergentes”, definidos por Barceló <sup>[4]</sup> como

“aquellos contaminantes no regulados, los cuales pueden ser candidatos a futuras regulaciones dependiendo de sus efectos potenciales a la salud del ser humano y a los ecosistemas”. En estos últimos años, se han dado cuenta de la presencia de muchos compuestos emergentes en el medio ambiente, ya que provienen de una amplia variedad de fuentes.

Una fuente muy importante es el drenaje municipal, donde las concentraciones de estos contaminantes emergentes pueden ser altas. En muchos países las aguas residuales son vertidas en lagos, mares o acuíferos sin regulación adecuada <sup>[3]</sup>. Cabe mencionar que el tratamiento de aguas residuales no remueve todos los contaminantes que se encuentran en el agua. La entrada continua de estos compuestos en el medio ambiente los hacen unos compuestos pseudo-persistentes. Muchos de estos compuestos son activos biológicamente, pero ha sido difícil informar sobre los efectos de estos compuestos en el medio ambiente de forma aislada porque se habla de una exposición crónica a concentraciones bajas de mezclas de estos compuestos. Sin embargo muchos compuestos emergentes están implicados en efectos endocrinos y un gran número de estudios han mostrado que la exposición a sustancias endocrinas que modulan puede perjudicar la función reproductiva de sexo en los adultos. Cuando se administran durante el desarrollo conduce a anormalidades irreversibles o causan cáncer <sup>[6]</sup>.

La exposición a estrógenos ó imitadores durante la diferenciación sexual ha mostrado que provocan la alteración sexual y/o la intersexualidad, y si la exposición se lleva a cabo durante la maduración sexual puede inhibir el crecimiento gonadal y el desarrollo. Existe la posibilidad de que estos efectos puedan ocurrir en las poblaciones endógenas de peces que son expuestas a sustancias estrógenas en efluentes de aguas residuales que entran en ríos <sup>[7]</sup>. Gracias al avance de técnicas analíticas y al aumento a la comprensión de las implicaciones las cuales involucran los efectos de estos compuestos en el medio ambiente, se genera un gran interés en la regulación de estos por establecer límites en sus descargas.

### **1.6 Concentraciones reportadas en aguas residuales**

Algunos especialistas indican que de todos los contaminantes emergentes, los de mayor preocupación son los compuestos farmacéuticos, especialmente los metabolitos polares y las mezclas complejas, que una vez dentro del medio ambiente representan grandes retos para los toxicólogos <sup>[7]</sup>. Los fármacos de uso humano entran al ambiente por el consumo de los pacientes y la inadecuada disposición de los medicamentos caducos. Los fármacos son metabolizados en el cuerpo humano en diversos metabolitos o conjugados, los cuales pueden ser arrojados junto con el fármaco inalterado por la orina ó al defecar. La entrada de los fármacos y de sus metabolitos al ambiente generalmente es por medio de las aguas residuales municipales. Los primeros informes de análisis multi-residuo de farmacéuticos en el medio ambiente se han hecho en lugares donde las aguas residuales influyen

mucho, esto fue dado a conocer mediante una publicación al final de los 90's <sup>[8]</sup> después de esto empezaron más informes subsecuentes en los años siguientes.

Se reportan niveles de muchos compuestos que exceden 1 µg/L en aguas residuales y en efluentes convencionales de plantas de tratamiento. Los rangos de unos farmacéuticos encontrados en efluentes son resumidos en la siguiente figura 1.4.

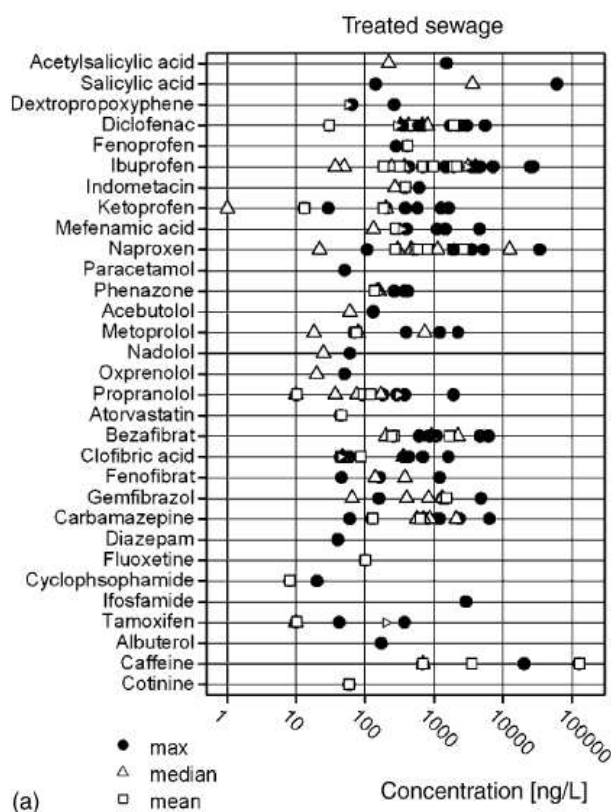


Figura 1.4 Concentraciones ng/L de algunos compuestos <sup>[5]</sup>.

Actualmente, no hay ningún requerimiento regulador de las concentraciones de productos farmacéuticos en descargas de aguas residuales o en el medio ambiente en general, esto sin considerar los medicamentos de tipo veterinario que también tienen el potencial de entrar a fuentes acuíferas, hay pocas investigaciones en torno a esto.

### 1.7 Efectos de estos compuestos en el medio ambiente

Muy poco se conoce de la toxicidad crónica y efectos potenciales de estos compuestos emergentes en el medio ambiente. Sin embargo, en esta investigación se muestra que sólo se sabe muy poco sobre los efectos a largo plazo de estas clases de compuestos en organismos acuáticos, en particular, en lo que concierne a objetivos biológicos. La mayoría de los medicamentos (productos

farmacéuticos) han sido investigados en organismos acuáticos y reflejados en ensayos de toxicidad aguda, ya que hay efectos improbables agudos que afectan a organismos acuáticos. <sup>[3]</sup>

Es muy difícil puntualizar los efectos que tienen estos compuestos orgánicos, artificiales generalmente, porque se encuentran en una mezcla heterogénea en aguas residuales y los cuerpos de agua naturales. Sin embargo, algunos estudios específicos muy recientes han arrojado evidencias del efecto que tienen estos compuestos sobre la fauna marina, uno de ellos es el potencial que tiene para interrumpir las funciones normales del sistema endocrino <sup>[5]</sup>. Diversos estudios se han enfocado y realizado principalmente en ecosistemas acuáticos de Estados Unidos y de Europa. <sup>[4]</sup> Otra de ellas es muy específica, al mencionar que el uso en exceso del diclofenaco droga AINE (antiinflamatorio no esteroideo) por veterinarios es causante indirectamente de la extinción de buitres de Asia del sur. <sup>[5]</sup>

### **1.8 Descripción de los ácidos farmacéuticos**

Una clase de fármacos que está presente a concentraciones altas en aguas residuales, son los ácidos farmacéuticos, un grupo de compuestos relativamente polares, que contamina al entorno por la interacción que estos tienen. Hay diversos tipos de ácidos farmacéuticos los cuales pueden clasificarse de diferentes formas, una de ellas son los antiinflamatorios no esteroideos (abreviado AINEs) El término no-esteroideo se refiere a que los efectos clínicos son similares a los de los corticoides pero no los acompañan las consecuencias secundarias.

Son sustancias químicas con efecto antiinflamatorio, analgésico y antipirético por lo que reducen los síntomas de la inflamación, alivian el dolor y la fiebre respectivamente. Como analgésicos se caracterizan por no pertenecer a la clase de los narcóticos y actúan bloqueando la síntesis de prostaglandinas. Los miembros más prolíficos de esta clase de medicinas son ácido salicílico (aspirina), diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno y el naproxeno.

Otro tipo de ácidos farmacéuticos son agentes reguladores de lípidos como el gemfibrozil que pertenece a un grupo de medicamentos conocidos como fibratos. Incrementa la síntesis de la lipasa lipoproteína por lo que incrementa la eliminación de los triglicéridos. Por último los disruptores endocrinos herbicidas sistémico hormonal auxínico muy común usado en el control de malezas de hoja ancha. Tabla 1.1 muestra el uso y sus características de los compuestos que se considera en este proyecto.

En 1998 se reportaron niveles que exceden 1 µg/L de algunas de esta clase en aguas residuales y en efluentes de plantas de tratamiento convencionales <sup>[6]</sup> (ver Tabla 1). En muchos países el diclofenaco con frecuencia era descubierto en aguas negras en la gama de µg/L y en el agua superficial en niveles inferiores. Esto también sostiene para ibuprofeno. A veces, los altos niveles de hasta 85 µg/L, o 24.6 µg/L (media 4.0 µg/L) fue descubierta en efluentes STP <sup>[6]</sup>.

Tabla 1.1 Características de algunos ácidos y un pesticida.

Nombre Químico (IUPAC)	Ácidos Farmacéuticos	Estructura	Masa molecular	Formula	Uso
ácido 2-(p-isobutilfenil) propiónico	Ibuprofeno		206.28	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	Antiinflamatorio No esteroide Analgésico
Naproxeno	Naproxeno		230.26	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	Antiinflamatorio No esteroide Analgésico
2-[2-(2,6-diclorofenil) amino] fenil] acético	Diclofenaco		312.15	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>3</sub>	Desinflamatorio Analgésico
ácido propiónico (RS)2-(3-benzoilfenil)	Ketoprofeno		254.28	C <sub>16</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	Antiinflamatorio no esteroides. Antirreumático. Analgésico
ó ácido 5-(2,5-dimetilfenoxo)-2,2-dimetil pentanoico	Gemfibrizol		250.33	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	Regulador de lípidos
ácido 2-hidroxibenzóico	Ac. Salicílico		138.12	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	Antiséptico Analgésico
ácido 2-(4-Clorofenoxil)-2-metilpropanoico	Ac. Clofibrico		214.65	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClO <sub>3</sub>	Regulador de lípidos
2-(2,4-diclorofenoxi) ácido acético	2,4-D		221.04	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Herbicida Sistémico Hormonal auxínico

### 1.9 Análisis de ácidos farmacéuticos (extracción)

Hay diferentes métodos para la extracción de ácidos farmacéuticos, uno de los más comunes es por medio de la extracción líquido-líquido, también conocida extracción con disolvente. Es un proceso empleado para separar componentes en disolución mediante su distribución en dos fases líquidas inmiscibles. Otra opción es una extracción sólido-líquido, donde se pueden extraer componentes solubles en sustancias sólidas. En la práctica, al término del proceso de extracción, la fase portadora sólida contendrá los analitos y se recupera por un disolvente. La forma más común para efectuar la extracción es por medio de cartuchos, estos están hechos de polímero y son de diferentes tamaños, contiene en su interior un material el cual permite la retención de los analitos, separándolos del agua. Un ejemplo de este tipo de cartucho es Oasis HLB de la empresa Waters que se usan mucho para extraer compuestos de agua. Las figuras 1.5 y 1.6 muestran el cartucho y la forma en como se emplea este.



Figura 1.5 Cartucho Oasis HLB 6cc

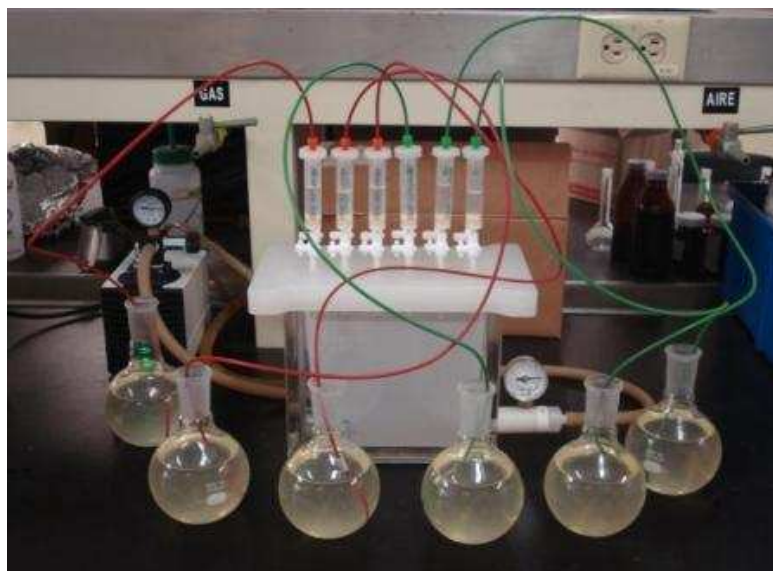


Figura 1.6 Equipo para extraer compuestos en el agua.

El análisis de este tipo de compuestos orgánicos polares se puede hacer por cromatografía de gases, sin embargo una característica de este tipo de compuestos es tener hidrógenos activos que interaccionan fuertemente con la fase de la columna cromatográfica, por lo que es necesario cambiar el grupo polar, por otro menos polar que facilite su análisis. Diversos reactivos se pueden utilizar para preparar derivados de los ácidos farmacéuticos en cromatografía de gases, pero la mayoría parte de las reacciones de derivatización que existen son procesos de alquilación y silylación.



- ◆ En la alquilación se reemplaza un grupo alquilo (alifático ó alifáticoaromático) por un grupo “H” funcional activo. Este reemplazo tiende a disminuir la polaridad del compuesto. Se utilizan para modificar los compuestos que tiene ácidos carboxílicos y fenoles produciendo ésteres y éteres. Los agentes más comunes para este tipo de reacciones son: pentafluorobenzyl bromuro (PFBBr), metanol con  $\text{BF}_3$  y propanol con  $\text{BF}_3$ .
- ◆ Para la sililación se introduce un grupo “silil” en la molécula, generalmente en sustitución de hidrogeno activo. Este paso reduce la polaridad así como su vinculación con el hidrogeno por lo tanto es mas volátil y estable. El grupo trimetilsilil ( $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ) es más común para el análisis de CG-EM. Los agentes derivatizantes mas comunes para este tipo de reacción son bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida (BSTFA) y N-tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA).

En la literatura hay reportes de diferentes procesos de alquilación y sililación para derivatizar estos ácidos. Sin embargo, no existe una comparación de los agentes derivatizantes ni un estudio adecuado de los parámetros de reacción como temperatura, tiempo de reacción y volúmenes de reactivos. El objetivo de este proyecto es concluir cual es el mejor agente derivatizante para este tipo de compuestos y encontrar las condiciones adecuadas para hacer que la reacción se lleve a cabo, para muestras de aguas residuales <sup>[9] [10]</sup>.

---

### Conclusiones del capítulo

Muchos compuestos que no se han considerado como contaminantes y que no son regulados son etiquetado “contaminantes emergentes” Algunos especialistas indican que de todos los contaminantes emergentes, los de mayor preocupación son los compuestos farmacéuticos, especialmente los metabolitos polares y las mezclas complejas, que una vez dentro del medio ambiente representan grandes retos. Los primeros informes de análisis multi-residuo (que fueron realizados al final de los 90's) de farmacéuticos en el medio ambiente se han hecho en lugares donde las aguas residuales influyen mucho, después de esto empezaron más informes subsecuentes en los años siguientes. Un grupo de ácidos carboxílicos que son relativamente polares, que contamina al entorno por la interacción que estos tiene. En la actualidad hay un gran interés sobre estos compuestos y por ese motivo sean desarrollado varias técnicas analíticas para analizar y extraer esos ácidos. Una de las extracciones mas comunes es por medio de cartuchos, estos están hechos de polímero y son de diferentes tamaños, contiene es su interior un material el cual permite la retención de los analitos, separándolos del agua. Para su análisis por CG-EM se necesita hacer una reacción para remover el hidrógeno ácido y hay varias opciones para lograr esta derivatización.

---

## CAPITULO 2 METODOLOGÍA

### Objetivo del capítulo

Explicar y describir el procedimiento, el equipo y los reactivos químicos que se utilizaron para el análisis y cuantificación de los ácidos farmacéuticos. Incluye una descripción de los reactivos y los equipos, los métodos para cada derivatización, asimismo una descripción de la planta de tratamiento en CU y el método para la extracción de ácidos farmacéuticos de aguas residuales.

### 2.1 Reactivos químicos

Los estándares de los compuestos de interés (ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, ketoprofeno, ácido salicílico, ácido clofíbrico y gemfibrozol) se obtuvieron de Sigma Aldrich (Toluca, Edo. México). Los agentes derivatizantes MTBSTFA, BTSFA,  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  (metanol), son de Sigma Aldrich (St.Louis, MO, USA). Los disolventes acetona, acetato de etilo (AcetOEt), agua y metanol, todos grado HPLC se consiguieron de Burdick & Jackson (Morristown, NJ, USA). Los reactivos secundarios ácido sulfúrico, ácido acético, bicarbonato de sodio y sulfato de sodio fueron proporcionados por Sigma Aldrich (Toluca Edo. México).

Los filtros de microfibras de vidrio son de Whatman, con tamaño del poro de  $1.2 \mu\text{m}$ , (Maidstone England) ver figura 2.1. Los cartuchos para la extracción en fase sólida fueron Oasis HLB (200 mg), de Waters (Milford, USA) ver figura 2.2. Otros consumibles incluyeron helio (para el equipo gasas-masas), nitrógeno (para evaporación de las muestras), viales, puntas para la micro-pipeta, papel aluminio y consumibles generales para el equipo gasas-masas (liner, columna, férulas, filamento) fueron proporcionados por el Instituto de Geografía.



Figura 2.1 Filtros de microfibras de vidrio Whatman



Figura 2.2 Cartuchos para extracción Oasis HLB

## 2.2 Equipos

Se requirió de un Fisher multi-block para calentar las muestras durante las reacciones de derivatización, ver figura 2.3. Se utilizaron pipetas de Wheaton Socorex (10-100  $\mu\text{L}$ ) y Eppendorf Research (100-1000  $\mu\text{L}$ ). Para la extracción en fase sólida se usó una cámara de vacío (Vacuum Manifolds Alltech) ver figura 2.4.



Figura 2.3 Fisher multi-block



Figura 2.4 Vacuum Manifolds Alltech

Se utilizó un agitador (IKA KS 130) para mezclar las muestras cuando se realizó la extracción líquido-líquido, ver figura 2.5. Una centrifuga (Dynac) fue empleada para separar la fase orgánica de la fase acuosa, ver figura 2.6.



Figura 2.5 Centrifuga Dynac



Figura 2.6 Agitador IKA KS 130

El análisis cuantitativo se llevo a cabo en un cromatógrafo de gases HP 6890N, acoplado a un detector selectivo de masas modelo HP 5973N.

## 2.3 Procedimientos generales

### 2.3.1 Preparación de disoluciones madre de estándares

Estuvieron disponibles estándares de 10,000 ng/ $\mu$ L (previamente preparados antes del inicio de este proyecto). Partiendo de estas disoluciones concentradas se prepararon disoluciones de 1000 ng/ $\mu$ L de cada compuesto en metanol. Se tomaron alícuotas de 1000  $\mu$ L de cada una de las disoluciones de los ácidos, para ser aforadas hasta 10 mL con disolvente (acetato de etilo). De las disoluciones de concentración 1000 ng/ $\mu$ L de ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, ketoprofeno, gemfibrozol, ácido clofibrico, ácido salicílico y 2,4-D, se tomó un volumen 1 mL de cada una y se las mezcló en un vial. Se agregó 2 mL de metanol para obtener una mezcla de los ocho ácidos a una concentración final de 100 ng/ $\mu$ L.

### 2.3.2 Preparación de esters por metilación

Se toma una alícuota de 100  $\mu$ L de una concentración de 100 ng/ $\mu$ L de la solución de analitos (ver sección 2.3.1), se coloca en un vial previamente etiquetado para después ser evaporada bajo una corriente de nitrógeno hasta sequedad, en seguida se agrega 1.0 mL de  $\text{BF}_3$ / metanol al vial, a continuación se calentaron a una temperatura de 85°C, durante 3 horas.

Se reduce su volumen a aproximadamente 100  $\mu$ L bajo la corriente de nitrógeno, ver figura 2.7, en seguida se adicionan 1 mL de una disolución de bicarbonato de sodio (0.008 g/mL) y 1 mL de acetato de etilo para después ser agitado por 5 minutos. Se centrifuga para que se separen de las fases, la fase orgánica se traslada a otro vial, a la fase acuosa se le adiciona 1 mL acetato de etilo, es repetido el procedimiento anterior durante 2 minutos, para que más tarde las dos fases orgánicas estén en un solo vial. De ser necesario se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  para eliminar trazas de agua. La disolución final se evapora y se reconstituye con un 1 mL de acetato de etilo. Se analiza en el equipo CG-EM. En la figura 2.8 se muestra el mecanismo de reacción de los ésteres metilados.

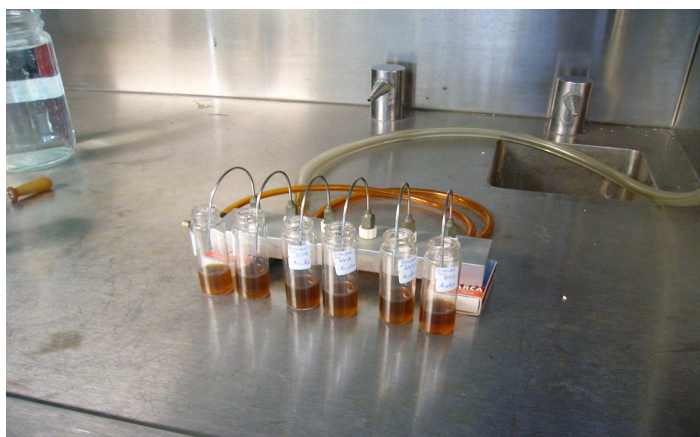


Figura 2.7 Evaporación de muestras bajo una corriente de nitrógeno.

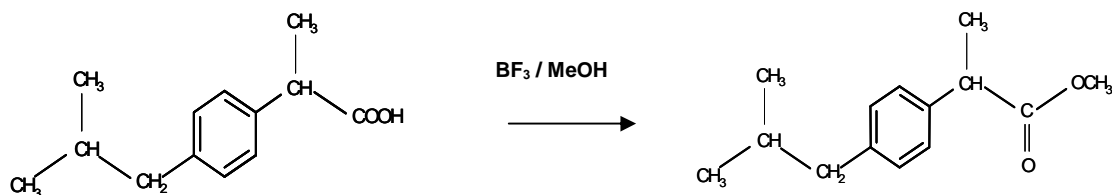


Figura 2.8 La reacción muestra como se lleva a cabo la derivatización de los ésteres metilados.

### 2.3.3 Preparación de N-tert-butildimetilsilil ésteres

Se toma un volumen de 100  $\mu\text{L}$  de una solución con una concentración de 100  $\text{ng}/\mu\text{L}$  de los analitos, se coloca en un vial previamente etiquetado. Se evapora a sequedad con una corriente de nitrógeno. Se agregan 25  $\mu\text{L}$  de MTBSTFA (ver su estructura en la figura 2.9) y 25  $\mu\text{L}$  acetato de etilo. Se somete a calentamiento a una temperatura de  $60^\circ\text{C}$ , por 30 min. Pasado el tiempo de reacción se deja enfriar y se agregan 950  $\mu\text{L}$  de acetato de etilo. El derivado está listo para su análisis en el CG-EM. La figura 2.10 muestra el mecanismo de reacción.

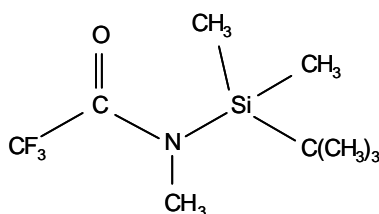


Figura 2.9 Muestra la estructura de tert- butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA) un agente derivatizante.

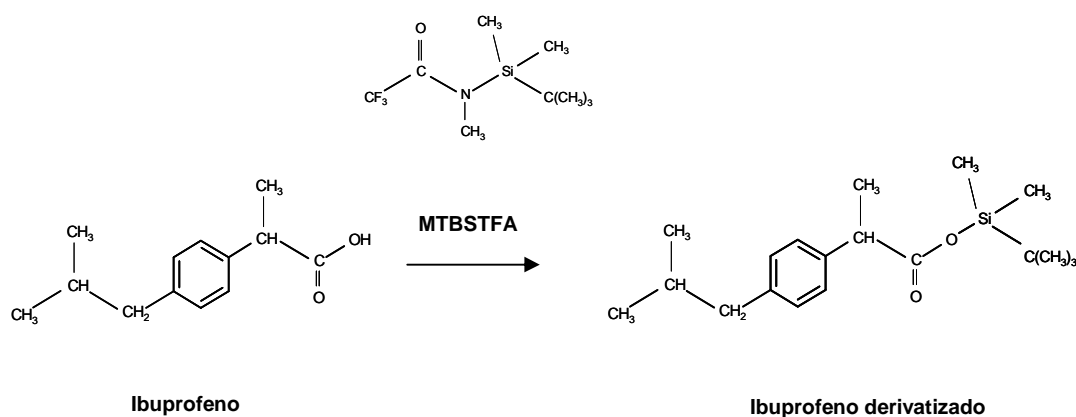


Figura 2.10 Muestra el mecanismo de reacción de un ácido derivatizado con MTBSTFA.

### 2.3.4 Preparación de trimetilsilil ésteres

Una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  con una concentración de 100  $\text{ng}/\mu\text{L}$  del analito, se coloca en un vial previamente etiquetado. Se evaporada a sequedad con una corriente de nitrógeno. Se agregan 25  $\mu\text{L}$  de BSTFA (ver su estructura en la figura 2.11) y 25  $\mu\text{L}$  piridina. Se somete a calentamiento a una temperatura de 60 $^{\circ}\text{C}$ , por 30 min. Pasado el tiempo de reacción se deja enfriar y se agregan 950  $\mu\text{L}$  de acetato de etilo. El derivado está listo para su análisis en el equipo gases-masas. La figura 2.12 muestra el mecanismo de reacción.

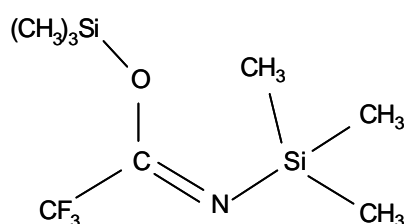


Figura 2.11 Muestra la estructura de bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (BSTFA) (una gente derivatizante).

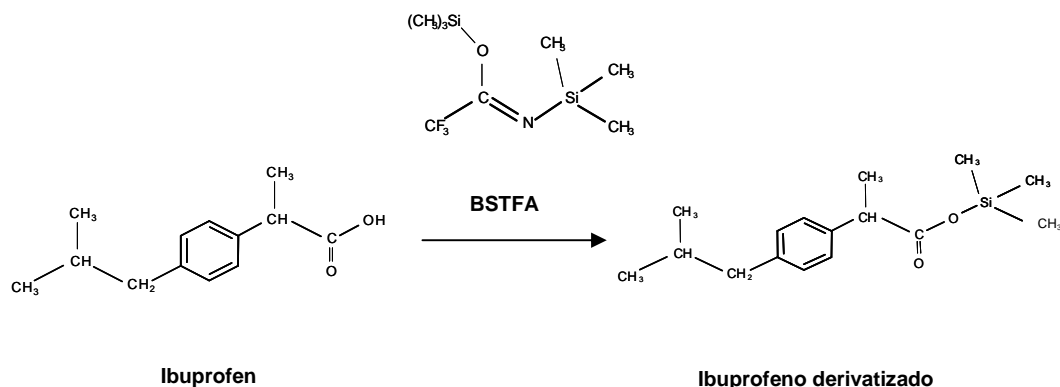


Figura 2.12 Muestra el mecanismo de reacción de un ácido derivatización con BSTFA.

## 2.4 Parámetros de investigación para MTBSTFA

Para este proyecto se variaron tres parámetros que son muy importantes para obtener las mejores condiciones de una derivatización; la temperatura de reacción, el volumen de agente derivatizante y por ultimo, el tiempo de reacción.

- a) Tiempo de reacción probado: 0, 15, 30, 45 y 60 minutos, las variables constantes fueron volumen de reactivo (25  $\mu\text{L}$ ) y temperatura (60 $^{\circ}\text{C}$ ).
- b) Volumen de derivatizante: 10, 25, 50, 75 y 100  $\mu\text{L}$ , manteniendo el tiempo por 30 minutos y la temperatura de 60 $^{\circ}\text{C}$ .

- c) Temperatura: 22, 40, 60, 80 y 100°C, las variables constantes fueron el volumen de derivatizante (25 µL) y el tiempo (30 minutos). Se usó el procedimiento descrito en sección 2.3.2 cambiando el parámetro apropiado

## 2.5 Preparación del estándar interno (ésteres metílicos)

Se preparó ibuprofeno, naproxeno, y diclofenaco metilados como estándares internos para la investigación de los parámetros de derivatización de MTBSTFA. Para preparar de los ésteres metílicos se utilizaron disoluciones concentradas de los ácidos, se toma 100 µL de soluciones de 10,000 ng/µL, de naproxeno y diclofenaco, para el ibuprofeno se toma 500 µL de una solución de 5000 ng/µL se envasan en un nuevo vial y se concentran con ayuda de una corriente de nitrógeno, hasta llegar a un volumen aproximado de 100 µL.

En seguida se agrega 1.0 mL de BF<sub>3</sub>/ metanol a cada vial. Para después de ser calentados a 85°C, durante 3 horas. Se reduce el volumen a aproximadamente 100 µL (con nitrógeno). Se adicionan 1 mL de una disolución de bicarbonato de sodio (0.008 g/mL), y 1 mL de acetato de etilo se agita por aproximadamente 5 minutos. Se centrifuga para que se separen de las fases, la fase orgánica se traslada a otro vial, a la fase acuosa se le adiciona 1 mL acetato de etilo, es repetido el procedimiento anterior durante 2 minutos, para que más tarde las dos fases orgánicas estén en un solo vial. De ser necesario se seca con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para eliminar trazas de agua. La disolución final es evapora y se reconstituye con un 1 mL de acetato de etilo. Finalmente, se mantiene la disolución en refrigeración. Se analiza en el equipo CG-EM para determinar la presencia de los tres compuestos metilizados.

## 2.6 Análisis de aguas residuales

El tratamiento de aguas residuales es un proceso que incorpora métodos físicos, químicos y biológicos, los cuales tratan y remueven contaminantes de efluentes del uso residual, domestico ó industrial. El objetivo del tratamiento es mejorar la calidad del agua para ser utilizada de nuevo en otras actividades, esto se lleva acabo por la separación física inicial de sólidos, posteriormente la conversión progresiva de materia biológica usando bacterias adecuadas en seguida se desinfecta mediante proceso físicos ó químicos. Todos estos procesos conforman una planta de tratamiento de aguas residuales.

La planta de tratamiento de aguas residuales en Ciudad Universitaria tiene tres tipos de tratamientos: lodos activados, rociador y biodiscos. El flujo del influente es dividido en tres corrientes las cuales van a cada uno de los tratamientos.

Se tomo muestras de diferentes procesos de limpieza en la planta de tratamiento de aguas residuales en Ciudad Universitaria: Influyente, Lodos activados, Rociador y Biodiscos fueron pre-filtradas y se acidificaron con ácido sulfúrico concentrado a un pH de 2.



En las figuras 2.13 y 2.14 se observa la toma de muestras del efluente de la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria.



Figura 2.13 Efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.



Figura 2.14 Canal de descarga del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.

En seguida las figuras 2.15 y 2.16 enseñan la toma de muestras en el sistema de lodos activados en la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria.



Figura 2.15 Sistema de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.



Figura 2.16 Toma de muestras del sistema de lodos activados del sedimentador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.

Después en las figuras 2.17 y 2.18 se ilustra la toma de muestras en el sistema de rociador en la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria.





Figura 2.17 Sistema Rociador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.



Figura 2.18 Toma de muestras del Sistema Rociador del sedimentador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.

Las figuras 2.19 y 2.20 presentan la toma de muestras en el sistema de biodiscos en la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria.



Figura 2.19 Sistema de Biodiscos de tratamiento de aguas residuales en C.U.



Figura 2.20 Toma de muestras del Sistema Biodiscos del sedimentador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.

La figura 2.21 muestra la forma en la cual se filtro el agua residual de las distintos procesos de la planta de tratamiento de Ciudad Universitaria.

Se utilizó el método que antes se mencionó en la sección 2.5 con los parámetros escritos en la sección 3.7 para investigar la remoción de los ácidos farmacéuticos en los tres tratamientos. Una descripción breve del método: Para la extracción de ácidos farmacéuticos en aguas residuales se emplearon cartuchos Oasis HLB, que previamente fueron acondicionados con acetona (2 x 5 mL), seguido de agua HPLC (5 mL). Las muestras fueron pasadas por el cartucho con un flujo aproximadamente de 10 mL/min, usando una cámara de vacío, terminada la extracción se lavaron los cartuchos con 2 mL de agua HPLC y se eluyó los ácidos con 5 mL de una mezcla 40:60 de acetona : buffer (bicarbonato de sodio a una concentración de 0.1 M, ajustado a pH 10).

La figura 2.21 muestra el filtrado que se realizó a las muestras, previo a la extracción de los ácidos.



Figura 2.21 Filtrado de las muestras de agua de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.



Figura 2.22 Acondicionamiento previo con acetona de cartuchos oasis HLB.

La figura 2.22 muestra el acondicionamiento de los cartuchos con acetona: buffer a la elusión de los ácidos.

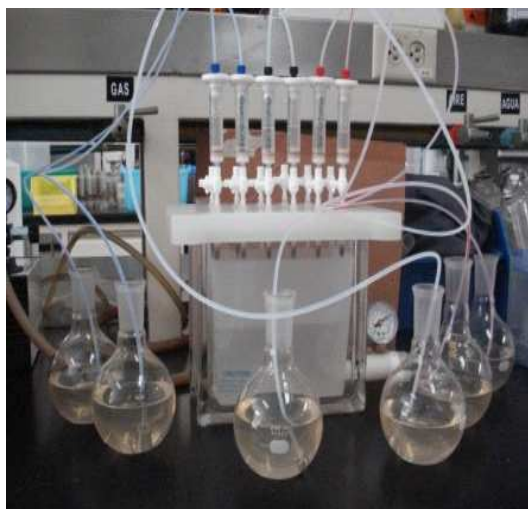


Figura 2.23 Extracción de ácidos farmacéuticos

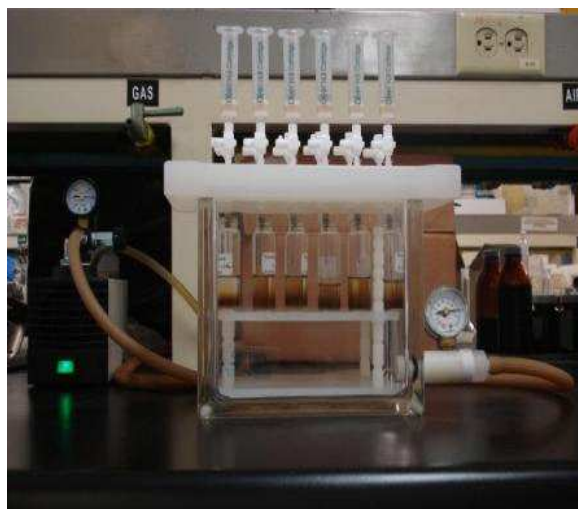


Figura 2.24 Elución de los ácidos farmacéuticos

Para el procedimiento de derivatización de ácidos farmacéuticos en aguas residuales las fracciones fueron evaporadas por completo por un tiempo de 15 minutos bajo una corriente de nitrógeno para remover la acetona presente, fueron acidificados a pH 2 con 25  $\mu\text{L}$  de ácido sulfúrico concentrado. Se realizó una extracción líquido-líquido con acetato de etilo y se agregó sulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) para quitar los remanentes de agua.

Se evapora todo el disolvente y después se hace la derivatización bajo las condiciones descritas en la sección 3.3.

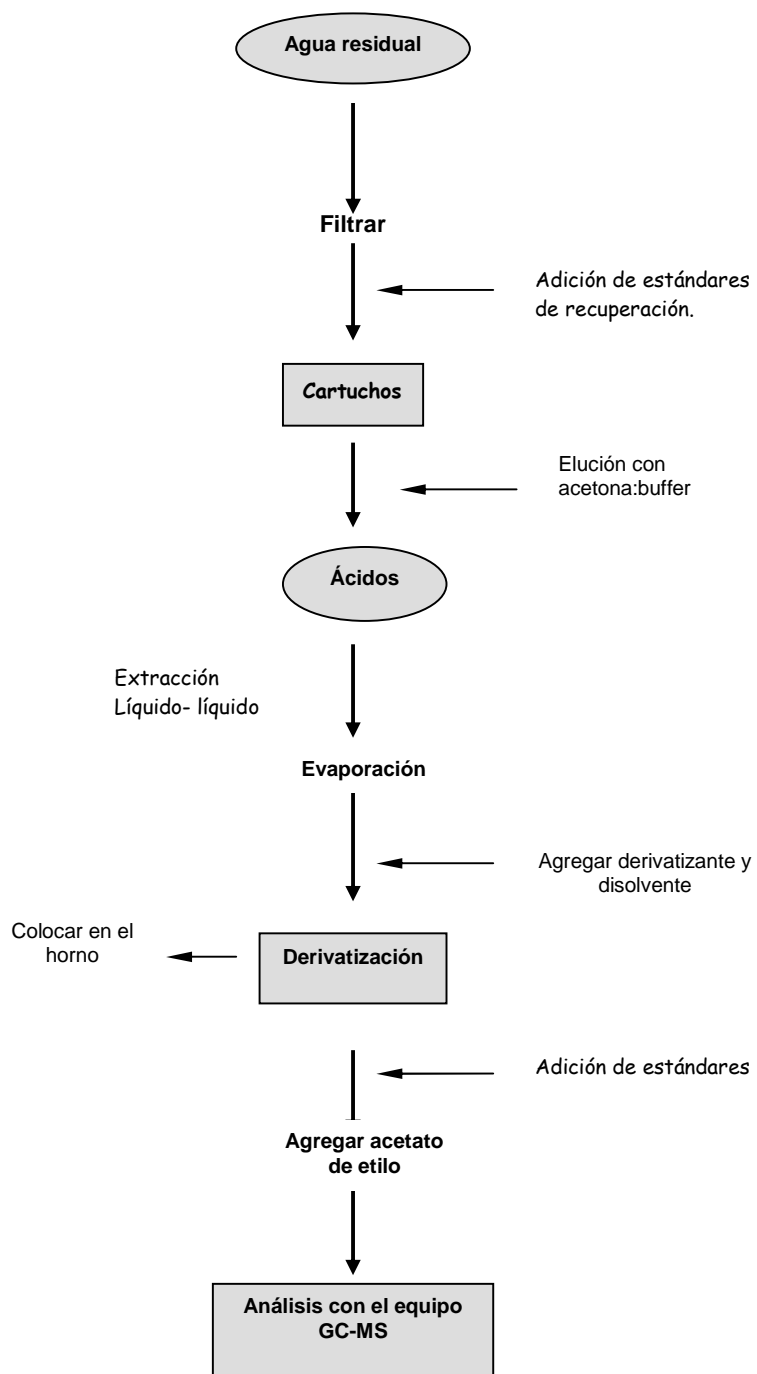


Figura 2.25 Procedimiento empleado para la extracción y derivatización de los ácidos.

## 2.7 Análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas

El instrumento para análisis y cuantificación de los analitos fue un cromatógrafo de gases HP 6890N, acoplado a un detector selectivo de masas modelo HP 5973N de Agilent, con una columna HP5-MS (30 m × 0.25 mm, 0.25 µm película). El gas fue helio a un flujo constante de 1.0 mL/min. La técnica de inyección fue splitless y el volumen de inyección de 1 µL, con una temperatura de inyección de 250°C. Se aplicó el siguiente programa del horno: 100°C por 1 minuto, 20°C/minuto hasta 280°C, 280°C por 10 minutos. Se utilizó el detector en su mayoría en el modo de selección de iones. En modo SCAN, se utilizó un intervalo de iones 50-500 m/z. La temperatura de la fuente fue de 230°C con una energía de electrones de 70 eV. La temperatura del detector fue 150°C, y la interfase de GC fue 280°C. Se afinó el instrumento con perfluorotributilamino.

La figura 2.26 muestra el equipo de cromatografía de gases acoplado a un espectro de masas.



Figura 2.26 Cromatógrafo de gases-masas (CG-EM)

Se inyectó una mezcla de los compuestos en una concentración de 100 ng/µL, en SCAN se puso el intervalo 50-500, se logró una muy buena separación con las condiciones cromatográficas utilizadas. A partir de los espectros de masas de los iones obtenidos en SCAN, se seleccionaron los iones para el análisis en muestreo de iones selectivos SIM (por sus siglas en inglés) para cada uno de los compuestos,



Tabla 2.1 Tiempos de retención e iones característicos de los ácidos farmacéuticos

Analito	Tipo de derivatización	Tiempo de retención	PM del derivado	Iones característicos
Ácido Salicílico	Ester metílico	-	166	-
	N-tert-butildimetilsilil ester	8.57	366	195 <u>309</u> 310
	trimetilsilil ester	-	282	-
Ácido Clofibrico	Ester metílico	6.01	228	128 169 228
	N-tert-butildimetilsilil ester	7.83	328	143 243 271
	trimetilsilil ester	6.50	286	<u>143</u> 169 286
Diclofenaco	Ester metílico	9.72	310	214 242 277
	N-tert-butildimetilsilil ester	11.56	409	214 <u>352</u> 354
	trimetilsilil ester	10.24	367	214 <u>242</u> 367
Gemfibrozil	Ester metílico	7.99	264	122 143 264
	N-tert-butildimetilsilil ester	9.62	364	179 <u>243</u> 307
	trimetilsilil ester	8.42	322	<u>179</u> 201 307
Ibuprofeno	Ester metílico	6.26	220	161 177 220
	N-tert-butildimetilsilil ester	8.00	320	<u>263</u> 264
	trimetilsilil ester	6.74	278	<u>160</u> 163 278
Ketoprofeno	Ester metílico	9.50	268	191 209 268
	N-tert-butildimetilsilil ester	10.92	368	295 <u>311</u> 312
	trimetilsilil ester	9.78	326	<u>282</u> 311
Naproxeno	Ester metílico	8.94	244	170 185 244
	N-tert-butildimetilsilil ester	10.25	344	185 <u>287</u> 344
	trimetilsilil ester	9.21	302	185 <u>243</u> 302
2,4-D	Ester metílico	-	-	-
	N-tert-butildimetilsilil ester	-	335	-
	trimetilsilil ester	-	334.03	-

---

### **Conclusiones del capítulo**

Este capítulo describió los procedimientos disponibles para el análisis de los ácidos farmacéuticos en aguas residuales. Describió tres tipos de derivatización que el proyecto va a comparar, un procedimiento ya establecido para la extracción de los compuestos de aguas residuales, y el proceso para preparar el método para el análisis de los compuestos por CG-EM sacar los iones. Finalmente se incluyó una descripción del sitio donde se sacaron las muestras de aguas residuales para comprobar que la derivatización funcionó bien con muestras reales.

---

## **CAPITULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIONES**

---

### **Objetivo del capítulo**

La selección de un agente derivatizante, se hace por medio de un estudio comparativo que se realiza a tres agentes para después hacer una investigación de las condiciones adecuadas de la reacción elegida mediante la variación de parámetros (tiempo de reacción, volumen de agente derivatizante y temperatura), y finalmente el uso de esta derivatización como parte de un método para el análisis de muestras de aguas residuales.

---

### **3.1 Comparación de las diferentes derivatizaciones**

En este apartado se hace referencia a las comparaciones de una selección de derivatizaciones ya que, al elegir una servirá para un análisis final más a fondo. Una derivatización se realiza por medio de una reacción, introduciendo un grupo funcional en sustitución de un hidrogeno activo, esto reduce la polaridad del compuesto y disminuye la vinculación del hidrógeno. El grupo funcional que es introducido a la molécula la hace más volátil y más estable y el reactivo que contiene este grupo es más compatible con un cromatógrafo de gases que se usa para la detección. Para la selección de un reactivo derivatizante adecuado es muy importante considerar el grupo funcional o el tipo de compuestos de interés, así como la estructura química y las características de la molécula que influyen en la selección del reactivo.

Para este proyecto se eligieron tres agentes derivatizantes comunes:

- tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA)
- bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida (BSTFA)
- MeOH/BF<sub>3</sub>

Los cuales fueron probados bajo las condiciones descritas en la sección 1.9 después fueron analizados en el equipo CG-EM para establecer las ventajas y desventajas de cada una, en general de información obtenido de los cromatogramas y los espectros generados.

### **3.2 Descripción de los cromatogramas y espectros de masas**

#### **3.2.1 Metalización con metanol/BF<sub>3</sub>**

En la figura 3.1, se muestra un cromatograma del efecto que tiene el agente derivatizante MeOH/BF<sub>3</sub> (metilación) sobre los ácidos de interés, esta empieza a mostrarse al minuto 6. Se observa que la forma de los picos no es simétrica como una campana de Gauss. En lo ancho de la base del pico muestra su forma angosta, que se encuentra inclinada más del lado derecho que del izquierdo, es decir los picos son coleados, especialmente los tres eluyen antes de 7.5 min.



Los otros picos muestran una mejor forma (más estrechos), tanto en la base como en lo alto de estos. Podría decirse que los cuatro últimos ácidos tiene una mejor forma con respecto a los tres anteriores.

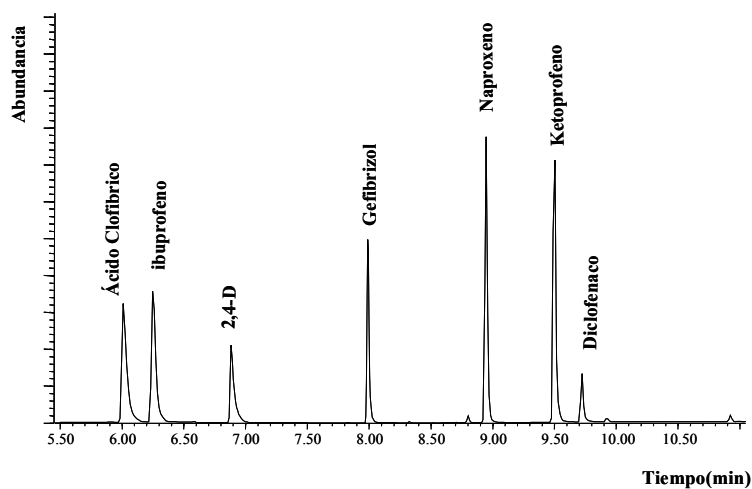
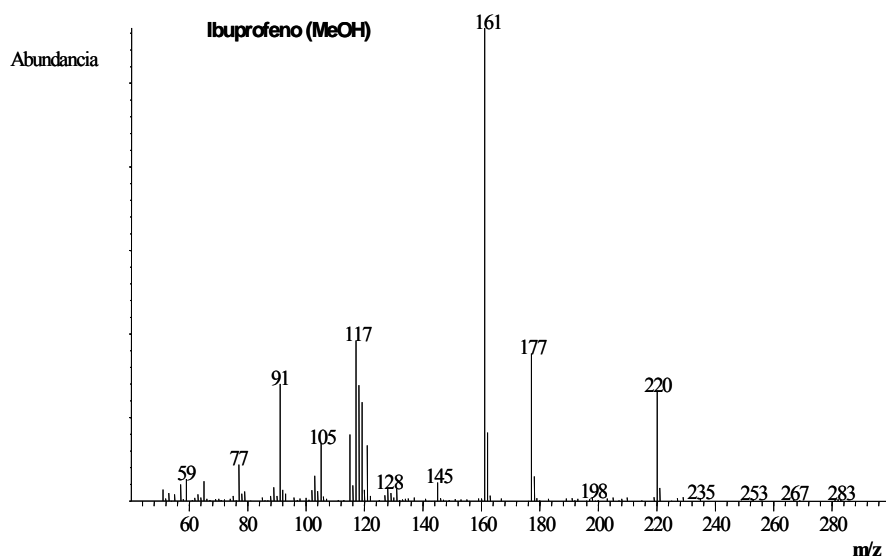
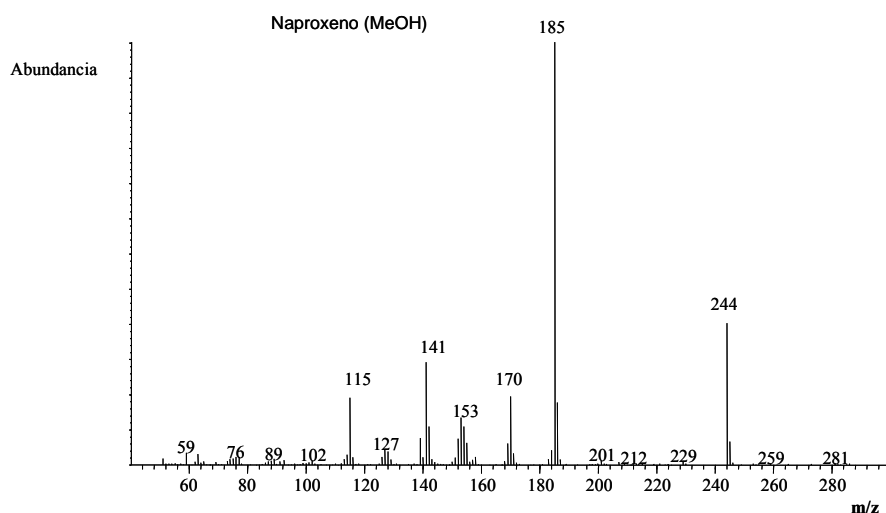


Figura 3.1 Cromatograma de una agente derivatizante MeOH/BF3

El ancho de los picos puede afectar la separación de los ácidos de la matriz de una muestra real y resultar que haya una reducción en la sensibilidad. Además, de los ocho ácidos que inicialmente colocamos en la muestra sólo se obtuvieron siete, lo cual indica, que el ácido ausente en el cromatograma (ácido salicílico), probablemente sufrió un degradación bajo las condiciones en las cuales se inicio este experimento o en el inyector del equipo CG-EM.

Las figuras 3.2 (ibuprofeno) y 3.3 (naproxeno) muestra dos ejemplos de espectros de masa correspondiente a los picos del naproxeno e ibuprofeno del cromatograma anterior. Se puede observar la presencia de la masa molecular 220  $m/z$  (ibuprofeno) y 244  $m/z$  (naproxeno) y otros fragmentos estables que pertenecen a la molécula. En los dos casos, hay fragmentos estables y de suficiente masa para usar como iones de cuantificación y confirmación.

Figura 3.2 Espectro de masa de Ibuprofeno con MeOH/BF<sub>3</sub>Figura 3.3 Espectro de masa de Naproxeno con MeOH/BF<sub>3</sub>

### 3.2.2 Sililación con BSTFA

La figura 3.4 muestra el cromatograma de los ácidos derivatizados con bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida (BSTFA). En general el cromatograma es semejante a lo que se generó por la derivatización con MeOH/BF<sub>3</sub>, los picos tienden a tener la misma forma que los anteriores y los tiempos de retención son semejantes. Ibuprofeno, ácido clofíbrico, y 2,4-D, presentan picos anchos y coleados, estas propiedades afectan la sensibilidad y la posibilidad de que haya interferencias. La forma de los picos de los ácidos eluyendo después del minuto 8, son estrechos sin mucha evidencia de picos coleados. Sin embargo, se repite la misma tendencia que el anterior cromatograma ya que, de

nuevo no aparece el ácido salicílico, probablemente a causa de degradación en el inyector del equipo CG-EM.

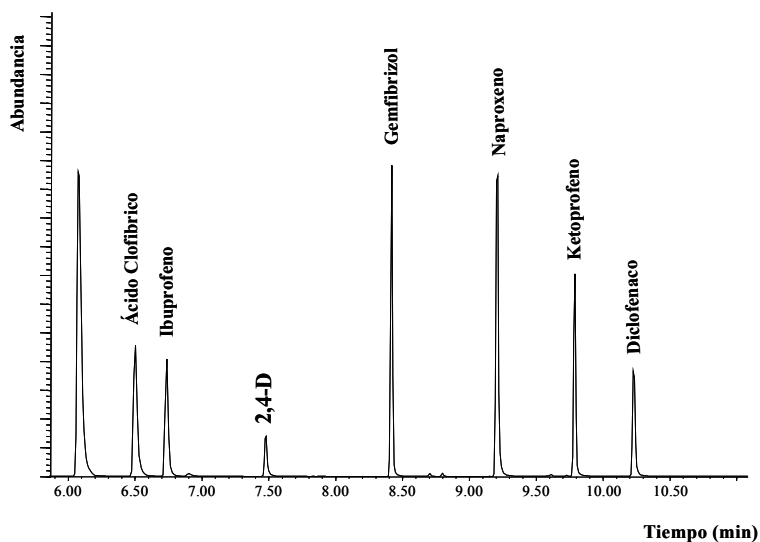


Figura 3.4 Cromatograma de una agente derivatizante bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida BSTFA

Los espectros de masa son mostrados por las figuras 3.5 (ibuprofeno) y 3.6 (naproxeno). Se puede ver la presencia del ion de la masa molecular 278 m/z (ibuprofeno) y 302 m/z (naproxeno) aunque para Ibuprofeno fue un ion muy chico. Los demás son fragmentos estables que pertenecen a la molécula y en los dos casos, hay varios fragmentos estables para usar como iones de cuantificación y confirmación.

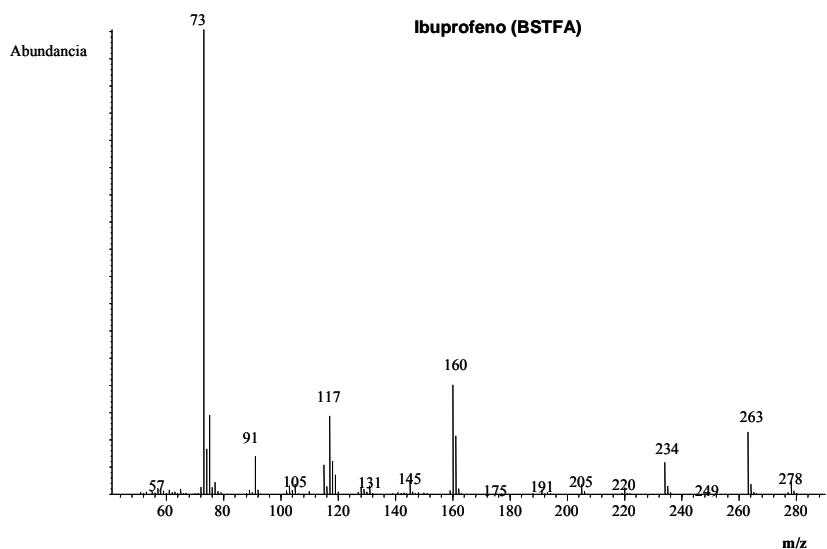


Figura 3.5 Espectro de masas del Ibuprofeno con bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida BSTFA

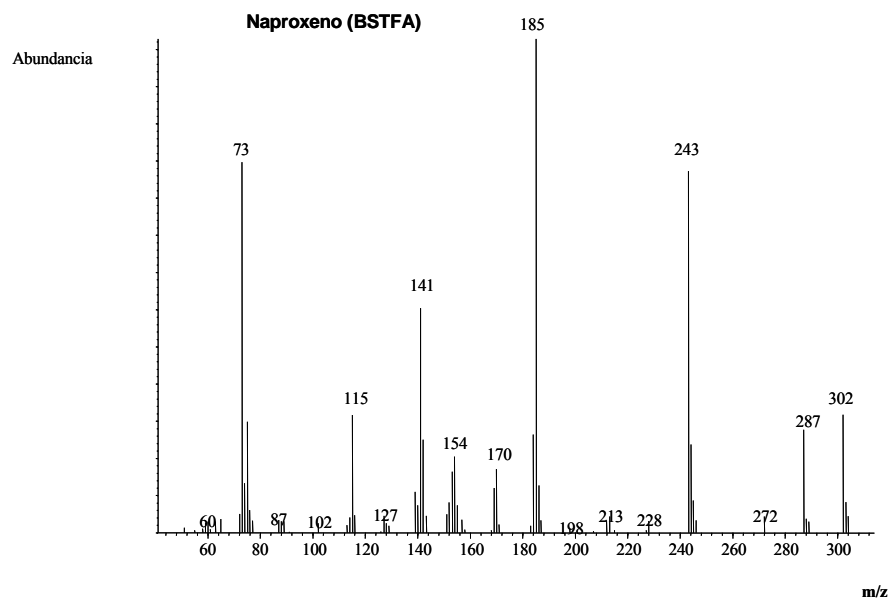


Figura 3.6 Espectro de masas del Naproxeno con bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida BSTFA

### 3.2.3 Sililación con MTBSTFA

Se puede observar (figura 3.7) el cromatograma de los ácidos derivatizados con tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA), los cuales eluyen al minuto 7.5, aproximadamente 1.5 minutos después que los metil esterres y los trimetilsilil.

Se puede apreciar a todos los ácidos que aparecen en el grafico, ya que, en los cromatogramas anteriores no aparecía el ácido salicílico, por consiguiente no hubo degradación de este compuesto durante la reacción o en el inyector del equipo. Mirando detenidamente el cromatograma se puede ver la forma mas definida y poco estrecha de los picos, esto ayuda mejorar la sensibilidad y bajar la posibilidad de interferencias de la matriz de muestras reales. Todos los picos de los ácidos no presentan formas sesgadas hacia ambos lados.

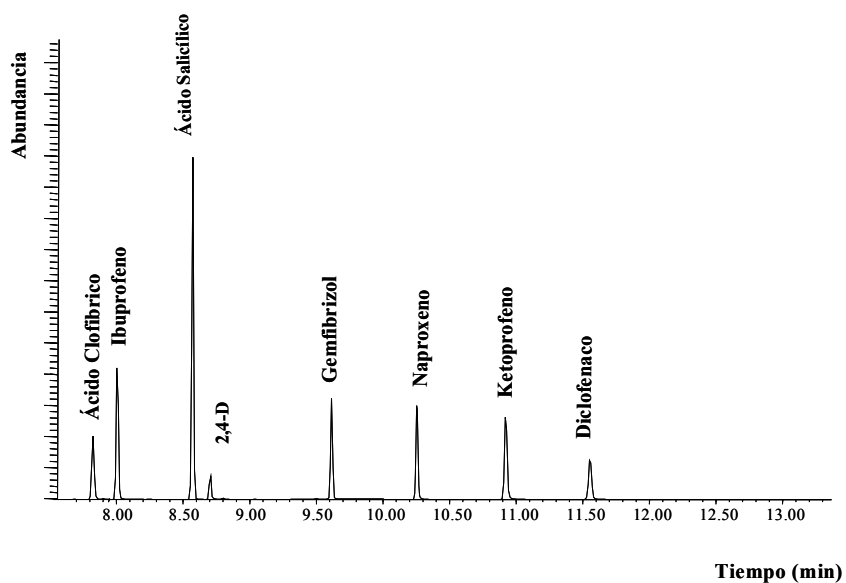


Figura 3.7 Cromatograma de una agente derivatizante tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida MTBSTFA

Las figuras 3.8 (ibuprofeno) y 3.9 (naproxeno) muestra dos ejemplos de espectros de masa correspondiente a los picos del naproxeno e ibuprofeno del cromatograma anterior. No se puede observar un ion correspondiente a la masa molecular pero iones fuertes de la masa molecular menos 57 ( $[M-57]^+$ ), 263 m/z (ibuprofeno) y 287 m/z (naproxeno). Este fragmento es característico de compuestos derivatizados con MTBSTFA y representa una pérdida del grupo  $(CH_3)_3C$  de la molécula. Aunque hay menos fragmentos estables que en las derivatizaciones anteriormente descritas, son suficientes fragmentos que pueden usarse como iones de cuantificación y confirmación.

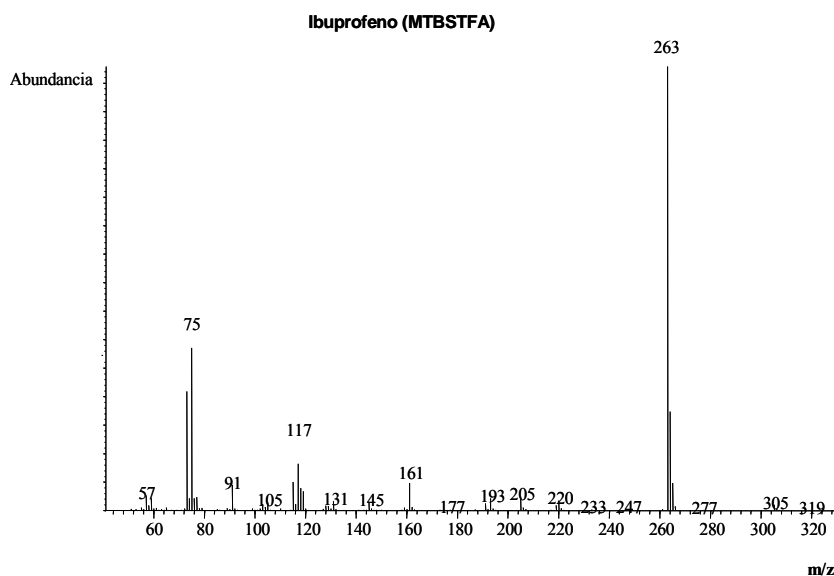


Figura 3.8 Espectro de masa del Ibuprofeno con tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida MTBSTFA.

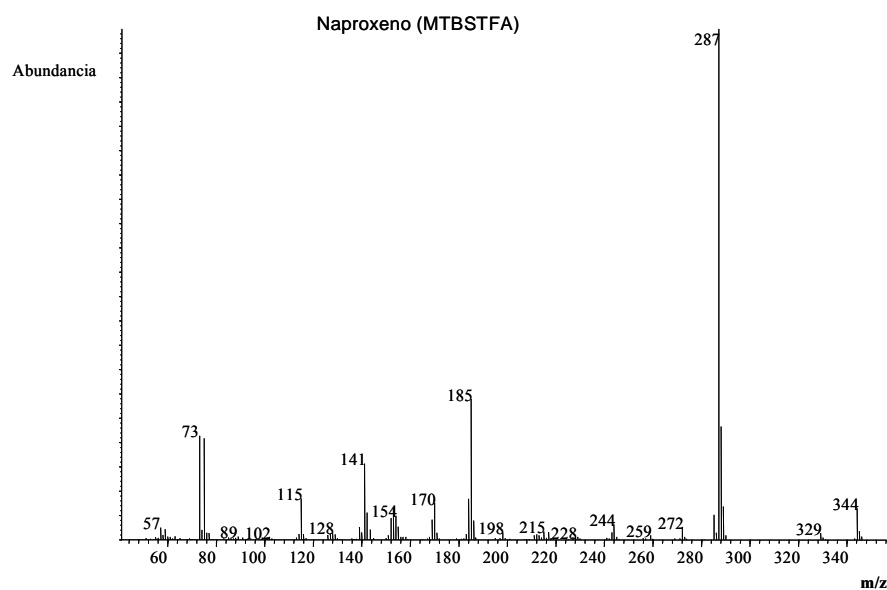


Figura 3.9 Espectro de masa del Naproxeno con MTBSTFA

### 3.3 Elección del derivatizante más adecuado

Basándose en los resultados de los tres cromatogramas anteriores, se puede hacer una comparación en la forma de sus picos los cuales determinan como es que se dio la separación de los ácidos en la columna CG-EM. En los dos primeros cromatogramas ( $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  y BSTFA) muestra una serie de ácidos los cuales coinciden en no reportar el ácido salicílico esto nos indica que este ácido es inestable y se degrada durante la reacción o en el inyector. También estas derivatizaciones producen ácidos derivatizados con picos coleados, en particular ácido clofíbrico, Ibuprofeno, y 2,4-D.

Basándose en lo estrecho de los picos, en el área bajo la curva y la presencia de ácido salicílico se determinó que el agente “MTBSTFA” es el adecuado como agente derivatizante para el proyecto. Por lo cual se debe someter a una investigación para saber cuáles son las mejores condiciones en la derivatización.

### 3.4 Selección de los estándares internos

Un estándar interno es un compuesto conocido que se agrega a las muestras antes del análisis final para corregir cambios pequeños en la sensibilidad del equipo que vienen del comportamiento del equipo y la matriz de una muestra. Un estándar interno adecuado es un compuesto semejante al analito en términos de estructura y propiedades. En la literatura solo hay una única investigación de parámetros de derivatizaciones de ácidos farmacéuticos <sup>[19]</sup> se usó fenantreno (un poli-aromático) como el estándar interno. Este compuesto no es muy semejante a los ácidos y para este estudio se aprovechó de la derivatización con  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  para preparar ácidos metilados de ibuprofeno, naproxeno y diclofenaco para usar compuestos como estándares internos para la investigación de parámetros de la derivatización con MTBSTFA. Estos compuestos son más semejantes en estructura que fenantreno y debe corregir mejor cualquier variación en el desempeño del equipo CG-EM.

### 3.5 Parámetros de derivatización investigados

#### 3.5.1 Variación del tiempo de reacción

Para la derivatización con MTBSTFA se varió el tiempo de reacción: los rangos fueron 0 min, 15 min, 30 min, 45 min y 60 min. Las variables constantes fueron volumen (25 $\mu\text{L}$ ) y temperatura (60 $^\circ\text{C}$ ). Esto nos proporcionó el tiempo que requiere la reacción para llevarse a cabo.

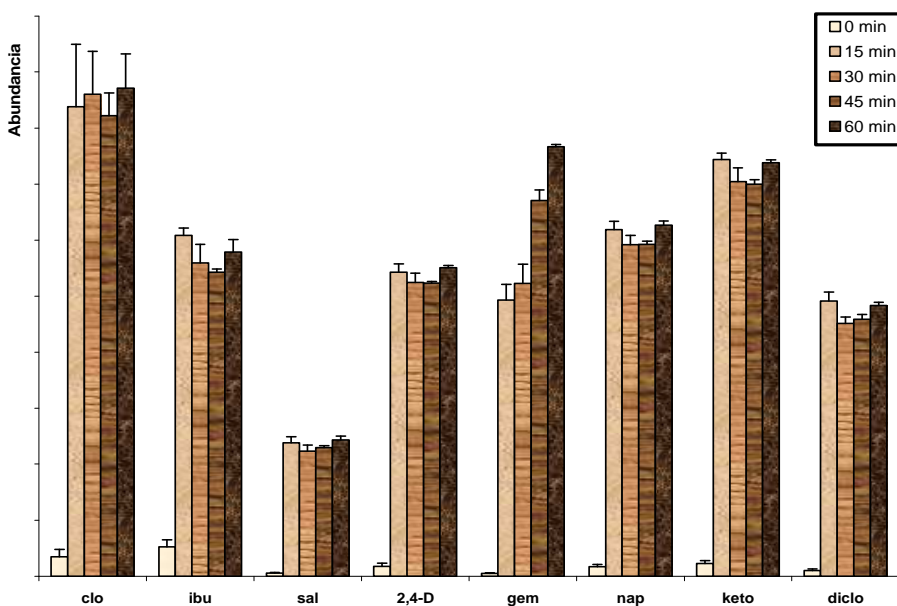


Figura 3.10 Efecto del tiempo de reacción en la cantidad relativa de ácido generado sin matriz.

El figura 3.10 presenta los datos del efecto de tiempo de reacción en la generación de los compuestos derivatizados. Al variar el tiempo de reacción cambia la cantidad del producto de ácido derivatizado que se está generando, al minuto 0 (inyección inmediatamente después de agregar los reactivos) la reacción no se lleva a cabo en su totalidad, la producción del ácido derivatizado fue muy baja para todos los compuestos. Conforme aumenta el tiempo, en los minutos 15, 30, 45 y 60, todos los ácidos con excepción del gemfibrozil, la cantidad de producto generado fue aproximadamente igual. En cambio, la cantidad de gemfibrozil derivatizado fue aumentando respecto al lapso de tiempo de reacción hasta llegar a los 60 minutos.

En la figura 3.11 se presenta el efecto del tiempo de reacción en la cantidad de ácido derivatizado producido en la presencia de la matriz de agua residual. Se observa que la matriz ayuda a que la reacción ocurra casi de inmediato porque el máximo de los productos ocurren con inyección inmediatamente después de agregar los reactivos. Para los siguientes tiempos la producción de ácido derivatizado fue constante.

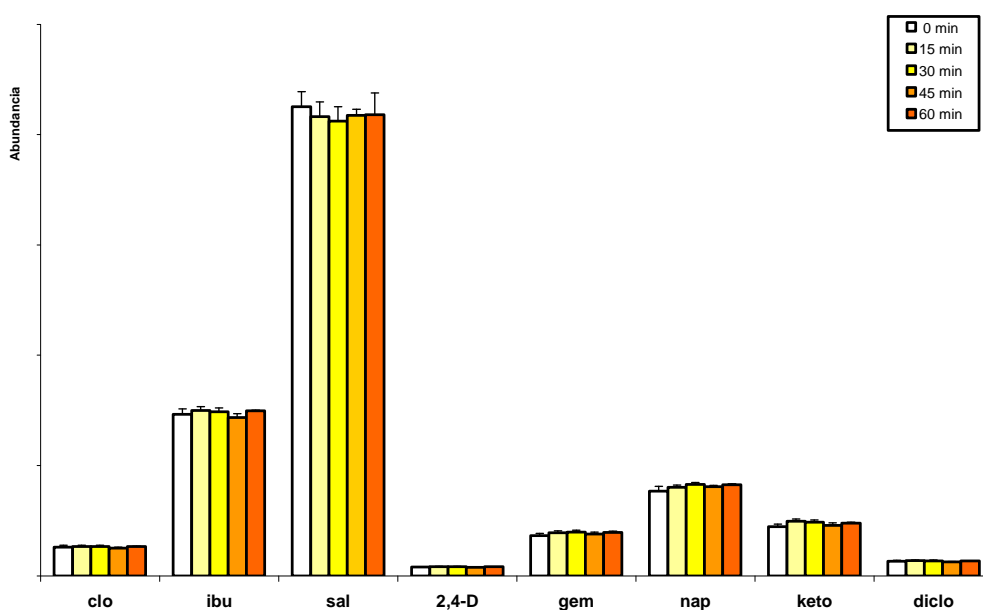


Figura 3.11 Efecto del tiempo de reacción en la cantidad relativa de ácido generado con matriz de aguas residuales.



### 3.5.2 Variación del temperatura

Otro parámetro que se varió fue la temperatura de 22°C, 40°C, 60°C, 80°C hasta 100°C. Las variables constantes fueron volumen de agente derivatizante (25µL) y tiempo (30 min). Esto nos proporcionó la temperatura adecuada para que la reacción se pueda llevar a cabo.

En la figura 3.12 se observa la variación en la producción de ácido derivatizado bajo las diferentes condiciones de temperatura. La generación de ácidos derivatizados aumentó cuando la temperatura más notable fue la diferencia entre 40 y 60°C. Se alcanzan la máxima producción de ácido clorídrico, Ibuprofeno, y 2,4-D a 60°C sin embargo, para los demás ácidos la máxima producción fue alcanzada a los 100°C.

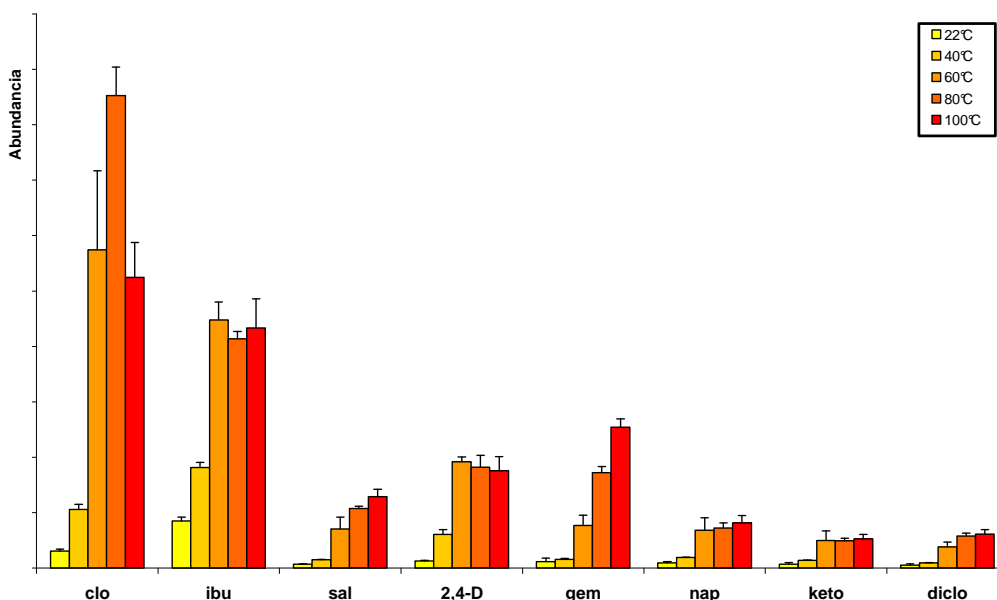


Figura 3.12 Efecto de la temperatura de reacción en la cantidad relativa de ácido generado sin matriz.

En la figura 3.13 muestra la variación en la producción de ácido derivatizado en aguas residuales bajo diferentes rangos de temperatura. La producción de compuesto fue constante a diferentes temperaturas, estos datos son completamente diferentes de las muestras sin matriz. Por lo tanto cuando hay una matriz presente, las temperaturas de 22°C y 40°C también son adecuados para completar la reacción de todos los compuestos.

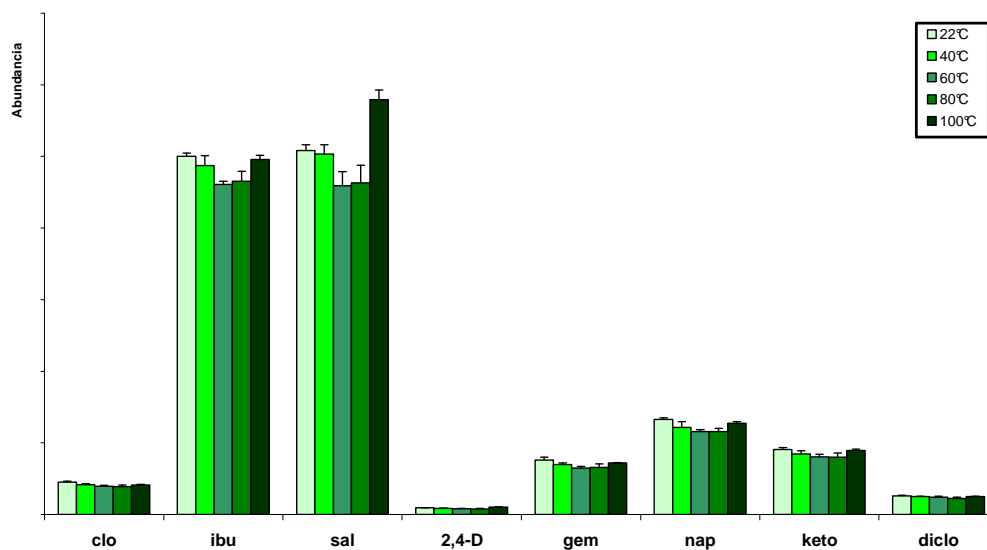


Figura 3.13 Efecto de la temperatura de reacción en la cantidad relativa de ácido generado con matriz de aguas residuales.

### 3.5.3 Variación de la cantidad de derivatizante

El volumen de derivatizante fue otra variable que se cambió, el rango fue de 10  $\mu\text{L}$ , 25  $\mu\text{L}$ , 50  $\mu\text{L}$ , 75  $\mu\text{L}$  y 100  $\mu\text{L}$  y las variables constantes fueron tiempo (30 min.) y temperatura (60°C). Esto nos proporcionó el volumen adecuado para que la reacción se pueda llevar a cabo.

En la figura 3.14 muestra la variación en la producción de ácido derivatizado bajo los diferentes volúmenes de agente derivatizado agregado. El volumen no afectó la cantidad de producto de ibuprofeno y gemfibrozil ó diclofenaco. Para los demás ácidos, un aumento en el volumen incremento la producción de ácido derivatizado.

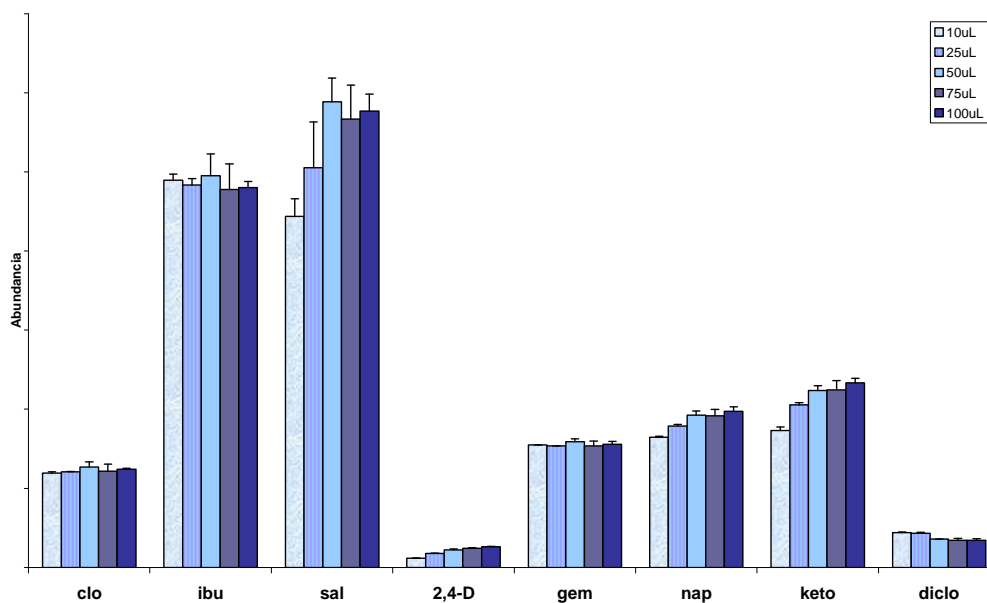


Figura 3.14 Efecto de el volumen de agente derivatizante de reacción en la cantidad relativa de ácido generado.

En la figura 3.15 muestra la variación en la producción de ácido derivatizado bajo los diferentes volúmenes de agente derivatizante agregado en la presencia de la matriz. Para los compuestos: ácido clofibríco, 2,4-D, gemfibrozil, naproxeno y ketoprofeno la reacción no se ve beneficiada pues llega a un momento en el que al agregar mas volumen de derivatizante éste genera la misma cantidad, desde 10  $\mu\text{L}$  hasta 100  $\mu\text{L}$  de agente derivatizante. Para ibuprofeno, ácido salicílico, y diclofenaco, la producción de ácido derivatizado disminuye conforme aumenta el volumen de agente derivatizante. Aunado a esto, se puede decir que el volumen adecuado de derivatizante en presencia de la matriz es de 10 a 25  $\mu\text{L}$  por la diferencia de producto generado, cuando este va aumentando en cada uno de los ácidos la producción de ácido derivatizado disminuye.

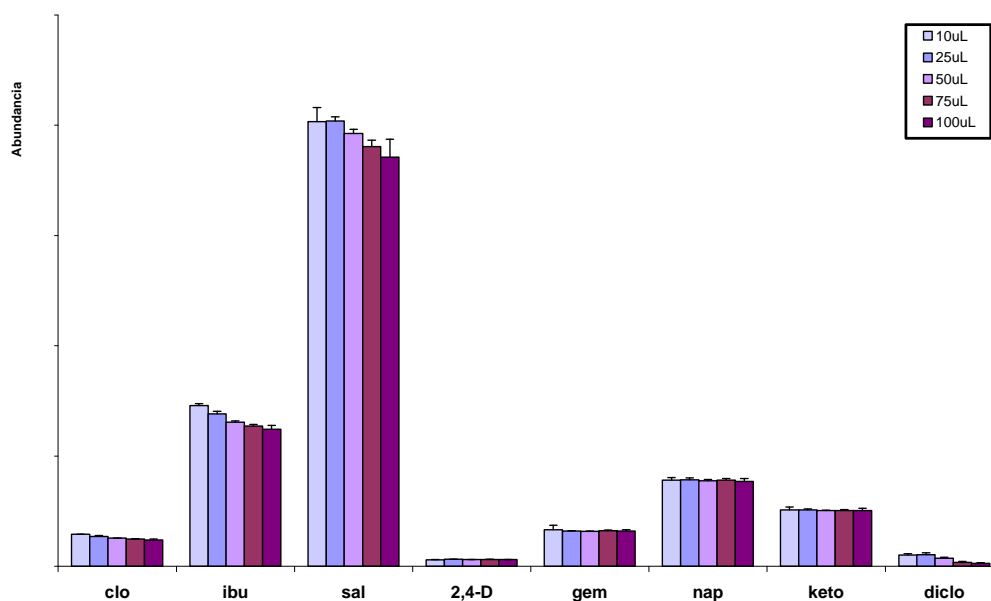


Figura 3.15 Efecto del volumen del agente derivatizante de reacción en la cantidad relativa de ácido generado con matriz en aguas residuales.

### 3.6 Resumen de las mejores condiciones de derivatización.

Para este apartado se analizaron los resultados que se obtuvieron de los experimentos realizados para determinar las condiciones adecuadas de la reacción de sililación. El comportamiento de las muestras fue diferente dependiendo de la presencia o ausencia de matriz. Sin matriz se observó que la reacción no fue instantánea, necesitó una temperatura de 60-100°C y un volumen para algunos ácidos de 100  $\mu$ L. En cambio, en la presencia de matriz, la reacción fue instantánea, funcionó a una temperatura ambiente y con 10  $\mu$ L de reactivo. La diferencia posiblemente es relacionado a absorción a las paredes de los viales sin la matriz lo cual deja no disponible los analitos para reaccionar fácilmente.

Aunque en la presencia de la matriz se puede realizar en 0 minutos, una temperatura ambiente, y 10  $\mu$ L de reactivo, la matriz de aguas residuales es muy variable y para asegurar la reacción, se decidió a usar un tiempo de 30 minutos, una temperatura de 60°C, y un volumen de 25  $\mu$ L de reactivo.

### 3.7 Aplicación de la técnica

Teniendo las condiciones adecuadas para una derivatización, este método se aplicó a muestras reales que fueron tomadas de una planta de tratamiento de aguas residuales.

El tratamiento de aguas residuales incorpora procesos físicos químicos y biológicos, los cuales tratan y remueven contaminantes físicos, químicos y biológicos introducidos por el uso humano cotidiano del

agua. El objetivo del tratamiento es producir agua ya limpia (o efluente tratado) o reutilizable en el ambiente, y un residuo sólido o fango también convenientes para los futuros propósitos o recursos.

Típicamente, el tratamiento de aguas residuales es alcanzado por la separación física inicial de sólidos de la corriente de aguas domésticas o industriales, seguido por la conversión progresiva de materia biológica disuelta en una masa biológica sólida usando bacterias adecuadas, generalmente presentes en estas aguas. Una vez que la masa biológica es separada o removida, el agua tratada puede experimentar una desinfección adicional mediante procesos físicos o químicos. Este efluente final puede ser descargado o reintroducidos de vuelta a un cuerpo de agua natural (corriente, río o bahía) u otro ambiente (terreno superficial o subsuelo) etc. Los sólidos biológicos segregados experimentan un tratamiento y neutralización adicional antes de la descarga o reutilización apropiada.

La planta de tratamiento de Ciudad Universitaria tiene tres tipos de tratamientos: lodos activados, rociador y biodiscos. El flujo del influente es dividido en tres corrientes las cuales van a cada uno de los tratamientos. Se utilizó el método que antes se mencionó en la sección 2.5 con los parámetros de derivatización descritos en la sección 3.7 para investigar la remoción de los ácidos farmacéuticos en los tres tratamientos.

Los resultados que a continuación se muestran en la Tabla 3.1 permiten que se aprecie los diferentes compuestos farmacéuticos (previamente seleccionados para este proyecto) que se encuentran en aguas residuales de la planta de tratamiento aguas residuales de Ciudad Universitaria.

Basándonos en los datos que se obtuvieron de los muestreos, se observa una ausencia del ácido clofíbrico, 2,4-D, gemfibrozil y ketoprofeno. Estos compuestos estuvieron abajo del límite de detección (LD).

Las concentraciones que se reportan en este trabajo permiten comparar los valores que se muestran en el muestreo 1 y 2 del ibuprofeno con concentraciones de 3,404 y 4,491 ng/L y diclofenaco 3,101 a 9,344 ng/L estas cantidades son semejantes a las reportadas en la literatura de diferentes efluentes en otras partes del mundo <sup>[5][17]</sup>. Sin embargo, las concentraciones del ácido salicílico de 38,891 a 87,407 ng/L y naproxeno de 27,308 a 65,359 ng/L reportaron niveles muy altos que efluentes típicos, posiblemente esto se deba a el alto consumo de naproxeno y aspirina en México. Los niveles de concentración reportados fueron más bajos en el primer muestreo probablemente a causa de la temporada de lluvia.

Proceso	Ác. Clofibrico	Ibuprofeno	Ác. Salicílico	2,4-D	Gemfibrozil	Naproxeno	Ketoprofeno	Diclofenaco
Influyente	<LD	3404 ± 88	38891 ± 2110	<LD	<LD	27308 ± 832	<LD	3101 ± 105
Lodos activados	<LD	432 ± 26	147 ± 11	<LD	<LD	2710 ± 187	<LD	2352 ± 224
Rociador	<LD	2885 ± 92	1058 ± 59	<LD	<LD	30694 ± 1869	<LD	3132 ± 187
Biodiscos	<LD	2144 ± 79	273 ± 18	<LD	<LD	22946 ± 504	<LD	3056 ± 91

Tabla 3.1 Muestreo N°1 concentraciones ng/L de ácidos farmacéuticos encontradas en procesos de tratamientos de aguas residuales.

Proceso	Ác. Clofibrico	Ibuprofeno	Ác. Salicílico	2,4-D	Gemfibrozil	Naproxeno	Ketoprofeno	Diclofenaco
Influyente	<LD	4491 ± 250	87407 ± 5176	<LD	<LD	65359 ± 4022	<LD	9344 ± 253
Lodos activados	<LD	1297 ± 34	742 ± 128	<LD	<LD	17061 ± 333	<LD	3362 ± 81
Rociador	<LD	643 ± 71	155 ± 6	<LD	<LD	12000 ± 1467	<LD	2188 ± 271
Biodiscos	<LD	340 ± 27	131 ± 22	<LD	<LD	3473 ± 140	<LD	2248 ± 71

Tabla 3.2 Muestreo 2 concentraciones ng/L de ácidos farmacéuticos encontradas en procesos de tratamientos de aguas residuales.

Las concentraciones de los cuatro ácidos que se encontraron en los efluentes varían mucho con respecto a las encontradas en los efluentes de los diferentes tratamientos. Para el sistema de lodos activados el ibuprofeno se encontró en 432 y 1,297 ng/L, el ácido salicílico 147 y 742 ng/L, naproxeno 2,710 y 17,061 ng/L y diclofenaco 2,352 y 3,362 ng/L. En el sistema de rociador los valores fueron el ibuprofeno se encontró en 2,885 y 643 ng/L, el ácido salicílico 1,058 y 155 ng/L, naproxeno 30,694 y 12,000 ng/L y diclofenaco 3,132 y 2,188 ng/L. Para el último sistema que es el de biodiscos las cantidades fueron; para el ibuprofeno se encontró en 2,144 y 340 ng/L, el ácido salicílico 273 y 131 ng/L, naproxeno 22,944 y 3,473 ng/L y diclofenaco 3,056 y 2,248 ng/L. Estos datos fueron tomados de las tablas 3.1 y 3.2.

En la tabla 3.3 se muestra el porcentaje de remoción en el muestreo 1 y 2, en el influente y efluentes de los diferentes procesos que conforman al tratamiento de agua residual en Ciudad Universitaria. En cada uno de los tratamientos se reporta un porcentaje de remoción el cual nos dice lo eficiente que resultó el proceso para eliminar los ácidos de interés. Se observó que en los resultados arrojados por cada uno de los diferentes pasos que conforman a un tratamiento de agua, se ve disminuida a un 100% la remoción del ácido salicílico en los dos muestreos.

La remoción de ibuprofeno en el sistema de lodos activados fue alta en ambos muestreos, el porcentaje mas alto fue en el muestreo 1 (87%) que en muestreo 2 (71%). La mejora en el procedimiento fue mas visible en el muestreo dos, en el proceso del sistema de rociador muestra una remoción de 15% en el muestreo 1 a 86% muestreo 2 y también se ve reflejado en el sistema de biodiscos con una remoción de 37% muestreo 1 a 92% en el muestreo 2. Esta mejora puede ser relacionada al flujo por la planta que fue más alta durante el muestreo 1.

El naproxeno muestra un comportamiento semejante al compuesto anterior (Ibuprofeno), en los sistemas de rociador y biodiscos hay una mejora en el muestro 2. En el muestreo uno la remoción en estos dos procesos fue 0% y 16% respectivamente sin embargo, en el muestreo 2 fue de 82% y 95%.

La remoción de los lodos activados fue de 70% más que en los otros muestreos. El diclofenaco muestra un comportamiento similar al ibuprofeno, la remoción en los sistemas de rociador y biodiscos fue mejor en el muestreo 2 que en el 1. Sin embargo, la remoción del diclofenaco en los lodos activados fue más baja que el ibuprofeno y el naproxeno y mucho mejor en el segundo muestreo.

Ácidos	Sistema de lodos Activados		Sistema de Rociador		Sistema de Biodiscos	
	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 1	Muestreo 2	Muestreo 1	Muestreo 2
Ibuprofeno	87	71	15	86	37	92
Ácido salicílico	100	99	97	100	99	100
Naproxeno	90	74	0	82	16	95
Diclofenaco	24	64	0	77	1	76

Tabla 3.3 Concentraciones ng/L de ácidos farmacéuticos en procesos de tratamientos de aguas residuales.

---

### Conclusiones del capítulo

Basándonos en el análisis de resultados obtenidos, se determino que el agente derivatizante mas adecuado para este tipo de análisis en compuestos polares (ácidos farmacéuticos) fue MTBSTFA. Las condiciones elegidas para la derivatización fueron un tiempo de 30 minutos, una temperatura de 60°C, y un volumen de 25 µL de reactivo. Se aplicó el método a muestras de aguas residuales de la planta de Ciudad Universitaria donde se observó remociones diferentes en los diversos tratamientos.

---

## **CAPITULO 4 CONCLUSIONES**

La aplicación de técnicas analíticas, el estudio para emplear el agente derivatizante adecuado y la investigación de parámetros ayudan a comprender mejor la derivatización usada en el procedimiento para detectar ácidos farmacéuticos y pesticidas, en aguas residuales no tratadas.

En el presente trabajo se analizaron ácidos con características semejantes, basándose en la metodología desarrollada de una técnica analítica para después modificarla y convertirla de algo general a algo más específico, llegando a las siguientes conclusiones que a continuación se enlistan.

1. Se evaluaron 3 tipos de agentes derivatizantes, los cuales fueron obtenidos a partir de la forma de los picos estrechos, el valor de el área bajo la curva, y la sensibilidad del equipo. Al compararlos se determinó que el agente derivatizante MTBSTFA es el adecuado para este tipo de estudio.
2. Los compuestos metilados fueron adecuados como estándares internos para el análisis de los fármacos en las muestras. Se usó los metilados de naproxeno, diclofenaco y ibuprofeno.
3. Se puede concluir que las mejores condiciones para realizar una reacción de silylación ocurren a una temperatura de 60°C, con un volumen 2.5 µL de agente derivatizante y un tiempo de reacción de 30 min.
4. Se usó un método analítico ya desarrollado para la extracción de muestras de aguas residuales. Estos compuestos artificiales (ácido salicílico, ácido cloribrico, naproxeno, diclofenaco, ibuprofeno, ketoprofeno, gemfibrozil, 2,4-D) se encontraron presentes en el efluente de la planta de tratamiento de agua residual en estudio y por lo tanto están entrando al medio ambiente a través del agua tratada para riego.
5. Los fármacos que se presentaron en una mayor concentración en el agua residual fueron el diclofenaco, ácido salicílico, naproxeno e ibuprofeno.
6. La variación en la remoción de ácidos farmacéuticos que presenta cada uno de los diferentes procesos en un tratamiento de aguas residuales probablemente se presenta por la variación en el volumen del flujo de descarga y por la época del año.



## V. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Significado</b>
AINE(s)	Antiinflamatorio(s) no esteroideo(s)
AcetOEt	Acetato de Etilo
BSTFA	Bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida
Borontrifluoride-metanol	BF <sub>3</sub> /MeOH
CG-EM	Cromatografía de gases espectrometría de masas
DDT	1,1,1-Tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)-etano
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato sódico
SCAN	Escanear
SIM	Selección de iones por sus masas
PCB's	Siglas en ingles (Persistentes, bioacumulativos y tóxicos)
PBTs	Persistentes, bioacumulativos y tóxicos
PFBBr	pentafluorobenzyl bromuro
Tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamide	MTBSTFA
2,4-D	Herbicida sistémico

## VI. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1	Características de algunos ácidos y un pesticida.	7
Tabla 2.1	Tiempos de retención e iones característicos de los ácidos farmacéuticos	23
Tabla 3.1	Muestreo N°1 concentraciones ng/L de ácidos farmacéuticos encontradas en procesos de tratamientos de aguas residuales.	39
Tabla 3.2	Muestreo 2 concentraciones ng/L de ácidos farmacéuticos encontradas en procesos de tratamientos de aguas residuales.	39
Tabla 3.3	Concentraciones ng/L de ácidos farmacéuticos en procesos de tratamientos de aguas residuales.	40

## VII. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Estructuras moleculares de diferentes plaguicidas.	2
Figura 1.2	Productos de limpieza surfactantes.	3
Figura 1.3	Productos de cuidado personal.	3
Figura 1.4	Concentraciones ng/L de algunos compuestos <sup>[5]</sup> .	5
Figura 1.5	Cartucho Oasis HLB 6cc	8
Figura 1.6	Equipo para extraer compuestos en el agua.	8
Figura 2.1	Filtros de microfibra de vidrio Whatman	11
Figura 2.2	Cartuchos para extracción Oasis HLB	11
Figura 2.3	Fisher multi-block	12
Figura 2.4	Vacuum Manifolds Alltech	12
Figura 2.5	Centrifuga Dynac	12
Figura 2.6	Agitador IKA KS 130	12
Figura 2.7	Evaporación de muestras bajo una corriente de nitrógeno	13
Figura 2.8	La reacción muestra como se lleva acabo la derivatización de los ésteres metilados.	14
Figura 2.9	Muestra la estructura de tert- butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA) un agente derivatizante.	14
Figura 2.10	Muestra el mecanismo de reacción de un ácido derivatizado con MTBSTFA.	14
Figura 2.11	Muestra la estructura de bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida (BSTFA) (una gente derivatizante).	15
Figura 2.12	Muestra el mecanismo de reacción de un ácido derivatización con BSTFA.	15
Figura 2.13	Efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	17
Figura 2.14	Canal de descarga del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	17
Figura 2.14	Canal de descarga del efluente de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	17
Figura 2.16	Toma de muestras del sistema de lodos activados del sedimentador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	17
Figura 2.17	Sistema Rociador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	18
Figura 2.18	Toma de muestras del Sistema Rociador del sedimentador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	18
Figura 2.19	Sistema de Biodiscos de tratamiento de aguas residuales en C.U.	18
Figura 2.20	Toma de muestras del Sistema Biodiscos del sedimentador de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	18

---

Figura 2.21	Filtrado de las muestras de agua de la planta de tratamiento de aguas residuales en C.U.	19
Figura 2.22	Acondicionamiento previo con acetona de cartuchos oasis HLB.	19
Figura 2.23	Extracción de ácidos farmacéuticos	20
Figura 2.24	Elución de los ácidos farmacéuticos	20
Figura 2.25	Procedimiento empleado para la extracción y derivatización de los ácidos.	21
Figura 2.26	Cromatógrafo de gases-masas (CG-EM)	22
Figura 3.1	Cromatograma de una agente derivatizante MeOH/BF <sub>3</sub>	26
Figura 3.2	Espectro de masa de Ibuprofeno con MeOH/BF <sub>3</sub>	27
Figura 3.3	Espectro de masa de Naproxeno con MeOH/BF <sub>3</sub>	27
Figura 3.4	Cromatograma de una agente derivatizante bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida BSTFA	28
Figura 3.5	Espectro de masas del Ibuprofeno con bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida BSTFA	28
Figura 3.6	Espectro de masas del Naproxeno con bis-trimetilsilil-N-metiltrifluoroacetanida BSTFA	29
Figura 3.7	Cromatograma de una agente derivatizante tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida MTBSTFA	30
Figura 3.8	Espectro de masa del Ibuprofeno con tert-butildimetilsilil-N-metiltrifluoroacetamida MTBSTFA.	31
Figura 3.9	Espectro de masa del Naproxeno con MTBSTFA	31
Figura 3.10	Efecto del tiempo de reacción en la cantidad relativa de ácido generado sin matriz.	32
Figura 3.11	Efecto del tiempo de reacción en la cantidad relativa de ácido generado con matriz de aguas residuales.	33
Figura 3.12	Efecto de la temperatura de reacción en la cantidad relativa de ácido generado sin matriz.	34
Figura 3.13	Efecto de la temperatura de reacción en la cantidad relativa de ácido generado con matriz de aguas residuales.	35
Figura 3.14	Efecto de el volumen de agente derivatizante de reacción en la cantidad relativa de ácido generado.	36
Figura 3.15	Efecto del volumen del agente derivatizante de reacción en la cantidad relativa de ácido generado con matriz en aguas residuales.	37

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

### Artículos:

- [1] Joan O. Grimalt (2002) **“Los Compuestos orgánicos persistentes en la biosfera: El enemigo global e invisible.”** [http://www.uv.es/metode/anuario2002/128\\_2002.html](http://www.uv.es/metode/anuario2002/128_2002.html), ACCESADA EL 24 DE octubre de 2008. **(1)**
- [2] Oliver A. Jones, John N. Lester and Nick Voulvoulis (2005) **“Pharmaceuticals: a threat to drinking water?”** Trends in Biotechnology A, Vol.23, Nº 163-167. **(3)**
- [3] Damia Barcelo (2003) **“Emerging pollutants in water analysis”** Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, Nº10, XIV-XVI. **(4)**
- [4] Oaks JL, Gilbert M. Virani MZ, Watson RT, Meteyer CU, Rideout BA, Shivaprasad HL, Ahmed S, Chaudhry MJ, Arshad M, Mahmood S, Ali A, Khan AA. (2004) **“Diclofenac residues as the cause of vulture population decline in Pakistan”** Nature A, Vol.427, Nº6975, 596-8. **(5)**
- [5] Karl Fent, Anna A. Weston, Daniel Caminada, (2006) **“Ecotoxicology of human pharmaceuticals”** Environmental Pollution A, Vol.76, Nº2, 122-159. **(6)**
- [6] Susan Jobling, Monique Nolan, Charles R. Tyler, Geoff Brighty, and John P. Sumpter (1998) **“Widespread sexual Disruption in Wild Fish”** Environ Sci. Technol, Vol. 32, Nº0, 2498-2506. **(7)**
- [7] Roman Hirscha, Thomas A. Ternes, Klaus Haberer, Armin Mehlich, Frank Ballwanz, Karl-Ludwig Kratz. (1998) **“Determination of antibiotics in different water compartments via liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry”** Journal of Chromatography A, Vol.815, Nº2,31, 213–223. **(8)**
- [8] Hing-Biu Lee, Thomas E. Peart, M. Lewina Svoboda. (2005) **“Determination of endocrine of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry”** Journal of Chromatography A, Vol.1094, Nº1-2, 122-129. **(9)**
- [9] Rodríguez, J.B Quintana, J. Carpinteiro, A.M. Carro, R.A. Lorenzo, R. Cela (2004) **“Determination of acidic grugs in sewage water by gas Chromatography-mass**

- spectrometry as *ter.-butyldimethylsilyl* derivatives**” Journal of Chromatography A, Vol. 985, N°1-2, 265-274. (10)
- [10] Ettore Zuccato, Davide Calamari, Marco Natangelo, Roberto Fanelli. (2000) **“Presence of therapeutic drugs in the environment”** The Lancet Vol. 355, N°9217, 1789-1790.
- [11] Frank Sacher, Frank Thomas Lange, Heinz-Jürgen Brauch, Iris Blankenhorn (2001) **“Pharmaceuticals in groundwaters Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany”** Journal of Chromatography A, Vol. 938, N°1-2, 199-210.
- [12] J.B. Ellis (2006) **“Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in urban receiving waters”** Environmental Pollution a XX, 1-6.
- [13] John P. Sumpter (1998) **“Xenoendocrine disrupters- environmental impacts”** Toxicology Letters, Vol.102-103, N°0, 337-342.
- [14] M.D. Hernando, M. Mezcuá, A.R. Fernández-Alba, D. Barceló (2006). **“Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments”** Talanta A, Vol.69, N°2, 334-342.
- [15] Thomas A. Ternes<sup>a,\*</sup>, Matthias Bonerz<sup>a</sup>, Nadine Herrmann<sup>a</sup>, Bernhard Teiser<sup>b</sup>, Henrik Rasmus Andersen<sup>c</sup>.(2007) **“Irrigation of treated wastewater I Braunschweig, Germany An option to remove pharmaceuticals and musk fragrances”** Chemosphere, Vol.66, N°5, 894-904.
- [16] Bullentin 909A **“Guide to Derivatizaciones reagents for GC”** SUPELCO.
- [17] Thomas A. Ternes **“Occurrence of Drugs in German Sewage Treatment Plants and Rivers”** Water Research, Vol 32, N°11, 3245-3260.
- [18] Sergei S. Verenitch, Christopher J. Lowe, Asit Mazumder (2003) **“Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry”** Journal of Chromatography A, Vol. 1116, N°1-2, 193-203.
- [19] Richard Gibson, Elías Becerril Bravo, Vanessa Silva Castro, Blanca Jiménez.(2007) **“Determination of pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry”** Journal of Chromatography A, Vol. 1169, N°3, 31-39.

- [20] V. Koutsouba, Th. Herberer, B. Fuhrmann, K. Schmidt-Baumler, D. Tsiipi, A. Hiskia (2003) **“Determination of polar pharmaceuticals in sewage water of Greece by gas chromatography-mass spectrometry”** Chemosphere, Vol. 51,N°2, 69-75.
- [21] Glen R. Boyd, Helge Reemtsma, Deborah A. Grimm, Siddhartha Mitra. (2003) **“Pharmaceutical and personal care products (PPCPs) in surface and treated wastwers of Louisiana, USA and Ontario, Canada”** The Science of the Total Environment, Vol. 311, N°1 -3, 135-149.
- [22] Sergei S. Verenitch, Christopher J. Lowe, Asit Mazumder (2006) **“Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography–ion trap tandem mass spectrometry”** Journal of Chromatography A, Vol. 1116, N°1-2, 193-203.
- [23] Adriano Joss, Sebastian Zabczynski, Anke Göbel, Burkhard Hoffmann, Dirk Löffler, Christa S. McArdell, Thomas A. Ternes, Angela Thomsen, Hansruedi Siegrist (2006) **“Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification scheme”** Water Research, Vol. 40, N°8, 1686-1696.
- [24] E. Eljarrat, D. Barceló (2003) **“Priority lists for persistent organic pollutants and emerging contaminants based on their relative toxic potency in environmental samples”** TrAC Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, N°10, 655-665.
- [25] Mira Petrović, Susana Gonzalez, Damià Barceló (2003) **“Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water”** TrAC Trends in Analytical Chemistry, Vol. 22, N°10, 685-696.
- [26] Damià Barceló (2003) **“Emerging pollutants in water analysis”** *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 22, N°10, xiv-xvi.
- [27] Index (2000) **“GC Derivatization Reagent Procedures”** Technologies.

**Libros:**

- (1) Daniel C. Harris (2001). “**Cromatografía de Gases**”. En: **Analisis Químico cuantitativo**. Iberoamericana México.
- (2) Carlos S. Pérez Martínez(1997) “ **Espectrometría de masas**” Instituto Politécnico Nacional (México), Ministerio de Educación Superior (Cuba).Cepes México-Cuba.
- (3) Hobart H. Willard “**Instrumental Methods of Analysis**” Seventh England.

**Internet:**

- (1) [http://es.wikipedia.org/wiki/Rachel\\_Carson](http://es.wikipedia.org/wiki/Rachel_Carson) ACCESADA EL 25 DE Octubre de 2008.(2)
- (2) [http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido\\_salic%C3%ADico](http://es.wikipedia.org/wiki/%C3%81cido_salic%C3%ADico) ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (3) <http://www.chemindustry.com/chemicals/534871.html> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (4) <http://es.wikipedia.org/wiki/Diclofenac> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (5) <http://es.wikipedia.org/wiki/Gemfibrozil> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (6) <http://es.wikipedia.org/wiki/Advil> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (7) [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Ketoprofeno.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Ketoprofeno.htm) ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (8) <http://es.wikipedia.org/wiki/Aleve> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (9) <http://es.wikipedia.org/wiki/2,4-D> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008.
- (10) <http://www.biol.unlp.edu.ar/toxicologia/seminario/parte2/imagenes/plagicidas.gif> imágenes ACCESADA EL 10 DE Marzo de 2009.
- (11) <http://www.decoesfera.com> imágenes ACCESADA EL 10 DE Marzo de 2009.



- (12) <http://www.taringa.net> imágenes ACCESADA EL 10 DE Marzo de 2009.
- (13) <http://www.galeno21.com/INDICE%20FARMACOLOGICO/CLOFIBRATO/CLOFIBRATO.htm> ACCESADA EL 18 DE Septiembre de 2008