



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología  
Universidad Nacional Autónoma de México



# **PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y DE CUIDADO PERSONAL EN EL ACUÍFERO Y LA COSTA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN**

**TESIS**

Que para obtener el grado académico de

**MAESTRO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**QUÍMICA ACUÁTICA**

Presenta

**ANA LUISA KIEL MARTÍNEZ**

Director de Tesis: M. en C. Santiago Capella Vizcaíno

Comité Tutorial: Dra. Araceli Peña Álvarez  
Dra. Gabriela Rodríguez Fuentes  
Dra. Luz María García de la Parra  
Dr. Gerardo Gold Bouchot

México, 2012



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.

## AGRADECIMIENTOS

*A la Universidad Nacional Autónoma de México por la educación de alto nivel que me brindó durante mis estudios de posgrado. A la Facultad de Química y al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por la formación académica.*

*Al proyecto PAPIIT (IN216710) por el apoyo económico para la realización de este trabajo.*

*Al consejo de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.*

*Al M. en C. Santiago Capella Vizcaino por su asesoría, apoyo, comprensión, confianza, orientación y la gran paciencia brindada en la realización de este trabajo.*

*A los miembros del comité tutorial por el apoyo, orientación y valiosas sugerencias para la realización de esta tesis.*

*A las doctoras: Elsa Noreña por su invaluable apoyo técnico, entusiasmo, amistad, confianza y fe en mí; Flor Arcega por la motivación y aliento para seguir adelante, por los consejos y sugerencias recibidos durante mi formación y por su ocupación hacia mi persona; Gabby Rodríguez por la fuerza, fe y esperanza que imprimió en mí en momentos críticos; Sergio Rodríguez por compartir sus conocimientos, conversaciones, alegría y amistad. Y a la M. en C. Korynthia López por su amistad, alegría y por sus valiosas aportaciones y apoyo técnico en mi formación como investigador de campo y laboratorio.*

*Al Dr. Rodolfo Rioja y al M. en C. José Luis Bonilla Gómez por la asesoría y mapas proporcionados.*

*Fernando Mex por su invaluable ayuda en la colecta de las muestras de este trabajo de investigación. Sin tu ayuda, entusiasmo y alegría no hubiese sido posible. Gracias.*

## DEDICATORIAS

*A mi hermosa familia y la red de amor que han tejido para sostenerme. A mis padres por su infinito amor. A mis hermanos: Gery, Alex, Ricky, José, Magda y Vane por hacer de mi existencia el mejor de los viajes. A mis abuelitos: Carlos, Isabel y Cuquita, por su gran amor y apoyo en todo momento. A mis tíos: Celis, Cielito, Richard "El Nene", Paty, Julito, Lucy y Teté por cada risa, sonrisa, conversación y por darme el empujón y apoyo que he ido necesitando a lo largo de mi vida. A mis niños hermosos: María, Victoria, Adri, Atur, Axel y Briana por recordarme a través de sus sonrisas lo que es la vida. A mis primos queridos: Evelyn, Edgar y Manuel Castro por estar cerca a pesar de la distancia. A mis niños álmicos: Omar, Bloo y Leslie.*

*A mi familia sisaleña: Juaní Tzeek, Diana Aguilera, Jose Luis "Pana" Bonilla, Jorge Lira, Alejandra Arbelaez y Ana Cristina Pérez. Gracias hermanos por TODO lo que compartimos, mi existencia en Sisal no hubiera sido la misma sin ustedes.*

*A mis amigas del laboratorio: Natí y Aidé por escucharme, aconsejarme, apoyarme y por cada masaje anti-estrés. En especial a Natí por darme de esos abrazos fraternos que me hicieron sentir en casa. A Lili por las motivaciones, ánimos y solidaridad en los momentos oscuros. A Diana y Hada por la alegría impartida en las horas de trabajo.*

*A mis amigos y compañeros de viaje en Yucatán: Daniel, Melissa, Héctor, la hermosa Julieta, Américo, María, José Luis, Radha, Eliana, Daniel Arceo, Mauricio, Alex "El Choto", Daniel Méndez, Roberto Mejía, Lorenzo, don Pascual, don Miguel y Daniel García. Los momentos compartidos con ustedes me llenaron de alegría y entusiasmo para continuar a pesar de las dificultades.*

*A Cristóbal Aramayo por llenar de color mi vida en el momento apropiado; por tu alegría, entusiasmo, apoyo, comprensión y por enseñarme a disfrutar como niña la vida. En especial por el hermoso regalo que me diste al final de esta tesis.*

*A mi nené que llegó en el momento menos esperado y más apropiado, y que me impulsa a superarme y ser mejor humano cada día.*

*A Gaia por su majestuosidad y por tener dentro de su seno un punto en el cual se sincronizaron el tiempo y el espacio para que fuera posible mi estancia. A mi Padre por llevarme de la mano para que esto fuera posible y recordarme que todo está en perfecto orden.*

*Son muchas las personas a las que me falta mencionar y que han formado parte de mi vida y de mi historia. Agradezco infinitamente el haberles conocido ya que todos y cada uno han imprimido en mí ser una parte de sí mismos. Gracias por compartir sus corazones.*

*“Cada día sabemos  
más y entendemos menos”*

*Albert Einstein*

## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	1
1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1. Contaminación del agua.....	5
3.2. Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal, PPCP's.....	5
3.2.1. PPCP's persistentes en el medio ambiente.....	6
3.2.2. Fuentes.....	9
3.2.3. Destino de los PPCP's en el medio ambiente.....	10
3.2.4. Degradación.....	11
3.2.5. Toxicología.....	12
3.3. Métodos de análisis de PPCP's.....	14
3.4. Derivación de los analitos.....	15
3.5. Análisis por cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM).....	16
3.6. Extracción en Fase Sólida (EFS).....	17
3.6.1. Variables experimentales importantes en EFS.....	17
3.6.1.1. pH.....	17
3.6.1.2. Agentes quelantes.....	18
3.6.1.3. Lavado y acondicionamiento del cartucho de EFS.....	18
3.6.1.4. Volumen y gasto de la muestra.....	18
3.6.1.5. Lavado del cartucho.....	19
3.6.1.6. Disolvente de desplazamiento.....	19
4. PENÍNSULA DE YUCATÁN.....	19
5. ÁREA DE ESTUDIO.....	23
6. JUSTIFICACIÓN.....	24
7. HIPÓTESIS.....	25
8. OBJETIVOS.....	25
8.1. Objetivo General.....	25
8.2. Objetivos particulares.....	25
9. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26

9.1.	Equipo, materiales y reactivos.....	26
9.1.1.	Limpieza del material.....	28
9.2.	Estándares.....	29
9.3.	Muestreo.....	30
9.4.	Análisis cromatográfico.....	32
9.4.1.	Condiciones cromatográficas.....	32
9.4.2.	Identificación de PPCP's.....	33
9.5.	Formación de derivados.....	34
9.6.	Evaluación de la etapa de análisis químico.....	34
9.7.	Extracción en Fase Sólida (EFS).....	34
9.7.1.	Disolvente de desplazamiento.....	35
9.7.2.	Volumen de desplazamiento.....	35
9.7.3.	Efecto del pH.....	35
9.8.	Procedimiento seleccionado para la EFS.....	36
9.8.1.	Evaluación del procedimiento de análisis.....	37
9.9.	Análisis de PPCP's por EFS-CG-EM en muestras de aguas naturales.....	38
10.	RESULTADOS.....	38
10.1.	Cromatogramas y espectros de masas de los compuestos analizados.....	38
10.2.	Evaluación de la etapa de análisis químico.....	46
10.3.	Extracción en Fase Sólida (EFS).....	47
10.3.1.	Optimización de los parámetros para la EFS.....	47
10.3.1.1.	Disolvente de desplazamiento.....	48
10.3.1.2.	Volumen de desplazamiento.....	49
10.3.1.3.	Efecto del pH.....	52
10.4.	Procedimiento seleccionado para el análisis de las muestras de agua.....	54
10.4.1.	Evaluación del procedimiento de análisis.....	55
10.5.	Evaluación del material de las botellas para recolectar las muestras.....	56
10.6.	Parámetros fisicoquímicos de los lugares de muestreo.....	56
10.7.	Análisis de los PPCPs en las muestras.....	61
11.	CONCLUSIONES.....	67
12.	REFERENCIAS.....	69

## ABREVIATURAS

---

<b>AcOEt</b>	Acetato de Etilo
<b>CG</b>	Cromatografía de Gases
<b>CAF</b>	Cafeína
<b>DE</b>	Disruptores Endocrinos
<b>DEET</b>	N,N-dietil-meta-toluamida
<b>DIC</b>	Diclofenaco
<b>EDTA</b>	Etilendiamina-tetraacetato de tetrasodio dihidrato
<b>EPA</b>	Agencia de Protección Ambiental (por sus siglas en inglés)
<b>EM</b>	Espectrometría de Masas
<b>EFS</b>	Extracción en Fase Sólida
<b>HPLC-MS-MS</b>	Cromatografía Líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem
<b>IBU</b>	Ibuprofeno
<b>LC</b>	Límite de cuantificación
<b>LD</b>	Límite de detección
<b>Ld</b>	Límite de decisión
<b>µL</b>	Microlitros
<b>MSNM</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>MTBSTFA</b>	N-metil-N-t-butildimetilsililtrifluoroacetamida
<b>NAP</b>	Naproxeno
<b>PET</b>	Polietileno
<b>PPCPs</b>	Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal
<b>PY</b>	Península de Yucatán
<b>SCAN</b>	Barrido Total de Iones
<b>SIM</b>	Monitoreo Selectivo de Iones

---

## 1. RESUMEN.

En el presente trabajo se evaluó la presencia de seis sustancias activas de los productos farmacéuticos y de cuidado personal seleccionadas de entre los que se han reportado con mayor frecuencia y concentración en las aguas naturales (N,N-dietil-3-toluamida (DEET), ibuprofeno, cafeína, naproxeno, triclosán y diclofenaco) en 30 muestras provenientes del acuífero y de la costa de la Península de Yucatán. Para la extracción y concentración de los compuestos de interés en agua se implantó un método basado en Extracción en Fase Sólida, seguido por Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas para el análisis cualitativo y cuantitativo. Se utilizó como fase de extracción un polímero modificado con N-vinil-pirrolidona (Strata-X) ajustando las condiciones de operación para extraer a pH 7 y de manera simultánea los compuestos ácidos y neutros. Se estimaron los parámetros de calidad del procedimiento implantado y se obtuvieron los límites de decisión, detección y cuantificación que en promedio son 4, 16 y 40 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente. La repetibilidad estimada es del orden del 25%, los coeficientes r<sup>2</sup> fueron mayores de 0.98 en el intervalo de 1 a 100 ng L<sup>-1</sup>. El triclosán se detectó en todas las muestras y presentó la concentración más alta (2683 ng L<sup>-1</sup>). Le siguen en frecuencia DEET (80%, 1681 ng L<sup>-1</sup>), cafeína (40%, 910 ng L<sup>-1</sup>) y en menor frecuencia y concentración el naproxeno (17%, 34 ng L<sup>-1</sup>), ibuprofeno (13%, 37 ng L<sup>-1</sup>) y diclofenaco (3%, 57 ng L<sup>-1</sup>). Los compuestos detectados en niveles más altos fueron el triclosán y el DEET, cuya presencia y concentración parecen estar asociadas a factores puntuales locales como la concentración de población y las actividades turísticas y agropecuarias. Estos compuestos llegan a la costa en concentraciones  $\lesssim 1 \mu\text{g L}^{-1}$ . Por otro lado, en algunos puntos se encontraron concentraciones inusualmente altas comparadas con los puntos cercanos, lo cual puede ser resultado de la compleja hidrodinámica del acuífero o bien de efectos puntuales locales sobre los efectos de mezclado por el flujo de agua en la capa superficial. La cafeína, el ibuprofeno, el naproxeno y el diclofenaco se detectaron con una frecuencia y concentración mucho menor que la esperada, lo cual puede estar relacionado con las características químicas y fisicoquímicas del acuífero de Yucatán sobre los procesos de degradación o la retención de los compuestos.

## 1. ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the presence of six pharmaceutical and personal care products (PPCP's) which have been reported with greater frequency and concentration in natural waters (N,N-diethyl-3-toluamide (DEET), ibuprofen, caffeine, naproxen, triclosan and diclofenac) in 30 samples from the aquifer and the coast of the Yucatan Peninsula. For extraction and concentration of target compounds in water a method based on Solid Phase Extraction was used, followed by Gas Chromatography - Mass Spectrometry for the qualitative and quantitative analysis. We used a polymer modified with N-vinyl-pyrrolidone (Strata-X) as the extraction phase by adjusting operating conditions to extract simultaneously neutral and acidic compounds at pH 7. Average estimated decision, detection and quantification limits were 4, 16 and 40 ng L<sup>-1</sup>, respectively. Repeatability was in the order of 25%, r<sup>2</sup> coefficients were greater than 0.98 in the range of 1 to 100 ng L<sup>-1</sup>. Triclosan was detected in all samples and presented the highest concentration (2683 ng L<sup>-1</sup>) followed by DEET (80%, 1681 ng L<sup>-1</sup>) and caffeine (40%, 910 ng L<sup>-1</sup>). Naproxen, ibuprofen and diclofenac were detected with less frequency and lower concentrations: 17%, 34 ng L<sup>-1</sup>; 13 %, 37 ng L<sup>-1</sup>; 3%, 57 ng L<sup>-1</sup>, respectively. The compounds detected at higher levels were triclosan and DEET, whose presence and concentration appear to be associated with specific local factors such as the concentration of population and agricultural and tourism activities. These compounds arrive to the coast at concentrations  $\lesssim$  1 mg L<sup>-1</sup>. On the other hand, in some sampling points unusually high concentrations were found as compared to nearby points, which can result from the complex hydrodynamics of the aquifer or local specific effects over the mixing flow in the surface layer of water. Caffeine, ibuprofen, naproxen and diclofenac were detected with lower frequency and concentration than expected, which may be related to the chemical and physicochemical characteristics of the Yucatan aquifer on degradation processes or retention of the compounds.

## 2. INTRODUCCIÓN.

El agua es un recurso natural indispensable para la vida. Sin embargo, el progreso y los avances logrados por el hombre han llevado a producir miles de productos químicos con diferentes finalidades que han contribuido a mejorar la calidad de vida pero que, por otro lado, son introducidos directa o indirectamente en el agua causando serios problemas de contaminación (Barceló, 2008). Este hecho pone en peligro el frágil equilibrio natural del cual depende la vida en la tierra.

Cerca de 60.000 productos químicos diferentes se usan diariamente y entre 100 y 1.500 nuevos productos se sintetizan cada año (Petrovic et al., 2005). Muchos de estos se producen industrialmente y están generando residuos que hace tan solo unos años no existían. Entre estas sustancias se encuentran los PPCP's (Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal, por sus siglas en inglés) que abarcan un amplio grupo de compuestos químicos utilizados en actividades agrícolas, en medicina veterinaria, en el cuidado personal y del hogar, en el tratamiento y prevención de enfermedades, en cosmetología, entre otros usos. Dentro de este grupo se encuentran sustancias químicas que son capaces de alterar el equilibrio hormonal provocando reacciones adversas sobre la salud de un organismo o de su progenie, conocidas como disruptores endocrinos (DE) (Daughton, 1999).

Existe evidencia de que muchas de estas sustancias y sus productos de degradación llegan a las aguas superficiales y subterráneas, produciendo una variedad de efectos indeseables en los organismos acuáticos no destinatarios como la emergencia y transmisión de genes de resistencia a antibióticos, daño a las comunidades microbianas por desinfectantes, variación en el ritmo de vida y las relaciones tróficas por los analgésicos, reducción en la fertilidad, cambio en la condición sexual por hormonas, mortalidad, errores en la muda o eclosión, deformidades anatómicas, cambios subletales en el crecimiento de las plantas, modificaciones en los ciclos biogeoquímicos, efectos tóxicos – reproductivos por drogas citostáticas, entre otros (Bila & Dezotti, 2003; Filho et al., 2007, Kratz, 2008).

En el Estado de Yucatán el acuífero es la única fuente de la cual se dispone para obtener agua dulce en la región, además de ser un cuerpo receptor de las aguas residuales generadas por la población yucateca. Desde el punto de vista geológico, el subsuelo es una región compuesta de carbonatos del terciario y caracterizada por una alta porosidad del suelo que limita la formación de corrientes superficiales y el flujo de agua, es principalmente subterráneo (Alcocer & Escobar, 1996; Schmitter et al., 2002). En la formación calcárea se tiene un lente de agua dulce que flota sobre agua salada de mayor densidad (Back & Lesser, 1981). En la zona costera, las características fisiográficas (relieve topográfico máximo de 12 msnm), el acuífero de naturaleza cárstica y la presencia de agua de mar originan que los principales procesos que controlan la composición del agua subterránea sean: la disolución de carbonatos, y la mezcla de agua dulce y agua salada (Back & Hanshaw, 1970). La baja profundidad de los niveles freáticos, la falta de suelo y la carencia de un sistema de drenaje suficiente hacen que la Península de Yucatán (PY) y su costa sean vulnerables a la contaminación por PPCP's.

En este proyecto se realizó el análisis de algunos PPCP's que tienen una probabilidad alta de estar presentes en el acuífero y la costa del Estado de Yucatán mediante una técnica analítica basada en Extracción en Fase Sólida (EFS) seguida de Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG – EM).

### 3. ANTECEDENTES.

#### 3.1. Contaminación del agua.

El agua dulce accesible es un recurso natural escaso e indispensable para la vida, que ha sufrido un deterioro alarmante a consecuencia del rápido desarrollo humano y económico y del uso inadecuado que se ha hecho de ella como medio de eliminación. Durante los últimos 40 años, el impacto de la contaminación química se ha enfocado casi exclusivamente en los contaminantes convencionales y/o prioritarios, contaminantes en su mayoría apolares, tóxicos, persistentes y bioacumulables, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, los policlorobifenilos (PCB's) o las dioxinas. Sin embargo, este grupo de sustancias químicas es sólo una pieza de un rompecabezas mucho mayor.

En los últimos años, el desarrollo de métodos de análisis más sensibles ha permitido alertar a la comunidad sobre la presencia de otros contaminantes, potencialmente peligrosos, denominados globalmente como emergentes. Éstos son compuestos previamente desconocidos, o no reconocidos como tales, cuya presencia en los diferentes compartimentos ambientales no es necesariamente nueva pero sí la preocupación por sus posibles consecuencias. Por otra parte, debido a su elevada producción-consumo y a la introducción en forma continua en el medio ambiente, no necesitan ser persistentes para ocasionar efectos negativos (Daughton and Ternes, 1999).

#### 3.2. Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal, PPCP's.

Un grupo muy amplio de productos químicos, que comparativamente reciben menos atención como contaminantes potenciales del medio ambiente, es el que incluye a los productos farmacéuticos y los componentes activos de los productos de cuidado personal (PPCP's; Productos Farmacéuticos y de Cuidado Personal, por sus siglas en inglés). Los PPCP's son productos químicos bioactivos que comprenden una amplia y diversa gama de sustancias químicas de uso cotidiano, tanto humano como veterinario. Se encuentran en formulaciones de medicinas (antibióticos, antidepresivos, tranquilizantes, medicamentos psiquiátricos, analgésicos, antiinflamatorios, antihipertensivos, antisépticos, reguladores de lípidos, anticonceptivos orales, agentes diagnóstico, veterinario, entre otros), en productos de higiene y cosméticos (perfumes, fragancias, champús, desodorantes, tintes para el cabello, productos de higiene oral, maquillaje, esmalte de uñas, lociones, labiales, jabones, detergentes, repelentes de insectos, cremas anti-envejecimiento para la piel, desinfectantes, etc.) y en sustancias nutracéuticas (suplementos dietéticos y alimentos funcionales) (Daughton, 2007). Algunas de las sustancias incluidas en este grupo son consideradas disruptores endocrinos (DE) (Daughton, 1999). Los DE son sustancias exógenas que alteran las funciones del sistema endocrino y en

consecuencia causan efectos adversos en un organismo intacto, su progenie y poblaciones (Damstra, 2002). El efecto que pueden tener este grupo de sustancias es mucho más sutil y todavía sujeto a debate por las bajas concentraciones en que se encuentran ( $\text{ng L}^{-1}$  -  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) y por el hecho de ser, en la mayoría de los casos, susceptibles de degradación relativamente rápida (Daughton y Ternes, 1999; Kagle, 2009).

### 3.2.1. PPCP's persistentes en el medio ambiente.

Uno de los primeros estudios sobre la contaminación por productos farmacéuticos fue realizado en una planta de tratamiento de aguas residuales en Kansas City (Hignite y Azarnoff, 1977). Posteriormente, una investigación enfocada a determinar la presencia de herbicidas, reportó la presencia de grandes concentraciones de ácido clorhídrico en el agua (Heberer y Stan, 1997). Durante el mismo año, diversas investigaciones realizadas en varios países de Europa (Alemania, Dinamarca y Suecia) demuestran la presencia de este mismo compuesto en ríos, lagos, e inclusive en el Mar del Norte (Raloff, 1998). A partir de este punto, diversos investigadores comienzan a prestar atención a la presencia de medicamentos en el medio ambiente.

Científicos alemanes señalaron que sea cual fuere el cuerpo de agua escogido pueden encontrarse entre 30 y 60 productos farmacéuticos (Raloff, 1998). La concentración de estos productos en el agua es del orden de los ppb, comparable con los niveles a los cuales se encuentran los pesticidas (Buser y Muller, 1998). En la Tabla I se muestran algunos ejemplos de los compuestos de este estudio encontrados en las aguas superficiales y subterráneas.

Los estudios de estas sustancias en México son muy escasos, limitados a la zona metropolitana de la Ciudad de México (Siemens, 2008; Durán- Álvarez, 2009; Castillo, 2009), donde se estudió la presencia de algunos compuestos seleccionados. Recientemente, Metcalfe y colaboradores (2011) demostraron la presencia de contaminación por productos farmacéuticos y de cuidado personal a lo largo de la costa caribeña de la Península de Yucatán (PY), en concentraciones estimadas en el rango de los  $\text{ng L}^{-1}$  (Tabla II).

**Tabla I.** Concentraciones de algunos PPCPs encontrados en aguas superficiales y subterráneas.

PPCP	Matriz	Concentración (ng L <sup>-1</sup> )	Referencia
DEET*	Aguas superficiales	30 – 1130	Schwarzbauer and Heim, 2005; Hendriks et al., 1994; Oros et al., 2003; Kolpin et al., 2002; Sandstrom et al., 2005; Glassmeyer et al., 2005; Kolpin et al., 2004
	Aguas subterráneas	454 - 6500	Lapworth et al., 2012
Cafeína	Aguas superficiales	2 – 176	Weigel et al., 2002; Weigel et al., 2004
	Aguas subterráneas	13 – 110000	Lapworth et al., 2012
Triclosán	Aguas superficiales	4.1 – 47.45	Moldovan, 2006; Weigel, 2004
	Aguas subterráneas	7 – 2110	Lapworth et al., 2012
Ibuprofeno	Aguas superficiales	4.9 – 530	Daughton and Ternes, 1999; Moldovan, 2006; Kim, Joon-Woo et al., 2009; Ornelas et al., 2010; Weigel et al., 2004
	Aguas subterráneas	0.6 - 12000	Lapworth et al., 2012
Naproxeno	Aguas superficiales	10 – 390	Daughton and Ternes, 1999; Ornelas et al., 2010
Diclofenaco	Aguas superficiales	26 – 1200	Daughton and Ternes, 1999; Ornelas et al., 2010; Weigel et al., 2004
	Aguas subterráneas	2.5 – 590	Lapworth et al., 2012

\*Tomado de Constanzo et al., 2007.

**Tabla II.** Presencia de algunos PPCPs seleccionados en matrices medio ambientales en México.

Matriz	Compuesto	Concentración	Cita
Aguas residuales	Ibuprofeno Clorofeno Naproxeno Triclosán Bisfenol A	0.02 – 2.83 ng/mL 0.07 – 5.04 ng/mL 0.20 – 54.36 ng/mL 0.08 – 10.09 ng/mL 0.02 – 4.27 ng/mL	Castillo-Alanís, 2009
Aguas residuales	Ácido Acetilsalicílico Diclofenaco Ibuprofeno Ketoprofeno Naproxeno	0.45 – 75.37 µg/L 0.67 – 1.84 µg/L 0.09 – 4.72 µg/L 0.24 – 2.50 µg/L 0.20 – 1.40 µg/L	Badillo Martínez, 2010
Aguas residuales  Agua no tratada  Suelo	Ibuprofeno Naproxeno Diclofenaco Ibuprofeno Naproxeno Diclofenaco Ibuprofeno Naproxeno Diclofenaco	0.22 – 0.38 µg/L 2.84 – 6.74 µg/L 0.25 – 0.50 µg/L 0.42 – 0.54 µg/L 4.80 – 5.60 µg/L 0.40 – 0.55 µg/L 0.19 – 0.51 µg/L 0.25 – 2.00 µg/L 0.01 – 0.13 µg/L	Siemens et al., 2008
Suelo	Ibuprofeno Naproxeno Carbamazepina	0.19 – 0.51 ng/g 0.27 – 0.61 ng/g 4.74 – 7.5 ng/g	Durán-Álvarez, 2009
Agua subterránea	Ibuprofeno Naproxeno Cafeína Triclosán	47.9 ng/L 39.8 ng/L 52 ng/L 181.2 ng/L	Metcalf et al., 2011

A diferencia de otros compuestos de origen antrópico, como los agroquímicos, que se incorporan al medio ambiente como resultado de una aplicación intensiva localizada, los PPCP's se usan en pequeñas cantidades de manera individual y continua. Tanto en humanos como en animales los productos farmacéuticos y sus metabolitos se eliminan de los organismos en heces y orina; los de cuidado personal, de limpieza, desinfección y otros se remueven de su lugar de aplicación original en las aguas de lavado. La contaminación provocada por los PPCP's en los cuerpos de agua proviene no sólo de las excreciones, también de la fabricación y disposición inadecuada de los desechos de estos productos (Boxall., 2004). Así, a través de descargas sanitarias alcanzan los cuerpos de agua y suelos. Por las prácticas de uso, en pequeñas cantidades individuales, el impacto potencial de los PPCP's no es obvio. Sin embargo, algunas cifras gruesas son suficientes para poner de manifiesto su importancia. Cada año se venden y consumen grandes cantidades de fármacos en todo el mundo para el diagnóstico, tratamiento, alteración o prevención de enfermedades humanas. De 1999 a 2002, la venta de fármacos se incrementó en un 25% alrededor del mundo, generando ganancias de 424 billones de

dólares (German Association of Research-Based Pharmaceutical Companies, 2004). Distribuyéndose el incremento en el último período alrededor del 51% en Estados Unidos y Canadá, 25% en Europa, 12% en Japón, 8% de África, Asia y Australia y 4% en América Latina (Xia et al., 2005). También se cuentan por millares el número de sustancias que se utilizan en los productos de cuidado personal, con una producción mundial anual que supera el millón de toneladas (Zhang, 2008).

### 3.2.2. Fuentes.

El origen de estas sustancias es tan diverso y tan disperso como son: descargas directas de los sistemas de drenaje o desde las plantas de tratamiento (Daughton, 1999), el uso de aguas residuales en riego o recarga de los acuíferos, las fugas de drenaje en las redes, el uso de fosas sépticas por la carencia de un sistema de drenaje, el compostaje de residuos de granjas y establos, vertederos de basura y las actividades turísticas y recreativas. Otra fuente para la introducción de los contaminantes a las aguas subterráneas es la recarga activa (reinyección de aguas subterráneas) a través de las aguas residuales tratadas, donde pueden alcanzar los acuíferos. En estos casos, una vez incorporadas a los acuíferos, el transporte y destino es difícil de evaluar (Musolff, 2009). Al final, dependiendo de las concentraciones iniciales, las tasas de degradación, la capacidad retentiva del medio, entre otros factores, llegan a la zona costera y de allí hacia el océano.

De esta forma, estos compuestos conforman un ciclo, constituido por: administración, excreción, plantas municipales depuradoras, aguas superficiales, recarga en aguas subterráneas, y en el caso de que se utilicen éstas para la producción de agua potable, de vuelta a los humanos (Daughton, 2010).

Por otro lado, en la mayor parte de los casos, aunque las aguas residuales provenientes de sistemas de agua domésticos, municipal e industrial (incluida la manufactura farmacéutica) reciben tratamiento antes de ser vertidas al medio, los procesos aplicados no son efectivos para remover estas sustancias (Danchavijitr et al., 2005) debido a que las plantas de tratamiento de aguas residuales fueron diseñadas para remover fundamentalmente fosfatos y nitratos (Harder, 2003; Boxall, 2004).

Varias publicaciones ofrecen una caracterización detallada del comportamiento de fármacos, cosméticos o de sustancias empleadas en la limpieza antes y después de su paso por un sistema de tratamiento de aguas residuales. Estos trabajos demuestran que ciertos productos como el clofibrato o la carbamazepina abandonan la planta sin haber sufrido alguna transformación (Switch, 2007) mientras otros como el paracetamol, metropolol, diclofenaco, ibuprofeno, trimetropina, ciproflaxacina, 17- $\beta$ -estradiol, estrona, sulfametoxazol, oxitetraciclina, doxiciclina, cafeína y la ifosfamida son removidos solo parcialmente (Kummerer et al., 1998; Halling-Sorensen et al., 1998; Bjorklund, 2005; Thomas et al., 2007). Por su parte, los productos de cuidado personal y los ingredientes que componen sus formulaciones, pueden en su uso final entrar en el medio ambiente pero a diferencia de la mayoría de los fármacos, éstos no se producen principalmente por excreción, sino más bien por el producto de

lavado de la piel, el cabello, y la boca, donde sus ingredientes pueden entrar en el medio ambiente a través del sistema de alcantarillado. De éstos, solo algunos compuestos son muy persistentes en el ambiente, sin embargo el aporte continuo puede llegar a compensar su labilidad.

En algunos casos aunque son biodegradables, como el paracetamol, según estudios de laboratorio en plantas de tratamiento (Yu et al., 2006; Joss et al., 2006; Sang et al., 2007), su paso a través de un tratamiento terciario como la cloración produce subproductos de reacción tóxicos (genotóxicos y mutagénicos) tales como la 1,4 benzoquinona y la imina N-acetil-p-benzoquinona (Bedner y Maccrehan, 2006).

Por su parte, los agentes citostáticos que se emiten al medio en cantidades inferiores a otros fármacos, pero que tienen un impacto importante por su carcinogenicidad, mutagenicidad y teratogenicidad, poseen una baja biodegradabilidad. De veinte compuestos estudiados por Kummerer (2001), sólo dos fueron biodegradables. Estos productos pasan inalterables por los sistemas de tratamiento de aguas residuales y pueden alcanzar los cuerpos de agua (Al-Ahmad y Kummerer, 2001).

### 3.2.3. Destino de los PPCP's en el medio ambiente.

Una vez que llegan al medio ambiente los PPCP's se transportan de forma variable de acuerdo a su naturaleza, y se distribuyen en el agua (Peng et al., 2008; Tamtam et al., 2008; Sang et al., 2007), aire, suelo o sedimentos (Göbel et al., 2005; Kinney et al., 2006) dependiendo de factores tales como las propiedades físico – químicas del producto y las características del medio receptor; y en los cuales sufren transformaciones, degradación o retención. En el agua, los fenómenos de dispersión y dilución pueden disminuir de manera significativa las concentraciones de los PPCP's, de tal manera que los organismos expuestos no presenten respuesta negativa (Loraine et al., 2006).

En el ambiente acuático, la sorción representa el principal fenómeno de retención de los PPCP's. Este fenómeno ocurre por mecanismos de adsorción y absorción, siendo el primero provocado por las interacciones electrostáticas entre los grupos funcionales de los compuestos y la matriz, mientras que el segundo ocurre por las interacciones hidrofóbicas entre las moléculas del compuesto y la matriz (Cirja et al., 2006). La sorción al material suspendido del agua y a los sedimentos presenta resultados ambientales diferentes. La sorción de los PPCP's a los sedimentos impide la rápida degradación aerobia y la distribución en el cuerpo de agua de los mismos, aprisionándolos en el fondo de éstos cuerpos por varias décadas (Shang et al., 1999). Por otra parte, la sorción de los contaminantes en el material suspendido permite su dispersión en el cuerpo de agua mediante los flujos turbulentos del agua que propician la aireación necesaria para su rápida degradación (Cirja et al., 2006).

Los compuestos orgánicos neutros tienden a sorberse en el material particulado y sedimento por medio de interacciones hidrofóbicas, en tanto que los compuestos polares tienden a sorberse en

menor grado que los hidrofóbicos y por mecanismos de atracción electrostática, puentes de hidrógeno o fuerzas de Van Der Waals (Tolls, 2001). En el caso de los compuestos hidrofílicos, las características fisicoquímicas del agua (pH, fuerza iónica, contenido de óxidos metálicos) son importantes para la sorción (Ter Laak, et al., 2006).

Cada año aparecen nuevos reportes sobre la presencia de los PPCP's en el medio ambiente lo que indica que debe seguirse trabajando en la determinación de estos compuestos en aguas residuales, cuerpos de agua y agua potable, pero este monitoreo es difícil debido al gran número de sustancias y sus metabolitos con diferentes estructuras químicas y propiedades físico – químicas (Zuccato et al., 2005).

#### 3.2.4. Degradación.

Los principales mecanismos de eliminación en las aguas confinadas son la biodegradación y la fotodegradación (Peuravuori-Pihlaja, 2009). El papel de los microorganismos en la degradación de contaminantes emergentes ha sido claramente establecido, especialmente en el suelo y agua superficial (Alvarez-Illman, 2006; Semple et al., 2007; Wick et al., 2007). Sin embargo, en el agua subterránea los microorganismos, que se presentan en menor abundancia y diversidad, se ven expuestos a condiciones de óxido-reducción (Redox) que limitan su actividad biológica (Johnson et al., 1998) dando como resultado la persistencia de los PPCP's en la matriz ambiental. Burke y colaboradores (2011) demostraron que la degradación de analgésicos y sus metabolitos de transformación está fuertemente influenciada por las condiciones redox del ambiente; los compuestos mostraron mayor remoción bajo condiciones óxicas y persistiendo en las condiciones anóxicas.

Por otro lado, existen procesos abióticos capaces de degradar a los contaminantes emergentes en el ambiente. El proceso más importante es la fotodegradación, a partir de la cual se generan rompimientos de los enlaces en las moléculas de los contaminantes por la acción de los rayos ultravioleta del sol. Varias sustancias farmacéuticas activas han demostrado ser fotosensibles debido a su composición estructural constituida por anillos aromáticos, heteroátomos y otros grupos funcionales (Peuravuori-Pihlaja, 2009). Una de las sustancias farmacéuticas más extensamente estudiada en agua es el antiinflamatorio Diclofenaco, seguido por los productos de aseo personal como los antimicóticos Naftifine, Sulbentine, Cloxiquin, Tolnaftato y Clorfenesin (Thoma et al., 1997). Packer y colaboradores (2003) mostraron que el Naproxeno y Diclofenaco tienen una vida media de 78 y 84 minutos, respectivamente. Mientras que el antiinflamatorio no esteroideo Ibuprofeno presentó fotoestabilidad. Por otro lado, el agente antibacterial Triclosán ha mostrado una velocidad de eliminación por acción de la luz ultravioleta de  $0.03 \text{ d}^{-1}$  en agua del lago Greifensee en Alemania (Singer et al., 2002). Así pues, el grado de fotodegradación de los contaminantes emergentes puede variar dependiendo del compuesto sometido a la luz ultravioleta, la intensidad de la misma, así como de los

componentes de la solución acuosa (ácidos húmicos y fúlvicos y nitratos) y las características fisicoquímicas de la misma (pH, carbono orgánico total) (Doll et al., 2003).

### 3.2.5. Toxicología.

Los medicamentos están diseñados para tener una ruta y una acción específica tanto en seres humanos, como en animales pero poseen también efectos secundarios indeseados. Una vez que estos productos llegan al medio ambiente pudieran afectar a los animales con órganos, tejidos, células o biomoléculas similares (Feng et al., 2006).

Los antibióticos, por ejemplo, pueden inducir el desarrollo de resistencia antibacteriana (Halling-Sorensen et al., 1998; Shafiani y Malik, 2003; Amin et al., 2006). Antibióticos tales como la tetraciclina, la oxitetraciclina y la clortetraciclina afectan el crecimiento, la reproducción y la movilidad de diferentes organismos (Pépin, 2006). Otros estudios reportan toxicidad aguda y crónica de analgésicos, anti-inflamatorios no esteroideos, antidepresivos, antiepilépticos y citostáticos (Fent et al, 2006).

En los últimos años, los investigadores dirigen sus esfuerzos a realizar una investigación más completa sobre el riesgo que los PPCP's pueden provocar en el medio. Esta metodología tiene en cuenta los volúmenes de venta, la concentración, el metabolismo, la biodegradabilidad y la toxicidad de los fármacos. Según estudios realizados en Dinamarca e Inglaterra el ácido acetilsalicílico, el paracetamol, el ibuprofeno, la amoxicilina, la oxitetraciclina y el ácido mefenámico representan un riesgo para el medio ambiente (Stuer-Lauridsen et al., 2000; Jones et al., 2002). Un reporte de las autoridades suizas coincide en afirmar el riesgo que el paracetamol y la oxitetraciclina representan para el medio ambiente e incluyen en la lista a el diclofenaco, el etinilestradiol, el ibuprofeno, el metropolol, la noretisterona y la tilosina (Medical Products Agency, 2004).

Si bien existen innumerables reportes sobre la toxicidad aguda de los PPCP's, estos datos no son suficientes para determinar el impacto de éstos sobre el medio ambiente. Se necesita dirigir los esfuerzos al estudio de la toxicidad crónica y al desarrollo de metodologías de cálculo generales que permitan estimar la ecotoxicidad y el daño real que representan estos compuestos para el medio ambiente teniendo en cuenta los volúmenes de venta, el metabolismo, la toxicidad, las concentraciones, la biodegradabilidad y la capacidad de sorción.

Aunque todavía el conocimiento del impacto de los PPCP's sobre el ecosistema, la biota y los seres humanos y sus interacciones es limitado (Kummerer, 2001), se espera que el uso de los PPCP's crezca con el envejecimiento de la población (Tauxe, 2005). Estas razones han llevado a los científicos del tema a utilizar el principio de la precaución que plantea que cualquier contaminación, por pequeña que sea, tiene efectos negativos sobre la naturaleza y que, por lo tanto, debemos actuar mucho antes de tener las pruebas concretas del efecto dañino que causan estos productos (Jones et al., 2005).

Si bien el número de compuestos incluidos en el grupo de los PPCP's es extenso, un grupo relativamente reducido es el que se ha encontrado con mayor frecuencia y concentración en los diversos compartimentos medio ambientales estudiados (plantas de tratamiento de aguas residuales, aguas superficiales y subterráneas), entre ellos: N,N-dietiltoluamida (repelente de insectos), cafeína (estimulante), triclosán (desinfectante antimicrobial), 4-nonilfenol (proveniente de la hidrólisis de detergentes no iónicos), ibuprofeno (analgésico), clorofeno (germicida), bisfenol A (utilizado en la producción de plásticos utilizados para embotellado y empaques de muchos productos incluyendo alimentos y cosméticos), naproxeno (antiinflamatorio), carbamazepina (antiepiléptico) (Prösch and Puchert, 1998; Burkhardt et al., 1999; Seiler et al., 1999; Stuer et al., 2000; Weigel et al., 2001; Kolpin et al., 2002; Boyd et al., 2004; Loraine et al., 2006; Peng, 2008; Johnson et al., 2008; Rahman et al., 2009; Castillo Alanís, 2009; Durán Álvarez, 2009).

Según Kummerer (2001), los compuestos que requieren de una atención especial son los agentes citostáticos y compuestos inmunosupresores debido a sus propiedades carcinogénicas y mutagénicas; los antibióticos y desinfectantes debido a su toxicidad bacteriana y su potencial para inducir resistencia antibacteriana; los clorofenoles y compuestos clorados debido a su escasa biodegradabilidad y los analgésicos y sedativos, por su alto consumo.

Los anti-inflamatorios no esteroideos tales como el ibuprofeno, diclofenaco, naproxeno y el ácido acetilsalicílico, que son productos ampliamente usados a nivel mundial, ejercen un efecto inhibitorio (crecimiento, movilidad) sobre determinadas funciones en vertebrados (no mamíferos) e invertebrados (Cleuvers, 2003; Pépin, 2006).

La N,N-diethyl-m-toluamida (DEET) es utilizado por su acción repelente de insectos principalmente en zonas tropicales. El desarrollo y uso del DEET para combatir enfermedades de transmisión por picaduras de insectos ha beneficiado la salud de quien lo consume. Entre los efectos tóxicos que se han reportado se incluyen las convulsiones (Sudakin y Trevathan, 2003) y el Síndrome de la Guerra del Golfo (Abou-Donia et al., 1996b) en humanos. Sin embargo, la ecotoxicología es limitada. De los pocos estudios que existen se reporta una baja toxicidad en aves, peces e invertebrados (U.S. Environmental Protection Agency, 1998).

El triclosán está presente en múltiples productos relacionados con la desinfección como jabones, desodorantes, limpiadores, champús, dentífricos, cosméticos, entre otros. Esta sustancia exhibe un amplio espectro bactericida contra bacterias Gram (+) y Gram (-), hongos y levaduras inhibiendo la biosíntesis de ácidos grasos necesarios para la formación de las paredes celulares y la reproducción de las bacterias (Singer, H., 2002; Mc Avoy, 2002; Glaser, A., 2004). El triclosán es un compuesto de baja toxicidad aguda. Diversos estudios sobre su uso en productos de cuidado personal revelan que, a las concentraciones utilizadas (0.3%) no es tóxico, carcinogénico, teratogénico, ni irritante de ojos y piel (Mc Avoy, 2002). Sin embargo, existe evidencia que debido a su continua descarga en el medio ambiente provoca efectos adversos sobre la flora y fauna acuática (algas, organismos unicelulares,

peces y anfibios) (Tatarazako et al., 2004; Orvos, D.R. et al., 2002; Wilson et al., 2003; Ciniglia et al., 2005). Entre los efectos adversos se cuentan efectos sobre la reproducción sexual y asexual de algas (Ciniglia et al., 2005), disminución de supervivencia, malformaciones en la mandíbula, curvatura de la espina dorsal, inactividad y natación errática en peces (Orvos et al., 2002; Ishibashi, H., 2004; Tatarazako et al., 2004) y alteraciones en el sistema nervioso, disminución de peso importante y cambios en la metamorfosis en anfibios (Fraker y Veldhoen, 2004; Veldhoen, 2006).

La cafeína es consumida en grandes cantidades en varios países en forma de infusiones, bebidas comerciales y en menor cantidad en combinación con analgésicos para incrementar su efecto. Los estudios sistemáticos de su distribución en los ambientes acuáticos comenzaron en años recientes, aunque en la mayoría de los casos ha sido utilizada como un marcador de contaminación por desagües domésticos. El efecto ecotoxicológico no ha sido revelado aún, sin embargo Kiefer y Wiebel (1998) observaron un incremento de la genotoxicidad de ciertos químicos cancerígenos en células de hamster en presencia de ésta.

### 3.3. Métodos de análisis de PPCP's.

Se ha descubierto que los factores que han contribuido a la dificultad en el conocimiento de los acuíferos contaminados incluyen los siguientes aspectos: la variada toxicidad de los contaminantes, las diversas formas en las que se produce la contaminación, el complejo comportamiento de los contaminantes en suelo, agua y medio rocoso, la diversidad de condiciones hidrogeológicas existentes y sus variaciones a lo largo del tiempo y transporte a través del medio poroso. Además, se debe añadir el que muchos contaminantes sean difícilmente detectables (Candela Lledó, 2002).

Por otro lado, la detección de muchos compuestos químicos, en especial los de tipo orgánico, requiere de técnicas analíticas muy sofisticadas, por lo que su muestreo sistemático se hace inviable o prohibitivo desde el punto de vista económico, tanto en la inversión como en los gastos de operación.

Una estrategia de análisis adecuada debe tener en cuenta varios factores. En primer lugar hay que considerar que muchos fármacos presentan una elevada actividad farmacológica a concentraciones muy pequeñas, por lo que el método analítico debe ser capaz de determinar concentraciones a un nivel de detección y cuantificación en un rango de  $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$  en el caso del agua (Tabla II) y de  $\text{pg g}^{-1}$  a  $\text{ng g}^{-1}$  si se trata de suelos, sólidos suspendidos o sedimentos. En segundo lugar la gran variedad estructural de fármacos empleados y la posibilidad de aparición de metabolitos, requiere que el método tenga una elevada especificidad y seguridad inequívoca de detección del analito deseado (Fernández-Torija, 2008; Durán-Álvarez, 2009).

La Environmental Protection Agency de Estados Unidos (EPA) ha desarrollado un método general para la determinación de PPCP's (EPA, 2007<sup>a</sup>) que utiliza un sistema de cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS-MS) aplicable a agua, suelos, sedimentos y biosólidos. En este método la preparación de la muestra previa al análisis se basa en la extracción con disolventes

y limpieza y concentración del extracto por cromatografía en columna para muestras sólidas o semisólidas y en la extracción en fase sólida (EFS) directa para muestras de agua. Sin embargo, éste es un procedimiento elaborado que requiere de operadores muy experimentados, de alto costo en instrumentación y particularmente en gastos de operación: tiempo, disolventes y reactivos.

Los métodos analíticos desarrollados para la determinación de este tipo de sustancias en matrices tan complejas como los efluentes de depuradoras, han ido evolucionando en los últimos años. Existen varias publicaciones orientadas a analitos o grupos de analitos específicos que presentan otras alternativas más accesibles, en general el método último de análisis es cromatografía de gases o líquidos acoplada a espectrometría de masas (Snyder, 2003; Hao et al., 2007). El esfuerzo en desarrollo analítico se orienta hacia procedimientos de preparación de muestras más generales, simples y reducidos en disolventes y tiempo. Fundamentalmente haciendo uso de extracción en fase sólida (EFS) (Weigel, 2002; Hummel, 2006; Wu, 2008; Zhao, 2009; Durán, 2009) o microextracción en fase sólida (MEFS) (Yang, 2006; Clouzot, 2008; Castillo, 2009) para muestras acuosas (Tabla III).

#### 3.4. Derivación de los analitos.

La derivación es un proceso orientado hacia la transformación de los analitos en otras especies más compatibles con la técnica de determinación, o bien que presentan mejores características para su detección. Las ventajas encontradas durante el proceso de derivación incluyen el mejoramiento de la estabilidad térmica de los analitos, la resolución cromatográfica entre picos y la modificación indirecta de la sensibilidad del detector mediante la introducción de grupos orgánicos entre las moléculas que incrementan su respuesta (Cela R., 2002; Mol HGJ, 2002; Rodríguez et al., 2000; Blau, K., 1993; Canosa Rodríguez, 2008).

En el caso de la cromatografía de gases, la modalidad más empleada es la derivación *fuera de línea*, con diferentes reacciones entre las que destacan: acetilación, alquilación, metilación, sililación, entre otras. La reacción de sililación es la técnica más versátil y universal empleada en el estudio de compuestos de naturaleza polar, la cual se basa en la sustitución de los protones ácidos de moléculas polares por grupos trialkilsilano. En años recientes se ha establecido que el uso del N-tert-butyltrimethylsilyl-N-methyltrifluoroacetamida (MTBSTFA), para la formación de derivados tert-butil-dimetil-silil éter o éster, ofrece ventajas de estabilidad y separación cromatográfica frente a los derivados tradicionales trimetil-silano.

**Tabla III.** Condiciones experimentales empleadas para la extracción de PPCP's.

C.E.*	M.E.*	pH	Sorbente	D.E.*	R.D.*	% R*	L.D.*	L.Q.*
DEET	EFS-CG/EM <sup>4,6</sup> HPLC-MS/MS <sup>6</sup>	7 <sup>4</sup> 2 <sup>6</sup>	OASIS HLB <sup>4,6</sup> SDB-1 <sup>6</sup>	Hex-AcEt-MeOH <sup>4</sup>	Metilclorometano <sup>4</sup>	82% <sup>4</sup>	1 ng/L <sup>4</sup>	0.16 ng/L <sup>4</sup>
IBU	EFS-CL-EM/EM <sup>1,2</sup> EFS-CG/EM <sup>3,4,5,6</sup> MEFS-CG/MS <sup>7,8</sup>	7 <sup>1,4</sup> 2 <sup>3,5,7</sup> 3 <sup>8,9</sup>	C18 <sup>1</sup> SDB-XD <sup>2</sup> OASIS HLB <sup>3,4</sup> N-vinilpirroli dona <sup>5</sup> SDB-1 <sup>6</sup> PA <sup>7</sup> PEG <sup>8,9</sup>	MeOH <sup>1,2</sup> Acetonitrilo-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> <sup>3</sup> Hex-AcEt-MeOH <sup>4</sup> AcOEt <sup>5</sup>	Metilclorometano <sup>4</sup> MTBSTFA <sup>5,7,8,9</sup>	78.1% <sup>2</sup> 86.4% <sup>3</sup> 74% <sup>4</sup> 99% <sup>5</sup>	0.02 µg/L <sup>1</sup> 5 ng/L <sup>2</sup> 1 ng/L <sup>4</sup> 7 ng/L <sup>8</sup> 12-34 ng/L <sup>9</sup>	15 ng/L <sup>2</sup> 30 ng/L <sup>3</sup> 0.05 ng/L <sup>4</sup> 10 ng/L <sup>5</sup> 18 ng/L <sup>7</sup> 36 ng/L <sup>8</sup> 41-133 ng/L <sup>9</sup>
CAF	EFS-CG/EM <sup>3,4,6</sup>	2 <sup>3</sup> 7 <sup>4</sup>	OASIS HLB <sup>3,4</sup> SDB-1 <sup>6</sup>	Acetonitrilo-CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> <sup>3</sup> Hex-AcEt-MeOH <sup>4</sup>	Metilclorometano <sup>4</sup>	64.1% <sup>3</sup> 95% <sup>4</sup>	1 ng/L <sup>4</sup>	30 ng/L <sup>3</sup> 0.25 ng/L <sup>4</sup>
NAP	EFS-CL-EM/EM <sup>1</sup> EFS-CG/EM <sup>5</sup> MEFS-CG/MS <sup>7,8</sup>	7 <sup>1</sup> 2 <sup>5,7</sup> 3 <sup>8,9</sup>	C18 <sup>1</sup> N-vinilpirroli dona <sup>5</sup> PA <sup>7</sup> PEG <sup>8,9</sup>	MeOH <sup>1</sup> AcOEt <sup>5</sup>	MTBSTFA <sup>5,7,8,9</sup>	102% <sup>5</sup>	0.01 µg/L <sup>1</sup> 15.32 ng/L <sup>8</sup> 15-53 ng/L <sup>9</sup>	10 ng/L <sup>5</sup> 15 ng/L <sup>7</sup> 76.6 ng/L <sup>8</sup> 53-178 ng/L <sup>9</sup>
TCS	EFS-CL-EM/EM <sup>2</sup> EFS-CG/EM <sup>4</sup>	7 <sup>2,4</sup> 3 <sup>8</sup>	SDB-XD <sup>2</sup> OASIS HLB <sup>4</sup> PEG <sub>8</sub>	MeOH <sup>2</sup> Hex-AcEt-MeOH <sup>4</sup>	Metilclorometano <sup>4</sup> MTBSTFA <sup>8</sup>	37.8% <sup>2</sup>	10 ng/L <sup>2</sup> 3.14 ng/L <sup>8</sup>	30 ng/L <sup>2</sup> 16 ng/L <sup>8</sup>
DIC	EFS-CL-EM/EM <sup>1</sup> EFS-CG/EM <sup>4,5,6</sup> MEFS-CG/MS <sup>7,8</sup>	7 <sup>1,4</sup> 2 <sup>5,7,9</sup>	C18 <sup>1</sup> OASIS HLB <sup>4</sup> N-vinilpirroli dona <sup>5</sup> SDB-1 <sup>6</sup> PA <sup>7,9</sup>	MeOH <sup>1</sup> Hex-AcEt-MeOH <sup>4</sup> AcOEt <sup>5</sup>	Metilclorometano <sup>4</sup> MTBSTFA <sup>5,7,9</sup>	87% <sup>4</sup> 101% <sup>5</sup>	0.01 µg/L <sup>1</sup> 1 ng/L <sup>4</sup> 13-22 ng/L <sup>9</sup>	0.08 ng/L <sup>4</sup> 25 ng/L <sup>5</sup> 20 ng/L <sup>7</sup> 73-453 ng/L <sup>9</sup>

<sup>1</sup>Siemens et al., 2008; <sup>2</sup>Kim, Joon-Woo et al., 2009; <sup>3</sup>Maldovan, 2006; <sup>4</sup>Weigel et al., 2004; <sup>5</sup>Rodríguez et al., 2003; <sup>6</sup>Weigel et al., 2002; <sup>7</sup>Rodríguez et al., 2004; <sup>8</sup>Castillo-Alanís, 2009; <sup>9</sup>Badillo-Martínez, 2010.\*Nomenclatura: C.E. (compuestos de estudio), M.E.(método de extracción), D.E. (disolvente de elución), R.E. (reactivo derivatizante), % R (porcentaje de recuperación), L. D. (límite de detección), L.Q. (límite de cuantificación).

### 3.5. Análisis por cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM).

El análisis de los PPCP's mediante CG/EM es una de las técnicas más empleadas para el análisis de mezclas complejas. La cromatografía de gases se basa en la distribución de los analitos entre una fase

estacionaria, depositada en la columna cromatográfica, y una fase móvil o gas portador. Por su parte, la espectrometría de masas es utilizada para la confirmación de la identidad del pico cromatográfico. De tal manera, que en un sistema acoplado CG/EM, la CG se emplea para separar los componentes de una mezcla basada en sus diferentes afinidades por la fase estacionaria en la columna y la EM provee información sobre la identidad de las especies que eluyen de la columna, proporcionando el espectro de masas de cada uno de los analitos que contiene la mezcla.

### 3.6. Extracción en Fase Sólida (EFS).

La extracción en fase sólida previa al análisis cromatográfico ha sido el método de elección para determinar sustancias farmacéuticas y de cuidado personal activas en agua superficial y residual con buena calidad de los datos y eficiencia de recuperación. Se basa en la diferente afinidad de los analitos entre una fase sólida, que es el sorbente, y la matriz líquida de la muestra. Existen diferentes tipos de sorbentes que se comercializan en forma de cartuchos o discos y que se escogen en función de los analitos que se quieren determinar. Se han utilizado básicamente dos tipos, los sorbentes de sílices químicamente modificadas con superficies enlazadas a compuestos orgánicos y los poliméricos (Tabla II).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA-Método 1694) propone un procedimiento para la extracción y concentración de PPCP's en aguas naturales y residuales por EFS, que utiliza cartuchos con un absorbente polimérico funcionalizado con N-vinil-pirrolidona (Oasis HLB, Waters) y que debido a su estructura permite la retención fuerte de compuestos con funcionalidades químicas diversas. El procedimiento, en términos generales, consiste en acondicionar el cartucho de extracción con metanol y agua destilada, pasar un litro de muestra de agua por el cartucho para retener los compuestos orgánicos, lavar el cartucho con agua destilada, secar con corriente de N<sub>2</sub> y desplazar los analitos con metanol. El pH de la muestra se ajusta a  $2.0 \pm 0.5$  para extraer los compuestos ácidos y a  $9 \pm 0.5$  para los básicos y neutros. Para el análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM) se deben formar los derivados sililados de los compuestos ácidos extraídos.

#### 3.6.1. Variables experimentales importantes en EFS.

##### 3.6.1.1. pH.

El efecto del pH es una variable importante en la EFS, influyendo tanto en la eficacia como en la selectividad de la extracción. En el caso de los analitos de naturaleza neutra, el pH no es una variable importante, sin embargo para compuestos ionizables si es determinante. Se debe aumentar o disminuir el pH de tal forma que se favorezca la cantidad del analito extraído por la conversión de las

especies a su forma neutra, el pH debe estar en al menos dos unidades por debajo o por encima del pKa del compuesto, según sea el caso. Para extraer los compuestos ácidos se recomienda ajustar el pH a 2 y para los analitos básicos el pH debe ajustarse a 9, lo que implica realizar dos extracciones independientes de una misma muestra cuando interesa analizar compuestos de características ácido base diferentes. Sin embargo, existen reportes que indican que es posible extraer simultáneamente los compuestos ácidos y básicos/neutros (Weigel et al., 2004; Siemens et al., 2008; Joon-Woo et al., 2009) ajustando el pH en valores intermedios.

#### 3.6.1.2. Fuerza iónica.

La concentración total de iones en la muestra puede afectar los valores de las constantes de distribución de los analitos entre el agua y la fase sólida, no es fácilmente predecible aunque en el caso de compuestos hidrofóbicos usualmente favorece la extracción por lo que se conoce como efecto de desplazamiento salino. Debe ser una variable a considerar particularmente si la salinidad de las muestras por analizar es muy variable. Cuando la constante de reparto es muy favorable a la extracción el efecto de la fuerza iónica no es muy significativo.

#### 3.6.1.3. Agentes quelantes.

Cuando la muestra tiene concentraciones altas de cationes que pueden formar complejos con aniones orgánicos, como el  $\text{Ca}^{2+}$ , y los analitos de interés tienen grupos funcionales como carboxilato se pueden formar complejos que desfavorezcan la extracción. Para prevenir esto se agregan agentes quelantes como el EDTA que secuestran los cationes metálicos.

#### 3.6.1.4. Lavado y acondicionamiento del cartucho de EFS.

Antes de pasar la muestra de agua se debe tratar el cartucho de EFS con una serie de disolventes para eliminar impurezas que pudieran interferir en el análisis y preparar la superficie adsorbente para el medio acuoso de la muestra. Esto es particularmente importante con fases hidrofóbicas como C18 o poliméricas, tanto para favorecer el mojado de la superficie como por los cambios de volumen por hinchado de la fase estacionaria que se produce por absorción de los disolventes. Generalmente se inicia con un disolvente totalmente apolar como hexano, seguido de disolventes de polaridad intermedia como el acetato de etilo y un disolvente orgánico totalmente miscible con agua para terminar con agua con los mismos parámetros fisicoquímicos que se ajustarán en la muestra.

#### 3.6.1.5. Volumen y gasto de la muestra.

La cantidad de muestra que se puede pasar por el cartucho depende de la capacidad de retención del adsorbente por los analitos de interés y de las concentraciones en que estos se encuentren. Se debe tener cuidado de no rebasar la capacidad de retención pues el exceso de los analitos simplemente

eluirá con muestra. Controlar la velocidad con que fluya la muestra por el cartucho es importante pues puede haber limitaciones cinéticas en la transferencia de masa en la intercara entre la fase móvil y la superficie del sorbente.

#### 3.6.1.6. Lavado del cartucho.

Aunque para preparar el cartucho para el desplazamiento de los analitos retenidos puede ser suficiente secar con corriente de nitrógeno, a veces para obtener extractos más limpios es conveniente además lavar con un disolvente que desplace otros analitos que no son de interés y en caso necesario preparar la fase sólida para el disolvente de desplazamiento.

#### 3.6.1.7. Disolvente de desplazamiento.

Para obtener el extracto concentrado se debe utilizar un disolvente suficientemente fuerte para desplazar cuantitativamente los analitos, pero no los compuestos más fuertemente retenidos que no sean de interés. El volumen de disolvente de desplazamiento debe ser suficiente para desplazar totalmente los compuestos de la columna y la velocidad debe ser adecuada a las limitaciones cinéticas de la reextracción. El procedimiento de EFS propuesto por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA-Método 1694) utiliza metanol (MeOH) para desplazar los analitos del cartucho, pero existen en la literatura procedimientos en los cuales se emplea acetato de etilo (AcOEt) como disolvente de desplazamiento (Rodríguez et al., 2003; Weigel et al., 2004).

## 4. PENÍNSULA DE YUCATÁN.

La Península de Yucatán es una planicie en el sureste de México, con una superficie aproximada de 7.5 millones de hectáreas, se encuentra localizada al suroriente de la República Mexicana entre las coordenadas 87°32' a 90°25' de longitud oeste y 21°36' a 19°25' de latitud norte. Comprende los estados de Yucatán, Quintana Roo y gran parte de Campeche. Las principales ciudades son Mérida, Chetumal, Cancún, Valladolid, Campeche y Progreso. Es una parte de la provincia fisiográfica de la Llanura Costera del Golfo de México, que se eleva a alturas menores de 30 msnm, a excepción de la sierrita de Ticul, que se encuentra en la porción Noroeste de la península y alcanza una elevación máxima de 275 msnm, orientada en dirección NE-SW (INEGI, 2000).

El Estado de Yucatán tiene una población de poco más de 1.9 millones de habitantes, en Mérida se encuentra alrededor del 42.5% de la población y se encuentra a 36 km de la costa (Puerto Progreso). Junto con otros pocos municipios (Kanasín, Valladolid y Tizimín) concentra 54% de la población, esto es más de la mitad de los habitantes del estado. El resto de la población se encuentra distribuida en 16 municipios (2506 localidades). En la franja costera viven alrededor de 122 000 personas (INEGI, 2010). El Estado de Yucatán recibe alrededor de 1.5 millones de turistas externos al estado al año y en los periodos de vacaciones hay una importante afluencia local hacia las casas de playa que se encuentran

principalmente en las zonas de Puerto Progreso y se extienden hacia el este sobre la línea de costa hasta Dzilam del Bravo.

Prácticamente todo el Estado de Yucatán está sobre un enorme acuífero que se encuentra a pocos metros de profundidad y sobre una intrusión salina que penetra decenas de kilómetros tierra adentro. El agua dulce del acuífero fluye hacia la costa y descarga en el mar a través de numerosos ojos de agua, manantiales y descargas no puntuales, con un gasto que se estima en  $29.5 \times 10^6 \text{ L d}^{-1} \text{ km}^{-1}$  que equivale a  $10.8 \times 10^6 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1} \text{ km}^{-1}$  (Main, 1994; Steinich, 1996; Escolero, 2005; Comisión Nacional del Agua, 2009). La línea litoral está formada por 344 km de litoral marino y 461 km de bordes lagunares. A playas de arena corresponden 295 km y el resto se ubica en zonas erosionadas o en partes de alta fragilidad en las islas de barrera. La zona costera incluyendo los cuerpos lagunares, petenes, pastizales y selvas inundables protegidos por un largo cordón de 15 000 hectáreas de islas de barrera, con porciones muy frágiles (SEMARNAT; Herrera-Silveira, 2006). Son ecosistemas de gran importancia por su biodiversidad y por los servicios ambientales que prestan: sirven como fuentes de transformación de una multitud de desechos químicos y biológicos, poseen gran capacidad como zonas de amortiguamiento a inundaciones, contribuyen a estabilizar la línea de costa y son productores de nutrimentos que favorecen la productividad pesquera, además de refugio de aves migratorias, entre otras.

La Península de Yucatán presenta un subsuelo de tipo kárstico, caracterizado principalmente por rocas carbonatadas con existencia de cavernas, cenotes y conductos de disolución, lo cual ocasiona una gran permeabilidad, provocando así una rápida infiltración que propicia el arrastre de los contaminantes hacia el acuífero. Así mismo, presenta una carstificación extensiva que conlleva a la ausencia de corrientes superficiales (Back y Hanshaw, 1974), de tal manera que gran parte de la precipitación pluvial se evapotranspira y el resto se infiltra al subsuelo a través de fracturas, oquedades y conductos cársticos en las calizas, siguiendo diferentes trayectorias de flujo controladas principalmente por el desarrollo del carst (SARH, 1989). La dirección general del flujo subterráneo en el plano horizontal se presenta en forma radial del centro del estado hacia la línea de costa que circunda la península (Velázquez, 1986).

La topografía de la península presenta como rasgo más importante a los cenotes (del maya *ts'ono'ot* o *d'zonot*), los cuales son cuerpos de agua formados por la disolución de piedra por ácido carbónico y son el único signo visible del distintivo sistema acuático subterráneo (Cervantes-Martínez et al., 2002). Éstos se concentran en la parte norte y disminuyen hacia el sur de la península. Se encuentran a lo largo de una línea imaginaria entre Tulum, Quintana Roo y Campeche, que se ha denominado el anillo de cenotes y que coincide con el diámetro externo del cráter Chicxulub. La roca cárstica se caracteriza por su alta permeabilidad; el agua se infiltra y acumula en el subsuelo, formando una lente de agua dulce delgada que flota sobre una masa de agua salina, más densa, cuyo origen es la intrusión marina natural. El contacto entre ambas masas de agua, dulce y marina, forma una zona de mezcla o haloclina

que en conjunto conforman un componente geológico importante del acuífero. La lente de agua dulce constituye la única fuente de agua dulce para consumo humano y así como para ser utilizada en actividades industriales y agrícolas (Doehring y Butler, 1974; Escolero et al., 2000, 2002; Perry et al., 2002), renovable solamente por la lluvia estacional. Este acuífero es, por sus características, altamente susceptible a la contaminación (Doehring y Butler, 1974; Marin y Perry, 1994; Pacheco y Cabrera, 1996; Pacheco et al., 2000; Escolero et al., 2002). La conductividad hidráulica, en acuíferos cársticos, resulta de la combinación de la permeabilidad primaria de la roca, el grado de fractura, los conductos de disolución y la alta precipitación pluvial (Back y Lesser, 1981; Reeve y Perry, 1990).

Perry y colaboradores (1995) definieron a la “Cuenca Sedimentaria de Chicxulub” como una estructura cárstica, formada por el impacto de un meteorito en un área somera con depósitos de evaporitas y andesitas durante la transición del Cretácico al Terciario, dando origen a un cráter de aproximadamente 180 km de diámetro, bordeado por una banda semicircular de anillos múltiples con presencia de cenotes alineados. El agua subterránea se mueve de las zonas más elevadas y de mayor precipitación (ubicadas al sur del estado) hacia las costas, dispersándose hacia el noroeste, noreste y norte, donde se realiza la descarga natural del acuífero rumbo a Celestún, Dzilam de Bravo y San Felipe; ahí aflora a manera de ojos de agua, manantiales y descargas no puntuales y fluye hacia las lagunas costeras de estas poblaciones, alimentando de paso a los esteros y lagunas costeras. Diversas investigaciones han demostrado que la presencia del anillo de cenotes le confiere al acuífero propiedades hidrogeológicas especiales como un alta descarga de agua subterránea en las regiones donde el anillo intercepta la costa y la presencia de diferentes medidas de niveles piezométricos en las regiones de adentro y fuera del anillo. (Perry et al., 1995; Steinich y Marín, 1996).

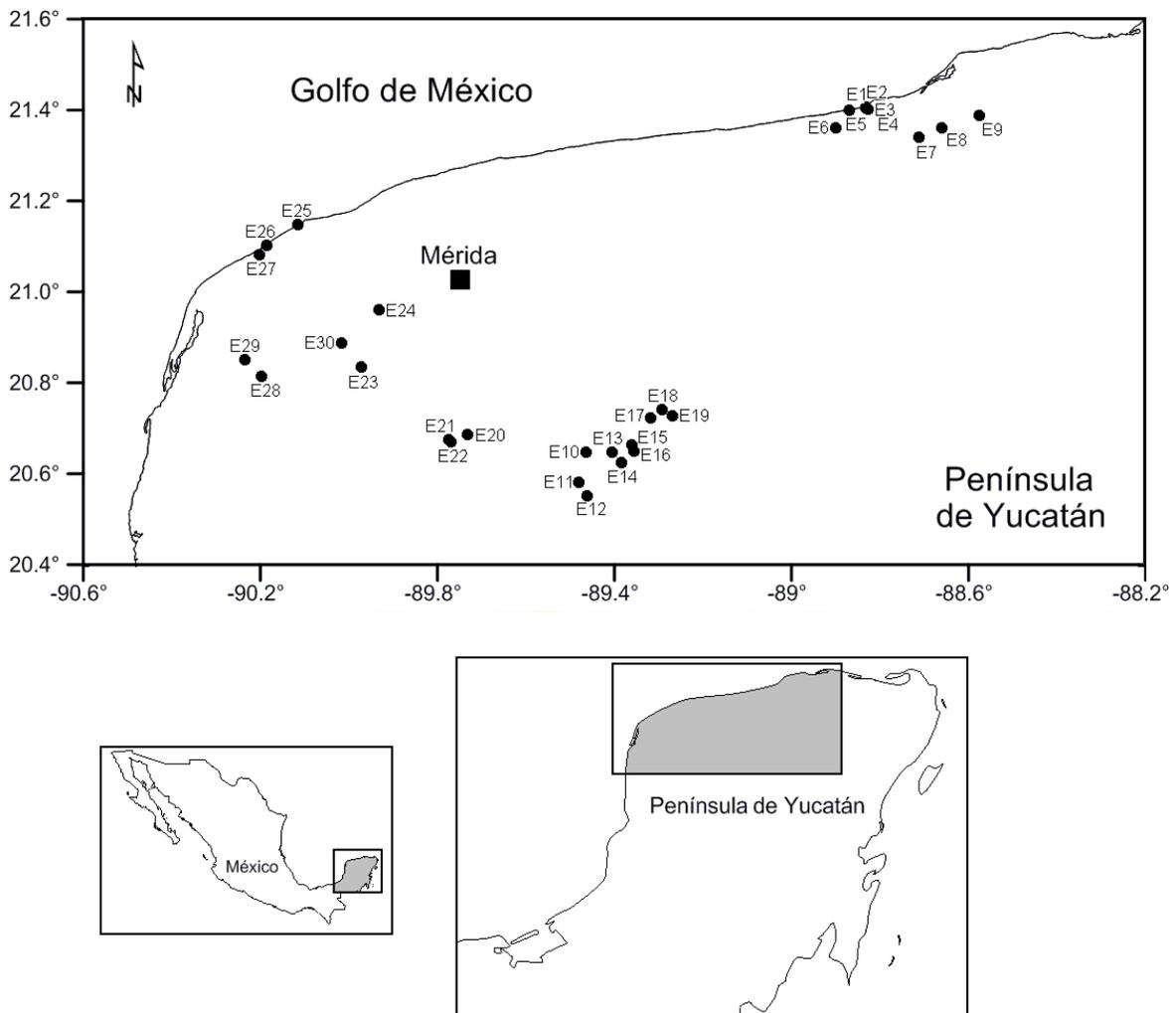
Dada su naturaleza, la Península de Yucatán afronta dos grandes problemas: el abastecimiento de agua potable de calidad y la eliminación de aguas negras. Las condiciones del suelo hacen muy costoso el uso de redes de recolección de aguas residuales para su desalojo y depuración en plantas de tratamiento centrales ubicadas fuera del núcleo urbano. El Censo Nacional de Población y Vivienda del 2010 registra que en el Estado de Yucatán, 404,194 viviendas disponen sus aguas residuales mediante fosas sépticas, esto representa un 79.7% del total de 507,145 viviendas censadas (INEGI, 2010). Cuando las fosas sépticas son diseñadas sin considerar el volumen de agua a tratar, los procesos involucrados en ella y los criterios válidos de diseño y, sobre todo, no tienen un mantenimiento y supervisión adecuados una vez que son construidas, pueden llegar a ser fuente considerable de contaminación de aguas subterráneas (Quintal, 1993a).

Ya que no se cuenta con un sistema de drenaje sanitario, las descargas de agua en la mayor parte de Yucatán se vierten a fosas sépticas y pozos someros abandonados y de allí los excedentes derraman al subsuelo y se filtran hacia el acuífero. Incluso, algunas veces, tanto las aguas residuales como los desechos sólidos son depositados sin tratamiento apropiado en cuevas y cenotes abandonados (Pacheco, 1985; Graniel y Gómez, 1997; Graniel et al., 1999a). Las descargas industriales y hospitalarias

se descargan al subsuelo por medio de la inyección de sus efluentes a pozos profundos. Por otro lado, el agua pluvial de los principales centros urbanos es vertida al acuífero por medio de pozos de absorción de 15-18 metros de profundidad, que se ubican en las intersecciones de las calles; haciendo así que los índices de contaminación se incrementen paulatinamente debido al crecimiento poblacional que existe en la zona urbana, principalmente en la ciudad de Mérida. Por otro lado, las actividades pecuarias y agrícolas son predominantes en el área, aunque éstas últimas en menor proporción. En la agricultura se cultivan principalmente cítricos, jitomates y henequén; y la actividad pecuaria se refiere principalmente a la cría y explotación de ganado bovino, porcino, ovinos y aves (Pacheco, 2000). Estas actividades también son una fuente de contaminación del acuífero.

## 5. ÁREA DE ESTUDIO.

Se seleccionaron 30 estaciones de monitoreo sobre el área conocida como el Anillo de Cenotes, cuya localización se muestra en la Figura 1 y que corresponden a las coordenadas que se indican en la Tabla IV.



**Figura 1.** Área de estudio y estaciones de muestreo en la región costera noroccidental del estado de Yucatán. Solo como referencia, se muestra también la localización de la Ciudad de Mérida. (Imagen proporcionada por el M. en C. José Luis Bonilla G.)

**Tabla IV.** Coordenadas de las estaciones de muestreo.

Estación	Coordenadas Latitud Norte	Coordenadas Longitud Oeste
E1	21° 24' 18.4"	88° 49' 52.8"
E2	21° 24' 16.2"	88° 49' 51.9"
E3	21° 24' 2.2"	88° 49' 33.3"
E4	21° 24' 24.5"	88° 49' 55.4"
E5	21° 23' 54.1"	88° 52' 06.0"
E6	21° 21' 36.1"	88° 53' 55.7"
E7	21° 20' 21.3"	88° 42' 38.5"
E8	21° 21' 35.2"	88° 39' 33.4"
E9	21° 23' 16.8"	88° 34' 31.3"
E10	20° 38' 46.9"	89° 27' 50.8"
E11	20° 34' 50.6"	89° 28' 52.4"
E12	20° 33' 07.3"	89° 27' 44.6"
E13	20° 38' 47.4"	89° 24' 16.6"
E14	20° 37' 23.8"	89° 23' 03.1"
E15	20° 39' 45.5"	89° 21' 39.7"
E16	20° 38' 55.6"	89° 22' 20.9"
E17	20° 43' 17.5"	89° 19' 05.8"
E18	20° 44' 29.5"	89° 17' 28.6"
E19	20° 43' 37.2"	89° 16' 05.3"
E20	20° 41' 11.3"	89° 43' 55.4"
E21	20° 40' 25.5"	89° 46' 23.9"
E22	20° 40' 25.1	89° 46' 23"
E23	20° 50' 04.5"	89° 58' 16.5"
E24	20° 57' 35.4"	89° 55' 49.6"
E25	21° 08' 54.2"	90° 06' 52.3"
E26	21° 06' 08.5"	90° 11' 11.6"
E27	21° 04' 53.9"	90° 12' 10.5"
E28	20° 48' 47.9"	90° 11' 46.8"
E29	20° 51' 00.9"	90° 14' 08.0"
E30	20° 51' 52.8"	90° 07' 26.2"

## 6. JUSTIFICACIÓN.

Como ya se señaló, las aguas residuales en el Estado de Yucatán, de cualquier origen y grado de tratamiento, tienen como cuerpo receptor el acuífero subyacente con el consecuente transporte hacia la costa por medio de la compleja hidrodinámica del sistema. Es un sistema particularmente vulnerable y por esta razón en el acuífero y en la costa se han detectado diversos contaminantes persistentes, tanto metales como compuestos orgánicos, pero se desconoce el grado con que los contaminantes emergentes alcanzan el acuífero y la costa de esta zona. Se justifica entonces realizar un estudio inicial

que permita plantear hipótesis y estrategias dirigidas a objetivos más específicos en investigaciones posteriores.

## 7. HIPÓTESIS.

Como consecuencia del vertido de aguas residuales al subsuelo y la insuficiente depuración natural hay presencia de PPCP's en concentraciones detectables, del orden de  $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$ , en el acuífero y en la costa del estado de Yucatán.

## 8. OBJETIVOS.

### 8.1. Objetivo General.

Determinar si hay evidencia de contaminación en el acuífero y en la zona costera de la península de Yucatán debida a las sustancias activas de los productos farmacéuticos y de cuidado personal seleccionadas de entre los que se han reportado con mayor frecuencia y concentración en las aguas naturales (DEET, Ibuprofeno, Cafeína, Naproxeno, Triclosán y Diclofenaco).

### 8.2. Objetivos particulares.

1. Implantar en los laboratorios de la Unidad de Química en Sisal métodos y procedimientos para la extracción y concentración de PPCP's basados en los procedimientos de EFS publicados, estudiar en específico:
  - a) Las condiciones de formación de los derivados sililados de los compuestos ácidos.
  - b) El pH de la muestra para la extracción simultánea de los compuestos de interés, independientemente de sus características ácido-base.
  - c) El disolvente de desplazamiento de los analitos extraídos.
  - d) El volumen de disolvente de desplazamiento.
2. Realizar el análisis de los PPCP's en las muestras de agua obtenidas del acuífero y de la costa de la Península de Yucatán.

## 9. MATERIALES Y MÉTODOS.

### 9.1. Equipo, materiales y reactivos.

Los equipos, reactivos y materiales empleados durante el desarrollo experimental se presentan en las Tablas V a VII.

**Tabla V.** Equipos utilizados en el trabajo experimental o en la recolección de muestras.

<b>Nombre</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>	<b>Aditamientos/Observaciones</b>
Equipo de filtración	Millipore		47 mm
Balanza analítica	Explorer Pro	EP214C	
Parrilla eléctrica de calentamiento con agitación	Barnstead-Termolyne	SP131325	Agitador magnético 35 mm x 5 mm
Bomba de vacío	Büchi Switzerland	V – 700	
Baño ultrasónico	Bransonic 2510	2510R-DTH	
Baño ultrasónico	Bransonic 8510	8510R-DTH	
Cromatógrafo de Gases	Agilent Technologies	6850 Network CG	
Automuestreador	Agilent Technologies	76838	Inyector automático
Detector de masas	Agilent Technologies	5975B – VL	
Agitador vortex	Barnstead-Thermoline	M37615	
Bloque de calentamiento	Termo Scientific	2050	
Purificador y desionizador de agua	Barnstead – Easy Pure Rodi	C13321	Grado 1
Analizador de agua	YSI	EC3000	
Cartuchos para EFS	Strata X		500 mg

**Tabla VI.** Reactivos, disolventes y estándares utilizados en el trabajo de laboratorio.

<b>Abreviatura/Fórmula</b>	<b>Nombre</b>	<b>Marca</b>	<b>Grado</b>
MeOH/CH <sub>3</sub> -OH	Metanol	J.T. Baker	HPLC
C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O	Acetona	J.T. Baker	HPLC
AcOEt/C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	Acetato de Etilo	J.T. Baker	HPLC
C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	Hexano	J.T. Baker	HPLC
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	Diclorometano	J.T. Baker	HPLC
HCl	Ácido Clorhídrico	J.T. Baker	RA
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de Sodio anhidro	Sigma-Aldrich	99%
EDTA	Etilendiamina-tetraacetato de tetrasodio dihidrato	Fluka	99%
MTBSTFA	N-metil-N-t-butildimetilsililtrifluoroacetamida	Fluka	RA
C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> NO	DEET	Sigma-Aldrich	95%
C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	Cafeína	Fluka	99%
C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	Ibuprofeno	Sigma-Aldrich	99%
C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	Naproxeno	Sigma-Aldrich	98%
C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> NCl <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Diclofenaco	Sigma-Aldrich	98%
C <sub>12</sub> H <sub>7</sub> O <sub>2</sub> Cl <sub>3</sub>	Irgasan (Triclosán)	Fluka, Italia	>97%

**Tabla VII.** Materiales utilizados en los experimentos y/o en la recolección de las muestras.

<b>Nombre</b>	<b>Marca</b>	<b>Modelo</b>	<b>Descripción</b>
Columna para cromatografía de gases	Zebron	ZB-5MSi	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
Pipetas Pasteur	Corning	7095B-5X	
Viales	Supelco		2, 7 y 15 mL
Viales de vidrio color ámbar	Supelco		2 mL
Tubos de cultivo	Pyrex		50 mL
Probeta	Pyrex		10, 250 y 500 mL
Matraz aforado	Pyrex		10, 1000 y 2000 mL
Pipeta volumétrica	Pyrex		1 y 5 mL
Vaso de precipitados	Pyrex		10, 50, 100 y 250 mL
Matraz Kitazato	Pyrex		1000 mL
Botellas de vidrio ámbar			1250 mL
Botellas de polietileno			1000 mL
Micropipetas	Eppendorf		20, 200 y 1000 µL
Pipeta Labnet		Biopette A	1000 – 10000 µL
Espátulas de metal			
Papel filtro	Whatman		GF/B

#### 9.1.1. Limpieza del material.

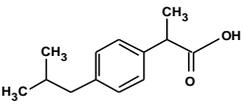
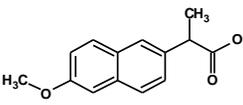
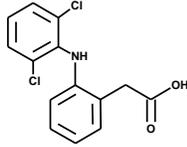
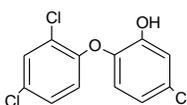
La limpieza del material de vidrio en el análisis de trazas es muy importante, ya que éste puede no solo contaminar las muestras sino remover los analitos de interés por adsorción en la superficie de vidrio. El procedimiento fue el siguiente:

El material fue lavado con solución de detergente (Sparkleen 1) y se sonicó por 15 minutos. Después se enjuagó con agua corriente y agua grado 1 y por último se sonicó en agua grado 1 de purificador por 15 minutos. Después del lavado y enjuagado con agua se enjuagó y sonicó con metanol, acetona y finalmente con diclorometano, durante 15 minutos con cada disolvente. Se dejó secar en la campana de extracción y se horneó a 450° C durante 180 min. Finalmente, se realizó un enjuague con HCl 10% y agua grado 1 y se dejó escurrir y secar a temperatura ambiente. El material fue almacenado en forma invertida o tapado con papel aluminio.

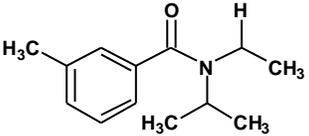
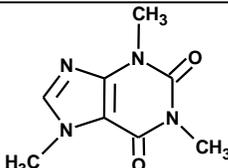
## 9.2. Estándares.

Las pruebas de los procedimientos se realizaron con cuatro sustancias del grupo de PPCP's ácidos (ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco y triclosán) y dos sustancias del grupo de PPCP's básicos y neutros (DEET y cafeína). Las características fisicoquímicas de los PPCP's se presentan en las tablas VIII y IX.

**Tabla VIII.** Estándares de compuestos ácidos utilizados en el desarrollo experimental.

Nombre	Ibuprofeno Ácido (S)-(+)-isobutil- $\alpha$ -metil- fenilacético	Naproxeno Ácido (S)-(+)-6-metoxi- $\alpha$ -metil- naftalenacético	Diclofenaco Ácido (2-[2,6- diclorofenil]amino] bencenoacético	Triclosán 2,4,4-tricloro-2- hidroxidifenil éter
Estructura				
Fórmula condensada	$C_{13}H_{18}O_2$	$C_{14}H_{14}O_3$	$C_{14}H_{11}NCl_2O_2$	$C_{12}H_7O_2Cl_3$
Peso Molecular	206.27 g/mol	230.26 g/mol	296.148 g/mol	289.5 g/mol
pKa	4.91	4.15	4.15	7.9
Log Kow	3.97	3.18	4.51	4.76
Estado Físico	Sólido cristalino	Sólido cristalino	Sólido cristalino	Polvo blanquecino
Solubilidad	0.128 g/L	0.055 g/L	0.05 g/L	10 mg/L (20° C)

**Tabla IX.** Estándares de compuestos neutros utilizados durante el desarrollo experimental.

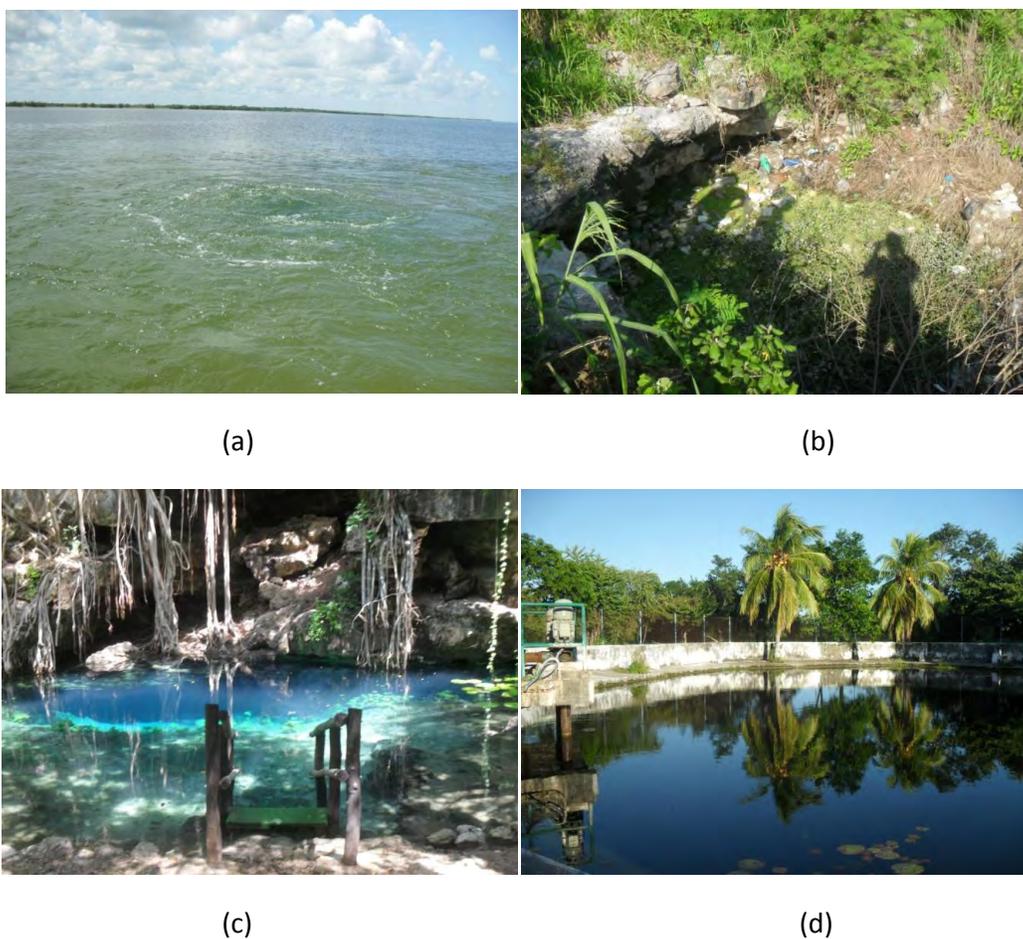
Nombre	DEET N,N-Diethyl-meta-toluamide	Cafeína 1,3,7-trimetilxantina
Estructura		
Fórmula condensada	$C_{12}H_{17}NO$	$C_8H_{10}N_4O_2$
Peso Molecular	191.27 g/mol	194.19 g/mol
pKa	---	6.1
Log K <sub>ow</sub>	2.0	< 0
Estado Físico	Líquido incoloro	Sólido cristalino
Solubilidad	11.2 g/L	21.7 g/L

Se prepararon por separado soluciones estándar de cada compuesto a una concentración nominal de 100  $\mu$ g/mL, para ello se pesaron con exactitud 50 mg del estándar directamente en un matraz aforado

de vidrio de 10 mL y se diluyó a la marca, con metanol en el caso de los compuestos ácidos y con acetona en el caso de los neutros. La solución se transfirió a un vial de vidrio de 15 mL con tapa de fluoropolímero y envuelto con papel aluminio. Cuando la solución no era utilizada se almacenó a 4° C. A partir de esta solución madre se prepararon las soluciones de trabajo por dilución de alícuotas.

### 9.3. Muestreo.

Las muestras se colectaron entre septiembre y octubre del 2011 en los puntos que se indican en la Tabla X, donde se presentan las coordenadas del muestreo medidas con un GPS (EXTREX LEGEND). La localización de los sitios se presenta en la Figura 1. Los cuerpos de agua muestreados incluyen ojos de agua, pozos, norias y cenotes, algunos ejemplos se presentan en la Figura 2.



**Figura 2.** Cuerpos de agua muestreados: (a) ojo de agua, (b) y (c) cenotes, (d) abastecimiento de agua potable.

**Tabla X. Localización y descripción de las estaciones de muestreo en el Anillo de Cenotes, Yucatán.**

Estación	Coordenadas Latitud Norte	Coordenadas Longitud Oeste	Descripción
E1	21° 24' 18.4"	88° 49' 52.8"	Ojo de agua en el mar. Presencia de sedimentos, arenas y fango en la boca. Zona turística
E2	21° 24' 16.2"	88° 49' 51.9"	Ojo de agua en el mar con olor a sulfuros. Turístico.
E3	21° 24' 2.2"	88° 49' 33.3"	Cenote Elepeten con tortugas. Zona turística.
E4	21° 24' 24.5"	88° 49' 55.4"	Ojo de agua en el mar con olor a sulfuros. Turístico.
E5	21° 23' 54.1"	88° 52' 06.0"	Ojo de agua en el mar. Sin características especiales. Turístico.
E6	21° 21' 36.1"	88° 53' 55.7"	Cenote utilizado como depósito de desechos sólidos y basura. Se observan latas, botellas de plástico, vidrio, entre otros.
E7	21° 20' 21.3"	88° 42' 38.5"	Aguada en zona rural. Mucha vegetación alrededor y cocodrilos
E8	21° 21' 35.2"	88° 39' 33.4"	Cenote ubicado dentro de un rancho con ganado vacuno, aves, perros, gallinas, peces, caballos
E9	21° 23' 16.8"	88° 34' 31.3"	Aguada localizada dentro de un rancho.
E10	20° 38' 46.9"	89° 27' 50.8"	Cenote limpio, agua transparente y poca basura en los alrededores. Localizado en el centro de Telchac pueblo. Turístico
E11	20° 34' 50.6"	89° 28' 52.4"	Aguada localizada en las cercanías de Cuzamá.
E12	20° 33' 07.3"	89° 27' 44.6"	Pozo/cenote en Hazucil (Kinahuá) localizado en el centro del pueblo y utilizado como abastecimiento de agua potable
E13	20° 38' 47.4"	89° 24' 16.6"	Cenote con escaleras de madera para llegar al agua. Turístico en Cuzamá. Con basura (plástico).
E14	20° 37' 23.8"	89° 23' 03.1"	Cenote turístico de Cuzamá. Sin basura en los alrededores.
E15	20° 39' 45.5"	89° 21' 39.7"	Cenote turístico de Cuzamá. Sin basura en los alrededores.
E16	20° 38' 55.6"	89° 22' 20.9"	Cenote turístico localizado en el municipio de Cuzamá. Cercano a un hotel ecoturístico con gran afluencia los fines de semana
E17	20° 43' 17.5"	89° 19' 05.8"	Cenote localizado en una casa en el municipio de Cuzamá. Turístico.
E18	20° 44' 29.5"	89° 17' 28.6"	Cenote localizado en la caverna de Santa Marín en Homun. Turístico.
E19	20° 43' 37.2"	89° 16' 05.3"	Cenote Yaxpa Kaltun. Cercano a Ticul y pueblos aledaños. Turístico
E20	20° 41' 11.3"	89° 43' 55.4"	Cenote sin acceso, cercano al panteón y localizado dentro del municipio de Uman.
E21	20° 40' 25.5"	89° 46' 23.9"	Cenote localizado dentro de municipio de Uman. Turístico.
E22	20° 40' 25.1"	89° 46' 23"	Cenote localizado en el poblado de Chocholá, dentro de un restaurante. Turístico.
E23	20° 50' 04.5"	89° 58' 16.5"	Cenote utilizado como basurero: papel, plástico, vidrio, latas diversas y llantas.
E24	20° 57' 35.4"	89° 55' 49.6"	Cenote en casa de "Doña Lucy" en el poblado de Tetiz. Eutrofizado.
E25	21° 08' 54.2"	90° 06' 52.3"	Ojo de agua en el mar. Localizado en El Palmar
E26	21° 06' 08.5"	90° 11' 11.6"	Ojo de agua en el mar. Localizado en El Palmar
E27	21° 04' 53.9"	90° 12' 10.5"	Cenote Polac. Localizado en El Palmar, dentro de la ciénega
E28	20° 48' 47.9"	90° 11' 46.8"	Cenote localizado en el Rancho Santa Julia rumbo a Chunchucmil. Cerca de Celestún
E29	20° 51' 00.9"	90° 14' 08.0"	Bombas, abastecimiento de agua potable. En las cercanías de la carretera rumbo a Celestún
E30	20° 51' 52.8"	90° 07' 26.2"	Pozo localizado sobre la carretera rumbo a Celestún.

Las mediciones que se realizaron en cada sitio fueron las siguientes:

<b>MEDICIÓN</b>	<b>UNIDADES</b>
Temperatura	° C
Oxígeno disuelto	mg/L
Potencial redox, $E_h$	mV
Salinidad	psu (‰)
pH	

En cada punto del muestreo se tomaron muestras simples por duplicado. La recolección de muestras de agua se realizó tomando la capa superficial (0 – 30 cm), en recipientes de plástico (PET) con capacidad de un litro, previamente lavados con agua grado 1. En cada estación de muestreo las botellas fueron enjuagadas tres veces con el agua del sitio y se sumergieron con la boca hacia arriba hasta una profundidad de 15 a 30 centímetros y una vez llenas se cerraron y se conservaron en hielo y en obscuridad hasta su arribo al laboratorio, donde inmediatamente se pusieron en refrigeración a 4° C. Las muestras se procesaron en un lapso de 48 horas después de la colecta. Se utilizaron botellas de PET para recolectar las muestras por conveniencia para el trabajo de campo. Como la recomendación general es utilizar botellas de vidrio se evaluó si el uso de PET afectaba los resultados. Para ello se preparó en el laboratorio una muestra de agua con los analitos en concentración de 10 ng L<sup>-1</sup>, se distribuyó en botellas de PET y vidrio, se conservaron protegidas de la luz a 4°C durante 60 horas y se analizaron siguiendo el mismo procedimiento que se utilizó para analizar las muestras.

#### 9.4. Análisis cromatográfico.

##### 9.4.1. Condiciones cromatográficas.

Las condiciones cromatográficas que se utilizaron se indican en la Tabla XI, se utilizó un programa de temperatura simple y una columna ligeramente polar (polidimetisiloxano con 5% fenilo), que son condiciones típicas y de aplicación general. La detección se realizó en modo de barrido total del espectro (SCAN) de 50 a 550 m/z para la identificación de los analitos en las soluciones de estándares y en modo de monitoreo selectivo de iones (SIM) para la calibración y el análisis de las muestras. Los iones seleccionados para la detección de los compuestos analizados se muestran en la Tabla XII, que son los que se recomiendan en la literatura.

**Tabla XI.** Condiciones de análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM).

Parámetro	Valor
Cromatógrafo de gases:	
Columna	ZB-5MSi, 30 m x 0.25mm x 0.25 µm (Zebron)
Temperatura inicial	60°C, 1 min
Rampa	10°C/min
Temperatura final	300°C, 15 min
Gas transportador	He, 0.8 cm/seg, flujo constante
Inyector	280°C
	Modo "split-less", 0.5 min, razón de split 1:50
	Inyección automática 2 µL
Línea de transferencia	280°C
Espectrómetro de masas:	
Modo	Detección en modo barrido total del espectro (SCAN) de 50 a 550 – m/z. Monitoreo selectivo de iones (SIM) con los iones indicados en la Tabla XII.

**Tabla XII.** Tiempo de retención y los iones seleccionados para la operación en modo SIM en la detección y cuantificación de la calibración y las muestras.

Compuesto	Ión de integración	Ión calificador
Ibuprofeno	263	205
Naproxeno	287	344
Diclofenaco	352	409
DEET	119	190
Cafeína	194	109
Triclosán	345	347, 200, 202

#### 9.4.2. Identificación de PPCP's.

Con el fin de comprobar la identidad de los PPCP's estudiados, los estándares se analizaron en modo SCAN tanto en soluciones individuales como en mezcla. Para analizar los compuestos ácidos se formaron los derivados sililados como se describe más adelante. Las soluciones para inyección se prepararon de la siguiente manera:

Se transfirió a un vial 1 mL de la solución madre (100 µg mL<sup>-1</sup>) en forma individual o en mezcla, se evaporó a sequedad con flujo suave de nitrógeno, las soluciones fueron reconstituidas con 100 µL de AcOEt y 50 µL de MTBSTFA para la formación de derivados en el caso de los compuestos ácidos y solo con 150 µL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para los estándares de los compuestos neutros y básicos.

### 9.5. Formación de derivados.

Para realizar el análisis por CG/EM de los PPCP's de naturaleza ácida es conveniente formar los derivados sililados de los grupos que contienen protones ácidos de los compuestos de interés, con el fin de mejorar su comportamiento cromatográfico y obtener picos más finos y simétricos. Se seleccionó el MTBSTFA como reactivo derivatizante, que en la literatura se recomienda ampliamente por sus ventajas en la estabilidad de los derivados y la eficiencia de reacción. Para las condiciones de reacción se seleccionaron: 150  $\mu$ L de una mezcla AcOEt:MTBSTFA en proporción 2:1, temperatura de 60°C y tiempo de 60 min en baño ultrasónico, que son las utilizadas en el laboratorio para este tipo de reacciones excepto que se cambió a AcOEt (p. eb.77°C) como disolvente en lugar del CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (p. eb. 39.6°C) ya que por su menor volatilidad se puede controlar mejor el volumen de la solución final y tiene mejores propiedades para el efecto de enfoque por disolvente de la inyección "splitless".

### 9.6. Evaluación de la etapa de análisis químico.

Para evaluar las características de la etapa del análisis que comprende la formación de los derivados y el análisis por CG-EM se analizó una serie de soluciones estándar en un intervalo de concentraciones equivalente a una masa entre 1 y 100 pg de cada analito, preparadas por dilución a partir de una solución patrón con la mezcla de PPCP's, cada uno en concentración nominal de 100 ng L<sup>-1</sup>. La formación de derivados y el análisis por CG-EM en modo SIM se realizaron con las condiciones ya descritas. Los parámetros de calidad analítica se estimaron a partir del análisis de regresión lineal como se describe en la sección 9.8.1.

### 9.7. Extracción en Fase Sólida (EFS).

Para la implantación del procedimiento de EFS se seleccionaron dos procedimientos publicados (EPA-Método 1694 y Weigel et al., 2004) que utilizan como fase de extracción un polímero modificado con N-vinil-pirrolidona, que proporciona un balance entre las interacciones hidrofílicas e hidrofóbicas. Las diferencias principales entre ambos están en los valores de pH en los que se realiza la extracción y el disolvente de desplazamiento. Inicialmente los experimentos arrojaron resultados inconsistentes. Después de un estudio de los detalles del procedimiento concluimos que las inconsistencias eran resultado de la gran capacidad de absorción de agua del polímero (hasta 100% en peso), que no se puede eliminar con corriente de N<sub>2</sub> a través del cartucho. Esto tiene efectos negativos tanto en el desplazamiento de los analitos como en la formación de los derivados sililados. Se pudo establecer que lavar el cartucho con un volumen pequeño de un disolvente hidrofóbico (n-hexano) antes de eluir los analitos desplaza el agua absorbida y permite secar el cartucho apropiadamente para la elución de los compuestos de interés. Una vez resuelto este problema y para ajustar las condiciones experimentales se procedió a evaluar alternativas en el disolvente de desplazamiento, el volumen de desplazamiento y el pH de la muestra. Estos experimentos se realizaron procesando muestras de agua preparadas en el

laboratorio con los analitos de interés en concentración de  $10 \text{ ng L}^{-1}$  y realizando los análisis en modo SIM.

#### 9.7.1. Disolvente de desplazamiento.

Se realizó un experimento para seleccionar el disolvente de desplazamiento de entre dos alternativas: metanol y acetato de etilo. Cada experimento se realizó por duplicado con muestras de agua independientes preparadas en el laboratorio con una concentración de  $10 \text{ ng L}^{-1}$  de cada uno de los analitos ácidos. El procedimiento en detalle consistió en lo siguiente:

La muestra se acidificó a pH 2 con HCl 6N y se agregó 1 gramo de  $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . El cartucho se acondicionó con 10 mL de acetato de etilo, 10 mL de metanol y 10 mL de agua con pH de  $2 \pm 0.5$ . Se pasó un litro de muestra por el cartucho y se lavó con 10 mL de agua para eliminar el EDTA. El cartucho se secó con corriente de aire succionando con vacío durante 60 minutos y para desplazar el agua absorbida en la fase polimérica se lavo la columna con 10 mL de hexano. Los analitos fueron desplazados con 10 mL de acetato de etilo o metanol, según el caso. Al eluato se le añadió 1 gramo de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro para eliminar el agua residual, decantado a un vial limpio para separarlo del sólido y evaporado con corriente de nitrógeno hasta eliminar el disolvente. La formación de los derivados y el análisis por CG-EM se realizó con las condiciones ya descritas.

#### 9.7.2. Volumen de desplazamiento.

Se estudió el volumen necesario para recuperar cuantitativamente los analitos de interés mediante EFS. Las muestras fueron procesadas de acuerdo al procedimiento descrito en el inciso anterior, pero en esta ocasión se realizó el desplazamiento en dos etapas, cada una con un volumen de 10 mL de acetato de etilo, que fue el disolvente finalmente seleccionado. El estudio se hizo por triplicado. La formación de los derivados y el análisis por CG-EM se realizó con las condiciones ya indicadas.

#### 9.7.3. Efecto del pH.

Para evaluar el efecto del pH de la muestra en la extracción de los ácidos por EFS se procesaron muestras de agua preparadas en el laboratorio en tres valores de pH,  $2.0 \pm 0.5$ ,  $7.0 \pm 0.5$  y  $10.0 \pm 0.5$ . El pH de las muestras fue ajustado con HCl 6N y  $\text{NH}_4\text{OH}$ , según fue necesario. El estudio se hizo por duplicado. El procedimiento de extracción fue el ya descrito, excepto por el ajuste del pH en el agua de acondicionamiento y la muestra y el volumen de AcOEt utilizado para desplazar los analitos, que fue de 15 mL, el valor finalmente seleccionado del experimento anterior. La formación de los derivados y el análisis por CG-EM se realizó con las condiciones ya indicadas.

## 9.8. Procedimiento seleccionado para la EFS.

Finalmente, el procedimiento seleccionado para realizar el análisis de las muestras fue el que se describe a continuación y se esquematiza en el diagrama de la Figura 3.

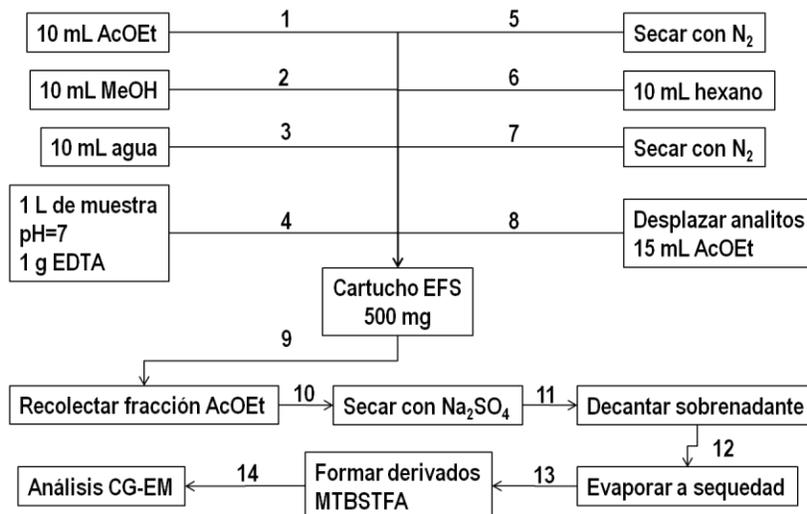
a) Acondicionamiento del cartucho de EFS. Una vez instalado el cartucho (500 mg) en el sistema de extracción se acondiciona lavando sucesivamente con: 10 mL de acetato de etilo, 10 mL de metanol y 10 mL de agua (pH=7), forzando el flujo con vacío de forma que se tenga un goteo continuo. Se suspende el flujo cuando el nivel de agua en el cartucho alcanza la parte superior del relleno, evitando así que se seque.

b) Preparación de la muestra. A 1 L de la muestra de agua libre de partículas en suspensión visibles se le añade 1 g de  $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y se ajusta el pH a un valor de 7 con HCl 6N y  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado, según sea necesario. Se pasa por el cartucho de EFS forzando el flujo con vacío para obtener un gasto de entre 5 y 10  $\text{mL min}^{-1}$ .

c) Lavado del cartucho. Una vez que concluyó la extracción de la muestra el cartucho de EFS se lava con 10 mL de agua grado 1 para eliminar el EDTA y otras sales, se seca con flujo de aire o nitrógeno y se lava con 10 mL de hexano para desplazar el agua absorbida y los compuestos más retenidos apolares. El exceso de hexano en el cartucho se elimina flujo de aire succionando con vacío.

d) Extracción de los analitos extraídos. Para desplazar los analitos de interés se lava el cartucho con 15 mL de AcOEt, que se reciben en un tubo de cultivo que contiene 1 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro para secar el extracto. Se agita en vortex 5 s. El sobrenadante se decanta a un vial limpio. El tubo que contiene el  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  se lava con un mL adicional de AcOEt y el sobrenadante se decanta en el vial que contiene el extracto.

e) Formación de los derivados. El extracto se seca con corriente de nitrógeno hasta eliminar el disolvente, al residuo se le añaden 100  $\mu\text{L}$  de AcOEt y 50  $\mu\text{L}$  de MTBSTFA, se cierra firmemente la tapa del vial y se somete a un baño ultrasónico a 60°C durante 60 min. Los productos de reacción se analizan por CG-EM en las condiciones indicadas en el apartado correspondiente.



**Figura 3.** Esquema del procedimiento para el análisis por EFS-CG-EM de muestras de agua.

#### 9.8.1. Evaluación del procedimiento de análisis.

Una vez establecido el protocolo completo de análisis se evaluaron sus características de calidad analítica. Se analizaron por duplicado muestras independientes de agua preparadas en el laboratorio con los compuestos de estudio en concentración: 1, 5, 10, 15 y 20 ng L<sup>-1</sup>. Para el triclosán el intervalo se extendió hasta 100 ng L<sup>-1</sup>. Con los resultados de la regresión lineal realizada con los resultados de este experimento se evaluaron los parámetros de calidad que se describen a continuación. Se aceptó como válida la suposición de que en el intervalo de estudio la función es homocedástica (varianza constante) y como en todos los casos se demostró que la ordenada al origen no era diferente de cero, el modelo de ajuste fue:  $C = b \times \text{Área}$ .

#### Estimación de los parámetros de calidad analítica a partir de la regresión lineal.

**Límite de decisión:** cantidad equivalente a una respuesta instrumental que tiene una probabilidad máxima de 0.05 de ser parte del ruido. Se calculó según la relación  $1.64 \times \text{Sey}$ , donde  $1.64$  es el valor de  $Z_{0.05}$  y  $\text{Sey}$  es el error estándar para el cálculo de  $C$ .

**Límite de detección:** cantidad que produce una respuesta instrumental que tiene una probabilidad máxima de 0.05 de ser menor que el límite de decisión. Se calculó según la relación  $3.28 \times \text{Sey}$ , donde  $3.28$  es el valor de  $2 \times Z_{0.05}$  y  $\text{Sey}$  es el error estándar para el cálculo de  $C$ .

**Límite de cuantificación:** cantidad que puede determinarse con una incertidumbre relativa de **K%** a un nivel de significancia  $\alpha$ . Se calculó según la relación  $(100/K\%)\times 1.64\times Sey$ , donde **1.64** es el valor de  $Z_{0.05}$  y **Sey** es el error estándar para el cálculo de **C**.

**Repetibilidad:** expresada como porcentaje del valor promedio de la variable dependiente, se calculó con la relación  $\frac{100\times 1.64\times Sey}{\bar{y}}$ , donde **Sey** es el error estándar para el cálculo de **C** y  $\bar{y}$  es el promedio de las concentraciones de las soluciones analizadas.

#### 9.9. Análisis de PPCP's por EFS-CG-EM en muestras de aguas naturales.

Debido a la gran cantidad de material suspendido fue necesario filtrar las muestras. Se filtraron al vacío con un filtro Whatman (GF/B) para eliminar las partículas mayores de 1.0  $\mu\text{m}$ . El agua fue transferida a un frasco de vidrio color ámbar de 1200 mL en donde se ajustó a pH 7. Se colocó en un agitador magnético a 1200 rpm y se agregó 1 gramo de  $\text{Na}_4\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . La muestra se dejó equilibrar durante un periodo de 1 a 2 horas. El análisis de las muestras se hizo de acuerdo al procedimiento seleccionado.

Se aceptó como una identificación positiva si se cumplían los siguientes criterios: una diferencia máxima de dos desviaciones estándar de los tiempos de retención obtenidos con las soluciones estándar entre el tiempo de retención promedio de los estándares de calibración y el del problema, la presencia de todos los iones objetivo y calificadores, y una concordancia mínima de 70% en la proporción de los iones calificadores con el ión objetivo.

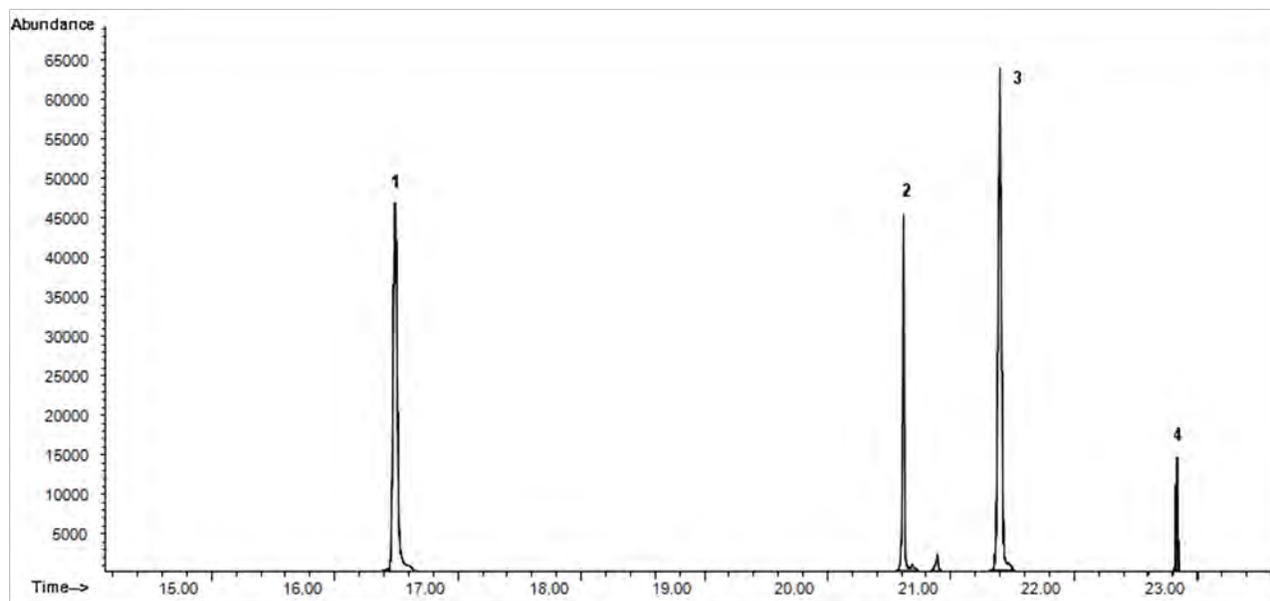
En los casos en los que la concentración calculada de un analito fue un valor extremo, se confirmó la identidad analizando la muestra en modo SCAN para obtener el espectro completo y compararlo con las bases de datos del equipo y el espectro generado en el laboratorio con el estándar correspondiente.

### 10. RESULTADOS.

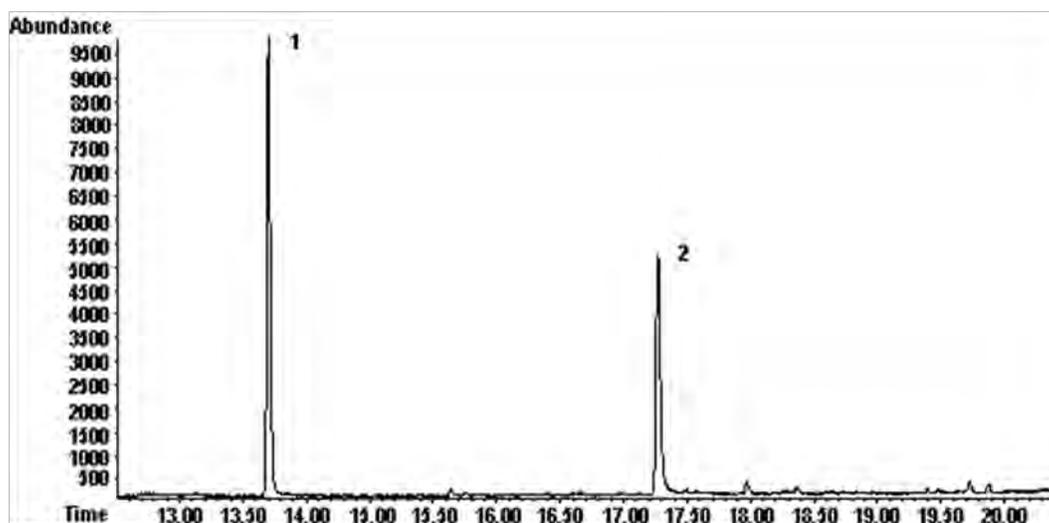
#### 10.1. Cromatogramas y espectros de masas de los compuestos analizados.

Las Figuras 4 y 5 muestran los cromatogramas en modo SCAN de los estándares. Se observa que todos los picos presentan buena resolución y eficiencia. Hay que llamar la atención sobre la significativamente más baja respuesta del diclofenaco. Se ha reportado que este compuesto, aún en su forma derivada, sufre descomposición en el inyector lo que puede provocar un artefacto en el

cromatograma y espectro de masas (Reddersen K. y Heberer Th., 2003) deformando el pico cromatográfico y reduciendo la sensibilidad de detección.



**Figura 4.** Cromatograma Iónico Total de la mezcla de estándares de PPCP's t-BDMS derivados. (1) t-BDMS ibuprofeno, (2) t-BDMS naproxeno, (3) t-BDMS triclosán, (4) t-BDMS diclofenaco.



**Figura 5.** Cromatograma Iónico Total de la mezcla de estándares de PPCP's neutros (1) DEET, (2) cafeína.

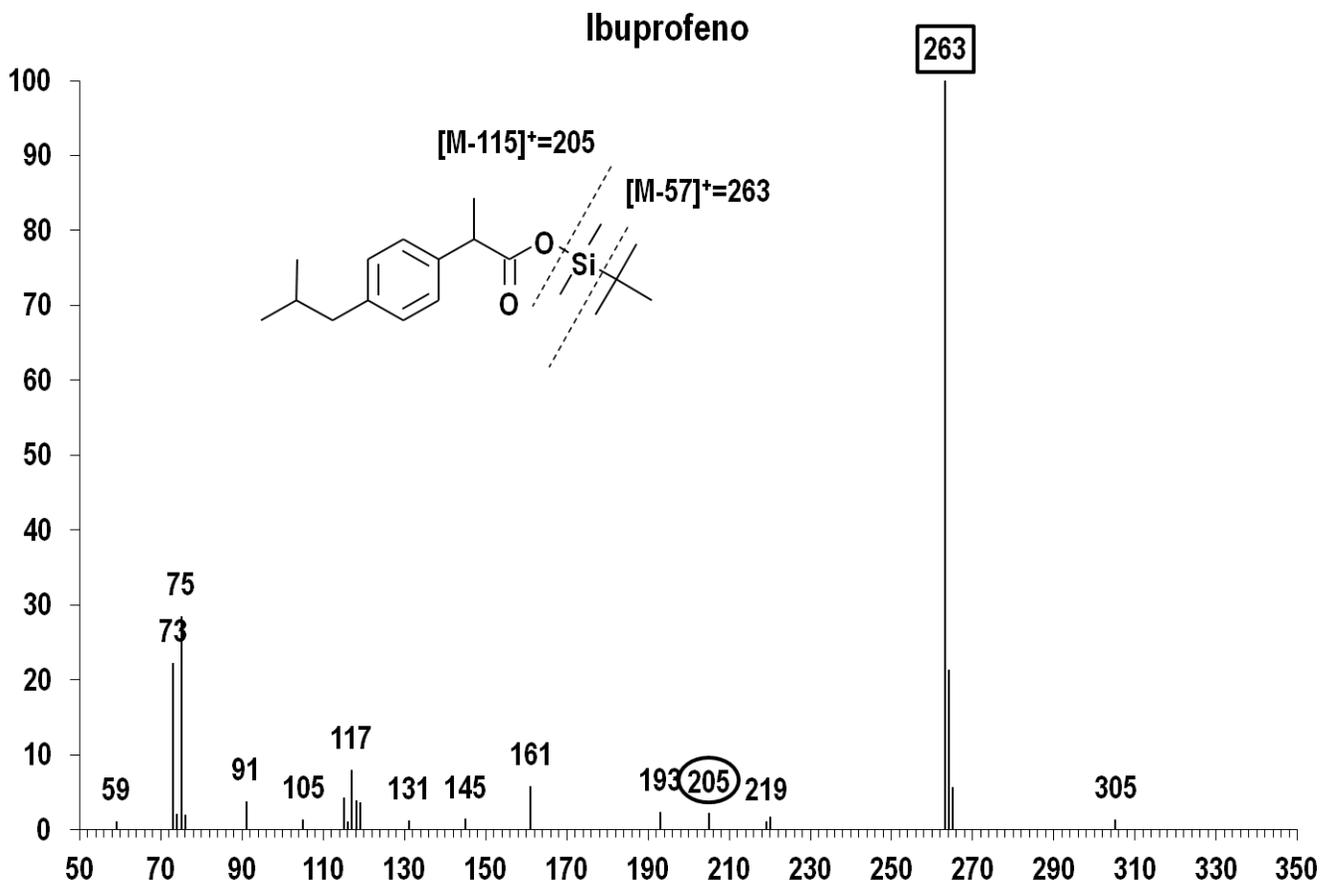
Los tiempos de retención promedio obtenidos de los análisis de las soluciones de calibración se muestran en la Tabla XIII. La repetibilidad de la retención es buena ya que desviación estándar en todos los casos fue menor de 0.04 min.

**Tabla XIII.** Tiempos de retención e iones seleccionados para la detección de los compuestos analizados.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Ión de integración	Ión calificador
Ibuprofeno	16.60	263	205
Naproxeno	21.05	287	344
Diclofenaco	23.05	352	409
DEET	13.60	119	190
Cafeína	17.05	194	109
Triclosán	21.50	345	347, 200, 202

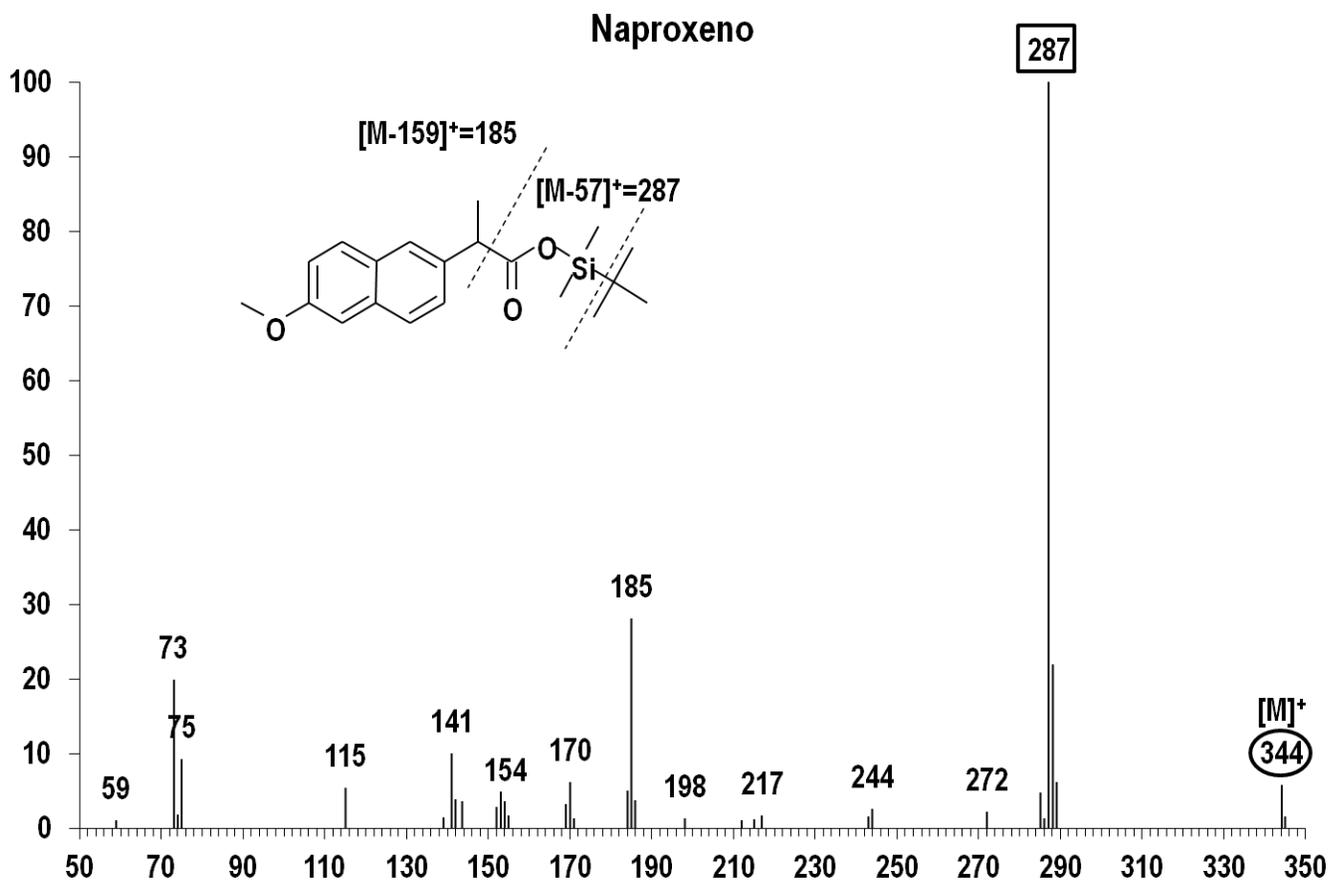
En las figuras 6 a 12 se muestran los espectros de masas obtenidos en las condiciones de operación seleccionadas. Se indican los iones utilizados para realizar el análisis y se presentan los esquemas de las fragmentaciones principales.

La Figura 6 muestra el espectro de masas del derivado del ibuprofeno. El espectro presenta un patrón de fragmentación sencillo teniendo un pico base muy abundante. El ion molecular en  $m/z$  320 es pequeño (<1%) con respecto al pico base del espectro en  $m/z$  263 que corresponde a la pérdida del tertbutilo ( $[M-57]^+$ ). El pico de  $m/z$  205 ( $[M-115]^+$ ) se debe a la pérdida adicional del grupo  $(CH_3)_2Si$ . El fragmento en  $m/z$  305 proviene de la pérdida de un metilo ( $m/z = [M-15]^+$ ), el de  $m/z$  75 a la formación del ión  $[(CH_3)_2SiOH]^+$ , mientras que el ión en  $m/z$  73 puede provenir de la ruptura del el enlace del anillo con el carbono  $\alpha$  al carbonilo que produce el fragmento  $[CH_3CHCOO+H]^+$ . Estos dos últimos iones son comunes a los derivados de los tres compuestos ácidos. Los iones seleccionados, 263 y 205, contienen la estructura completa del compuesto y por lo tanto son característicos, por eso, a pesar de su baja intensidad, el ión de  $m/z$  205 es un buen ión calificador.



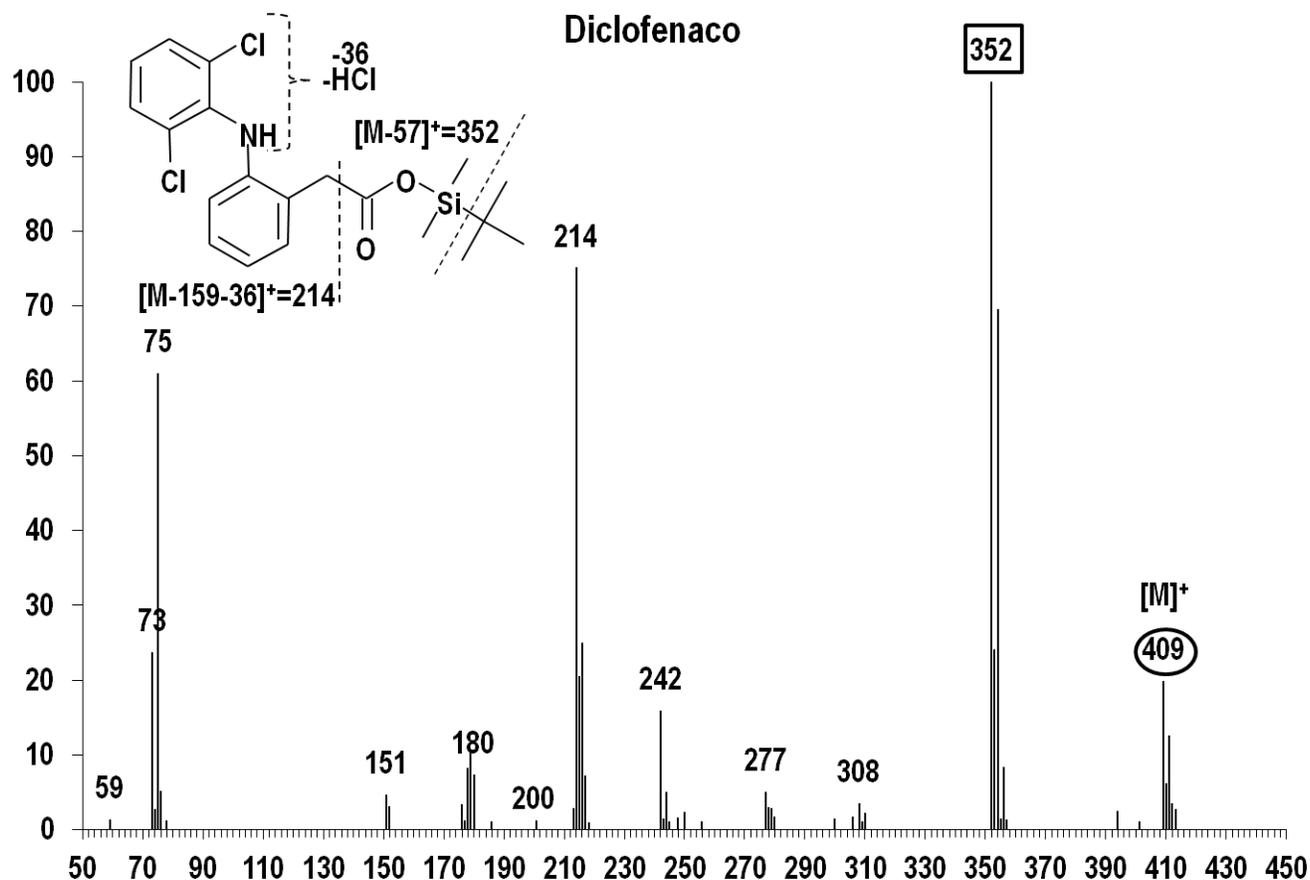
**Figura 6.** Espectro de masas del derivado tertbutildimetilsililéster del ibuprofeno. Sólo se muestran los picos con abundancia mayor de 1%. Se muestran las fragmentaciones que dan origen a los iones de interés para este trabajo. El ión señalado con un rectángulo corresponde al seleccionado como ión objetivo y el señalado con un óvalo al ión calificador.

El espectro de masas del derivado del naproxeno se muestra en la Figura 7. El espectro presenta el ion molecular en una relación  $m/z$  de 344, el pico base en  $m/z$  287 el cual corresponde la pérdida del grupo tertbutilo ( $m/z=[M-57]^+$ ). El fragmento en  $m/z$  185 corresponde a la pérdida de 159 uma del grupo  $(CH_3)_3C-Si(CH_3)_2-COO$ . Los otros iones fragmento, además de los ya mencionados en  $m/z$  73 y 75, corresponden a rupturas de los enlaces de los grupos unidos a los anillos. Los iones seleccionados para realizar el análisis conservan el doble anillo conjugado y por lo tanto son característicos del compuesto, el ión calificador es además el ión molecular.



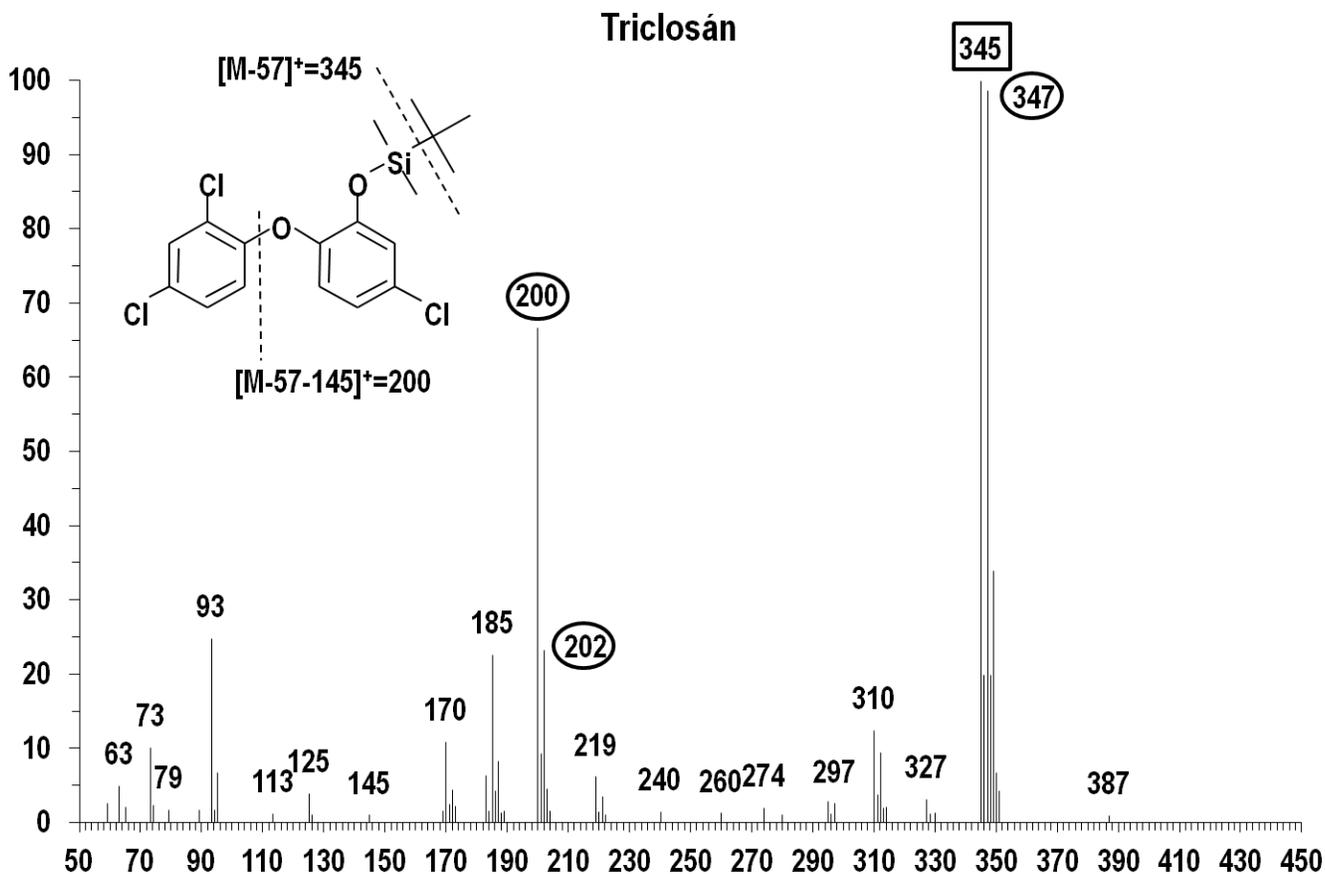
**Figura 7.** Espectro de masas del derivado tertbutildimetilsililéster del naproxeno. Sólo se muestran los picos con abundancia mayor de 1%. Se muestran las fragmentaciones que dan origen a los iones de interés para este trabajo. El ión señalado con un rectángulo corresponde al seleccionado como ión objetivo y el señalado con un óvalo al ión calificador.

En la Figura 8 se presenta el espectro de masas del diclofenaco derivado, con el pico base en  $m/z$  352 que corresponde a la pérdida del grupo t-butilo ( $m/z$   $[M-(57)]^+$ ), presenta el patrón isotópico característicos de dos cloros. El ion molecular a  $m/z$  409 presenta una abundancia pequeña con respecto al resto del espectro y se aprecia la isotopía de los dos átomos de cloro. El fragmento en  $m/z$  214 proviene de la ruptura del enlace del metileno  $\alpha$  con el carbonilo y la pérdida de ácido clorhídrico, corresponde a  $[M-159-36]^+ = [M-195]^+$ . En este caso los iones en  $m/z$  73 y 75 son muy abundantes. Los iones seleccionados para realizar el análisis contienen la estructura completa del compuesto y por lo tanto son característicos, el ión calificador es además el ión molecular.



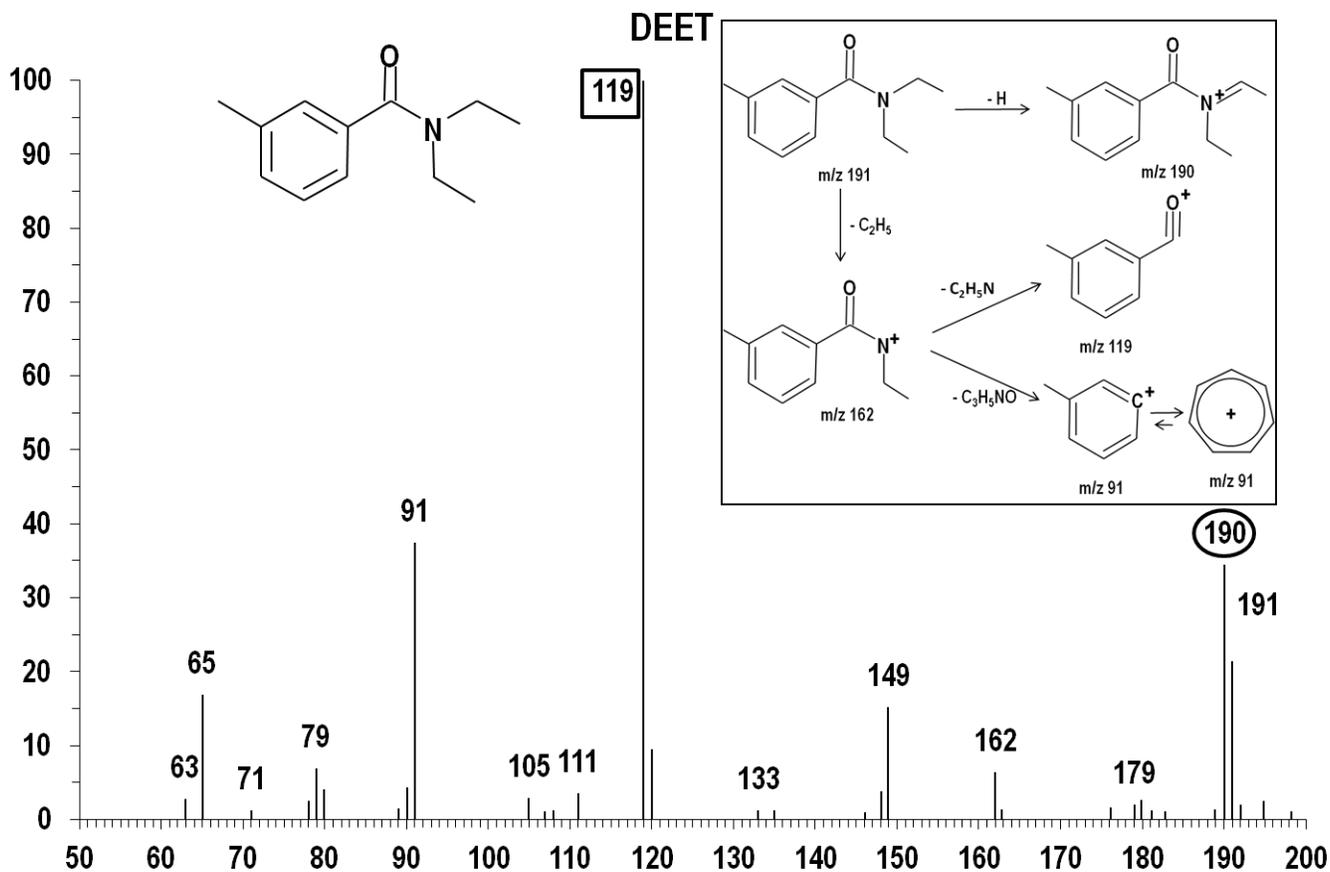
**Figura 8.** Espectro de masas del derivado tertbutildimetilsililéster del diclofenaco. Sólo se muestran los picos con abundancia mayor de 1%. Se muestran las fragmentaciones que dan origen a los iones de interés para este trabajo. El ión señalado con un rectángulo corresponde al seleccionado como ión objetivo y el señalado con un óvalo al ión calificador.

La Figura 9 muestra el espectro de masas del triclosán derivado. No presenta ión molecular apreciable ( $m/z=402$ ), el pico a  $m/z$  345 corresponde a la pérdida del terbutilo,  $[M-57]^+$ . Debido a que la molécula contiene tres cloros observamos el patrón isotópico característico. El pico en  $m/z$  200 ( $[M-202]^+$ ), que muestra la isotopía característica de un átomo de cloro, corresponde a la pérdida subsecuente del anillo con doble sustitución de cloro por la ruptura del enlace del éter ( $[M-57-145]^+$ ). El pico en  $m/z$  93 posiblemente corresponde a la formación del ión  $[(CH_3)_2SiCl]^+$ . Los iones fragmento seleccionados contienen la estructura completa del compuesto en los dos mayores y la del anillo doblemente sustituido con cloro en los dos menores, adicionalmente cada pareja corresponde a una misma estructura con una variedad isotópica diferente y por lo tanto son buenos indicadores cualitativos.



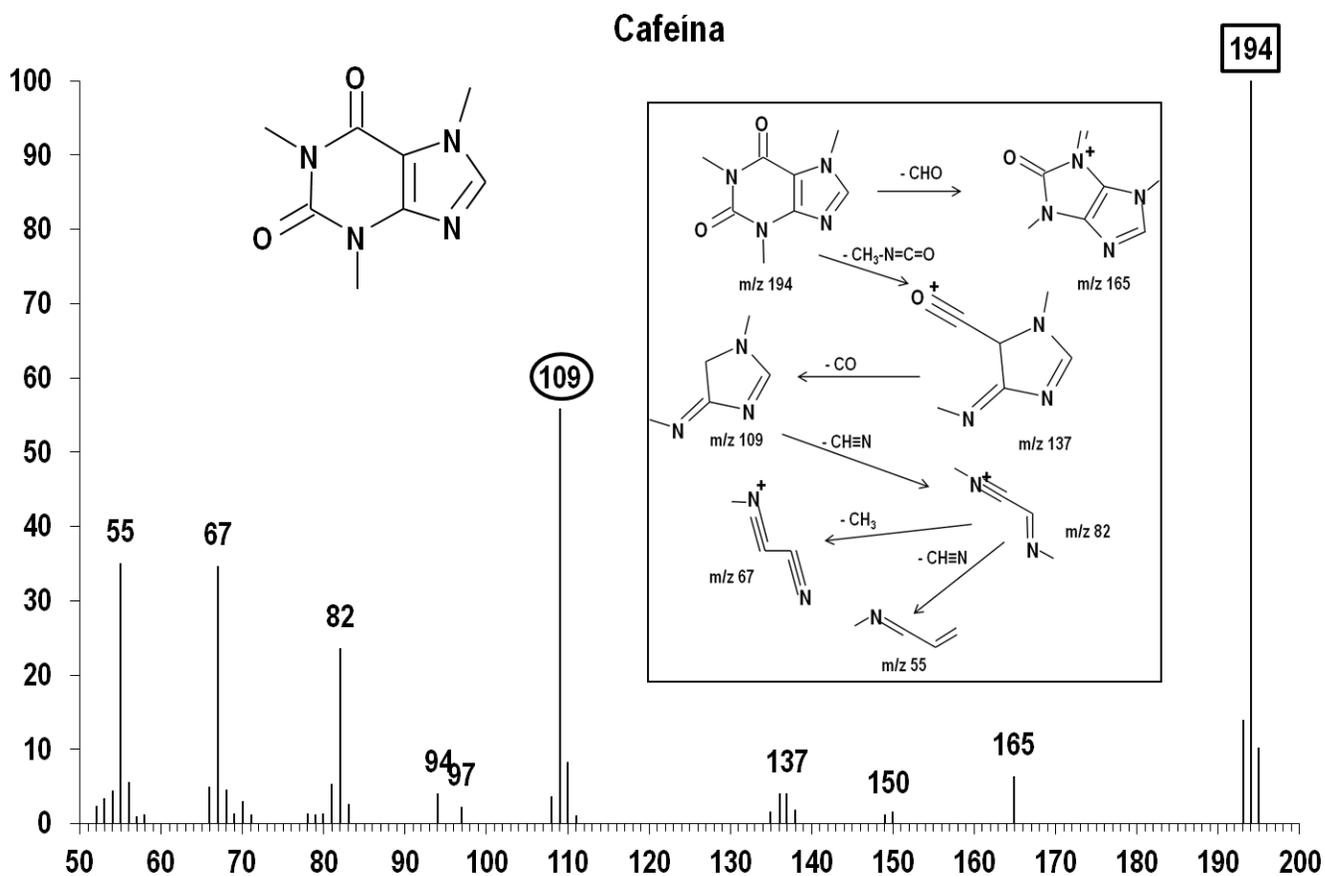
**Figura 9.** Espectro de masas del derivado tertbutildimetilsililéter del triclosán. Sólo se muestran los picos con abundancia mayor de 1%. Se muestran las fragmentaciones que dan origen a los iones de interés para este trabajo. El ión señalado con un rectángulo corresponde al seleccionado como ión objetivo y los señalados con óvalos a los iones calificadores.

En la Figura 10 se presenta el espectro de masas del DEET. Es un espectro simple, en la misma figura se muestran las rutas de fragmentación principales. El pico base en  $m/z$  119 que corresponde a la pérdida del grupo amino ( $m/z$   $[M-72]^+$ ) por ruptura del enlace amida. El ion molecular se observa en  $m/z$  191 y el 190 es el resultado de la pérdida de un protón de uno de los sustituyentes etilo del N ( $[M-1]^+$ ). El fragmento en  $m/z$  91 se debe a la ruptura en el enlace carbonilo que resulta en la formación del ión tropilio  $[C_7H_7]^+$ . En este caso, el ión calificador contiene la estructura del compuesto y es un buen indicador cualitativo. El ión objetivo es un fragmento que solo contiene al anillo disustituido, pero es mucho más intenso que los demás iones fragmento y por lo tanto el más útil para la cuantificación.



**Figura 10.** Espectro de masas del DEET. Sólo se muestran los picos con abundancia mayor de 1% y se indican las rutas de fraccionamiento que originan los iones principales. El ión señalado con un rectángulo corresponde al seleccionado como ión objetivo y el señalado con un óvalo al ión calificador.

El espectro de masas de la cafeína se muestra en la Figura 11, el cual muestra el ion molecular intenso en  $m/z\ 194$ , que es el pico base y por lo tanto un buen indicador cualitativo y cuantitativo. Por su estructura de dos anillos heterocíclicos condensados la formación de los iones fragmento no es por la pérdida simple de fragmentos neutros y en muchos de los casos implica apertura de los anillos y rearrreglos, que se muestran en la misma figura. El ión de  $m/z\ 109$  se seleccionó como ión calificador porque es el segundo más intenso y conserva la estructura del anillo del imidazol por lo que es un indicador cualitativo aceptable.



**Figura 11.** Espectro de masas de la cafeína. Sólo se muestran los picos con abundancia mayor de 1% y se indican las rutas de fraccionamiento que originan los iones principales.

## 10.2. Evaluación de la etapa de análisis químico.

Una vez seleccionadas las condiciones de derivación y del análisis por CG-EM se evaluó esta fase del procedimiento para verificar si permitía el análisis de trazas de los compuestos de interés en cantidades equivalentes a concentraciones en agua en el intervalo entre 0.075 y 7.5 ng L<sup>-1</sup>, que comprende los valores mínimos que con más frecuencia se han reportado para aguas subterráneas. Se inyectaron cantidades de los analitos en el intervalo 1 pg a 100 pg, que son equivalentes a las que se obtendrían de un litro de muestra de agua con esas concentraciones, de acuerdo al cálculo siguiente:

$$m = \frac{Cm \times Vm \times Vi}{Vf}$$

Donde *m* (ng) es la masa de analito inyectada al CG-EM, *Cm* (ng L<sup>-1</sup>) es la concentración del compuesto en la muestra de agua, *Vm* (1 L) es el volumen de muestra de agua procesada para el análisis, *Vf* (150

$\mu\text{L}$ ) es el volumen de muestra que resulta de la reacción de derivación y  $V_i$  ( $2 \mu\text{L}$ ) es el volumen inyectado al CG-EM.

En la Tabla XIV se muestran los parámetros de calidad del proceso reacción de derivación-análisis por CG-EM, utilizando el modo de monitoreo selectivo de iones (SIM). Los límites de detección son en promedio de  $5 \text{ pg}$ , para los compuestos ácidos, que equivale a una concentración en agua de  $0.38 \text{ ng L}^{-1}$ . Para el DEET y la cafeína son mayores, corresponden a concentraciones en la muestra de  $0.75$  y  $1.5 \text{ ng L}^{-1}$ . Esto demuestra que, salvo por las limitaciones que imponga el proceso de extracción y concentración de la muestra, es posible analizar estos compuestos en agua en concentraciones de  $1 \text{ ng L}^{-1}$ , y aún menores. La repetibilidad estimada con los datos de la regresión es buena para los compuestos ácidos y buena para los neutros, con un valor promedio para todos del orden del 12%.

**Tabla XIV.** Parámetros de calidad de la derivación y la respuesta instrumental de los analitos estudiados obtenidos de la regresión por cuadrados mínimo del ajuste de la función  $\text{Área} = K$  (masa inyectada). (IBU= Ibuprofeno, NAP= Naproxeno, DIC= Diclofenaco, DEET= N,N-dietil-3-metilbenzamida, CAF= Cafeína, TCS= Triclosán).

Compuesto	$\text{Ld}_{0.05} \text{ (pg)}^1$	$\text{LD}_{0.05} \text{ (pg)}^2$	$\text{LQ}_{10\%} \text{ (pg)}^3$	$\text{Rep (\%)}^4$	$r^2$	n	Intervalo <sup>5</sup> (pg)
IBU	2.4	4.9	24	6.3	0.999	4	5-80
NAP	3.4	6.8	34	8.8	0.999	4	5-80
DICL	2.0	3.9	20	5.0	0.9995	4	5-80
TCS	2.2	4.3	22	5.6	0.999	4	5-80
DEET	4.9	9.8	49	15.9	0.997	6	1-100
CAF	10.2	20.3	102	32.8	0.986	6	1-100

<sup>1</sup> Límite de decisión: cantidad equivalente a una respuesta instrumental que tiene una probabilidad de 0.05 de ser parte del ruido.

<sup>2</sup> Límite de detección: cantidad que produce una respuesta instrumental que tiene una probabilidad menor a 0.05 de ser menor que el límite de decisión.

<sup>3</sup> Límite de cuantificación: cantidad que puede determinarse con una precisión del 10%.

<sup>4</sup> Repetibilidad: expresada como porcentaje del valor promedio de la variable dependiente, se calculó con la relación  $\frac{100 \times 1.64 \times \text{Sey}}{\bar{y}}$ , donde **Sey** es el error estándar para el cálculo de **C** y  $\bar{y}$  es el promedio de las concentraciones de las soluciones analizadas.

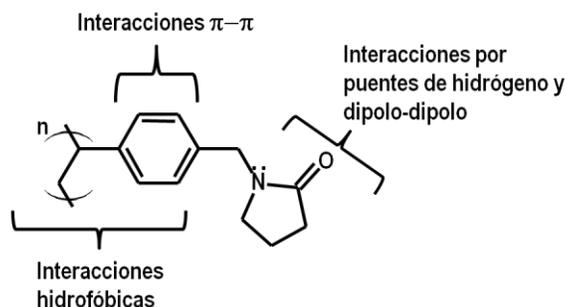
<sup>5</sup> Intervalo de la variable independiente utilizado para el análisis de regresión.

### 10.3. Extracción en Fase Sólida (EFS).

#### 10.3.1. Optimización de los parámetros para la EFS.

La mayoría de los trabajos publicados para el análisis de estas sustancias en aguas naturales utilizan la EFS con un absorbente polimérico funcionalizado con vinilpirrolidona que le da características tanto hidrofóbicas como hidrofílicas (Figura 12). Existen al menos dos opciones comerciales equivalentes, Oasis HLB de Waters y Strata X de Phenomenex, la primera es la más utilizada. También se reportan condiciones diversas de los parámetros experimentales más importantes: el disolvente de desplazamiento (MeOH o AcOEt) y el ajuste del pH de la muestra para realizar la extracción. Por eso, en este trabajo se evaluaron esas opciones, además del volumen necesario del disolvente para

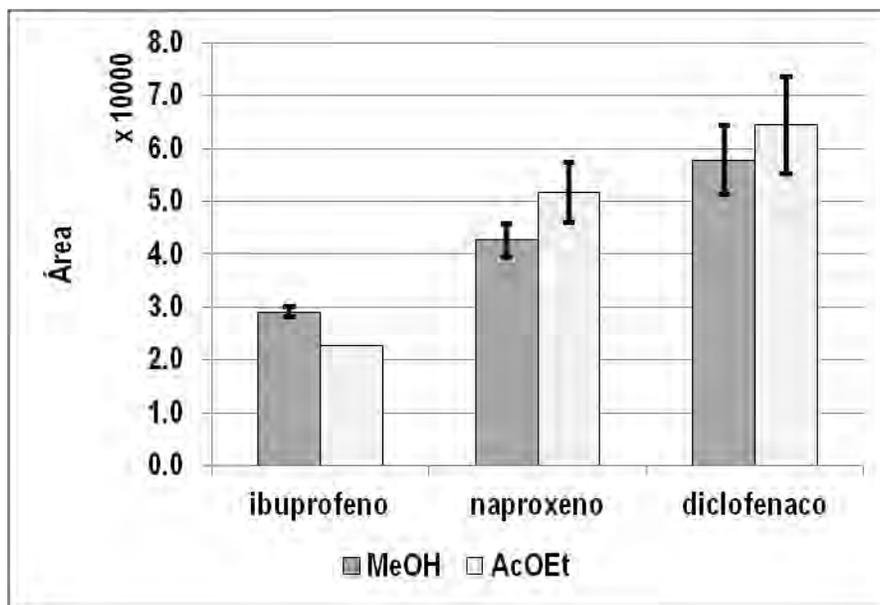
desplazar cuantitativamente los analitos. A continuación se presentan los resultados de estas evaluaciones.



**Figura 12.** Polímero funcionalizado con vinilpirrolidona mostrando la interacciones moleculares responsables de la retención de los analitos.

#### 10.3.1.1. Disolvente de desplazamiento.

En la Figura 13 se presentan los resultados del estudio de recuperación de los compuestos ácidos al desplazarlos del absorbente con 10 mL de MeOH o con 10 mL de AcOEt. La concentración de cada uno de los analitos fue de  $10 \text{ ng L}^{-1}$ , el volumen de muestra 1 L, el de disolvente 10 mL y el pH de la muestra se ajustó a 2. El procedimiento en detalle se describe en la sección 9.7.1. El experimento se hizo por duplicado y los resultados corresponden al valor promedio y las barras de error a la diferencia entre los dos valores.

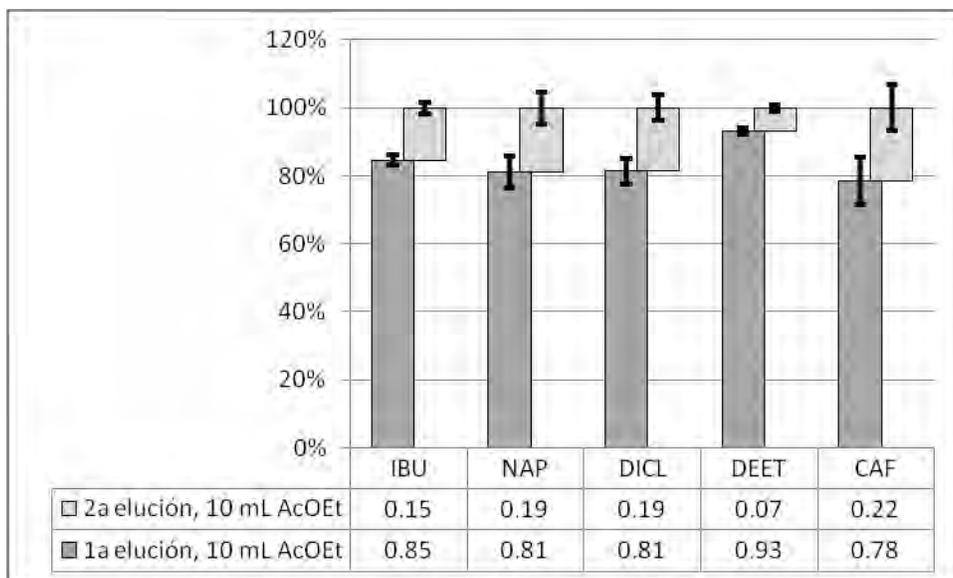


**Figura 13.** Efecto del disolvente utilizado para el desplazamiento de los compuestos ácidos retenidos en el cartucho de extracción mediante EFS en una muestra de agua preparada en el laboratorio con los analitos en concentración de  $10 \text{ ng L}^{-1}$ . Valores promedio de duplicados, las barras de error indican la diferencia entre los dos valores.

Los resultados muestran que no hay diferencias significativas en la recuperación y la repetibilidad, aunque sugieren que el AcOEt ofrece un mejor recobro. El AcOEt ofrece la ventaja de una menor miscibilidad con agua, lo que permite desplazar el agua absorbida antes que los analitos y un mejor secado del extracto, lo que es importante para un buen rendimiento de la reacción de derivación. Posiblemente esta es la razón por la que se observa una tendencia a un mayor recobro. Por esta razón ese fue el disolvente elegido.

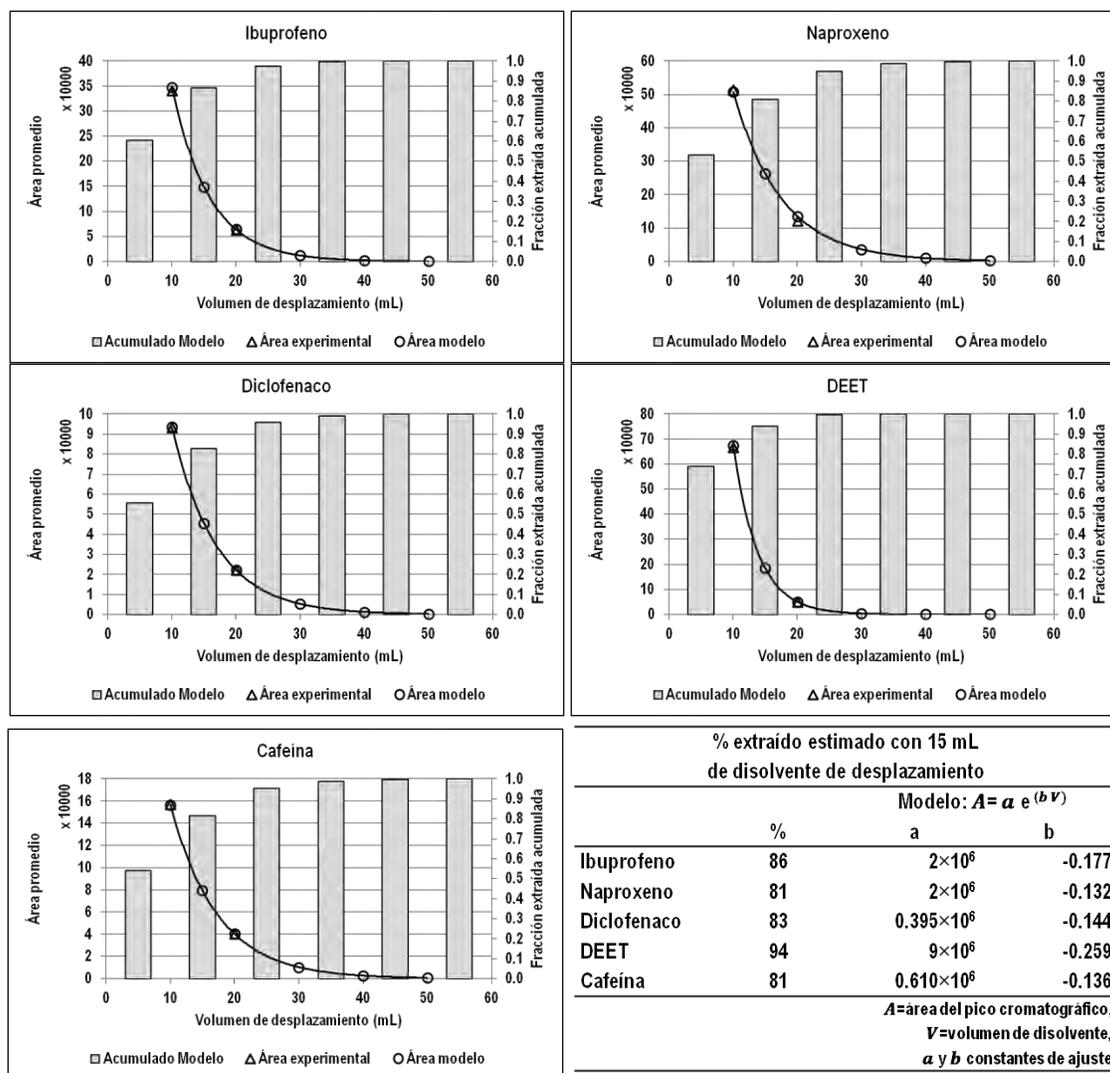
#### 10.3.1.2. Volumen de desplazamiento.

Una vez seleccionado el disolvente de desplazamiento se estudió el volumen necesario para recuperar cuantitativamente los compuestos (ácidos y neutros) de interés mediante EFS. El procedimiento en detalle se señala en la sección 9.7.2. Los resultados y otras condiciones experimentales se presentan en la Figura 14. El experimento se realizó por triplicado.



**Figura 14.** Efecto del volumen de disolvente de desplazamiento en el rendimiento de la EFS de los analitos de interés. Datos expresados como fracción del total extraído. Las barras de error corresponden a la desviación estándar (n=3).

A partir de estos resultados es posible estimar la relación fracción extraída vs volumen de desplazamiento con un modelo simple de cromatografía por desplazamiento ajustando una función exponencial del tipo  $A = a e^{(bV)}$ , donde  $A$ =área del pico cromatográfico,  $V$ =volumen de disolvente,  $a$  y  $b$  constantes de ajuste. La constante  $a$  es un factor de escala relacionado la variable de respuesta y  $b$  con el producto  $D V_0/m$ , donde  $D$  es el coeficiente de distribución,  $V_0$  es el volumen vacío del cartucho y  $m$  la masa de absorbente. En la Figura 15 se presentan en forma gráfica los resultados de la aplicación del modelo.



**Figura 15.** Resultados de del ajuste de un modelo exponencial de extracciones sucesivas para el rendimiento de extracción en función del volumen de disolvente de desplazamiento. Los círculos corresponden a los valores estimados y los triángulos a los datos experimentales de área. Las barras muestran la fracción total extraída estimada.

Los resultados indican que se necesita desplazar con al menos 30 mL de disolvente para obtener recuperaciones cercanas al 100%. Sin embargo, se decidió utilizar solo 15 mL por razones de índole práctica relacionadas con las dimensiones del equipo de extracción, el consumo de disolventes y el tiempo de procesamiento de las muestras. En estas condiciones la fracción recuperada es superior al 80%, lo que es aceptable en tanto se obtengan límites de detección apropiados.

### 10.3.1.3. Efecto del pH.

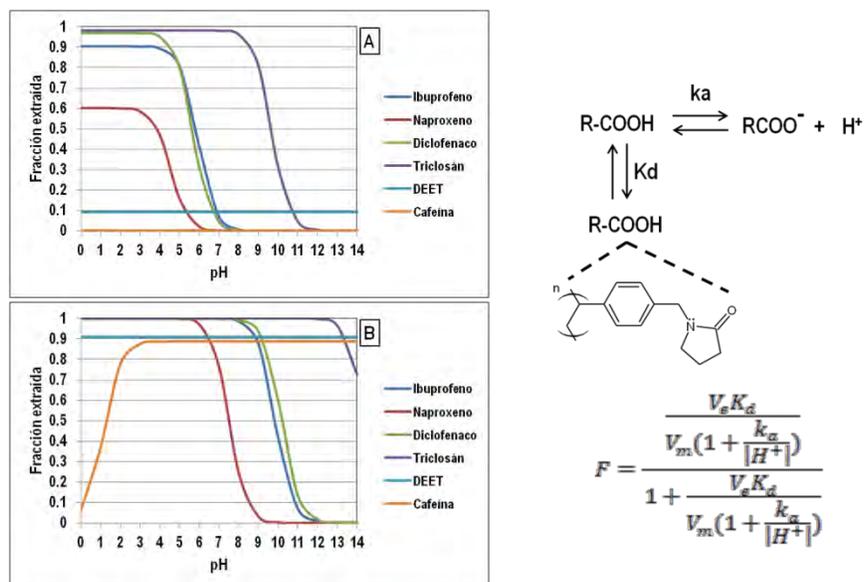
Aunque en general para el análisis de PPCPs en agua se realizan dos extracciones independientes con valores de pH diferentes, pH 2 para extraer los compuestos ácidos y pH 9 los básicos y neutros; existen reportes que indican que con los polímeros funcionalizados es posible extraer simultáneamente los tres tipos de compuestos a pH neutro (Weigel et al., 2004; Siemens et al., 2008; Joon-Woo et al., 2009).

Es simple demostrar que el requisito de ajustar el pH en un valor de 2 solo es necesario cuando la fase sólida es hidrofóbica (apolar) y la constante de distribución octanol/agua ( $K_{ow}$ ) del analito es menor que la del triclosan ( $\log K_{ow}=4.76$ ). Con los polímeros funcionalizados con grupos polares el incremento en la retención de compuestos como los analizados en este trabajo reduce de forma importante la dependencia del pH de la eficiencia de retención. En la Figura 16 se presentan los gráficos que ilustran esto, considerando por un lado solo interacciones hidrofóbicas y por otro tomando en cuenta las interacciones específicas con los grupos funcionales. Para los cálculos se consideraron los valores publicados de  $pka$  y de  $\log K_{ow}$ , para el caso de interacciones hidrofóbicas (fuerzas de dispersión) y un incremento por un factor de 2 en el logaritmo de la constante de distribución como efecto de la interacciones fuertes con los grupos funcionales, excepto para la cafeína que se consideró un valor similar al de el DEET. Considerando que la diferencia entre la energía de la fuerzas de dispersión y las interacciones polares es generalmente de más de un orden de magnitud, la suposición anterior es conservadora. El modelo teórico es:

$$F = \frac{\frac{V_e K_d}{V_m (1 + \frac{k_a}{[H^+]})}}{1 + \frac{V_e K_d}{V_m (1 + \frac{k_a}{[H^+]})}}$$

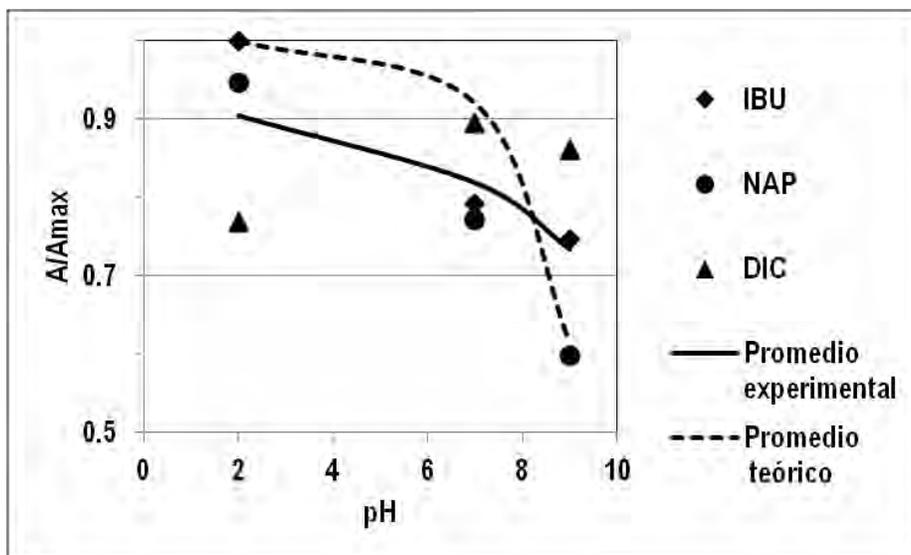
Donde  $F$  es la fracción extraída,  $V_e$  y  $V_m$  son respectivamente los volúmenes de la fase estacionaria (1 mL) y de la muestra ( $10^3$  mL),  $K_d$  es la constante de distribución,  $k_a$  es la constante de disociación del ácido.

Los resultados del modelo muestran claramente las ventajas de usar polimeros funcionalizados para la extracción de estos compuestos. Particularmente para el DEET y la cafeína que no son extraídos por fases apolares.



**Figura 16.** Estimación teórica del efecto del pH en el rendimiento de extracción, expresado como fracción extraída ( $F$ ). Considerando solo interacciones apolares ( $\log K_d = \log K_{ow}$ ), gráfico **A** y tomando en cuenta las interacciones polares ( $\log K_d = 2 \log K_{ow}$  excepto para la cafeína que se consideró un  $\log K_d$  similar al del DEET). Los demás parámetros se describen en el texto.

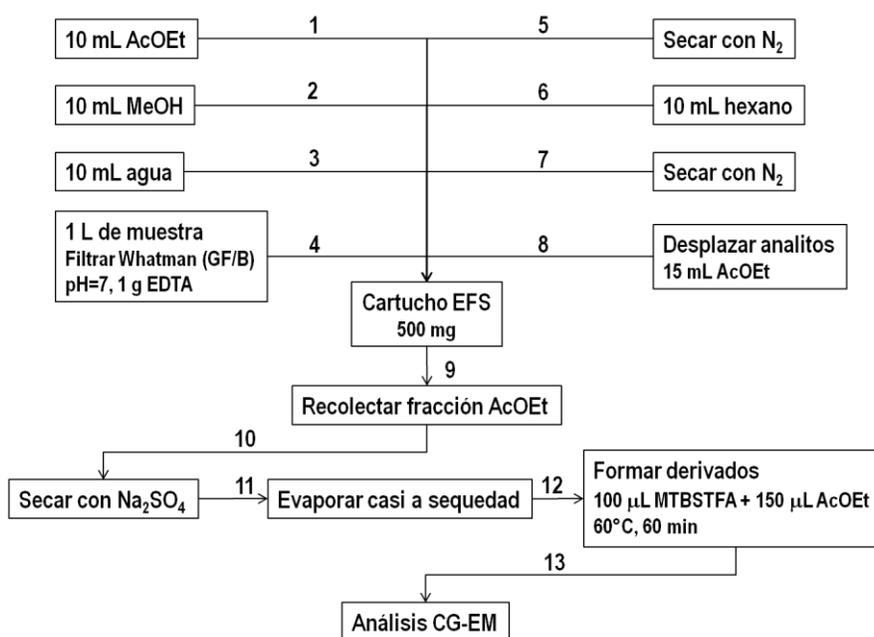
Considerando lo anterior, se estudió el efecto sobre la extracción de los compuestos ácidos de los tres valores recomendados de pH (2, 7 y 9). En la Figura 16 se muestran los resultados. Y con fines de comparación se presentan los valores promedio experimentales y teóricos. A pesar de que el modelo considera condiciones de equilibrio y no incluye otros aspectos, como los cinéticos o el desplazamiento con el disolvente para recuperar los analitos, es clara la similitud entre ambas curvas. Los valores se expresan normalizados con respecto al área máxima de cada serie. Se concluye que un pH de 7 es aceptable y un buen compromiso para la extracción.



**Figura 16.** Efecto del pH en muestras de agua preparadas en el laboratorio con los estándares en solución en concentración de  $10 \text{ ng L}^{-1}$ , mediante EFS.

#### 10.4. Procedimiento seleccionado para el análisis de las muestras de agua.

A partir de los resultados descritos se decidió seleccionar como procedimiento para este trabajo el que se describe en la sección 9.8 y que esencialmente consiste en el que se muestra en el diagrama de la Figura 17.



**Figura 17.** Esquema del procedimiento de análisis de las muestras de agua.

El análisis cromatográfico se realizó de acuerdo a las condiciones cromatográficas descritas en la Tabla XI. La detección se realizó primero en modo SCAN, barrido total de iones, para la identificación de los analitos, posteriormente se realizó la cuantificación en modo SIM para aumentar la sensibilidad.

#### 10.4.1. Evaluación del procedimiento de análisis.

En la Tabla XV se muestran los parámetros de calidad del proceso completo de análisis EFS-derivación-CG-EM (SIM). Se estimaron a partir de la regresión por cuadrados mínimos del ajuste de la función  $C(\text{ng L}^{-1}) = b \text{ Área}$ . Primero se verificó que en todos los casos no se rechaza la hipótesis de ordenada nula. El cálculo para la estimación de los parámetros se detalla en la sección 9.8.1.

Los límites de decisión y de detección en promedio son respectivamente de 4 y 16  $\text{ng L}^{-1}$ , que son adecuados para los fines de este estudio. Al comparar estos valores con los obtenidos al evaluar la fase de análisis químico (derivación-CG-EM) se comprueba que los límites a la detección los impone el proceso de extracción. La repetibilidad estimada con los datos de la regresión es aceptable, con un valor promedio orden del 25%, por lo que el aporte de la fase de extracción es similar al 12% obtenido solo en la etapa de análisis químico. Se comprueba así que el procedimiento es útil para el análisis de concentraciones en valores bajos de los  $\text{ng L}^{-1}$ .

**Tabla XV.** Parámetros de calidad del análisis por EFS-CG-EM de los analitos estudiados obtenidos de la regresión por cuadrados mínimos del ajuste de la función  $C(\text{ng L}^{-1}) = b \text{ Área}$ . (IBU=Ibuprofeno, NAP=Naproxeno, DICL=Diclofenaco, TCS=Triclosán, CAF=Cafeína, DEET=N,N-dietil-3-metil-toluamida).

	$Ld_{0.05}$ ( $\text{ng L}^{-1}$ ) <sup>1</sup>	$LD_{0.05}$ ( $\text{ng L}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	$LQ_{10\%}$ ( $\text{ng L}^{-1}$ ) <sup>3</sup>	Rep (%) <sup>4</sup>	$r^2$	n	Intervalo <sup>5</sup> ( $\text{ng L}^{-1}$ )
<b>IBU</b>	1	3	13	11	0.997	4	1 - 100
<b>NAP</b>	2	3	17	14	0.995	4	1 - 100
<b>DICL</b>	6	13	64	51	0.939	4	1 - 100
<b>TCS</b>	7	14	69	20	0.995	4	1 - 100
<b>CAF</b>	3	6	30	24	0.987	4	1 - 100
<b>DEET</b>	4	9	44	35	0.972	4	1 - 100

<sup>1</sup> Límite de decisión: cantidad equivalente a una respuesta instrumental que tiene una probabilidad de 0.05 de ser parte del ruido.

<sup>2</sup> Límite de detección: cantidad que produce una respuesta instrumental que tiene una probabilidad menor a 0.05 de ser menor que el límite de decisión.

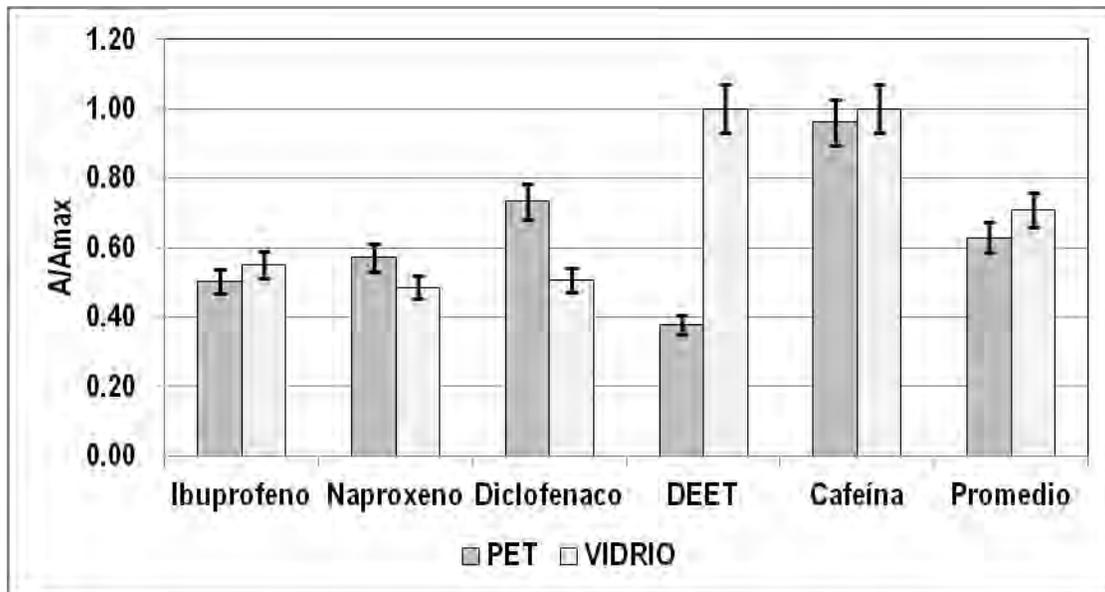
<sup>3</sup> Límite de cuantificación: cantidad que puede determinarse con una precisión del 10%.

<sup>4</sup> Repetibilidad: promedio de los residuales de la regresión expresado como porcentaje del valor promedio de la variable dependiente (y):  $\frac{100 \times \sqrt{sse}}{\bar{y} \times n}$  donde *sse* es la suma de los cuadrados de los residuales y *n* el número de datos.

<sup>5</sup> Intervalo de la variable independiente utilizado para el análisis de regresión.

### 10.5. Evaluación del material de las botellas para recolectar las muestras.

Como se indicó, las muestras de agua se recolectaron en botellas de PET, previamente se evaluó el efecto del material del recipiente sobre los resultados del análisis. Los resultados se muestran en la Figura 18. Para el DEET el vidrio es mejor material, pero lo contrario se observa para diclofenaco. En promedio, el PET y el vidrio ofrecen resultados similares, así y por razones prácticas del trabajo de campo se decidió utilizar las botellas de PET en lugar de vidrio.



**Figura 18.** Comparación del efecto del material de las botellas de muestreo sobre los resultados. Las barras de error corresponden a 2 desviaciones estándar promedio del procedimiento de análisis.

### 10.6. Parámetros fisicoquímicos de los lugares de muestreo.

En los lugares de muestreo se midieron los parámetros fisicoquímicos temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, potencial  $E_h$  y pH. Los resultados se ilustran en la Figura 19, se observa con claridad que estaciones cercanas llegan a tener valores muy diferentes. En la Tabla XVI se muestra la matriz de correlación entre las variables. Solo hay correlación significativa entre el potencial redox con la salinidad y el pH. Se hizo un análisis de componentes principales basado en las covarianzas, utilizando valores estandarizados de los parámetros fisicoquímicos  $[(x_i - \bar{x})/s]$  para eliminar las diferencias por dimensión entre las variables. Los resultados se muestran en la Figura 20. Se necesitan tres factores para explicar cerca del 80% de la varianza, no se aprecian grupos muy claramente diferenciados. Se realizó también una clasificación de similitud por grupos con un análisis de conglomerados (“cluster analysis”) basado en los componentes principales, la clasificación que resultó del análisis de conglomerados se señala en la proyección de F1 vs F2 en la Figura 21. Los puntos de muestreo

incluidos en cada grupo se describen en la Figura 22 donde además se muestra su localización. Aunque si se aprecia un predominio de estaciones de cada grupo en particular en relación a su localización, hay estaciones cercanas que pertenecen a grupos diferentes. Esto puede ser resultado, por un lado, de la compleja hidrodinámica de acuífero, particularmente en distancias cortas y, por otra parte, de que en la capa superficial donde se recolectaron las muestras predominan los efectos puntuales locales sobre los efectos de mezclado por el flujo de agua.

**Tabla XVI.** Matriz de correlaciones entre los parámetros fisicoquímicos.

	Correlaciones ( r )				
	T(°C)	O.D. (mg/L)	P redox	S (‰)	pH
T(°C)	1.00				
O.D. (mg/L)	0.30	1.00			
ORP	-0.24	-0.03	1.00		
S (‰)	0.08	-0.18	<b>-0.37<sup>a</sup></b>	1.00	
pH	0.24	0.30	<b>-0.34<sup>b</sup></b>	0.04	1.00

<sup>a</sup> Significativo (p=0.05), <sup>b</sup> Significativo (p=0.10)

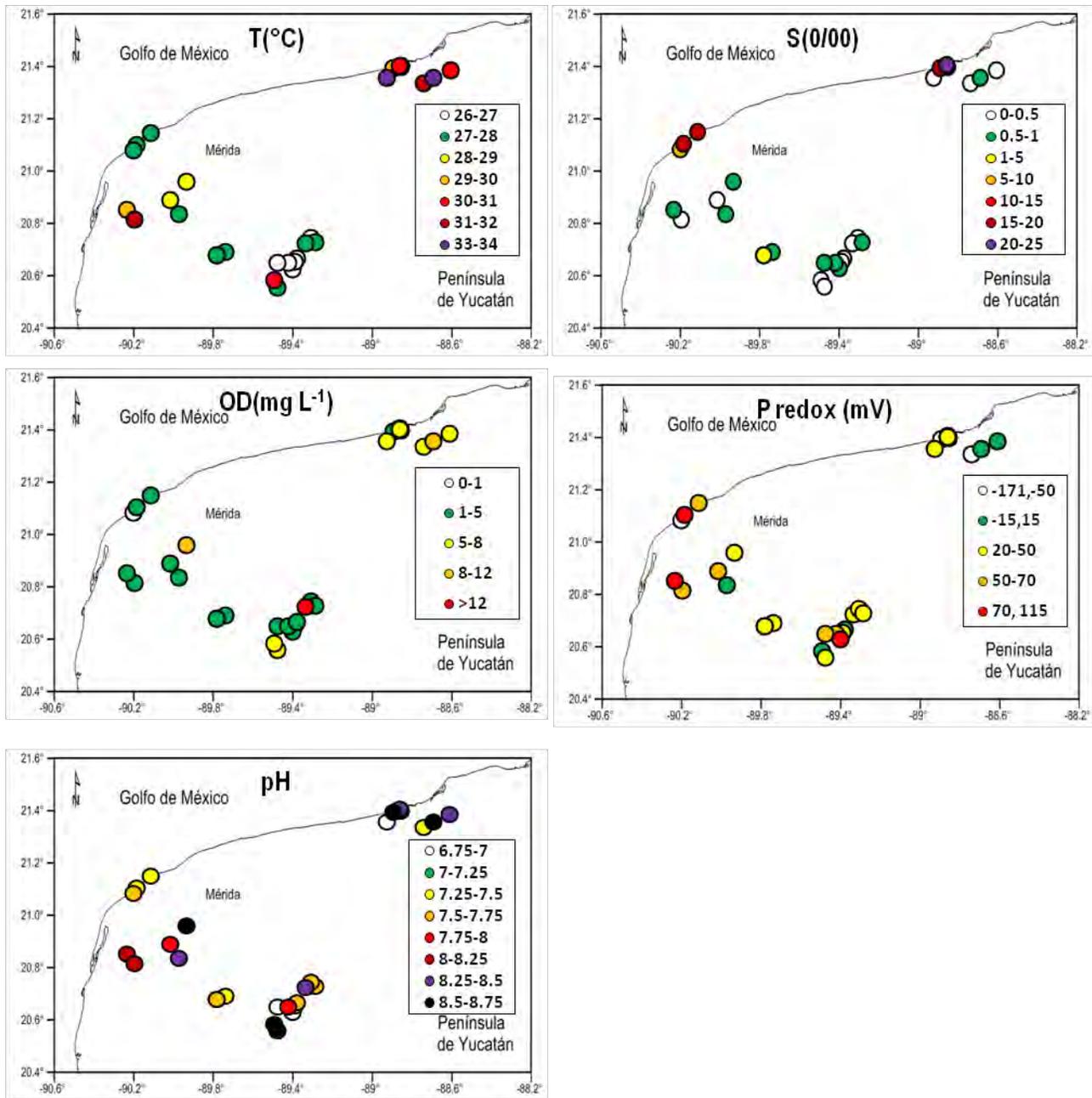
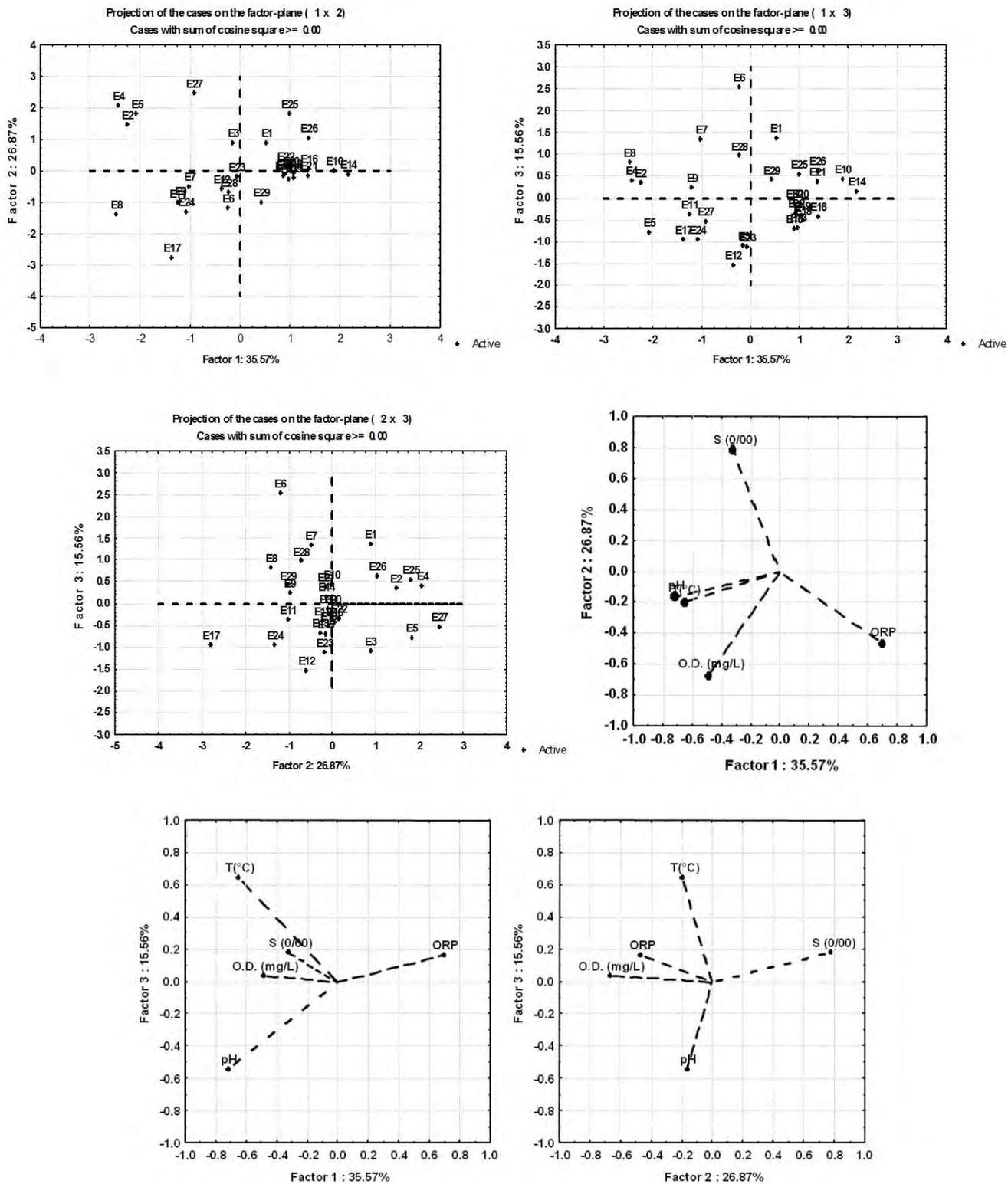
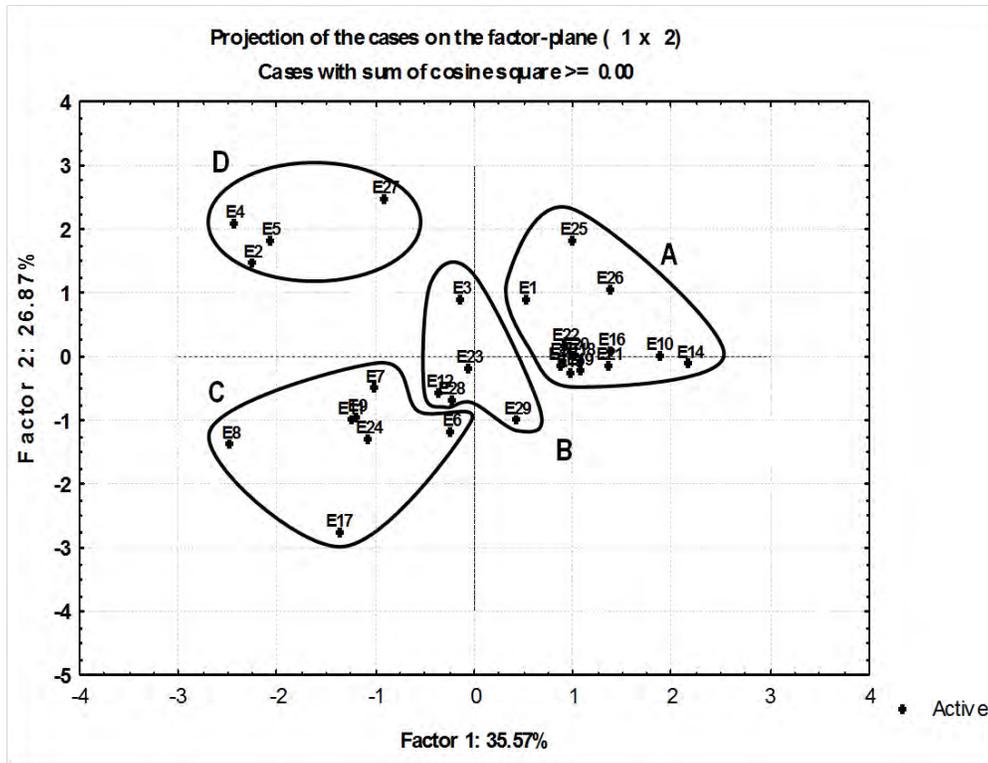


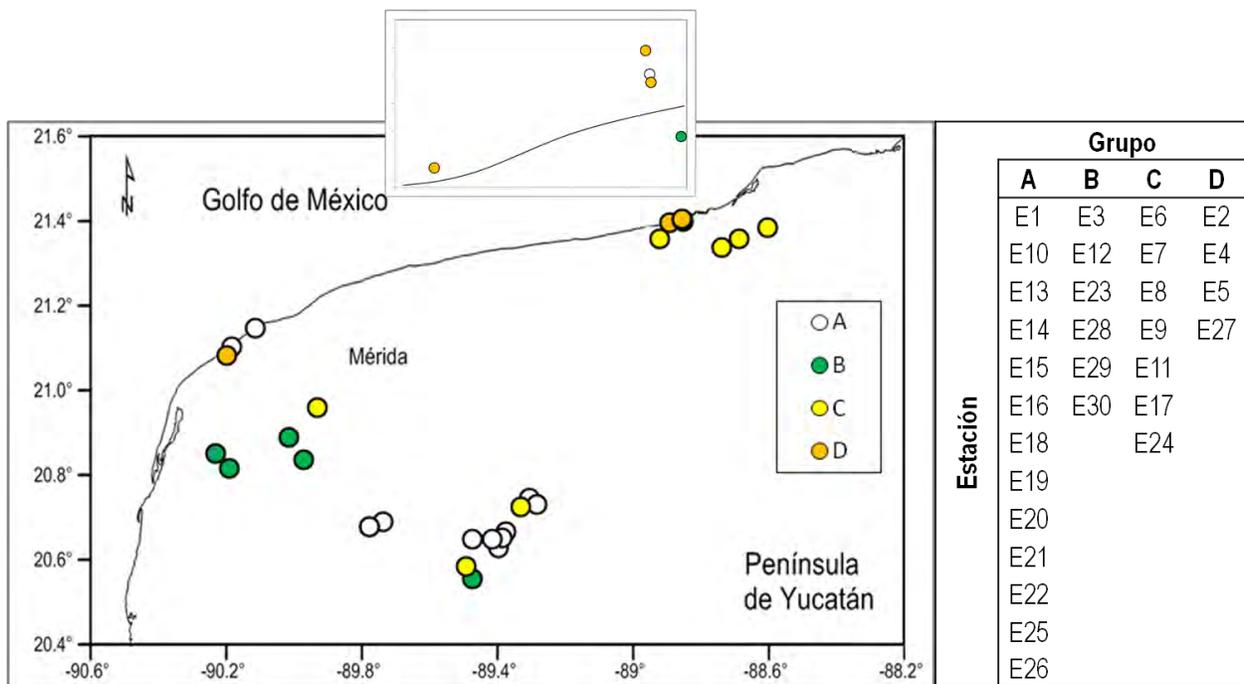
Figura 19. Valores de los parámetros fisicoquímicos en los puntos de muestreo.



**Figura 20.** Proyecciones de los casos y de las variables con los 3 factores que acumulan un 78% de la varianza.



**Figura 21.** Proyección de los casos en el plano F1 vs F2 señalando los grupos obtenidos del análisis de conglomerados.



**Figura 22.** Clasificación de las estaciones de muestreo en los grupos obtenidos del análisis de conglomerados.

## 10.7. Análisis de los PPCPs en las muestras.

Con el procedimiento descrito anteriormente se analizaron las muestras de agua recolectadas en los sitios de muestreo, la calibración para el análisis cuantitativo se hizo con los resultados de la evaluación del procedimiento (inciso 10.4.1.). La identificación positiva de la presencia de los analitos se hizo con un criterio basado en la retención cromatográfica y la fragmentación en el espectrómetro de masas, como se explica a continuación. Adicionalmente, el valor de concentración calculado debía ser mayor que el límite de decisión.

Criterio de retención:

$$ABS(tr_x - \bar{tr}) < 2 s_{tr}$$

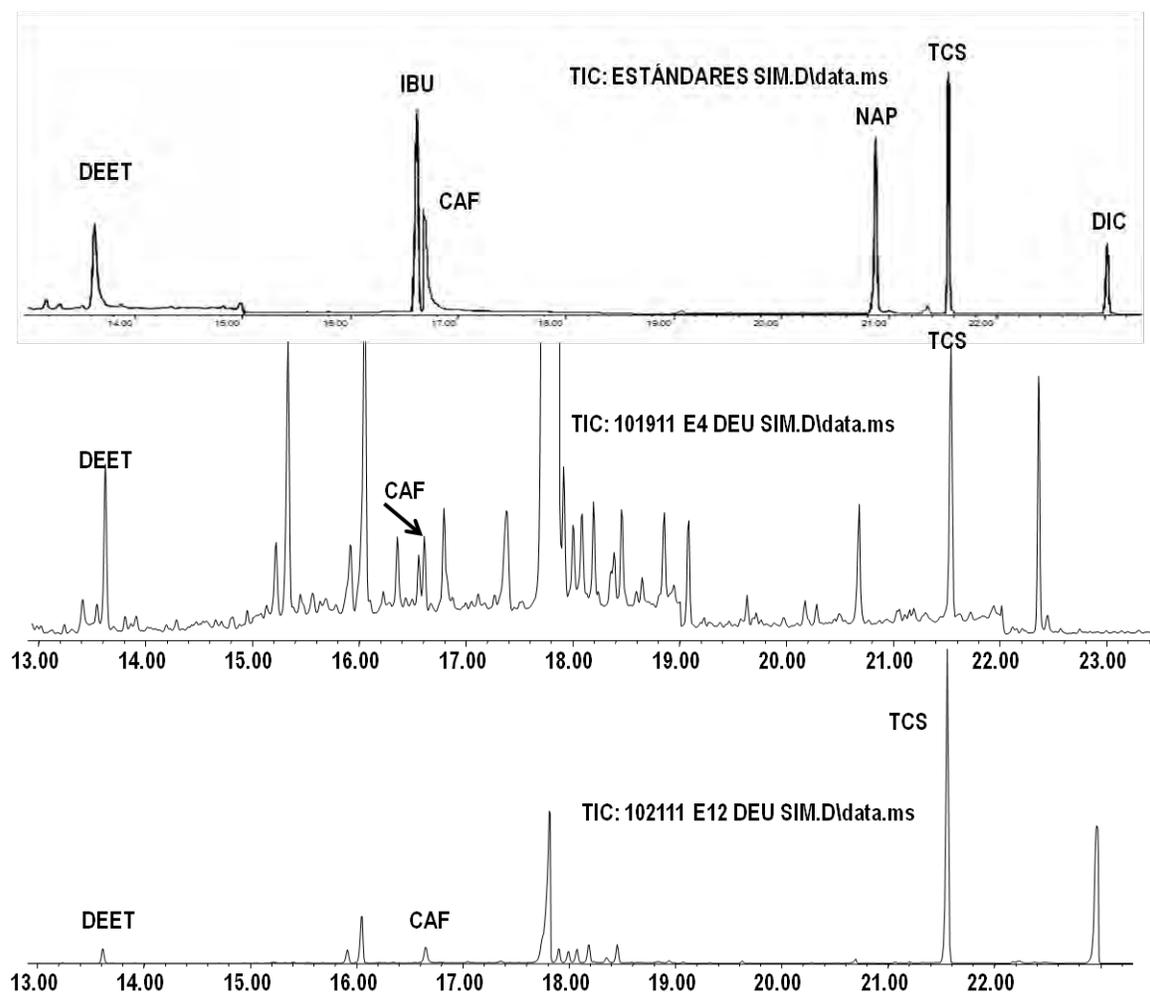
Donde  $tr_x$  es el tiempo de retención en la muestra,  $\bar{tr}$  y  $s_{tr}$  son respectivamente el tiempo de retención promedio y la desviación estándar calculados con los cromatogramas de calibración, que en todos los casos fue menor del 0.25% relativo al tiempo de retención.

Criterio de fragmentación:

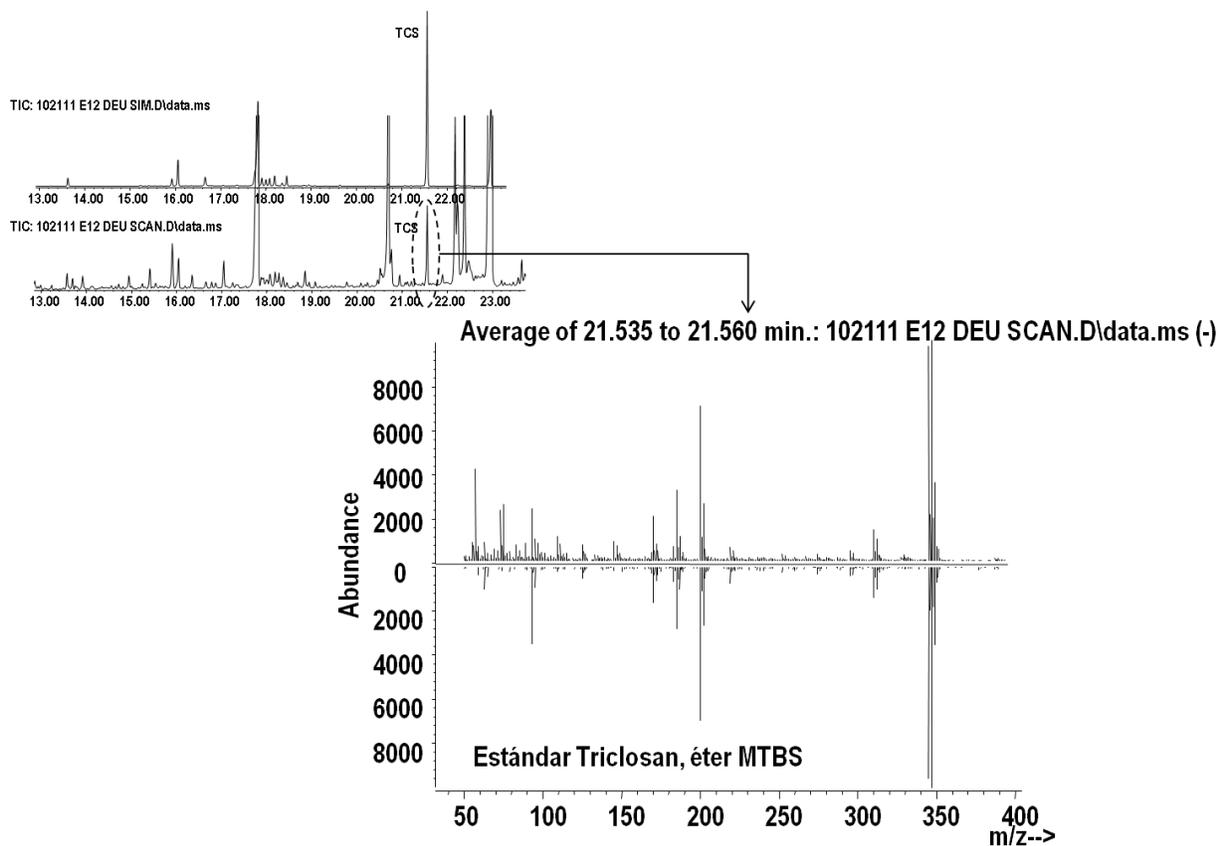
$$1 - ABS\left(\frac{R_{x,i} - \bar{R}_i}{\bar{R}_i}\right) > 0.7$$

Donde 0.7 es un criterio de tolerancia aceptado por organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud en el análisis de residuos en las razones de iones en CG-EM para una identificación positiva (OMS, Codex Alimentarius, Guidelines on the Use of Mass Spectrometry (MS) for Identification, Confirmation and Quantitative Determination of Residues CAC/GL 56-2005),  $R_{x,i}$ , es el valor de la intensidad del ión calificador  $i$  relativa al ión principal (ión de integración) en la muestra y  $\bar{R}_i$  el valor promedio obtenido con los estándares.

En la Figura 23 se presentan dos ejemplos de los cromatogramas obtenidos al analizar las muestras en modo SIM. En los casos en que se obtuvieron valores de concentraciones extremas se confirmó la identidad del compuesto haciendo el análisis en modo SCAN y comparando el espectro de masas completo con el del estándar correspondiente, se muestra un ejemplo en la Figura 24.



**Figura 23.** Cromatogramas en modo SIM de las muestras de agua de los sitios E4 y E12. El cromatograma superior corresponde una de las soluciones estándar preparadas en el laboratorio.

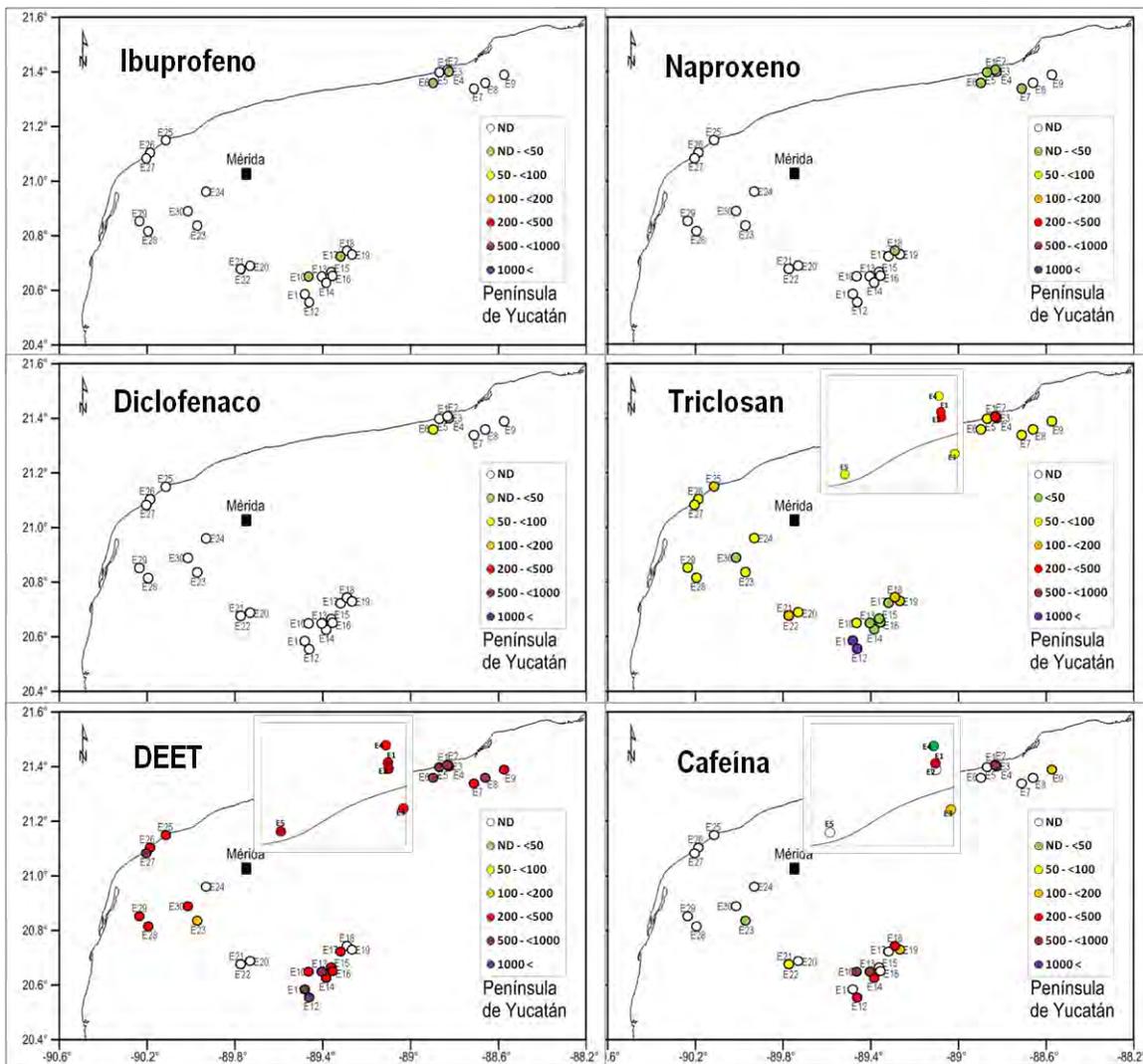


**Figura 24.** Cromatogramas en modo SIM (superior) y SCAN (inferior) de la muestra de agua del sitio E12 y comparación de los espectros de masas del derivado MTBS del triclosán en la muestra y del estándar.

Los resultados del análisis de las muestras se presentan en la Tabla XVII y en la Figura 25, donde se muestran los resultados relacionándolos con la localización del punto de muestreo.

**Tabla XVII.** Resultados del análisis de PPCP's seleccionados, datos en concentración en ng L<sup>-1</sup>, ND indica que el compuesto no se detectó por su concentración o falló alguno de los criterios de identificación positiva, T indica que el compuesto se detectó y cumplió con los criterios de identificación pero se encuentra entre los límites de decisión y de detección.

Muestra	Ibuprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Triclosán	DEET	Cafeína
E1	ND	ND	ND	399	521	824
E2	ND	ND	ND	304	575	ND
E3	37	ND	ND	94	383	153
E4	ND	8	T	77	405	21
E5	ND	10	ND	62	510	ND
E6	6	9	57	58	601	ND
E7	ND	34	ND	67	438	ND
E8	ND	ND	ND	55	568	ND
E9	ND	ND	ND	87	462	138
E10	8	ND	ND	70	431	910
E11	ND	ND	ND	1161	577	ND
E12	ND	ND	ND	2683	1681	470
E13	ND	ND	ND	49	556	616
E14	ND	ND	ND	23	394	436
E15	ND	ND	ND	23	374	ND
E16	ND	ND	ND	17	396	ND
E17	7	ND	ND	30	461	ND
E18	ND	20	ND	182	ND	398
E19	ND	ND	ND	141	ND	148
E20	ND	ND	ND	89	ND	ND
E21	ND	ND	ND	132	ND	ND
E22	ND	ND	ND	162	ND	52
E23	ND	ND	ND	69	196	21
E24	ND	ND	ND	63	ND	ND
E25	ND	ND	ND	143	413	ND
E26	ND	ND	ND	61	347	ND
E27	ND	ND	ND	89	995	ND
E28	ND	ND	ND	87	372	ND
E29	ND	ND	ND	99	467	ND
E30	ND	ND	ND	46	422	ND



**Figura 25.** Concentraciones en los puntos de muestreo de los compuestos analizados. El recuadro interior en los tres últimos gráficos es una ampliación de las estaciones E1 a E5.

En la Tabla XVIII se presentan los datos de la frecuencia con que fueron detectados los compuestos analizados. El triclosán se detectó en todas las muestras y presentó la concentración máxima más alta. Le siguen en orden de frecuencia el DEET (80%), la cafeína (40%), con frecuencias muy parecidas el naproxeno (17%) y el ibuprofeno (13%), y el diclofenaco que solo se detectó en una muestra (3%).

Con fines de comparación se muestran datos de un proyecto en curso en el laboratorio (comunicación interna) y de un estudio de United States Geological Service sobre productos farmacéuticos en aguas subterráneas (Barnes, 2008). Las frecuencias de detección en este trabajo y las de pozos en la Ciudad de Mérida son muy parecidas, excepto para el DEET que en Mérida es más baja (41%), de la mitad de las de este trabajo (80%). Las concentraciones máximas en la Ciudad de Mérida son mayores, nuevamente con la excepción del DEET que se encontró en una concentración máxima casi cuatro

veces mayor que la informada para Mérida. Esto puede estar relacionado con los patrones de consumo que en este caso están relacionados con la necesidad de protegerse de las picaduras de mosquito en cada zona y que en varios de los cenotes muestreados hay actividad turística.

Lo primero que hay que resaltar es que la frecuencia de detección es mayor que la reportada en el estudio mencionado. Otra diferencia es que la proporción entre las frecuencias de detección solo coincide entre el triclosán y el ibuprofeno, mientras que en este trabajo el triclosán se detectó en más del doble de las muestras que la cafeína y en el otro estudio las frecuencias son similares. Es mayor la desproporción entre el triclosán y el DEET, que nosotros encontramos con frecuencias similares (100% y 80%) y en el reporte de USGS la frecuencia de detección del DEET es el doble que la del triclosán. Resalta que las concentraciones máximas en este trabajo son mucho menores, entre uno y dos órdenes de magnitud, que las reportadas. Estas comparaciones se deben tomar con reservas pues en este trabajo todas las muestras son de la misma cuenca mientras que el estudio de la USGS abarca varias regiones de los Estados Unidos, sin embargo son una referencia de inicio útil.

**Tabla XVIII.** Frecuencia de detección y concentraciones máximas de los compuestos estudiados. Se muestran también los datos de pozos de la Ciudad de Mérida (comunicación interna) y los reportados en aguas subterráneas de los Estados Unidos (Barnes, 2008).

		Ibuprofeno	Naproxeno	Diclofenaco	Triclosán	DEET	Cafeína
Este trabajo	N	30	30	30	30	30	30
	Frecuencia	13.3	16.7	3.3	100.0	80.0	40.0
	C max (ng L <sup>-1</sup> )	37	34	57	2,683	1,681	910
Mérida	N	32	32		32	32	
	Frecuencia	18.8	15.6		93.8	40.6	
	C max (ng L <sup>-1</sup> )	47	133		6,533	480	
USGS	N	47			47	46	47
	Frecuencia	2.1			14.9	34.8	12.8
	C max (ng L <sup>-1</sup> )	3,111			<NR	13,500	130

Por la frecuencia tan baja con que se detectaron los compuestos ácidos solo se puede hacer algunos análisis de comparación entre el triclosán, el DEET y la cafeína. La única de correlación significativa es entre el triclosán y el DEET, el coeficiente de correlación r entre estas dos variable es de 0.69, que es significativo a un nivel de confianza de 95%. Esto puede ser un indicador de que las fuentes y los mecanismos de transporte son comunes. Por otra parte, al igual que con los parámetros fisicoquímicos, se observan diferencias de concentración grandes en puntos localizados a poca

distancia unos de otros, remarcando la importancia que tienen los factores puntuales locales y la complejidad de los perfiles de flujo en el acuífero. En general los puntos en los que se encuentran concentraciones mayores son las estaciones E11 y E12, que son las que se localizan más al sur y las estaciones sobre la costa al oriente del estado (Dzilam de Bravo). La zona que en general presenta concentraciones más bajas, donde están la mayoría de las estaciones en las que no se detectaron los compuestos, es la que se encuentra al suroeste de Mérida, cercana a las reservas de Celestún y El Palmar.

En la Tabla XIX se comparan los promedios y los valores máximos y mínimos de los tres compuestos detectados con mayor frecuencia con algunos datos publicados. En general, las concentraciones encontradas en el acuífero de Yucatán no son altas, son de magnitud semejante a los valores bajos de otras regiones. Vale la pena señalar la similitud de los valores promedio de este trabajo con los reportados para la zona costera de Quintana Roo para el triclosán y la cafeína.

**Tabla XIX.** Tendencia central y valores mínimos y máximos de los tres compuestos detectados con mayor frecuencia. Se indican entre paréntesis valores reportados en la literatura en diversos lugares del mundo y en cursivas los reportados para Quintana Roo (ver Tabla I y Tabla II).

	<b>Triclosán</b>	<b>DEET</b>	<b>Cafeína</b>
Promedio	220 (1,059) <i>181</i>	418 (3,477)	139 (55,007) <i>52</i>
Mediana	82	418	0
Mínimo	17 (7)	196 (454)	21 (13)
Máximo	2,683 (2,110)	1,680 (6,500)	909 (110,000)

## 11. CONCLUSIONES.

1. Se implantó un método por EFS-CG-EM que permite extraer de manera simultánea a pH 7 compuestos de naturaleza ácida y neutra con límites de detección menores de 15 ng L<sup>-1</sup>.
2. Se demostró que hay evidencia de contaminación debida a las sustancias activas de los productos farmacéuticos y de cuidado personal seleccionados (DEET, Ibuprofeno, Cafeína, Naproxeno, Triclosán y Diclofenaco) en las muestras de agua obtenidas del acuífero y de la costa de la Península de Yucatán. Los que se encontraron con mayor frecuencia y en concentraciones más altas fueron el Triclosán y el DEET (100 y 80%, respectivamente). Estos compuestos llegan a la costa en concentraciones  $\leq 1 \mu\text{g L}^{-1}$ .
3. En puntos de muestreo cercanos se observaron diferencias importantes en las concentraciones de los compuestos analizados, incluso en las estaciones que se encuentran más al norte sobre la costa. Esto indica el predominio de los factores locales puntuales sobre los procesos de mezclado en el complejo sistema hidrodinámico del acuífero.

4. Considerando los resultados de este trabajo, que el triclosán ha mostrado efectos adversos sobre algunas algas y crustáceos y que se encuentra bajo escrutinio en varios países, vale la pena investigar su toxicidad sobre la flora y la fauna local del acuífero y la zona costera.
5. La cafeína, el ibuprofeno, el naproxeno y el diclofenaco se detectaron con una frecuencia y una concentración mucho menor que la esperada lo cual puede estar relacionado con los efectos de degradación y/o retención en el acuífero. En este sentido vale la pena estudiar los mecanismos y productos de degradación en las condiciones químicas, fisicoquímicas y biológicas particulares de Yucatán.

## 12. REFERENCIAS.

1. Abou-Donia, M.B., Wilmarth, K.R., Jensen, K.F., Oehme, F.W., Kurt, T.L. (1996b). Neurotoxicity resulting from coexposure to pyridostigmine bromide, DEET, and permethrin: implications of Gulf War chemical exposures. *J. Toxicol. Environ. Health*, 48: 35 – 6.
2. Al-Ahmad, A. & Kummerer, K. (2001). Biodegradation and Toxicity of the Antineoplastics Mitoxantron Hydrochloride and Treosulfane in the Closed Bottle Test. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 58: 704 – 711.
3. Alcocer, J. y Escobar, E. (1996). Limnological regionalization of Mexico. *Lakes and Reservoirs. Research and Management*, 2: 55 – 69.
4. Alvarez, P. and W. A. Illman (2006). *Bioremediation and Natural Attenuation: Process Fundamentals and Mathematical Models*. John Wiley & Sons, 609 pp.
5. Amin, M., Zilles, J., Greiner, J., Charbonneau, S., Raskin, L., Morgenroth, E. (2006). Influence of the antibiotic erythromycin on Anaerobic Treatment of a Pharmaceutical Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 40, 3971 – 3977.
6. Back, W. and Hanshaw, B. (1970). Comparison of chemical hydrogeology of the carbonate peninsulas of Florida and Yucatan. *Journal of Hydrology*, 10: 330 – 368.
7. Back, W. & Hanshaw, B. (1974). Hidrogeochemistry of the Northern of the Yucatan Peninsula, Mexico with a section on Mayan Water Practices. *Field Seminar on Water and Carbonate rocks of the Yucatan Peninsula, Mexico*. USA: New Orleans Geological Society. Pp. 53 – 54.
8. Back, W. and Lesser, J.M. (1981). Chemical constraints of groundwater management in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Hydrology*, 51: 119 – 130.
9. Barceló, D. (2003). Emerging pollutants in wáter analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 22: XIV – XVI.
10. Barceló, D. (2008). Aguas continentales: Gestión de recursos hídricos, tratamiento y calidad del agua. Consejo Superior de Investigaciones Científicas – España. Pag. 15 – 18.
11. Barnes, K.K., Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Zaugg, S.D., Meyer, M.T. Barber, L.B. (2008). A national reconnaissance of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants in the United States – I) Groundwater. *Science of the total environment*, 402: 192 – 200.
12. Bedner, M. & Maccrehan, W. (2006). Transformation of acetaminophen by chloration produces the toxicants 1,4-benzoquinone and N-acetyl-p-benzoquinone imine. *Environ. Sci. Technol.*, 40: 516 – 522.
13. Bjorklund, K. (2005). Human antibiotics in sewage treatment plant effluents, recipient water and sediments. [http://www.chem.umu.se/Karin\\_Bjorklund.pdf](http://www.chem.umu.se/Karin_Bjorklund.pdf)
14. Bila, D.M. & Dezotti, M. (2003) Fármacos no medio ambiente. *Química Nova*, 26: 523 – 530.
15. Boxall, A. (2004). The environmental side effects of medication. How are human and veterinary medicines in soils and wáter bodies affecting human and environmental health? *EMBO reports* 5 (12).

16. Boyd, G.R., Palmeri, J.M., Zhang, S., Grimm, D.A. (2004). Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) and endocrine disrupting chemicals (EDCs) in stormwater canals and Bayou St. John in New Orleans, Louisiana, USA. *Science of the Total Environment* (333): 137 – 148.
17. Burke, V., Duennbier, U., Massmann, G. (2011). Laboratory experiments on redox sensitivity of organic trace pollutants in groundwater. *Geophysical Research Abstracts*. 13 EGU2011-9821-1, EGU General Assembly 2011.
18. Burkhardt, M.R., Soliven, P.P., Werner, S.L., Vaught, D.G. (1999). Determination of submicrogram-per-liter concentrations of caffeine in surface water and groundwater samples by solid-phase extraction and liquid chromatography. *J. AOAC Int*, 82: 161 – 166.
19. Buser, H.R. & Muller, M.D. (1998). Occurrence of the pharmaceutical drug clorfibric acid and the herbicide mecoprop in various Swiss lakes and in the North Sea. *Environ. Sci. Technol.* 32 (1): 188 – 192.
20. Candela Lledó, L. (2002). Contaminación de las aguas subterráneas: tipo doméstico e industrial. Presente y futuro de las aguas subterráneas en la provincia de Jaén. Depto. de Ingeniería del Terreno y Geociencias – UPC. 149 – 156.
21. Castillo Alanís, Luz Alejandra (2009). Identificación y cuantificación de PPCP's en aguas residuales por microextracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM). Tesis de Maestría (Maestría en Ciencias Químicas) – UNAM, Facultad de Química.
22. Ciniglia, Claudia, Cascone, Carmela, Lo Giudice, Roberto, Pinto, Gabriele, Pollio, Antonio (2005). Application of methods for assessing the geno- and cytotoxicity of Triclosan to *C. ehrenbergii*. *Journal of Hazardous Materials*, 122: 227 – 232.
23. Cirja, M., Zuehlke, S., Ivashechkin, P., Schaeffer, A., Corvini, P.F.X. (2006). Fate of a <sup>14</sup>C-labeled nonylphenol isomer in a laboratory-scale membrane bioreactor. *Environmental Science and Technology* 40 (19): 6131 – 6136.
24. Cleuvers, M. (2003). Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects. *Toxicol. Lett.* 142 (3): 185 – 194.
25. Clouzot, L., Marrot, B., Doumenq, P., Roche, N. (2008). 17 $\alpha$ -ethinylestradiol: an endocrine disrupter of great concern. Analytical methods and removal processes applied to water purification: A review. *Environ. Progress*, 27 (3): 383 – 396.
26. Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., Van Der Kraak, G. (2002). Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization. Pp 89.
27. Danchaiwijitr, S., Wongchanapai, W., Assanasen, S., Jintanothaitavorn, D. (2005). Microbial and heavy metal contamination of treated hospital wastewater in Thailand. *J. Med. Assoc. Thai*, 88 (10): S59 – 64.
28. Daughton, C.G. y Ternes, Thomas A. (1999). Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change? *Environmental Health Perspectives*, 107(6): 907 – 944.

29. Daughton, C.G. (2007). Pharmaceuticals in the Environment: Sources and Their Management. In Analysis, Fate and Removal of Pharmaceuticals in the Water Cycle (Petrovic, M., Barcelo, D., Eds), Wilson and Wilson's Comprehensive Analytical Chemistry Series, 50, Elsevier Science. Chapter 1, 1 – 58.
30. Daughton, C.G. (2010). Contaminants of Emerging Concern in the Environment: Ecological and Human Health Considerations. ACS Symposium Series, 1048. Chapter 2, 9 – 68.
31. Doll, T.E., Frimmel, F.H. (2003). Fate of pharmaceuticals photodegradation by simulated solar UV-light. *Chemosphere*, 52: 1757 – 1769.
32. Durán Álvarez, Juan Carlos (2009). Cuantificación de doce contaminantes emergentes, provenientes del agua residual empleada para riego, en suelos del Distrito de riego 03, Tula, Hidalgo. Tesis de Maestría (Maestría en Ingeniería Ambiental) – UNAM, Instituto de Ingeniería.
33. EPA (2007a) Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC-MS-MS.
34. Escolero, O., Marin, L.E., Steinich, B., Pacheco, J.A., Molina-Maldonado, A., Anzaldo, J.M. (2005). Geochemistry of the hydrogeological reserve of Merida Yucatan, Mexico. *Geofis. Internat.* 44(3), 301 – 314.
35. Feng, K., Weston, A., Caminada, D. (2006). Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquat. Toxicol.*, 76: 122 – 159.
36. Fernández-Torija, Carlos. (2008). Análisis de residuos de fármacos en aguas continentales mediante cromatografía de líquidos y espectrometría de masas. *Analítica de los Residuos*. INIA. Laboratorio de Ecotoxicología.
37. Filho, R.W.R., Barreiro, J.C., Vieira, E.M. & Cass, Q.B. (2007). Fármacos, ETEs y cuerpos hídricos. *Revista Ambiente & Agua. An International Journal of Applied Science*, 2: 54 – 61.
38. Fraker, S.L., Smith, G.R. (2004). Direct and Interactive Effects of Ecologically Relevant Concentrations of Organic Wastewater Contaminants on *Rana pipiens* Tadpoles. *Environ. Toxicol.*, 19: 250
39. Glaser, A. (2004). The Ubiquitous Triclosan: A common antibacterial agent exposed. *Pesticides and You*, 24: 12 – 17.
40. Göbel, A., Thomsen, A., McArdeell, C.S., Alder, A.C., Giger, W., Theib, N., Löffler, D., Ternes, T.A. (2005). Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethopim in sewage sludge. *J. Chromatography A* (1085): 179 – 189.
41. Halling-Sorensen, B., Nors Nielsen, S., Lanzky, P., Ingerslev, F., Holten, H., Jorgensen, S.E. (1998). Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment: A review. *Chemosphere* 36 (2): 357 – 393.
42. Hao, C., Zhao, X., Yang, P. (2007). GC-MS and HPLC-MS analysis of bioactive pharmaceuticals and personal-care products in the environmental matrices. *Trends in Analytical Chemistry*, 26(6): 568 – 580.
43. Harder, B. (2003). Extracting estrogens. *Science News* 164 (5), 67 – 68.

44. Heberer T. & Stan, H.J. (1997). Determination of clofibric acid and N-(phenylsulfonyl) sarcosine in sewage, river, and drinking water. *Int. J. Environ. An.* 67: 113 – 124.
45. Herrera-Silveira, J. (2006). Lagunas Costeras de Yucatán (SE, México): Investigación, Diagnóstico y Manejo. Sociedad Venezolana de Ecología. *Ecotrópicos* 19(2): 94 – 108.
46. Hignite, C. & Azarnoff, D.L. (1977). Drugs and drugs metabolites as environmental contaminants: Chlorophenoxyisobutyrate and Salicylic acids in sewage water effluent. *Life. Sci.* 20(2): 337 – 341.
47. Hummel, D., Löffler, D., Fink, G., Ternes, T. (2006). Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.*, 40: 7321 – 7328.
48. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADISTICA Y GEOGRAFÍA. INEGI. Marco Estadístico, 2010. <http://mapserver.inegi.gob.mx/>
49. Ishibashi, Hiroshi, Matsumura, Naomi, Hirano, Masashi, Matsuoka, Munekazu, Shiratsuchi, Hideki, Ishibashi, Yasuhiro, Takao, Yuji, Arizono, Koji (2004). Effects of triclosán on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquat. Toxicol.* 67: 167 – 179.
50. Johnson, A.C., Hughes, C.D., Williams, R.J., Chilton, P.J. (1998). Potential for aerobic isoproturon biodegradation and sorption in the unsaturated and saturated zones of chalk aquifer. *Journal of Contaminant Hydrology*, 30: 281 – 297.
51. Johnson, A.C., Ternes, T., Williams, R.J., Stumper, J.P. (2008). Assessing the concentrations of Polar Organic Microcontaminants from Point Sources in the aquatic environment, Measure or Model. *Environ. Sci. Technol.* 42 (15): 5390 – 5399.
52. Jones, O.A., Voulvoulis, N., Lester, J.N. (2002). Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals. *Water Res.*, 36: 5013 – 5022.
53. Jones, O.A., Lester, J., Voulvoulis, N. (2005) Pharmaceuticals: A threat to drinking wáter? *Chem. Biotechnol.* 23 (4): 164 – 167.
54. Joss, A., Zabczynski, S., Gobel, A., Hoffmann, B., Loffler, D., McArdell, C., Ternes, T., Thomsen, A., Siegrist, H. (2006). Biological degradation of pharmaceuticals in municipal wastewater treatment: Proposing a classification. *Chem. Water Res.*, 40: 1686 – 1696.
55. Kagle, J., Porter, Abigail W., Murdoch, Robert W., Rivera-Cancel, Giomar, Hay, Anthony G. (2009). Biodegradation of pharmaceutical and personal care products. *Advances in Applied Microbiology*, 67: 65 – 108.
56. Kiefer, F., Wiebel, F.J. (1998). Caffeine potentiates the formation of micronuclei caused by environmental chemical carcinogens in V79 Chinese hamster cells. *Toxicol Lett*, 96: 131 – 136.
57. Kinney, C.A., Furlong, E.T., Zaugg, S.D., Burkhardt, M.R., Werner, S.L. Cahill, J.D., Jorgensen, G.J. (2006). Survey of organic wastewater contaminants in biosolids destined for land application. *Environment Science Technology* 40 (23): 7207 – 7215.

58. Kolpin, Dana W., Furlong, Edward T., Thurman, E. Michael (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36: 1202 – 1211.
59. Kratz, W. (2008). Ecotoxicological risk of human pharmaceuticals in Brandenburg surface waters? Standards and thresholds for impact assessment. *Environmental Protection in the European Union*. Vol. 3. Ed. Springer – Verlag. Berlín: 379 – 389.
60. Kummerer, K., Erbe, T., Gartiser, S., Brinker, L. (1998). AOX Emissions from hospitals in municipal wastewater. *Chemosphere* 36 (11): 2437 – 2445.
61. Kummerer, K. (2001). *Pharmaceuticals in the environment: sources, fate, effects and risks*. Springer-Verlag. Berlin.
62. Loraine, G.A., Pettigrove, M.E. (2006). Seasonal variations in concentrations of pharmaceuticals and personal care products in drinking water and reclaimed wastewater in Southern California. *Environmental Science and Technology*, 40 (3): 687 – 695.
63. Marin, L.E. Perry, E.C. (1994). The hydrogeology and contamination potential of northwestern Yucatan, Mexico. *Geofis. Internat.* 33(4), 619 – 623.
64. McAvoy, D., Schatowitz, B., Jacob, M., Hauk, A., Eckhoff, W.S. (2002). Measurement of triclosán in wastewater treatment systems. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 1323 – 1329.
65. Medical Products Agency (2004). Environmental effects of pharmaceuticals, cosmetics and byproducts. Excerpts from the Report of Swedish Medical Products Agency regarding the environmental effects of pharmaceuticals. Sweden.
66. Metcalfe, C., Beddows, P., Gold-Bouchot, G., Metcalfe, T., Li, H., Van Lavieren, H. (2011). Contaminants in the coastal karst aquifer system along the Caribbean coast of the Yucatan Peninsula, Mexico. *Environmental Pollution*, 159: 991 – 997.
67. Musolff, A. (2009). Micropollutants; challenges in hydrogeology. *Hydrogeology Journal*, 17: 763 – 766.
68. Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdeville, M., Rothenstein, A., Cunningham, V. (2002). Aquatic Toxicity of Triclosan. *Environ. Toxicol. Chem.* 21: 1338 – 1349.
69. Pacheco, A.J. (2000). Informe parcial del proyecto “Delimitación de una zona de reserva hidrogeológica para el abastecimiento de agua potable a la ciudad de Mérida, Yucatán”. Sistema de Investigación Justo Sierra del CONACYT. Universidad Autónoma de Yucatán.
70. Packer, J.L., Werner, J.J., Latch, D.E., McNeill, K., Arnold, W.A. (2003). Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, Diclofenac, Clofibric acid and Ibuprofen. *Aquatic Sciences*, 65: 342 – 361.
71. Peng, X., Yu, Y., Tang, C., Tan, J., Huang, Q., Wang, Z. (2008). Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban river water of the Pearl River Delta, South China. *Sci. Total Environ* (397): 158 – 166.

72. Pépin, J.M. (2006). Impacts écotoxicologiques de certains médicaments dans l'environnement. Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de l'obtention du grade de maître en environnement. Sherbrooke, Québec, Canada.
73. Petrovic, M., Hernando, D., Díaz – Cruz, S. y Barceló, D. (2005). Liquid chromatography – tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A*, 1067: 1 – 14.
74. Peuravuori, J. and Pihlaja, K. (2009). Phototransformations of selected pharmaceuticals under low-energy UVA-vis and powerful UVB-UVA irradiations in aqueous solutions – the role of natural dissolved organic chromophoric material. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394(6): 1621 – 1636.
75. Prösch, J., Puchert, W. (1994). Caffeine: occurrence in the rivers of Mecklenburg-Vorpommern. *Vom Wasser*, 91: 207 – 214.
76. Quintal, C. (1993a). Propuesta para el diseño, construcción y mantenimiento de sistemas de tanques sépticos en Yucatán. *Boletín Académico de la Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de Yucatán*. Num. 21, 35 – 44.
77. Rahman, M.F., Yanful, E.K., Jasim, S.Y. (2009). Endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment: implications for the drinking water industry and global environmental health. *Journal of Water and Health*, 7 (2): 224 – 243.
78. Raloff, J. (1998). Drugged Waters. *Science News* 153(12): 187 – 189.
79. Reddersen, K. and Heberer, Th. (2003). Formation of an artifact of diclofenac during acidic extraction of environmental water samples. *Journal of Chromatography*, 1011: 221 – 226.
80. Sang, K., Jaeweon, C., In, K., Brett, V., Shane, S. (2007). Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. *Water Research* 41: 1013 – 1021.
81. Schmitter, J., Comín, F., Escobar, E., Herrera, J., Alcocer, J. Suárez, E., Elías, M., Díaz, V., Marín, L. & Steinich, B. (2002). Hydrogeochemical and biological characteristics of cenotes in the Yucatan Peninsula (SE Mexico). *Hydrobiology*, 467: 215 – 228.
82. Seiler, R.L., Zaugg, S.D., Thomas, J.M., Howcroft, D.L. (1999). Caffeine and pharmaceuticals as indicators of waste water contamination in wells. *Ground Water*, 37: 405 – 410.
83. Semple, K.T., Doick, K.J., Wick, L.Y., Harms, H. (2007). Microbial interactions with organic contaminants in soil: definitions, processes and measurement. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)* 150, 166-176.
84. Shafiani, S., Malik, A. (2003). Tolerance of pesticides and antibiotics resistance in bacteria isolated from wastewater irrigated soil. *World J. Microbiol. Biotech.*, 19: 897 – 901.
85. Shang, D.Y., Ikonomou, M.G., Macdonald, R.W. (1999). Quantitative determination of nonylphenol polyethoxylate surfactants in marine sediments using normal-phase liquid

- chromatography-electrospray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A.*, 849: 467 – 482.
86. Siemens, J., Huscheka, G., Siebeb, C., Kaupenjohanna, M. (2008). Concentrations and mobility of human pharmaceuticals in the world's largest wastewater irrigation system, Mexico City – Mezquital Valley. *Water Research*, 42: 2124 – 2134.
  87. Singer, H., Müller, S., Tixier, C., Pillonel, L. (2002). Triclosan: Occurrence and Fate of a Widely Used Biocide in the Aquatic Environment: Field Measurements in Wastewater Treatment Plants, Surface Waters, and Lake Sediments. *Environ. Sci. Technol* 36: 4998 – 5004.
  88. Snyder, S., Vanderford, B., Pearson, R., Quiñones, O., Yoon, Y. (2003). Analytical Methods Used to Measure Endocrine Disrupting Compounds in Water: Practice Periodical of Hazardous, Toxic and Radioactive Waste Management 7(4): 224 – 234.
  89. Steinich, Birgit., Velazquez Oliman, Guadalupe; Marin, Luis, E., Perry, E. (1996). Determination of the ground water divide in the karst aquifer of Yucatan, Mexico, combining geochemical and hydrogeological data. *Geofis. Inter*, 35 (2), 153 – 159.
  90. Stuer-Lauridsen, F., Birkved, M., Hansen, L.P., Holten, H.C., Halling-Sorensen, B. (2000). Environmental risk assessment of human pharmaceuticals in Denmark after normal therapeutic use. *Chemosphere* 40: 783 – 793.
  91. Sudakin, D.L., Trevathan, W.R. (2003). DEET: a review and update of safety and risk in the general population. *J. Toxicol. Clin. Toxicol*, 41: 831 – 839.
  92. Switch (2007). Sustainable Water Management in the City of the Future, Integrated Project Global Change and Ecosystems. Deliverable D 4.1.2 R. A Pharmaceuticals compounds in environment. Pre-selection of representative compounds for laboratory degradation tests. Sixth Framework Programme 2002 – 2006.
  93. Tamtam, F., Mercier, F., Le Bot, B., Eurin, J., Dinh, Q.T., Clément, M., Chevreuil, M. (2008). Occurrence and fate of antibiotics in the Seine River in various hydrological conditions. *Science Total Environment* 393: 84 – 85.
  94. Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K., Arizono, K. (2004). Effects of triclosan on various aquatic organisms. *Environmental Sciences* 11 (2): 133 – 140.
  95. Tauxe Wursch, A. (2005). Wastewaters: occurrence of pharmaceutical substances and genotoxicity. Tesis para optar por el grado de Doctor en Ingeniería Química. Lausanne, 263 p.
  96. Ter Laak, T.L., Gebbink, W.A., Tolls, J. (2006). Estimation of soil sorption coefficients of veterinary pharmaceuticals from soil properties. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (4): 933 – 941.
  97. Thoma, K., Kubler, N., Reimann E. (1997). Photodegradation of antimycotic drugs. *Pharmazie*. **52**: 362.
  98. Thomas, K., Dye, C., Schlabach, M., Langford, K. (2007). Source to sink tracking of selected human pharmaceuticals from two Oslo City hospitals and a wastewater treatment works. *J. Environ. Monit*, 9: 1410 – 1418.

99. Tolls, J. (2001). Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. *Environmental Science Technology* 35 (17): 3397 – 3406.
100. Veldhoen, N., Skirrow, R.C., Osachoff, H., Wigmore, H., Clapson, D.J., Gunderson, M.P., Van Aggelen, G., Helbing, C.C. (2006). The bactericidal agent triclosán modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat. Toxicol.*, 80: 217 – 227.
101. Weigel, S., Bester, K., Hühnerfuss, H. (2001). New method for rapid solid-phase extraction of large volume water samples and its application to screening of North Sea water for organic contaminants. *J. Chromatogr A*, 912: 151 – 161.
102. Weigel, S., Kuhlmann, J., Hühnerfuss, H. (2002). Drugs and personal care products as ubiquitous pollutants, occurrence and distribution of clofibrac acid, caffeine and DEET in the North Sea. *The Science of the Total Environment*, 295: 131 – 141.
103. Wick, L.Y., Remer, R., Wurz, B., Reichenbach, J., Braun, S., Schäfer, F., Hams, H. (2007). Effect of fungal hyphae on the access of bacteria to phenanthrene in soil. *Environmental Science and Technology*, 41: 500 – 505.
104. Wilson, B.A., Smith, V.H., de Noyelles, F. Jr., Larive, C.K. (2003). Effects of Three Pharmaceutical and Personal Care Products on Natural Freshwater Algal Assemblages. *Environ. Sci. Technol*, 37: 1713 – 1719.
105. Wu, T., Wang, W., Jiang, L., Chu, Q., Delaire, J., Ye, J. (2008). Determination of natural and synthetic endocrine-disrupting chemicals (EDCs) in sewage based on SPE and MEKC with amperometric detection. *Chromatographia*, 68(5/6), 339 – 344.
106. Xia, K., Bhandari, A., Das, K., Pillar, Greg. (2005). Occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in biosolids. *J. Environ. Qual.* 34: 91 – 104.
107. Yang, L., Luan, T., Lan, C. (2006). Solid-phase microextraction with on-fiber silylation for simultaneous determinations of endocrine disrupting chemicals and steroid hormones by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatog. A.*, 1104(1-2): 23 – 32.
108. Yu, J., Bouwer, E., Coelhan, M. (2006). Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and care products in sewage effluent. *Agr. Water Manage.*, 86: 72 – 80.
109. Zhao, J., Ying, (2009). Determination of phenolic endocrine disrupting chemicals and acidic pharmaceuticals in surface water by CG-negative CL-MS. *The Science of the Total Environment*, 407: 962 – 974.
110. Zhang, Y., Geiben, Sven Uwe, Gal, Carmen (2008). Carbamazepine and Diclofenac: Removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73: 1151 – 1161.
111. Zuccato, E., Castiglioni, S., Fanelli, R. (2005). Identification of the pharmaceuticals for human use contaminating the Italian aquatic environment. *J. Hazard. Mater* (122): 205 – 209.