



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**USO DE TÉCNICAS ANALÍTICAS VERDES PARA LA  
DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN MATRICES ACUOSAS**

**TESINA**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA**

**PRESENTA**

**ARIADNE SAMARA LÓPEZ ÁLVAREZ**



**Noviembre de 2019**



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:**           **Profesor: NURIA ESTRAU ESCOFET**  
**VOCAL:**               **Profesor: LUIS ALEJANDRO DÍAZ FLORES**  
**SECRETARIO:**       **Profesor: JOSÉ ELÍAS BECERRIL BRAVO**  
**1er. SUPLENTE:**     **Profesor: ELIZABETH REYEZ LÓPEZ**  
**2° SUPLENTE:**       **Profesor: CLAUDIA INÉS RIVERA CARDENAS**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO DE INGENIERÍA,** EDIFICIO 5, LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL.

**ASESOR DEL TEMA: JOSÉ ELÍAS BECERRIL BRAVO**

\_\_\_\_\_

**SUSTENTANTE: ARIADNE SAMARA LÓPEZ ÁLVAREZ**

\_\_\_\_\_

# ÍNDICE

<b>1.OBJETIVOS GENERALES .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 OBJETIVOS PARTICULARES .....</b>	<b>1</b>
<b>2.ANTECEDENTES .....</b>	<b>1</b>
<b>3.INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>2</b>
<b>3.1 FÁRMACOS EN MATRICES AMBIENTALES .....</b>	<b>3</b>
<b>3.2 CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS .....</b>	<b>4</b>
<b>3.3 CONSUMO GLOBAL Y NACIONAL DE ANTIBIÓTICOS.....</b>	<b>9</b>
3.3.1 NORMATIVIDAD PARA EL CONTROL DEL CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS EN EL MUNDO. ....	13
<b>3.4 INCIDENCIA Y DESTINO DE FÁRMACOS EN EL MEDIO AMBIENTE .....</b>	<b>16</b>
<b>3.5 RIESGOS DE LA EXISTENCIA DE FÁRMACOS EN EL MEDIO AMBIENTE.....</b>	<b>17</b>
3.1.1 ECOTOXICIDAD .....	20
1.1.1 RESISTENCIA MICROBIANA .....	24
<b>3.6 QUÍMICA VERDE .....</b>	<b>26</b>
<b>4.GENERALIDADES DE LOS ANTIBIÓTICOS.....</b>	<b>31</b>
<b>4.1. CLASIFICACIÓN.....</b>	<b>31</b>
4.1.1 MECANISMO DE ACCIÓN .....	35
<b>4.2. RESISTENCIA MICROBIANA .....</b>	<b>37</b>
<b>5. INCIDENCIA Y DESTINO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN EL MEDIO AMBIENTE .....</b>	<b>38</b>
<b>5.1 RESIDUOS DE ANTIBIÓTICOS EN MATRICES ACUOSAS.....</b>	<b>38</b>
<b>6.TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN MATRICES ACUOSAS</b>	<b>40</b>
6.1.1 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO.....	47
6.1.2 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA .....	48
<b>6.2 MICROTÉCNICAS ANALÍTICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN MATRICES ACUOSAS .....</b>	<b>50</b>
<b>6.3 COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS ANALÍTICAS CONVENCIONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS Y SPME .....</b>	<b>53</b>

7.DISCUSIÓN .....	55
8.CONCLUSIONES .....	58
9.REFERENCIAS.....	59

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Principales antibióticos consumidos en México .....	<b>11</b>
<b>Gráfica 2.</b> Uso de Antibióticos en México 2000-2015.....	<b>12</b>
<b>Gráfica 3.</b> Consumo de antibióticos por grupo de antibiótico y país (año 2015).....	<b>13</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mapa del cambio en la dosis diaria definida (DDD) por cada 1000 habitantes por día. *La DDD es la dosis de mantenimiento diaria promedio prevista para la indicación principal del medicamento, en este caso se habla del conjunto de antibióticos .....	<b>10</b>
<b>Figura 2.</b> Políticas implementadas por los países de la OCDE .....	<b>14</b>
<b>Figura 3.</b> Incidencia y destino de los productos farmacéuticos en el medio ambiente .....	<b>17</b>
<b>Figura 4.</b> Fármacos determinados en el medio ambiente.....	<b>19</b>
<b>Figura 5.</b> Lista de principales patógenos con resistencia microbiana para los cuales es necesaria la síntesis de nuevos antibióticos según la OMS.....	<b>26</b>
<b>Figura 6.</b> Postulados de la química verde .....	<b>28</b>
<b>Figura 7.</b> Antibióticos según su estructura química .....	<b>32</b>
<b>Figura 8.</b> Antibióticos según su estructura química y mecanismo de acción.....	<b>34</b>
<b>Figura 9.</b> Continuación: Antibióticos según su estructura química y mecanismo de acción .....	<b>35</b>
<b>Figura 10.</b> Mecanismos de acción de los antibióticos .....	<b>35</b>
<b>Figura 11.</b> Causas de la resistencia microbiana.....	<b>38</b>
<b>Figura 12.</b> Método de "Extracción líquido-líquido" .....	<b>48</b>
<b>Figura 13.</b> Método de "Extracción en fase sólida".....	<b>50</b>
<b>Figura 14.</b> Microextracción en fase sólida por "headspace" o "espacio cabeza" (montaje y partes que lo conforman). .....	<b>52</b>
<b>Figura 15.</b> Microextracción en fase sólida por inmersión directa.....	<b>53</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los fármacos .....	<b>4</b>
<b>Tabla 2.</b> Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana...	<b>6</b>
<b>Tabla 3.</b> Antibióticos de mayor importancia según la USEPA .....	<b>7</b>
<b>Tabla 4.</b> Lista de vigilancia de la Directiva Macro del Agua de la Unión Europea .....	<b>8</b>
<b>Tabla 5.</b> Antibióticos sugeridos para su monitoreo en conjunto con la lista de vigilancia de la Directiva Macro de Aguas de la Unión Europea .....	<b>9</b>
<b>Tabla 6.</b> Regulación en el uso de antimicrobianos en animales .....	<b>15</b>
<b>Tabla 7.</b> Ecotoxicidad de especies acuáticas por antibióticos .....	<b>22</b>
<b>Tabla 8.</b> Puntos de penalización para calcular EcoScale.....	<b>30</b>
<b>Tabla 9.</b> Antibióticos encontrados en matrices acuosas y sus concentraciones.....	<b>41</b>
<b>Tabla 10.</b> Comparación de técnicas analíticas (LLE/SPE/SPME) .....	<b>55</b>

## **1. Objetivos generales**

Describir la problemática actual del uso de antibióticos y su incidencia en el medio ambiente.

### **1.1 Objetivos particulares**

Describir las técnicas analíticas más comunes para la determinación de antibióticos en matrices acuosas.

Comparar las ventajas del uso de microtécnicas analíticas verdes para determinar antibióticos en matrices acuosas.

## **2. Antecedentes**

La terapia antibacteriana es uno de los desarrollos médicos más importantes del siglo XX y es un pilar de la medicina moderna para la disminución de la mortalidad debido a infecciones microbianas.

Previo a los años 1950, la tasa de mortalidad por infecciones de *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus* fue del 40 y 80%, respectivamente. Antes de los antibióticos, el remedio para combatir las infecciones era mediante la amputación del área afectada, por ejemplo, durante la Primera Guerra Mundial, el 70% de las amputaciones fueron a causa de infecciones por heridas de guerra.

Las nuevas generaciones de antibióticos son más específicas por lo que la eficiencia de los tratamientos ha mejorado. El avance de la medicina en cirugía, trasplantes y quimioterapia, han incrementado la capacidad para tratar y curar infecciones. Desafortunadamente el uso de antibióticos ha provocado que algunos microorganismos desarrollen resistencia a los tratamientos antibióticos, disminuyendo su eficacia y eficiencia (1).

Un ejemplo histórico de resistencia bacteriana es el de *S. aureus*. A principios de los años 1950, se implementó el tratamiento de infecciones por *S. aureus* con penicilina, sin embargo, a mediados de esta época, se identificaron varios casos de resistencia antibiótica de esta bacteria. Se comenzó a utilizar meticilina en lugar de la penicilina para tratar las infecciones producidas por *S. aureus* y a principios de los años 1960 se reportaron las primeras cepas resistentes a este medicamento (1).

Existen varias clasificaciones de los antibióticos, una de ellas depende de la estructura química, por ello la resistencia a un agente antibiótico concreto puede ocasionar farmacorresistencia a un grupo de antibióticos con estructuras químicas similares.

Las bacterias farmacorresistentes se pueden desarrollar en poblaciones de seres humanos y animales a través de los alimentos, el agua y el medio ambiente; en la propagación influyen el comercio, los viajes y la migración humana. También puede haber bacterias resistentes en los animales destinados a la alimentación y en los productos alimentarios designados al consumo humano (2).

Como se mencionó anteriormente, existen muchos casos de resistencia microbiana a nivel mundial, por ello es importante desarrollar líneas de investigación sobre farmacorresistencia y proponer planes de acción que ayuden a reducir este problema.

### **3. Introducción**

La disponibilidad y el uso de antimicrobianos en animales terrestres y acuáticos, es fundamental para su salud y productividad. Contribuye a la seguridad alimentaria, la inocuidad de los alimentos y el bienestar animal y, a su vez, a la protección de los medios de vida y la sostenibilidad de la producción animal. Sin embargo, la creciente preocupación a nivel mundial en torno a la resistencia a los medicamentos antimicrobianos podría anular estos beneficios (3).



La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno natural de adaptación de los microorganismos ante la presencia de estos agentes, este problema puede ser agravado por el uso innecesario o excesivo de los mismos. Entre las consecuencias de la resistencia a los antimicrobianos se encuentra la incapacidad de tratar las infecciones de forma acertada, lo que provoca enfermedades más graves o prolongadas, y en caso de los animales de consumo pérdidas de producción y pérdidas de la seguridad alimentaria.

En 2014, la solución planteada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), fue la elaboración de un Plan de Acción Mundial (PAM) sobre la resistencia a los antimicrobianos en colaboración de la FAO y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) (2).

### **3.1 Fármacos en matrices ambientales**

En la última década, la determinación de residuos farmacéuticos ha incrementado, especialmente en agua superficial, en agua freática, suelo, biota e incluso en agua potable.

Dado que los fármacos se diseñan específicamente para causar efectos farmacológicos en organismos vivos, un número creciente de estudios han demostrado que los fármacos tienen efectos adversos en la flora, fauna y en la salud de los ecosistemas.

Los desperdicios presentes en agua residual y rellenos sanitarios contienen materia orgánica (carbono, nitrógeno y fósforo totales principalmente), biomasa (coliformes totales, *Escherichia coli*, entre otros) y residuos peligrosos (como cationes metálicos y fármacos) generados a partir de actividades industriales o domésticas. Por ello las descargas directas a cuerpos de agua naturales limitan el uso de este recurso con fines productivos como el riego o la pesca, la agricultura y el consumo de agua potable.

Debido a la complejidad en sus estructuras químicas, los principios activos que se emplean en la fabricación de medicamentos pueden llegar a convertirse en compuestos persistentes en los ecosistemas. Ante esta situación, es necesario desarrollar alternativas para el manejo y la eliminación de estos residuos, disminuir su impacto ambiental, los riesgos a los que se exponen los seres vivos y promover la concientización de los usuarios y fabricantes (4).

### 3.2 Clasificación de los fármacos

Los fármacos se pueden clasificar según el efecto biológico que provocan. Esta clasificación es útil si se desea conocer los fármacos efectivos para una enfermedad específica. Sin embargo, esta clasificación contiene subconjuntos variados de fármacos. Muchos fármacos no se clasifican en una u otra categoría y algunos pueden tener más de un uso. Por ejemplo, un sedante también podría tener usos como un anticonvulsivo.

Los fármacos se clasifican según la **Tabla 1**.

**Tabla 1. Clasificación de los fármacos (5).**

Fármacos	
Antibióticos	Antisépticos
Analépticos	Antipiréticos
Anestésicos	Midriáticos
Anticonvulsivantes	Mióticos
Antiácidos	Narcóticos
Antiamebianos	Purgantes
Desinfectantes	Sedantes
Colagogos	Tranquilizantes
Astringentes	Tónicos
Antitiroideos	Antihelmínicos
Antihistamínicos	Antiespasmódicos
Diuréticos	Antidepresivos
Ecbólicos	Anticoagulantes
Eméticos	Hipnóticos
Estimulantes	Hipotensores
Expectorantes	Diaforéticos
Fungicidas	Carminativos
Hematínicos	Antitoxinas

Desde 2005, la OMS actualiza periódicamente una lista de los antimicrobianos más usados en medicina humana y veterinaria, agrupándolos en tres categorías en función de su importancia (**Tabla 2**). El objetivo de la lista es destacar la importancia del problema de la resistencia a los antimicrobianos y garantizar que todos ellos sean usados de forma prudente en medicina tanto humana como veterinaria.

Tabla 2. Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina humana (6) .

		Clase de Antimicrobiano	*C1	*C2	*P1	*P2	*P3
<b>IMPORTANCIA CRÍTICA</b>	<b>•MÁXIMA PRIORIDAD</b>	•Cefalosporinas (de tercera, cuarta y quinta generación)	*	*	*	*	*
		•Glicopéptidos	*	*	*	*	*
		•Macrólidos y Cetólidos	*	*	*	*	*
		•Polimixinas	*	*	*	*	*
		•Quinolonas	*	*	*	*	*
	<b>•GRAN PRIORIDAD</b>	•Aminoglucósidos	*	*		*	*
		•Ansamícinas	*	*	*	*	
		•Carbapenémicos y otros penémicos	*	*	*	*	
		•Gliciliclinas	*	*	*		
		•Lipopéptidos	*	*	*		
		•Monobactámicos	*	*	*		
		•Oxazolidinonas	*	*	*		
		•Penicilinas (naturales, aminopenicilinas y antipseudomonales)	*	*		*	*
		•Derivados del ácido fosfónico	*	*	*	*	
•Fármacos utilizados únicamente para tratar la tuberculosis u otras enfermedades micobacterianas	*	*	*	*			
<b>MUY IMPORTANTES</b>	•Amidinopenicilinas		*				
	•Anfenícoles		*				
	•Cefalosporinas (primera y segunda generación) y cefamicinas		*				
	•Lincosamidas		*				
	•Penicilinas (antiestafilocócicas)		*				
	•Ácidos pseudomónicos		*				
	•Rimínofenazinas	*	*				
	•Antibacterianos esteroideos		*				
	•Streptograminas		*				
	•Sulfonamidas inhibidores de la dihidrofolato-reductasa y combinaciones		*				
	•Sulfonas	*					
	•Tetraciclínas	*					
<b>IMPORTANTES</b>	•Aminociclítolos		NA				
	•Polipéptidos cíclicos						
	•Nitrofurantoinas						
	•Nitroimidazoles						
	•Pleuromutilinas						

<b>*C1</b>	Clase de antimicrobianos que constituye uno de los pocos o el único tratamiento disponible para tratar infecciones bacterianas graves en humanos.
<b>**C2</b>	Clase de antimicrobianos utilizada para tratar infecciones humanas causadas por: 1) bacterias que pueden ser transmitidas a los humanos a partir de fuentes no humanas, o 2) bacterias que pueden adquirir genes de resistencia a partir de fuentes no humanas.
<b>*P1</b>	Gran número absoluto de personas, o uso en una elevada proporción de pacientes con infecciones graves en entornos de atención sanitaria, afectadas por infecciones bacterianas en las que esa clase de antimicrobianos es la única alternativa, o una de las pocas existentes para tratar infecciones humanas graves.
<b>*P2</b>	Clase de antimicrobianos de uso muy frecuente en cualquier indicación médica humana o de uso en una gran proporción de pacientes con infecciones graves en entornos de atención sanitaria, dado que dicho uso puede favorecer la selección de resistencias en ambas circunstancias.
<b>*P3</b>	Clase de antimicrobianos utilizada para tratar infecciones humanas en las que hay pruebas de la transmisión de bacterias resistentes o de genes de resistencia a partir de fuentes no humanas.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América (USEPA por sus siglas en inglés “United States of America Environmental Protection Agency”) elaboró en 2007, una lista de contaminantes emergentes de mayor importancia,

encontrados en agua, en la cual incluye fármacos y productos de cuidado personal. En la **Tabla 3** se muestran los antibióticos de esta lista.

**Tabla 3. Antibióticos de mayor importancia según la USEPA (7)**

<b>Macrólidos:</b>	
•Azitromicina	•Ormetoprima
•Claritromicina	•Roxitromicina
•Eritromicina	•Tilosina
•Eritromicina Anhidra	•Virginiamicina
<b>Betalactámicos:</b>	
•Ampicilina	•Penicilina G
•Oxacilina	•Penicilina V
<b>Sulfonamidas:</b>	
•Sulfaclopiridazina	•Sulfametazina
•Sulfadiazina	•Sulfametizol
•Sulfadimetoxina	•Sulfametoxazol
•Sulfamerazina	•Sulfanilamida
<b>Tetraciclinas:</b>	
•Clortetraciclina	•Demeclociclina
•Minociclina	•Tetraciclina
<b>Antimicrobianos:</b>	
•Triclocarbán	•Triclosan
<b>Quinolonas:</b>	
•Ciprofloxacina	•Lomefloxacina
•Clinafloxacina	•Norfloxacina
•Enrofloxacina	•Ofloxacina
•Flumequina	•Ácido oxalinóico
<b>Fluoroquinolona:</b>	
•Sarafloxacina	
<b>Lincosamida:</b>	
•Lincomicina	
<b>Quinoxaleina:</b>	
•Carbadox	
<b>Antimicótico:</b>	
•Miconazol	
<b>Pirimidina:</b>	
•Trimetoprima	
<b>Cefalosporina:</b>	
•Cefotaxima	

La USEPA realizó análisis en agua para consumo humano y ha encontrado principalmente 3 antibióticos: sulfametoxazol, triclosán y triclocarbán, lo cual es un ejemplo claro de que los métodos de tratamiento de agua no han abordado de la manera adecuada este problema (8).

En septiembre de 2015, un grupo de trabajo sueco, coordinado por la Agencia Sueca de Productos Médicos (en inglés, Swedish Medical Products Agency), presentó una lista de sustancias para ser monitoreadas en el medio ambiente de forma regular. La Directiva Marco del Agua de la Unión Europea tiene una "lista de vigilancia" de sustancias prioritarias que presentan un riesgo significativo para el medio acuático (**Tabla 4**).

**Tabla 4. Lista de vigilancia de la Directiva Marco del Agua de la Unión Europea (9).**

Nombre de la sustancia	Límite máximo permisible (ng/L)
Diclofenaco	10
17-alfa-etinilestradiol	0.035
17-beta-estradiol, Estrona.	0.4
Macrólidos (eritromicina, claritromicina, azitromicina)	90

Además de la 'lista de vigilancia' de la Directiva Marco de Aguas de la Unión Europea, se sugirieron 17 productos farmacéuticos entre los cuales se mencionan algunos antibióticos (**Tabla 5**).

**Tabla 5. Antibióticos sugeridos para su monitoreo en conjunto con la lista de vigilancia de la Directiva Macro de Aguas de la Unión Europea (9).**

<b>Antibiótico</b>	<b>Justificación de la Dirección Nacional de Medicamentos y Farmacia de Suecia.</b>
Ciprofloxacina	Persistente y está demostrado el desarrollo de resistencia por su presencia en el medio ambiente.
Sulfametoxazol	Ha sido detectado en agua superficial, peces y lodos.
Trimetoprima	Antibiótico de uso constante. Ha sido detectado en agua potable, agua superficial y lodos.

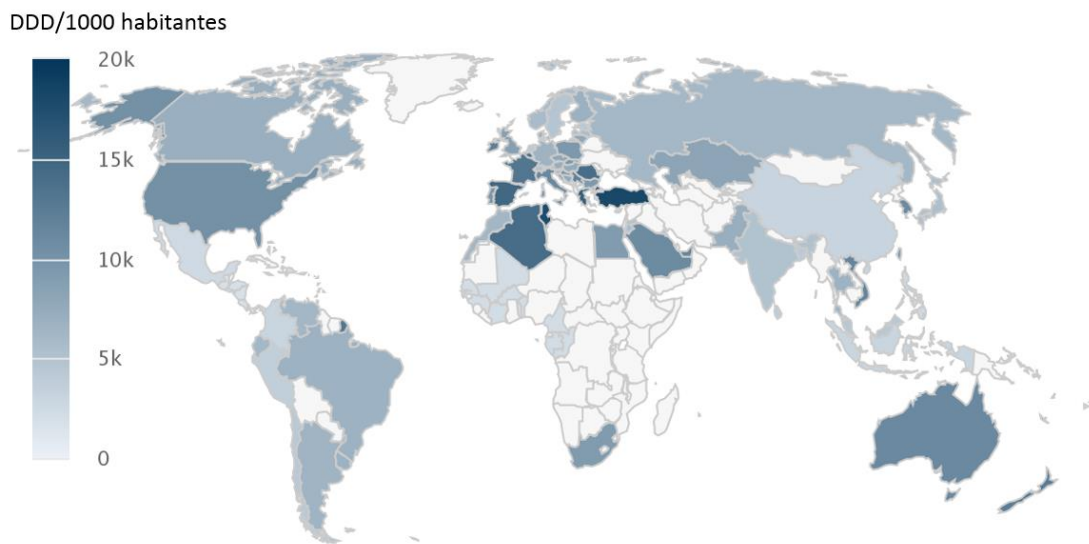
### 3.3 Consumo global y nacional de antibióticos

En 2012, los principales consumidores de fármacos a nivel global fueron China, Estados Unidos, Japón, Francia y Bélgica, los cuales abarcaron aproximadamente el 63% del consumo mundial. Se espera que para el periodo 2013-2020, China sea el país con mayor crecimiento en el consumo de fármacos con una tasa media de crecimiento anual del 14.9%, seguido de Francia con 11.9%, Bélgica con 5.9%, Japón con 4.6% y Estados Unidos con 4.5% (10).

El consumo global de fármacos aumentó un 65% entre 2000 y 2015 (de 21.1 a 34.8 mil millones de la dosis diaria definida (DDD)) mientras que la tasa de consumo de antibióticos aumentó un 39% (de 11.3 a 15.7 millones de DDD) durante el mismo periodo de tiempo (11).

Según un estudio de la Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos (PNAS por sus siglas en inglés, *Proceedings of The National Academy of Sciences of the Unites States of America*) se calcula que, en una condición ideal donde el consumo de antibióticos se mantiene constante respecto a los niveles actuales de uso, el consumo mundial de antibióticos aumentaría un 15% entre 2015 y 2030. Si todos los países continúan aumentando sus tasas de consumo de antibióticos, al igual que las tasas anuales de crecimiento poblacional, el consumo total aumentaría un 202% (128 mil millones de DDD), mientras que la tasa de consumo de antibióticos aumentaría un 161% (41.1 DDD). Finalmente, si todos los países tuvieran un consumo igual a la tasa media global de consumo de antibióticos del 2015, para 2020 se estima que el consumo mundial de antibióticos aumentaría un 32%, es decir, a 55,6 mil millones de DDD (11).

En la **Figura 1** se muestra el aumento en la DDD por cada 1,000 habitantes por día a nivel mundial.

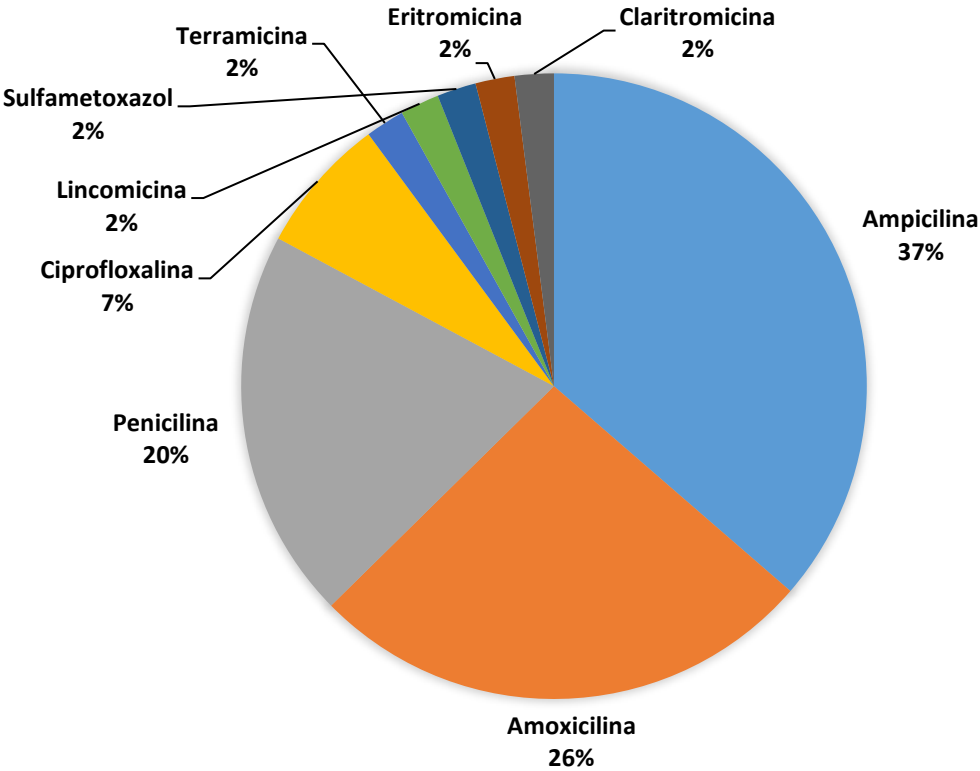


Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (cddep.org)

**Figura 1. Mapa del cambio en la dosis diaria definida (DDD) por cada 1000 habitantes por día. \*La DDD es la dosis de mantenimiento diaria promedio prevista para la indicación principal del medicamento, en este caso se habla del conjunto de antibióticos (12).**



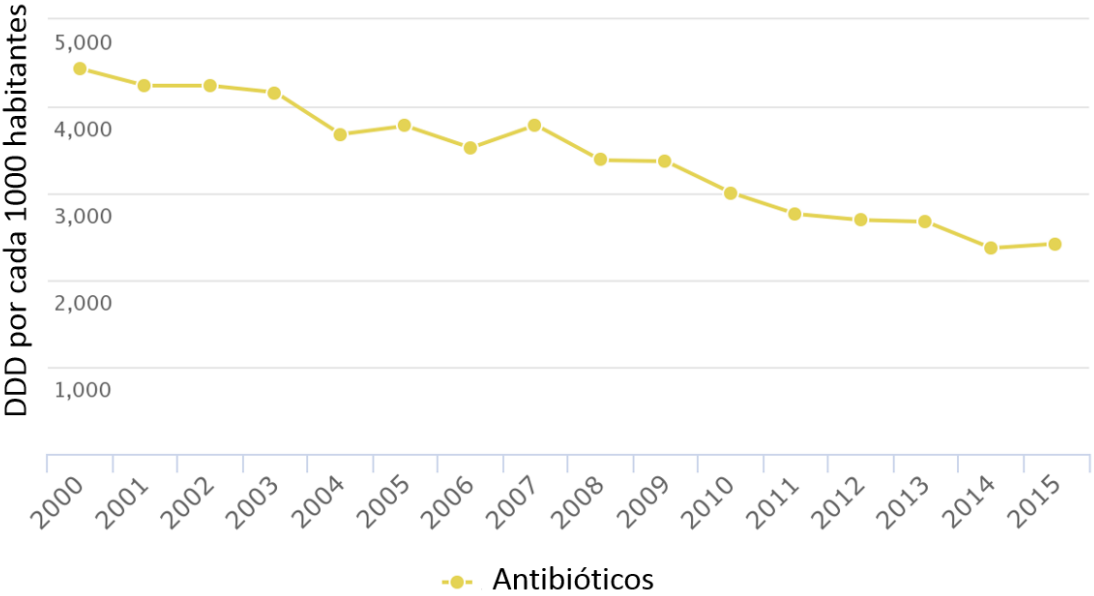
La PROFECO realizó una encuesta en el año 2010 en la cual cuestionó cuales eran los antibióticos más consumidos por la población. Dicha encuesta se realizó en 29 estados de la República Mexicana. Los resultados se muestran en la **Gráfica 1**.



**Gráfica 1. Principales antibióticos consumidos en México (13).**

En el año 2010 entró en vigor el artículo 226 de la Ley General de Salud en México, el cual estableció que todos los medicamentos requieren una prescripción o receta expedida por un profesional de la salud, con la excepción de algunos medicamentos de uso general y de venta no controlada. Los medicamentos de venta libre deben cubrir ciertos requisitos como: no generar tolerancia o adicción, no contener sustancias psicotrópicas o estupefacientes, entre otros. Entre los medicamentos de venta controlada se encuentran los antibióticos, los cuales pueden enmascarar la existencia de enfermedades graves si se consumen de manera inadecuada.

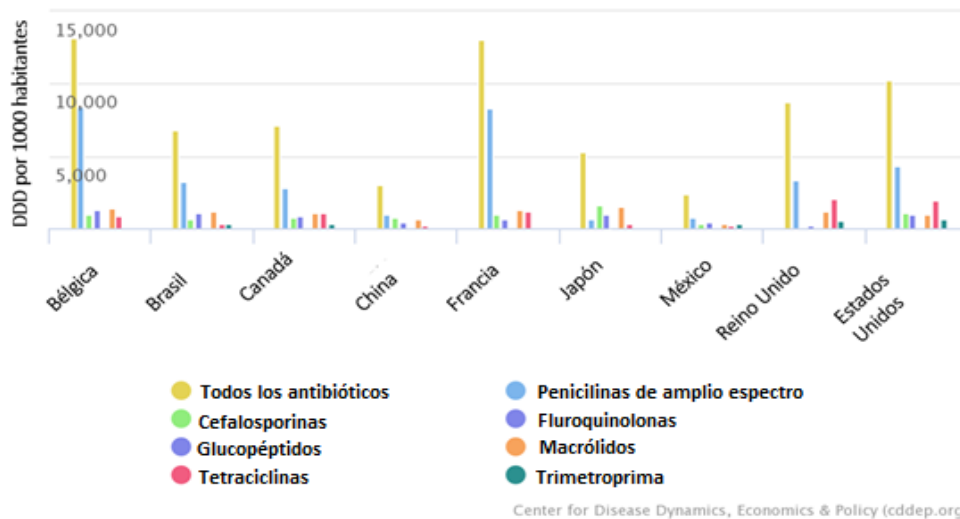
La nueva ley logró implementar la disminución del uso de antibióticos en México como se observa en la **Gráfica 2**.



Center for Disease Dynamics, Economics & Policy (cddep.org)

**Gráfica 2. Uso de Antibióticos en México 2000-2015 (12).**

A nivel global solo algunos países manejan normativas respecto al consumo de medicamentos, por ejemplo, la Unión Europea, Japón y México cuentan con regulaciones para consumo de antibióticos, mientras que EE. UU. y Canadá no cuentan con estas regulaciones (14). En la **Gráfica 3** podemos observar, para el año 2015, el consumo de antibióticos de algunos países por grupo de antibióticos.



Gráfica 3. Consumo de antibióticos por grupo de antibiótico y país (año 2015) (12).

### 3.3.1 Normatividad para el control del consumo de antibióticos en el mundo.

En América Latina, la legislación aplica el principio obligatorio de que la prescripción y la adquisición de los medicamentos sean realizados por profesionales legalmente habilitados para ello. Se exceptúan los productos que la autoridad sanitaria declare de venta libre o directa. Este principio queda establecido explícitamente en algunas legislaciones y en otras es implícito pues se considera que la venta directa o libre sin receta constituye una situación excepcional que la autoridad sanitaria debe determinar en cada caso. En algunas legislaciones también se determina el tipo de establecimiento donde el medicamento puede expenderse según el tipo de receta impuesto por la autoridad sanitaria (16).

De los 36 países pertenecientes a la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), 29 contestaron una encuesta respecto a las políticas implementadas para a regulación en el consumo de antibióticos (**Figura 2**), obteniendo que el 100% de ellos ha implementado sistemas de monitoreo para el consumo de antimicrobianos.

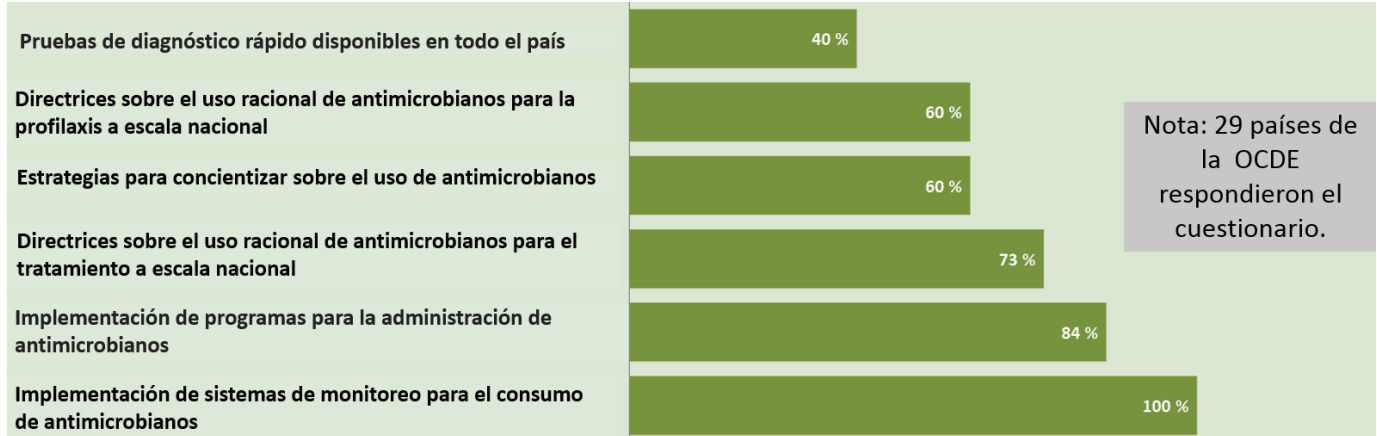


Figura 2. Políticas implementadas por los países de la OCDE (15);Error! No se encuentra el origen de la referencia..

Los gobiernos están implementando legislaciones para disminuir el daño relacionado con el uso inapropiado de antimicrobianos en humanos. En la mayoría de los casos, las acciones para disminuir el uso incorrecto de antimicrobianos son parte de estrategias más amplias para abordar el tema de la resistencia microbiana.

Una encuesta reciente mostró que aproximadamente el 60% de los países de la OCDE han introducido estrategias para concientizar a los usuarios y fabricantes respecto al uso de antimicrobianos, y un 37% adicional están en proceso de desarrollo uno (15).

En la **Tabla 6** se pueden ver las regulaciones existentes para algunos países pertenecientes a la OCDE en cuanto al uso de antimicrobianos en animales(14).

**Tabla 6. Regulación en el uso de antimicrobianos en animales (16).**

Miembro de la OCDE	Estado legislativo del país en cuanto a uso de antimicrobianos en animales.	
	Prohibición de antimicrobianos promotores de crecimiento	Requerimiento de prescripción para el uso de antimicrobianos en animales
Australia	Sí, pero algunos promotores de crecimiento están permitidos (fluoroquinolonas, avoparcina, virginiamicina, etc.)	La mayoría de los antimicrobianos veterinarios requieren prescripción veterinaria.
Canadá	No. El gobierno canadiense emitió en abril de 2014 un aviso a las partes interesadas, que imita el enfoque de la FDA, respecto al retiro voluntario del uso de antibióticos médicamente importantes como promotores del crecimiento.	No. Existe un plan para desarrollar opciones para fortalecer la supervisión veterinaria del uso de antimicrobianos en animales destinados a la alimentación de acuerdo con el enfoque de la FDA.
Chile	No hay registro.	No hay registro.
Unión Europea	Sí. Todos los antimicrobianos promotores de crecimiento están prohibidos.	Sí.
Israel	No hay registro.	No hay registro.
Japón	No	Sí.
México	Sí, los antimicrobianos promotores de crecimiento están prohibidos desde el 2007 con excepciones (avoparcina, vancomicina, bacitracina, tilosina, virginiamicina, etc.)	Sí.
Nueva Zelanda	Sí, para los antibióticos críticos y altamente importantes enumerados por la OMS y la OIE.	Sí, para los antibióticos identificados con potencial para el problema de resistencia.
Corea del Sur	Sí, desde 2011 se discontinuó el uso de antimicrobianos promotores de crecimiento hasta que se pueda establecer un sistema de supervisión veterinaria.	Sí, el sistema de supervisión veterinaria se está desarrollando actualmente.
Turquía	No hay registro.	No hay registro.
Estados Unidos	No. La FDA publicó directrices voluntarias para que la industria retire el uso de promotores de crecimiento como antibióticos de importancia médica.	No. Según la nueva guía de la FDA para la industria, el uso de antibióticos médicamente importantes estará bajo la supervisión de veterinarios autorizados.

### 3.4 Incidencia y destino de fármacos en el medio ambiente

Una de las principales formas en las que se introducen los productos farmacéuticos en el medio ambiente es a través de las plantas de tratamiento de agua residual. Las industrias farmacéuticas, hogares y hospitales desechan medicamentos a través de descargas, ya sea como consecuencia de su producción, el desecho inadecuado de los medicamentos o mediante excreciones posteriores a su consumo.(17) Se estima que una proporción considerable de los medicamentos vendidos no se llegan a consumir, esto aunado a la eliminación inadecuada de medicamentos caducos o no consumidos son una vía importante de contaminación.

Si los productos farmacéuticos no se eliminan cuantitativamente, se pueden descargar a los ríos, lagos y mares, que se pueden usar como fuentes primarias para la producción de agua potable. Por lo tanto, la presencia de dichos contaminantes podría tener un impacto negativo en la calidad del agua potable (17).

Los fármacos de uso veterinario empleados en la cría de animales pasan al suelo, donde se utiliza abono como fertilizante. Con el tiempo, los residuos de estos medicamentos se acumulan en el suelo o desembocan en agua freática o superficiales, los cuales pueden ser absorbidos por plantas.

En el medio ambiente los medicamentos se transfieren a través de agua, suelo y aire. La persistencia de los contaminantes en la naturaleza depende, entre otros factores, de las características químicas de los fármacos, el volumen excretado y el medio donde permanecen. Por ejemplo, los fármacos liposolubles pueden acumularse en el tejido graso animal e incorporarse a la cadena alimentaria (18).

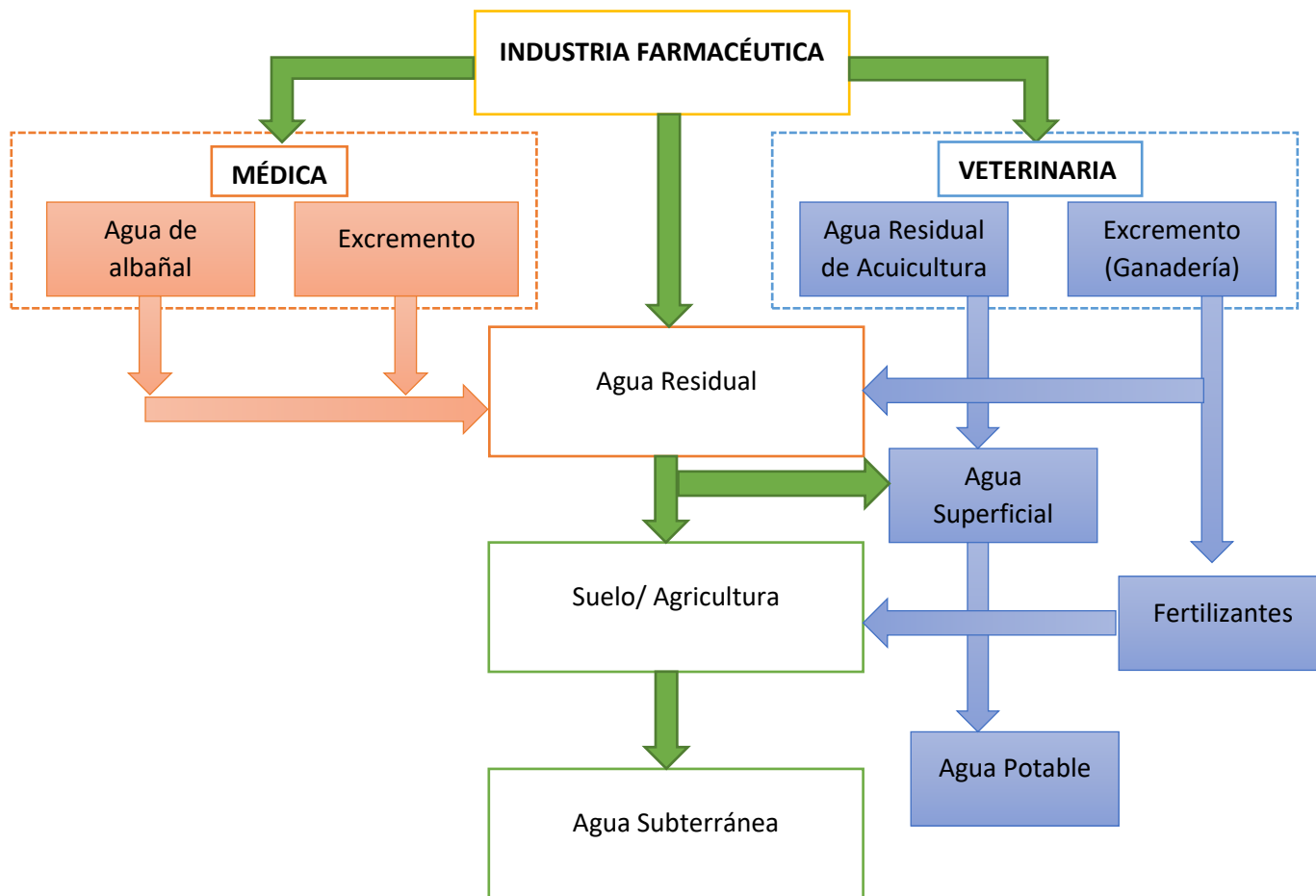


Figura 3. Incidencia y destino de los productos farmacéuticos en el medio ambiente (19).

### 3.5 Riesgos de la existencia de fármacos en el medio ambiente

La presencia de fármacos en agua residual tratada fue reportada por primera vez en el año de 1976 en Estados Unidos, donde se determinó ácido clofíbrico en un intervalo de concentración entre 0.8 a 2  $\mu\text{g/L}$ . Para el año de 1981 fue detectado en ríos del Reino Unido en concentraciones de más de 1  $\mu\text{g/L}$ . Posteriormente, se determinó la presencia de ibuprofeno y naproxeno en agua residual de Canadá. Sin

embargo, los fármacos han sido detectados en el ambiente con mayor frecuencia a partir de 1990 (20).

Actualmente se ha investigado la presencia de varios fármacos en el ambiente, dentro de los cuales destaca los medicamentos que causan efectos ecotóxicos. Estos fármacos también han sido detectados en agua potable dentro del orden de ng/L (8). Los principales fármacos encontrados en el medio ambiente se muestran en la **Figura 4**.



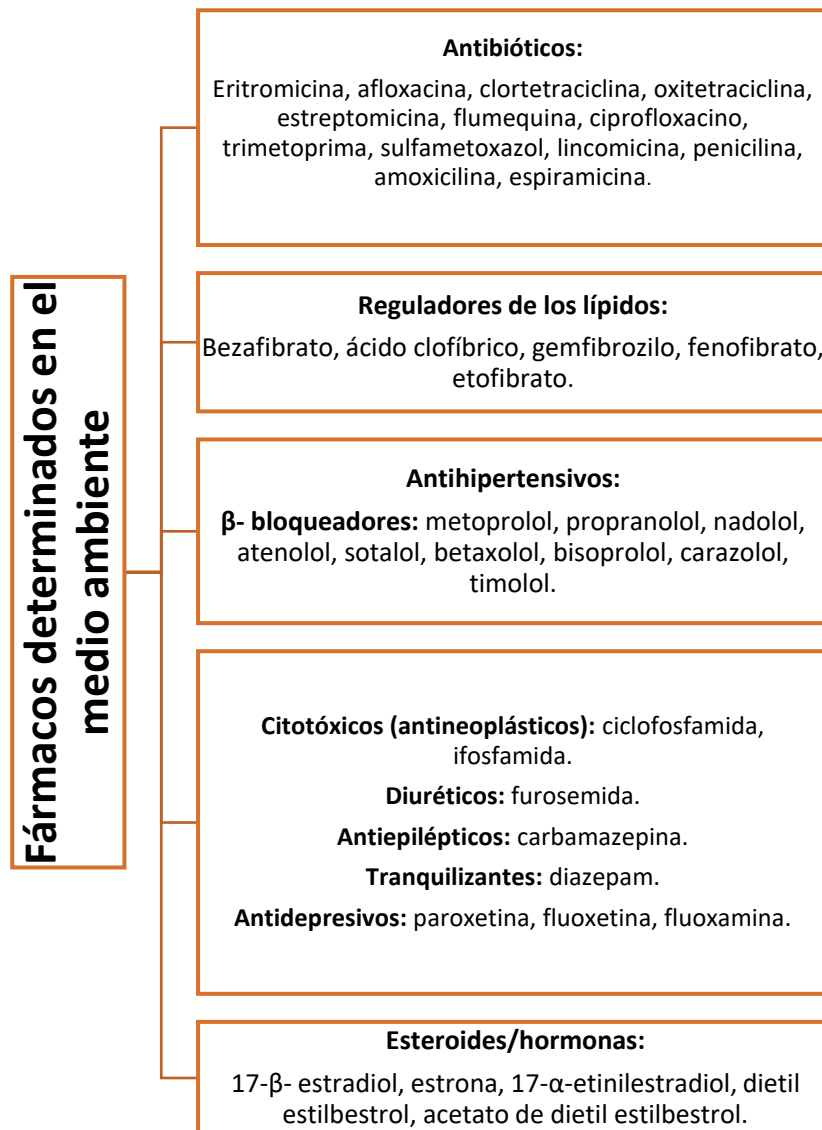


Figura 4. Fármacos determinados en el medio ambiente (21).

Sin embargo, la determinación de antibióticos involucra un gran número de fármacos con diversos mecanismos de acción y estructuras químicas diferentes, lo cual dificulta la determinación de estos en el medio ambiente. Una forma de clasificarlos para facilitar el manejo y determinación de los antibióticos es según el grupo funcional (betalactámicos, quinolonas, etc.). No obstante, existe una problemática importante, ya que al utilizar un método de detección para un grupo

funcional específico (por ejemplo, el anillo beta-lactámico) este puede no ser detectado si esta parte es desnaturalizada por los métodos de preparación de muestra u otros procedimientos que afecten la estructura del compuesto.

La existencia de mezclas de fármacos en el medio ambiente dificulta la determinación de algún antibiótico específico y sus efectos ya que no se sabe si los efectos tóxicos o nocivos son provocados por un solo fármaco o es el resultado de varios fármacos que actúan al mismo tiempo (20).

Existen varios antibióticos que son compuestos naturales que han estado en contacto con la microbiota ambiental durante millones de años por lo que son biodegradables. Sin embargo, son degradados a diferentes velocidades en entornos naturales. Se ha demostrado que la ciprofloxacina presente en muestras de agua del río es completamente degradada después de 3 meses, mientras que sólo el 20 % de ácido oxolínico presente en estas muestras se degrada después de cinco meses (22).

Una de las razones de la existencia de antibióticos en medio ambiente es la biodisponibilidad de estos. En algunos antibióticos hasta el 60% de la dosis consumida es excretada pocas horas después de su consumo, por ejemplo: la amoxicilina con una biodisponibilidad del 40% por vía oral (23), el sulfametoxazol con biodisponibilidad de 50% por vía oral (24) y la ampicilina con una biodisponibilidad de 25% por vía intramuscular (25). Por esta razón es importante llevar un control estricto del consumo de antibióticos.

### 3.1.1 Ecotoxicidad

La ecotoxicología es definida como "La ciencia que estudia la contaminación, su origen, evolución e interacciones con las moléculas que integran dinámicamente los

ecosistemas, sus acciones y efectos sobre los seres vivos que forman estos ecosistemas, con su evaluación, como determinantes de criteriología y profilaxis biológica o socioeconómica".

La ecotoxicología tiene como materia fundamental de estudio la polución sobre los sistemas bióticos en forma de toxicidad, alteración de especies, reducción de una determinada productividad, etc.

Algunos efectos ecotoxicológicos provocados por la presencia de fármacos en matrices ambientales están reflejados en la fauna y flora de muchos ecosistemas entre ellos:

- 1) La disminución del tamaño poblacional de los buitres en el subcontinente indio, causada por la ingestión indirecta de diclofenaco, al alimentarse con cadáveres de ganado previamente tratado con este medicamento.
- 2) Un experimento en un lago que incluía el uso del estrógeno sintético etinilestradiol, compuesto empleado en las píldoras anticonceptivas, que provoca peces macho feminizados.
- 3) Los efectos del uso del parasitocida ivermectina en la descomposición de estiércol sobre poblaciones de insectos coprófagos e invertebrados acuáticos (26).

Uno de los principales efectos del mal uso de antibióticos es la toxicidad aguda o crónica en especies de plantas y animales expuestos a estos fármacos, debido principalmente a que la mitad de los antibióticos administrados a los seres humanos y los animales se excreta en forma activa a través de la orina y las heces. En la literatura se describe que existe absorción incompleta, hasta del 95 %, en los antibióticos administrados y sus metabolitos, estos últimos pueden ser más tóxicos que el compuesto original y pueden llegar a acumularse en todas las matrices ambientales, principalmente el agua superficial, subterránea, suelos y sedimentos (22).

En la Unión Europea se manejan normativas que regulan el uso de nuevos fármacos, mediante las cuales se exige un estudio en laboratorios estandarizados con especies modelo. Estos laboratorios están obligados a reportar los límites máximos permisibles de cada fármaco para evitar efectos ecotoxicológicos. El constante problema está en los fármacos comercializados previamente a la normatividad, los cuales no han sido objeto de evaluación debido a su uso tan habitual. En la **Tabla 7** se pueden observar varios casos de ecotoxicidad por antibióticos en especies acuáticas.

**Tabla 7. Ecotoxicidad de especies acuáticas por antibióticos (27).**

Tipo de antibiótico	Antibiótico	Especie	Efecto Adverso
Betalactámicos	Amoxicilina	• <i>Anabaena</i> ,	Inhibición del crecimiento.
		• <i>Microcystis aeruginosa</i>	
		• <i>Synechococcus leopoliensis</i> .	
Bencilpenicilina	• <i>Microcystis aeruginosa</i>	Reducción en la frecuencia de crecimiento.	
Quinolonas	Ciprofloxacino	• <i>Lemna minor</i> ,	- Reducción de la frecuencia de crecimiento - Problemas en la reproducción.
		• <i>Microcystis aeruginosa</i>	
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata</i> .	
	Cinafloxacina	• <i>Lemna minor</i> ,	- Reducción de la frecuencia de crecimiento - Problemas en la reproducción.
		• <i>Microcystis aeruginosa</i>	
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata</i> .,	
	Enrofloxacinó	• <i>Lemna minor</i> ,	- Inhibición del crecimiento - Problemas en la reproducción - Inmovilización - Aumento de mortalidad.
		• <i>Microcystis aeruginosa</i>	
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata</i> .,	
		• <i>Daphnia magna</i>	
	Levofloxacino	• <i>Moina macrocopa</i>	- Inhibición del crecimiento - Aumento de mortalidad - Problemas en la reproducción.
		• <i>Daphnia magna</i>	
		• <i>Oryzias latipes</i>	
		• <i>Thamnocephalus platyurus</i> ,	
		• <i>Anabaena</i> ,	
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata</i> .,	
	Norfloxacino	• <i>Lemna minor</i> ,	- Inhibición del crecimiento - Aumento de mortalidad - Problemas en la reproducción.
		• <i>Microcystis aeruginosa</i>	
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata</i> .,	
		• <i>Brachionus calyciflorus</i> ,	
	Ofloxacino	• <i>Anabaena</i> ,	- Inhibición del crecimiento - Aumento de mortalidad - Problemas en la reproducción. - Inmovilización
• <i>Chlorella vulgaris</i> ,			
• <i>Selenastrum capricornutum</i> .			
• <i>Pseudokirckneriella subcapitata</i> .,			
• <i>Lemna minor</i> ,			
• <i>Microcystis aeruginosa</i>			
• <i>Brachionus calyciflorus</i>			
• <i>Ceriodaphnia dubia</i>			
• <i>Thamnocephalus platyurus</i> ,			
• <i>Daphnia magna</i>			

Continuación Tabla 7.

<b>Macrólidos</b>	Eritromicina	• <i>Anabaena</i> ,	- Inibición del crecimiento - Aumento de mortalidad - Inmovilización
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata.</i> ,	
		• <i>Brachionus calyciflorus</i> ,	
		• <i>Ceriodaphnia dubia</i>	
		• <i>Chlorella vulgaris</i> ,	
		• <i>Daphnia magna</i>	
		• <i>Lemna minor</i> ,	
		• <i>Oryzias latipes</i> ,	
		• <i>Selenastrum capricornutum.</i>	
		• <i>Thamnocephalus platyurus</i> ,	
Tilosina	• <i>Microcystis aeruginosa</i>	- Inhibición de la fotosíntesis - Inmovilización - Inhibición del crecimiento - Frecuencia del crecimiento.	
	• <i>Pseudokirckneriella subcapitata.</i> ,		
	• <i>Daphnia magna</i>		
	• <i>Selenastrum capricornutum.</i>		
<b>Sulfacoropiridazina</b>	• <i>Daphnia magna</i>	- Inmovilización - Decoloración verde - Aumento en la mortalidad - Inhibición de la luminiscencia.	
	• <i>Lemna minor</i> ,		
	• <i>Oryzias latipes</i> ,		
	• <i>Vibrio fischeri</i>		
<b>Sulfadimetoxina</b>	• <i>Lemna gibba</i> ,	- Inhibición del crecimiento - Inhibición de la luminiscencia - Inmovilización.	
	• <i>Lemna minor</i> ,		
	• <i>Vibrio fischeri</i>		
	• <i>Chlorella vulgaris</i> ,		
	• <i>Daphnia magna</i>		
	• <i>Moina macrocopa</i>		
<b>Sulfametazina</b>	• <i>Lemna gibba</i> ,	- Inhibición del crecimiento - Inhibición de la luminiscencia - Inhibición de la reproducción - Inmovilización - Aumento de la mortalidad.	
	• <i>Vibrio fischeri</i>		
	• <i>Daphnia magna</i>		
	• <i>Moina macrocopa</i>		
	• <i>Oryzias latipes</i> ,		
<b>Sulfametoxazol</b>	• <i>Lemna gibba</i> ,	- Inhibición del crecimiento - Inhibición de la luminiscencia - Inhibición de la fotosíntesis - Aumento de la mortalidad - Inmovilización - Problemas en la morfología.	
	• <i>Vibrio fischeri</i>		
	• <i>Microcystis aeruginosa</i>		
	• <i>Pseudokirckneriella subcapitata.</i> ,		
	• <i>Brachionus calyciflorus</i>		
	• <i>Ceriodaphnia dubia</i>		
	• <i>Daphnia magna</i>		
	• <i>Hydra attenuata</i> ,		
• <i>Selenastrum capricornutum.</i>			

Continuación Tabla 7.

<b>Tetraciclina</b>	Oxitetraciclina	• <i>Artemia parthenogénica</i> ,	- Aumento de la mortalidad -Reducción del crecimiento - Inhibición de la fotosíntesis - Inhibición del crecimiento - Inmovilización, -Problemas en la reproducción - Problemas en la morfología - Decoloración verde, - Inhibición del crecimiento.
		• <i>Tetraselmis chuii</i> ,	
		• <i>Microcystis aeruginosa</i>	
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata.</i> ,	
		• <i>Brachionus calyciflorus</i>	
		• <i>Ceriodaphnia dubia</i>	
		• <i>Chlorella vulgaris</i> ,	
		• <i>Daphnia magna</i>	
		• <i>Hydra attenuata</i> ,	
		• <i>Lemna minor</i> ,	
		• <i>Selenastrum capricornutum.</i>	
<b>Otros</b>	Trimetoprima	• <i>Microcystis aeruginosa</i>	-Inhibición de la fotosíntesis - Inmovilización - Problemas en la reproducción - Inhibición del crecimiento - Reducción en la frecuencia del crecimiento.
		• <i>Pseudokirckneriella subcapitata.</i> ,	
		• <i>Daphnia magna</i>	
		• <i>Lemna minor</i> ,	
		• <i>Rhodomonas salina</i> ,	
		• <i>Selenastrum capricornutum.</i>	

### 1.1.1 Resistencia microbiana

El uso de antibióticos en animales destinados al consumo humano proporciona ventajas, ya que permite una mejora en la producción. Sin embargo, existe la posibilidad de que residuos de dichos compuestos persistan en el animal y por lo tanto pasen a la cadena de alimentación humana, originando una serie de riesgos que implican problemas de índole sanitaria como toxicidad y resistencia microbiana (26).

Los antibióticos también contaminan los vegetales para consumo humano. Estos fármacos viajan desde los lagos y riachuelos hasta los sembradíos de vegetales por medio del agua que se utiliza para riego. Por lo regular, el agua utilizada es agua tratada que proviene de un efluente local y estos no cuentan con la tecnología

necesaria para eliminar antibióticos (21). Al llegar a los sembradíos los antibióticos entran en contacto con el subsuelo y son absorbidos por las raíces de los vegetales, permaneciendo ahí hasta que son consumidos.

El consumo de alimentos con residuos de antibióticos puede producir los mismos efectos que consumir antibióticos de forma directa. Debido a que los antibióticos en los alimentos se encuentran en concentraciones de trazas (ng/L), los efectos tóxicos no han sido evaluados, pero en un hecho que en ciertos individuos pueden producir reacciones alérgicas (27).

Un ejemplo de resistencia microbiana estudiado recientemente por la OMS, es el de la gonorrea. Datos procedentes de 77 países muestran que la resistencia a los antibióticos está dificultando mucho, y a veces imposibilitando, el tratamiento de la gonorrea, una infección de transmisión sexual (ITS) frecuente (28).

El Programa Mundial de Vigilancia de Antimicrobianos para la Gonorrea (GASP) de la OMS, monitorea el caso de la gonorrea farmacorresistente. Los datos del GASP para el periodo 2009-2014 muestran una resistencia del 97% a la ciprofloxacina, del 81% a la azitromicina y del 66% a las cefalosporinas, antibióticos que constituyen actualmente el último recurso terapéutico para esta enfermedad.

El desarrollo de nuevos antibióticos para enfermedades temporales no resulta redituable para la industria farmacéutica. Los tratamientos son breves al contrario de lo que ocurre con los tratamientos de las enfermedades crónicas, y van perdiendo eficiencia a medida que se desarrolla resistencia microbiana, por lo que hay que sintetizar constantemente nuevos fármacos. En la **Figura 5** se pueden ver los microorganismos reportados por la OMS para los cuales se requieren nuevos antibióticos debido a la resistencia microbiana adquirida.

### Prioridad 1 (Crítica)

- *Acinetobacter baumannii*; resistente a carbapanémicos.
- *Pseudomonas aeruginosa*; resistente a carbapanémicos.
- *Enterobacteriaceae* (incluyendo *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp*, *Proteus spp*, *Providencia spp* y *Morganella spp*); resistente a carbapanémicos, resistente a la 3ª generación de cefalosporinas.

### Prioridad 2 (Alta)

- *Enterococcus faecium*; resistente a vancomicina.
- *Staphylococcus aureus*; resistente a meticilina, intermediario y resistente a vancomicina.
- *Helicobacter pylori*; resistente a claritromicina.
- *Campylobacter*; resistente a fluoroquinolona.
- *Salmonella spp*; resistente a fluoroquinolona.
- *Neisseria gonorrhoeae*; resistente a la 3ª generación de cefalosporinas, resistente a fluoroquinolona.

### Prioridad 3 (Media)

- *Streptococcus pneumoniae*; no sensible a la penicilina.
- *Haemophilus influenzae*; resistente a la ampicilina.
- *Shigella spp*; resistente a fluoroquinolona.

**Figura 5. Lista de principales patógenos con resistencia microbiana para los cuales es necesaria la síntesis de nuevos antibióticos según la OMS (29).**

## 3.6 Química Verde

La Química Verde nació en la USEPA a inicios de los años 1990 como una herramienta conceptual para la protección del medio ambiente ante la contaminación originada por la industria química. Fue expresada de manera sucinta y atractiva por medio de los 12 principios de Paul Anastas y John Warner en el año de 1998 (30).

La Química Verde se centra en el diseño de productos y procesos químicos que logren reducir o eliminar el uso de sustancias peligrosas para los seres vivos y el medio ambiente.



Lo que se busca describir en este trabajo es describir y comparar técnicas analíticas para la determinación de antibióticos en matrices acuosas y definir cuáles de ellas producen menos residuos tóxicos, es decir, cuales pueden definirse como “técnicas verdes”, con el fin de evitar la contaminación del recurso que se busca resguardar: el agua.

En la **Figura 6** se muestran los principios de la química verde.

1.-Prevención	•Anticipar el daño al entorno
2.-Economía atómica	•La ruta sintética debe ser diseñada para maximizar la incorporación total de los reactivos en el producto final.
3.-Síntesis químicas menos peligrosas	•Usar, en la medida de lo posible, sustancias y procesos que posean bajos o nulos efectos tóxicos para el ser humano o el medio ambiente.
4.-Diseño de compuestos menos agresivos con el entorno	•Minimizar el uso de compuestos tóxicos y usar los que sean menos nocivos para el entorno.
5.-Uso de disolventes y dispositivos auxiliares solo cuando son inevitables	•Evitar el uso de disolventes y dispositivos de separación (membranas) y verificar que estos sean inocuos en caso de ser inevitable su uso.
6.-Diseño sintético enfatizando la eficiencia con el consumo de energía	•Los requerimientos de energía para todo proceso químico deben ser diseñados haciendo un balance entre el impacto económico y el ambiental.
7.-Uso de materias primas renovables	•Usar materias primas renovables para evitar agotarlas, siempre y cuando sea económicamente y técnicamente factible.
8.-Reducción de productos derivados o secundarios no deseados	•Evitar el uso de químicos auxiliares con el objetivo de no tenerlos como desechos al final del proceso.
9.-Catálisis	•Usar reactivos catalíticos selectivos en lugar de reactivos estequiométricos.
10.-Diseño sintético favoreciendo una degradación óptima del producto	•Los productos de cualquier proceso químico deben ser diseñados de modo que su función no persista en el medio ambiente.
11.-Análisis en tiempo real para la prevención de contaminantes	•Es necesario desarrollar técnicas analíticas apropiadas para mantener el control en la producción de contaminantes <i>in situ</i> .
12.-Diseño de rutas sintéticas inherentemente inocuas para la prevención de accidentes	•Selección de procesos y/o reactivos que no generen riesgos a lo largo de la reacción como pueden ser explosiones o incendios.

Figura 6. Postulados de la química verde (31).

Para evaluar un proceso químico con base en los postulados de la Química Verde, existe una escala ecológica del “verdor” llamada EcoScale. La evaluación consiste en asignar “puntos de penalización” con base en el uso de productos químicos, el consumo energético y la producción de residuos durante el proceso. Los puntos de penalización a considerar se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Puntos de penalización para calcular EcoScale (32).

PARÁMETRO	CONDICIONES	PUNTOS DE PENALIZACIÓN
Rendimiento	--	(100-%Rendimiento) /2
Precio de la reacción y sus componentes (para obtener 10 mmol de producto final)	Barato (< \$10 USD)	0
	Caro (>\$10 USD y <\$50 USD)	3
	Muy caro (> \$50 USD)	5
Seguridad <sup>a</sup>	N= peligroso para el medio ambiente	5
	T= tóxico	5
	F= altamente inflamable	5
	E=explosivo	10
	F+= extremadamente inflamable	10
T+=altamente tóxico	10	
Configuración técnica	Configuración común	0
	Instrumentos para adición controlada de sustancias químicas <sup>b</sup>	1
	Técnica de activación no convencional <sup>c</sup>	2
	Equipo presurizado <1 atm <sup>d</sup>	3
	Cristalería adicional	1
	Gas inerte	1
Temperatura/tiempo	Caja de guantes	3
	Temperatura ambiente <1h	0
	Temperatura ambiente <24h	1
	Calentamiento <1h	2
	Calentamiento >1h	3
	Enfriamiento a 0°C	4
Preparación de muestra y purificación	Enfriamiento < 0°C	5
	Ninguna	0
	Enfriamiento a temperatura ambiente	0
	Adición de disolventes	0
	Filtración simple	0
	Remoción de disolventes con bp < 150 °C	0
	Cristalización y Filtración	1
	Remoción de disolventes con bp > 150 °C	2
	Extracción en fase Sólida	2
	Destilación	3
	Sublimación	3
Extracción Líquido-Líquido <sup>e</sup>	3	
Cromatografía Clásica	10	

<sup>a</sup>De acuerdo a los símbolos de advertencia de peligro; <sup>b</sup>Embudo de separación, bomba de jeringa, regulador de presión de gas; <sup>c</sup>Irradiación de microondas, ultrasonido o activación fotoquímica, etc.; <sup>d</sup>CO<sub>2</sub> equipo de hidrogenación a alta presión, etc.; <sup>e</sup>Si corresponde, el proceso incluye el secado del solvente con desecante y la filtración del desecante.

#### 4. Generalidades de los antibióticos

Los antibióticos son medicamentos utilizados para prevenir y tratar las infecciones bacterianas, los cuales actúan inhibiendo diferentes funciones que llevan a cabo las bacterias y otros microorganismos como: síntesis de ácidos nucleicos, síntesis de proteínas o el procesamiento de aminoácidos o azúcares en el medio necesarios para la biosíntesis de sus paredes o membranas celulares. Los antibióticos pueden actuar en una o más sitios de la estructura celular del microorganismo y producir dos principales efectos: la muerte de la bacteria, designándose entonces como **agentes bactericidas** o sólo inhibir el desarrollo y reproducción del microorganismo, llamándose entonces **agentes bacteriostáticos** (32).

##### 4.1. Clasificación

Los antibióticos pueden clasificarse en diferentes grupos dependiendo de su estructura química y mecanismo de acción. La **Figura 7** muestra la clasificación por estructura química.

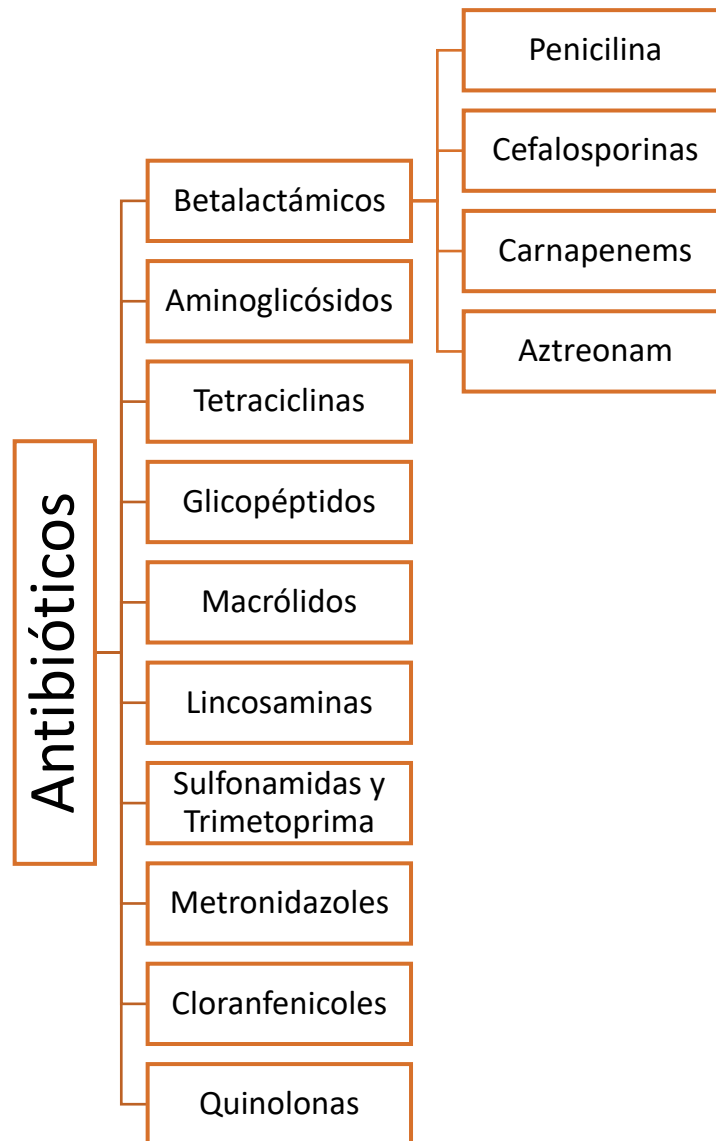
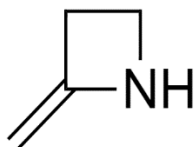


Figura 7. Antibióticos según su estructura química (33).

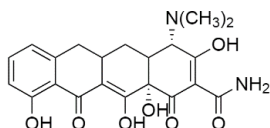
Cada tipo de antibiótico actúa de manera diferente dependiendo del grupo funcional al que pertenece. En la **Figura 8** y **9** se puede observar la función de cada antimicrobiano y el grupo funcional que los caracteriza.



### Betalactámicos

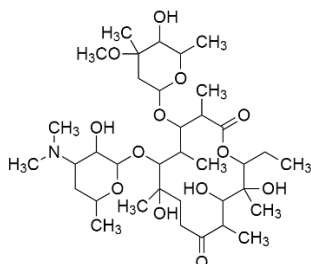
Los betalactámicos son un grupo de antibióticos de origen natural o semisintético que se caracterizan por poseer en su estructura un anillo betalactámico. Actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana y son considerados bactericidas. Se dividen en cuatro grupos:

- 1) Penicilinas, 2) Cefalosporinas, 3) Carbapenems, 4) Aztreonam



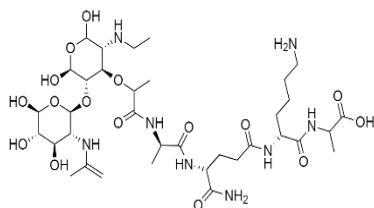
### Tetraciclinas

Contienen un anillo de naftaleno de cuatro átomos y químicamente son derivados de la naftacenocarboxamida policíclica, núcleo tetracíclico de donde deriva el nombre del grupo. Son agentes bacteriostáticos que inhiben la síntesis proteica al unirse a subunidad 30S de los ribosomas.



### Macrólidos

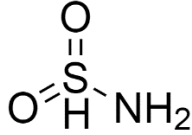
Se caracterizan por tener un anillo macrocíclico de lactona con 14 a 16 miembros. Son agentes bacteriostáticos que inhiben la síntesis proteica al unirse a subunidad 50S de los ribosomas.



### Glicopéptidos

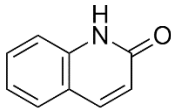
Son péptidos que contienen azúcares ligados a aminoácidos, como en la pared celular bacteriana. Estos agentes bactericidas actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular.

Figura 8. Antibióticos según su estructura química y mecanismo de acción (33).



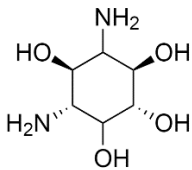
### Sulfonamidas

Contienen azufre, oxígeno y nitrógeno en su estructura química. Son agentes bacteriostáticos que bloquean la síntesis del ácido fólico bacteriano mediante la inhibición de la dihidropteroato sintetasa (sulfas) y dihidrofolato reductasa (trimetoprima).



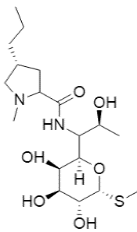
### Quinolonas

Se trata de un grupo de antimicrobianos que derivan de una molécula básica formada por una doble estructura de anillo que contiene un átomo de N en la posición 1. Son agentes bactericidas que actúan a través de la inhibición de la DNA girasa.



### Aminoglocósido

Se definen por la presencia de dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol. Son agentes bactericidas que inhiben la síntesis protéica al unirse a los ribosomas de la célula.



### Lincosamidas

Su estructura es un derivado del ácido propiligrínico y la clindamicina. Son agentes bacteriostáticos que inhiben la síntesis protéica al unirse a subunidad 50S de los ribosomas

Figura 9. Continuación: Antibióticos según su estructura química y mecanismo de acción (33).



#### 4.1.1 Mecanismo de acción

Los antibióticos pueden ejercer su acción antimicrobiana mediante alguno de los cinco mecanismos de acción. Estos mecanismos incluyen: la inhibición de la replicación, la interrupción de la transcripción genética, la inhibición de la síntesis de proteínas o traducción, la inhibición de la síntesis de peptidoglucano, el monómero estructural de la pared celular y pueden ejercer su acción para modificar y/o interrumpir la permeabilidad de la membrana celular. Los mecanismos de acción de los antimicrobianos se muestran en la **Figura 10**.

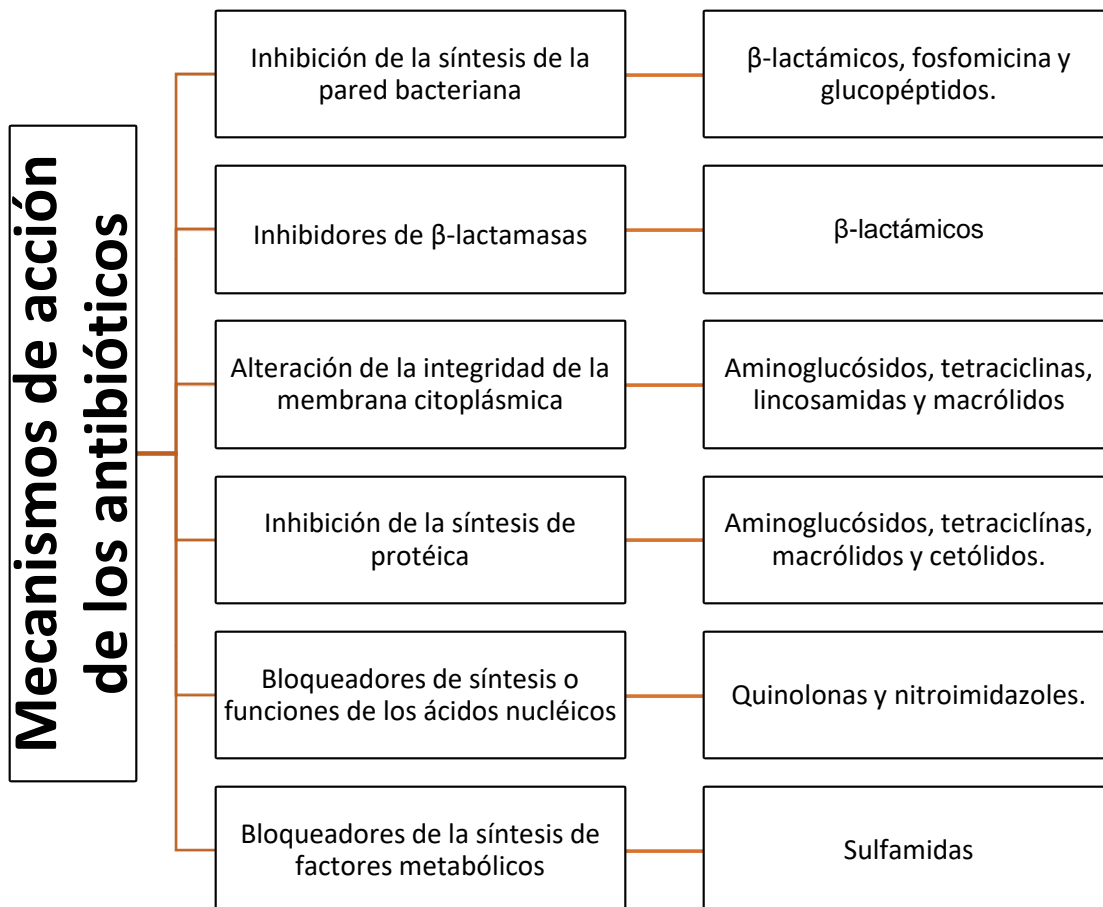


Figura 10. Mecanismos de acción de los antibióticos (34).

Los mecanismos de acción se llevan a cabo de la siguiente manera:

- 1) Antimicrobianos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana:** La pared celular protege la integridad anatomofisiológica de la bacteria y soporta la presión osmótica interna. La ausencia de esta estructura provoca la muerte del microorganismo, inducida por el gradiente de osmolaridad que suele existir entre el medio y el citoplasma bacteriano. Los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared necesitan para ejercer su acción que la bacteria se halle en crecimiento activo, y para su acción bactericida requieren que el medio en que se encuentre la bacteria sea isotónico o hipotónico, lo que favorece el estallido celular cuando la pared celular se pierde o se desestructura. En general, son poco tóxicos por actuar selectivamente en una estructura que no está presente en las células humanas.
- 2) Antibióticos activos en la membrana citoplásmica:** La membrana citoplásmica es vital para todas las células, ya que interviene activamente en los procesos de difusión y transporte activo, de esta forma controla la composición del medio interno celular. Los antibióticos que alteran esta estructura modifican la permeabilidad y provocan la salida de iones potasio, elementos esenciales para la vida bacteriana, o la entrada de otros que a altas concentraciones alteran el metabolismo bacteriano normal.
- 3) Antibióticos inhibidores de la síntesis protéica:** La síntesis protéica es uno de los procesos más frecuentemente afectados por la acción de los antimicrobianos, y su inhibición selectiva es posible gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariontes. La mayoría de los antibióticos de este grupo tienen actividad bacteriostática, aunque los aminoglucósidos se comportan como bactericidas. La acción bactericida o bacteriostática también va a depender de las concentraciones del antimicrobiano, y del microorganismo afectado.
- 4) Antibióticos que actúan en el metabolismo o la estructura de los ácidos nucléicos:** El genoma bacteriano contiene información para la síntesis de

proteínas que codifican en el ARN mensajero producido a partir del molde de ADN (transcripción), y para la síntesis de ARN ribosómico que formará parte de los ribosomas bacterianos. La información del ADN debe duplicarse (replicación) cuando la bacteria se divide, para transmitir esta información a la descendencia. La replicación y la transcripción del ADN se realizan en varias fases con la intervención de diferentes enzimas y sustratos, además del ADN molde, que constituyen dianas para la acción de diversos antibióticos.

Los antibióticos pueden actuar sobre enzimas que participan en los procesos de transcripción y replicación o directamente sobre el ADN, dañándolo.

- 5) Antibióticos bloqueadores de la síntesis de factores metabólicos:** interfieren en la síntesis de biomoléculas esenciales como los aminoácidos o las bases púricas y pirimidínicas de los nucleótidos. Estos reemplazan, inhiben o compiten con metabolitos específicos debido a que tienen una estructura similar a la del metabolito que se requiere atacar (34).
- 6) Antimicrobianos inhibidores de betalactamasas:** Las betalactamasas son enzimas producidas por algunas especies bacterianas y son las responsables de la resistencia que presentan dichas bacterias hacia antibióticos que en su estructura química presentan el anillo betalactámico (como penicilinas y cefalosporinas), ya que las betalactamasas rompen ese anillo con lo cual bloquean la actividad antimicrobiana de esos compuestos

## **4.2. Resistencia microbiana**

La resistencia microbiana se puede dividir en dos tipos: resistencia intrínseca o innata y resistencia adquirida. La resistencia intrínseca es una característica de una bacteria particular y depende de sus características biológicas. La resistencia adquirida resulta de: I) adquisición de genes de resistencia por otras bacterias o virus II) mutación del ADN cromosómico, III) combinación de ambos mecanismos

(35). Las principales causas de la resistencia microbiana se muestran en la **Figura 11**.

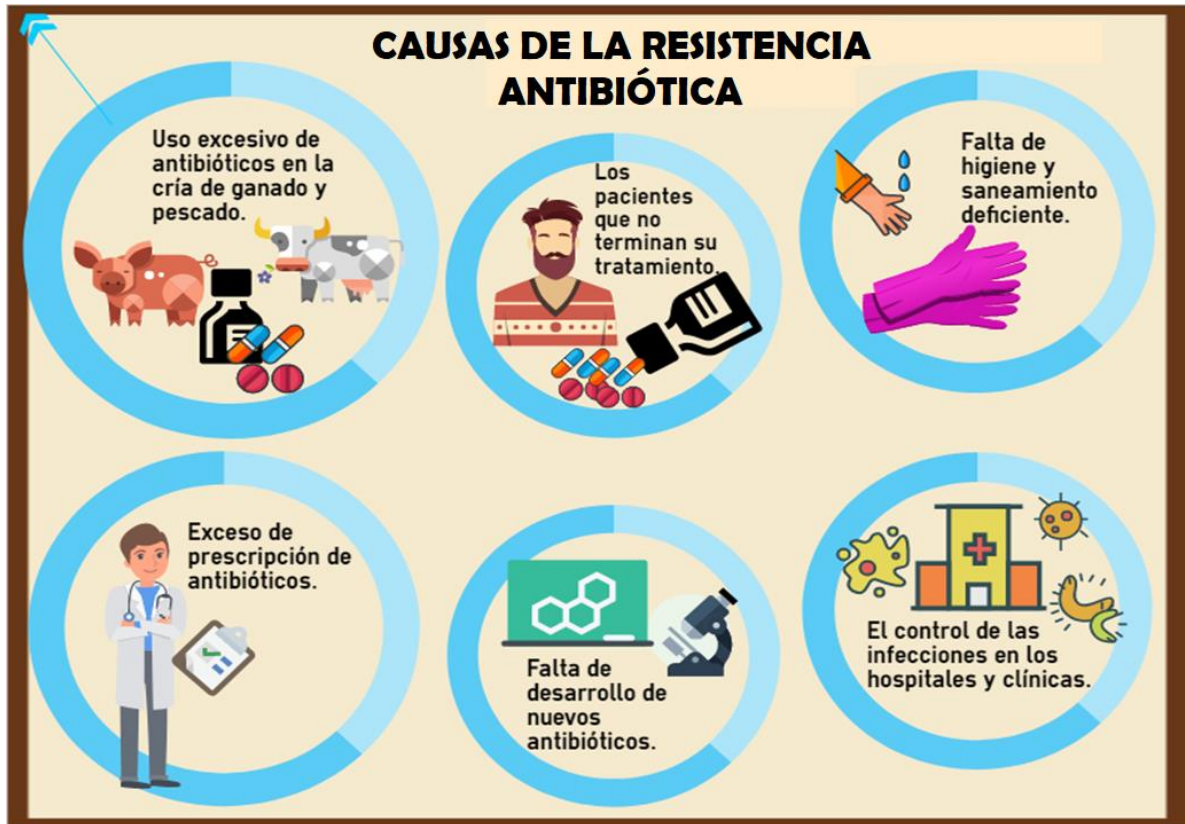


Figura 11. Causas de la resistencia antibiótica (36).

## 5. Incidencia y destino de los antibióticos en el medio ambiente

### 5.1 Residuos de antibióticos en matrices acuosas

Se ha encontrado que entre el 30% y el 90% de la dosis de antibióticos ingerida por humanos y animales, se excretan como sustancias activas a través de la orina (37). Posteriormente, los antibióticos solubles en agua se distribuyen en el medio acuático a través de sistemas de alcantarillado (38). También se han hecho estudios que demuestran que varios antibióticos son excretados sin modificaciones

provocando que sean muy reactivos aun después de ser eliminados por el organismo (21).

Por lo general, las concentraciones en agua superficial, subterránea y parcialmente tratada son inferiores a 0.1 µg/L (o 100 ng/L); mientras que en el agua tratada son menores a 0.05 µg/L (o 50 ng/L). Estas investigaciones indican que los productos farmacéuticos están presentes, aunque en concentraciones mínimas, en muchas fuentes de agua que reciben efluentes de agua residual (39).

En México se documenta que los lugares con mayor concentración de antibióticos son las Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) cerca de grandes ciudades o zonas urbanas importantes. Una serie de estudios realizados en el agua residual de las PTARs determinó que los microorganismos presentes en estos ecosistemas han adquirido farmacoresistencia exponiendo a los seres vivos a microorganismos resistentes convirtiéndose en una problemática sanitaria bastante grave (21).

Los procesos convencionales de tratamiento de agua, por ejemplo, la cloración, pueden eliminar aproximadamente el 50% de los fármacos. Por otro lado, los procesos de tratamiento más avanzados, tales como la ozonización, la oxidación avanzada, el carbón activado, la nanofiltración y la ósmosis inversa pueden lograr mayores tasas de eliminación. La ósmosis inversa, por ejemplo, puede eliminar más del 99% de las grandes moléculas de productos farmacéuticos. Sin embargo, la introducción de sistemas adicionales especializados y costosos para el tratamiento de agua potable, en particular para reducir las concentraciones de trazas de productos farmacéuticos, no se considera necesaria en este momento, dado que el beneficio para la salud humana sería limitado (38).

## 6. Técnicas analíticas para la determinación de antibióticos en matrices acuosas

En México, no existen normas oficiales en materia de agua para antibióticos y no hay datos disponibles que indiquen la presencia, riesgo y toxicidad de compuestos emergentes en agua superficial y subterránea (20). Las técnicas y métodos estandarizados establecidos para la detección de antibióticos en matrices de agua en otros países, no se han implementado en México, por lo cual es necesario promover técnicas analíticas destinadas para este fin. La detección de antibióticos en el medio ambiente acuático presenta un verdadero desafío analítico debido a sus bajas concentraciones (ppb, ppt o inferiores) y propiedades fisicoquímicas. Hoy en día, debido al gran progreso en la química analítica instrumental, es posible detectar varios tipos de antibióticos en concentraciones de  $\mu\text{g/L}$  a  $\text{ng/L}$ , usando la cromatografía líquida (LC) y la cromatografía de gases (GC) acoplada con la espectrometría de masas (MS), espectroscopía infrarroja o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) combinada con ultravioleta (UV), arreglo de diodos y fluorescencia (FL) o MS después de la extracción en la matriz de agua (40). En la **Tabla 9** se encuentran ejemplos de antibióticos encontrados en diferentes matrices acuosas y sus concentraciones.

**Tabla 9. Antibióticos encontrados en matrices acuosas y sus concentraciones.**

Antibiótico	Técnica	Matriz Acuosa	Concentración	Límite de Detección	Volumen de disolvente para la extracción	pH	País	Referencia
Sulfonamidas (Sulfadiazina, Sulfamerazina, Sulfametazina, Sulfadimetoxina, Sulfametoxazol, Sulfafurazol)	SPME-LC-MS/MS	Rio	1-200 µg/L	0.27–0.6 µg/L	200 µL MeOH	3	China	(41)
Quinolonas (marbofloxacina, norfloxacin, ciprofloxacina, danofloxacin, enrofloxacin, gatifloxacin y grepafloxacin.)	SPME HPLC-FD	Agua residual	0.02–0.23 ng/mL	0.01–0.2 ng/mL	NE	5	NE	(42)
Macrólidos (Eritromicina, eritromicina hidratada, tilosina y tilmicosina)	SPE-LC-MS/MS	Agua Superficial	ERI 262 ng/L; ERI-H2O 149 ng/L; TILM 1.73 mg/L; TILO ND.	11.5 to 26 ng L <sup>-1</sup>	3mL MeOH + 3.5mL ácido fórmico	6	España	(43)
Eritromicina, rifaximina, ofloxacino y sulfatiazol	SPE-LC-MS/MS	Agua Superficial	ERI 52-2806 ng/L; RIF 155–542 ng/L; OF 24–148 ng/L; SULF 4100 ng/L	NE	5mL acetonitrilo + 5mL acetonitrilo/ MeOH (60/40; v/v)	4	Líbano	(44)
Ciprofloxacina (CIP), penicilina (PEN), amoxicilina (AMX), cefixima (CEFI), cefalexina (CEFA), azitromicina (AZ) y eritromicina (ERI).	SPE-LC-MS/MS	Rio, agua subterránea, plantas de tratamiento de agua	CIP 552.6-796.2 ng/L; PEN 13.2-36.37 ng/L; AMX 114.5-586.3 ng/L; CEFI <LOQ to 318.6 ng/L; CEFA 122-460 ng/L; AZ <LOQ-43.3 ng/L; ERI 66.3-159.5 ng/L	NE	6 mL MeOH	2.5	Irán	(45)

**Tabla 9. Continuación...**

Antibiótico	Técnica	Matriz Acuosa	Concentración	Límite de Detección	Volumen de disolvente para la extracción	pH	País	Referencia
Sulfonamidas (sulfanilamida, sulfadiazina, sulfacetamida, sulfametoxazol, sulfamerazina, sulfadimetoxina, sulfametiazol y sulfatiazol)	SPE-UV	Agua de mar, agua potable	0.19-126 ng/mL	0.019 to 0.05 µg/mL	5 mL acetonitrilo	4	Italia	(46)
β- lactámicos (NE)	SPE-LC-MS/MS	Estanque, rio	1.3 to 413.3 ng/L	1 ng/L	6 mL MeOH + 10 mL acetonitrilo	3	Vietnam	(47)
Sulfametamina , sulfamonometoxina, sulfamethizole, sulfaquinoxalina, sulfadimetoxina, clortetraciclina, doxiciclina, enrofloxacin, sarafloxacin, ofloxacin, norfloxacin, eritromicina, roxitromicina, azitromicina, oxitetraciclina, tetraciclina, claritromicina y ciprofloxacina.	SPE-LC-MS/MS	Lodo, agua residual y agua superficial	37.21-544.28 ng/L (agua superficial); 8.37-1065.77 ng/L (agua residual):1.06-438.85 ng/L (lodo)	NE	30 mL MeOH (lodo); 4 mL MeOH (muestras líquidas)	3	Japón	(48)



**Tabla 9. Continuación...**

Antibiótico	Técnica	Matriz Acuosa	Concentración	Límite de Detección	Volumen de disolvente para la extracción	pH	País	Referencia
<p>(i) <math>\beta</math>-lactámicos: ceftazidima [CFZ], meropenem [MER] y andamoxicilina [AMX].</p> <p>(ii) Fluoroquinolona: ciprofloxacina [CIPX].</p> <p>(iii) Lincosamidas: lincomicina [LIN] y cladinicina [CLI].</p> <p>(iv) Macrólidos: eritromicina [ERI], azitromicina [AZT], claritromicina [CLAR] y androsina [TYL].</p> <p>(v) Sulfonamidas: sulfametazina [SMZ] y sulfametoxazol [SMX].</p> <p>(vi) Familia de tetraciclina: tetraciclina [TET], minociclina [MIN], clortetraciclina [CTC] y oxitetraciclina [OXY].</p> <p>(vii) Glucopéptido: vancomicina [VCM].</p> <p>(viii) Cloranfenicol [CAP].</p> <p>(ix) Antisépticos: triclosán [TCS] y triclocarban [TCC].</p>	SPE-UHPLC-ESI-MS/MS	Agua superficial, efluente sin procesar.	<p>Agua superficial: CLI 0.02-2.81 ng/L; ERI 11.8-226.5 ng/L; AZT 0.2-79.2 ng/L; CLAR 0.05-55.42 ng/L; SMZ 0.05-98.9 ng/L; SMX 0.05-168.6 ng/L.</p> <p>Efluente sin procesar: MER 264.8-433.6 ng/L; AMX 1855-10131 ng/L; CIPX 2241-6453 ng/L; CLI 23.77-26.57 ng/L; ERI 710.1-1020.2 ng/L; AZT 15377-2951 ng/L; CLAR 1201-1854 ng/L; SMZ 449.9-1814 ng/L; SMX 893.4-1389 ng/L; TET 1240-12340 ng/L; MIN 730.9-3808 ng/L; CTC 2333-15911 ng/L; OXY 1629-30049 ng/L; TCS 341.1-743.9 ng/L; TCC 423.9-933.9 ng/L; VCM 962-43740 ng/L; 62-80 ng/L.</p>	0.02 -15 ng/L (agua superficial); 0.05-25ng/L (agua residual); 0.1-40 ng/L (agua tratada)	5 mL MeOH + 5 mL MeOH/aceto na	3	Australia	(49)

**Tabla 9. Continuación...**

Antibiótico	Técnica	Matriz Acuosa	Concentración	Límite de Detección	Vol. de disolvente para la extracción	pH	País	Referencia
(i)Tetraciclinas: Hidrocloruro de tetraciclina, Clorhidrato de clortetraciclina, Doxiciclina, Clorhidrato de oxitetraciclina (ii) Fluoroquinolonas: Ofloxacin, Norfloxacin, Enrofloxacin, Lomefloxacin, Clorhidrato de difloxacin, Clorhidrato de ciprofloxacina, (iii) Sulfonamidas: Trimetoprima, Sulfadiazina, Sulfamerazina, Sulfametazina, Sulfisoxazol, Sulfametoxazol, Sulfamonometoxina, Sulfachloropyridazine, Sulfathiazole, (iv)Macrólidos: Eritromicina, Azitromicina	SPE- MS/MS	Agua residual y agua subterránea	212–4035 ng/L en Agua residual y 19–1270 ng/L en agua subterránea.	NE	5 mL MeOH	3	China	(50)
Amoxicilina, ampicilina, clopidol, fenbandazol, flumequina, lincomicina, sulfadiazina y trimetoprima.	SPE- HPLC/HRMS	Agua subterránea, agua de río, y agua residual de planta de tratamiento	1.26-127.49 ng/L.	1-17.5 ng/L	NE	6.5	Corea del Sur	(42)

**Tabla 9. Continuación...**

Antibiótico	Técnica	Matriz Acuosa	Concentración	Límite de Detección	Vol. de disolvente para la extracción	pH	País	Referencia
Eritromicina, Tartrato de tilosina, Tilmicosina	MSPME- LC-MS/MS	Agua de pozo y agua superficial	43.77 ng/L	11.5-26 ng/L	2x 4mL MeOH + 2x 4mL MeOH acidificado	NE	España	(43)
(i)Sulfametoxazol, (ii)sulfadiazina, (iii)sulfamerazina	SPE- LC/MS	Agua de río, plantas de agua residual.	(i)0.421-204.45 µg/mL; (ii)0.014 µg/mL; (iii) 0.083-0.151 µg/mL	2000 ng/L-0.30 ng/L	NE	3	Morelos, México	(20)
Sulfadiazina (SLD), sulfamerazina (SMZ), sulfametazina (SMTZ) y sulfametoxazol (SMZL).	SPE	Planta de tratamiento de agua residual	SLD 1.35 ng/L; SMZ 2.23 ng/L; SMTZ 2.00 ng/L; SMZL 192 ng/L para Morelos. SMZ 1.20 ng/L y SMZL 89 ng/L para CDMX.	NE	Agua-formiato de amonio 5 milimolar (mM): acetonitrilo - metanol (60:40) y agua-acetonitrilo 90:10: metanol-acetonitrilo (80:20).	NE	México (CDMX y Morelos)	(51)

\*NE = No Especificado; SPME= Microextracción en fase sólida; SPE= Extracción en fase sólida; LLE= Extracción líquido-líquido; HPLC/LC=Cromatografía de líquidos; MS= Espectrómetro de masas; HRMS= Espectrómetro de masas de alta resolución; ESI= Ionización por electrospray; FD= Detector de fluorescencia; UV=Ultravioleta.

## **6.1. Métodos analíticos para la determinación de antibióticos en matrices acuosas**

Hay una serie de técnicas bien establecidas de preparación de muestras para la determinación de contaminantes orgánicos en muestras de agua por la USEPA, incluida la Extracción Líquido-Líquido (LLE por sus siglas en inglés Liquid-Liquid Extraction), Extracción en Fase Sólida (SPE por sus siglas en inglés Solid Phase Extraction) y Microextracción en Fase Sólida (SPME por sus siglas en inglés Solid Phase Microextraction).

LLE es una técnica simple comúnmente utilizada en muestras de agua, aprobada por la USEPA. Sin embargo, a pesar de las aplicaciones de rutina de LLE, como el método oficial de elección de la USEPA, hay algunas limitaciones asociadas con esta técnica. Una de las críticas más grandes del método está dirigida hacia su falta de acercamiento a la Química Verde; LLE utiliza grandes cantidades de disolventes orgánicos, que además de ser costosos, afectan directamente al medio ambiente. Por otro lado, SPE, debido a que utiliza un menor volumen de disolventes orgánicos, es una técnica de preparación de muestras usada como reemplazo de LLE. Sin embargo, SPE tiene sus propias deficiencias, generalmente relacionadas con la automatización y el pretratamiento de la muestra. Otra desventaja es que los sólidos suspendidos y las partículas deben filtrarse previamente al procedimiento de SPE, que puede dar como resultado la pérdida de compuestos, particularmente hidrofóbicos, que a su vez influye en la precisión del método (52). Como una alternativa a estos tradicionales métodos, SPME fue introducida por Pawliszyn a principios de la década de 1990 como un método económico, sencillo, rápido y libre de solventes. En SPME, la fase de extracción, colocada sobre un soporte sólido, se expone a la muestra para la adsorción de compuestos, seguido por el detector analítico apropiado para la desorción y determinación, incluida la cromatografía de gases (GC), líquido cromatografía (LC) y acoplamiento directo a espectrometría de masas (MS). A pesar de todas las ventajas antes mencionadas de SPME, aún no se ha promovido su uso en los laboratorios de análisis.

Muchos laboratorios todavía usan LLE y SPE como método oficial de la USEPA para el análisis de rutina de contaminantes orgánicos en muestras de agua (52).

Para la determinación de antibióticos en matrices acuosas es importante tomar en cuenta el comportamiento de estos para poder elegir la técnica adecuada para su determinación; los antibióticos a menudo poseen núcleos no polares y grupos funcionales polares, por lo que se disocian o protonan dependiendo del pH del medio. Las fases muy polares y no polares pueden causar una extracción incompleta de los analitos y presentar un problema analítico grave.

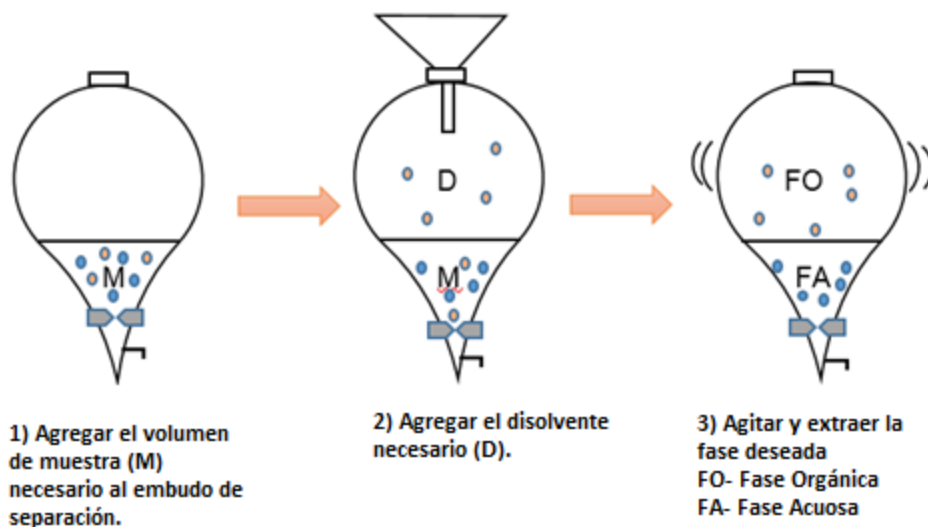
Los métodos LC-MS / MS han ganado popularidad y se han convertido en una de las técnicas más usadas para analizar productos farmacéuticos como antibióticos en el medio acuático, entre otros métodos analíticos (CL-UV / FL y GC-MS) (40).

A continuación, se describen las técnicas analíticas más usadas para la determinación de antibióticos en matrices acuosas:

#### 6.1.1 Extracción Líquido-Líquido

La extracción líquido-líquido es una técnica que ha sido empleada durante muchos años para la extracción de diversos analitos en matrices acuosas. Se basa en hacer pasar los analitos de una fase acuosa a otra fase orgánica mediante varias etapas de agitación de la mezcla. Aunque se trata de una metodología sencilla y que proporciona buenas recuperaciones, presenta inconvenientes, como el uso de un elevado volumen de disolventes orgánicos, en su mayoría costosos y tóxicos, y la recurrente necesidad de evaporar la muestra para la preconcentración de los analitos. Además, es un proceso bastante largo donde se pueden generar errores debido a la alta manipulación de la muestra (53). Por todo ello, en las últimas décadas ha existido una tendencia a reemplazar la extracción líquido-líquido por la extracción en fase sólida.

En la **Figura 12** podemos ver de manera resumida como se lleva a cabo la Extracción Líquido-Líquido.



**Figura 12. Método de "Extracción líquido-líquido".**

### 6.1.2 Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida fue desarrollada a finales de la década de los años 1970 y rápidamente se convirtió en una metodología importante para la extracción de compuestos en matrices medioambientales. Consiste en hacer pasar la muestra a través de un adsorbente sólido que retiene los analitos selectivamente según su afinidad por el mismo. Posteriormente se realiza la elución de esos analitos con un disolvente adecuado, resultando un extracto purificado y más concentrado.

Esta técnica reduce significativamente el consumo de disolvente orgánico y el tiempo de operación respecto a la extracción líquido-líquido (ver **Tabla 10**) ya que no requiere de extracciones sucesivas. Además del enriquecimiento y purificación de las muestras, la extracción en fase sólida permite la separación de distintos

analitos eluyendo las distintas fracciones con diferentes disolventes, el almacenamiento de compuestos inestables o volátiles y la derivatización de los analitos mediante reacción con el sorbente (54).

La SPE ofrece una serie de ventajas relevantes sobre las técnicas de extracción convencionales entre las que se destacan:

- Menor manipulación de la muestra
- Menor tiempo de extracción
- Menor consumo de solventes en comparación con LLE
- Posibilidad de automatización
- Versatilidad en el tipo de sorbentes utilizados

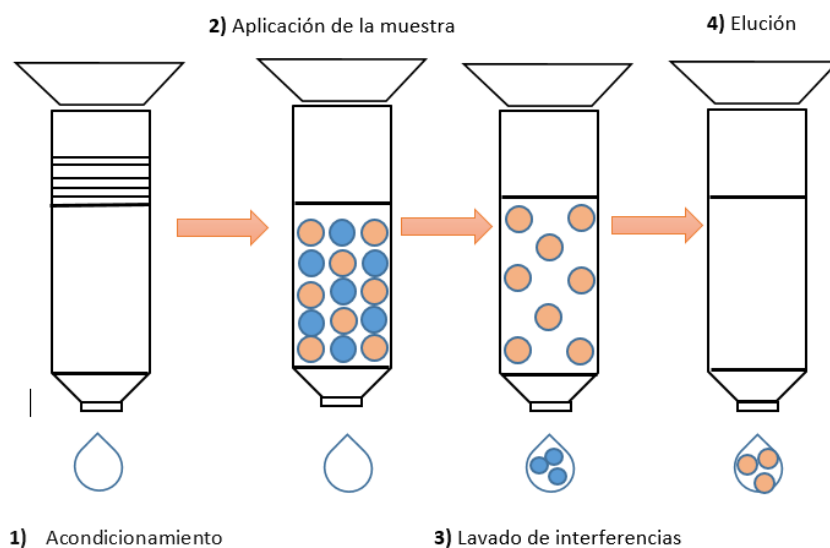
El proceso de concentración de la muestra en SPE consta de las siguientes etapas básicas: a) acondicionamiento de la fase, b) paso de la muestra a través del material adsorbente, c) lavado y d) elución (55).

Los primeros sorbentes desarrollados en SPE fueron los de sílice enlazada, carbón grafitizado y polímeros porosos. Los de carbón grafitizado son adecuados tanto para analitos polares como no polares, pero a menudo la retención es tan fuerte que estos no pueden volver a recuperarse. Por su parte los poliméricos son estables en un amplio rango de pH y ofrecen mayor eficiencia para la extracción de compuestos polares.

Hoy en día existen una gran cantidad de sorbentes con características polares, no polares o de intercambio iónico; estos son diseñados para ser empleados en fase normal, fase inversa e intercambio iónico respectivamente. La SPE permite un alto grado de selectividad a través del uso de adsorbentes adecuados o con una apropiada combinación de una serie de ellos, los cuales por sus características mejoran la selectividad de la extracción. (55)

Para el correcto empleo de la SPE deben optimizarse todos aquellos parámetros que afectan al proceso, como son el volumen de muestra, el pH y la fuerza iónica de la misma, así como el volumen y la naturaleza del eluyente.

En la **Figura 13** se muestra cómo se lleva a cabo la Extracción en Fase Sólida.



**Figura 13. Método de "Extracción en fase sólida".**

## 6.2 Microtécnicas analíticas para la determinación de antibióticos en matrices acuosas

En el desarrollo de métodos se deben tener en cuenta dos factores. Primero, debido a que las muestras medioambientales son muy complejas, los métodos se basan mayoritariamente en el uso de técnicas de separación, principalmente cromatográficas, con las que se lleva a cabo la separación de los analitos; segundo, como las concentraciones a las que se encuentran presentes los analitos en las muestras medioambientales son muy bajas, se precisan sistemas de detección muy sensibles para su cuantificación o bien se utiliza una etapa de concentración previa



a la separación y detección. La espectrometría de masas (MS) es una de las técnicas de detección más utilizadas ya que permite identificar los compuestos al mismo tiempo que se cuantifican.

En los últimos años, los avances en el campo del análisis medioambiental se han dirigido al desarrollo de nuevas técnicas de preconcentración que sean de fácil uso, que permitan minimizar la manipulación de la muestra, que no utilicen disolventes orgánicos, que puedan ser automatizadas y que sean rápidas. Otro aspecto importante para tener en cuenta es que estas nuevas técnicas de preconcentración permitan realizar el análisis en campo.

El método SPME consiste en la exposición de una fase estacionaria inmovilizada (una fina fibra de sílice fundida, recubierta con una fina película de polímero) en el espacio libre de la muestra líquida (llamada “espacio-cabeza” o en inglés conocida como “headspace”; **Figura 14** o por inmersión en la muestra líquida (inmersión directa; **Figura 15**) (56). En el primer método, la fibra se expone fuera de la matriz para adsorber analitos volátiles, mientras que en el último se introduce en ella para adsorber los analitos con baja volatilidad. La fibra se encuentra dentro de un dispositivo similar a una jeringa la cual tiene una aguja que protege la fibra de adsorber analitos que no se requieren detectar en el análisis; la aguja puede perforar un vial que contiene la muestra (líquido o vapor) y finalmente la fibra se expone a la muestra donde permanecerá hasta que se haya establecido el equilibrio entre la concentración de analito en la muestra en la fase sólida. La pequeña geometría de este dispositivo permite una eficiente transferencia de masa durante la extracción y desorción y evita el taponamiento que sucede con los cartuchos de SPE. Los analitos adsorbidos sobre la fibra se pueden desorber en el puerto de inyección de un cromatógrafo de gases o en una interfaz SPME / HPLC. SPME es un método de equilibrio y, por lo tanto, los analitos pueden no extraerse exhaustivamente de la muestra. Sin embargo, al estandarizar las condiciones de la extracción, por ejemplo, pH, temperatura, equilibrio químico, etc., los resultados obtenidos son confiables. La selectividad de un sorbente de SPME hacia los analitos es muy importante para

la elección del recubrimiento y el incremento de la confiabilidad de los resultados (57).

La SPME muestra numerosas ventajas frente a la preparación de muestra tradicional. Algunas de ellas son: simplicidad, rapidez, economía, menor manipulación de la muestra, mayor precisión y sensibilidad. Además, se minimiza la cantidad de muestra, el consumo de reactivos y de disolventes costosos y tóxicos, siendo más compatibles con la química verde.

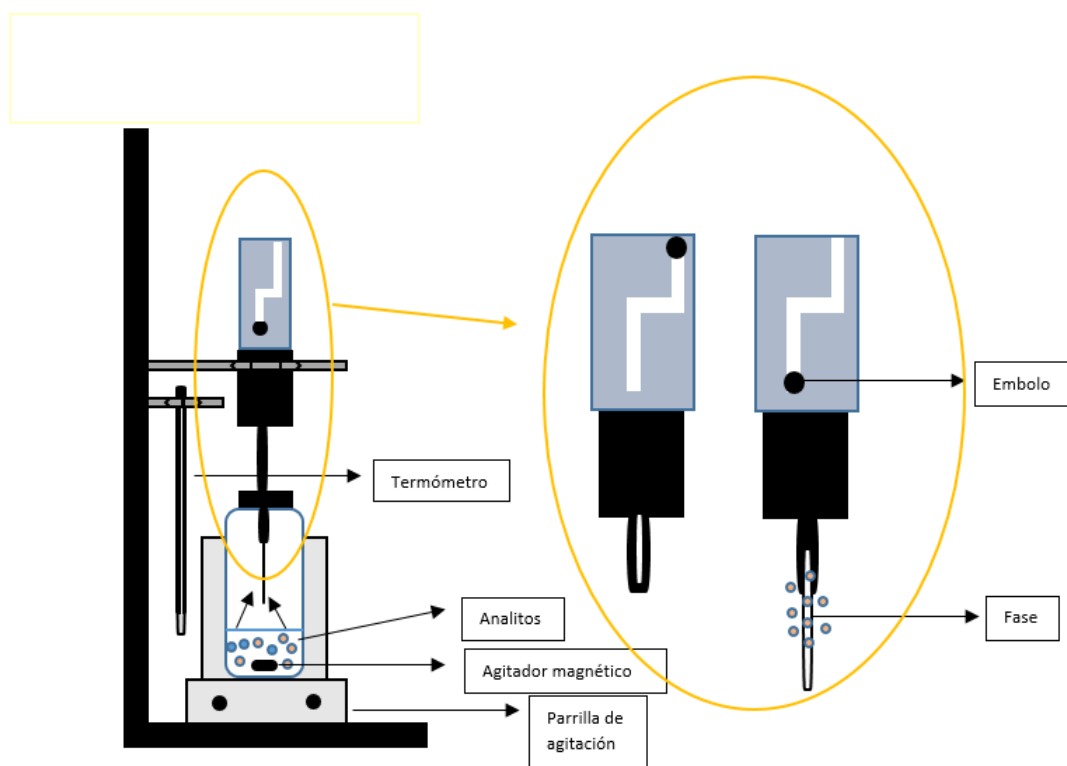


Figura 14. Microextracción en fase sólida por "headspace" o "espacio cabeza" (montaje y partes que lo conforman).

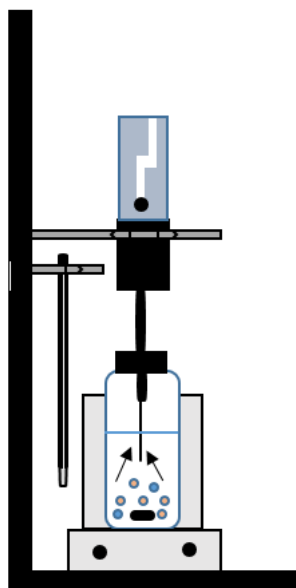


Figura 15. Microextracción en fase sólida por inmersión directa.

### 6.3 Comparación de las técnicas analíticas convencionales para la determinación de antibióticos y SPME

#### SPME vs LLE

Una comparación de los resultados obtenidos por LLE y SPME con el uso de un gráfico de Bland-Altman (análisis estadístico que determina los “límites de concordancia” entre dos métodos para evaluar si la comparación de estos permite reemplazar uno por el otro con la precisión suficiente) mostró una buena concordancia entre las dos técnicas. Ambas técnicas demostraron ser precisas, con resultados en el rango de 70-130%. Van Aken et al. (32) comenta que existen evaluaciones para cada método usando EcoScale para concluir acerca del “verdor” de cada uno de ellos. Se obtuvo un factor de escala ecológica de 82 por el método SPME (18 puntos de penalización), en comparación con un factor de escala ecológica de 51 para LLE, que afirma el “verdor” superior de la técnica SPME.

Además de una buena precisión, SPME requiere de volúmenes pequeños de muestra, que van de 2-10 ml, en comparación con LLE (para los cuales se necesita hasta 1L de muestra). Por otro lado, LLE proporciona simplicidad sin necesidad de ningún instrumento particular y cuantificación fácil debido a la extracción exhaustiva.

### **SPME vs SPE**

Para SPE, antes de introducir cada muestra, los cartuchos deben estar acondicionados con diferentes disolventes orgánicos y la volatilidad de disolventes a menudo es necesaria para obtener un resultado confiable en el análisis. Por el contrario, no se necesita acondicionamiento para la fibra SPME, y la desorción se lleva a cabo comúnmente en inyectores CG. Se han realizado análisis de costos en los cuales se ha concluido que SPME tiene un costo mucho más bajo que SPE (52). La fácil automatización de la fibra SPME a GC / MS hace que esta técnica sea adecuada para el análisis de muestra de agua mientras se requiere una menor cantidad de esta. SPME es eficaz para realizar una cuantificación altamente sensible de compuestos para los que hay estándares disponibles, con alta reproducibilidad y con menor volumen de disolventes orgánicos (56). Sin embargo, una limitación de ambas técnicas es la naturaleza de los analitos hidrófobos para adherirse a las paredes de los contenedores/botellas, lo que limita la precisión de la determinación. El análisis en el sitio por parte de SPME es un enfoque prometedor que pronto podría estar en tendencia, encontrando de esa manera la forma correcta de resolver el problema de adherencia de los compuestos hidrofóbicos en los materiales utilizados para la determinación.

En la **Tabla 10** podemos ver la comparación de las técnicas mencionadas anteriormente con base en las etapas de extracción, volumen de muestra, volumen de disolvente, tiempo de extracción, acercamiento a la química verde y límite de detección del método.

Tabla 10. Comparación de técnicas analíticas (LLE/SPE/SPME) (52), (58).

	LLE	SPE	SPME
Extracción/Determinación	-Adición de disolventes a la muestra en embudo de separación. -Agitación. -Separación en dos fases. -Eliminación de la fase acuosa/Concentración de la fase orgánica. -Medición en los instrumentos analíticos.	-Acondicionamiento de cartuchos o membranas. -Elución de la muestra. -Elución del disolvente para eliminar interferencias y desorción de los analitos. - Medición en el instrumento analítico.	-Exposición de la fase de SPME a la muestra. -Desorción de los analitos en el instrumento analítico.
Volumen de Muestra	Mayor a 1000 mL	100-500 mL	2-10 mL
Volumen de Disolvente	Mayor a 100 mL	5-10 mL	<50 µL
Tiempo de extracción	60 min	30-60 min	10-30 min
Acercamiento a la Química Verde	Pobre	Medio	Alto
LD	0.5-5 ng/mL	0.005-0.05 ng/mL	0.05-0.5 ng/mL

## 7. Discusión

Los fármacos representan un problema en el medio ambiente del cual se ha hablado a partir del año 1976 (20), aquí fue donde se comenzó a encontrar trazas de ellos en nuestro entorno y se empezó a pensar qué hacer con este tipo de contaminantes emergentes. Es un hecho que en México se necesitan normatividades que controlen de manera estricta el uso descontrolado de antibióticos con base en la toxicidad y en ensayos biológicos hechos dentro del país. La Ley General de Salud indica que los antibióticos no pueden ser consumidos sin prescripción médica, pero aun así el uso para ganadería y acuacultura no está del todo restringido, específicamente en el uso de antimicrobianos promotores de crecimiento. Existen estudios que indican que el

consumo constante de algunos metabolitos o trazas de antibióticos genera problemas de salud a largo plazo para animales acuáticos y también provoca resistencia microbiana. Estamos propensos a perder especies acuáticas que son de gran importancia para el equilibrio de ecosistemas y a largo plazo estas pérdidas pueden representar cambios graves en el medio ambiente. Otro problema que se ve reflejado en la farmacoresistencia, como sucede actualmente con la gonorrea según la OMS (28). Este es uno de los conflictos más críticos que se han desarrollado por el mal uso de antibióticos y la falta de regulación en su consumo. La biodisponibilidad de los antibióticos no es del 100% en todos los casos, en algunos es incluso del 60% o menos (en el caso de la amoxicilina tenemos que aproximadamente el 60% de la dosis consumida por vía oral se elimina por medio de orina en un periodo de 6 a 8 horas) (23), por esta razón se requiere el desarrollo de nuevos antibacterianos para combatir la resistencia adquirida o desarrollada por diversos patógenos. Aunque el consumo a largo plazo de antibióticos por medio del agua pudiese no representar un gran problema en la mayoría de los casos, la resistencia microbiana adquirida por el consumo inconsciente de estos es alarmante. Sin el control del uso de los antibióticos la resistencia seguirá siendo un problema sin solución y no podrá ser controlado o erradicado de manera eficiente

Para poder proponer normatividades que regulen y ayuden a solucionar el problema del alto consumo y existencia de antibióticos en matrices acuosas, se requieren de constantes estudios en diferentes cuerpos de agua, principalmente aquellos que son punto de distribución de agua para el país, así como investigar los efectos secundarios que genera a largo plazo el consumo indirecto de estos fármacos.

Se realiza una comparación de técnicas analíticas, en la cual resaltan las ventajas y desventajas de cada una de ellas respecto a la contaminación que puedan generar durante la determinación de antibióticos en matrices acuosas. Se busca que la técnica empleada utilice la menor cantidad de disolventes orgánicos, para así disminuir la cantidad de contaminantes emergentes que se puedan producir durante el análisis.

La Microextracción en Fase Sólida resulta ser una técnica que no está penalizada de manera importante por la EcoScale (32), lo cual está directamente relacionado con el acercamiento de este método a la Química Verde. El uso mínimo de disolventes y de muestra aunado a los costos bajos del análisis hacen de ella una técnica ideal para el objetivo principal: elegir una técnica analítica que nos dé resultados precisos y confiables sin generar contaminantes emergentes durante el proceso.

En el caso de la Extracción Líquido-líquido y la Extracción en fase sólida, la mayor desventaja es la cantidad de disolventes orgánicos usados para el análisis, lo cual resulta contraproducente ya que se produce una mayor cantidad de contaminantes emergentes al ser empleadas. Por lo tanto, la Microextracción en Fase Sólida podría ser una buena alternativa para encontrar los puntos críticos de contaminación por antibióticos en cuerpos de agua y generar soluciones al respecto sin resultar perjudicial. A pesar de que SPE e LLE son métodos aprobados por la EPA para determinación de contaminantes emergentes orgánicos en agua, los resultados obtenidos con la técnica

de SPME proporcionan mayor confiabilidad y precisión a un bajo costo aunado a la baja producción de contaminantes durante el proceso.

## **8. Conclusiones**

- La importancia de la existencia de antibióticos representa un problema a nivel mundial debido a que estos se encuentran en varios tipos de agua como son: potable, subterránea y residual. El consumo indirecto de ellos ocasiona principalmente un incremento en la resistencia microbiana, lo cual repercute en la salud de los seres vivos. Se necesita concientizar al respecto para lograr una disminución en el consumo y promover el desecho adecuado de estos compuestos.
- En la industria las técnicas de extracción más comunes para la determinación de antibióticos en agua son las menos sensibles, las que requieren mayor tiempo de extracción y generan mayor cantidad de residuos contaminantes. Una técnica alternativa y con mayores ventajas es la Microextracción en fase sólida, la cual puede ser implementada para disminuir la producción de residuos contaminantes.



## 9. Referencias

- (1) Friedman ND, Temkin E, Carmeli Y. The negative impact of antibiotic resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2016; 22: 416-422.
- (2) OMS. Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos [Internet]. OMS; 2016 [Consultado 15 Nov 2017].
- (3) FAO. Informe de situación sobre la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Roma: FAO; 6-13 Jun 2015 [Consultado el 15 de Nov 2017].
- (4) OMS. Estrategia Mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. OMS; 2001 [Consultado 15 Nov 2017].
- (5) OMS. Cuadro Básico de Medicamentos [Internet]. OMS; Mar 2011 [Consultado 18 Nov 2017].
- (6) OMS. Lista OMS de Antimicrobianos de Importancia Crítica para la Medicina Humana (Lista OMS de AIC) [Internet]. OMS; 2017 [Consultado 20 May 2018]
- (7) EPA. Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS [Internet]. EPA; 2007 [Consultado 15 Oct 2017].
- (8) Glassmeyer ST, Furlong ET, Kolpin DW. Nationwide reconnaissance of contaminants of emerging concern in source and treated drinking waters of the United States. *Science of the Total Environment.* 2017; 581-582: 909-922.
- (9) Zandaryaa, S. Pharmaceuticals in the aquatic environment of the Baltic Sea region – A status report. Suecia: UNESCO; 2017; 1-121.
- (10) Secretaría de Economía. Industria Farmacéutica: Unidad de Inteligencia de Negocios [Internet]. SE; 2013 [Consultado 12 Mar 2018].
- (11) Klein EY, Van Boeckeld TP, Martineza EM. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *PNAS*; 10 Abril 2018; 1-18.
- (12) The Center for Disease Dynamics, Economics and Policy. ResistanceMap: Antibiotic resistance [Internet]. CDDEP; 2018 [Consultado 18 Jun 2018].
- (13) PROFECO. Sondeo en línea sobre hábitos de consumo de medicamentos [Internet]. PROFECO; Ago 2010 [Consultado 20 Mar 2018].
- (14) Ríos Ruy-Pérez C. Legislación sobre antibióticos en América Latina [Internet]. OPS; 2004 [Consultado 25 Jul 2018].
- (15) OCDE. Antimicrobial resistance: Policy insights [Internet]. OCD; Nov 2016 [Consultado 25 Jul 2018].
- (16) OCDE. Global Antimicrobial use in the livestock sector [Internet]. OCDE; 26 Feb 2015 [Consultado 15 Jul 2018].

- (17) Huerta-Fontela M, Galceran MT, Ventura F. Occurrence and removal of pharmaceuticals and hormones through drinking water treatment. *Water Res.* 2011; 45(3): 1432-1442.
- (18) Infac. Farmacontaminación. Impacto ambiental de los medicamentos. Infac [Internet] 2016 [Consultado 26 Nov 2017], 24(10).
- (19) Zhang J, Liu D, Shi Y, Sun C, Niu M, Wang R.. Determination of quinolones in wastewater by porous  $\beta$ -cyclodextrin polymer based solid-phase extraction coupled with HPLC. *J Chrom B.* 2017; 1068-1069: 24-32.
- (20) Avilés Flores M, Sánchez Zarza M, Ramírez Salinas N. Proyecto "Métodos analíticos para determinación de compuestos emergentes en agua" [Internet]. SEMARNAT; 2015 [Consultado el 20 de junio de 2018].
- (21) Moreno-Ortiz VC, Martínez-Nuñez JM, Kravzov-Jinich J, Pérez-Hernández LA, Moreno Bonett C, Altagracia-Martínez M. Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéutica.* 2013; 44(4), 17-29.
- (22) Acevedo-Barrios RL, Severiche-Sierra CA, & Jaimes-Morales JD. Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *P+ L.* 2015; 10(2):160-172.
- (23) UNAM. Amoxicilina [Internet]. UNAM; Jun 2005 [Consultado 14 Jul 2018].
- (24) UNAM. Trimetoprima / Sulfametoxazol [Internet]. UNAM; Jun 2005 [Consultado 12 Jul 2018].
- (25) Flores Blacio MV. Determinación de residuos de tetraciclinas en la carne bovina del camal del cantón Santa Rosa, Provincia del Oro [Tesis]. Ecuador: Universidad Técnica de Machala; 2016. 44 p.
- (26) Weber FA, Aus der Beek T, Bergmann A. Fármacos en el medio ambiente- la perspectiva global: Incidencia, efectos y acción cooperativa bajo el SAICIM [Internet] Umwelt Bundesamnt; 2014 [Consultado 14 Nov 2017].
- (27) Cuñat Zaira A, Ruiz MJ. Ensayos de ecotoxicidad de los fármacos y efectos tóxicos en el medio ambiente: Revisión. *Rev. Toxicol.* 2016; 33(2): 115-117.
- (28) OMS. El aumento de la gonorrea resistente a los antibióticos hace necesario nuevos fármacos [Internet]. OMS; 7 Jul 2017 [Consultado 6 Ene 2018].
- (29) OMS. La OMS publica lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. OMS; 27 Feb 2017 [Consultado el 8 Ene 2018].
- (30) Mesteres R. Química Sostenible: Naturaleza, fines y ámbito. *Educ. Quím.* 2013; 24:103-112.
- (31) Contreras R. Química Verde: Un compromiso vinculante entre naturaleza, academia y sociedad. *Revista Anales.* 2015; 7(8): 137-145.

- (32) Van Aken K, Streckowsky L, Patiny L. EcoScale, a semi-quantitative tool to select an organic. *Beilstein J Org Chem*. 2006; 2:1-7.
- (33) Bado I, Cordeiro N, Seija, V, Vignoli R. *Temas de bacteriología y virología medica* [Internet]. Uruguay: Oficina del libro FEFMUR; 2008. [Revisado 2018, citado 2018 Nov 16].
- (34) Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos [Internet] 2009 [Consultado 14 Abril 2018].
- (35) Khameneh B, Diab R, Ghazvini K, Sedigheh B, Bazzaz F. Breakthroughs in bacterial resistance mechanisms and the potential ways to combat them. *Microbial Pathogenesis*. 2016; 95: 32-42.
- (36) OMS. Critically important antimicrobials for human medicine, 5th revision [Internet]. OMS; 2017 [Consultado 19 Mar 2018].
- (37) Wen Q, Yang L, Duan R, Chen Z. Monitoring and evaluation of antibiotic resistance genes in four municipal wastewater treatment plants in Harbin, Northeast China. *Environmental Pollution*. 2016; 212: 34-40.
- (38) Jiang Y, Li M, Guo C, An D, Xu J, Zhang Y, Xi B. Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China. *Chemosphere*. 2014; 112: 267-274.
- (39) OMS. Productos farmacéuticos en agua potable [Internet]. OMS; [Consultado 18 Dic 2017].
- (40) Milic L, Milanovic M, Letic NG, Sekulic MT, Radonic J, Mihajlovic I, Miloradov MV. Occurrence of antibiotics as emerging contaminant substances in aquatic environment. *Int J Environ Heal R*. 2013; 23(4): 296-310.
- (41) Zhou, Q., & Fang, Z. Highly sensitive determination of sulfonamides in environmental water samples by sodium dodecylbenzene sulfonate enhanced micro-solid phase extraction combined with high performance liquid chromatography. *Talanta*. 2015; 141: 170-174.
- (42) Kim C, Ryu H, Chung EG, Kim, Y. Determination of 18 veterinary antibiotics in environmental water using high-performance liquid chromatography-q-orbitrap combined with on-line solid-phase extraction. *J. Chromatogr. B*. 2018; 1084: 158-165.
- (43) Pérez RA, Albero B, Ferriz M, Tadeo JL. Analysis of macrolide antibiotics in water by magnetic solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*. 2017; 146: 79-85.
- (44) Mokh S, El Khatib M, Koubar M, Daher Z, Al Iskandarani M. Innovative SPE-LC-MS/MS technique for the assessment of 63 pharmaceuticals and the detection of antibiotic-resistant bacteria: A case study natural water sources in Lebanon. *Sci Total Environ*. 2017; 609: 830-841.
- (45) Mirzaei R, Yunesian M, Nasser S, Gholami M, Jalilzadeh E, Shoeibi S, Mesdaghinia A. Occurrence and fate of most prescribed antibiotics in different water environments of Tehran, Iran. *Sci Total Environ*. 2018; 619-620: 446-459.

- (46) Errayes SA, Lahcen AA, Idrissi L, Marcoaldi C, Chiavarini S, Amine A. A sensitive method for the determination of Sulfonamides in seawater samples by Solid Phase Extraction and UV–Visible spectrophotometry. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2017; 181: 276-285.
- (47) Sy NV, Harada K, Asayama M, Warisaya M, Dung LH, Sumimura Y, Diep KT, Ha LV, Thang NN, Tuyet Hoa TT, Phu TM, Khai PN, Phuong NT, Tuyen LD, Yamamoto Y, Hirata K. Residues of 2-hydroxy-3-phenylpyrazine, a degradation product of some  $\beta$ -lactam antibiotics, in environmental water in Vietnam. *Chemosphere*. 2017; 172: 355-362.
- (48) Hu J, Zhou J, Zhou S, Wu P, Tsang YF. Occurrence and fate of antibiotics in a wastewater treatment plant and their biological effects on receiving waters in Guizhou. *Process Safety and Environmental Protection*. 2018; 113: 483-480.
- (49) Tran NH, Chen H, Van Do T, Reinhard M, Ngo HH, He Y, Yew-Hoong Gin K. Simultaneous analysis of multiple classes of antimicrobials in environmental water samples using SPE coupled with UHPLC-ESI-MS/MS and isotope dilution. *Talanta*. 2016; 159: 163-173.
- (50) Ma Y, Li M, Wu M, Li Z, Liu X. Occurrences and regional distributions of 20 antibiotics in water bodies during groundwater recharge. *Sci Total Environ*. 2015; 518-519: 498-506.
- (51) Avilés Flores M, Sánchez Zarza M, Tapia Acosta, J. Proyecto "Métodos analíticos para determinación de compuestos emergentes en agua" [Internet]. SEMARNAT; 2016 [Consultado 16 de junio de 2018].
- (52) Piri-Moghadam H, Ahmadi F, Pawliszyn J. A critical review of solid phase microextraction for analysis of water samples. *Trends Analyt Chem*. 2016; 85: 133-143.
- (53) Ochoa Ortega, P. Estudio comparativo de métodos de tratamiento de muestra para la determinación de bisfenol A en alimentos/bebidas. [Tesis] España: Universidad de Jaén. 2016. 49 p.
- (54) Montesdeoca-Esponda S. Desarrollo de metodologías de extracción y microextracción combinadas con sistemas cromatográficos para la determinación de fármacos y productos de cuidado personal en muestras ambientales [Tesis Doctoral]. España: Universidad de las Palmas de Gran Canaria. 2013. 278 p.
- (55) Ibarra Ortega IS. Aplicación de extracción en fase sólida acoplada a sistemas de separación instrumentales para el análisis de residuos de antibióticos [Tesis Doctoral]. México: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo; 2013. 137 p.
- (56) Panighel A, Flamini R. Solid Phase Extraction and Solid Phase. *De Gruyter Open*. 2015; 1: 55-65.
- (57) Lappas NT, Lappas CM. *Forensic Toxicology: Principles and concepts* [Internet] Academic Press; 2016 [Consultado 14 Abril 2018].

- (58) Ríos-Acevedo JJ. Nuevos desarrollos metodológicos en SPME [Tesis Doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 2017. 184 p.