



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ANÁLISIS DE CONTAMINANTES EMERGENTES
EN AGUA DE PORO DE SEDIMENTOS EN EL
ÁREA PROTEGIDA DE XOCHIMILCO”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

DIEGO ALBERTO RUÍZ MEZA



MÉXICO, CDMX

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: FRANCISCO ROJO CALLEJAS
VOCAL: JOSEFINA ELIZALDE TORRES
SECRETARIO: CLAUDIA A PONCE DE LEON HILL
1er. SUPLENTE: SILVIA CITLALLI GAMA GONZALEZ
2° SUPLENTE: PATRICIA DIAZ ARISTA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**UNIDAD DE ANÁLISIS AMBIENTAL (UNAAM)
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM
CIUDAD UNIVERSITARIA**

ASESOR DEL TEMA:

Dra. CLAUDIA A PONCE DE LEON HILL

SUPERVISOR TÉCNICO (Si lo hay):

M. en C. MANUEL HERNANDEZ QUIROZ

SUSTENTANTE (S):

DIEGO ALBERTO RUÍZ MEZA

*UNA TORMENTA DERRIBÓ A UN AVE EN EL CIELO,
CAYÓ AL SUELO Y SUS ALAS SE ROMPIERON Y MURIERON,
PERO PASÓ EL TIEMPO, VOLVIÓ AL CIELO ELEVADO,
PORQUE LAS ALAS SANARON A SU TIEMPO,
Y EL PÁJARO ERA YO...*

JARI MÄENPÄÄ

AGRADECIMIENTOS

ESTA TESIS ES PRODUCTO DE UN GRAN ESFUERZO, DONDE A PESAR DE LOS DIFERENTES OBSTÁCULOS E INCONTABLES TROPIEZOS, LA PERSEVERANCIA Y LA PACIENCIA FUERON LAS BASES PARA ALCANZAR ESTA META, PERO COMO EN TODO CAMINO E IGUAL DE IMPORTANTE QUE EL FINAL, ESTUVIERON PRESENTES VARIAS PERSONAS A QUIENES AGRADEZCO ME ACOMPAÑARON Y ME APOYARON A SEGUIR EN ESTE CAMINO.

A MI PADRE CELSO RUÍZ POR EL APOYO, COMPRENSIÓN, SACRIFICIO Y LAS ENSEÑANZAS DADAS. GRACIAS POR SIEMPRE INSISTIR Y DARME LA OPORTUNIDAD DE TOMAR MIS PROPIAS DECISIONES. SOBRE TODO POR CREER EN MI AÚN CUANDO YO NO PODÍA HACERLO.

A MI MADRE BERTHA MEZA QUIEN SIEMPRE ME APOYO INCONDICIONALMENTE EN TODAS MIS DECISIONES. SIEMPRE HACIENDO LO POSIBLE POR MOSTRARME TODAS LAS OPCIONES QUE TENIA PARA SEGUIR ADELANTE Y NO DETENERME POR MIS MIEDOS.

A MIS HERMANOS CELSO RUÍZ Y BERTHA RUÍZ, MIS COMPAÑEROS DE TODA LA VIDA, LES AGRADEZCO EL SIEMPRE ESTAR AHÍ, SER PARTE DE ESA MOTIVACIÓN Y ESE CARIÑO QUE ME LLENA DE FELICIDAD AL VERLOS Y COMPARTIR TODOS ESOS MOMENTOS TAN ESPECIALES JUNTOS, LOS AMO.

DRA. CLAUDIA PONCE DE LEÓN, MIL GRACIAS POR EL APOYO ANTES, DURANTE Y DESPUÉS DE ESTE PROYECTO. GRACIAS POR LA PACIENCIA Y EL TIEMPO DEDICADO, SIN OLVIDAR LAS ENSEÑANZAS Y TODAS LAS OPORTUNIDADES QUE ME BRINDO PARA AFERRARME AL TERMINO DE ESTE TRABAJO. NO TENGO COMO AGRADECERLE LA CONFIANZA Y EL CONSTANTE APOYO A ESTE “HOMBRE DE POCA FE”, GRACIAS POR ACEPTARME Y ACONSEJARME HASTA EL FINAL.

A MI JURADO, DRA. JOSEFINA ELIZALDE Y M. EN C. FRANCISCO ROJO. INFINITAS GRACIAS POR SU TIEMPO DEDICADO Y POR DAR FORMA A LO QUE ES ESTE TRABAJO.

M. EN C. MANUEL HERNÁNDEZ, GRACIAS POR PERMITIRME FORMAR PARTE DEL EQUIPO, POR EL APRENDIZAJE TANTO EN EL LABORATORIO COMO EN EL TRABAJO DE CAMPO, POR LA CONFIANZA Y LA PACIENCIA, GRACIAS INFINITAS POR DARLE ESE PUNTO FINAL A ESTE TRABAJO. ESPERO ALGÚN DÍA TERMINAR DE PAGAR TODO TU APOYO Y TU AMISTAD... TAMBIÉN ESPERO “EL NIÑITO” YA SE HAYA GANADO SU Q, SU F Y SU B, MIL GRACIAS MANUEL.

GRACIAS INFINITAS A MIS COMPAÑEROS, COLEGAS, CÓMPLICES Y AMIGOS DE LA UNIDAD DE ANÁLISIS AMBIENTAL: HORACIO “EL NIÑO INQUIETO”, GIOVANNI “EL NIÑOTE”. DESDE EL TRABAJO DE LABORATORIO, LOS TRABAJOS DE CAMPO, LAS SALIDAS A COMER Y POR TODOS LOS BUENOS RATOS, EL APRENDIZAJE Y LA MOTIVACIÓN. MIL GRACIAS POR PERMITIRME CONOCERLOS Y COMPARTIR ESTA ETAPA DE MI VIDA CON USTEDES.

MIL GRACIAS A CONOCIDOS Y NUEVOS CONOCIDOS: RICARDO RAMÍREZ, OMAR HEREDIA, DULCE (YOS), LUPITA (VETERINARIA) Y PAMELA CHÁVEZ. POR SU APOYO, PLÁTICAS, COMPAÑÍA Y EXPERIENCIAS COMPARTIDAS, GRACIAS POR BRINDARME ESA AMISTAD CON LA QUE USTEDES SIN SABERLO, ME AYUDARON A MADURAR Y CRECER COMO PERSONA.

A TODOS LOS AMIGOS(AS) Y COMPAÑEROS(AS) QUE SE PRESENTARON DURANTE TODO ESTE CAMINO EN LA CARRERA EN LA FACULTAD DE QUÍMICA. GRACIAS POR LA COMPAÑÍA, LA AMISTAD, EL COMPAÑERISMO, GRACIAS POR LOS INCONTABLES MOMENTOS AGRADABLES Y DIVERTIDOS.

Y POR ÚLTIMO GRACIAS A LA MÁXIMA CASA DE ESTUDIOS, LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. POR DARMÉ LA OPORTUNIDAD DE DESARROLLARME Y CRECER PROFESIONALMENTE EN LA FACULTAD DE QUÍMICA Y BRINDARME TODOS LOS CONOCIMIENTOS NECESARIOS PARA EJERCER MI PROFESIÓN.

¡MÉXICO, PUMAS, UNIVERSIDAD!

DIEGO ALBERTO RUÍZ MEZA, MAYO 2016

Indice

Abreviaturas.....	iv
1. Resumen	1
2. Marco teórico	4
2.1. Antecedentes	4
2.1.1. Predecesores en el impacto ambiental.....	6
2.2. Contaminantes emergentes	9
2.3. Legislaciones sobre los contaminantes emergentes	13
2.3.1. Países del Primer mundo.....	13
2.3.2. Estrategias contra la contaminación de emergentes en Europa.....	16
2.3.3. México y Latinoamérica	18
2.4. Efectos de los contaminantes emergentes sobre los organismos.....	19
2.4.1. Interacción de los contaminantes emergentes.....	19
2.4.2. Efectos sobre el ser humano	23
2.5. Efectos sobre el medio ambiente	26
2.6. Agua de poro en sedimentos como matriz ambiental.....	31
2.6.1. Importancia del agua de poro.....	32
2.6.2. Obtención del agua de poro	33
2.7. Métodos de análisis de los contaminantes emergentes	35
2.8. Estudio de contaminantes emergentes en México.....	39
2.9. Selección de los compuestos de estudio.....	43
2.10. Área de Estudio.....	44
2.10.1. Características de la zona de estudio.....	45
2.10.2. Localización	47
2.10.3. Clima	49
2.10.4. Edafología.....	49
2.10.5. Hidrografía	49
3. Objetivos	51
3.1. Objetivos Particulares	51
4. Metodología.....	52

4.1.	Extracción de contaminantes emergentes	54
4.2.	Derivatización.....	54
5.	Reactivos y materiales.....	58
5.1.	Reactivos:.....	58
5.2.	Estándares: Contaminantes emergentes	59
5.3.	Material:	63
5.4.	Equipos e instrumentos	63
6.	Muestreo.....	64
7.	Trabajo Experimental.....	65
7.1.	Preparación de la soluciones	65
7.1.1.	Solución Stock.....	65
7.1.2.	Dilución de contaminantes emergentes	66
7.1.3.	Derivatización de la mezcla	69
7.1.4.	Curvas de Calibración para la validación del método	69
8.	Preparación de las muestras	72
8.1.	Extracción en fase inversa.	74
8.2.	Acondicionamiento de la fase solida	76
8.3.	Etapas de carga de muestra	77
8.4.	Elución de los contaminantes emergentes.....	79
8.4.1.	Elución del FA.....	79
8.4.2.	Elución de los DE's	80
8.5.	Derivatización de las fracciones.....	81
9.	Análisis cromatográfico.....	82
10.	Ensayos previos	84
10.1.	Selección de solvente o mezcla de solventes.....	85
10.2.	Condiciones cromatográficas	88
10.2.1.	Modo SCAN.....	88
10.2.2.	Modo SIM	90
10.3.	Ensayos de derivatización	91
11.	Validación del método	96

11.1.	Precisión/Repetibilidad.....	97
11.1.1.	Repetibilidad del sistema CG-MS.....	97
11.1.2.	Repetibilidad del método.....	101
11.2.	Exactitud.....	104
11.3.	Límite de detección/Sensibilidad.....	105
11.4.	Selectividad y especificidad del método.....	107
11.5.	Efectos de matriz.....	111
12.	Resultados y análisis.....	114
13.	Estudio de muestras de agua de poro de la zona chinampera de Xochimilco	114
13.1.	Parámetros fisicoquímicos.....	114
13.2.	Curvas de calibración para muestras de agua de poro.....	116
13.3.	Estudios de materia orgánica en sedimento en Xochimilco.....	122
14.	Conclusiones.....	125
15.	Bibliografía	128

Abreviaturas

CAP	Productos químicos aromáticos policíclicos
CDER	Center for Drug Evaluation and Research
CHMP	Medicinal Products for Veterinary Use
COP	Contaminantes Orgánicos Persistentes
DDT	Dicloro difenil tricloroetano
DE's	Disruptores endócrinos
ECD	Detector de Captura de electrones
ECETOC	European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals
EDSTAC	Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee
EPA	Agencia de protección ambiental
FA	Fármacos ácidos
GC	Cromatografía de gases
HCB	Hexaclorobenceno
HPC	Compuestos Fenólicos Halogenados
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia
MAE	Extracción con Solvente Asistida con Microondas
MS	Espectrometría de masas
Non-HPC	Compuestos Fenólicos no Halogenados
NPD	Detector de Nitrógeno-fósforo
PA	Productos farmacéuticos
PBB	polibromobifenilos
PCB	Bifenilos policlorados
PCDD	dibenzo-p-dioxinas
PCDF	policloro-dibenzofuranos
WHO	World Health Organization

1. Resumen

Los contaminantes emergentes son un tipo de contaminantes que tiene distinto tipo de origen y naturaleza química, los cuales se les llama emergentes al ser “previamente desconocidos” o “todavía no reconocidos” que se encuentran fuera de algún tipo de legislación o regulación por su constante uso o desecho, algunos ejemplos de estos compuestos son: Surfactantes, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, aditivos, retardantes de fuego, antisépticos, aditivos industriales, esteroides, ftalatos, hormonas, entre otros.

Estos compuestos han llamado la atención de las autoridades en los últimos años al representar un riesgo para la salud por sus características como agentes químicos hormonalmente activos y estar dentro del grupo de los compuestos llamados disruptores endocrinos (DE's).

La constante y cada vez más frecuente presencia de estos en las diferentes matrices ambientales ha sido una clara señal del alcance de estos compuestos, siendo la de los cuerpos de agua dulce la de mayor alarma donde a pesar de los procesos con los que operan las plantas de tratamiento de aguas residuales, especialmente los de tipo biológico, son ineficientes en la remoción de estas sustancias.

El aumento de la incidencia y la falta de regulación de este grupo de contaminantes conllevan a la magnificación, acumulación y a la probable exposición de éstos con consecuencias que aún no son bien comprendidas.

A pesar de esto, existen varios estudios, en diferentes partes del mundo, que han demostrado que estos compuestos y sus metabolitos resultan perjudiciales para la vida silvestre y humana (Colborn 1993; Patlak 1996; Colborn 1997; Buser 1999; Daughton 2004; Sumpter 2005; Andrade-Ribeiro 2006; Fent 2006; Becerril 2009; Stuart 2012; Elika 2013; Fernández 2014).

En estos estudios se demuestran las características de persistencia y bioacumulación, además de afecciones a diferentes niveles en la salud, dando señal de peligro por su interacción con organismos biológicos.

Varios de estos estudios son realizados con técnicas analíticas especializadas como son la cromatografía de gases (GC, por sus siglas en ingles) y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en ingles), acoplados a diferentes detectores del tipo selectivos como son: Detector de captura de electrones (ECD), Detector de nitrógeno-fosforo (NPD) o universales como la espectrometría de masas (MS).

En su mayoría, estos análisis enfatizan en la preparación de las muestras antes del análisis cromatográfico como de aspecto primordial y de gran importancia, esto por aquellas interferencias y dificultades que se pueden presentar durante la obtención, tratamiento y cuantificación de este tipo de contaminantes, las cuales al ser evitadas pueden brindar datos confiables y un método efectivo para el correcto análisis de estos compuestos.

Dada la importancia, el riesgo y el impacto ambiental de este tipo de compuestos, es importante un buen método y análisis de todas estas dificultades en el estudio de los contaminantes emergentes, lo que hace que trabajos en el análisis químico de estos en distintas matrices ambientales sea de gran importancia.

El presente trabajo propone la implementación y desarrollo de una técnica analítica para el análisis de 4 contaminantes emergentes representativos de las familias de los antibióticos, aromatizantes, farmacéutico y hormonales en una matriz de gran importancia como es el agua de poro de sedimentos; y en particular de la zona de Xochimilco que es una matriz ambiental compleja por su alto contenido de materia orgánica y por la gran cantidad de compuestos presentes.

2. Marco teórico

2.1. Antecedentes

A comienzos de los años 60, Rachel Carson (Carson 1962) dio la voz de alarma de que ciertos productos químicos industriales usados para control de plagas (Figura 1), tenían la capacidad de afectar los organismos de manera prolongada y hacer presentes padecimientos a las generaciones posteriores (Fisher 1999).



Figura 1. Libro de Rachel Carson publicado el 27 de septiembre de 1962 que advertía de los efectos perjudiciales de los pesticidas en el medio ambiente donde adjudicaba a la industria química el crecimiento en la contaminación.

Siendo considerado uno de los libros de divulgación científica más influyentes en el ámbito ecologista, también consiguió la movilización de diversas instituciones agrícolas y gubernamentales para aplicar políticas pertinentes al manejo de diversas sustancias que influyen en el impacto ambiental.

A partir de esto se ha observado con mayor frecuencia la problemática ocasionada por la toxicidad de compuestos químicos; algunos de ellos con propiedades preocupantes como DE's que son capaces de alterar el equilibrio hormonal de un organismo, dando como resultado el aumento en poblaciones con diferentes afecciones como es el cáncer y alteraciones como endometriosis, enfermedad de la tiroides y del sistema reproductor, disminución de la fertilidad, defectos durante el embarazo y en el nacimiento, alteraciones en el sistema inmune, alteraciones en el sistema nervioso y comportamiento psicológico entre otros.

Varios de estos padecimientos han sido descritos en el pasado y pueden ser considerados como predecesores al impacto ambiental por este tipo de compuestos, los cuales con el pasar de los años han demostrado la falta de interés y la creciente gama de enfermedades y problemas asociados a los contaminantes emergentes.

2.1.1. Predecesores en el impacto ambiental

Algunos de los hechos históricos relevantes de estos contaminantes, incluyendo la síntesis de compuestos que a la larga se ha demostrado su efecto nocivo en el ambiente, se enlistan a continuación.

- 1828. El científico alemán Friedrich Wöhler, logra sintetiza el primer químico orgánico a partir de uno inorgánico (cosa que se consideraba imposible por la llamada teoría “vitalista”), la urea, obtenido del cianato amónico, aunque anteriormente sintetizó el oxalato de antimonio.
- 1929. La multinacional Monsanto comercializa diversos tipos de bifenilos policlorados (PCBs) del tipo herbicidas, insecticidas y transgénicos, algunos con capacidad disruptora hormonal y en 1981 se une a la investigación científica biotecnológica.
- 1962-1971. El descubrimiento y el uso de los herbicidas modernos 2,4-D y 2, 4, 5-T, antecesores de armas químicas (agente naranja contaminado con dioxinas) donde se demostraron los efectos negativos para la salud y los daños ecológicos graves antes, durante y después de la guerra.

-
-
- 1939. Se demuestra que el desarrollo sexual de ratones es bloqueado por la exposición a estrógenos sintéticos.
 - 1940. Ya se tenían estudios de la masculinización de algunas especies expuestas a la testosterona.
 - 1943. Investigaciones secretas sobre herbicidas como armas de guerra.
 - 1947. Se comercializa el dicloro difenil tricloroetano (DDT) que se prohibiría posteriormente en 1972.

En 1969 se encontró DDT presente en leche materna humana donde se presentaban problemas neonatales (Khera 1969).

En 1970 (Ratcliffe 1970) se reportan alteraciones en aves donde se presentaba un adelgazamiento de las cáscaras de los huevos ocasionando el fracaso reproductivo. Se observó que el 80% de las crías de gaviotas argéneas de Lago Ontario, en Canadá, morían antes de salir del huevo y presentaban deformidades muy similares a los observados en otros tratados con dioxinas en estudios de toxicidad.

A finales de los 80's, en el Lago Apopka de Florida se nota que el 60% de los caimanes machos presentaban anomalías genitales del tipo feminizados (Woodward 1993), además de que en hembras se presentaban el doble del nivel de estrógeno en sangre.

Ya para 1992 un estudio realizado en hombres de París (Auger 1995) muestra el aumento en la incidencia de cáncer testicular, el aumento en anomalías en espermatozoides y disminución en su recuento.

2.2. Contaminantes emergentes

Son un grupo de compuestos que actualmente han tenido mucho impacto en los estudios de contaminación ambiental a causa de su presencia extendida y cada vez más constante en sistemas ambientales y en aquellos organismos que entran en contacto con ellos.

Se les llama “contaminantes emergentes” por su reciente identificación en diferentes estudios, aun cuando su presencia en el ambiente no es nueva, y se han considerado de gran importancia por su impacto en el ambiente y la salud humana (Daughton 2004).

Una característica de los contaminantes emergentes es su continuo influjo en el ambiente, esto a partir de su presencia en un sinfín de productos comunes en la sociedad y su consecuente deshecho el cual beneficia su propagación y por tanto les permite mayor alcance para lograr efectos negativos sobre los ecosistemas y la salud humana.

Algunos de estos contaminantes emergentes son especialmente riesgosos por sus características como agentes químicos hormonalmente activos (Colborn 1993; Desbrow 1998; Fisher 1999; Durham 2002; Sumpter 2005) y por tanto estar dentro del grupo de los DE's.

Su presencia en las diferentes matrices ambientales es una clara señal del alcance de estos compuestos a pesar de los procesos de tratamiento de aguas residuales. (Castro 2008; Morales 2008; Díaz 2009; Durán 2009; García 2011; Estrada 2011 ; Sánchez 2012; Torres 2012; Bouki 2013; Clemente 2013; Durán 2013; Ruíz 2013).

Su ineficiente remoción conlleva al aumento en la exposición de estos contaminantes, a su acumulación y magnificación.

Este tipo de compuestos incluyen productos farmacéuticos, compuestos químicos provenientes de los productos de cuidado personal (PCPs), productos de plásticos (Bisfenoles y Ftalatos), surfactantes, compuestos aromáticos, aditivos industriales, además de compuestos estrogénicos como hormonas entre otros mencionados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación de los contaminantes emergentes (Elika 2013)

Clasificación	Ejemplos específicos
Productos químicos halogenados	
Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs)	PCDD/PCDF, PCB, HCB, el PFOS, PBDE, PBB, clordano, mirex, toxafeno, DDT/DDE, lindano, endosulfán
Otras sustancias químicas persistentes y bioacumulables	HBCD, SCCP, PFCAs, octacloroestireno, PCB metilsulfonas
Plastificantes y otros aditivos, en los materiales y productos	Ésteres de ftalato (DEHP, BBP y DBP, DINP) fostato de trifenilo, bis (2-etilhexil)adipato, n-butil-benceno, triclocarbán, hidroxianisolbutilado
Productos químicos aromáticos policíclicos (CAPs), incluyendo HAPs	El benzo (a) pireno, benzo (a) antraceno, pireno, antraceno
Compuestos Fenólicos Halogenados (HPCs)	2, 4-diclorofenol, pentaclorofenol, hidroxí-PCB, hidroxí-PBDEs, tetrabromobisfenol A, 2, 4, 6-Triromofenol, Triclosán
Compuestos Fenólicos no Halogenados (Non-HPC)	El bisfenol A, bisfenol F, Bisfenol S, nonilfenol, octilfenol, Resorcinol

Continuación tabla 1. Clasificación de los contaminantes emergentes (Elika 2013).

Clasificación	Ejemplos específicos
Plaguicidas, productos farmacéuticos y productos de cuidado personal	
Plaguicidas	2, 4-D, atrazina, carbaril, Malatión, Mancozeb, Vinclozolin, Procloraz, procimidona, clorpirifós, fenitrotión, Linurón
Producto farmacéutico, promotores de crecimiento e ingredientes de productos de cuidado personal	Con acción endocrina (dietilestilbestrol, etinilestradiol, Tamoxifeno, Levonorgestrel), inhibidores selectivos de la recaptación de Serotonina, Flutamida, 4-metilbenciliden alcanfor, Octil-metoxicinamato, parbenos, 3-bencilidenlcanfor
Metales y productos químicos organometálicos	El arsénico, el cadmio, el plomo, el mercurio, el metilmercurio, tributilestaño, trifenilestaño
Hormonas naturales	17 β -estradiol, testosterona, estrona
Los fitoestrógenos	Isoflavonas (genisteína, daidzeína), cumestanos (coumestrol), Micotoxinas (zearalenona), prenilflavonoides (8-prenilnaringenina)

2.3. Legislaciones sobre los contaminantes emergentes

2.3.1. Países del Primer mundo.

En 1996 la agencia de protección ambiental EPA (EPA 2001), por sus siglas en inglés, implementó en EUA estrategias para el seguimiento continuo de aquellos compuestos causantes de alteraciones endocrinas (Patlak 1996); y con el objetivo de desarrollar metodologías para evaluar los posibles daños y emitir restricciones y alertas en el uso, consumo y tratamiento de estos compuestos, se crea el Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC).

A partir de éstos estudios se trabajó en la determinación de su presencia en el ambiente y en los organismos, su destino, los efectos y los riesgos, además de su constante regulación por parte de organizaciones internacionales (Boxall 2012) como el CDER (Center for Drug Evaluation and Research, 1998), el CHMP (Committee for Medicinal Products for Human Use, 2006), el CVMP (Committee for Medicinal Products for Veterinary Use, 2000), el ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, 2008) y el WHO (World Health Organization, 2011).

En el caso de Europa algunos de los registros de legislación más específicos mencionados por el Diario de la Unión Europea (Elika 2013) para estos compuestos son:

Productos químicos, Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo (Diario Oficial de la Unión Europea 2007), relativo al registro, la evaluación, autorización y restricción de las sustancias y preparados químicos. Sustancias identificadas como DE's son tratadas como sustancias de especial preocupación y están sujetas a autorización.

Plaguicidas, Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo (Diario Oficial de la Unión Europea 2009), relativo a la comercialización de productos fitosanitarios. Sustancias consideradas como DE's que puedan ser perjudiciales para el hombre o algún organismo que no estén destinados a combatir, no podrán ser autorizadas. Sin embargo, podrán ser autorizados si la exposición es insignificante, siempre y cuando se sigan las condiciones de uso adecuadas, o si la sustancia es necesaria para controlar un riesgo fitosanitario grave, que no pueda controlarse por otros medios disponibles, incluidos métodos no químicos.

Biocidas, Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo (Diario Oficial de la Unión Europea 2012), relativo a la comercialización y el uso de los biocidas. Sustancias consideradas como DE's no podrán ser aprobadas.

Sin embargo, la no aprobación no es aplicada si el riesgo para el ser humano y el medio ambiente es insignificante, si la sustancia es imprescindible para combatir un riesgo grave para la salud, o si la no aprobación produjera unos efectos negativos desproporcionados para la sociedad en la relación de los riesgos para los seres humanos y el medio ambiente.

Cosméticos, Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo (Diario Oficial de la Unión Europea 2009) sobre los productos cosméticos. El uso de estos componentes no está restringido en este ámbito, sin embargo, esta decisión será reevaluada cuando la Unión Europea o la comunidad internacional acuerden criterios para la identificación de estos DE's.

Calidad del agua, Directiva del Consejo Europeo 200/60/CE (Diario Oficial de la Unión Europea 2000) que establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de agua además de establecer una estrategia de lucha contra la contaminación de las aguas superficiales por los contaminantes químicos y otras sustancias de especial relevancia en la Unión Europea, incluyendo algunos potenciales disruptores endocrinos.

En 2012, la Comisión propuso modificar la lista de sustancias prioritarias. Aunque no se hace referencia directa, los DE's podrían convertirse en un importante criterio para la clasificación de sustancias o grupos de sustancias en este listado.

2.3.2. Estrategias contra la contaminación de emergentes en Europa

En 1999 la Comisión Europea publicó la estrategia Comunitaria en materia de alteradores endocrinos (Romano 2012), que estableció las normas para actuar a corto, medio y largo plazo para hacer frente a los riesgos para la salud y el medio ambiente ocasionados por estos.

La estrategia incluye:

A corto plazo, la recopilación de información para desarrollar las acciones a medio y largo plazo y la identificación de los vacíos de conocimiento sobre los disruptores endocrinos: establecimiento de una lista prioritaria con capacidad disruptora, medición de niveles ambientales en alimentos y medio ambiente, identificación de grupos de poblaciones vulnerables, creación de una red internacional para el intercambio de información y comunicación a la población y consulta.

A medio plazo, acciones que se centran en el desarrollo de métodos de identificación y la coordinación y financiamiento de investigación para entender los mecanismos de acción y sus efectos sobre la salud y el medio ambiente.

A largo plazo, para abordar la necesidad de actualizar, enmendar o adaptar los instrumentos normativos existentes para la protección de la salud y el medio ambiente.

Otras legislaciones presentes son la del Reglamento de REACH para las sustancias con propiedades de disrupción endocrina sujetas al proceso de autorización según el artículo 57f de la Agencia Europea de Sustancias Químicas (ECHA), el reglamento de comercialización de plaguicidas que prohíbe el uso de disruptores endocrinos, Reglamento de Biocidas y el del Bisfenol-A (ISTAS 2002).

2.3.3. México y Latinoamérica

Actualmente en México se ha ampliado el estudio de estos compuestos en diferentes regiones con el fin de evaluar el alcance de estos contaminantes en el medio ambiente en las diferentes matrices como son suelo, sedimento y agua, sin embargo aun es poca la información de estos compuestos y sus efectos sobre la salud en México, esto denota la necesidad de estudios como el de este proyecto de tesis para lograr una concientización en el riesgo que representan.

En México son pocos los reportes de estos compuestos (Mazari 1996; Jiménez 2004; Jiménez 2007; Castro 2008; Morales 2008; Oropesa 2008; Siemens 2008; Díaz 2009; Durán 2009; Acosta 2010; Medina 2010; García 2011; Estrada 2011 ; Sánchez 2012; Torres 2012; Durán 2013; Ruíz 2013; Morales 2014) y la causa principal de esto es la falta en la legislación y en la concientización del destino final de estos, como son las descargas de agua residual municipal consideradas las principales fuentes de liberación, donde llegan al sistema de alcantarillado y a las plantas de tratamiento donde su remoción y biodegradación no es completa.

2.4. Efectos de los contaminantes emergentes sobre los organismos

2.4.1. Interacción de los contaminantes emergentes

Disruptores Endócrinos (DE's)

Dentro de los contaminantes emergentes, uno de los efectos más estudiados y de mayor preocupación es de aquellos compuestos capaces de interaccionar con el sistema endocrino de los organismos, incluyendo al hombre.

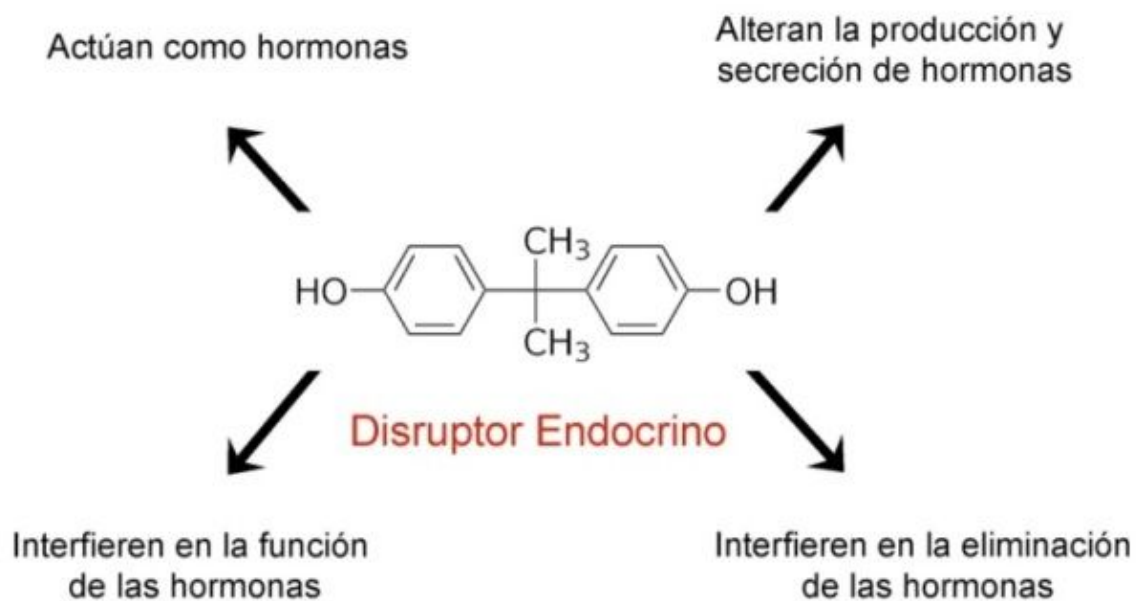
Numerosos estudios han asociado la toxicidad de estos contaminantes en el ser humano y otros organismos y confirman diversas patologías observadas en la salud humana y en distintas especies animales (Andrade-Ribeiro 2006). Estos efectos varían en relación a su tiempo de exposición y bioacumulación dando como resultado efectos como:

- Alteraciones de la función tiroidea.
- Disminución de la fecundidad.
- Disminución de la eficacia en el proceso de incubación.
- Alteraciones en la masculinización y feminización de los productos.
- Alteraciones del sistema inmune.

A pesar del modelo toxicológico clásico en el cual se habla de que la concentración de una sustancia determina los efectos que desencadena, es decir, a mayor concentración son mayores los efectos que se producen, para el caso particular de algunas sustancias, ejercen efectos adversos en bajas y altas concentraciones.

Tal es el caso de los disruptores endocrinos donde los efectos dañinos en los organismos dependen no solo de la concentración, sino también de la facilidad de interaccionar con los procesos metabólicos que se llevan a cabo dentro de los organismos.

Dicho lo anterior, los efectos de estos compuestos se centran en su capacidad de interferir en los mecanismos normales del sistema endocrino de los organismos, afectando la unión hormona a receptor (Figura 2).



.Figura 2. Efectos de los disruptores endocrinos al interferir en los mecanismos normales del sistema endocrino.

De esta manera interfieren principalmente con el funcionamiento de las hormonas esteroideas afectando así la expresión de diversos genes, ocasionando problemas congénitos y otras afecciones genéticas considerables para la salud (Figura 3).

Esta perturbación del sistema hormonal, facilita problemas en la capacidad reproductiva y malformaciones congénitas.

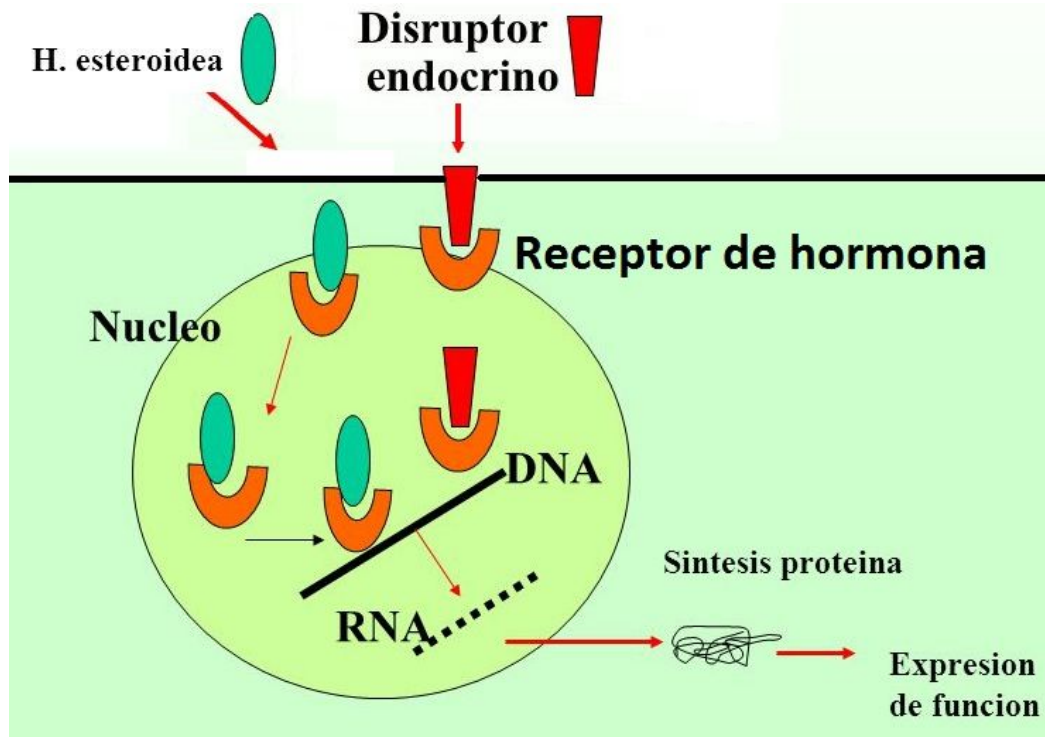


Figura 3. Sitio de acción antagonista de la unión hormona a receptor.

Además gracias a su capacidad de atravesar la barrera placentaria, son aptos para dañar al producto y dar lugar a posteriores problemas en el desarrollo fetal, el crecimiento temprano y la maduración sexual.

Productos Farmacéuticos (PA's)

Los productos farmacéuticos que entran en contacto con los organismos y el medio ambiente, dan paso a efectos similares como al aumento en la frecuencia de anormalidades genitales, problemas en el desarrollo y crecimiento.

Sin embargo, los productos farmacéuticos se conocen principalmente por ser causantes del aumento en la resistencia para algunos microorganismos a diferentes agentes antibióticos y el desequilibrio metabólico por la constante y prolongada exposición a este tipo de compuestos fuera de la dosis terapéutica afectando tanto la efectividad de los medicamentos como el sistema renal y otros órganos blanco de estos compuestos.

2.4.2. Efectos sobre el ser humano

DE's

La manera en la que actúan los DE's, está basada principalmente en 3 mecanismos:

- Como agentes antagonistas hormonales
- Como agentes antagonistas bloqueadores de receptores provocando la disminución de los niveles hormonales
- Como sinergistas dando un incremento en los niveles hormonales

Las afecciones fisiológicas que presentan son:

- Imitar o bloquear la unión hormona- receptor
- Alterar la síntesis, metabolismo, excreción hormonal
- Modificar la proteína de transporte hormonal
- Cambios en los factores de transcripción genética hormono/receptor
- Alterar los niveles de receptor en tejidos específicos, respuestas no genómicas
- Acciones sobre células, organismos, progenie (1^a, 2^a generación) y subpoblaciones.

En la Figura 4.se muestra un esquema de los mecanismos de acción de estas sustancias (ISTAS 2002)

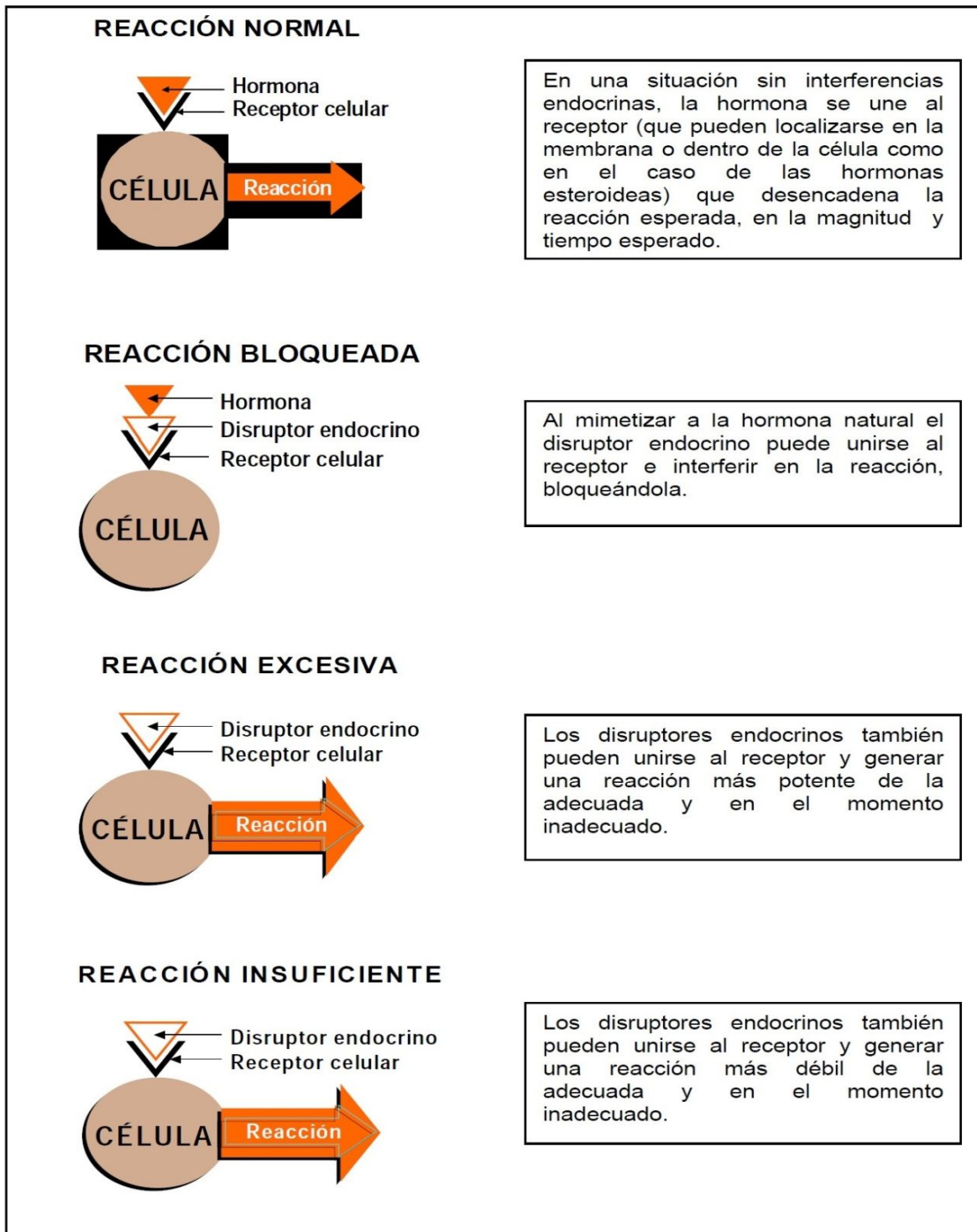


Figura 4. Mecanismos a través de los cuales los DE's interfieren en el funcionamiento hormonal (ISTAS 2002).

PA's

Por el lado de los productos farmacéuticos se tiene una gran cantidad de compuestos que son capaces de llegar a las diferentes matrices ambientales y de esta manera entrar en contacto con los organismos que habitan en ellos (Fent 2006; Hernando 2006; Boxall 2012), esto por la gran cantidad de compuestos aprobados a nivel mundial y la amplia gama de compuestos destinados al consumo humano (terapéutico y profiláctico), tipo hospitalario y también el uso veterinario (terapéutico y profiláctico).

Estos principalmente llevan a la resistencia a antibiótico, al desequilibrio metabólico, a la sensibilización de algunos órganos, a los efectos de fármacos en específico, entre otros (Mojica 2011).

2.5. Efectos sobre el medio ambiente

Los organismos acuáticos se han visto particularmente perjudicados por este tipo de compuestos y especialmente por sus propiedades de disruptor endocrino (Howell 1980; Durham 2002; Zhou 2009), sobre todo en los carnívoros al estar situados el final de la cadena trófica sucesiva, posiblemente siendo este el punto donde se biomagnifican estos compuestos.

Algunos ejemplos de las consecuencias de la bioacumulación de los contaminantes emergentes sobre los organismos acuáticos son:

- Problemas de inmunotoxicidad en ranas, peces y tortugas (Evans 2000; Choi 2004)
- Alteraciones en el proceso de diferenciación sexual o afectación de caracteres sexuales en moluscos (Hill 2003).
- Se tienen reportes de 1994 sobre un alto contenido de compuestos estrogénicos en los efluentes liberados por las plantas de tratamiento en Reino Unido, donde se realiza la identificación de las hormonas 17β -estradiol y estrona además del sintético 17α -etinilestradiol (Desbrow 1998).
- Afecciones a diferentes especies marinas en procesos de reproducción y disminución de población de peces (Colborn 1993; Horiguchi 2006).
- Inducción de disfunción reproductiva por el cloruro de tributilestaño (TBT) en varias especies marinas (Iguchi 2008).

-
-
- Reducción de proceso reproductivo, baja en la calidad del esperma, nacimientos prematuros y problemas de fertilidad en Belugas embarazadas a causa de la presencia de esteres de ftalatos (Burns 1985).
 - Varios estudios describen casos del severo problema ocasionado por el Bisfenol A al ser de los compuestos químicos de mayor demanda y uso en la producción de policarbonatos y resinas epóxicas, resinas de poliestireno y retardantes de flama (Staples 1998; Fromee 2002).

En muchos de los casos no se han hechos estudios altamente detallados de la relación directa con estos compuestos en el desencadenamiento de estos efectos, pero se ha demostrado que las áreas donde han sido realizados estos estudios cuentan con altos niveles de contaminación con contaminantes emergentes.

Con lo anterior se da comienzo a la constante búsqueda de las localidades con mayores concentraciones de estos contaminantes emergentes con el fin de lograr asociar la presencia de estos, la interacción con las matrices ambientales así como su biodisponibilidad para entrar en contacto con otros organismos.

En el caso de los contaminantes del tipo fármaco, se han hecho estudios sobre la concentración del ibuprofeno (Buser 1999) el cual es un medicamento que no requiere de receta médica y la dosis terapéutica utilizada es relativamente alta; sus propiedades fisicoquímicas le permiten tener una gran movilidad en los cuerpos de agua ambiental y de esta manera estar en altas concentraciones junto a otros compuestos farmacéuticos en agua.

Otro tipo de fármacos, los antibióticos, alcanzan el medio ambiente por medio de las aguas residuales, tras su uso terapéutico doméstico donde otras rutas menos relevantes son el desecho no regulado de los residuos domésticos y hospitalarios utilizados, o el vertido de los efluentes directamente de las industrias farmacéuticas.

Los PA's presentes en el medio ambiente, llegan a las plantas de tratamiento de aguas residuales pero no se logra obtener la completa degradación de estos compuestos, llevando a su posterior acumulación en el ambiente (Hernando 2006).

Esto conlleva un fuerte impacto ambiental pues se trata de sustancias activas y productos medicinales para uso terapéutico en humanos y medicina veterinaria, los cuales llegan a los sistemas de aguas después de su excreción del organismo y se encuentran ya sea en su forma nativa o como metabolito (Fent 2006).

En primera instancia, después de ser metabolizados y excretados finalmente terminan en las plantas de tratamiento de aguas residuales. La cantidad de residuo de antibiótico presente depende de la frecuencia y cantidad de su dosificación, el metabolito excretado, su metabolismo en el organismo y la afinidad del fármaco o sus metabolitos por la materia orgánica presente (Kim 2007).

Posterior al tratamiento de los efluentes, los residuos de antibióticos alcanzan los ríos y demás cuerpos de agua, además de sus sedimentos (Kümmerer 2004; Kümmerer 2009) y a pesar de que su concentración puede llegar a ser muy baja en estos depósitos, muchos de ellos continúan siendo activos, sobre todo los antibióticos.

Durante un largo periodo de tiempo se vierten al medio a bajos niveles de concentración pero de una manera continua por lo que los organismos presentes en el medio ambiente sufren una exposición crónica a este tipo de compuestos.

Se podría adjudicar la aparición de resistencias por parte de diferentes organismos por este tipo de exposición crónica dando como resultado genes de resistencia que contribuyen a la evolución y diseminación de estas resistencias al medio. Diferentes organismos internacionales han alertado sobre el incremento en la aparición de resistencias bacterias a antibióticos (FAO/OIE/WHO 2004).

De igual forma, estos compuestos pueden ejercer sus efectos sobre los organismos en el ambiente, pero su principal problema es la bioacumulación y su posterior excreción (Mojica 2011) y así amplían su alcance a otros ecosistemas.

De este modo, se puede decir que muchos de los animales que se encuentran en contacto con productos farmacéuticos actúan como reservorios de estos fármacos o de sus metabolitos donde pueden ser introducidos en los procesos de agricultura y así también llegar a diferentes matrices ambientales o al consumo humano.

Algunos de los compuestos farmacéuticos con propiedades antibióticas que han sido detectados en agua han sido: tetraciclinas, sulfonamidas y penicilinas, aminoglicósidos, cefalosporinas, macrolidos, fluoroquinolones entre otros (Mojica 2011).

2.6. Agua de poro en sedimentos como matriz ambiental

El agua de poro, también llamada agua intersticial, es el agua que ocupa el espacio entre las partículas del sedimento, la cual está en contacto con éste por largos periodos de tiempo y ocupa por arriba del 50% del volumen en un depósito de sedimento. Varias de las características y propiedades de esta fracción del sedimento representan el grado de contaminación de un área, esto por sus propiedades físico químicas, tiempo de residencia, flujo de partículas, cantidad de materia orgánica, etc. donde a pesar de que el agua intersticial permanece relativamente estática se tiene un equilibrio termodinámico entre los contaminantes del agua intersticial y la fase sólida, haciendo este tipo de matriz ambiental una buena opción para el análisis de niveles de contaminación y toxicidad en suelo (EPA 2001).

Esta matriz ambiental juega un rol muy importante con respecto al destino de los xenobióticos en el ambiente al ser un reflejo del sistema acuático y puede ser un buen método para detectar la presencia de contaminantes que no son solubles en agua.

El agua de poro obtenida de los sedimentos constituye un sumidero de contaminantes y se ha demostrado su utilidad como indicadores de impacto ambiental (Strauch 2008), no solo por su habilidad para acumular metales y compuestos orgánicos, sino también porque pueden ser fuentes de contaminación al liberar dichos contaminantes en el mediano plazo bajo condiciones físico-

químicas cambiantes de pH, potencial redox, temperatura y actividad microbiana entre otras.

2.6.1. Importancia del agua de poro

La importancia de la este tipo de matriz ambiental radica en la identificación de reacciones químicas que tiene lugar durante la interacción agua-roca (EPA 2001), donde el agua de poro es una fracción del sedimento que está formada por una disolución acuosa de sales, iones y una amplia serie de sustancias orgánicas los cuales se transportan a través de este vehículo, pues el agua de poro se considerada el canal de comunicación entre la fase sólida de los sedimentos y la columna de agua sobre él.

Las concentraciones de los compuestos químicos presentes en esta matriz y en la columna de agua no son las mismas a causa de las reacciones diagenéticas de precipitación, procesos de adsorción, formación de sulfuros y degradación de materia orgánica que se llevan a cabo en los sedimentos (Bufflap 1995).

Las partículas tanto de tipo orgánicas como inorgánicas pueden llegar a cambiar su composición química al entrar en contacto con el agua intersticial, produciendo un intercambio de masas y diferencias de concentración en especies químicas entre la fase sólida y el agua.

Como resultado, se tiene que el sedimento tiene la característica de retener contaminantes, además de reducir y eliminar de la columna de agua compuestos tóxicos a los que están expuestos los organismos acuáticos.

Pero los compuestos que se quedan en el agua de poro, se consideran “biodisponibles” para los organismos, de ahí la importancia de detectar los contaminantes no en los sedimentos sino en el agua de poro.

2.6.2. Obtención del agua de poro

Existen características importantes a considerar para tener una buena muestra de sedimento y así obtener una cantidad y calidad de agua intersticial para su estudio, como considerar la capacidad del dispositivo de muestreo en mantener las condiciones físicoquímicas para reducir al mínimo la adsorción y lixiviación de los compuestos, así como el equilibrio redox existente en el sitio.

Se presenta un debate entre dos tipos de métodos de muestreo que pueden ser utilizados: in-situ y ex-situ, ambos métodos cuentan con características particulares en la obtención de muestras de agua intersticial.

El método in-situ es por medio del uso de “peepers”, que son pequeños envases con un sistema donde se filtra el agua al estar dentro del sedimento, esto quiere decir que la obtención del agua de poro es desde el muestreo. Cuenta con la ventaja de una menor interacción entre la muestra y otros materiales para así mantener la integridad química, sin embargo presenta el inconveniente de ser laborioso, de difícil aplicación y una menor obtención de agua de poro por muestra en comparación del ex-situ.

El método ex-situ fue el seleccionado para este estudio por la obtención volúmenes de agua intersticial mayores a partir de tomas de sedimento en el muestreo (esto por dragado), para posteriormente poder aislar el agua intersticial

por métodos físicos (Sarda 1995; Borton 2010) esto quiere decir que la extracción del agua intersticial es en el laboratorio y se requiere de técnicas como la centrifugación y/o la filtración para colectarla (Knezovich 1987; Winger 1991).

EL cuidado de las muestras de sedimento es importante (Carignan 1984), se debe evitar el cambio de oxidación y la volatilización de los compuestos de interés, que se encuentren libres de contaminación externa, cambios en el oxígeno disuelto o cualquier cambio en su estabilidad química.

Por lo anterior, se debe hacer lo posible por mantener las condiciones químicas de las muestras los más estables posibles durante el trayecto al laboratorio, esto por medio de hieleras para su traslado, donde son conservadas a bajas temperaturas durante el trayecto y en el laboratorio (por debajo de 4°C, por no más de 24 horas), se recomienda no llevar a congelación aunque no hay información de que esto afecte a los analitos de interés (EPA 2001).

La elección de este método parte de la idea de obtener una buena cantidad de muestra a partir del sedimento y lograr la mayor concentración posible en los cartuchos de extracción en fase sólida (SPE por sus siglas en inglés), para así tener una buena resolución en la extracción de los analitos que se encuentran en menor concentración.

2.7. Métodos de análisis de los contaminantes emergentes

Varios de los estudios enfocados a este tipo de contaminantes han dado uso a técnicas del tipo cromatográficas, como son la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC), acoplados a diferentes detectores como son: Detector de captura de electrones (ECD), Detector de nitrógeno-fosforo (NPD) y la espectrometría de masas (MS).

En su mayoría, este tipo de análisis enfatizan la preparación de las muestras antes del análisis cromatográfico, ya que gran parte de la obtención de buenos resultados depende mucho de estos pasos previos como son la limpieza en el material de trabajo (Clean up), la concentración del analito, la limpieza de la muestra, extracciones en diferentes fases (esto dependiendo de las propiedades de la muestra), entre otras.

No todas las muestras que pueden ser inyectadas directamente al sistema de cromatografía, en el caso de algunos compuestos es necesario realizar reacciones previas como la derivatización, saponificación, metilación, etc. Esto para que el sistema de detección sea capaz de brindar los datos necesarios para su correcto análisis.

Otro punto importante es la naturaleza de la matriz ambiental, donde los diferentes compuestos emergentes, materia orgánica y propiedades fisicoquímicas de ésta dan paso a la biodisponibilidad, estabilidad e interacción con el medio y los organismos que ahí se presenten y lleguen a tener contacto con este tipo de contaminantes de tipo emergentes (Vanderford 2003).

Con lo anterior se define la importancia en las propiedades de la matriz y su interacción con el analito con el objetivo de un buen nivel de detección.

Estos estudios abordan las determinaciones de contaminación en suelo, lixiviados, aguas residuales, agua potable y agua de manantiales entre otros tipos de matrices ambientales.

Un ejemplo de los esfuerzos para obtener un buen nivel de detección de éstos contaminantes es el método de Rice, 2007, basándose en la técnica de la Extracción con Solvente Asistida con Microondas (MAE) donde se buscó optimizar algunas de las variables críticas mencionadas en las técnicas de diversos estudios reportados en la literatura.

El estudio de Rice resultó ser efectivo en la recuperación de 3 analitos con un 89.6 ± 2.89 % (almizcle, triclosán y estradiol) pero con una baja recuperación para otros 6 analitos del grupo total de compuestos seleccionado 25.0 ± 1.93 % (Ibuprofeno, Cafeína, Difenilhidramina, Naproxeno, ketoprofeno y Epicoprostanol). A pesar de las bajas recuperaciones, los resultados cuentan con una buena reproducibilidad del método, a partir de lo cual se sospecha de la composición de la matriz como

principal causante de las bajas recuperaciones, asegurando así la necesidad de ampliar los estudios sobre este tipo de contaminantes y su interacción con las diferentes matrices de estudio.

En el caso de estudios sobre la biodegradación de este tipo de contaminantes en suelo (Acosta 2010), se han empleado columnas empacadas, donde se trabaja con los lixiviados obtenidos por el paso de aguas adicionadas con los contaminantes a través estas columnas con suelo del Valle del Mezquital en Tula. En este estudio se analizaron 5 contaminantes emergentes (4-nonilfenol, triclosán, diclofenaco, ibuprofeno y naproxeno) con base a sus altas concentraciones reportadas en agua residual, además de su presencia en el agua de manantial.

El estudio muestra al triclosán como el compuesto con mayor remoción (>99%) y el diclofenaco como el de menor remoción (64.8-96.6%) además de que el horizonte con niveles de pH mayor es el más vulnerable a la lixiviación de ácidos farmacéuticos y el de mayor concentración de materia orgánica menor lixiviación. Se describe que los horizontes como tal no afectan la remoción de los compuestos de manera física pero si el contenido de materia orgánica y de arcilla en ellos.

Otro enfoque ha sido el de los compuestos, 4-nonilfenoles, los ftalatos y los bifenilos policlorados en diferentes tipos de suelos donde el promedio de las recuperaciones de analito están en el rango de 73-87 % (Gibson 2005).

El análisis de fármacos en agua de Eagle-Picher, Miami, por cromatografía de líquidos (Vanderford 2006), demuestra ser un método robusto al dar buenos porcentajes de recuperación en agua de diferentes calidades, donde estos

porcentajes se encuentran en rangos entre 88 y 106 % para las aguas residuales , 85 y 108 % para los efluentes de aguas residuales , 72 y 105 % para las aguas superficiales afectadas por las aguas residuales , 96 y 113 % para las aguas superficiales , y el 91 y el 116 % para el agua potable.

Los límites de de detección para los compuestos en el estudio de Vanderford fueron entre 0,25 y 1,0 ng L⁻¹.

En el análisis de Trenholm 2006 en Eagle-Pitcher, Miami, realizado por cromatografía de gases y cromatografía de líquidos demuestra una recuperación con buenos resultados, pero en el caso de los compuestos más volátiles se tiene una recuperación más baja y una mayor variabilidad (alrededor del 30%). En su estudio se describen problemas durante la elusión de los compuestos lo cual lleva a la realización de pruebas para cambio de solvente en la elusión además del uso de adiciones estándar para poder observar algunos de los compuestos.

Sus límites de detección de Trenholm se encuentran reportados entre 0.12 y 7.5 pg L⁻¹.

2.8. Estudio de contaminantes emergentes en México

Recientemente se ha comenzado a ampliar el uso del proceso de tratamiento de aguas residuales municipales con el fin de su rehusó (Jiménez 2004; Jiménez 2007; Estrada 2011 ; Durán 2013; Estrada 2013), así como el mejoramiento en las plantas y métodos de tratamiento como tal, pero la presencia de los compuestos del tipo emergente, farmacéuticos y productos de uso personal con capacidad de DE, ha mostrado su impacto en las diversas investigaciones del tipo ecológico, principalmente en países donde la actividad industrial es relativamente alta, lo cual debe ser una señal de alarma para comenzar ampliar el estudio de estos compuestos en el país.

La causa principal de la presencia de este tipo de contaminantes en los sistemas acuáticos (como se menciona en el punto de contaminantes emergentes) son las descargas de agua residual municipal, siendo las principales fuentes de liberación de estos, sin ningún tratamiento y a causa de la sobrepoblación, estas aguas llegan al sistema de alcantarillado y a las plantas de tratamiento donde su remoción y biodegradación es parcial, dejando trazas en aguas superficiales y suelo.

En México se tiene pocos reportes sobre la presencia de estos compuestos tanto en las aguas residuales como en los efluentes de las plantas de tratamiento de agua residuales, varios de estos se limitan a trabajos de investigación, tesis o artículos de divulgación científica (Mazari 1996; Jiménez 2004; Jiménez 2007;

Castro 2008; Morales 2008; Oropesa 2008; Siemens 2008; Díaz 2009; Durán 2009; Acosta 2010; Medina 2010; García 2011; Estrada 2011 ; Sánchez 2012; Torres 2012; Durán 2013; Ruíz 2013; Morales 2014).

Es un punto muy importante la falta de regulación de este tipo de compuestos pues son productos de uso cotidiano y por ello son constantemente liberados y muy probablemente gracias a su capacidad bioacumulativa y de biomagnificación ser un futuro problema por sus efectos potenciales sobre la salud.

Algunos de los reportes de la presencia de estos contaminantes en diferentes cuerpos de agua en México son:

Durán Alvarez, 2013; Realizó el seguimiento de los contaminantes emergentes presentes en el agua residual que se utiliza en la actividad de riego en el Valle del Mezquital en Tula. Estudió un grupo de 3 compuestos; naproxeno, carbamazepina y triclosán, donde se cuantificó su presencia en agua y suelo, además de realizar un análisis de su movilidad, retención, adsorción, interacción y otras propiedades que estos comparten con las matrices en las que se encuentran retenidos.

Dentro de sus resultados se tiene una concentración inicial en suelo regado con aguas residuales de 3.2 y 0.7 de naproxeno, 4.8 y 1.4 de carbamazepina y 7.7 y 3.1 de triclosán (esto en unidades de $\mu\text{g Kg}^{-1}$, a profundidades de 10 y 40 cm respectivamente).

En agua se tiene los resultados de naproxeno con 6359 en agua residual, 1.0 en agua superficial y 5.2 en agua subterránea, para la carbamazepina se tiene 193 para agua residual, 17.2 para agua superficial y 0.7 para agua subterránea, y por

último para el triclosán se tiene 11401 en agua residual, 1.8 en agua superficial y 1.2 en agua subterránea (en unidades de ng L^{-1} respectivamente).

Jiménez, 2004; En el Emisor Central, el Gran Canal y el Emisor Profundo, zonas donde el agua residual es utilizada para el riego agrícola del valle de Tula. Se estudiaron 18 compuestos orgánicos ácidos y fenólicos durante el 2007 y el 2008 en donde se lograron detectar 14 de ellos, donde de los más importantes fueron el ácido salicílico, los nonilfenoles y el naproxeno por sus altas concentraciones.

De los tres conductos mencionados el Emisor Central es el de mayor aportación con el 70% del total (CONAGUA, 2008) y a pesar de ser factores que contribuyen al crecimiento económico de la región y a la recarga artificial del acuífero local (Rosalino 2000 y 1999) pueden ser los principales emisores de contaminantes emergentes y ocasionar efectos adversos en la salud humana y ecológica (Silva, 2008).

A pesar de contar con el proceso de coagulación-floculación en el tratamiento de agua potable y residual (Rosalino 200, Jimenez 2004, Jimenez 2007), son pocos los estudios sobre su capacidad en la remoción de contaminantes emergentes y los otros métodos no son del todo utilizados por los altos costos (caso de la oxidación avanzada y los proceso de membrana).

Richard Gibson, 2007; la determinación de productos farmacéuticos y DE's en aguas de manantial y aguas residuales, esto en la ciudad de México con un análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Se buscó reducir el tiempo de preparación de la muestra e incrementar la selectividad del método al tratar por separado los contaminantes emergentes en DE's (4-nonilfenoles, pentaclorofenol, triclosán, bisfenol-A, butilbenilftalato, bis-2-etilhexilftalato, estrona, 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, 4-n-nonilfenol) y fármacos del tipo ácido (ácido clorfibrico, ibuprofeno, ácido salicílico, 2,4-D, gemfibrocil, naproxeno, ketoprofeno, diclofenaco) provenientes de aguas residuales y aguas del tipo potable.

Los resultados fueron porcentajes de recuperación entre 68-109% para los DE's y 68-97% para los fármacos del tipo ácido, con límites de detección de 0.05-1 ng L⁻¹ en agua potable y 0.5-100 ng L⁻¹ en agua residual y las concentraciones de analitos en aguas residuales en un intervalo de 0.018-22.4 μ g L⁻¹ lo cual es relativamente alto en comparación con otros datos de estudios reportados.

2.9. Selección de los compuestos de estudio

La selección de los compuestos para este estudio se realizó con base en los reportes antes mencionados (Gibson 2005; Gibson 2007; Rice 2007; Durán 2009; Acosta 2010; Durán 2013) y ensayos previos sobre el método de análisis (posteriormente se menciona este punto). Se hizo una selección de contaminantes emergentes que cubrieran las diferentes fuentes de emisión y el tipo de compuesto entre los cuales encontramos: fármacos, compuestos estrogénicos, productos de uso personal, plaguicidas y compuestos con actividad antimicrobiana, etc.

De esta manera fueron seleccionados los siguientes compuestos:

Un compuesto estrogénico, el β -Estradiol cuya presencia se encuentra en gran parte de la literatura citada, además de pertenecer al grupo de los DE's de más alarma.

Un compuesto antibacteriano, el Triclosán que junto con otros compuestos del mismo tipo favorecen en gran parte la resistencia bacteriana.

Un fármaco, el Ibuprofeno que es un producto de libre venta, su dosis terapéutica es relativamente alta, es desechado por el organismo y termina en los sistemas de agua residual.

Y por último un compuesto aromatizante, el Almizcle cetona que es utilizado en gran parte de los productos de uso personal.

2.10. Área de Estudio

El área de estudio seleccionada fue el área protegida de Xochimilco en la Ciudad de México la cual es ideal para el estudio de contaminantes emergentes, esto es porque el agua de los canales de la zona proviene de las aguas tratadas de una de las mayores plantas de tratamiento de la Ciudad de México, la planta de Cerro de la Estrella.

Esta planta de tratamiento sólo llega hasta un tratamiento secundario por lo que diferentes tipos de contaminantes no son eliminados y tienen como destino final los diferentes cuerpos de agua del Área Natural Protegida de Xochimilco.

Esto implica que la carga de contaminantes disueltos en el agua es muy alta (Mazari 1996; Jiménez 2007). A partir de esto se hicieron estudios previos de algunos contaminantes emergentes en el agua de los canales, pero dado el poco flujo en éstos, los contaminantes podrían tender a acumularse en los sedimentos.

La acumulación de contaminantes en los sedimentos podría constituir un sumidero donde cualquier perturbación cause que se redisuelvan en la columna de agua. La clave para saber la disponibilidad de los contaminantes en los sedimentos, es el análisis del agua de poro. De ahí la importancia del presente estudio.

2.10.1. Características de la zona de estudio

Xochimilco fue nombrado por la UNESCO como patrimonio de la humanidad y México se comprometió a resguardarlo, sin embargo la urbanización, el vertimiento de aguas residuales, el uso indiscriminado de fertilizantes y plaguicidas, la sobreexplotación del acuífero y la introducción de especies exóticas están deteriorando este ambiente y actualmente está en riesgo la supervivencia de especies endémicas, la producción de las chinampas ha bajado por salinización (Bojorquez 1995) y los canales están contaminados, lo que representa un riesgo no solo para el ecosistema sino también para la salud humana.

Xochimilco es un ecosistema muy particular, desde tiempos ancestrales ha sido un lago cuya dinámica de sedimentos ha sido modificada por el hombre para aumentar la productividad agrícola.

Actualmente, la creciente urbanización lo ha convertido en un lago urbano que mantiene producción agrícola, pero también cumple con funciones recreativas, además de resguardar el patrimonio cultural y natural que representa.

A su vez, la creciente demanda de agua potable en la cuenca ha reducido significativamente el aporte de aguas superficiales de buena calidad hacia el sistema de canales de Xochimilco (Mazari 1996; Jiménez 2004; Jiménez 2007; Díaz 2009).

Esto ha llevado a la necesidad de la utilización de aguas residuales de plantas de tratamiento circundantes, entre ellas la Planta de Tratamiento de Cerro de la Estrella, como ya se mencionó, una de las plantas más grandes de tratamiento de aguas de México,

El área protegida de Xochimilco está constituida por una gran red de canales (Figuras 5) y pequeñas chinampas que varían en tamaño desde 4 a 6 m de ancho y de 5 a 100 m de largo, las cuales se utilizan como parcelas de cultivo y cuenta con una división fisiográfica.



Figura 5. Zona lacustre de Xochimilco.

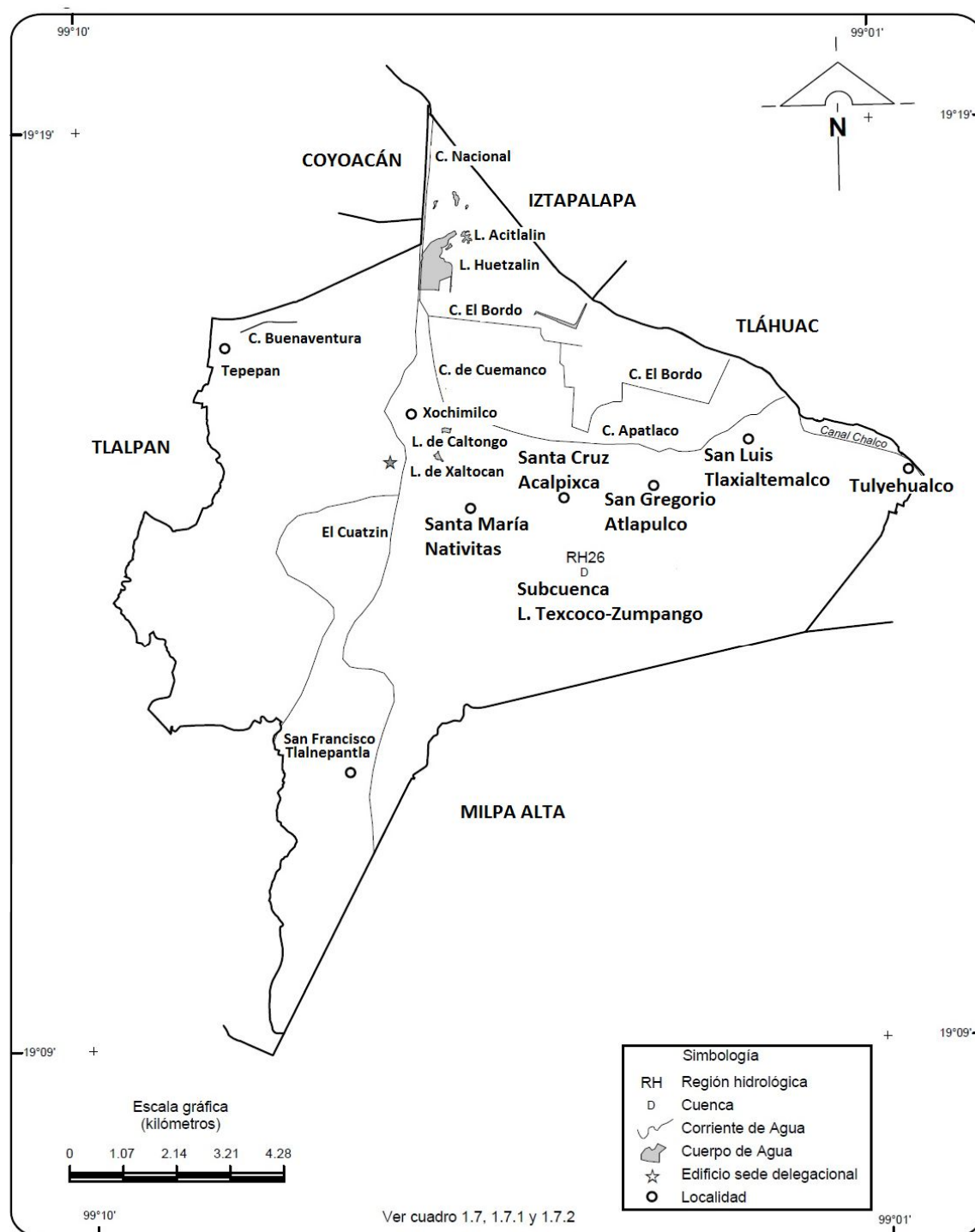
2.10.2. Localización

Esta zona se encuentra localizada entre las coordenadas 19°09' y 19°19' de latitud norte y 98°58' y 99°10' longitud oeste (Figura 6) y cuenta con una superficie de aproximadamente 36 Km² (Jímenez 1990; Alastriste 2005).

Los puntos seleccionados en la zona chinampera de Xochimilco fueron:

- La Draga (coordenadas UTM, E 0489012, N 2130908)
- Ampampilco (coordenadas UTM, E 0490376, N 2131015)
- Tlicuilli (coordenadas UTM, E 491326, N 2131460)
- Apatlaco (coordenadas UTM, E 0490802, N 2130024)
- Texhuilo (coordenadas UTM, E 0490565, N 2130179)
- La Asunción (coordenadas UTM, E 489350, N 2130647)

La selección de los puntos de muestreo fue tomando en cuenta estudios preliminares del grupo de trabajo de la Unidad de Análisis ambiental (UNAAMB) en la Facultad de Ciencias de la UNAM (Murguía 2008; Hernández 2009; Carrión 2010; Huerta 2011; Sánchez 2012; Hernández 2013).



Fuente: **INEGI-CONAGUA**. 2007. Mapa de la Red Hidrográfica Digital de México escala 1:250 000. México.
INEGI. Continuo Nacional del Conjunto de Datos Geográficos de la Carta Hidrológica de Aguas Superficiales, 1:250 000, serie I.
INEGI. Carta Topográfica, 1:50 000.

Figura 6. Mapa hidrográfico de Xochimilco (CONAGUA 2007)

2.10.3. Clima

Predomina un clima templado subhúmedo con una temperatura media anual de 16°-17°C y una precipitación en verano con media anual entre 700 y 900 mm al año principalmente entre los meses de junio a septiembre (INECOL 2002; INEGI 2010).

2.10.4. Edafología

Predominan suelos lacustres y palustres con composición geológica diversa, esto a causa del manto freático cercano a la superficie. En mayor proporción se cuenta con sedimentos arcillosos con arenas de grano fino, con alrededor del 50% de cenizas volcánicas, donde estos suelos poseen predominancia de materiales de origen orgánico (Sánchez 1989; INECOL 2002).

2.10.5. Hidrografía

Es primordial resaltar la importancia que tiene la actividad agrícola en esta zona, ya que gran parte de su producción tiene como destino los principales mercados de la Ciudad de México, sin embargo, aproximadamente el 90% del agua que fluye por los canales de Xochimilco es agua tratada proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de Cerro de la Estrella (Aguirre 1989; Sánchez 1989).

Durante el pre-tratamiento que se aplica a las aguas residuales estas son conducidas por una red de alcantarillado hasta la planta de tratamiento en la cual se eliminan los sólidos de tamaño mayor, esto a través de un tamiz, posteriormente es conducida a un contenedor para eliminar sólidos de menor

tamaño por densidad y en la etapa final se concentran partículas de baja densidad como aceites y grasas.

Para el tratamiento primario, se utiliza una decantación facilitada por flujo de baja velocidad para la eliminación de sólidos, la limpieza de espuma se realiza mediante brazos radiales que barren la superficie del agua.

El tratamiento secundario consiste en paso del agua por un recinto amplio y con poca profundidad donde es sometida a la acción de microorganismos principalmente bacterias y protozoarios aerobios (lodos activados) que aprovechan la materia orgánica disuelta para sus actividades biológicas. Para favorecer la productividad microbiana e incrementar el consumo de materia orgánica se hace una aportación de oxígeno.

Este tratamiento no se realiza con regularidad ya que hasta el 2012 la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella no funcionaba adecuadamente.

El aporte aproximado por las plantas de tratamiento es: Cerro de la Estrella (Iztapalapa) de 900 L / s en estiaje y 881 L / s en lluvias, las otras 2 plantas solo contribuyen en estiaje donde San Luis Tlaxiátemalco (Xochimilco) aporta 65 L / s y San Lorenzo (Tlahuac) 30 L / s (GDF, SACM, 2005).

3. Objetivos

Determinar la presencia y concentración en el agua de poro de los sedimentos en Xochimilco de cuatro contaminantes emergentes representativos de las principales familias de contaminantes emergentes: antibióticos, hormonas, farmacéuticos de venta libre y aditivos de productos de limpieza.

3.1. Objetivos Particulares

- Implementar las técnicas de extracción de contaminantes emergentes en agua de poro.
- Implementar el mejor método de derivatización simultánea para 3 de los contaminantes.
- Implementar el método SIM (Monitoreo de un Solo Ion, por sus siglas en inglés) en el cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas para la detección y cuantificación de los analitos de estudio.
- Determinar la concentración de los contaminantes emergentes estudiados en el agua de poro de sedimentos de sitios con distintas influencias ambientales (urbana, agrícola y turística) en Xochimilco.

4. Metodología

A pesar de los diversos estudios para la determinación de los contaminantes emergentes en las diferentes matrices ambientales, cada una tiene sus propios retos experimentales por lo que es necesario adaptar las técnicas analíticas a las áreas de estudio seleccionadas.

En este trabajo se utiliza el dragado para el muestreo de sedimento y la obtención del agua de poro. Esto por sus características antes mencionadas y la importancia de ésta en la composición de la matriz ambiental como tal.

También se dará uso de la reacción de derivatización por silylación y detección de los compuestos por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Para la cromatografía de gases, aquellos compuestos que contienen grupos como $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}$ y $-\text{SH}$, tienen la capacidad de formar puentes de hidrógeno con la columna, además de tener poca volatilidad e insuficiente estabilidad térmica lo cual provoca una baja detección y se producen cromatogramas inservibles a causa de múltiples picos o malas separaciones de estereoisómeros.

Para el análisis y validación del método se hicieron pruebas previas para el tratamiento de las muestras, variaciones en las condiciones presentadas en la literatura para el estudio de estos compuestos, además de hacer fracciones de estándares en agua Milli-Q (Agua desionizada) a concentraciones conocidas para

el estudio de la repetibilidad y reproducibilidad tanto del procedimiento, como en el equipo.

Para las muestras ambientales se analizaron dos fracciones de agua de poro, una adicionada y una sin adicionar, esto para correlacionar las recuperaciones y recobros del procedimiento como tal.

Para el análisis cuantitativo se utilizó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas la cual es una técnica analítica frecuentemente utilizada para la identificación de compuestos que elucidada la estructura química de las moléculas en una muestra con ayuda de una base de datos y/o interpretación de espectros de masa. Este equipo de cromatografía se encuentra ubicado en el laboratorio de la UNAAM en la Facultad de Ciencias de la UNAM.

4.1. Extracción de contaminantes emergentes

Para el tratamiento del agua de poro se utilizaron cartuchos de fase inversa OASIS HLB[®] 6 cc los cuales gracias a su composición hidrofílica y lipofílica para la retención de grupos polares, benefician la obtención de estos compuestos por los grupos funcionales presentes en sus estructuras.

4.2. Derivatización

La derivatización es una reacción química que lleva a la modificación estructural de los compuestos y obtener nuevos productos con propiedades en estabilidad térmica, propiedades fisicoquímicas y cambios de grupos funcionales que pueden detectarse por cromatografía.

La importancia de la derivatización para el análisis de los compuestos radica en los siguientes puntos:

- Evita la adsorción y retención de los analitos por la formación de puentes de hidrógeno, esto en la fase estacionaria de la columna que contiene dióxido de sílice y silicatos que pueden modificar la estructura y propiedades de los analitos al reaccionar con ellos. Además, mejora la estabilidad térmica de los analitos, mejora la resolución de los picos y modifica indirectamente la sensibilidad del detector, incrementando su respuesta por la presencia de grupos orgánico.

-
-
- En la literatura consultada(Vanderford 2003; Gibson 2005; Trenholm 2006; Vanderford 2006; Gibson 2007; Díaz 2009; Durán 2009; Acosta 2010; Durán 2013), se utilizan diferentes agentes derivatizantes para cada fracción con el fin obtener mejor resultados, en este caso se optó por utilizar solo un tipo de agente derivatizante para las dos fracciones, el O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida + trimetilclorosilano 99:1 (BSTFA + TMCS 99:1).

La derivatización, se lleva a cabo por una sustitución en los grupos polares, donde las reacciones más comunes son alquilación, acilación y sililación.

- Reactivos alquilados: reducen la polaridad de los componentes por sustitución de hidrógenos lábiles para un grupo alifático o alifático aromático. El uso de esta técnica es usual para la modificación de componentes que contienen hidrógenos ácidos como es en los ácidos carboxílicos y fenoles que son transformados en esteres o éteres.
- Acilación: los componentes que contienen un hidrógeno lábil son transformados en ésteres, tioésteres y amidas a través de la acción del ácido carboxílico o sus derivados. A causa de la presencia de ácido residual, los productos no pueden ser directamente inyectados al sistema GC y se requiere de una etapa de purificación antes de la inyección. Esta reacción se utiliza comúnmente para agrega grupos fluorados a las moléculas para su análisis por los detectores de captura de electrones.

-
-
- Sililación: un hidrógeno lábil proveniente de un ácido, alcohol, tiol, aminas, amidas o cetonas enolizables y aldehídos, es remplazado por un grupo trimetilsilil. Esta reacción ocurre a través de un ataque nucleofílico (SN_2), y la presencia de un grupo saliente fuerte a menudo mejora el rendimiento de la reacción. Los productos son en general más volátiles y térmicamente estables. Al contrario de la acilación en esta reacción normalmente no se requiere de una etapa de purificación y los derivados se pueden inyectar directamente al sistema GC.

La sililación es la técnica más comúnmente aplicada y se utilizan reactivos como:

- Trimetilclorosilano (TMCS)
- Trimetilsilimidazona (TMSI)
- N-metil-treimetilsililtrifluoroacetamida (MSTFA)
- N,O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA)
- N-(t-butildimetilsilil)-N-metiltrifluoroacetamida (MTBSTFA),

En este estudio se utilizó la mezcla derivarizante N, O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida + trimetilclorosilano 99:1 (BSTFA + TMCS 99:1), su estructura se muestra en la Figura. 7.

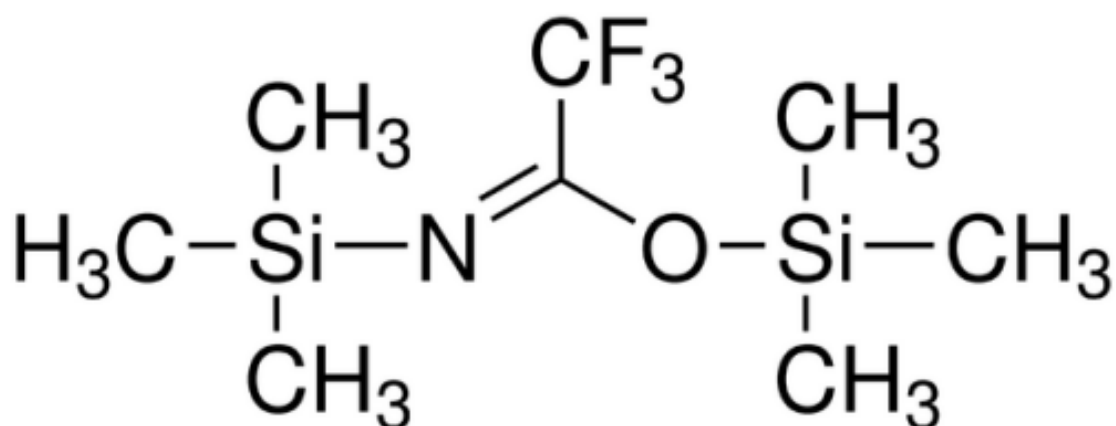


Figura 7. N, O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida + trimetilclorosilano 99:1 (BSTFA + TMCS 99:1)

La mezcla derivarizante BSTFA + TMCS 99:1, ha sido utilizada por Durán Alvarez, 2009 para el análisis de grupos farmacéuticos ácidos, carbamacepinas y potenciales disruptores endocrinos en agua, así mismo ha sido utilizada la metodología analítica llevada a cabo por Gibson, 2007.

5. Reactivos y materiales

5.1. Reactivos:

- Acetato de etilo HPLC
- Acetona HPLC
- Agua desionizada
- Acido acético glacial
- Bicarbonato de Sodio 0.1 M pH 10
- Hidróxido de sodio 0.1 M
- Acido Sulfúrico concentrado
- Estándares: β – Estradiol (marca Sigma, Ref. E8875), Ibuprofeno (marca Sigma, Ref. 014883), Triclosán (Irgasan, marca Sigma, Ref. 72779) y Almizcle cetona (marca Aldrich, Ref. W522902).
- Derivatizante: N, O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida + Trimetilclorosilano 99:1 (BSTFA + TMCS 99:1, marca Supelco, Ref. 33148)
- Buffer de bicarbonato de sodio (pH 10), se ajusta el pH utilizando hidróxido de sodio al 1.0 M.

5.2. Estándares: Contaminantes emergentes

Se seleccionaron 4 contaminantes representantes de las familias de contaminantes emergentes; uno del tipo fármaco ácido (Ibuprofeno) y tres con propiedades generales de disruptores endocrinos (Triclosán, Estradiol y Almizcle cetona). Las propiedades fisicoquímicas, información general y estructura, se pueden ver en los Cuadros 2 y 3.

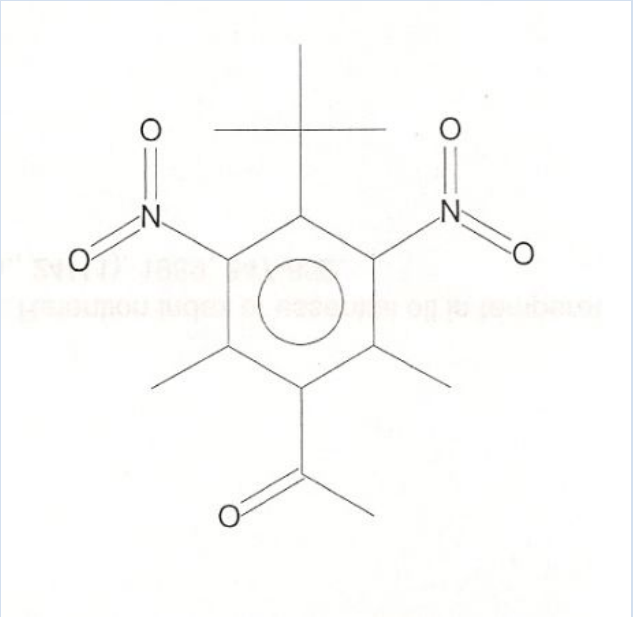
Cuadro 2. Compuestos, propiedades fisicoquímicas e información general

Compuesto	Propiedades físicas	General
Almizcle cetona	PM: 294.3 g / mol Punto de fusión: [133-138]°C, Solubilidad: Insoluble en agua	Es un componente de muchas composiciones de fragancias, productos como cosméticos, detergentes, suavizantes de telas y productos del hogar, además de unos de los compuestos con mayor producción en el mundo, no es fácilmente degradable en las pruebas estándar.
Triclosán	PM: 289.5 g / mol, punto de ebullición: [120]°C, Solubilidad: poco soluble en agua	Es un producto químico antibacteriano utilizado en jabones y otros productos de cuidado personal, desodorante, enjuagues bucales o pastas de dientes. Se estima que tiene una producción anual de 454 ml kilos en E.U.

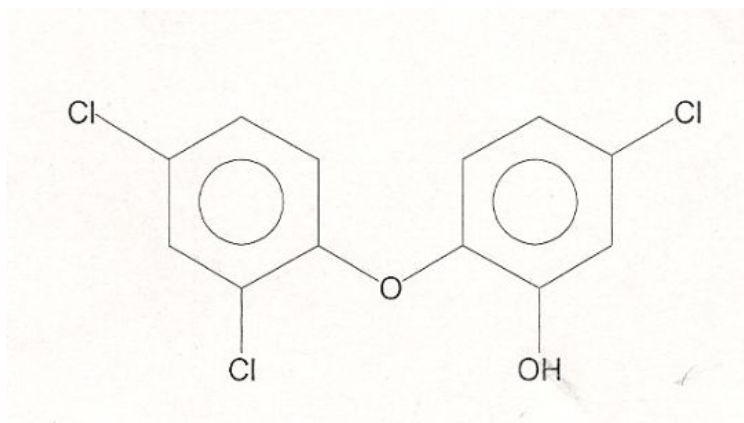
Continuación Cuadro 2. Compuestos, propiedades fisicoquímicas e información general.

Compuesto	Propiedades físicas	General
β-Estradiol	<p>PM: 272.4 G / mol,</p> <p>Solubilidad: insoluble en agua, Punto de fusión: [173-179]°C</p>	<p>Es una hormona esteroide sexual femenina utilizada en tratamientos de tipo hormonal, siendo el etinilestradiol el ingrediente de estrógeno más común en las píldoras anticonceptivas. Este último es uno de los más estudiados y correlacionados con daños al medio ambiente, del cual se estima que muchas mujeres utilizan como anticonceptivo y es excretado por la orina a las aguas residuales. En su mayoría, los anticonceptivos hormonales se han asociado a las alteraciones congénitas de los organismos que entran en contacto con ellos.</p>
Ibuprofeno	<p>PM: 206.29 g / mol,</p> <p>Punto de ebullición: [171-172]°C,</p> <p>Solubilidad: no soluble en agua</p>	<p>Es un analgésico antiinflamatorio no esteroideo y antipirético ampliamente utilizado en el tratamiento de enfermedades reumáticas, dolor y fiebre. Cuenta con una producción mundial anual estimada a varios kilotonnes y es uno de los fármacos más populares del mundo de venta libre y cuenta con una dosis terapéutica relativamente alta (600-1200 mg / d). Se excreta a un grado de 70-80% como el compuesto de origen o en forma de metabolitos.</p>

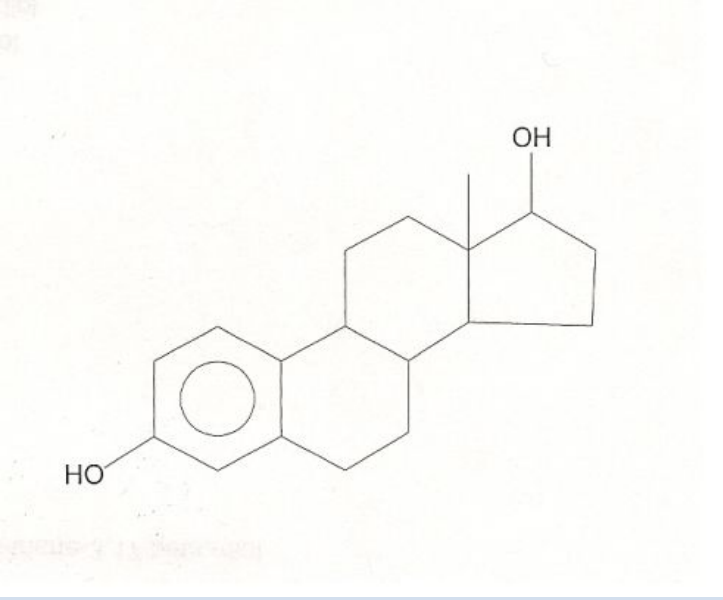
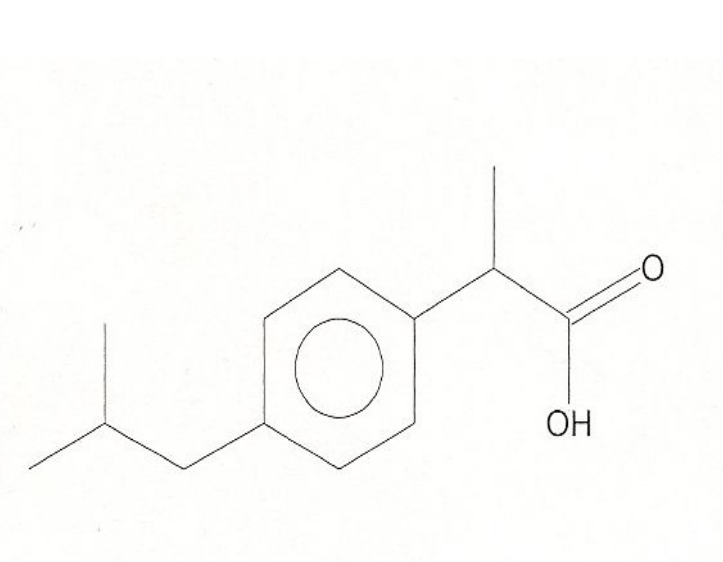
Cuadro 3. Estructuras de los contaminantes emergentes

Compuesto	Estructura química
Almizcle cetona	 <p>The chemical structure of Ketone Musk (1,3-bis(4-tert-butylphenyl)-4,5-dimethyl-2-pyrone) is shown. It consists of a central pyrone ring substituted with two tert-butyl groups at the 4 and 5 positions and two methyl groups at the 3 and 4 positions. The pyrone ring is also substituted with two nitro groups at the 2 and 6 positions.</p>

Triclosán



Continuación Cuadro 3. Estructuras de los contaminantes emergentes

Compuesto	Estructura química
β-Estradiol	 <p>The chemical structure of beta-Estradiol is a steroid molecule. It consists of four fused rings: a six-membered aromatic A ring with a hydroxyl group (HO) at the 3-position, a six-membered B ring, a six-membered C ring, and a five-membered D ring. The D ring has a methyl group at the 13-position and a hydroxyl group (OH) at the 17-position.</p>
Ibuprofeno	 <p>The chemical structure of Ibuprofeno is a propionic acid derivative. It features a central benzene ring. On one side of the ring, there is a 4-isobutyl group (a three-carbon chain with a methyl branch at the end). On the other side, there is a propionic acid group (a two-carbon chain with a methyl branch at the end and a carboxylic acid group, HO-C=O, at the terminal carbon).</p>

5.3. Material:

- Botellas de vidrio ámbar con capacidad de 1 L
- Frascos de vidrio de 1 L con boca ancha
- 4 Matraces Erlenmeyer de 2 L
- Cartuchos OASIS HLB 6cc (marca Waters, Ref. WAT106202).
- Matraces Kitazato de 2 L
- Embudo Buchner
- SPE Manifold
- Micropipetas de 1000 μ L, 200 μ L y 5 mL
- Viales de 2 y 10 mL con tapa y contratapa de teflón
- Filtros de fibra de vidrio con un tamaño de poro de 5 μ m y 1.2 μ m

5.4. Equipos e instrumentos

- Medidor Multiparámetros Hanna HI 9829
- Draga Wildco, modelo Petite Ponar, 6'' SCOOPS-008890
- Bomba de vacío/ presión de 24 pulgadas de Hg y presión máxima de 2.45 bar (35 psig).
- Agitador vortex con regulación y con copita de goma: \varnothing 55 mm y base para tubos. Frecuencia de oscilación: 0 a 40 Hz. Potencia: 45 W 220V.
- Balanza analítica Sartorius CP224 S, A. máx 120 g, e= 0.0001 g, mín. 0.01, d=0.0001 g.
- Cromatógrafo de gases acoplado a Espectrometría de masas marca Hewlett Packard, modelo HP G1800C GCD Series II, con columna marca Agilent, modelo HP-5 ms, con 30 m de largo y 0.25 mm de diámetro interno.

6. Muestreo

El muestreo se realizó en junio del 2013, donde se recolecto sedimento con ayuda de una draga y las muestras se depositan en botellas de vidrio de boca ancha de capacidad de 1 litro con tapa de aluminio y previamente lavadas con ácido y agua destilada como se muestra en la Figura 8.



Figura 8. Frascos de vidrio de boca ancha y tapa de aluminio utilizados para el muestreo.

Se obtuvieron 5 L de sedimento por cada punto de muestreo y fueron depositados en hieleras para su traslado al laboratorio.

7. Trabajo Experimental

7.1. Preparación de la soluciones

7.1.1. Solución Stock

A partir de los estándares (β -Estradiol, Triclosán, Ibuprofeno, Almizcle cetona) se prepararon por gravimetría las disoluciones stock de cada compuesto a una concentración aproximada pero cuantificada de 100 mg L^{-1} en acetato de etilo, las concentraciones son mencionadas en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Preparación de las soluciones stock individuales en mg L^{-1} .

Compuestos	Concentración
Ibuprofeno	111
Almizcle	116
Triclosán	110
β -Estradiol	106

7.1.2. Dilución de contaminantes emergentes

Preparación de las soluciones stock individuales como se muestran en las Figuras 9, 9.1, 9.2 y 9.3.

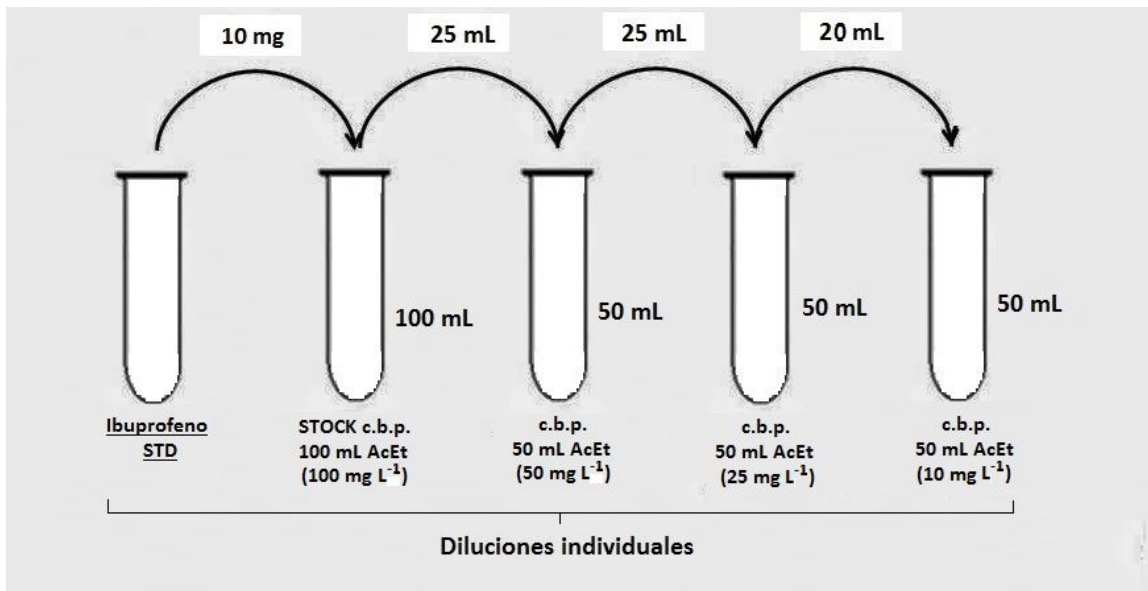


Figura 9. Esquema de diluciones para el Ibuprofeno.

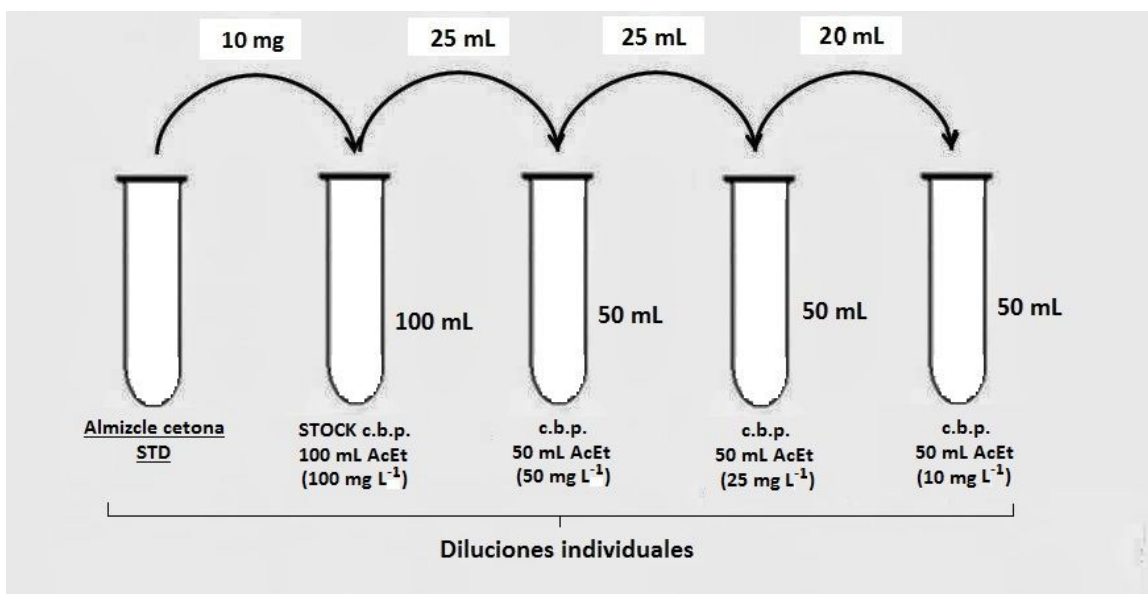


Figura 9.1. Esquema de diluciones para el Almizcle cetona.

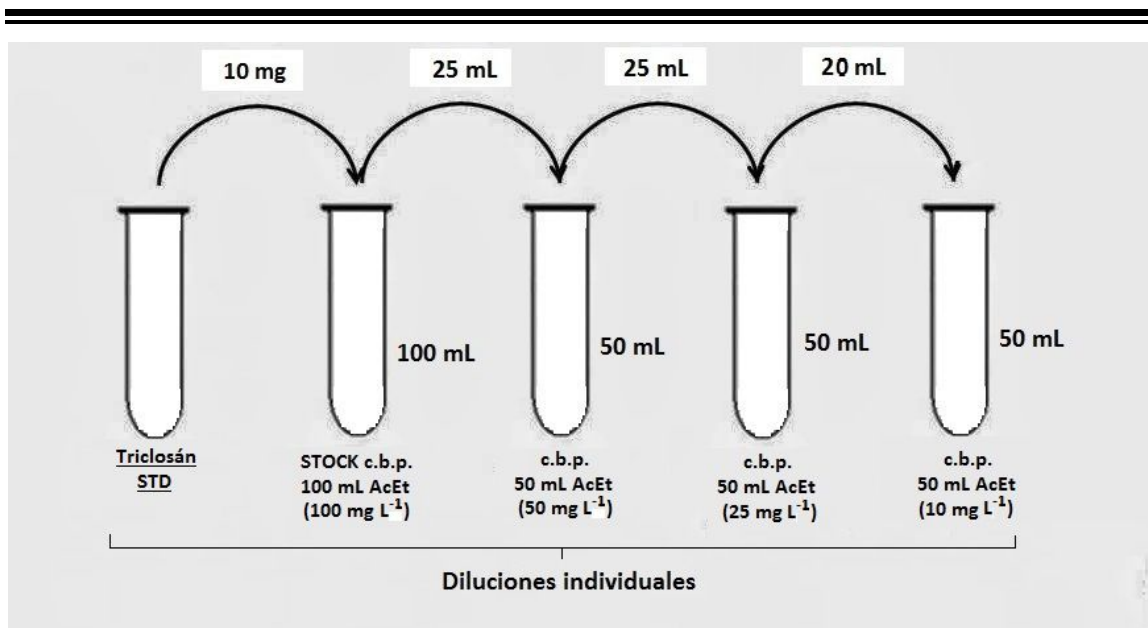


Figura 9.2. Esquema de diluciones para el Triclosán.

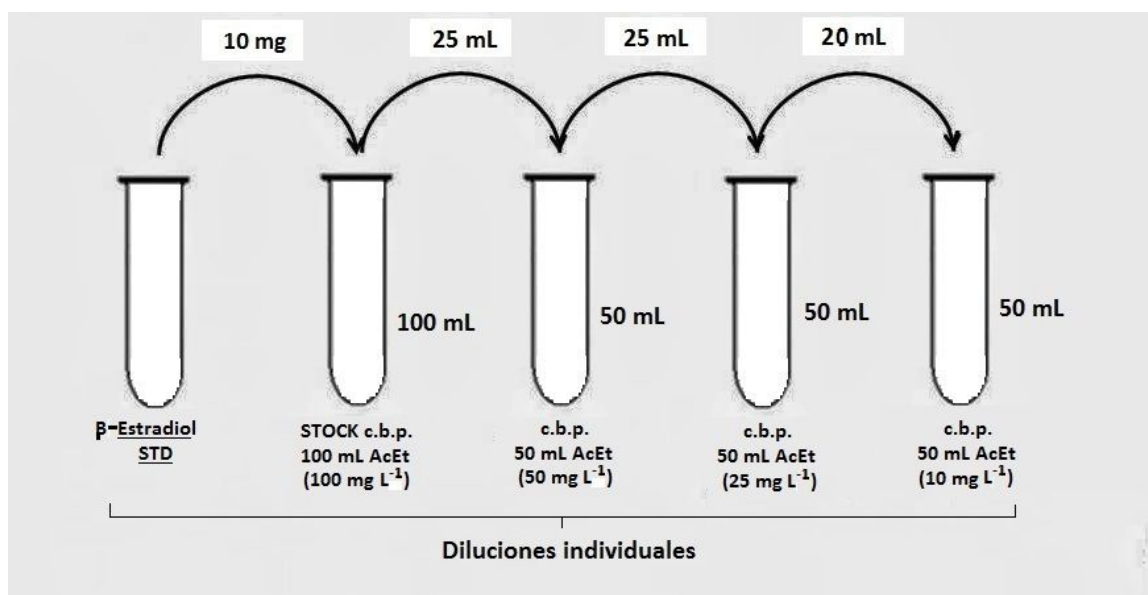


Figura 9.3. Esquema de diluciones para el β-Estradiol.

Posteriormente se hizo la preparación de una mezcla de estándares a una concentración conocida como se muestra en la Figura 10.

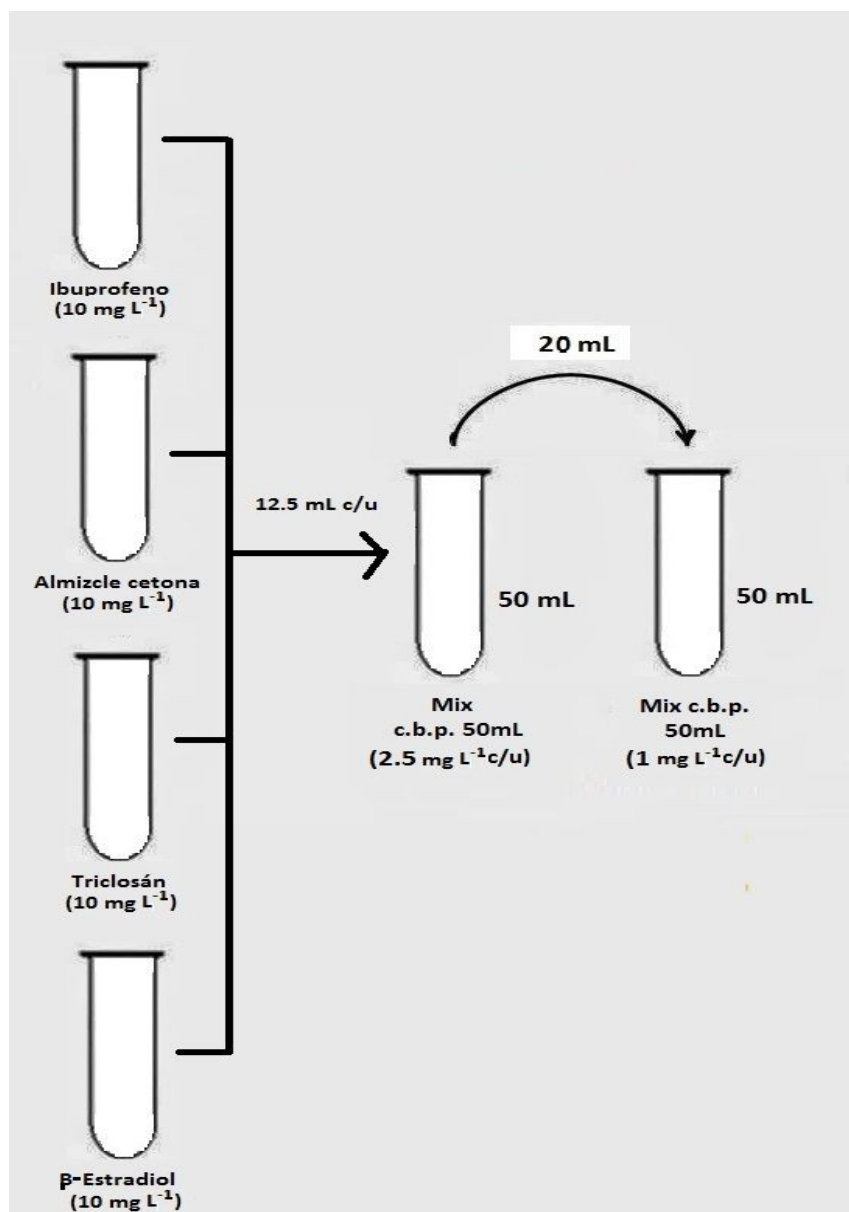


Figura 10. Esquema de diluciones para la Mezcla de estándares.

La mezcla de los analitos (Almizcle cetona, Ibuprofeno, Triclosán y β -Estradiol) es preparada a una concentración de 1 mg L^{-1} ($1000 \mu\text{g L}^{-1}$) para cada compuesto, esta y sus posteriores diluciones fueron utilizadas para validación del método, las curvas, las adiciones y estándares adicionados.

7.1.3. Derivatización de la mezcla

Posteriormente a la mezcla se hizo la derivatización agregando 30 μL de BSTFA: TMCS 99:1 llevando la reacción a calentamiento en incubadora a 70°C por un tiempo de 30 min.

7.1.4. Curvas de Calibración para la validación del método

Se preparo una curva de calibración desde 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ hasta 40 $\mu\text{g L}^{-1}$, en agua Milli-Q de los analitos a estudiar y fue cuantificada por medio de un cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas.

La curva puede ser observada en el Cuadro 5 y en las Figuras 11, 12, 13 y 14.

Cuadro 5. Concentraciones de los puntos de la curva de calibración en $\mu\text{g L}^{-1}$.

Concentraciones	Ibuprofeno	Almizcle Cetona	Triclosán	β -Estradiol
0	0	0	0	0
5	4.5	4.9	5.5	5.5
10	8.3	9.8	8.0	8.8
15	15.2	15.4	14.5	14.1
20	21.05	19.1	21.7	18.7
25	25.05	27.6	25.8	24.0
30	31.2	30.01	30.7	29.6
35	35.6	34.1	35.2	35.6
40	38.3	39.2	38.3	41.4
Ecuación	$y = 85.123x - 45.467$	$y = 12.107x + 7.64$	$y = 62.29x + 9.86$	$y = 37.08x - 69.3$
R²	0.994	0.9935	0.9923	0.9927

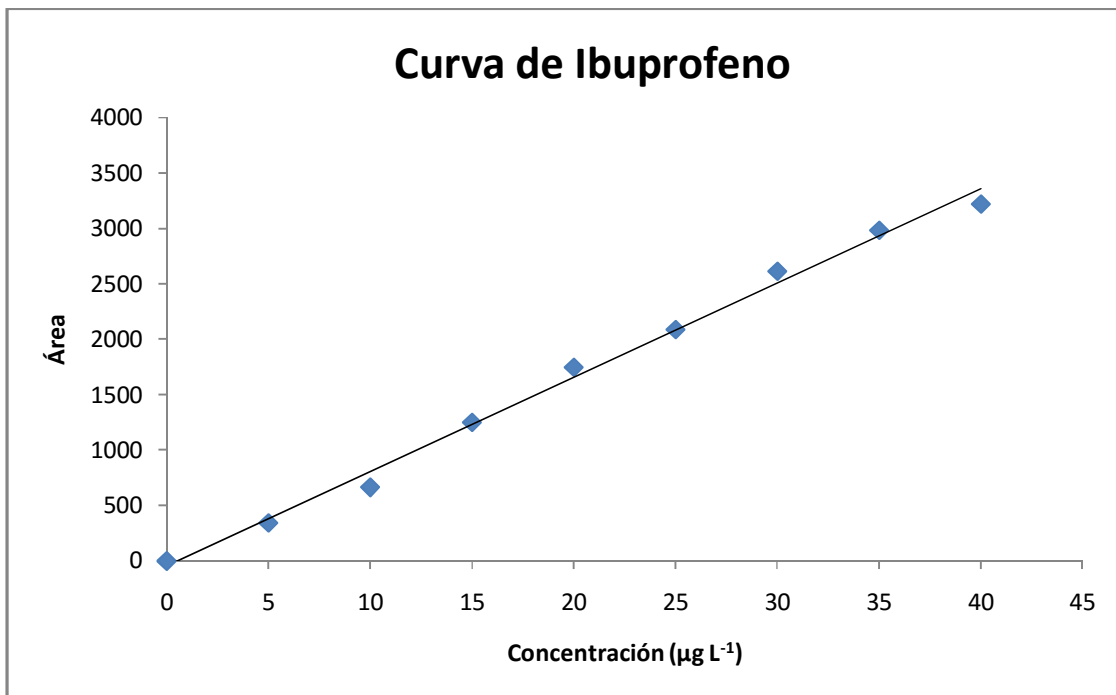


Figura 11. Curva de calibración del Ibuprofeno.

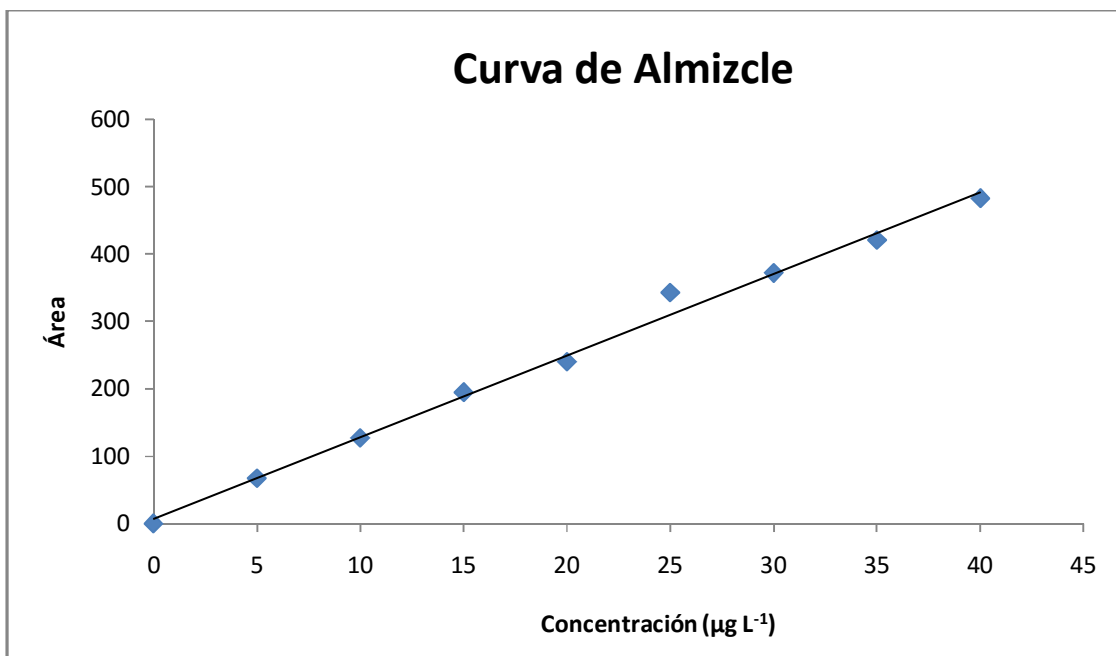


Figura 12. Curva de calibración del Almizcle Cetona.

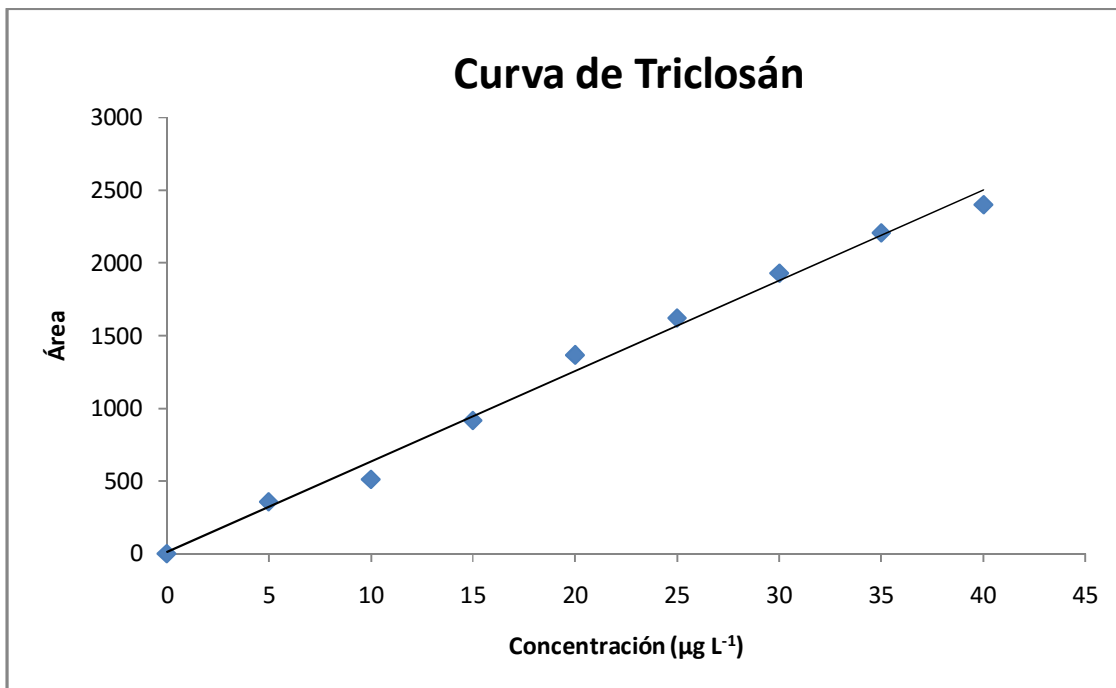


Figura 13. Curva de calibración del Triclosán.

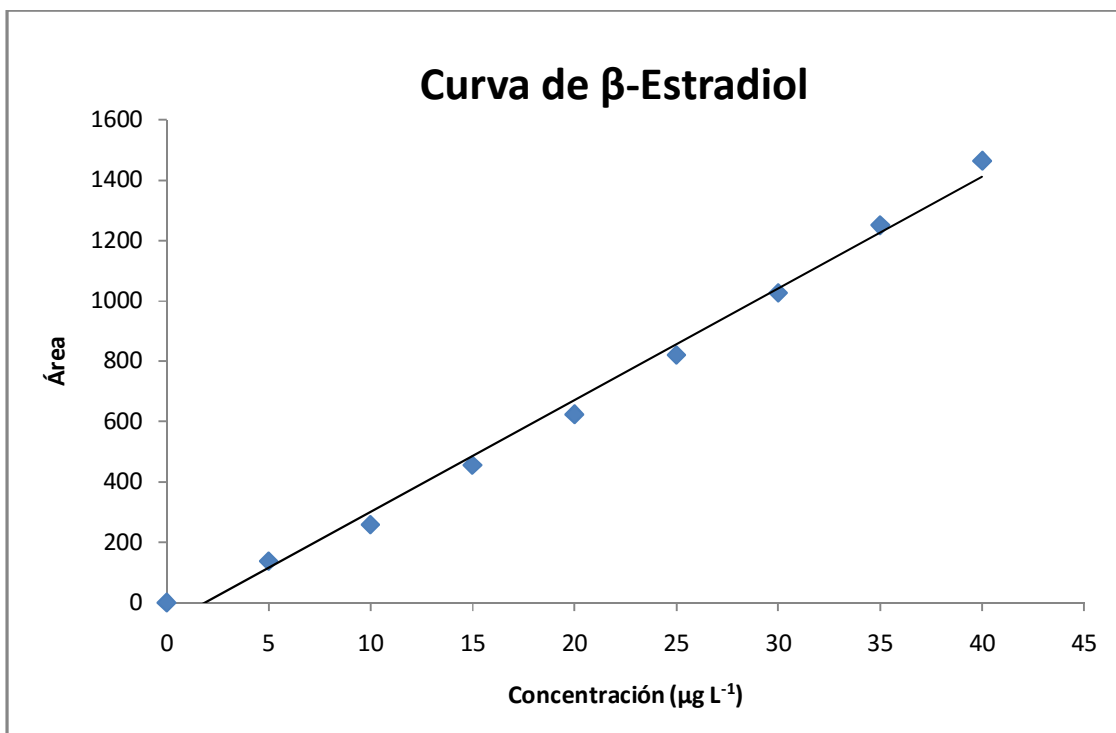


Figura 14. Curva de calibración del β -Estradiol.

8. Preparación de las muestras

Una vez en el laboratorio, las muestras de sedimento fueron filtradas por medio de un embudo Buchner (filtros de 2.5 μm tamaño de poro), con ayuda de vacío para obtener el agua de poro (esta filtración se realiza por aproximadamente 24 hr inmediatamente después de su recolección) como se muestra en la Figura 15.

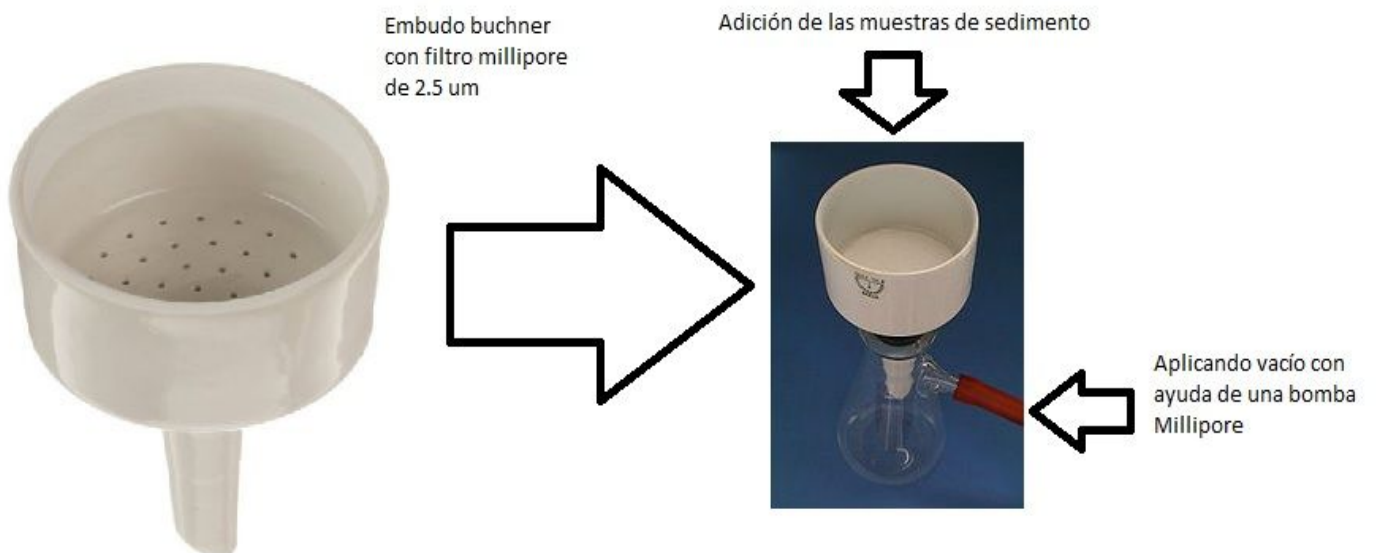


Figura 15. Sistema utilizado para la filtración del sedimento para la obtención del agua de poro.

Este procedimiento se mantuvo aproximadamente 24 horas por litro de sedimento, de manera que las últimas horas se deja el sistema sin ayuda de la bomba de vacío y solo se obtienen los últimos lixiviados por gravedad.

Posteriormente el agua de poro obtenida se filtro con ayuda de un filtro Whatman de 1.2 μm de tamaño de poro para eliminar cualquier remanente de partículas sólidas en el agua como se muestra en la Figura 16.



Figura 16. El agua de poro es filtrada para retirar remanentes de partículas sólidas de tamaño considerable.

Al finalizar el procedimiento se obtienen aproximadamente 800 mL de agua de poro de cada frasco de 1 L de sedimento recolectado (mediciones realizadas en probeta graduada de vidrio).

8.1. Extracción en fase inversa.

Una vez obtenida el agua de poro, la extracción de los contaminantes emergentes se realiza de acuerdo al procedimiento esquematizado en la Figura 17.

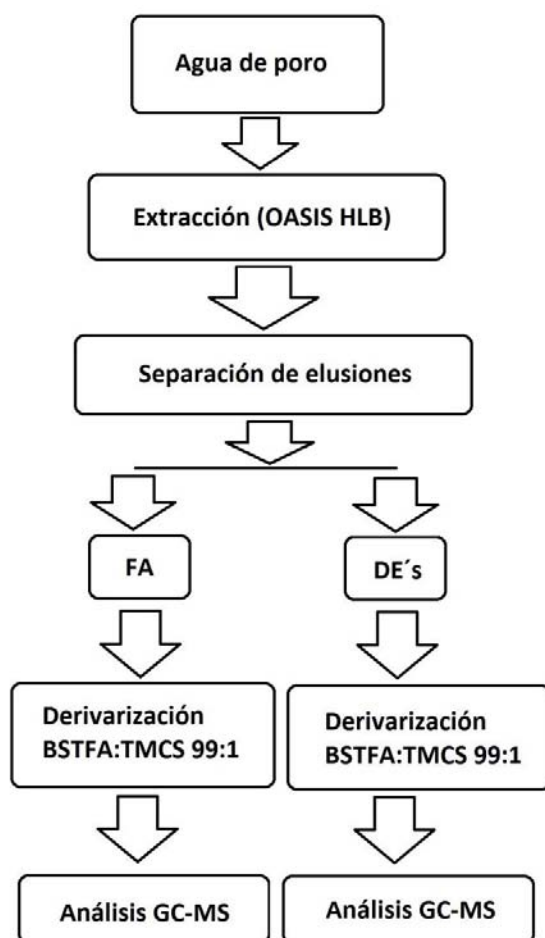


Figura 17. Diagrama para la separación de fármacos ácidos y disruptores endocrinos a partir del agua de poro.

Para obtención de estos contaminantes emergentes se utilizan cartuchos de extracción OASIS HLB® 6 cc.

Estos cartuchos cuentan con una composición hidrofílica y lipofílica para la retención de grupos polares.

La fase sólida de los cartuchos OASIS HLB[®] 6 cc está conformada por una proporción equilibrada de dos monómeros, como se muestra en la Figura 18 (N-vinilpirrolidona con características hidrofílicas y el divinilbenceno con características lipofílicas),

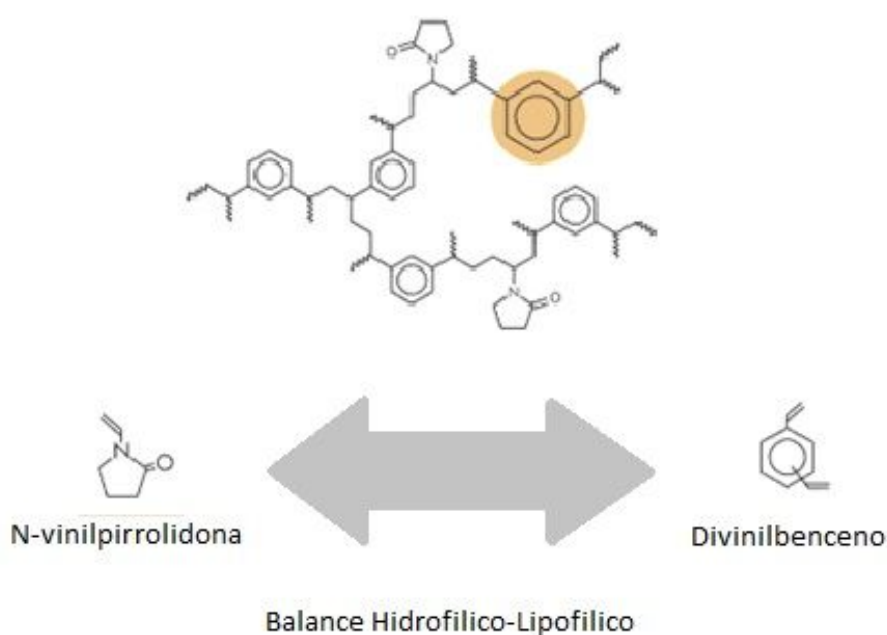


Figura 18. Composición del copolímero de los cartuchos de extracción OASIS[®] HLB de acuerdo a la información de proveedor (WATERS INSTRUMENTS).

Ambas proporcionan las características necesarias para realizar una fase inversa con una retención mejorada para los analitos polares.

8.2. Acondicionamiento de la fase solida

En esta fase de extracción se colocaron los cartuchos SPE en el sistema Manifold como se muestra en la donde se realiza el acondicionamiento de estos.

Este acondicionamiento consisten en la adición de una mezcla de solventes apropiados, esto con el fin de activar el adsorbente y los grupos funcionales contenidos en la columna (cartucho SPE OASIS HLB[®] 6 cc), para así obtener una buena extracción, como se muestra en la Figura 19.



Figura 19. Acondicionamiento de cartuchos en Sistema Manifold con los cartuchos SPE OASIS HLB[®] 6 cc.

Para esto se hacen pasar 10 mL de acetona grado HPLC a través de los cartuchos SPE OASIS HLB[®] 6 cc (2 x 5 mL), seguido de 5 mL de agua acidificada con 250 μ L de ácido acético. Terminando esto, los cartuchos se encuentran en condiciones óptimas para la adición de la muestra.

8.3. Etapa de carga de muestra

En esta etapa se hizo pasar 1 L de la muestra desde los frascos con el agua de poro hacia los cartuchos por medio de un sistema de mangueras y ayuda de la bomba de vacío como se muestra en la Figura 20.



Figura 20. Sistema de extracción para las muestras de agua de poro filtradas.

Este procedimiento se regula con ayuda de las llaves de entrada del sistema Manifold y se mantiene a una velocidad aproximada de 10 mL/ min (una vez que se tiene un goteo constante ya no es necesaria la bomba de vacío).

Se debe tener cuidado durante éste paso ya que existen factores que pueden afectar integridad de la fase solida de los cartuchos OASIS HLB® 6 cc.

Si se tiene una presión excesiva por la bomba de vacío, puede llegar al límite de resistencia de la fase sólida, permitiendo el paso del agua y perdiendo el filtrado.

Otro punto importante es el tiempo entre el acondicionamiento de los cartuchos y la extracción de los analitos, el cual no debe ser de un tiempo muy prolongado, pues la fase solida puede secarse, agrietarse y perder la humectación, haciendo difícil el paso de la muestra.

8.4. Elución de los contaminantes emergentes

El tratamiento de las muestras se divide en este punto, obteniendo por un lado el fármaco ácido (FA) y por el otro a los disruptores endocrinos (DE's).

8.4.1. Elución del FA

La elución del Ibuprofeno se hace agregando 5.5 mL de una solución buffer de bicarbonato de sodio (pH 10) y acetona (60:40).

En el extracto obtenido se evapora la fracción de acetona con nitrógeno por un tiempo de 15 minutos para después acidificar el extracto a un pH menor a 2 agregando 25 μ L de H₂SO₄ concentrado.

Posteriormente se agregaron dos alícuotas de acetato de etilo para extracción y lavado (2 x 2 mL), la fase de acetato de etilo queda en la parte superior y se pasa a viales de 5 mL donde se agrega sulfato de sodio anhidro para eliminar humedad. Se traspasa a otro vial de 5 ml para retirar el sulfato de sodio y por último se evapora el acetato de etilo con nitrógeno a sequedad.

Se reconstituyen con 25 μ L de acetato de etilo y se derivatiza de acuerdo al método descrito en la sección de "Derivatización".

8.4.2. Elución de los DE's

Para la elución de los disruptores endocrino (Almizcle, Triclosán y el β -Estradiol), se les agrega 5 mL de agua desionizada para lavado y se secan por una hora con vacío.

Una vez lavado y seco el cartucho, se realiza la elución con 5 mL de acetona (2 x 5 mL), donde la fracción eluida es pasada a un vial de 10 mL y se le somete a evaporación con nitrógeno hasta alcanzar un volumen aproximado de 200 μ L.

A continuación se agrega 1 mL de acetato de etilo y sulfato de sodio anhidro para eliminar la humedad y se traspasa a un vial de 2 mL y se somete a evaporación hasta un volumen aproximado de 25 μ L.

8.5. Derivatización de las fracciones

La derivatización como tal es de gran importancia para el análisis cromatográfico, ya que beneficia la resolución de los analitos, además de realizar cambios en las moléculas por el tipo de interacción con la columna, como son los puentes de hidrogeno. Estos pueden formarse a partir de compuestos o grupos funcionales capaces de ceder un protón y reaccionar con la fase estacionaria o la columna que contiene dióxido de sílice y silicatos que pueden modificar la estructura y propiedades de los analitos al reaccionar con ellos.

Para este paso se añadieron 30 μL de BSTFA: TMCS 99:1 y la reacción se lleva a cabo a 70°C en incubadora por 30 min., posteriormente se deja enfriar a temperatura ambiente.

Después se adiciona 1000 μL de acetato de etilo y se encuentra listo para ser inyectado al sistema GC.

Es importante mencionar que uno de los compuestos a analizar no era candidato a la derivatización (Almizcle cetona), esto por su estructura la cual no cuenta con el sitio de acción para que se lleve la reacción, aun así se dio paso a realizar el método de igual manera junto con los demás compuestos, para evitar tener que separarlo de la mezcla.

9. Análisis cromatográfico

El cromatógrafo de gases acoplado con espectrometría de masas marca Hewlett Packard utilizado en este trabajo se muestra en la Figura 21.



(a)

(b)

Figura 21. Cromatógrafo de gases acoplado a espectrometría de masas (b), cuenta con una columna HP5-MS marca Agilent, modelo HP G1800C GCD Series II (a).

Cromatógrafo Modelo HP G1800C GCD Series II, la columna utilizada en este trabajo es una HP-5 ms de marca Agilent la cual es una columna del tipo no polar, con un diámetro de 0.25 mm y longitud de 30 m.

Las características de esta columna son una composición de 5% de fenilo y 95% de dimetilpolisiloxano, además de tener un intervalo de temperatura de trabajo de 60 a 325 / 350 °C. Cabe mencionar que este tipo de columna es recomendado por el proveedor (Agilent Technologies) para análisis de tipo ambiental.

El gas de arrastre es He ultrapuro con un flujo de 1.0 mL/min, modo de inyección manual y modo SIM. Las condiciones cromatográficas para la separación y detección de los analitos se muestran en los Cuadros 6 y 7.

Cuadro 6. Condiciones cromatográficas para el análisis de contaminantes emergentes

Temperatura de inyector	250°C
Temperatura de la línea de transferencia	280°C
Rampas de temperatura	100 °C durante 1 min. , 20°C / min. Hasta 280°C y mantener durante 10 min.

Cuadro 7. Tiempos de retención y iones selectivos de los analitos de interés en el GC-MS modelo HP G1800C GCD Series II.

Compuesto	Tiempo de retención	Ion selectivo masas
Ibuprofeno	7.11	<u>278</u> , 263, 160
Almizcle cetona	9.07	<u>294</u> , 279
Triclosan	9.8	<u>362</u> , 200, 347
Estradiol	13.1	<u>416</u> , 285, 401, 129

Masas subrayadas corresponden al ion molecular del compuesto derivatizado en su caso.

La inyección de las muestras en el equipo es de 1 µL de forma manual con ayuda de jeringas cromatográficas marca Millipore.

10. Ensayos previos

Se realizaron ensayos previos al procedimiento descrito en este trabajo con el fin de identificar las principales dificultades en el manejo, comportamiento y aplicación del método que se implementó.

Los aspectos abordados dentro de estos ensayos previos fueron:

- Ensayos para identificar el solvente o mezcla de solventes para obtener la mejor extracción de los compuestos de interés en la matriz ambiental seleccionada.
- Análisis previos de materia orgánica en sedimento
- Condiciones para la separación de los compuestos derivatizados en modo SCAN y su posterior identificación para realizar las corridas cromatográficas en modo SIM (Monitoreo de un solo ion por sus siglas en inglés)
- Ensayos para identificar posibles interacciones del sistema GC con el derivatizante.

10.1. Selección de solvente o mezcla de solventes

En la literatura consultada son varios los métodos utilizados para la obtención de un buen medio para la extracción de los contaminantes emergentes que abarcan el análisis de polaridades y afinidades por medio de pruebas simultáneas con varios solventes y mezclas de estos.

Uno de estos métodos es el tratar los compuestos de manera separada, entre disruptores endocrinos y fármacos de tipo ácido, muchos estudios no toman en cuenta este paso se prefiere tratar las muestras como "mezcla" total de compuestos.

A pesar de tener la ventaja de reducir el tiempo de procesamiento, además de simplicidad en la técnica, se presenta la desventaja de aumentar la presencia de material interferente en la matriz en la muestra.

Esto puede afectar en la resolución de los picos, ocasionando un rápido deterioro por la contaminación en el sistema de entrada o una reducción rápida en la sensibilidad por la contaminación de otros componentes en la fuente de iones del detector.

Esto quiere decir que la elusión ácida puede considerarse como un procedimiento de limpieza.

Otro punto es el solvente o medio de elusión, el cual es mencionado en bibliografía citada con pruebas de fracciones de elusión con metano, acetato de etilo y acetona (Vanderford 2003; Vanderford 2006).

Gibson, 2007; Realiza pruebas con diferentes disolventes, entre ellos el metanol. En su estudio logra una recuperación aproximada del 90% en varios analitos y menos del 70% en 4-nonilfenoles.

En este estudio se hicieron pruebas con metanol como solución de elución, donde se inyectaron los estándares a concentraciones de 1 mg L^{-1} individualmente pero no se logró detectar ningún compuesto en los cromatogramas, por lo cual adjudicamos la falta de afinidad del disolvente por los analitos, esto se puede ver en la Figura 22.

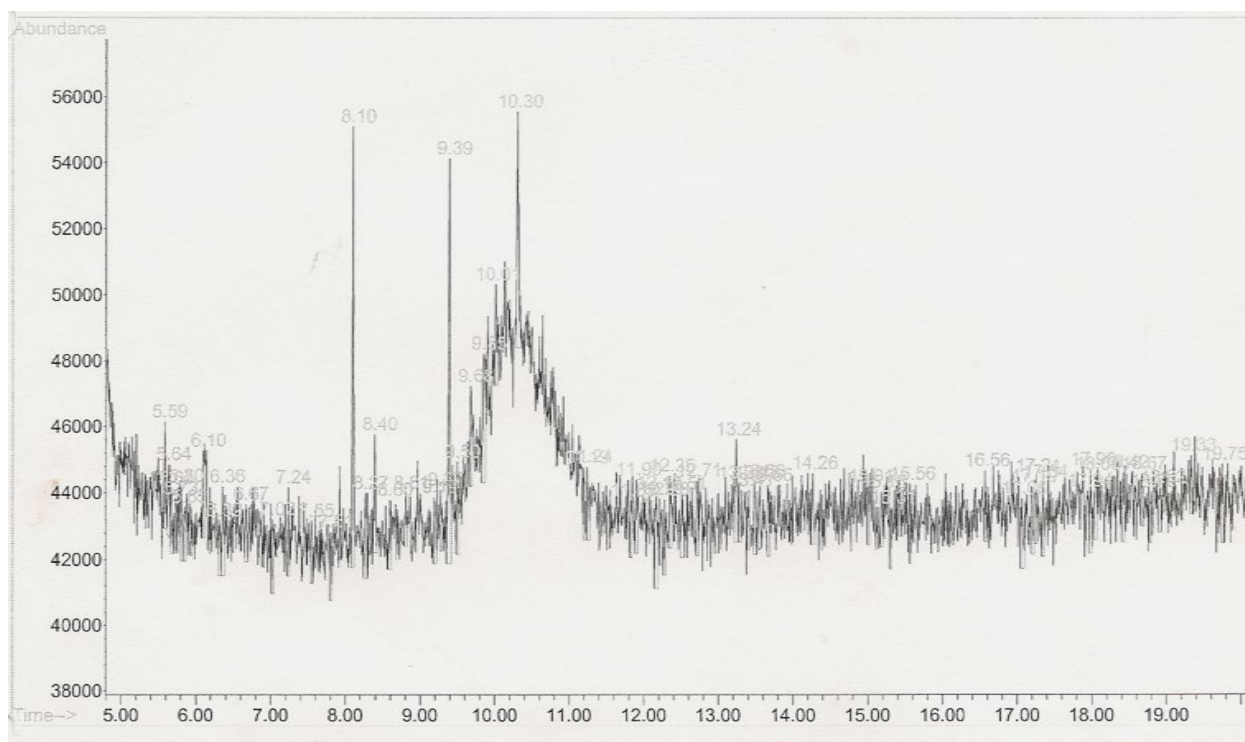


Figura 22. Cromatograma de prueba con metanol como medio de elución para estándares individuales a concentraciones de 1 mg L^{-1} .

Ningún pico corresponde a los compuestos que se buscan tanto en modo SCAN como en modo SIM, además de que falta definición en los cromatogramas.

Partiendo de esto y ensayos del procedimiento se decidió utilizar el acetato de etilo al ser uno de los solventes recomendados (utilizado) en la bibliografía citada en este trabajo (Gibson 2005; Gibson 2007; Díaz 2009).

Con este solvente se logran ensayos con una buena resolución y resultados donde podían observarse en su mayoría los compuestos de interés, estas pruebas se pueden observar en el apartado de “Condiciones cromatográficas”.

A pesar de que el solvente se comporto correctamente con la mayoría de los analitos, el problema radico en el β -estradiol a concentraciones menores a $30 \mu\text{g L}^{-1}$ durante la elusión de los estándares de agua Milli-Q. Este presentaba dificultades al cuantificar, inconsistencia en las repeticiones y picos no definidos.

Este problema se le adjudico a la elusión, donde al parecer el estradiol posiblemente tiene cierta dificultad al pasar por el cartucho SPE puesto que al realizar las inyecciones de estándares y puntos de la curva (sin pasar por el método de extracción) no se presentaba problema alguno en las mediciones.

10.2. Condiciones cromatográficas

Antes del análisis de las muestras ambientales, se realizaron corridas en modo “SCAN” de los compuestos derivatizados a concentraciones de 1 mg L^{-1} con acetato de etilo como solvente de elución.

10.2.1. Modo SCAN

En este modo el sistema hace barridos completos (full scan) para tener una información total del contenido de la muestra como se puede ver en la Figura 23.

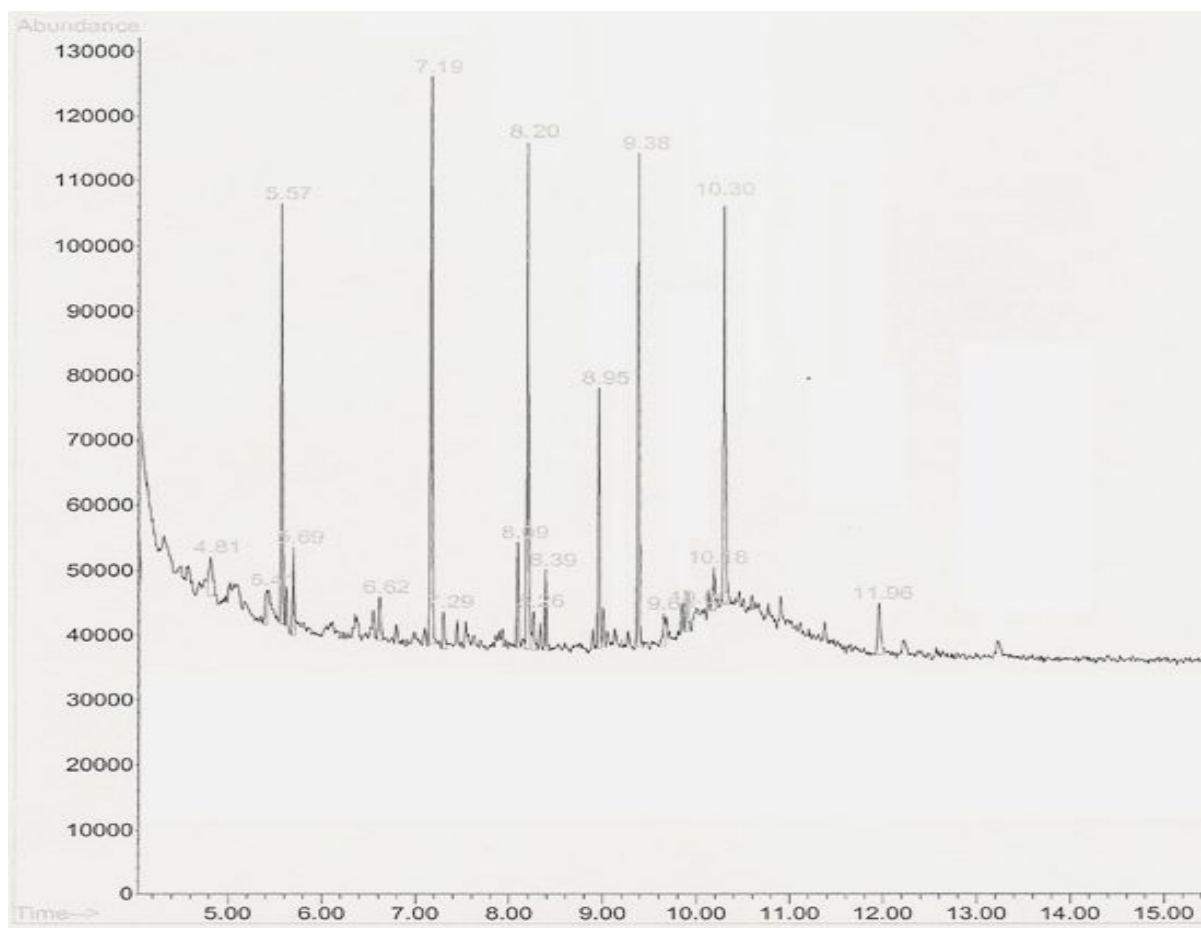


Figura 23. Cromatograma en modo SCAN de los compuestos derivatizados a concentraciones de 1 mg L^{-1}

Con ayuda de la base de datos y los iones moleculares se identifican los picos que corresponden a los espectros de masa que se relacionan con los analitos, para posteriormente hacer los análisis en modo “SIM” o monitoreo de iones seleccionados mostrados en la Figura 24.

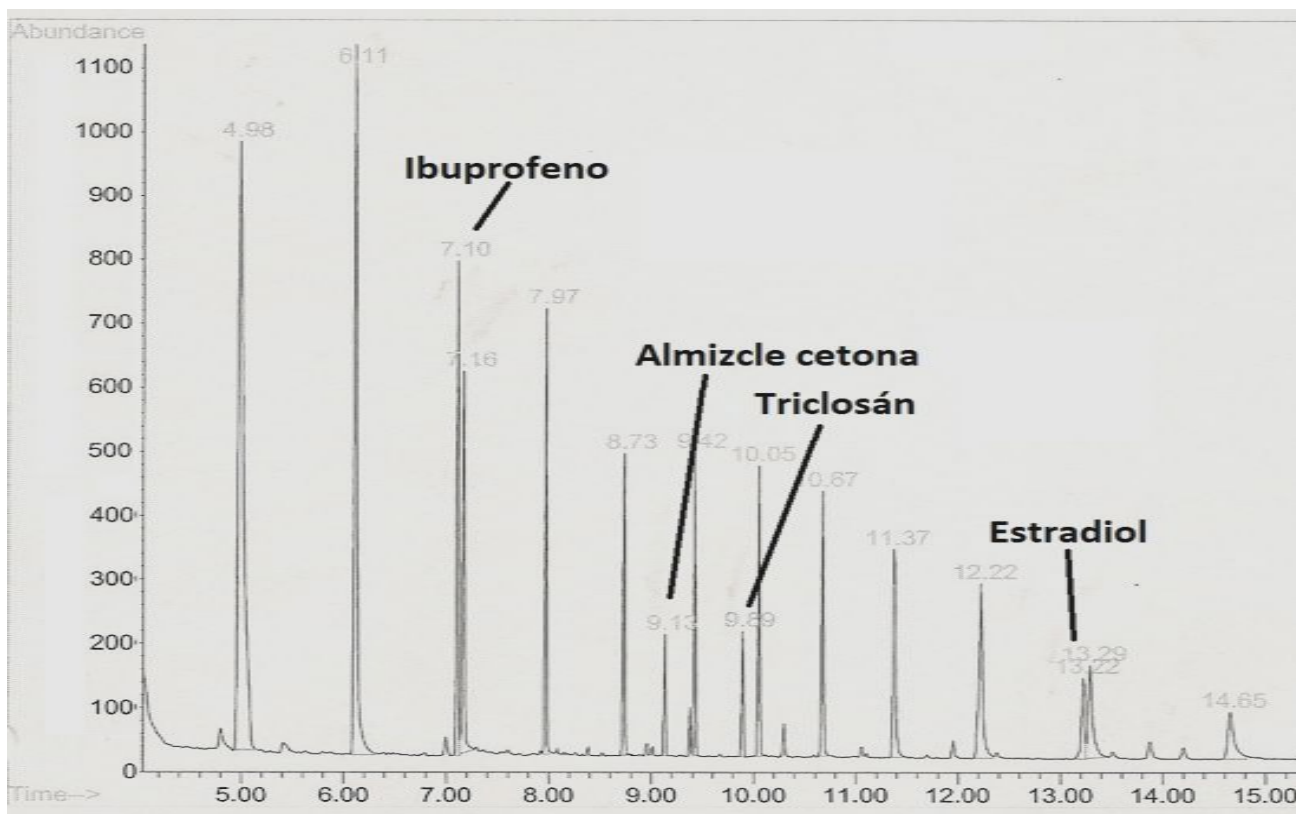


Figura 24. Cromatograma en modo SIM con la selección del ión molecular de los compuestos: Ibuprofeno (7.1), Almizcle cetona (9.1), Triclosán (9.8) y β -Estradiol (13.1).

Cabe destacar que en el monitoreo de ión selectivo se presentan picos extras en los cromatogramas, los cuales podemos definir como residuos de la reaccionar de derivatización, puesto que la derivatización no es una reacción específica y puede interaccionar con residuos o formar subproductos (ftalatos por ejemplo, en materiales de plástico).

Este problema se soluciona al hacer el análisis cromatográfico en modo SIM y agregar los demás iones característicos de cada compuesto al sistema de monitoreo de iones, como se describe a continuación.

10.2.2. Modo SIM

EL modo SIM consiste en la monitorización selectiva de iones característicos de los compuestos presentes en la muestra donde aumenta la sensibilidad del detector y se lo hace muy selectivo.

Es el modo a emplear para el análisis cuantitativo de trazas de compuestos conocidos como se muestra en la Figura 25.

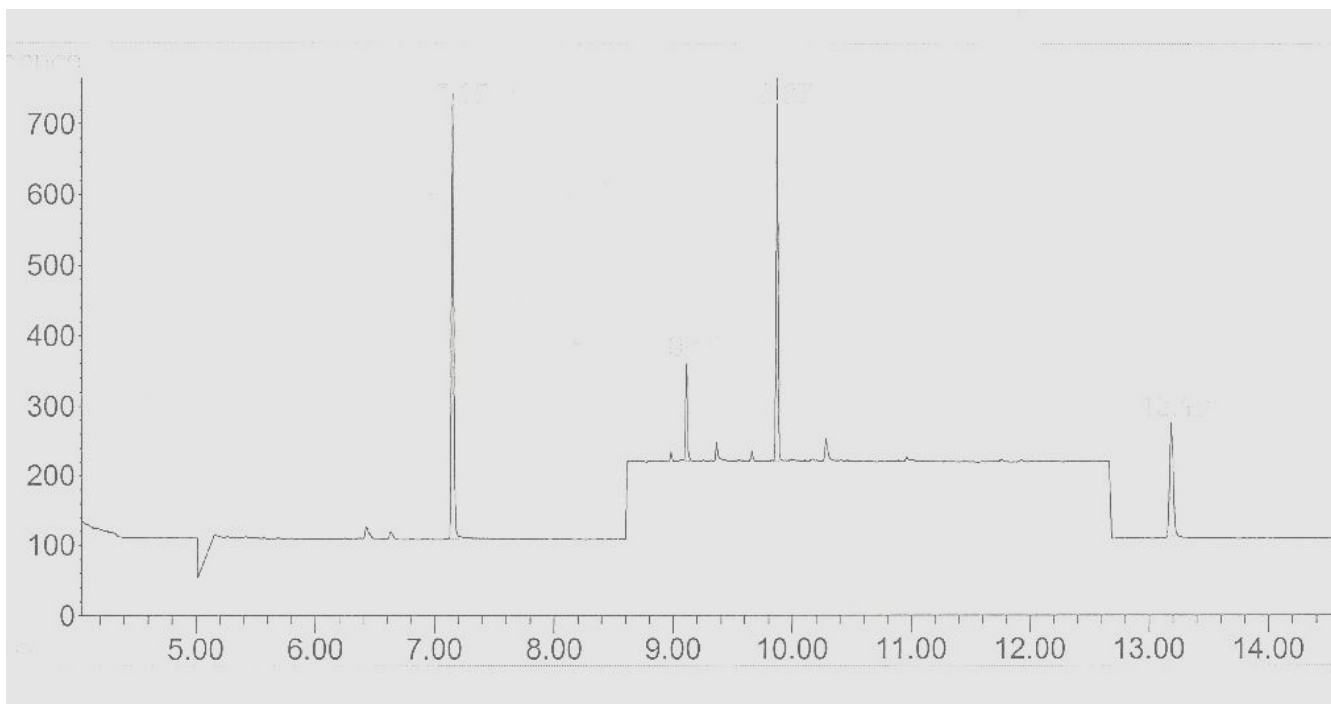


Figura 25. Cromatograma en modo SIM con los iones característicos de los compuestos: Ibuprofeno (7.1), Almicle cetona (9.1), Triclosan (9.8) y β -Estradiol (13.1).

10.3. Ensayos de derivatización.

Al ser nueva la técnica de derivatización para el cromatógrafo de la UNAAM, fue necesario hacer una serie de pruebas previas al estudio, las cuales consistieron en observar la interacción del derivatizante seleccionado con el equipo, como se muestra en la Figura 26.

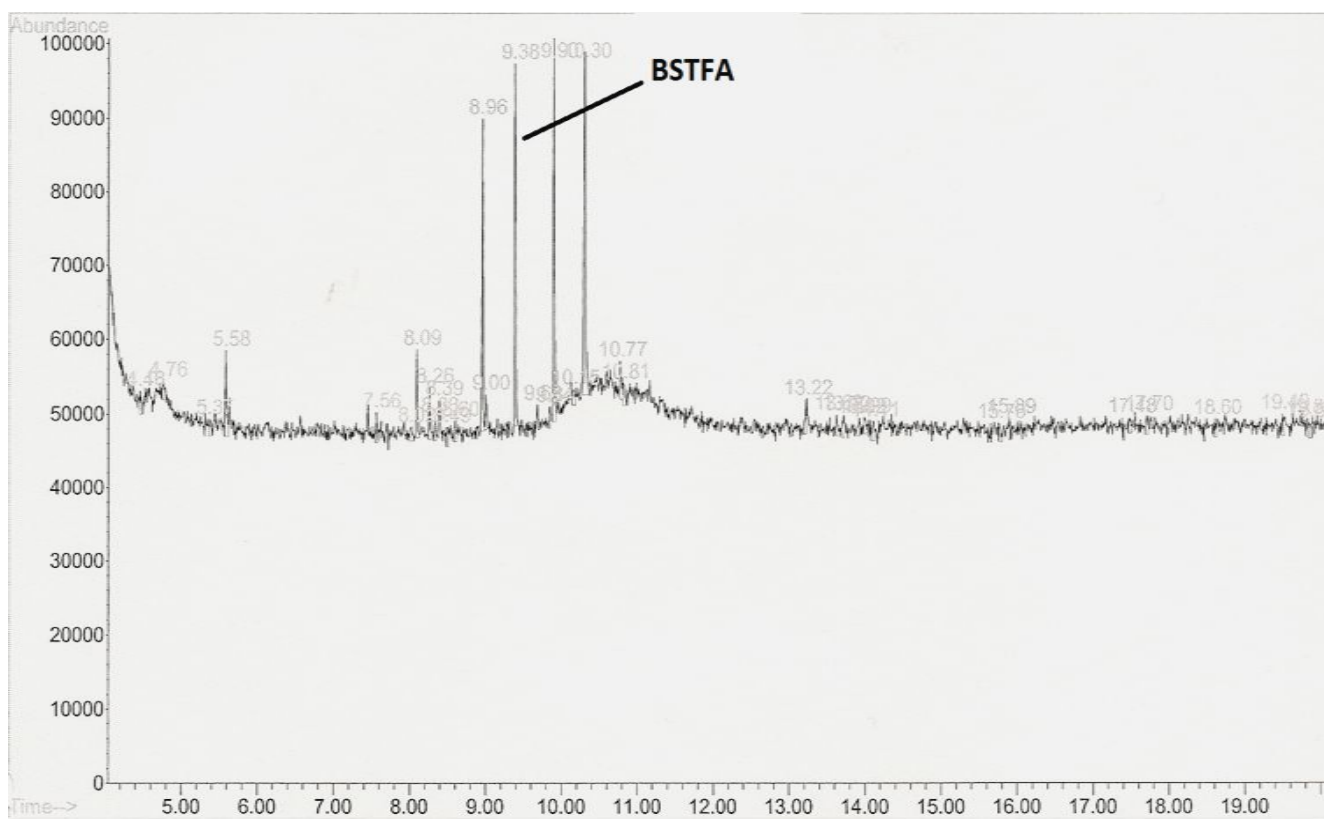


Figura 26. Cromatograma en modo SCAN del derivatizante BSTFA: TMCS 99:1 al ser inyectado al sistema GC.

Se inyecta el concentrado del derivatizante para poder observarlo en el cromatograma y posteriormente con ayuda de sus iones característicos, obtener el espectro de masas del compuesto.

A continuación en la Figura 27 se presenta el espectro de masas obtenido al utilizar los iones característicos del BSTFA en el sistema SIM.

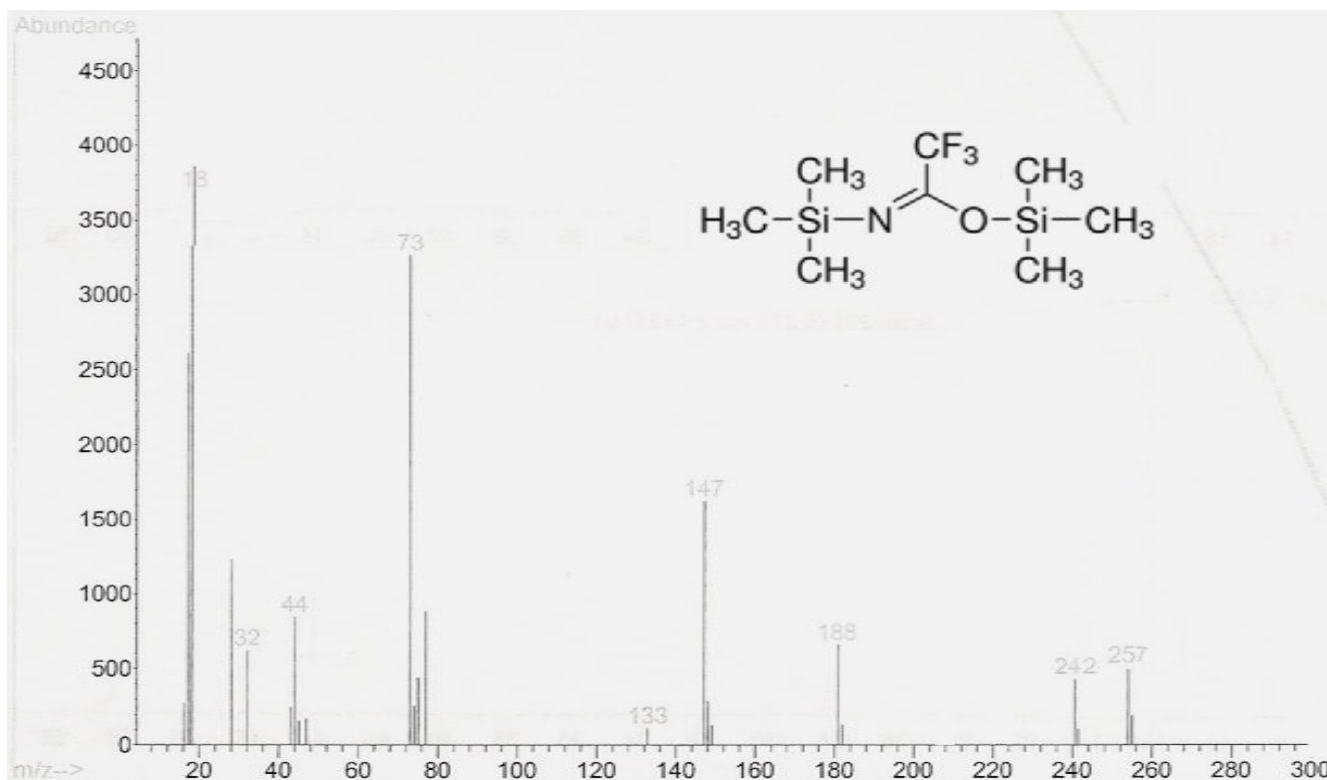
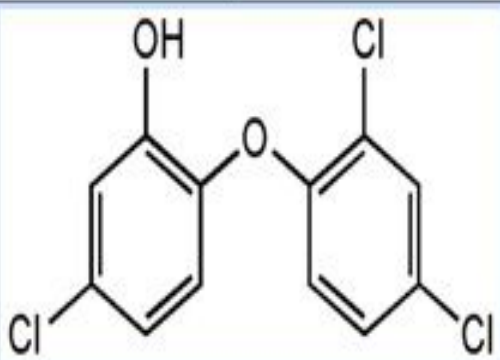
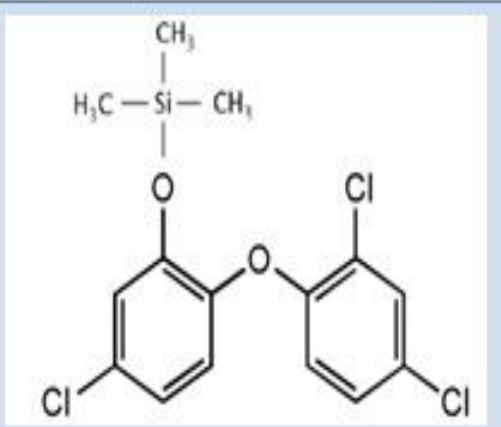
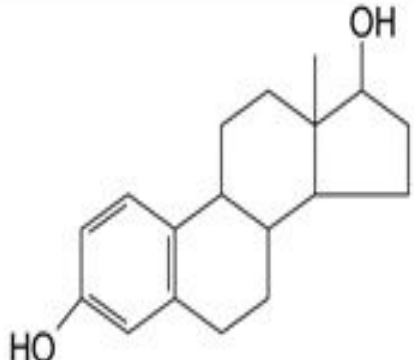
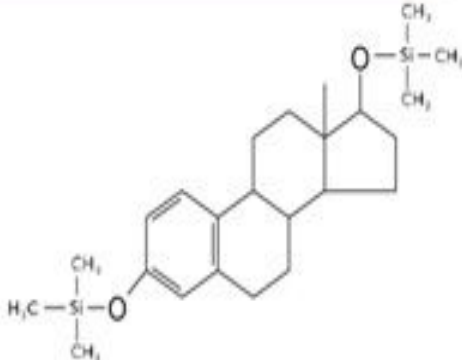
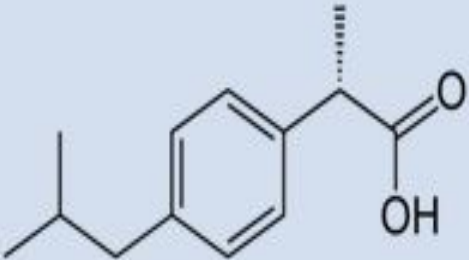
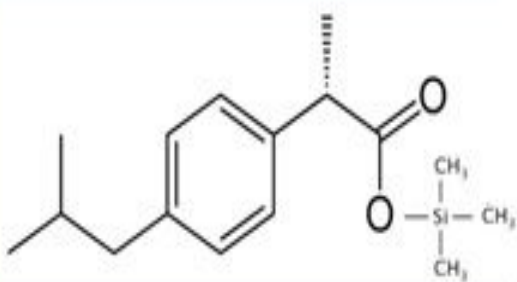


Figura 27. Espectro de masas del BSTFA: TMCS 99:1

Un factor a considerar es que el Almizcle cetona no cuenta con un sitio en su estructura para llevar a cabo la reacción de sililación, así que se trata junto con los demás disruptores endocrinos y se identifica como el mismo compuesto sin modificaciones por el derivatizante.

Los productos de la reacción entre el derivatizante y los compuestos se presentan en el cuadro 8 y sus respectivos espectros de masa en las Figuras 28, 29, 30 y 31.

Cuadro 8. Estructura de los analitos de interés antes y después de la reacción de derivatización.

	Compuesto	Compuesto derivatizado
Triclosan		
β -Estradiol		
Ibuprofeno		

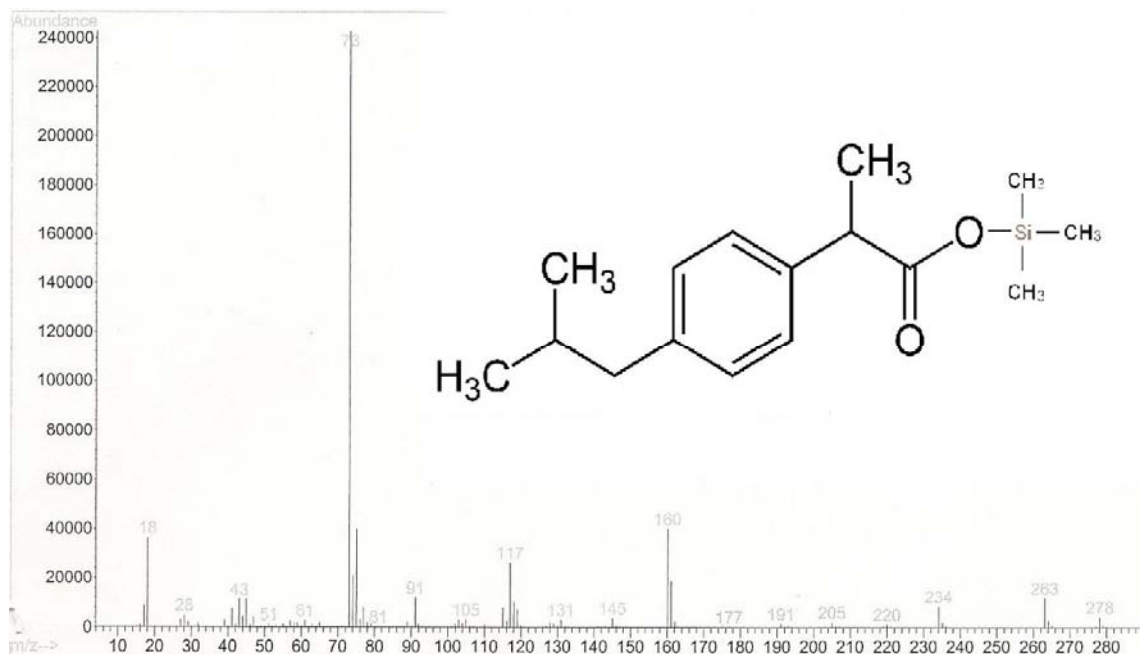


Figura 28. Espectro de masas del Ibuprofeno derivatizado.

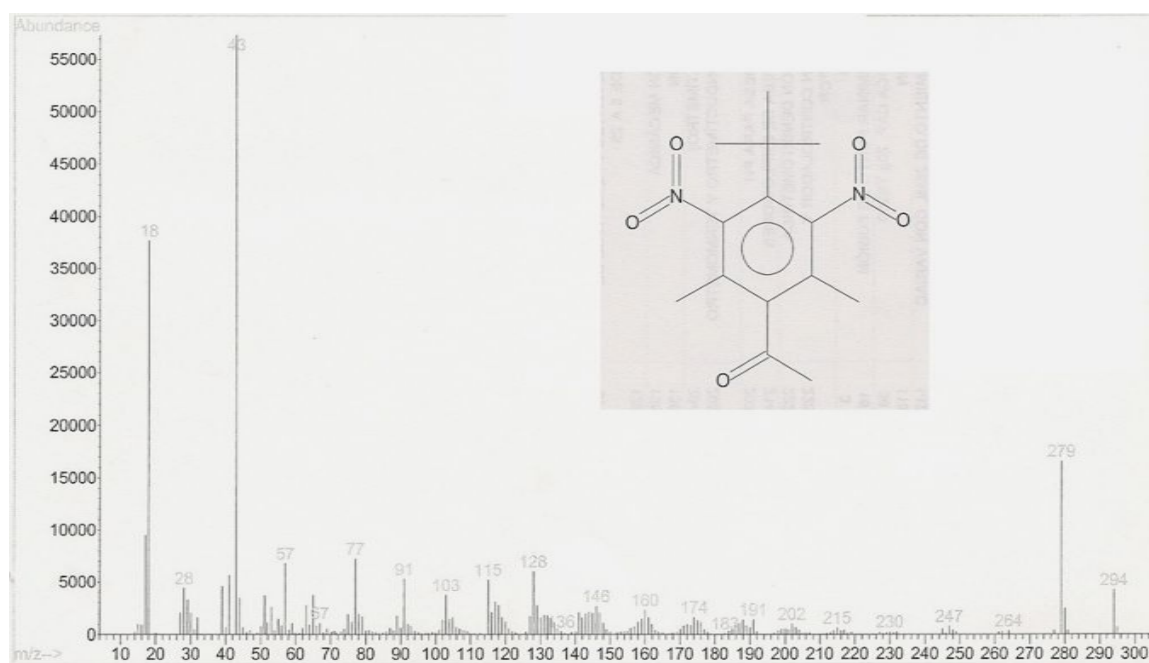


Figura 29. Espectro de masas de Almicle cetona derivatizado (no reacciona).

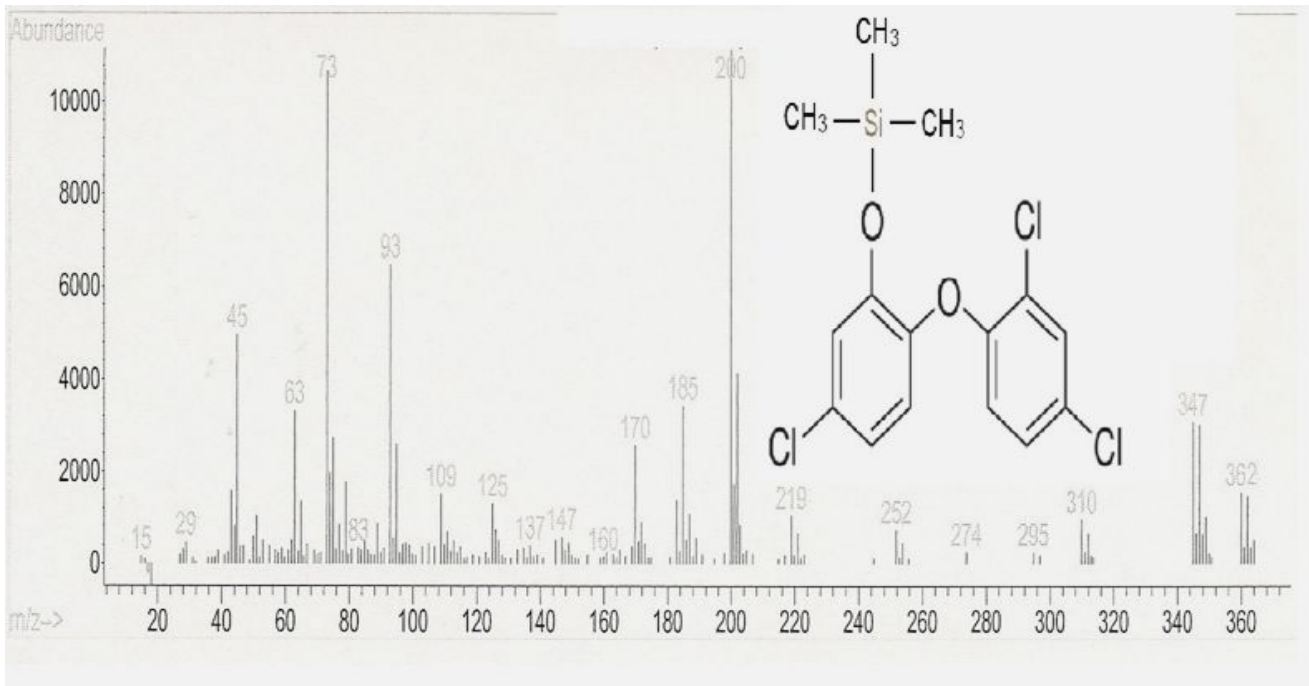


Figura 30. Espectro de masas del Triclosán derivatizado.

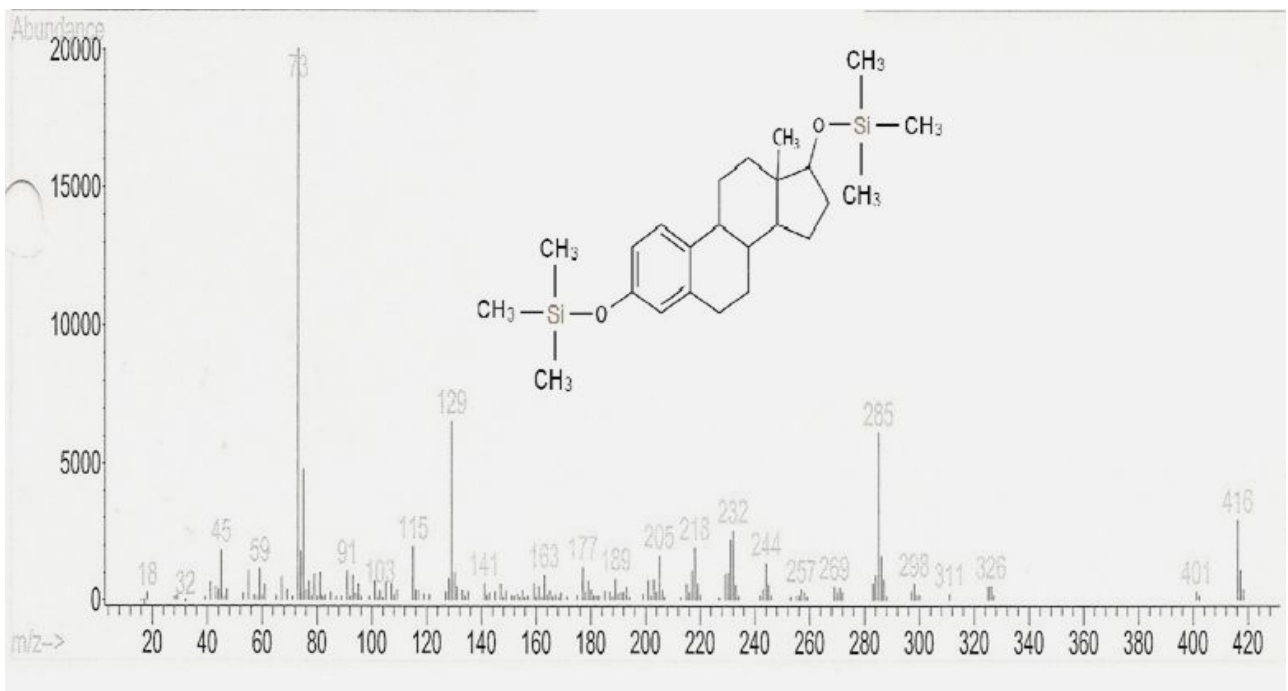


Figura 31. Espectro de masas del β-Estradiol derivatizado.

11. Validación del método

La validación de un método es el proceso por el cual se definen los requerimientos analíticos y confirma que la metodología estudiada cuenta con un desempeño consistente a la aplicación requerida. La validación se logra a través de la determinación de los parámetros de desempeño del método. Estos parámetros incluyen:

- ▶ Precisión
- ▶ Exactitud
- ▶ Linealidad (intervalo de trabajo)
- ▶ Límite de detección
- ▶ Selectividad y especificidad del método
- ▶ Estudios de efecto de matriz con muestras adicionadas

A estos parámetros estadísticos de un método, también se les conoce como parámetros de control de calidad de un método y son los parámetros que generalmente se reportan en la implementación del método.

11.1. Precisión/Repetibilidad

La precisión es el grado en el que los valores de una medición coinciden en un mismo resultado al repetirse en varias ocasiones. Cuando las determinaciones se llevan a cabo por un solo operador en un mismo instrumento en un periodo corto de tiempo (en un día), se le llama repetibilidad. En nuestro caso, la precisión es expresada en repetibilidad.

11.1.1. Repetibilidad del sistema CG-MS

Para determinar la repetibilidad del equipo, se realizaron cuatro repeticiones de dos concentraciones de la curva: 10 y 25 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Las áreas de los picos y la desviación estándar relativa (DSR) están plasmadas en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Áreas obtenidas en las repeticiones de la mezcla de analitos a dos niveles: 10 y 25 $\mu\text{g L}^{-1}$.

	Ibuprofeno		Almizcle cetona		Triclosán		β -Estradiol	
	10	25	10	25	10	25	10	25
Rep 1	653	2005	120	350	505	1609	258	832
Rep 2	652	2001	123	341	507	1600	255	828
Rep 3	655	2011	122	349	507	1610	250	832
Rep 4	650	2009	126	344	510	1603	254	830
DSR	2.08	5.03	2.64	4.93	2.06	5.5	2.38	2.3

Posterior a la lectura se procede a realizar el cálculo de las concentraciones, las cuales se muestran en el Cuadro 10.

Cuadro 10. Concentraciones obtenidas en las repeticiones de la mezcla de analitos a dos niveles: 10 y 25 $\mu\text{g L}^{-1}$.

	Ibuprofeno		Almizcle cetona		Triclosán		β -Estradiol	
	10	25	10	25	10	25	10	25
Rep 1	8.20	24.09	9.28	28.27	7.94	25.67	8.65	24.34
Rep 2	8.19	24.04	9.52	27.53	7.98	25.52	8.76	24.24
Rep 3	8.23	24.16	9.69	28.19	7.98	25.68	8.62	24.34
Rep 4	8.17	24.13	9.77	27.78	8.02	25.57	8.73	24.29
DSR	0.02	0.05	0.21	0.35	0.03	0.07	0.06	0.05

En la tabla se puede observar que las desviaciones estándar (DSR) son bastante bajas, demostrando que a pesar de la inyección manual la consistencia de los resultados es alta y tienen un valor admisible de DSR de acuerdo a la regla general de DSR aceptados en el Cuadro 11.

También se observa de los resultados de DSR, que las mayores concentraciones de los analitos generan un mayor error. La razón de esto puede adjudicarse a que al aumentar la concentración de los analitos, el sistema de detección en modo SIM comienza a saturarse ocasionando errores o dificultades en las lecturas.

Cuadro 11. DSR aceptables para determinación de diferentes concentraciones.

Concentración	<u>Repetibilidad %</u> <i>(DSR=S/μ X 100)</i>
100%	1
10%	1.5
1%	2
0.1%	3
0.01%	4
10 ppm	6
1 ppm	8
10 ppb	15

El índice HorRat (Horwitz 2006) es un parámetro normalizado que se utiliza como otro criterio que indica la aceptabilidad en la precisión (reproducibilidad) de un método de análisis. De esta manera, se considera que una repetibilidad es aceptable si el índice de HorRat tiene un valor entre 0.5-2.

Así, el índice de HorRat se define como:

$$\text{HorRat}_r = \text{DSR (práctica)} / \text{DSR (calculada)}$$

Donde:

DSR (práctica) es la desviación estándar relativa de las repeticiones experimentales

DRS (calculada) = $2C^{-0.15}$, donde C es la concentración en %

El cuadro 12 muestra el índice de HorRat calculado para una concentración de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ para los analitos de estudio. Se puede observar que todos caen dentro del intervalo que se considera un valor aceptable.

Cuadro 12. Índice de HORRAT para las repeticiones de los compuestos a $10 \mu\text{g L}^{-1}$.

HorRat	
Ibuprofeno	1.56
Almizcle cetona	1.98
Triclosán	1.55
β -Estradiol	1.73

11.1.2. Repetibilidad del método

Para una buena práctica de control de calidad de un método, es necesario que se determina la repetibilidad del método completo (desde la extracción hasta la cuantificación cromatográfica), de tal manera que la repetibilidad expresada sea el reflejo de la suma de errores posibles a lo largo del método.

La expresión de repetibilidad de solo el equipo de detección es una práctica común en los reportes de métodos (por su facilidad), pero es errónea.

De esta manera, se reporta también la repetibilidad del método y se realiza con 5 repeticiones de los estándares preparados con los analitos en agua Milli-Q, las concentraciones se muestran en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Concentración de los estándares en agua Milli-Q en $\mu\text{g L}^{-1}$.

Ibuprofeno	10
Almizcle cetona	10
Triclosán	10
β -Estradiol	30

La concentración utilizada para el β -estradiol fue significativamente mayor que los otros analitos ya que a concentraciones menores a $30 \mu\text{g L}^{-1}$ no fue posible obtener valores determinantes de calidad en el análisis.

Las concentraciones detectadas en el cromatógrafo se encuentran reportadas en el Cuadro 14.

Cuadro 14. Concentraciones en las repeticiones de los estándares de agua Milli-Q adicionados $\mu\text{g L}^{-1}$.

	Ibuprofeno	Almizcle cetona	Triclosán	β-Estradiol
Rep 1	9.31	9.56	8.26	24.11
Rep 2	9.23	9.17	8.09	24.59
Rep 3	8.05	9.86	8.40	18.55
Rep 4	9.34	8.07	8.45	15.54
Rep 5	9.22	9.28	8.5	16.44
DSR	0.55	0.67	0.16	4.25

Se puede observar que el almizcle, el Triclosán y el Ibuprofeno tienen un valor aceptable de DSR de acuerdo a la regla general de DSRs aceptados de acuerdo a las concentraciones determinadas (Cuadro 10).

Por su parte el estradiol tienen el mayor DSR y que de acuerdo a la regla general de concentraciones, su repetibilidad no es aceptable.

Cabe aclarar que la tabla expresa un aproximado de lo que se considera aceptable y aunque el DSR del estradiol es relativamente alto, es necesario tomar en cuenta que el método aquí estudiado, tiene varios pasos complicados que pueden aumentar los errores que se van sumando al error total (la inyección manual en el cromatógrafo, como ejemplo).

Los cromatogramas en modo SIM de los compuestos se pueden observar en las figuras 32 y 33.

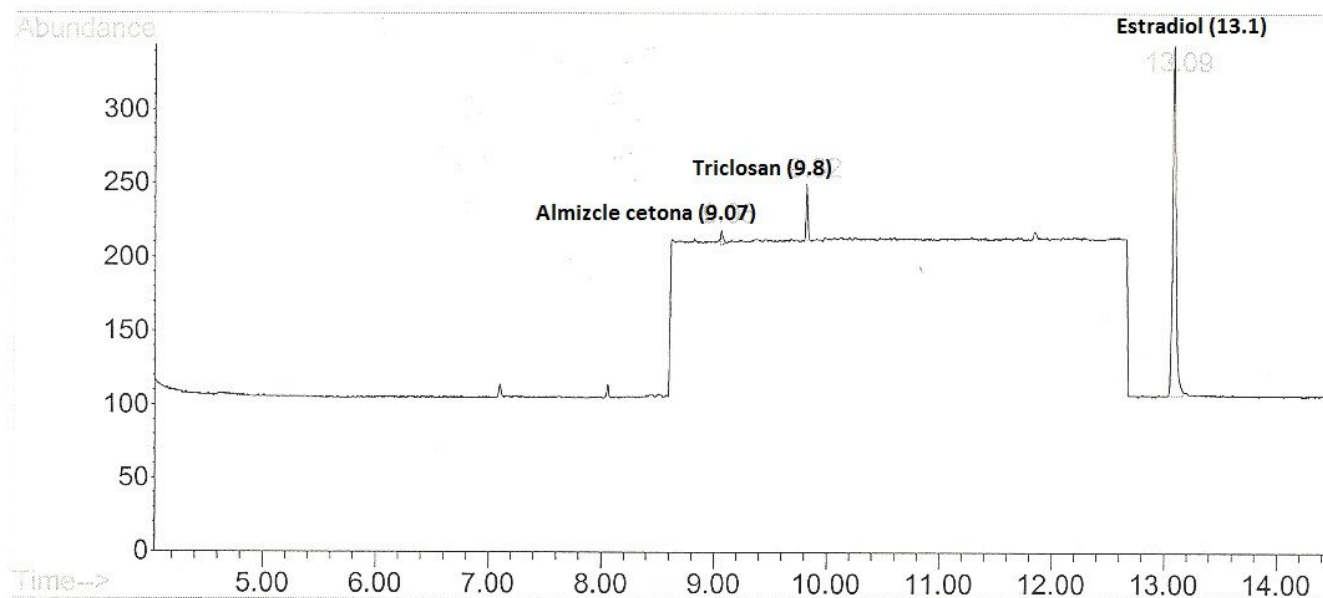


Figura 32. Cromatograma en modo SIM de la fracción de disruptores endocrinos, estándares en agua Milli-Q después de su extracción a través de SPE.

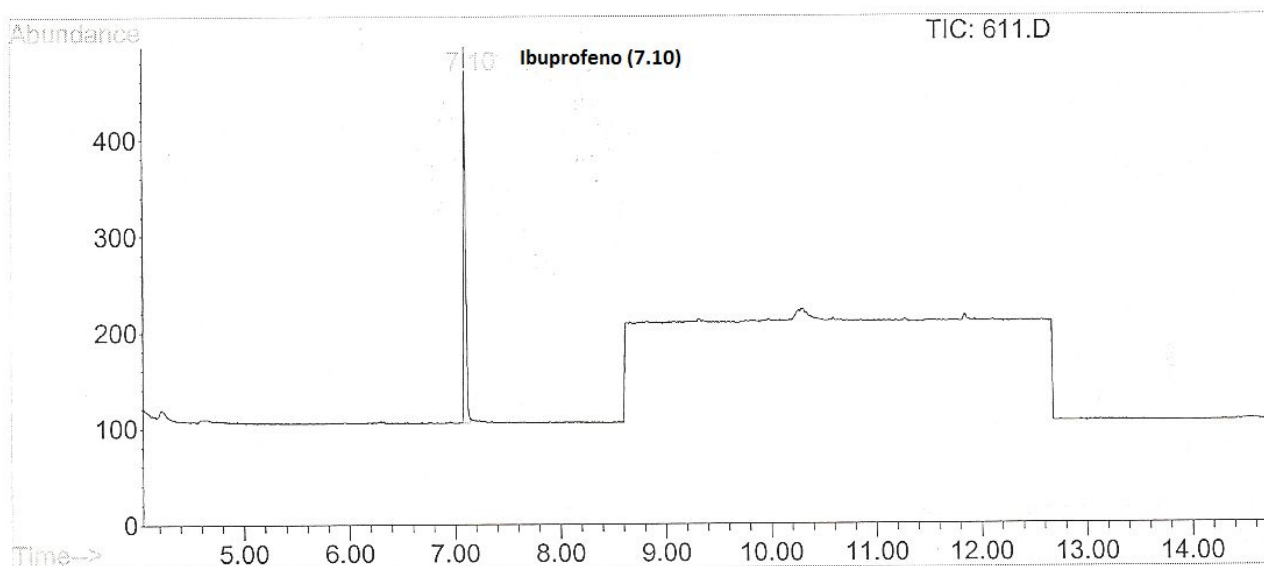


Figura 33. Cromatograma en modo SIM de la fracción del fármaco ácido en agua Milli-Q adicionados después de su extracción a través de SPE.

11.2. Exactitud

El término exactitud se refiere a que tan cerca se está del valor real en la medición, mientras que la Veracidad es que tan cerca está el valor promedio del valor real. Estas concentraciones se encuentran reportadas en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Concentraciones en $\mu\text{g L}^{-1}$ y recuperaciones en las repeticiones de los estándares de agua Milli-Q adicionados.

	Ibuprofeno	Almizcle cetona	Triclosán	β -Estradiol
Rep 1	9.31	9.56	8.26	24.11
Rep 2	9.23	9.17	8.09	24.59
Rep 3	8.054	9.86	8.4	18.55
Rep 4	9.34	8.07	8.45	15.54
Rep 5	9.22	9.28	8.5	16.44
Promedio	9.03	9.19	8.34	19.85
Valor teórico	10	10	10	30
Recuperación (%)	90.3	91.9	83.4	66.1

Es necesario tomar en cuenta varios factores los cuales consideramos pueden llegar a afectar el experimento (degradación, afinidad por el solvente de elusión, impurezas presentes).

11.3. Límite de detección/Sensibilidad

El límite de detección se define como la concentración más pequeña del analito que se puede distinguir inequívocamente del ruido (cero). Por su parte, la sensibilidad es la capacidad del método para cambiar la intensidad de la señal con respecto a la concentración. Pero, no existe parámetro estadístico en la validación que indique la sensibilidad.

De ahí que la sensibilidad del método se integra dentro del límite de detección, de tal manera:

$$C_{LD} = \frac{DS}{m}$$

Donde:

C es la concentración o masa límite de detectar

m es la pendiente de la curva de calibración en las bajas concentraciones

Este cálculo se utiliza para determinar cuál es la mínima concentración o masa que se podrá o pudo detectar utilizando el método que se está validando o se validó.

A continuación se presentan en el Cuadro 16 los límites de detección donde se toma en cuenta la desviación estándar del punto más bajo de la curva y la pendiente de esta para la obtención del dato.

Cuadro 16. Límites de detección para el equipo en modo SIM en estándares de agua Milli-Q adicionados en unidades $\mu\text{g L}^{-1}$.

LD Ibuprofeno	0.079
LD Almicle cetona	0.27
LD Triclosán	0.03
LD β -Estradiol	0.12

Los resultados obtenidos son comparables con las mediciones de ibuprofeno y de almizcle en los estudios realizados por Rice, 2007. Los límites de detección reportados fueron de $0.02 \mu\text{g L}^{-1}$ en ibuprofeno y $40\text{-}50 \mu\text{g L}^{-1}$ detectado en sedimento y en Almicle Cetona $0.26 \mu\text{g L}^{-1}$ para el límite de detección y no detectado en el ambiente (sedimento).

11.4. Selectividad y especificidad del método

Selectividad es la capacidad de un método de distinguir un cierto analito de otras sustancias. En términos prácticos, la selectividad de un método decrece cuando:

- La composición de la muestra es incierta.
- La complejidad de la matriz aumenta.
- Los componentes de la matriz no difieren mucho del analito a determinar.
- Se determinan un gran número de analitos.
- Los analitos a determinar son similares.
- Decrece la concentración del analito.

La selectividad se puede incrementar:

- Usando métodos analíticos selectivos.
- Eliminando la influencia de componentes interferentes por exclusión o encubrimiento.

En este estudio se aumentó la selectividad de los analitos analizando solo uno por familia de compuestos de interés y al usar un método selectivo como es el monitoreo de un solo ión (SIM por sus siglas en inglés). En la sección de “Métodos”, se describió como se hace el modo SIM.

La Figura 34, muestra los cromatogramas en modo SCAN y en modo SIM. Se puede observar que en los cromatogramas se “limpian” de picos que dificultan monitorear los analitos de interés.

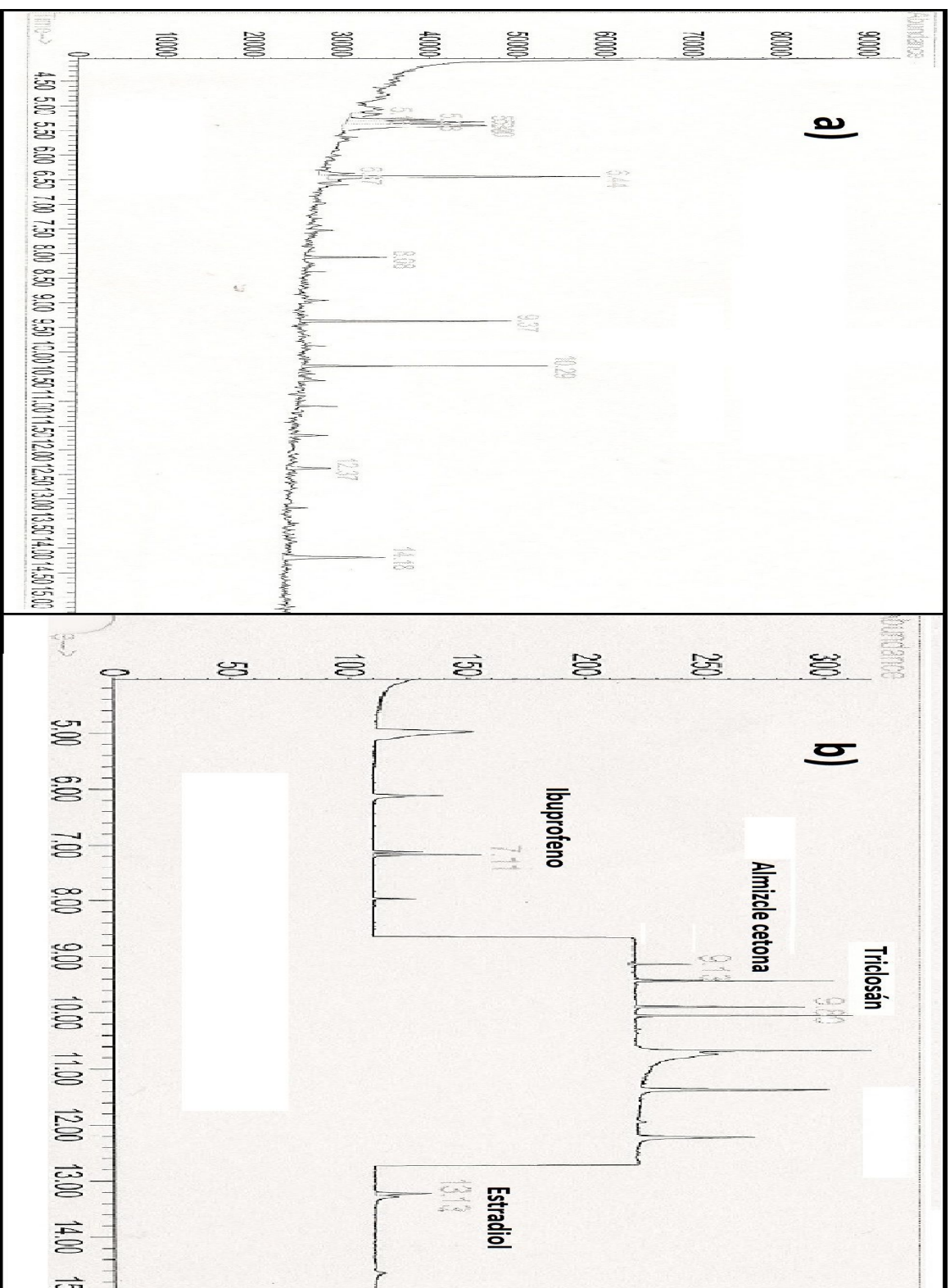


Figura 34. En modo SCAN (a) se hacen barridos completos (fullscan) para tener una información total del contenido de la muestra. En el modo SIM (b) se hace la monitorización selectiva de iones característicos de los compuestos presentes en la muestra

Dependiendo del tipo de técnica analítica, la selectividad se puede expresar de varias maneras. En el caso de detecciones cromatográficas, la selectividad se puede expresar como:

$$R_s = \frac{\Delta t}{\frac{1}{2}(W_A + W_B)}$$

Donde

R_s es la resolución entre picos cromatográficos

Δt es la diferencia de tiempo entre el pico A y el pico B

W_A es la anchura del pico A en su

W_B es la anchura del pico B en su base

Para la resolución entre picos cromatográficos en este trabajo se presentan los resultados en el Cuadro 17 y 18.

Cuadro 17. Datos de tiempo de retención y ancho de pico.

	Tiempo de retención (t)	Ancho del pico (W)
Ibuprofeno	7.11	0.063
Almizcle cetona	9.07	0.043
Triclosán	9.8	0.043
β -Estradiol	13.1	0.071

- Δt (Ibuprofeno – Almizcle cetona) = 1.96
- Δt (Almizcle cetona-Triclosán)= 0.73
- Δt (Triclosán – β -Estradiol)= 3.3

Cuadro 18. Resolución cromatográfica

R(Ibuprofeno – Almizcle cetona)	36.98
R(Almizcle cetona-Triclosán)	16.98
R(Triclosán – β -Estradiol)	57.89

Son tres los factores que influyen en la resolución cromatográfica: la retención, la selectividad y la eficiencia, de tal modo que controlando todas las anteriores se tiene una buena separación de los picos.

11.5. Efectos de matriz

Para verificar los efectos que la matriz pudiera tener en el agua de poro, se aplicó el método de adición implementado a una fracción de muestras ambientales de agua de poro.

La adición fue de una mezcla de ibuprofeno, almizcle y triclosán a 10 y β -estradiol a 30 ($\mu\text{g L}^{-1}$ de acuerdo al estudio con estándares de agua Milli-Q).

El Cuadro 19 muestra las recuperaciones obtenidas.

Cuadro 19. Porcentaje de recuperación promedio para el agua de poro adicionada.

	Ibuprofeno	Almizcle cetona	Triclosán	β-Estradiol
Apatlaco	77.4	64.8	72.3	57.2
Ampampilco	82.9	80.3	78.8	57.1
La Asunción	75.7	83.5	81.7	50.8
La Draga	95.1	78.1	78.1	52.7
Texhuilo	76.1	87.9	77.2	57.9
Tlicuilli	83	69.9	80.3	52.4
PROM	81.7	77.4	78.1	54.7

De los resultados de recuperación de las muestras adicionadas, se puede observar menores recuperaciones a los estándares preparados con agua Milli-Q, indicando que probablemente se tienen efectos de matriz.

Una posible explicación es que el gran contenido de materia orgánica en sedimentos y por tanto en agua de poro, interaccionen con los analitos, de tal manera que la atracción con el solvente utilizado en la extracción no tenga la suficiente polaridad para competir con la atracción de los analitos con la materia orgánica. Este fenómeno ya ha sido descrito por Rice, 2007 y por Acosta, 2010.

En cuanto a las recuperaciones se tienen datos similares a los reportados por otros estudios:

Duran, 2009; obtuvo recuperaciones de Ibuprofeno entre $80 \pm 4 - 104 \pm 3$, triclosán entre $88 \pm 4 - 120 \pm 4$ y estradiol entre $68 \pm 1 - 78 \pm 1$, datos obtenidos en suelo. El concluye que las recuperaciones del método analítico son aceptables y concuerdan con las normas europeas (Diario Oficial de la Unión Europea 2000; Diario Oficial de la Unión Europea 2007; Diario Oficial de la Unión Europea 2009; Diario Oficial de la Unión Europea 2009; Diario Oficial de la Unión Europea 2012), sin embargo, sus resultados en los disruptores endocrinos muestran fluctuaciones, adjudicando esto a la variada naturaleza química de este grupo, además de la dificultad para el análisis de compuestos a nivel traza en conjunto con la matriz.

También podemos comparar resultados con el caso de Acosta, 2010; en el cual se observan menores recuperaciones en muestras de suelo comparándolas con las muestras de las aguas residuales.

En este estudio se obtuvieron las aguas de poro a partir de muestras de sedimento y al comparar se presentan dificultades por el tipo de matriz, esta diferencia puede deberse a las características que constituyen a la matriz ambiental (agua de poro obtenida de sedimento vs muestras de suelo).(Schults, Ferraro et al. 1992)

Rice, 2007; 89.6 \pm 2.89 % (almizcle cetona, triclosán y estradiol) y 25.0 \pm 1.93 % (Ibuprofeno); hace mención de aquellas partículas que forman parte de la matriz y como afectan al momento de realizar el análisis cromatográfico al interferir en la detección.

Vanderford, 2006; por arriba del 80% de recobro (triclosán, Ibuprofeno y estradiol)

Trenholm, 2006; 72% almizcle, 92% estradiol, 96% ibuprofeno y 79% triclosán.

A pesar de los efectos de matriz identificados con las muestras de estudio, se consideraron aceptables para un estudio exploratorio de la zona.

12. Resultados y análisis

13. Estudio de muestras de agua de poro de la zona

chinampera de Xochimilco

El muestreo se realizó en el mes de junio del 2013, época de secas de la zona de estudio. Se prefirió la época de secas debido a que supone mayor concentración de contaminantes que se acumulan en el fondo de los canales. En los puntos de muestreo también se tomaron los parámetros fisicoquímicos del lugar.

13.1. Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos mostrados en el Cuadro 20 en los canales presentan una variación notable en el pH, conductividad y el oxígeno disuelto.

De acuerdo a su profundidad, el canal de Apatlaco es el de mayor profundidad con 1.75 m y el de Tlicuilli el de menor con 0.8 m.

Este dato de profundidad se relaciona con el de conductividad donde Apatlaco es el de mayor con 938 $\mu\text{s} / \text{cm}$ y Tlicuilli con 856 $\mu\text{s} / \text{cm}$.

En el caso del pH se notan más variaciones en las mediciones donde Texhuilo presenta mayores niveles y Asunción presenta menores niveles en el caso del pH.

Para el oxígeno disuelto Apatlaco es el de mayor nivel y tanto La Draga como La Asunción se presentaron como los de menores niveles de medición. Esto puede ser debido al flujo de los efluentes y la materia orgánica presente en los canales.

Cuadro 20. Parámetros fisicoquímicos de los puntos muestreados.

	Profundida d (m)	pH	Temperatur a (C°)	Oxigeno disuelto (ppm)	Salinidad (PSU)	Conductivida d (µs / cm)	TDS (ppm)	Resistividad (MQ.cm)
La Draga	1.2	7.58	20.87	1.32	0.43	921	440	0.0012
Asunción	1.3	7.6	20.9	n.d.	0.43	920	447	0.0012
Ambamblico	1.1	8.13	21.56	2.37	0.42	857	428	0.0012
Texhuilo	1.3	8.21	22.4	6.58	0.42	854	427	0.0012
Ticcuilli	0.8	7.74	21.36	3.48	0.42	856	428	0.0012
Apatlaco	1.75	8.02	22.51	4.85-5.67	0.46	938	470	0.0011

13.2. Curvas de calibración para muestras de agua de poro

A continuación en el Cuadro 21 se presentan los datos de las curvas de calibración para las muestras de agua de poro obtenidas del área protegida de Xochimilco, se realizaron a partir de $5 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta una concentración de $50 \mu\text{g L}^{-1}$.

Cuadro 21. Datos de calibración de las muestras de agua de poro.

	Ecuación de la recta	Linealidad
Ibuprofeno	$y = 81.309x + 6.590$	$R^2 = 0.9916$
Almizcle	$y = 11.488x + 16.669$	$R^2 = 0.9918$
Triclosan	$y = 59.542x + 47.134$	$R^2 = 0.9913$
β-Estradiol	$y = 35.509x - 47.409$	$R^2 = 0.9922$

En las figuras 35, 36, 37 y 38 se presentan las curvas de calibración para las muestras ambientales.

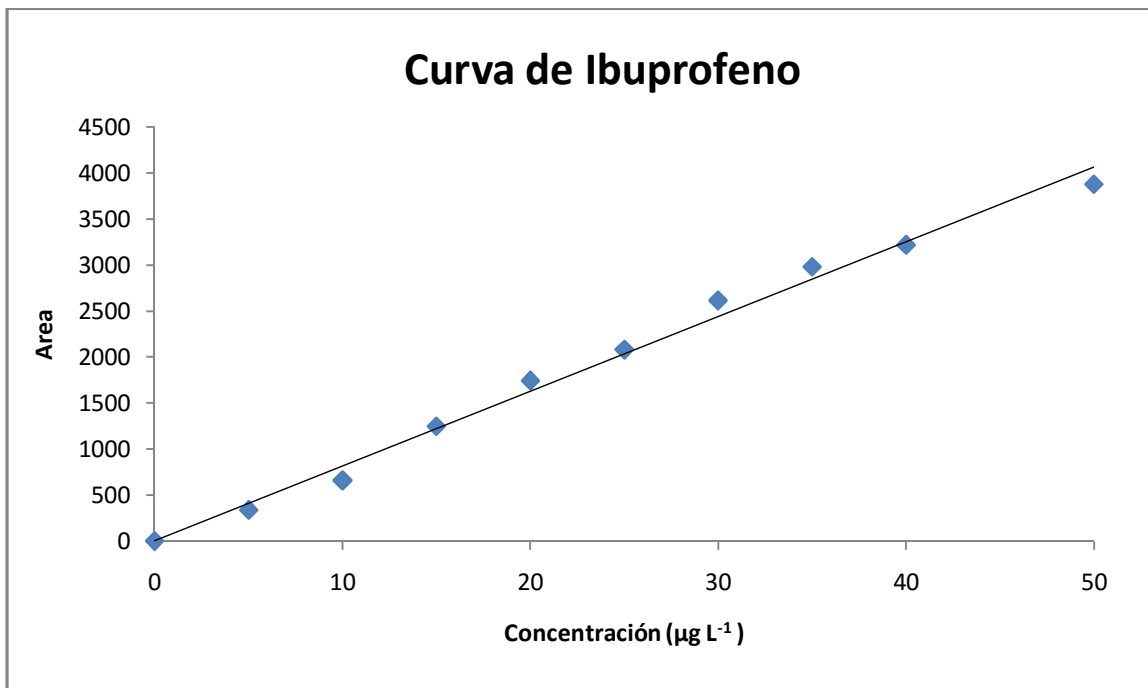


Figura 35. Curva de calibración del Ibuprofeno

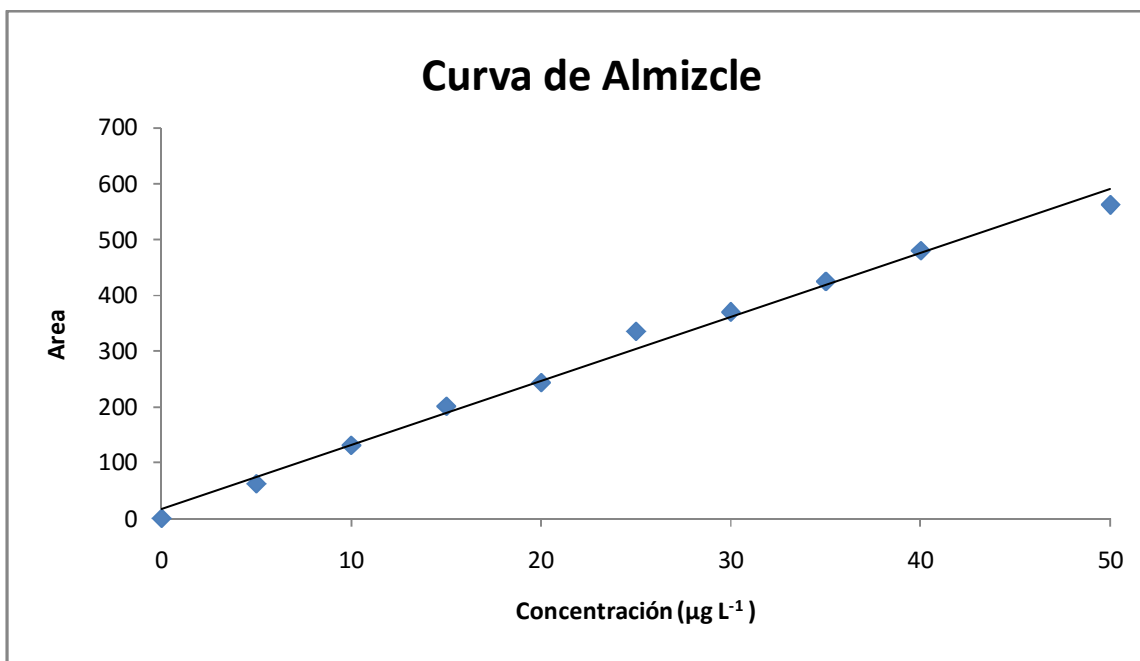


Figura 36. Curva de calibración del Almizcle Cetona

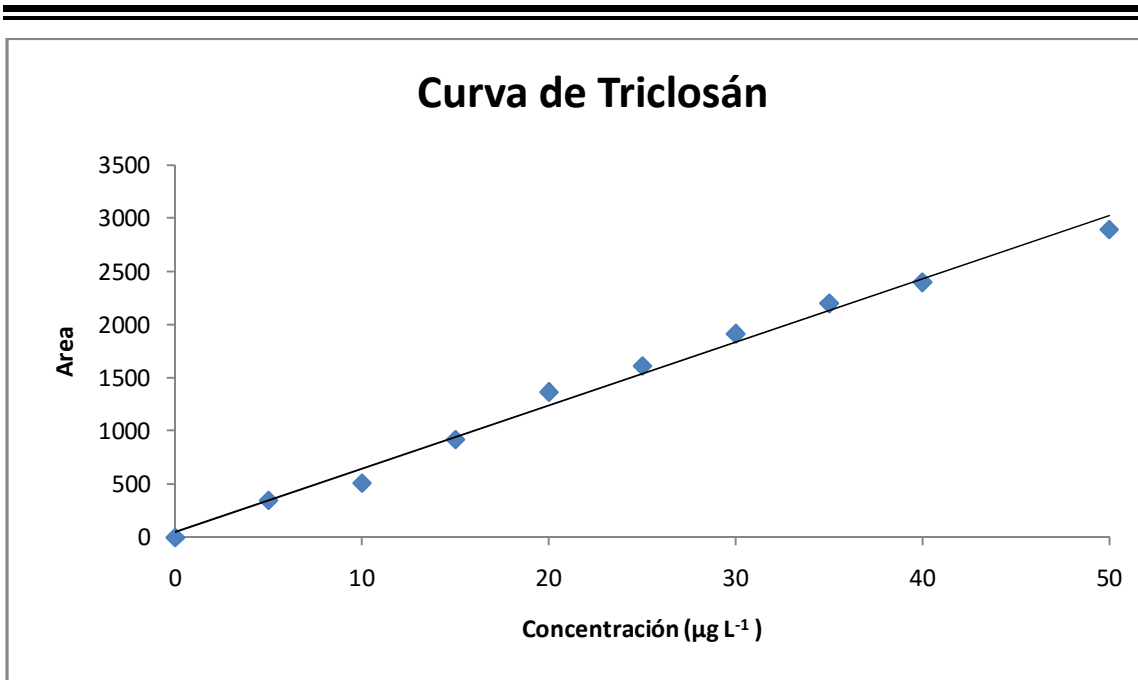


Figura 37. Curva de calibración del Triclosán

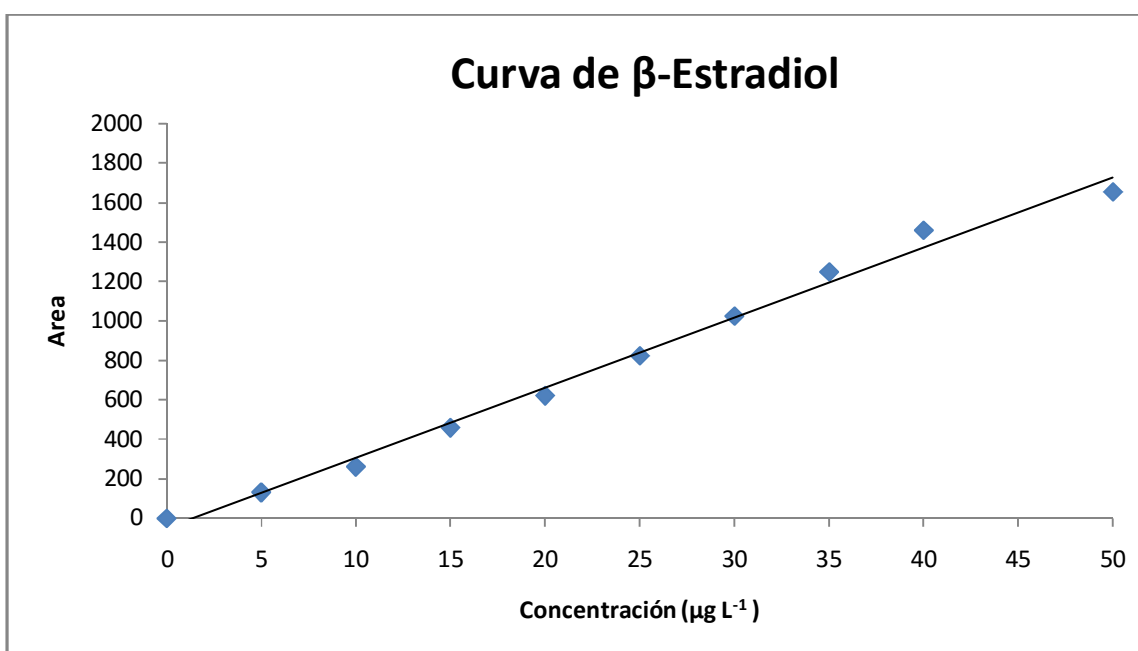


Figura 38. Curva de calibración del β -Estradiol

Aplicando el método implementado y validado que se describió anteriormente, se cuantificaron los analitos de estudio en la zona como se muestra en los cromatogramas de las figuras 39 y 40.

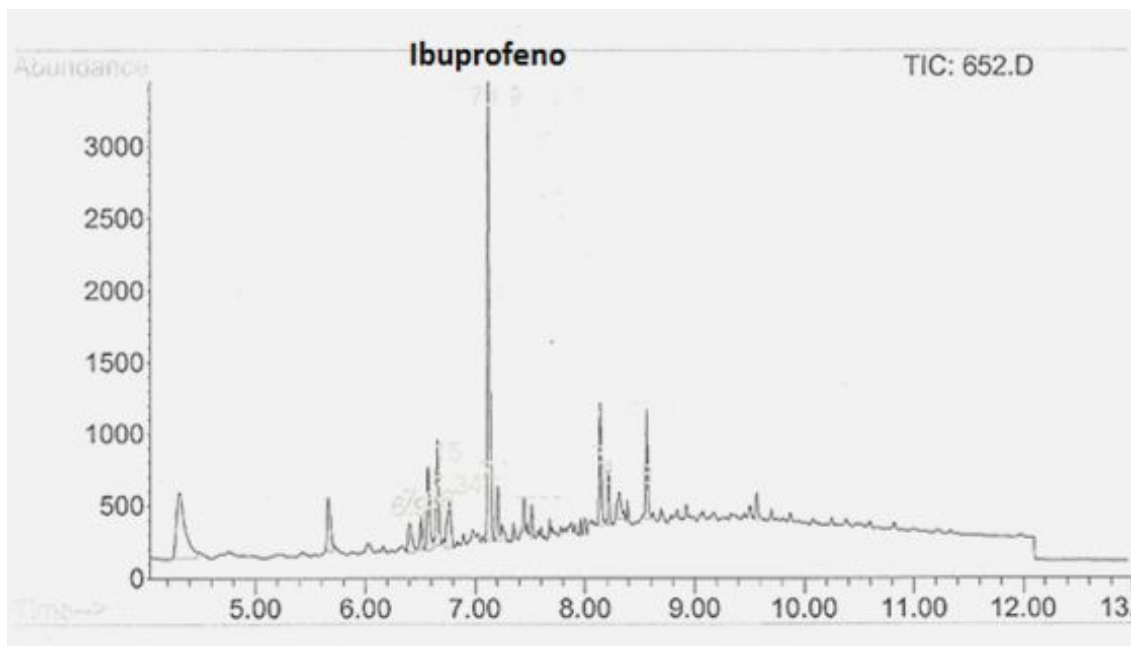


Figura 39. Cromatograma en modo SIM de la fracción fármacos ácidos (FA) para las muestras ambientales en el punto de la Draga.

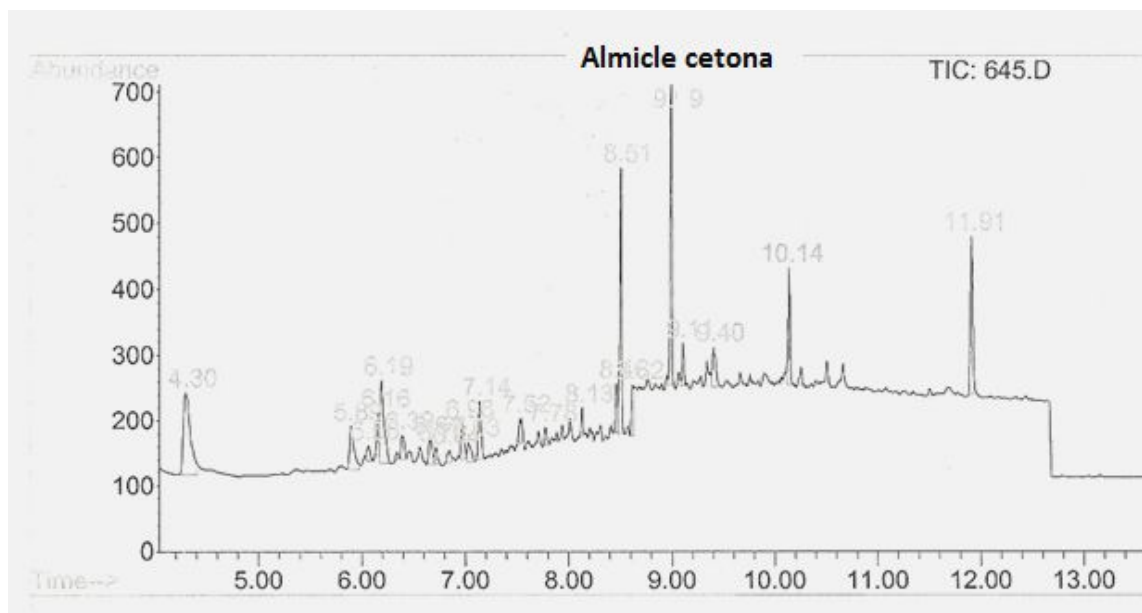


Figura 40. Cromatograma en modo SIM de la fracción de Disruptores endocrinos (DE) para las muestras ambientales en el punto de la Draga.

En el Cuadro 22 se pueden observar los resultados de las determinaciones. De los compuestos seleccionados para el análisis, solo se detectaron el Ibuprofeno y el Almizcle en todas las muestras.

Cuadro 22. Concentraciones de los analitos ($\mu\text{g L}^{-1}$) en agua de poro.

	Ibuprofeno	Almizcle cetona	Triclosán	β-Estradiol
Apatlaco	8.2	57.4	n.d.	n.d.
Ampampilco	0.7	11.6	n.d.	n.d.
La Asunción	1.3	n.d.	n.d.	n.d.
La Draga	13.9	82.3	n.d.	n.d.
Texhuilo	0.5	4.6	n.d.	n.d.
Tlicuilli	5.2	46.9	n.d.	n.d.

n.d. = no detectado

Las muestras ambientales muestran concentraciones para el ibuprofeno que oscilan entre los 0.5 y 13.9 $\mu\text{g L}^{-1}$, mostrando mayor presencia en la zona de La Draga con la concentración más alta.

La Draga es el punto donde se encuentra una salida de la planta de tratamiento de Cerro de la Estrella mostrada en la Figura 41, lo que puede estar explicando las altas concentraciones.



Figura 41. Zona de La Draga, punto de muestro donde se presento mayor concentración de los contaminantes emergentes identificados en el estudio.

Apatlaco es el lugar con la siguiente concentración más alta y Texhuilo el de menor. Estos resultados fueron inesperados ya que se esperaban las mayores concentraciones en los canales de la Asunción y Ampampilco por la gran cantidad de actividad urbana cercana a los canales.

En el caso del almizcle cetona nuevamente el punto de La Draga el de mayor presencia de este compuesto, donde su concentración es de $82.3 \mu\text{g L}^{-1}$ y el de menor fue Texhuilo con $4.6 \mu\text{g L}^{-1}$.

13.3. Estudios de materia orgánica en sedimento en Xochimilco.

Como se ha mencionado anteriormente, muchas de las dificultades en diferentes estudios en matrices ambientales han sido dirigidas a la interferencia ocasionada por la materia orgánica.

Esto puede deberse a su efecto sobre las propiedades tanto físicas como químicas del suelo (Julca-Otiniano 2006) formando agregados y brindando estabilidad estructural, favoreciendo la lixiviación del agua o su retención, afectando la erosión y el intercambio gaseoso, entre otros.

A pesar de ser dos matrices diferentes el sedimento y el agua de poro, suponemos pueden ser comparables, esto por el proceso de filtración el cual llevaba un tipo de poro que no retiene partículas de la materia orgánica (2.5 y 1.2 μm para obtener el agua y para eliminar partículas específicamente).

En la UNAAMB se han realizado estudios en diferentes proyectos de investigación científica donde se hizo el análisis de sedimentos a diferentes zonas en el área de Xochimilco.

A continuación en el Cuadro 23 se muestran los resultados del análisis de materia orgánica en los puntos que se seleccionaron en este estudio.

Cuadro 23. Datos de materia orgánica en sedimento

	MO sed (%)
La Draga	18.16
Ampampilco	n.d.
Tlicuilli	17.76
Apatlaco	20.66
Texhuilo	23.68
La Asunción	27.38

MO sed= Materia orgánica en sedimento

N sed= Nitrógeno en sedimento

En los resultados resalta el canal de La Asunción como el de mayor contenido de materia orgánica, este canal es importante ya que tiene una alta actividad urbana y una considerable cantidad de población cercana a este. De igual forma este punto fue donde no se detectó el almizcle que es una sustancia presente en la mayoría de los productos de limpieza. De alguna manera se esperaba que este compuesto estuviera presente en este punto.

Algo similar se presenta con el Ibuprofeno en relación a los resultados de materia orgánica y las concentraciones de contaminantes de tipo emergentes.

Una posible explicación a los resultados encontrados, son los altos contenidos de materia orgánica detectados en los canales, donde se puede observar una cierta relación entre el contenido de materia orgánica y la concentración de los contaminantes emergentes.

En el caso de La Draga donde se presentan las concentraciones más altas de ibuprofeno y almizcle ($13.9 \mu\text{g L}^{-1}$ y $82.3 \mu\text{g L}^{-1}$) el porcentaje de materia orgánica es de los menores (18.16%).

Por su parte en el caso de La Asunción que fue el de mayor porcentaje de materia orgánica (27.38) las concentraciones de ibuprofeno y de almizcle fueron las más bajas.

14. Conclusiones

A partir de los resultados presentados en esta Tesis, se obtienen las siguientes conclusiones generales:

- Se aplicó la metodología de análisis para la cuantificación de los compuestos del tipo emergentes: almizcle cetona, ibuprofeno, triclosán y β -estradiol, corroborando la técnica utilizada en la literatura y aplicándola en la presencia de contaminantes emergentes del tipo disruptor endocrino y fármaco ácido en muestras ambientales de agua de poro.
- La metodología combina la obtención de agua de poro ex situ, métodos de extracción en fase inversa, derivatización por silylación, el uso de la cromatografía de gases y la detección con espectrometría de masas, permitiendo alcanzar límites de detección del orden de $\mu\text{g L}^{-1}$.
- Se demostró la capacidad de método para identificar y cuantificar contaminantes del tipo emergentes en agua de poro.

-
-
- Se comprobó la presencia de los contaminantes emergentes ibuprofeno y almizcle cetona en muestras ambientales de agua de poro de Xochimilco. La presencia de estos fue en todos los puntos de muestreo seleccionados (con excepción del canal de la asunción para el almizcle cetona donde su presencia no fue detectada).
 - El punto de La Draga es el de mayor concentración de los contaminantes presentes en muestras ambientales.
 - Probablemente existe relación entre las concentraciones de contaminantes emergentes en muestras ambientales y materia orgánica en sedimento, donde la materia orgánica interfiere en la lectura y obtención de los compuestos.
 - La metodología fue validada demostrando parámetros de calidad satisfactorios y aceptables desde el punto de vista analítico.

A pesar de obtener buenos resultados en este análisis, es importante ampliar y mejorar la técnica en su eficiencia la cual es robusta; es necesario realizar un estudio más detallado de la validación del método, aplicado a las diversas reacciones que se llevan a cabo, pues los resultados sufren un conflicto considerable al ajustarse al modelo estadístico.

El tratamiento de aguas residuales para eliminar estos compuestos presenta deficiencias y es necesario implementar otros procedimientos de tipo fisicoquímico, biológico y químico aplicados, además de implementar modificaciones en los procesos ya establecidos para la remoción de contaminantes en cuerpos de agua que llegan a la población, prueba de esto fue la detección de estos compuestos en las muestras ambientales de Xochimilco.

A pesar de encontrarse bajo estudio y llevar un seguimiento en las diferentes investigaciones citadas, existe una considerable falta de información de estos contaminantes y sus efectos en la población. Se requiere de ampliar su investigación y comenzar a implementar métodos de remoción más efectivos además de implementar la regulación y restricción en el uso de estos compuestos.

15. Bibliografía

- Acosta, K. L. (2010). Biodegradación de contaminantes emergentes en columnas empacadas con suelos del valle de tula. Instituto de ingeniería. México, D.F., UNAM. Maestra en ingeniería: 1-141.
- Aguirre, J. (1989). "Estudio Edafológico detallado del parque natural de Xochimilco." Primer Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco, Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco A.C.: 174-182.
- Alastriste, O. (2005). "Xochimilco : aspectos histórico-culturales." Boletín del CELE-UNAM 7: 119-139.
- Andrade-Ribeiro, A., Pacheco-Ferreira, A., Nóbrega da Cunha C., Mendes-Kling A. (2006). "Disruptores Endocrinos: potencial problema para la salud pública y medio ambiente." Revista de Biomedicina 17(2): 146-150.
- Auger, J., Kunstmann, J.M., Czyglik, F., Jouannet, P. (1995). "Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years." The New England Journal of Medicine 332(5): 281-285.
- Becerril, J. E. (2009). Contaminantes emergentes en el agua Revista Digital Universitaria Coordinación de Publicaciones Digitales. DGSCA-UNAM. 10: 1-7.
- Bojorquez, M., Villa, E. (1995). Presente, pasado y futuro de las chinampas. México. CIESAS-Patronato del Parque Ecológico de Xochimilco. México: 85-126.
- Borton, C., Olson, L., (2010). "Analysis of Endocrine Disruptors, Pharmaceuticals, and Personal Care Products in River Water." Food & Environmental, AB SCIEX: 1-7.
- Bouki, C., Venieri, D. (2013). "Detection and fate of antibiotics resistant bacteria in wastewater treatment plants." Ecotoxicology and Environmental Safety 91(1): 1-9.
- Boxall, A. B., Rudd, M.A., Brooks, B.W., Caldwell, D.J. (2012). "Pharmaceuticals and personal care products in the environment: what are the big question?" Environmental Health Perspectives 120(9): 1221-1229.
- Bufflap, S., Herbert, E. (1995). "Sediment pore water collection methods for trace metal analysis: a review." Water Research 29(1): 165-177.
- Burns, J. J., Seaman, G.A. (1985). "Investigations of Belukha whales in coastal waters of western and northern Alaska III." Final Report Outer Continental Shelf Environmental Assessment Program Research Unit 612: 221-358.
- Buser, H., Poiger, T., Muller, M. (1999). "Occurrence and environmental behavior of the chiral pharmaceutical drug ibuprofen in surface waters and in wastewater." Environmental Science Technology 33(15): 2529-2535.
- Carignan, R. (1984). "Interstitial water sampling by dialysis: Methodological notes" American Society of Limnology and Oceanography. Inc. 29(3): 667-670.
- Carrión, C. (2010). Evaluación del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) como remediador de agua y mejorador de suelo en el ANP de Xochimilco. UNAAM, Facultad de Ciencias UNAM. México, D.F., UNAM: 1-89.
- Carson, R. (1962). Silent Spring. Boston.
- Castro, V. S. (2008). Evaluación de contaminantes emergentes en fuentes de abastecimiento del valle de Tula. Instituto de Ingeniería. México, D.F., UNAM Tesis de maestría.

-
-
- Clemente, A. R., Arrieta, E.L., Peñuela, G. (2013). "Procesos de tratamiento de aguas residuales para la eliminación de contaminantes orgánicos emergentes." Ambiente & Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science 8(3): 93-103.
- Colborn, T., Dumanoski, D., Myers, J. P. (1997). Our Stolen Future: Are we threatening our fertility, intelligence, and survival? 375 Hudson St, NY 10014, USA. Fluoride.
- Colborn, T., Saal, F.S., Soto, A.M. (1993). "Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans." Environmental Health Perspect 101(5): 378-384.
- Choi, S. M., Yoo, S.D., Lee, B.M. (2004). "Toxicological characteristics of endocrine-disrupting chemicals: developmental toxicity, carcinogenicity, and mutagenicity." Journal of Toxicology and Environmental Health 7(1): 1-24.
- Daughton, C. G. (2004). "Non-regulated water contaminants: emerging research." Environmental Impact Assessment Review 24(7-8): 711-732.
- Desbrow, C., Routledge, E.J., Brighty, G.C. (1998). "Identification of estrogenic chemicals in STW effluent. 1. Chemicals fractionation and in vitro biological screening." American Chemical Society 32(11): 1549-1558.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2000). Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 23 de octubre de 2000, por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas L 327 Diario Oficial n° L 327 de 22/12/2000 0001 - 0073.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2007). Corrección de errores del Reglamento (CE) no 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) no 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) no 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión. U. Europea. Diario Oficial de la Unión Europea. 1907: 136/133-L 136/280.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2009). Reglamento (CE) No 1107/2009 Del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de octubre de 2009 relativo a la comercialización de productos fitosanitarios y por el que se derogan las Directivas 79/117/CEE y 91/414/CEE del Consejo. U. Europea. Diario Oficial de la Unión Europea. 1107: 309/301-309/349.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2009). Reglamento (CE) No 1223/2009 Del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009 sobre los productos cosméticos. U. Europea. Diario Oficial de la Unión Europea. 1223: 342/359-342/209.
- Diario Oficial de la Unión Europea (2012). Reglamento (UE) N o 528/2012 Del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de mayo de 2012 relativo a la comercialización y el uso de los biocidas. U. Europea. Diario Oficial de la Unión Europea. 528: 167/161-167/121.
- Díaz, E. (2009). Determinación de disruptores endócrinos por cromatografía de gases-masas en la zona lacustre de Xochimilco, Distrito Federal. Instituto de Ecología México, D.F. , UNAM. Maestro en Ciencias Biológicas: 1-59.
- Durán, J. C. (2009). Cuantificación de doce contaminantes emergentes, provenientes del agua residual empleada para riego, en suelos de distrito de riego 03 "Tula", Hidalgo. Instituto de Ingeniería México, D.F., UNAM. Maestro en Ingeniería 1-169.
- Durán, J. C. (2013). Destino ambiental de contaminantes emergentes presentes en el agua residual usada para riego en el valle de Tula. Programa de maestría y doctorado en ingeniería México, D.F., UNAM. Doctor en Ingeniería: 1-154.
-
-

-
-
- Durham, E. J., Lambright, C., Wilson, V., Butterworth, B.C. (2002). "Evaluation of androstenedione as an androgenic component of river water downstream of a pulp and paper mill effluent." Environmental toxicology and chemistry 21(9): 1973-1976.
- Elika (2013). Disruptores endócrinos. Elika- Fundación vasca para la seguridad agroalimentaria: 1-6.
- EPA (2001). Methods for Collection, Storage and Manipulation of Sediments for Chemical and Toxicological Analyses: Technical Manual. Washington, DC 20460.
- Estrada, E. B. (2011). Tratamiento de aguas residuales municipales con presencia de compuestos disruptores endócrinos mediante un bioproceso aerobio de membranas. Facultad de Ingeniería. Cuernavaca, Morelos UNAM. Doctor en Ingeniería 1-262.
- Estrada, E. B., Mantilla, G., Mijaylova, P., Ramírez, N., (2013). "Presencia y tratamiento de compuestos disruptores endócrinos en aguas residuales de la Ciudad de México empleando un bioreactor con membranas sumergidas." Ingeniería Investigación y Tecnología 9(2): 275-284.
- Evans, J. P., Magurran, A.E. (2000). "Multiple benefits of multiple mating in guppies." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97(18): 10074-10076.
- FAO/OIE/WHO (2004). Second Joint FAO/OIE/WHO, Expert Workshop on Non-Human Antimicrobial Usage and Antimicrobial resistance: Management options. W. H. O. G. 2004. Oslo, Norway, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, and World Organisation for Animal Health (Organisation international des Epizooties) 2004: 1-37.
- Fent, K., Weston, A.A. , Caminada, D. (2006). "Ecotoxicology of human pharmaceuticals." Aquatic Toxicology 76(2): 122-159.
- Fernández, M. F., Oléa, N., (2014). "Disruptores endocrinos, ¿suficiente evidencia para actuar?" Elsevier España 28(2): 93-95.
- Fisher, J. S., Turner, K.J., Brown, D., Sharpe, R., (1999). "Effect of neonatal exposure to estrogenic compounds on development of the excurrent ducts of the rat testis through puberty to adulthood." Environmental Health Perspectives 107(5): 397-405.
- Fromee, H., Küchler, T., Otto, T., Pilz, K. (2002). "Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment." Water Research 36(6): 1429-1438.
- García, V. J. (2011). Remoción de disruptores endócrinos y fármacos del agua residual del emisor central mediante un proceso de coagulación-floculación Instituto de Ingeniería México, D.F., UNAM. Maestro en Ingeniería: 1-115.
- Gibson, R., Becerril-Bravo, E., Silva-Castro, V., Jiménez, B. (2007). "Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spectrometry." Journal of Chromatography A 1169(1-2): 31-39.
- Gibson, R., Wang, M., Padgett, E., Beck, A.J., (2005). "Analysis of 4-n-nonylphenols, phthalates and polychlorinated bisphenyls in soils and biosolids." Chemosphere 61(9): 1336-1344.
- Hernández, J. (2009). Metodología analítica para la determinación de plaguicidas organofosforados en ajolote *Ambystoma mexicanum*. UNAAM, Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F., UNAM: 1-130.
- Hernández, M. (2013). "Extracción asistida por microondas y limpieza en fase sólida como método de análisis para la determinación de plaguicidas organofosforados en *Ambystoma mexicanum*." Revista internacional de contaminación ambiental 29(2): 189-200.
-
-

-
- Hernando, M. D., Mezcuca, M., Fernández-Alba, A.R., Barceló, D. (2006). "Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments." Talanta 69(2): 334-342.
- Hill, R. L. J., Janz, D.M. (2003). "Developmental estrogenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*). I. Effects on sex ratio and breeding success." Aquatic Toxicology 63(4): 417-429.
- Horiguchi, T. (2006). "Masculinization of female gastropod mollusks induced by organotin compounds, focusing on mechanism of actions of tributyltin and triphenyltin for development of imposex." Environmental Science 13(2): 77-87.
- Horwitz, W., Albert, R., (2006). "The Horwitz ratio (HorRat): A useful index of method performance with respect to precision." Journal of AOAC International 89(4): 1095-1109.
- Howell, W. M., Black, D. A. (1980). "Abnormal expression of secondary sex characters in a population of Mosquitofish, *Gambusia affinis holbrooki*: Evidence for environmentally-induced masculinization." American Society of Ichthyologists and Herpetologists 1980(4): 676-681.
- Huerta, R. (2011). Determinación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en el agua de lluvia de la Ciudad de México. Posgrado de Ciencias de la Tierra, UNAM. México, D.F., UNAM. Maestro en Ciencias de la Tierra.
- Iguchi, T., Watanabe, H., Ohta, Y., Blumberg, B. (2008). "Developmental effects: estrogen-induced vaginal changes and organotin-induced adipogenesis." International Journal of Andrology 31(2): 263-268.
- INECOL (2002). "Lista de plantas vasculares terrestres y acuáticas reportados para la zona lacustre de Ejidos de Xochimilco y San Gregorio Atlapulco, Xochimilco." Ficha Informativa de los Humedales de Ramsar (FIR).
- INEGI (2010). "Panorama sociodemográfico del Distrito Federal." Censo de Población y Vivienda (2010) 1: 1-50.
- ISTAS (2002). Curso de Introducción a los Disruptores Endocrinos. A. y. S. I. Instituto Sindical de Trabajo. Barcelona, España: 1-34.
- Jiménez, B., Martín, L., (2004). El agua en México vista desde la academia. México, D.F.
- Jiménez, B., Siebe, C., (2007). El rehusó intencional y no intencional del agua en el valle de Tula.
- Jiménez, O. J., Gómez, P.A., (1990). "Las Chinampas Mexicanas." Revista Pensamiento Iberoamericano: 290.
- Julca-Otiniano, A. (2006). "La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura." IDESIA 21(1): 49-61.
- Khera, K. S., Clegg, D.J. (1969). "Perinatal Toxicity of Pesticides." Canadian Medical Association Journal 100(4): 167-172.
- Kim, S., Aga, D. (2007). "Potential ecological and human health impacts of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from wastewater treatment plants." Journal of Toxicology and Environmental Health 10(8): 559-573.
- Knezovich, J. P., Harrison, F. L. (1987). "A new method for determining the concentrations of volatile organic compounds in sediment interstitial water." Environmental Contamination and Toxicology 38: 937-940.
- Kümmerer, K. (2004). "Resistance in the environment." Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 54(2): 331-320.
- Kümmerer, K. (2009). "Antibiotics in the aquatic environment-A review- part II." Chemosphere 75(4): 435-441.
- Mazari, M., G., (1996). Hacia el Tercer Milenio. México D.F.
-

-
-
- Medina, M. L. (2010). Diseño y estandarización de un método analítico para la determinación de disruptores endócrinos en partículas suspendidas menores a 2.5 μm . Facultad de Química México, D.F., UNAM. Licenciatura: 1-106.
- Mojica, E.-R., Aga, D.S. (2011). "Antibiotics pollution in soil and water: Potential Ecological and Human Health Issues." Elsevier: 97-107.
- Morales, J. C. (2014). Uso de colectores solares para la remoción fotocatalítica de disruptores endócrinos presentes en agua contaminada. Instituto de Ingeniería. México, D.F., UNAM. Doctor en Ingeniería: 1-215.
- Morales, V. (2008). Distribución y especiación de metales traza en agua intersticial de sedimentos hidrotermales de la cuenca de guaymas, golfo de California. Química Acuática. México, UNAM. Tesis para obtener el grado académico de Maestra en Ciencias
- Murguía, F. (2008). Transferencia de metales pesados del suelo a plantas de lechuga (*Lactuca sativa*), en la zona chinampera de Xochimilco D.F. UNAAM, Facultad de Ciencias, UNAM. México, D.F., UNAM: 1-78.
- Oropesa, J. (2008). "Disruptores endocrinos en el medio ambiente: Caso del 17- α -etnil-estradiol." Revistas Científicas Complutenses, Madrid 11: 63-76.
- Patlak, M. (1996). "A testing deadline for endocrine disrupters. EPA scrables to develop a screening program for these complex." Environmental Science and Technology 30(12): 540-544.
- Ratcliffe, D. A. (1970). "Changes Attributable to Pesticides in Egg Breakage Frequency and Eggshell Thickness in Some British Birds." Journal of Applied Ecology 7(1): 67-115.
- Rice, S. L., Mitra, S., (2007). "Microwave-assisted solvent extraction of solid matrices and subsequent detection of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) using gas chromatography–mass spectrometry." Analytica Chimica Acta 589(1): 125–132.
- Romano, D. (2012). Disruptores endocrinos: Nuevas respuestas para nuevos retos. A. y. S. I. Instituto Sindical de Trabajo: 1-55.
- Ruíz, J. A. (2013). Oxidación avanzada de un contaminante emergente, el resorcinol Facultad de Química. México, D.F., UNAM. Licenciatura: 1-103.
- Sánchez, A. (1989). "Características Edafológicas de los suelos de Xochimilco." Primer Seminario Internacional de Investigadores de Xochimilco, Asociación Internacional de Investigadores de Xochimilco A.C. I: 165-171.
- Sánchez, J. I. (2012). Evaluación, distribución e impacto de contaminantes orgánicos prioritarios y emergentes en aguas costeras. Programa de doctorado en "Química analítica en el medio ambiente y la polución". Barcelona Universidad de Barcelona. Doctor en "Química analítica en el medio ambiente y la polución": 1-238.
- Sánchez, R. (2012). Uso potencial de cultivos de raíces pilosas de especies vegetales hiperacumuladoras de metales para fines de fitorremediación de aguas contaminadas. Facultad de Ciencias, División de Estudios de Posgrado, UNAM. México, D.F., UNAM. Maestra en Ciencias Biológicas.
- Sarda, N., Burton, G.A., (1995). "Ammonia variation in sediments: spatial, temporal and method-related effects." Environmental Toxicology and Chemistry 14(9): 1499–1506.
- Schults, D. W., S. P. Ferraro, et al. (1992). "A comparison of methods for collecting interstitial water for trace organic compounds and metals analyses." Water Research 26: 989-995.
- Siemens, J., Huschek, G., Siebe, C. (2008). "Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewaters irrigation system, Mexico city-Mezquital valley." Water Research 42(8-9): 2124-2134.
- Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G.M. (1998). "A review of the environmental fate, effects and exposures of bisphenol A." Chemosphere 36(10): 2149-2173.
-
-

-
-
- Strauch, G., M. Möder, R. Wennrich, K. Osenbrück, H. R. Gläser and T. Schladitz (2008). "Indicators for assessing anthropogenic impact on urban surface and groundwater." Journal of Soils and Sediments 8(1): 23-33.
- Stuart, M., D. Lapworth, E. Crane and A. Hart, (2012). "Review of risk potential from emerging contaminants in UK groundwater." Science of the Total Environment 416: 1-21.
- Sumpter, J. (2005). "Endocrine disruptors in the aquatic environment: an overview." Acta Hydrochimica et Hydrobiologica 33(1): 9-16.
- Torres, C. C. (2012). Transformación enzimática de disruptores endócrinos: aplicación a sistemas de acuicultura. Instituto de Biotecnología, departamento de ingeniería celular y biocatálisis. Cuernavaca, Morelos UNAM. Doctor en Ciencias 1-118.
- Trenholm, R. A., Vanderford, B. J., Holady, J. C. . (2006). "Broad range analysis of endocrine disruptors and pharmaceuticals using gas chromatography and liquid chromatography tandem mass spectrometry." Chemosphere 65(11): 1990-1998.
- Vanderford, B., Pearson, R., Rexing, D., Snyder, S. (2003). "Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography/tandem mass spectrometry." Analytical Chemistry 75(22): 6265-6274.
- Vanderford, B., Snyder, S. (2006). "Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry." Environmental Science Technology 40(23): 7312-7320.
- Winger, P. V., Lassier, P.J. (1991). "A vacuum-operated porewater extractor for estuarine and freshwater sediments." Archives of Environmental Contamination & Toxicology 21(2): 321-324.
- Woodward, A. R., Percival, A.F., Jennings, M. y Moore, C.M, (1993). "Low Clutch Viability of American Alligators of Lake Apopka." Florida Science 56: 52-63.
- Zhou, J., Zhu, X., Cai, Z. (2009). "Endocrine disruptors: an overview and discussion on issues surrounding their impact in marine animals." Journal of Marine Animals and Their Ecology 2(2): 7-17.