



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN DE ANTIBIÓTICOS EN PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUA

RESIDUAL DE LA CIUDAD DE MEXICO USANDO CROMATOGRAFÍA DE

LÍQUIDOS DE ULTRA ALTA RESOLUCIÓN ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE

MASAS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA:

BIANCA GUADALUPE VALENCIA GONZÁLEZ



MÉXICO, CDMX 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

MÉXICO, CDMX

2022

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: GARCÍA MORA MARIA ISABEL

VOCAL: MENDOZA PEREZ JACINTO EDUARDO

SECRETARIO: DE LOS COBOS VASCONCELOS DANIEL

1er. SUPLENTE: GARCÍA CARRILLO MARIO ALFREDO

2° SUPLENTE: ROJO PORTILLA TANIA

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ LA TESIS:

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental del Instituto de Ingeniería de la UNAM que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015. No. de Certificado CMX C SGC 209 2020, válido en el período del 12 de noviembre de 2020 al 11 de noviembre de 2023.

ASESOR DEL TEMA:

Dr. Daniel de los Cobos Vasconcelos

SUPERVISOR TECNICO:

M. A. I. Tonantzin Ramírez Pérez

SUSTENTANTE (S):

Bianca Guadalupe Valencia González

Agradecimientos académicos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la oportunidad de tener una formación académica y cultural durante mi estancia, además de tener siempre presente los medios necesarios para lograr los objetivos profesionales.

A la H. Facultad de Química por brindar los recursos necesarios para poder formar profesionistas capaces, a cada profesor que tuve la fortuna de conocer y por aquellos que fueron un parteaguas para seguir motivándome a seguir.

Al Instituto de Ingeniería, por permitirme formar parte de su comunidad para desarrollar los conocimientos y habilidades adquiridos durante mi formación académica

Al apoyo de la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SECTEI) del Gobierno de la Ciudad de México para poder realizar el proyecto “Análisis de la eficacia en la remoción de patógenos en efluentes y lodos de Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales en la Ciudad de México con fines de reúso seguro” (proyecto 265/2019), a cargo del doctor Adalberto Noyola Robles.

A cada uno de los integrantes del Proyecto en el Instituto, al Dr. Adalberto Noyola Robles, la Mtra. Margarita Elizabeth Cisneros Ortiz, Dr. Daniel de los Cobos Vasconcelos, al Dr. Juan Manuel Morgan Sagastume, Dr. Ulises Durán Hinojosa, Mtro. Yovany Cuetero Martínez, por su apoyo y guía durante el proyecto para que se llevara de manera exitosa.

A la Mtra. Tonantzin Ramírez Perez y Q.F.B. Denise Reyes García por su gran apoyo, guía y ayuda para poder realizar los análisis en el equipo, además de su paciencia para poder aclarar dudas que se presentaban, de verdad estoy muy agradecida.

A mi asesor, el Dr. Daniel de los Cobos Vasconcelos por su guía durante el planteamiento y desarrollo de las técnicas utilizadas, además de la paciencia y disponibilidad para poder estar cuando era necesaria la guía.

A cada uno de mis compañeros: Alondra, Yovany, Natalia V., Michel, Raúl y Dianys por brindarme su amistad y guiarme, gracias por las experiencias y risas compartidas, sin duda por ustedes mi estancia fue muy amena.

Dedicatorias

El presente trabajo se los dedico a mis padres Rafaela y Miguel, quienes siempre me han guiado y motivado para seguir adelante, son mi mayor ejemplo y orgullo de salir adelante, gracias por apoyarme siempre a pesar de las circunstancias. Gracias infinitas por darme la oportunidad de llegar hasta este lugar y momento, no encuentro las palabras para agradecerles lo que han hecho por mí, los amo.

A mis hermanas: Estefania por ser *“mi amiga, mi persona preferida, mi compañía favorita”* por siempre estar en cada uno de mis pasos, motivándome y ayudándome a seguir cuando más lo necesitaba, por tu amor y paciencia, Jazmin, por darme la oportunidad de estar más cerca de mis objetivos y por tu apoyo en cada momento que era necesario y enseñarme lo que quiero en la vida, Fatima por siempre encontrar las palabras que necesitaba escuchar para seguir esforzándome y ver todo de manera más liviana, simplemente gracias por su cariño y apoyo.

A mi sobrino Leonardo, quién ha sido mi mayor ejemplo de perseverancia, ganas de vivir y salir adelante, a tu corta edad me terminaste enseñando muchas más cosas que yo a ti, siempre tienes las palabras y abrazos en los momentos perfectos, te agradezco infinitamente y estaré siempre ahí para ti.

A mi gran amigo Otoniel Martínez por ser mi gran compañero de aventuras y aprendizajes, a Diego Velazquez por brindarme su confianza y apoyo en muchas circunstancias por tu amistad y apoyo durante la carrera y posterior, a Uriel Hernández por tu amistad y regalarme momentos de risa y relajación a pesar de las circunstancias, a Jessamyn Rodríguez por siempre recibirme con cariño y palabras

bonitas, además de una infinita paz, Israel Gómez, Alison Rojas, Elizabeth Ramírez por brindarme muchos momentos felices, de risas y apoyo, por darme un motivo más de estar en la carrera, gracias por su amistad.

Contenido

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO	0
1.0 Introducción	8
2.0 Antecedentes	9
2.1 Agua como recurso humano	9
2.2 Contaminación del agua.....	10
2.2.1 Generalidades	18
2.2.2 Contaminantes emergentes.....	19
2.2.3 Impacto y destino de los contaminantes emergentes en plantas de tratamiento de agua residual municipal	23
3.0 Antibióticos en agua residual.....	26
3.1 Antibióticos	27
3.2 Importancia de la determinación a bajas concentraciones de antibióticos en aguas residuales y tratadas.....	6
4.0 Determinación de Antibióticos representativos en PTAR.....	8
4.1 Técnicas analíticas para determinación de contaminantes en matrices acuosas y lodos	8
4.2 Comparación entre técnica HPLC-MS Vs. UPLC-MS.....	15
4.3 Determinación de antibióticos por Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución acoplado a espectrómetro de masas.....	24
4.4 Antibióticos en aguas residuales de México	25
4.4.1 Zona de Estudio: Plantas de Tratamiento de Agua Residual de la Ciudad de México	26
5.0 Justificación	31
6.0 Objetivos	31
7.0 Materiales y Métodos	32
7.1 Elección de antibióticos representativos	32
7.2 Tratamiento de muestras de agua y lodos residuales para su posterior análisis por UPLC-MS	35
7.2.1 Tratamiento de aguas residuales	36
7.2.2 Tratamiento de lodos residuales.....	38
7.2.3 Condiciones de Cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas.....	39
8.0 Interpretación de resultados.....	42
8.1 Resultados	42
8.1.2 Factores que influyen en la determinación de antibióticos.....	51

8.1.3 Influencia de la temporada de muestreo para determinación de antibióticos	53
8.1.4 Interacción molécula-fase	59
8.1.5 Degradación de fármacos en medio acuoso y sólido.....	62
9.0 Conclusiones.....	64

1.0 Introducción

El trabajo presentado pretende dar un panorama actual sobre la presencia de antibióticos presentes en agua y lodos residuales provenientes de Plantas de Tratamiento de Agua Residual (PTAR) en la Ciudad de México, conocer la eficacia de las plantas para la remoción evaluando el agua cruda (agua residual sin tratamiento) hasta el efluente de la planta (agua tratada), además de los lodos generados en el mismo tratamiento lo que permitirá tener indicios sobre la persistencia de los antibióticos en medios acuosos u orgánicos (proveniente de lodo residual).

El interés de realizar dicha investigación surge de la necesidad de conocer la relación de la presencia de antibióticos en aguas residuales y las posibles consecuencias que estas generan, una de las principales líneas de investigación es la resistencia bacteriana que se ha presentado actualmente. Tal fenómeno no es un hecho que ha ocurrido en los últimos años, más bien es un problema que tiene presencia anteriormente pero no había sido tomada con la importancia adecuada por los niveles bajos que se presentan de antibióticos, sin embargo, se ha observado que a pesar de encontrarse a bajas concentraciones estos aún pueden ser perjudiciales y es uno de los retos, analizar y conocer la persistencia así como los futuros efectos que pueden tener en la salud y en el medio con el que se encuentran en contacto.

El hecho de tener una referencia actual ayudará a evaluar la eficiencia de las plantas de tratamiento para la remoción de los contaminantes emergentes, así como dar pie para un futuro desarrollo de plantas de tratamiento que sean capaces para la degradación y remoción de estos contaminantes.

En este trabajo se detectaron 4 antibióticos representativos: ampicilina, ceftriaxona, meropenem y vancomicina, abarcando así betalactámicos y un glucopéptido. Para su determinación se realizó un tratamiento de la muestra de agua y lodo para después ser analizada por cromatografía de ultra alta resolución (UPLC por sus siglas en inglés) acoplado a espectrómetro de masas, técnica que presenta ventajas en comparación con otras técnicas utilizadas tales como HPLC, al ser más sensible y capaz de detectar analitos a bajas concentraciones.

2.0 Antecedentes

2.1 Agua como recurso humano

El agua es el recurso más abundante en la superficie del planeta Tierra, sin embargo, solo el 2.53% es agua dulce de la cual 2/3 partes se encuentran en glaciares y nieves perpetuas, mientras que el tercio restante es a la que tenemos disponibilidad en lagos, ríos y acuíferos (ONU, Agua para todos 2003).

El agua es el recurso natural esencial para los seres humanos para lograr su supervivencia a través de la producción de alimentos ya sea para riego o para el consumo de ganado, energía, así como otras actividades humanas (ONU, Desafíos Globales 2018) así como un derecho fundamental para todo ser humano, en el que siempre se busca procurar el sustento saludable de los hogares y la dignidad de cada persona (ONU, Recursos Hídricos 2019).

En los últimos años el uso de agua ha venido aumentando el 1% anual en todo el mundo desde los años 80, el aumento de su uso se debe al crecimiento de la población además del cambio de modelos de consumo. Se espera que el aumento

de consumo crezca de tal manera que ese incremento represente del 20 al 30% por encima del gasto actual de agua, se estima que la demanda industrial y doméstica aumentará más rápido de lo esperado sin descartar que el sector agrícola es el principal consumidor de agua en el mundo (ONU, Recursos Hídricos 2019).

Para poder tener disponibilidad de agua se lleva a cabo proceso llamado *Ciclo Urbano del Agua* en la cual se lleva la construcción de infraestructura que permite la captación del líquido, su transporte, almacenamiento, distribución, consumo, alcantarillado, tratamiento, reutilización y retorno. Dicha manipulación afecta directamente al ciclo natural del agua (INCyTU 2019).

2.2 Contaminación del agua

Si el aumento en el uso de agua derivado del crecimiento de la población se traduce en una alerta por la escasez que se genera este aún se ve magnificado por su contaminación derivado de su uso, además del inadecuado tratamiento de aguas residuales para permitir un reúso. La contaminación del agua se produce por el desecho de residuos por distintas causas como lo son: en ganadería se contamina con desechos fecales del ganado, mismos que pueden contener residuos de disanos productos que consumen para favorecer su crecimiento, en el caso industrial este sector puede ser contaminada con productos secundarios de su línea de producción mismos que son desechados sin tratamiento previo, en agricultura pueden ser contaminados los cuerpos de agua por la filtración de los productos utilizados como pesticidas, mientras que en uso de consumo humano también es contaminado a través de desechos fecales, así como resultado de distintos procesos de limpieza que se realizan habitualmente o contaminación por tirar grasas

o productos farmacéuticos o de cuidado personal. Es decir, la contaminación del agua es el resultado de la introducción de sustancias que modifican la composición y actividad habitual del agua deteriorando su calidad dificultando su función biológica (Soluciones Medioambientales y Aguas S.A. 2015).

Los principales componentes contaminantes en agua residual son los siguientes:

- Agentes patógenos: se describen como bacterias, virus, parásitos u otros organismos que pueden provocar enfermedades en animales, plantas o el ser humano. Dichos patógenos son vertidos a los cuerpos de agua en desechos orgánicos.
- Desechos orgánicos: son sustancias denominadas orgánicas por contener en su estructura molecular átomos de carbono, las cuales se incluyen las grasas, aceites, proteínas entre otras sustancias que pueden descomponerse por bacterias.
- Desechos químicos inorgánicos: se describen así a sustancias como ácidos, sales o metales pesados tales como el plomo o mercurio. Tales contaminantes provienen de desechos domésticos, agrícolas e industriales.
- Sedimentos o sólidos suspendidos: son partículas sólidas que se encuentran el medio provocando turbidez provocando que el paso de luz viéndose afectados distintos procesos biológicos de organismos presentes en los cuerpos de agua (Soluciones Medioambientales y Aguas S.A. 2015).



Toxicidad: afecta la flora y fauna del medio que recibe el agua residual



Infecciones: patógenos contenidos en aguas residuales son fácilmente transportados a organismos marinos y terrestres con los que están en contacto



Contaminación térmica: los residuos industriales pueden tener la capacidad de elevar la temperatura en zonas de desecho, afectando procesos biológicos



Malos olores: las bacterias y sustancias son responsables de generar gases resultantes de descomposición.

Figura 1. Efectos de agua contaminada

El hecho que una gran cantidad de agua dulce sea contaminada conlleva una serie de consecuencias inmediatas como se observa en el diagrama 1. Aproximadamente 2 millones de toneladas de desechos son incorporados diariamente a los cuerpos de agua, los contaminantes proceden de residuos industriales, vertidos humanos derivados de uso doméstico o comercial y desechos agrícolas que generalmente están compuestos de pesticidas, fertilizantes y residuos biológicos de los mismos (ONU, Agua para Todos 2003).

En 2009 se determinó que la calidad del agua en 21 cuencas de México se encontraba fuertemente contaminada, teniendo mayor presencia la problemática en la Zona Central de México donde los sitios fueron evaluados como contaminados o

fuertemente contaminados (Vega Salazar 2012). Una causa de ello, es el gran asentamiento urbano en la ciudad de México y alrededores, pues esto se ve reflejado directamente en el uso y contaminación del agua, además que el número de ciudadanos que ingresan a la CDMX supera el número de los que salen a realizar distintas actividades a las zonas aledañas, tan solo en el año 2016 se mencionaba que diariamente ingresaban a la Ciudad de México un millón 720 mil 145 personas provenientes de estados aledaños, mientras que solo 227 mil 657 capitalinos salen de la ciudad, lo que da un saldo de un millón 492 mil 488 personas en la capital (Hernández S. 2016).

La determinación de las cuencas más contaminadas fue a través de una evaluación de calidad de agua se realizan pruebas por la Comisión Nacional del Agua (CNA) a 3 parámetros importantes, descritos como: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5) en el cual se determinan la cantidad de materia orgánica biodegradable, Descarga Química de Oxígeno (DQO) el cual mide la cantidad total de materia orgánica y finalmente Sólidos Suspendidos Totales (STT) que son provenientes de las aguas residuales y la erosión del suelo. Por lo que si se observa un incremento en estos parámetros provoca una disminución de oxígeno disuelto en los cuerpos de agua lo que refleja en un fallo de funcionamiento de los ecosistemas acuáticos (Vega Salazar 2012).

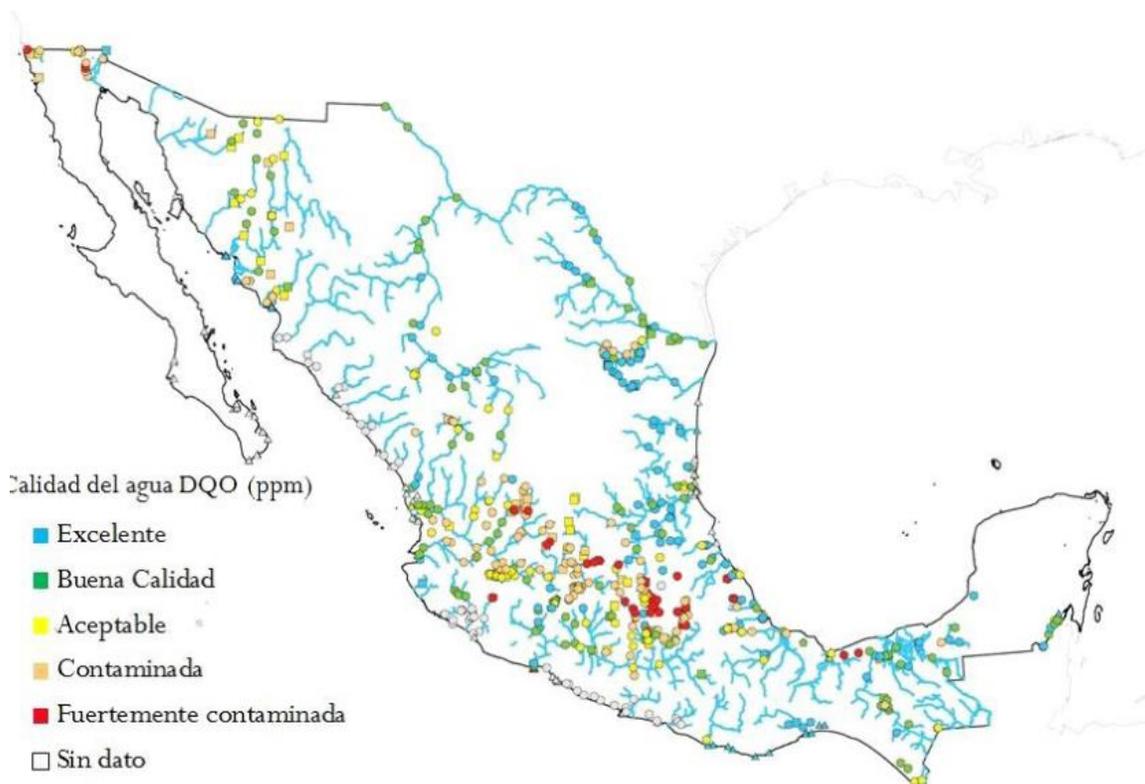


Figura 2. Calidad del agua en la República Mexicana. (Vega Salazar Y. 2012)

Excelente (DQO menor o igual a 10), Buena calidad (DQO mayor a 10 y menor o igual a 20), Aceptable (DQO mayor a 20 y menor o igual a 40), Contaminada (DQO mayor a 40 y menor o igual a 200), Fuertemente contaminada (DQO mayor a 200). Fuente: Conagua. Subdirección General Técnica. 2010, modificado de CNA 2010

Como se puede observar en la figura 2, se denotan los sitios de México y su evaluación en la calidad de agua, denotando como la parte central de la República Mexicana con mayor presencia de agua fuertemente contaminada.

Tan solo en la Ciudad de México se genera un volumen de aproximadamente 22, 510.98 litros por segundo de agua residual de los cuales solo 3.34 m³/s es recuperada para llevarla a un proceso de tratamiento por parte del Sistema de Aguas de la Ciudad de México (SACMEX), por lo que se puede decir que del 100% de agua residual generada solo el 15% de ella es tratada en las 26 Plantas de tratamiento de SACMEX (SEDEMA 2016). Se reporta que México es el segundo país después de China el que utiliza agua cruda (residuales sin tratamiento) para

riego, lo que representa la probabilidad de transportar gran cantidad de organismos patógenos, metales pesados y residuos de productos de aseo personal y fármacos que pueden generar problemas de salud además de contribuir a la resistencia de bacterias (INCyTU 2019), o bien, estas aguas residuales son simplemente desechadas sin tratamiento contaminando el suelo y aguas superficiales creando un foco de riesgo de la salud pública.

La alternativa de someter a tratamiento el agua residual surge de la idea de asegurar el abastecimiento de agua logrando un reúso en actividades humanas, dicho procedimiento se lleva a cabo en Plantas de Tratamiento de Agua Residual o PTAR por sus siglas, el tratamiento en una PTAR consiste en una serie de procesos físicos y químicos que permiten la remoción en mayor parte de los contaminantes presentes en el agua que permite su reincorporación a mantos acuíferos o a los sistemas de agua potable (INCyTU 2019).

Los procesos físicos son aquellos en los que a través de la operación por barreras físicas se logra la separación de contaminantes de gran tamaño sin necesidad de alguna reacción química.

El proceso químico permite la remoción de componentes contaminantes a través de reacciones químicas, mientras que el paso de proceso biológico se utilizan reacciones biológicas o bioquímicas para contaminantes específicos.

La operación de una PTAR se caracteriza principalmente por 6 fases principales:

1. Pretratamiento: en él se remueven los componentes contaminantes de mayor tamaño tales como piedras, papel, pantas entre otros, con ayuda de filtros físicos.
2. Tratamiento primario: se hace una segunda remoción, pero ahora de residuos más finos, así como arena o grava.
3. Tratamiento secundario: el agua residual se pasa por un tratamiento con lodos para facilitar la remoción de microorganismos.
4. Tratamiento de biosólidos: los lodos se llevan a incineración, digestión anaerobia u oxidación (depende de cada PTAR) para después ser almacenados o manejo.
5. Desinfección: en este paso se lleva a cabo la inactivación de cualquier patógeno para evitar daños a la salud.
6. Producto final: consiste en la salida del agua depurada que comúnmente es utilizada para el área agrícola y ganadería, mientras que el restante es reincorporado al cuerpo de agua.

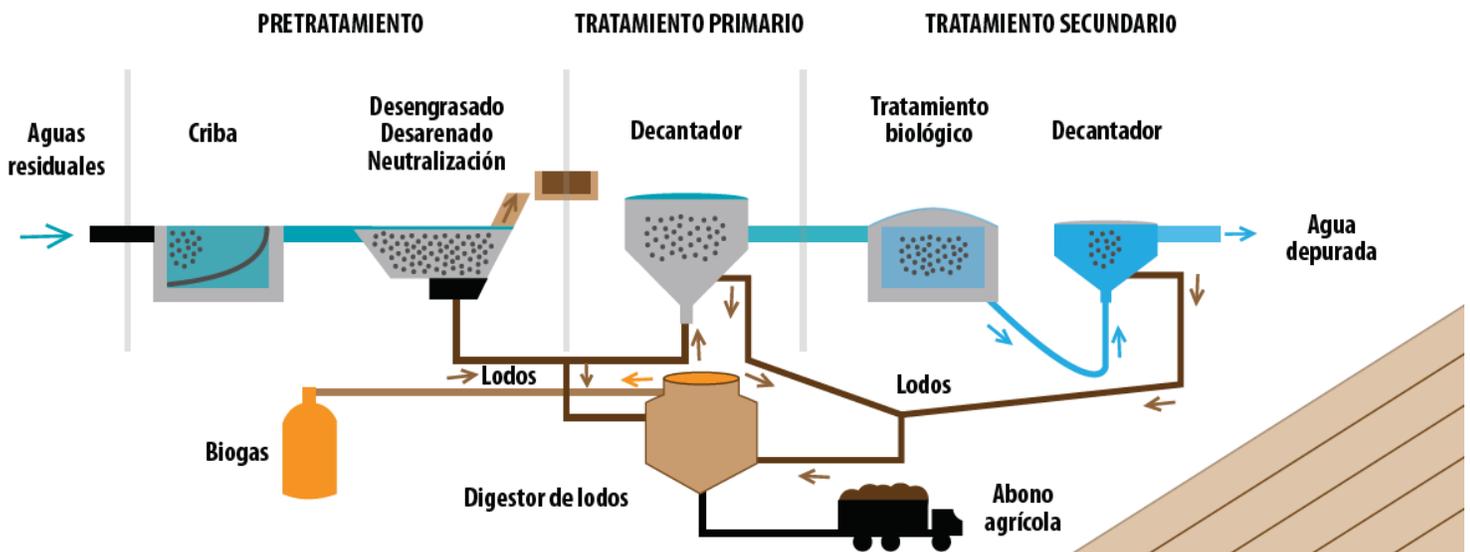


Figura 3. Descripción del Funcionamiento de una planta por fases. (INCvTU 2019)

Para fines prácticos se van a nombrar las muestras de acuerdo con la parte del tratamiento donde fueron obtenidos para el presente proyecto.

Se le llama **influyente** al agua residual que aún no recibe ningún tratamiento, es decir es el agua de entrada de la planta.

Se nombra **agua de reactor**, al agua residual que es producto pasada por el proceso de desinfección, el proceso de desinfección depende de cada planta pues pueden realizar distintos métodos. En las plantas de muestreo se mencionará posteriormente los procesos con los que funcionan.

Se denomina **efluente** al agua que sale de todo el proceso de la PTAR, es decir, es el agua tratada que ya puede ser utilizada para los fines requeridos.

Mientras que se nombra ***lodo residual*** a las muestras de lodo obtenidas del paso de digestión, que está compuesto de los pasos de desengrasado, decantador y tratamiento biológico.

2.2.1 Generalidades

Las Plantas de Tratamiento de Agua Residual convencionales están diseñadas principalmente para retirar contaminantes que anteriormente ya están caracterizados, sin embargo, se ha notado que las plantas de tratamiento no están mostrando eficiencia en la remoción de contaminantes en bajas concentraciones (nanogramos o microgramos por litro), tales como productos farmacéuticos o de cuidado personal, surfactantes, aditivos industriales, plastificantes, plaguicidas entre otros, que, aunque se han detectado a concentraciones bajas no se conoce del todo los efectos negativos que estos pueden provocar en el medio ambiente en el que se encuentra en contacto. A este tipo de contaminantes se les denomina *contaminantes emergentes*.

Actualmente el estudio de contaminantes emergentes se encuentra en prioridad de investigación debido a la escasa información con la que se cuenta hoy en día, que lleve a su eficaz regulación que evite daños colaterales. recientes estudios han determinado que el uso de carbón activado, reactores de membrana son candidatos ideales para poder retirar los contaminantes emergentes del agua residual. Los principales organismos encargados de su investigación son la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA) (García Gómez et al 2011).

2.2.2 Contaminantes emergentes

En los últimos años se han detectado compuestos persistentes a la biodegradación en el ambiente o en la planta de tratamiento. Estos compuestos se denominan emergentes dada su reciente aparición y suelen encontrarse en bajas concentraciones (Tadeo *et al* 2012). Actualmente los contaminantes emergentes están en estudio para poder conocer los efectos adversos que estos podrían ocasionar sobre los ecosistemas, se ha observado que pueden provocar disrupción endócrina, microorganismos resistentes a antibióticos. Anteriormente no eran conocidos del todo pues su presencia en el medio no era significativa al presentar niveles bajos, por lo que pasaban por inadvertidos.

La fuente principal de contaminantes emergentes son las aguas residuales al tener distintas procedencias: industrias, comercios y viviendas. Cada una de ellas puede tener distintos componentes que al ser sometidas al tratamiento en una PTAR se a observado que la remoción de los contaminantes emergentes en PTAR convencionales suele ser bajo o nulo.

Se denominan contaminantes emergentes a detergentes, productos farmacéuticos, productos de cuidado personal, hormonas, edulcorantes, pesticidas, drogas ilícitas y sus metabolitos, así como fragancias, aditivos de gasolina y retardadores de flama. Aunque estas sustancias se presentan a bajas concentraciones tienen la particularidad de la persistencia, pues al ser productos de uso diario conlleva una introducción continua al medio ambiente a pesar de someterse al proceso de limpieza en plantas de tratamiento y se debe a que poseen propiedades químicas

que los favorecen, tales como solubilidad, absorción, polaridad, estabilidad entre otros por lo que su grado de remoción es mínima (Robledo Zacarías et al 2017).

Estos compuestos tienen una amplia gama de usos, tanto industriales como domésticos por lo que se tiene una lista de la variedad de productos que son sometidos a investigación como contaminantes emergentes en agua residual, algunos de ellos son:

- **Pesticidas y plaguicidas:** son mezclas de sustancias con el fin de mitigar o repeler distintas plagas, a consecuencia de que en los últimos años han sido regulados por esta razón la preocupación a sus compuestos de degradación pues se ha visto que pueden ser aún más tóxicos que el mismo compuesto. Los 3 compuestos más tóxicos más utilizados en el mundo son el DDT, heptacloro y atrazina que están incluidas en el tratado de las Naciones Unidas de 2011 en Estocolmo para ser prohibidas, pues tienen la capacidad de ser persistentes, bioacumulables y pueden ocasionar efectos al ambiente y la salud, así como cáncer hepático y defectos congénitos en personas y animales (ATSDR 2002).
- **Drogas ilícitas:** entran a agua residual como drogas inalteradas o como metabolitos derivados de su excreción humana, saliva o sudor o por el desecho de laboratorios clandestinos. Entre las drogas ilícitas más estudiadas son anfetamina, cocaína, benzoilecgonina, norcoína, metanfetamina, heroína entre otros (Gil J. et al 2012).

- **Cuidado personal:** son productos que son aplicados de manera directa en la piel, como cosméticos, productos de baño, fragancias, agentes de protección solar, cremas humectantes, repelentes de insectos entre otros. Estos productos se diferencian de los fármacos porque son usados en grandes cantidades.
- **Surfactantes:** son tensoactivos comúnmente utilizados como detergentes, solubilizantes, emulsificantes o agentes espumantes entre otros. Los tensoactivos se dividen en dos tipos como: tensoactivos aniónicos de tipo sulfonato alquilbenceno lineal (LAS) y no aniónicos de tipo alquilfenolpolietoxilado (APEO) (Terzic 2008). los APEO presentan una toxicidad alta, ya que sus productos de degradación (nonil y octil fenoles) adsorben sólidos obteniendo una propiedad para imitar hormonas naturales por interacciones con el receptor de estrógenos además de efectos cancerígenos (Scott et al 2000).
- **Compuestos de consumo cotidiano:** en los últimos estudios se ha detectado gran presencia de cafeína y el metabolito de la nicotina, así como edulcorantes artificiales, entre otros que son sustancias que se encuentran en productos de consumo diario (Gil J. et al 2012).
- **Productos farmacéuticos:** es uno de los principales puntos de preocupación. La principal fuente de antibióticos es a través de la excreción humana, el desecho de producto no utilizado, así como es consumido por el ganado para su crecimiento. Las PTAR son una de las principales fuentes de incorporación de productos farmacéuticos a cuerpos de agua, pues la

mayoría de estos productos no son retenidos en los procesos de limpieza que se manejan en una planta de tratamiento.

Los fármacos más usados a nivel mundial son: analgésicos, antihipertensivos y antimicrobianos.

Analgésicos. Son medicamentos capaces de suprimir o aliviar el dolor, dichos fármacos son los de mayor consumo a nivel mundial y mayor automedicación (ASHP 1999). Por ejemplo, altas cantidades de naproxeno se han detectado en aguas residuales de las ciudades México, Colombia, Ecuador y Brasil (IMTA 2018).

Antihipertensivos. Son consumidos para tratar la hipertensión arterial, en 2020 se determinó que en México 1 de cada 4 personas padece de hipertensión, es decir el 25.5 % de la población de los cuales el 79.3% afirma tener tratamiento farmacológico (Piña Pozas 2020), donde los más consumidos en 2016 son los IECA (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina) con un 63.78 % de pacientes (Alba L. 2016).

Antibióticos. Son aplicables contra microorganismos patógenos en animales y humanos, además para la preservación de alimentos. Su consumo ha aumentado significativamente lo que se traduce en un incremento de su descarga en los cuerpos de agua, y la posibilidad de alterar el equilibrio del medio con el que tiene contacto, un ejemplo claro de ello es la resistencia microbiana (Gil J. et al 2012).

Al no conocer del todo las consecuencias de verter fármacos a los cuerpos de agua aún no se cuenta con una regulación que permita disminuir significativamente futuros daños.

Actualmente con el paso de la pandemia debida al coronavirus SARS-CoV-2, la atención de la presencia de fármacos en aguas residuales aumentó, pues se ha estimado que el consumo de fármacos a nivel mundial fue superior a 4,500 millones de dosis tan solo en el año 2020, lo que representa un 24% más de consumo en comparación al año 2015 (Instituto Mexicano de Tecnología del Agua 2021).

2.2.3 Impacto y destino de los contaminantes emergentes en plantas de tratamiento de agua residual municipal

El agua es contaminada fácilmente través de vertidos de residuos, fertilizantes o gran variedad de químicos los cuales son desechados a cuerpos de agua dulce que finalmente contamina también los cuerpos de agua salada. La principal problemática que se presenta con los contaminantes emergentes es que varios son persistentes a la degradación biológica en las PTAR donde el postratamiento es poco eficaz o inexistente, en consecuencia, los contaminantes emergentes logran permanecer en los efluentes de las plantas de tratamiento disminuyendo así la calidad de agua tratada que en su mayoría son utilizadas para riego y otra parte en la incorporación de los cuerpos acuáticos.

Una de las principales consecuencias observadas de la persistencia de estos contaminantes es que presentan efectos alterando el sistema endocrino o alteración de las funciones hormonales, ejemplo de ello es el Bisfenol A que es utilizado en

resinas epóxicas y plásticos para empaque de alimentos en el cual se han reportado alteraciones hormonales que pueden aumentar el riesgo de padecer cáncer de mama en humanos (Krishnan et al 1993).

Para el caso de los pesticidas se ha observado que causan efectos hormonales provocando el adelgazamiento de la cascara de huevo de distintas especies, daños en la función reproductiva en el hombre además de cambios de comportamiento en humanos (García Gómez et al 2011). Mientras que los antibióticos como la penicilina, sulfonamidas y tetraciclinas provocan el desarrollo de resistencia bacteriana (Witte 2000).

Entonces, las características que presentan en mayor parte los contaminantes emergentes son:

- Persistencia: no se degradan ni en procesos fotoquímicos, biológicos o químicos.
- Bioconcentración: se presenta cuando la sustancia tiene mayor afinidad a unirse a tejidos que a la fase acuosa.
- Bioacumulación: la concentración aumenta con el tiempo, por lo que a mayor edad del organismo mayor será la concentración del contaminante en él.
- Toxicología: efectos nocivos a la salud.
- Movilidad ambiental: es la capacidad que tienen las sustancias para viajar o cambiar entres distintos medios, dicha capacidad es el primer foco para poder tener un amplio espectro de contaminación (Aguilar Guizar 2013).

En México no se cuenta con una regulación estricta en la cual se puedan evaluar o permitir límites de contaminantes emergentes, en la NOM-001-SEMARNAT-1996 establece límites de contaminantes en aguas residuales, sin embargo, no se menciona regulación alguna para los contaminantes emergentes. Mientras que en la norma NOM-127-SSA1-1994 establece los límites para la calidad del agua, incluye puntos tales como requerimientos bacteriológicos, químicos, radiactivos, físicos y organolépticos, pero en ella tampoco se mencionan los productos farmacéuticos.

Sin embargo, la NOM-052SEMARNAT-2005 abarca el procedimiento y clasificación de residuos peligrosos en el cual ya se integra un listado de la industria farmacéutica, indicando que fármacos caducos deben seguir un proceso de desecho especial, para el 2010 el Sistema Nacional de Gestión de Residuos de Envases de Medicamentos (SINGREM) se encarga de la recolección de medicamentos con fecha de caducidad expirada para su tratamiento y posterior desecho.

Para tener una referencia de contaminantes emergentes de contaminantes emergentes es que se realiza una red de monitoreo a través de laboratorios de referencia, centros de investigación y organizaciones afines de Europa, América del Norte y Asia, conocida como Red NORMAN, de la cual en 2005 se creó un portal en internet donde es posible consultar más de 1000 contaminantes emergentes que además se encuentran en una clasificación de acuerdo a el uso, como productos de cuidado personal, productos farmacéuticos, drogas ilegales, disruptores endócrinos etc, la cual es actualizada de acuerdo a los estudios van avanzando (Peña Guzmán C., et al 2019)

3.0 Antibióticos en agua residual

En México se tiene poca información de estudio sobre la presencia de contaminantes emergentes que pueden tener distintas fuentes de ingreso e importancia sobre el impacto ambiental. Uno de los principales puntos de estudio es la determinación de productos farmacéuticos en específico la presencia de antibióticos.

La importancia de conocer los antibióticos que se encuentran presentes es para encontrar una relación con la resistencia bacteriana, pues, aunque en las PTAR se lleven tratamientos para “limpiar” el agua residual puede que existan factores que favorezcan el desarrollo de la resistencia, tales como la temperatura o el constante apego en el filtro biológico teniendo probabilidad de intercambio genético entre el patógeno y los microorganismos utilizados en la PTAR (Zhen et al, 2017). Teniendo altas probabilidades que se desarrolle resistencia a antibióticos, lo cual, es una problemática ambiental pues, representa una posible complicación para tratamientos posteriores a los patógenos resistentes, o bien alterar el equilibrio de los ecosistemas que se encuentran expuestos.

“La consecuencia más clara de la liberación de antibióticos en ambientes naturales es la selección de bacterias resistentes. Según lo declarado por la Organización Mundial de la Salud, la creciente aparición de resistencia a los antibióticos en patógenos humanos es una preocupación especial, no solo para el tratamiento de enfermedades infecciosas, sino también para otras patologías en las que se necesita profilaxis antibiótica para evitar infecciones asociadas. En este sentido, la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos "(OMS, 2000) significa que

los procedimientos médicos comunes que antes se daban por sentado podrían ser enviados al limbo médico. Las repercusiones son casi inimaginables (Martínez 2009).

La presencia de antibióticos puede favorecer el crecimiento de las bacterias resistentes mientras que disminuye la población de bacterias que aún son susceptibles, por ejemplo, las cianobacterias aunque por el momento no existe indicio que sufran algún impacto de la contaminación por antibióticos son susceptibles a ellos, sin embargo si sufrieran el impacto se vería directamente reflejado en la producción de O₂, pues recordemos que las cianobacterias son las responsables de la producción de más de un tercio de O₂ libre y de la fijación de CO₂. La presencia de antibióticos puede alterar el microbiota ambiental provocando cambios en la composición y actividad que aún no se han logrado comprender (Martínez 2009).

3.1 Antibióticos

Según la RAE un antibiótico es una “sustancia química capaz de paralizar el desarrollo de ciertos microorganismos patógenos, por su acción bacteriostática, o de causarles la muerte, por su acción bactericida, y que es producida por un ser vivo o fabricada por síntesis”. Los antibióticos son el tercer fármaco que es empleado en la medicina humana, mientras que para su aplicación en veterinaria ocupa un 70% (Esparza García F. et al 2020).

Los antibióticos están constituidos por distintos grupos de sustancias que tienen diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico que tienen acción específica sobre organismos específicos. El fin de un antibiótico es controlar o disminuir el número de microorganismos ayudando así al sistema inmunológico para eliminar completamente los mismos (Seija V. 2008). De acuerdo con el modo de acción los antibióticos pueden ser clasificados en distintos grupos:

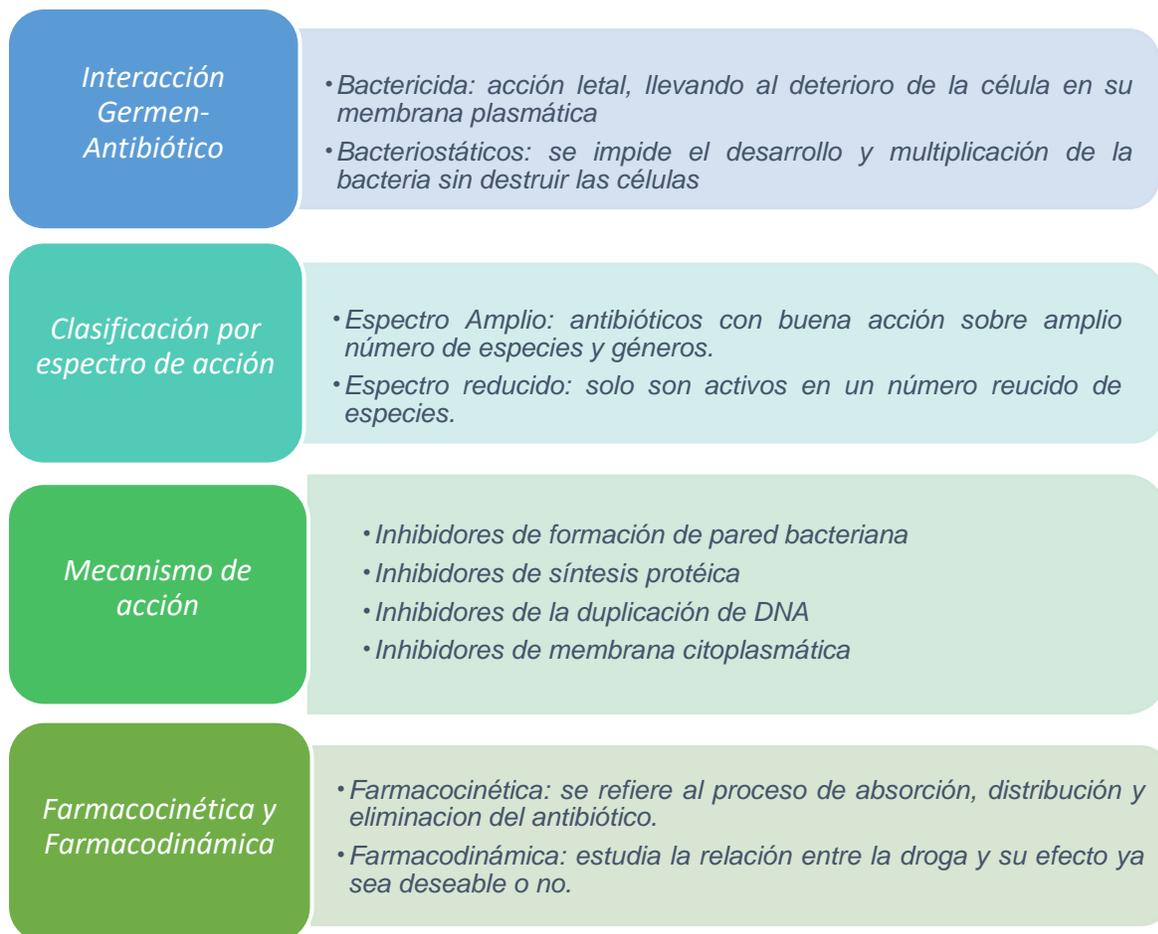
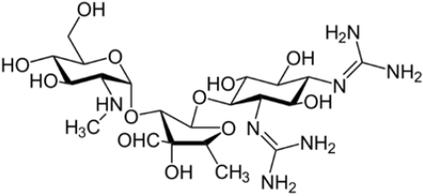
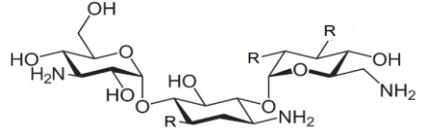
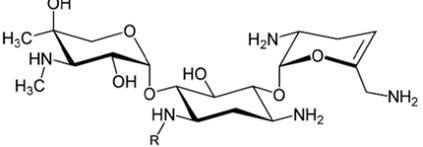
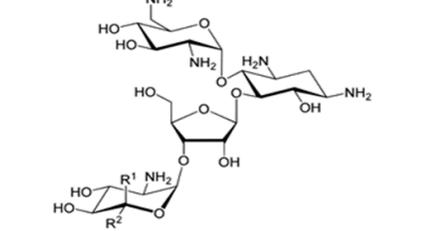


Figura 4. Clasificación de antibióticos por modo de acción (Seija V. 2008)

Ahora bien, existe otra clasificación de antibióticos que se agrupa por su estructura química y acción sobre cada microorganismo, como se menciona a continuación.

- Aminoglucósidos. Está compuesto por dos o más amino azúcares que se encuentran unidos por enlaces glucosídicos, dependiendo de los aminoazúcares que componen los aminoglucósidos se clasifican en distintas familias (ver tabla 1).

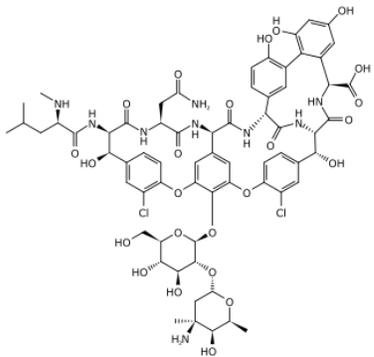
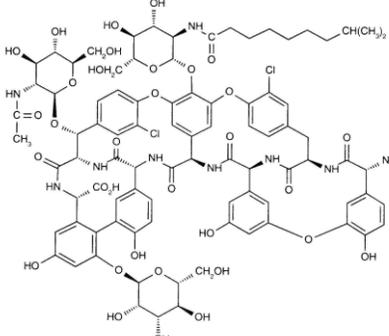
Tabla 1. Familia de Aminoglucósidos (Sejja V. 2008).

Familia	Estructura base	Antibióticos
Estreptomicina		Estreptomicina
Kanamicina		Kanamicina Amicacina Tobramicina Dibekacin
Gentamicina		Gentamicina Netilmicina
Neomicina		Neomicina

Los aminoglucósidos tienen interacción bactericida que inhiben la síntesis proteica al unirse a los ribosomas de la célula.

Glicopéptidos. Tienen estructura química compleja, son de elevado peso molecular, el núcleo central de las estructuras es un heptapéptido que se encuentra unido a distintos azúcares y residuos de aminoácidos que pueden ser en ocasiones aromáticos (García Quetglas E. et al 2003). Dicho grupo está compuesto por solo dos antibióticos: la vancomicina y la teicoplanina.

Tabla 2. Estructura química de Glicopéptido.

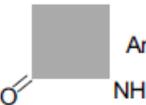
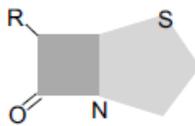
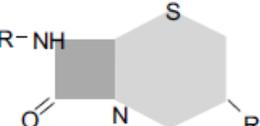
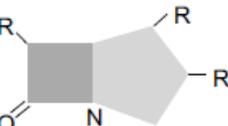
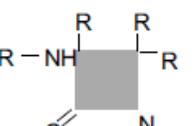
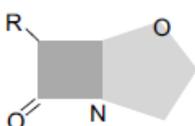
Glicopéptidos	
Vancomicina	 <p>The chemical structure of Vancomycin is a complex glycopeptide. It features a central heptapeptide core consisting of seven amino acids: D-tyrosine, D-threonine, D-phenylalanine, D-lysine, D-valine, D-alanine, and D-serine. This core is linked to two glucose units and a decylamine chain. The structure is highly branched and contains several hydroxyl and chlorine substituents.</p>
Teicoplanina	 <p>The chemical structure of Teicoplanin is a complex glycopeptide. It features a central heptapeptide core consisting of seven amino acids: D-tyrosine, D-threonine, D-phenylalanine, D-lysine, D-valine, D-alanine, and D-serine. This core is linked to two glucose units and a decylamine chain. The structure is highly branched and contains several hydroxyl and chlorine substituents.</p>

La característica que les da ventaja para la erradicación de patógenos es que tienen una estructura similar a la pared celular al contar en su estructura compuesta por

péptidos que tienen azúcares y a la vez están ligados a aminoácidos, por lo que pueden inhibir la síntesis de la pared celular.

- **Betalactámicos.** Esta familia de antibióticos se caracteriza por la presencia del anillo betalactámico, para que el antibiótico sea activo es necesario que esté unido a otros radicales, que por lo general son anillos, dicha unión a diferentes cadenas o anillos se deriva a diferentes grupos de antibióticos betalactámicos. Teniendo origen a penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas, monobactámicos y ácido clavulánico.

Tabla 3. Grupos de betalactámicos (Suárez C. et al 2009)

	Anillo betalactámico + Anillo secundario = Núcleo del betalactámico → GRUPO ANTIBIÓTICO		
	Anillo tiazolidínico	Ácido 6-aminopenicilánico	PENICILINAS
	Anillo dihidrotiacínico	Ácido 7 α-cefalosporínico	CEFALOSPORINAS
	Anillo pirrolínico	Carbapenemo	CARBAPENEMAS
	Ninguno	Monobactamo	MONOBACTÁMICOS
	Anillo oxazolidínico	Clavamo/oxapenamo	ÁCIDO CLAVULÁNICO ^a

^aTodos los inhibidores de las betalactamasas que se usan en la práctica (ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam) tienen estructura betalactámica. El sulbactam y el tazobactam son derivados sulfónicos del ácido penicilánico.

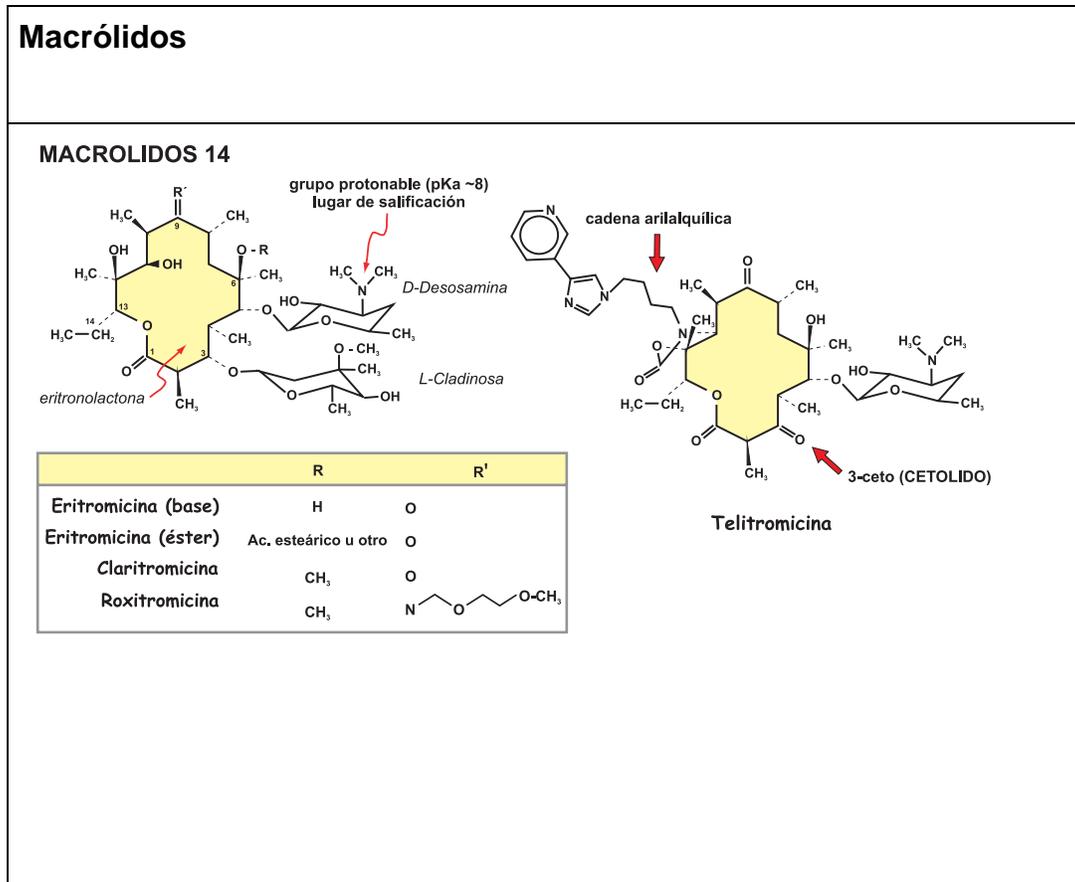
Los betalactámicos actúan de tal manera que inhiben la última etapa de síntesis de la pared celular bacteriana, son consideradas como bactericidas. Tal familia de antibióticos está dividida en 4 grupos principales: penicilinas, cefalosporinas, carbapenemas y aztreonam, cada grupo cuenta con antibióticos que comparten su estructura nuclear, pero se diferencian de sus ramificaciones, dando pie a distintos antibióticos como se puede observar en la tabla 4.

Tabla 4. Clasificación de betalactámicos (Del Arco J. 2014).

Grupo		Antibióticos	
Betalactámicos	Penicilinas	Bencilpenicilinas Penicilina G Penicilina V Carbixipenicilinas Tiraciclina Isoxazolilpenicilinas Cloxacilina	Aminopenicilina Amoxicilina Ampicilina Bacampicilina Ureidopenicilinas Piperaciclina
	Cefalosporinas	1ra generación Cefadroxilo Cefalexina Cefradina Cefalotina Cefazolina	3ra generación Cefixina Cefpodoxima Proxetilo Ceftilbuteno Cefditoreno
		2da generación Cefaclor Cefuroxima Axetilo Cefprozilo Cefonicida Cefoxitina Cefuroxima Cefminox	4ta generación Cefepima Cefpiroma
	Monobactamas	Aztreozam	
	Carbapenemas	Imepenem Meropenem Ertapenem	

- Macrólidos. Son antibióticos semisintéticos derivados de la eritromicina producida por *Streptomyces erytreus*, su principal característica es que cuentan con un anillo macrólido de lactona entre 14 y 16 átomos.

Tabla 5. Macrólidos (Serra H. A. 2006)

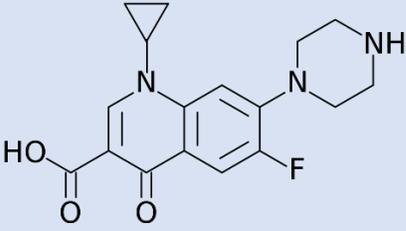


La interacción de los macrólidos es bacteriostática por lo que pueden inhibir la síntesis proteica al unirse a la subunidad 50S.

- Quinolonas. Son un grupo de antibióticos derivados de la molécula básica formada por una estructura con dos anillos conteniendo el residuo de un N

en la posición 1, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3.

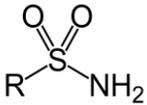
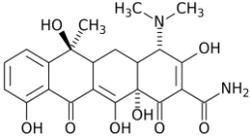
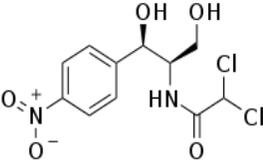
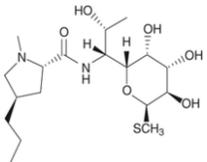
Tabla 6. Quinolonas estructura y antibióticos.

	Estructura Base	Antibióticos
Quinolonas		Ciprofloxacino Ofloxacino Levofloxacino Moxifloxacino Norfloxacino

Las quinolonas inhiben la síntesis DNA y cuando se encuentra a altas concentraciones también inhibe la síntesis de RNA, el efecto se debe a la habilidad de las quinolonas de estabilizar los complejos de DNA y topoisomeras II (Seija V. 2008).

La clasificación anteriormente mencionada es mencionando solo los grupos principales de antibióticos, sin embargo, aún existen más grupos no menos importantes que son los siguientes:

Tabla 7. Antibióticos según estructura y mecanismo de acción.

Grupo	Estructura	Acción	Antibióticos
Sulfamidas		Bacteriostático bloqueando la síntesis del ácido fólico bacteriano inhibiendo la dihidropteroato sintetasa	Trimetoprima y Crotimoxazol.
Tetraciclinas		Agente bacteriostático inhibe la síntesis proteica al unirse a la subunidad 30S de los ribosomas	Doxiciclina, Minociclina, Tetraciclina, Oxitetraciclina y Tigeciclina.
Anfenicoles		Bacteriostático, inhibe la síntesis proteica por la unión a la subunidad ribosomal 50S.	Cloranfenicol
Linosamidas		Agente bacteriostático, inhibe la síntesis proteica uniéndose a la subunidad 50S de los ribosomas	Clindamicina y Lincomicina.

El consumo de antibióticos no está totalmente regulado a nivel mundial, en 2010 la PROFECO realizó una encuesta a 29 estados de la República Mexicana en la que se pretendía conocer el estado actual de consumo de medicamentos, lo siguiente es lo que arroja la encuesta:

¿Te automedicas antibióticos?

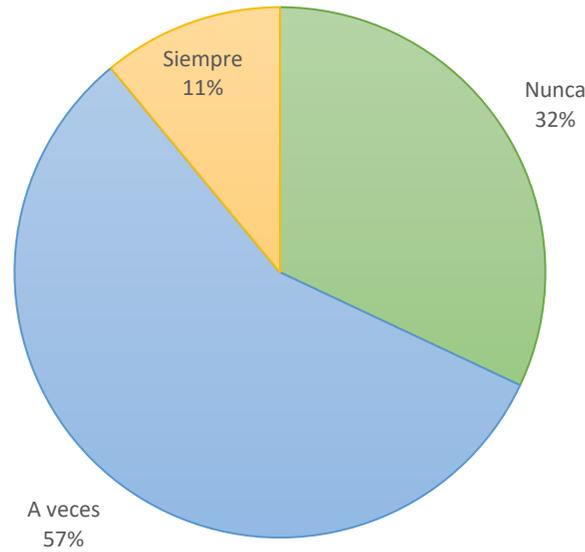


Figura 5. Automedicación de antibióticos (PROFECO 2010)

Del total de encuestados, menciona que el 11% se automedica antibióticos presentando un signo alarmante pues el que una persona se automedique significa que corre el riesgo de tomar un antibiótico cuando en ocasiones no es necesario, o bien consumir el equivocado y en dosis erróneas. Además, se observa que el 57% llega a consumirlo en ocasiones sin la supervisión de un experto que, en el caso de que lo necesite le medique el correcto y por el tiempo de tratamiento correcto.

¿Ante qué enfermedades o padecimientos ingieres antibióticos?

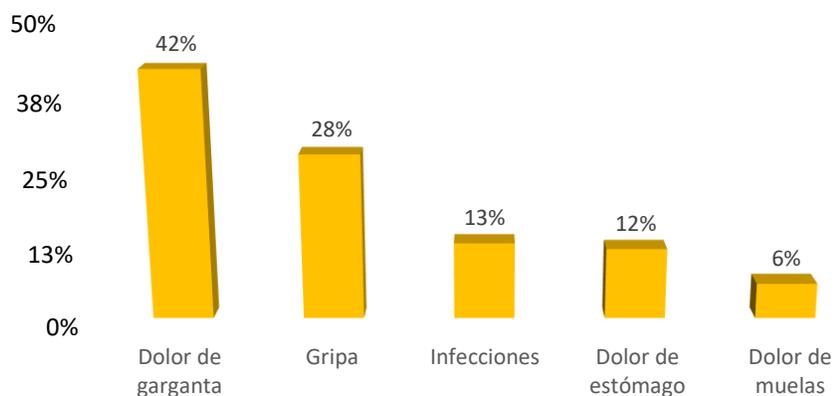


Figura 6. Consumo de antibióticos en padecimientos (PROFECO 2010).

A pesar de que gran número de personas confía con medicarse con antibióticos al presentar síntomas, cabe destacar que los antibióticos curan solo enfermedades causadas por bacterias. Es común pensar que la gente necesita utilizar antibióticos para resfriados, pero está comprobado que la gripe, influenza, gripe y resfriado común es causado por virus, por lo que un antibiótico no es la solución para aliviar dolor, fiebre, tos u otros síntomas relacionados con la gripe que es causada por un virus (INSP 2020).

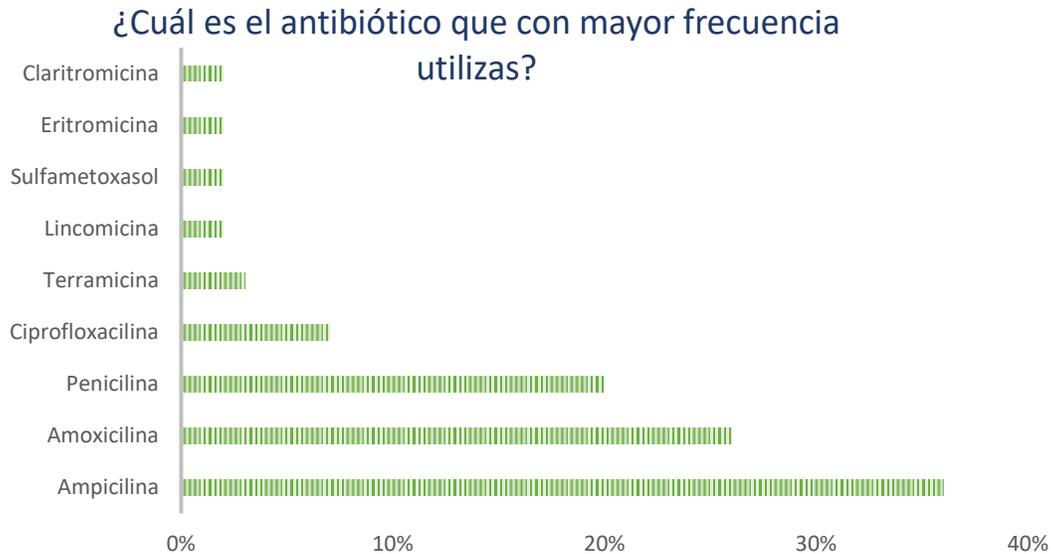


Figura 7. Antibióticos de mayor consumo (PROFECO 2010).

Existe una prescripción inadecuada de antibióticos mayormente en relación con las Infecciones Respiratorias Agudas (IRAS) y con las Infecciones Gastrointestinales/Diarreicas Agudas (EDAS), pues se sabe que entre los años 1980 y 1990 se observó que entre un 60 y 80% de los pacientes con IRAS y EDAS fueron medicados con antibióticos, cuando en realidad sólo para el 10-15% de los casos era necesario un tratamiento con antibióticos, además que en un hospital de tercer nivel se concluyó que la medicación con antibióticos fue mayormente justificada, sin embargo el tiempo de tratamiento fue incorrecto, poniendo entonces en riesgo la salud del paciente y la posible resistencia desarrollada por la bacteria (Dreser A., et al 2008)

Resultado de la investigación sobre consumo de antibióticos, se decide el 25 de agosto del 2010 establecer en la Ley General de Salud en México el artículo 226, el cual enuncia que *“los medicamentos solo pueden adquirirse con receta o permiso*

especial”, es decir, para la venta de medicamentos será necesaria presentar receta médica la cual podrá ser retenida por la farmacia o sellada de manera que sea suministrada 3 veces si el tratamiento así lo necesita, dicha venta controlada será aplicable para la venta de antibióticos y anticonvulsivos.

3.2 Importancia de la determinación a bajas concentraciones de antibióticos en aguas residuales y tratadas

La importancia de conocer los antibióticos que se encuentran presentes es para encontrar una relación con la resistencia bacteriana, pues, aunque en las PTAR se lleven tratamientos para “limpiar” el agua residual puede que existan factores que favorezcan el desarrollo de la resistencia, tales como la temperatura o la probabilidad de intercambio genético entre el patógeno y los microorganismos utilizados en la PTAR (Zhen et al, 2017). Causando que se eleven las probabilidades que se desarrolle resistencia a antibióticos, lo cual, es una problemática ambiental pues, representa una posible complicación para tratamientos posteriores a los patógenos resistentes, o bien alterar el equilibrio de los ecosistemas que se encuentran expuestos.

“La consecuencia más clara de la liberación de antibióticos en ambientes naturales es la selección de bacterias resistentes. Según lo declarado por la Organización Mundial de la Salud, la creciente aparición de resistencia a los antibióticos en patógenos humanos es una preocupación especial, no solo para el tratamiento de enfermedades infecciosas, sino también para otras patologías en las que se necesita profilaxis antibiótica para evitar infecciones asociadas. En este sentido, la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos "... significa que los

procedimientos médicos comunes que antes se daban por sentado podrían ser enviados al limbo médico. Las repercusiones son casi inimaginables” (Martinez 2009).

Cuando se realizan tratamientos con antibióticos existen mutantes resistentes, que al sobrevivir permite la creación de una nueva población de microorganismos resistentes. Existen distintos mecanismos por los que una bacteria presenta resistencia a antibióticos, clasificándose en 4 grupos:

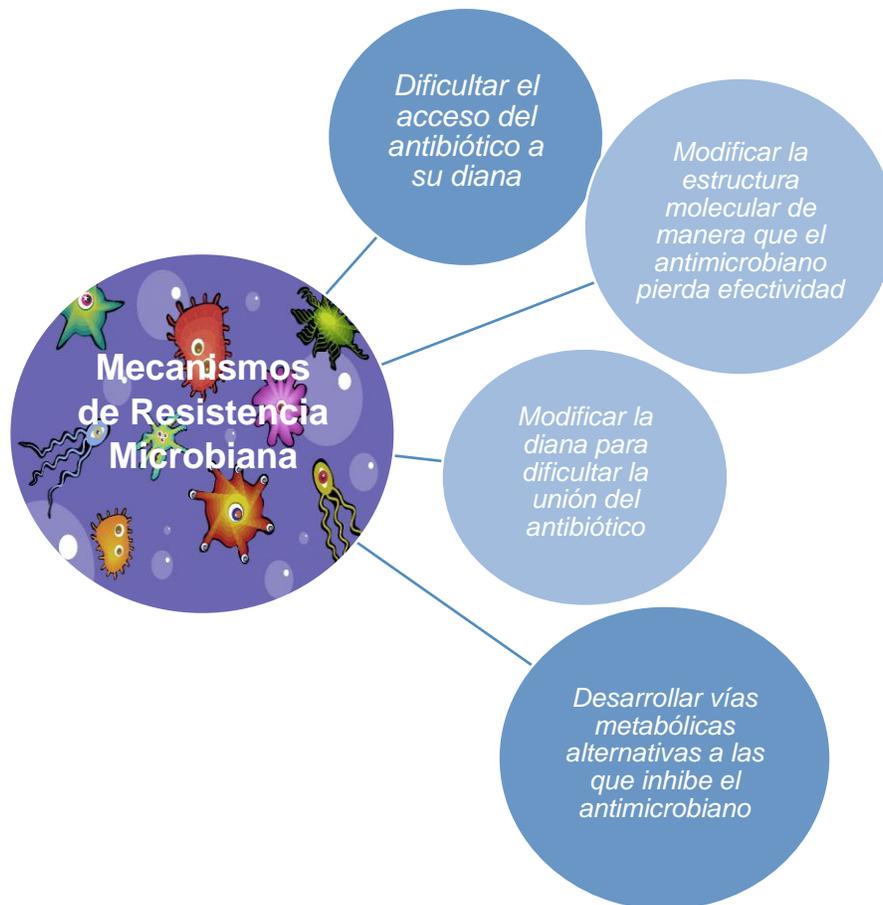


Figura 8. Mecanismos de Resistencia Microbiana (Del Arco J. 2014)

4.0 Determinación de Antibióticos representativos en PTAR

4.1 Técnicas analíticas para determinación de contaminantes en matrices acuosas y lodos

El poder determinar una técnica para cuantificar analitos a bajas concentraciones sin duda presenta un gran reto. En México al no contar con regulación de la presencia de antibióticos conlleva que no se desarrollen técnicas analíticas para la determinación de estos. Sin embargo, en otros países se han sugerido técnicas de química analítica instrumental con la cual es posible detectar concentraciones de microgramos por litro, incluso a nano gramos por litro.

Las técnicas analíticas instrumentales se caracterizan por basarse en medir una propiedad del analito de estudio, es decir, radica en una relación existente entre una propiedad del analito con la composición (análisis cualitativo) o bien, con la cantidad presente en una matriz (análisis cuantitativo). Las propiedades que pueden relacionarse son la absorbancia, índice de refracción, pH, área de pico, potencial, conductancia, intensidad de corriente, etc. (Revilla Vázquez et al 2012). Los métodos instrumentales actualmente usan técnicas de separación denominadas técnicas cromatográficas y electroforéticas, las cuales remplazan los procesos de destilación, precipitación que eran usados en los métodos analíticos clásicos.

En la tabla 8 se puede observar las características químicas y físicas que son utilizadas para un análisis cualitativo o cuantitativo.

Tabla 8. Propiedades químicas y físicas usadas en métodos instrumentales (Skoog et al 2008)

Propiedades características	Métodos Instrumentales
Emisión de radiación	Espectroscopía de emisión (rayos X, UV, luz visible, de electrones, de Auger); fluorescencia, fosforescencia y luminiscencia (rayos X, UV y luz visible)
Absorción de radiación	Espectrofotometría y fotometría (rayos X, UV, luz visible, IR); espectroscopía fotoacústica; resonancia magnética nuclear y espectroscopía de resonancia de espín electrónico
Dispersión de radiación	Turbidimetría; nefelometría; espectroscopia Raman
Refracción de radiación	Refractomería; interferometría
Difracción de radiación	Métodos de rayos X y difracción electrónica
Rotación de radiación	Polarimetría; dispersión óptica rotatoria; dicroísmo circular
Potencial eléctrico	Potenciometría; cronopotenciometría
Carga eléctrica	Coulombimetría
Corriente eléctrica	Amperometría; polarografía
Resistencia eléctrica	Conductometría
masa	Gravimetría (microbalanza de cristal de cuarzo)
Razón masa/carga	Espectrometría de masas
Velocidad de reacción	Métodos cinéticos
Características térmicas	Gravimetría térmica y titulometría; calorimetría de barrido diferencial; análisis térmicos diferenciales; métodos conductimétricos térmicos
Radiactividad	Métodos de activación y de dilución de isótopos

En la tabla 8 se puede observar que es necesaria una fuente de energía que estimula el analito y así genera una respuesta, las fuentes de energía pueden ser de carácter térmico, radiación electromagnética, aplicación de carga eléctrica, voltaje o corriente, las características mencionadas en ocasiones son utilizadas después de un proceso de separación del analito para completar el análisis (Skoog D., et al 2008).

En los últimos años se han desarrollado métodos analíticos basados en la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas para la determinación de fármacos y antibióticos. Como existe una amplia gama de antibióticos, dificulta que se cuente con una sola técnica para la determinación debido a la variación de las propiedades fisicoquímicas. Por otro lado, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos de América (USEPA) ha dado a conocer metodologías para la determinación de productos farmacéuticos de cuidado personal (PPCP) a través de HPLC-MS/MS, tomando en cuenta solo antibióticos principales (Chansik K. et al 2018).

En realidad, se necesitan distintas técnicas para conocer la presencia de antibióticos de características similares en distintos tipos de muestras, tales como las que se presentan en la Tabla 8.

Tabla 9. Métodos para determinación de antibióticos en agua y lodo residual.

Muestra	Método	Fuente
Agua Residual	HPLC-ESI-MS/MS MRM	Gros et al 2013
Agua de Río		Iglesias et al 2012
Agua potable		Yet et al 2007
Agua superficial		Nebot et al 2007
Lodo de Depuradora	HPLC-MS	Göbel A., et al 2005
Lodos porcinos	UHPLC-MS/MS	Xiaowei L. et al 2017
Agua residual y muestras ambientales		Garcia-Lor E., et al 2011 Hong Y. et al 2015
Agua y lodo residual municipal		Yuan X. et al 2014
Agua	Cromatografía de gases-acoplado a detección de emisión atómica	Chiavarino B. et al 1998

Como se observa en la tabla 8, se utiliza ampliamente la cromatografía líquida por su alta sensibilidad, que de igual manera se observa que se utilizan las dos variantes

de la CL, para los productos farmacéuticos se utiliza la espectrometría de masas por las ventajas que presenta, aunque se pueden utilizar distintos detectores.

Cabe destacar que, para poder realizar un análisis en la mayoría de las ocasiones es necesario un tratamiento de la muestra en cuestión, pues esto permitirá la remoción, o en su defecto, disminución de interferentes que puedan afectar la determinación analítica. El tratamiento de muestra es un punto clave y crítico del que dependerá en mayor parte el éxito en la obtención de buenos resultados de un análisis. De hecho, la preparación de la muestra es considerado de los pasos más lentos durante el análisis, pues conlleva una serie de procedimientos cuidadosos necesarios para una matriz (Skoog D. A. et al 2008).

El proceso de preparación de muestra está determinado por pasos generales descritos a continuación:

- 1) Acondicionamiento de la muestra: modificar la muestra a condiciones (Físicas o químicas) necesarias para el uso del equipo.
- 2) Eliminación de interferentes: separación del analito de la matriz para evitar contaminación o enmascaramiento del compuesto de interés.
- 3) Pasos adicionales: se llevan pasos de dilución, concentración o reprivatización del analito de interés (Vidal Martínez L., 2009)

Tabla 10. Tratamiento de la muestra.

muestra	Método de preparación	Extracción
Líquido	<ul style="list-style-type: none"> › Filtración › Centrifugación 	<ul style="list-style-type: none"> › Extracción líquido-líquido › Extracción en fase sólida › Micro extracción en fase solida › Sorción de barras magnéticas
Lodo	<ul style="list-style-type: none"> • Liofilización • Molienda 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracción sólido-líquido • Agitación • Soxhlet

Para las muestras líquidas, la preparación de la muestra abarca distintas opciones: se pueden realizar filtración, centrifugación o decantación para eliminar sólidos suspendidos remanentes, mientras que para lodos puede ser usada la liofilización, la cual elimina la humedad contenida y favorece el inicio de la extracción de los analitos de estudio. Esto tiene la finalidad de aislar y preconcentrar el analito de la matriz (Pérez-Almiñana V. 2014).

Como se puede observar en la tabla 9 las muestras de agua residual pueden ser preparadas con solo la eliminación de sólidos suspendidos y después realizar una extracción líquido-líquido, la cual consiste en la separación del compuesto de interés favoreciendo la dilución del compuesto en la fase orgánica o acuosa; sin embargo,

una de las desventajas que presenta este método es el uso de grandes volúmenes de disolventes, problema que se presenta actualmente pues se está en la búsqueda y desarrollo de técnicas analíticas verdes en las cuales se busca generar la menor cantidad de residuos obtenidos por un análisis. Tanto la extracción y micro extracción en fase sólida (SPE y SPME respectivamente, por sus siglas en inglés) consiste en el paso de la muestra a través de un sólido que tendrá afinidad por los analitos los cuales serán extraídos, tal técnica consiste en 4 etapas importantes: 1) acondicionamiento del cartucho, 2) pasar la muestra, 3) elución de sustancias interferentes, 4) elución del analito. Estas técnicas tienen de ventaja que usan un volumen pequeño tanto de muestra como de disolventes, para conseguir la concentración del compuesto de interés y la eliminación de interferencias (Vidal-Martínez L. 2009). En el caso de sorción de barras magnéticas (SBSE por sus siglas en inglés) se basa en el mismo principio de la SPME, el cual se basa en la sorción del analito en la fase aceptora (PDMS, - polidimetilsiloxano - material generalmente usado) contenida en la barra magnética, sin embargo, sólo se utiliza cuando la muestra es líquida y cuando se alcanza el equilibrio. Se ha observado una mayor eficiencia de extracción en comparación con SPME., después de la extracción se sigue con el paso de desorción en la cual se lleva por desorción térmica (TD) para el caso de compuestos volátiles y cromatografía de gases y la desorción líquida (LD) para el caso de compuestos en las que se utiliza cromatografía líquida (Zuloaga O., et al., 2020).

Por otro lado, la extracción de analitos de lodos cuenta con distintas técnicas como lo son: extracción líquido-sólido, en la que se emplean disolventes que favorecen la

extracción del analito de la muestra sólida. Este método puede hacerse más eficiente a través de dos técnicas: una con el uso de calor y otra con agitación. A través de Soxhlet se introduce la muestra en un cartucho de celulosa, el cual es colocado dentro del tubo Soxhlet y en la parte inferior se coloca un matraz bola con un disolvente el cual se evapora cuando se aplica calor, el evaporado pasa a través de la muestra y es condensado de nuevo con ayuda de un refrigerante provocando un ciclo del paso del disolvente, obteniéndose así la extracción del analito. En cambio, con agitación el proceso es más fácil, pues la muestra solo se le adiciona un disolvente y se somete a agitación durante cierto tiempo, existen distintos tipos de agitación y dependerá de las características de la muestra para determinar la agitación necesaria. Después de dicha agitación se sigue un procedimiento de filtración para lograr la separación del solvente y el sólido (Esteve-Turrillas F., 2006).

4.2 Comparación entre técnica HPLC-MS vs UPLC-MS

La cromatografía líquida es un gran método analítico de separación y se puede aplicar a todas las ciencias. El uso amplio de esta técnica se debe a que nos da la posibilidad de separar y determinar varias sustancias de interés contenidas en una matriz compleja.

La cromatografía líquida consiste en diluir la muestra de interés en una fase móvil que posteriormente se hace pasar a través de una fase estacionaria fija en una columna de separación. La interacción entre la fase móvil y la fase estacionaria varía

respecto a la polaridad de cada una de ellas, lo cual favorece la separación de los analitos al paso por la cromatografía. Los analitos que tienen mayor interacción con la fase estacionaria se mueven lentamente con la fase móvil, mientras que si fuera el caso en que el analito tiene una mayor afinidad a la fase móvil esto provocará que se mueva con mayor rapidez a lo largo de la fase estacionaria, logrando entonces la separación de los componentes. Una vez separados los compuestos de interés se hace el uso de detectores ya sea para solo identificar (método cualitativo) o determinar concentración (método cuantitativo). Los detectores para cromatografía líquida se dividen principalmente en dos tipos: detectores que se basan en una propiedad de la solución son sensibles a una propiedad de la fase móvil (índice de refracción, densidad, constante dieléctrica, etc.) y los detectores basados en la propiedad del soluto (absorbancia, fluorescencia, etc.). (Skoog D., et al 2008)

La cromatografía líquida se divide en dos métodos de amplia aplicación, la cromatografía líquida de alta resolución (conocida como HPLC por sus siglas en inglés) y la cromatografía de ultra alta resolución (conocida como UPLC por sus siglas en inglés) la cual es una técnica derivada de la evolución del HPLC, en ambas técnicas instrumentales se sigue el mismo fundamento, sin embargo, el rendimiento difiere entre ambos (Taleuzzaman., et al 2015). Dichas técnicas se diferencian por particularidades que permiten un mayor sensibilidad, resolución y disminución de tiempo de análisis para UPLC en comparación con HPLC (Gumustas M., et al 2013).

Tabla 11. Diferencias HPLC vs UPLC (Gumustas M., et al 2013, Taleuzzaman., et al 2015)

	HPLC	UPLC	Rendimiento
Tamaño de partícula de columna	3-5 μm	<2 μm	Disminución del poro permite una mejor separación de analitos.
Contrapresión máxima	35-40 MPa	103.5 MPa	A mayor presión se logra una alta capacidad de separación y se mejora la velocidad de análisis.
Dimensiones de la columna	150 x3.2 mm	150 x 2.1 mm	A menor dimensión de partícula se puede lograr alcanzar mayores presiones, separaciones más rápidas con columnas más cortas.
Temperatura	30°C	65 °C	Se logran caudales elevados al reducir la viscosidad de la fase móvil
Volumen de inyección	5-100 μL	1-5 μL	Disminución considerable en el uso de solventes y volumen de muestra, mejor forma de pico y efectos bajos de arrastre.

Las características que tiene el UPLC muestra mayor ventaja en aplicación en comparación con HPLC, aunque cabe señalar que el uso de HPLC también presenta ventajas pues tiene una mayor facilidad de uso y manipulación, buena robustez y una sensibilidad ajustable. Sin embargo, la posibilidad de trabajar a altas presiones en UPLC permite una mejor separación de los analitos de interés. A diferencia de la cromatografía de gases (GC) -MS, la LC-MS puede determinar analitos polares sin necesidad de derivatización previa. Esta ventaja de LC-MS es particularmente atractiva cuando se analizan simultáneamente compuestos que pertenecen a grupos estructuralmente distintos cuya determinación por GC-MS implicaría más de una reacción de derivatización (La Ferré *et al.*, 2008).

Actualmente en la industria farmacéutica existe alta demanda en el uso de la técnica de UPLC debido a la alta resolución que presenta favoreciendo la determinación de distintos componentes a la vez, así como un tiempo corto de análisis obteniendo datos confiables, mayor sensibilidad, a pesar de que los costos pueden llegar a aumentar por la columna. Este aumento se contrarresta notablemente al reducir el tiempo y solventes necesarios para el análisis (Taleuzzman M., *et al* 2015).

Ahora bien, el uso del espectrómetro de masas como detector permite la confirmación y cuantificación del analito, La detección por espectrómetro de masas en UPLC es 2 a 3 veces mayor en comparación con HPLC, la cual se logra al tener una mejor separación cromatográfica (Taleuzzman M., *et al* 2015).

La espectrometría de masas (MS) consiste en la atomización de la muestra para después ser sometida a una ionización, obteniendo entonces iones de la molécula de interés tales que, cada ion será separado respecto a su relación masa carga

(m/z) y finalmente por un detector se lleva el conteo de cada tipo de ion, permitiendo así, la contabilización de un analito de interés en una muestra. La espectrometría de masas proporciona información acerca la composición, estructura y composición de las moléculas en una matriz compleja (Skoog D., et al 2008).

El principio fundamental de la espectrometría de masas (MS) es generar iones a partir de compuestos orgánicos o inorgánicos en fase gaseosa, se puede ionizar térmicamente, a través de campos eléctricos, con impactos de electrones, iones o fotones energéticos, átomos neutros energéticos, átomos excitados electrónicamente entre otros. Los iones generados pueden ser átomos, moléculas ionizadas o fragmentos de ellos, una vez producidos los iones, se pasa por un proceso de separación de acuerdo con la relación masa-carga, el cual se logra a través de campos eléctricos o magnéticos, estáticos o dinámicos, o bien, por una separación en una región libre en la que se logra por la energía cinética que poseen los iones cuando entran a una trayectoria de tiempo de vuelo (TOF) (Jürgen H. 2017).

Entonces, un espectro de masas es información de un parámetro relacionado con la abundancia de los diferentes tipos de iones en función de la relación masa/carga de cada uno de ellos, la instrumentación debe ser capaz de lo siguiente:

- Poder vaporizar las muestras con temperaturas de evaporación diferentes.
- Cuando la muestra está en estado gaseoso el espectrómetro debe poder generar iones a partir de la molécula de interés.

- Una vez fragmentada la molécula, ésta debe ser separada por su relación en masa/carga.
- Finalmente, cuando ya son separados los fragmentos debe de poder detectar los iones formados y analizar la información debidamente.

Por la naturaleza con lo que tiene que lograr un espectrómetro de masas es que se debe de constar de cuatro partes principales el equipo_

1. Sistema de introducción de la muestra.
2. Fuente de iones.
3. Analizador donde se lleva a cabo la separación de los fragmentos.
4. Sistema de detección e interpretación de datos.

Todos los componentes del equipo deben mantenerse en una cámara de vacío para evitar que se generen reacciones secundarias entre las moléculas y el analito de estudio.

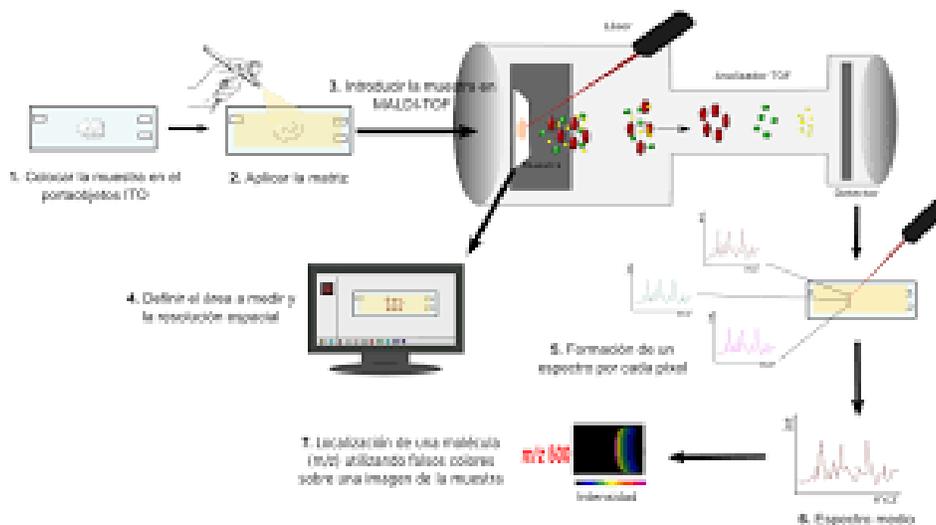
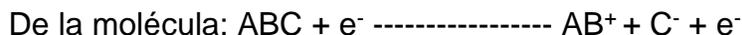


Figura 9. Diagrama de operación de espectrómetro de masas.

Como se muestra en la figura 9, una vez vaporizada la muestra se ioniza mediante un haz de electrones de alta energía, para lograr focalizar el haz de electrones se utiliza un campo magnético paralelo al movimiento de los electrones, la muestra atraviesa el haz de electrones, que al colisionar con ellos pueden suceder 4 casos:



De los cuatro casos anteriores el más probable es el de eliminación de un electrón que cualquiera del resto, por lo que normalmente se obtiene un ion ABC^+ , una vez formados los iones estos se hacen pasar a través de un campo eléctrico positivo para repelerlos y expulsarlos fuera del haz de electrones, una vez que salen del haz

de iones deben ser separados para ser detectados en los que se utilizan distintos analizadores como lo es el campo magnético y el analizador cuadrupolar.

1. Analizador magnético: como se observa en la figura 10, cuando los iones abandonan la cámara de ionización estos se mueven con cierta velocidad y se someten a un campo magnético perpendicular al movimiento de éstos obligando a los iones teniendo una trayectoria circular en la que entre menor sea el valor de m/z menor será la curvatura de la trayectoria.

En el caso de isótopos a pesar de contar con la misma carga al ser unos más pesados que otros, menor será la curvatura que tendrán, llegando así a distintos puntos del detector y por tanto tendrán distinta intensidad en la señal que dejan llamada abundancia relativa de cada compuesto.

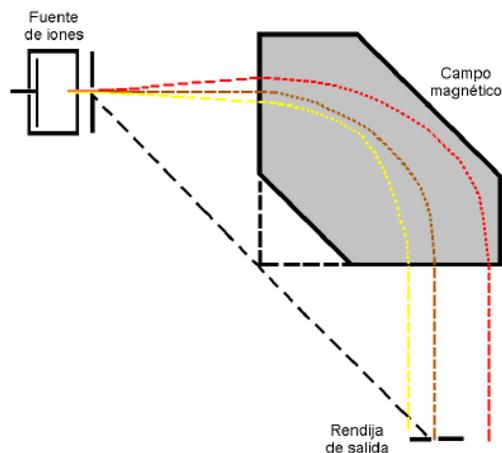


Figura 10. Analizador de masas de campo magnético.

1. Analizador cuadrupolar. Este analizador no usa campos magnéticos para la separación de los iones, está conformado por cuatro barras metálicas rectas y paralelas de manera que la fuente de iones viaje en el centro del arreglo, dichas barras se les aplican un potencial y potencial alterno de radiofrecuencia, la combinación de ambos campos genera un filtro de masas de manera que el ion más estable pasa a través de las barras mientras que el resto de los iones chocan con las barras, pasando únicamente al detector (figura 10).

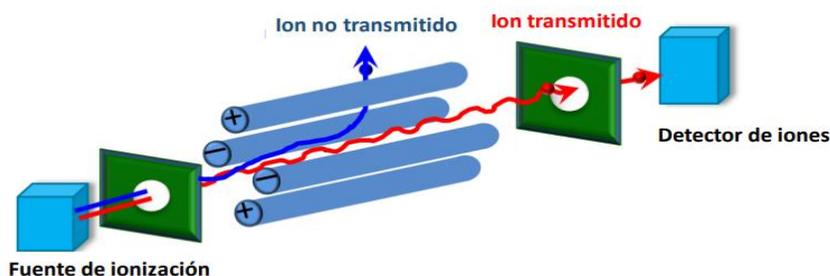


Figura 11. analizador de cuadrupolo.

Una vez que los iones pasan por el analizador son detectados a través de distintos sistemas como los son la caja de Faraday, el cual consiste en hacer chocar los iones de manera que toman electrones neutralizando su carga, tal ejercicio conlleva un gasto de corriente eléctrica para neutralizar todos los iones que alcanzaron la placa, el gasto de energía es directamente relacionado con la abundancia de iones del analito de interés.

Otro sistema de detección es el multiplicador de electrones, en éste detector se aprovecha la energía cinética de los iones que chocan en una superficie que está recubierta de tierras raras, al momento del impacto se emite una corriente de electrones que inciden sobre una segunda placa y estos en una tercera así sucesivamente, emitiendo una corriente eléctrica que es reflejada con la abundancia del ion.

Mientras que el detector de placa fotográfica es muy poco usada, ya que solo es necesaria cuando se requieren estudios con alta sensibilidad y resolución.

Es por ello por lo que, actualmente la herramienta analítica utilizada actualmente se basa en cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas, pues mientras la LC permite la separación de los analitos de interés de una manera eficiente el espectrómetro de masas nos da la posibilidad de identificar y además cuantificar la composición de cada analito contenidos en una sola muestra con una mejor resolución de los analitos en comparación con HPLC.

4.3 Determinación de antibióticos por Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución acoplado a espectrómetro de masas.

Como se mencionó anteriormente el uso de UPLC-MS ha ganado popularidad para determinaciones analíticas, incluyendo la determinación de antibióticos.

Se reportan en distintos países estudios para la determinación de antibióticos en diversas matrices, en China se han reportado informes en la determinación de antibióticos como en agua residual, lodo o residuos veterinarios, leche, muestras biológicas entre otros (Deng F., et al 2018; Han R., et al 2015; Yuan X., et al 2014).

De la misma manera se han realizado estudios en muestras de agua residual, muestras biológicas, suero humano entre otras en Europa (Carzola-Reyes R., et al 2014; García-Lor E., et al 2011; Magréault S., et al 2019). En Corea también se han realizado estudios de distintos productos farmacéuticos en aguas residuales (Hong Y., 2015).

La mayor parte de la investigación sobre ocurrencia y destino de antibióticos en muestras ambientales se concentran en Asia, Europa y Estados Unidos, con la finalidad de llevar una regularización sobre consumo y producción.

4.4 Antibióticos en aguas residuales de México

En México se tienen muy pocos estudios para conocer la presencia y concentración de antibióticos, un estudio de Robledo Zacarías et al 2017, logró determinar la presencia de ampicilina, cefaclor, cefadroxilo y tetraciclina, presentando unas concentraciones para influente de 17.1, 3.2, 5.0 y 72.7 [$\mu\text{g/L}$] respectivamente, mientras que para efluentes se obtuvieron unas concentraciones de 15.5, 2.3, 4.7 y 64.9 [$\mu\text{g/L}$] respectivamente.

En estudios del Valle de Tula y Centro de México no se logró determinar la concentración de triclosán en aguas residuales, suelo y agua superficial (Durán-Álvarez J. C., 2015), lo mismo sucedió en la zona metropolitana de la Ciudad de México del estudio de Félix-Cañedo T. E., et al 2013, en el que tampoco se logró la determinación.

Mientras que en las PTAR Ciudad Universitaria, PTAR Coyoacán, PTAR Cerro de la Estrella se encontró una concentración aproximadamente de 0.06374 ng/mL para triclosán (Peña-Álvarez A. y Castillo-Alanís A., 2015) y se reporta un intervalo de 0.01 – 25.0 mg/L de triclosán en el manantial Cerro Colorado (Gibson R., et al 2007).

Como se observa la información disponible es mínima por lo que no se logrará una comparación óptima entre los datos obtenidos en el presente estudio y la información bibliográfica disponible.

4.4.1 Zona de Estudio: Plantas de Tratamiento de Agua Residual de la Ciudad de México

Las plantas de tratamiento que en las que fueron tomadas las muestras están ubicadas en la Ciudad de México, pertenecientes al Sistema de Aguas de la Ciudad de México (SACMEX) con la finalidad de poder tener un panorama general sobre el estado de incidencia de antibióticos en la CDMX.

Dichas plantas de estudio son las siguientes

- PTAR Cerro de la Estrella, ubicado en la alcaldía Iztapalapa, en la calle San Lorenzo 312, colonia San Juan Xalpa. Actualmente la planta opera con un caudal entre 1,000 y 2,000 L/s tal influente está compuesto de aguas residuales de las alcaldías Iztapalapa, Iztacalco, Venustiano Carranza, Xochimilco, Benito Juárez, Tláhuac y Milpa Alta principalmente, mientras que en menor parte se alimenta de otras partes pertenecientes a otras alcaldías.

El efluente de esta planta es utilizado para el mantenimiento de la reserva ecológica de Xochimilco, Tláhuac y Mixquic, además del mantenimiento de áreas verdes en parques, camellones y jardines de la alcaldía Xochimilco. Parte de agua tratada es enviada al mantenimiento de la producción agrícola de la zona chinampera de Xochimilco.

- PTAR Chapultepec, localizada en la segunda sección del Lago de Chapultepec, colonia Lomas de Chapultepec en la Alcaldía Miguel Hidalgo, recibe un caudal de 85 L/s alimentada de la colonia Lomas de Chapultepec. El efluente de la planta es usado para el llenado de los 3 lagos de Chapultepec, riego de áreas verdes además de inyectar una parte a un pozo que se encuentra dentro de la PTAR.

- PTAR Santa Fe, se ubica en el Pueblo de Santa Fe, en la colonia Jalalpa calle Encinal, alcaldía Álvaro Obregón. El influente recibido proviene del sistema de drenaje correspondiente de la parte moderna de Santa Fe, teniendo un caudal de 60 a 70 L/s. el agua tratada de la PTAR Santa Fe se utiliza para el riego de áreas verdes de la zona de Santa Fe, para WC, además del riego de panteones y camellones.

- PTAR Ecoducto, Ecoducto Río de la Piedad que se encuentra ubicada en Viaducto Miguel Alemán, colonia Escandón II Sección, Alcaldía Miguel Hidalgo. El influente corresponde al bombeo de drenaje del Río Becerra y

Río Tacubaya, recibiendo un caudal intermitente por el accionamiento de las bombas. Debido al flujo disminuido, el agua tratada solo se utiliza para el riego de la misma zona Ecoducto la Piedad. (II UNAM, Informes de PTAR'S de estudio)

Sin embargo, cada planta tiene un tratamiento distinto como se describe en los siguientes diagramas en los que también se mencionan los puntos de muestreo de agua residual, distinguidos por la notación amarilla, mientras que la ubicación de toma de lodos se describe en color rojo.

PTAR Cerro de la Estrella

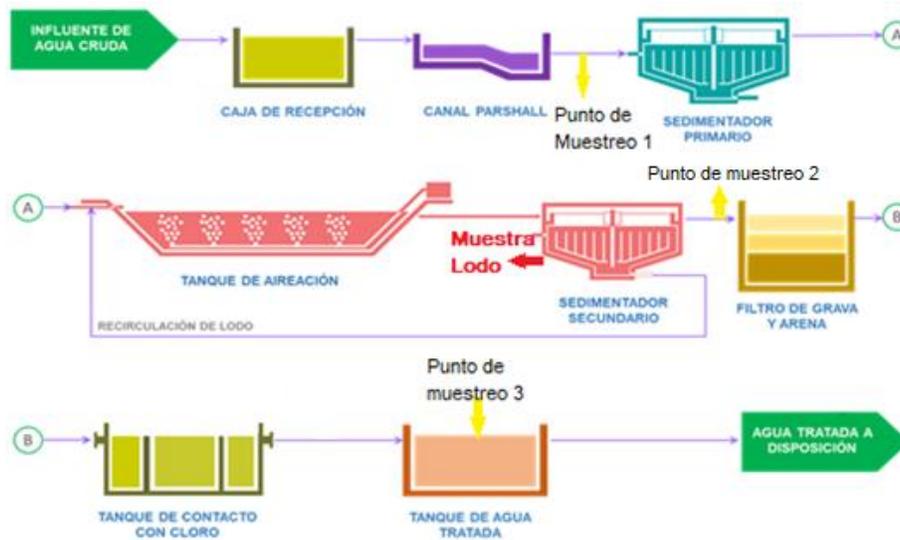


Figura 12. Proceso de tratamiento PTAR Cerro de la Estrella (Informe de la PTAR Cerro de la Estrella, II UNAM)

PTAR Chapultepec

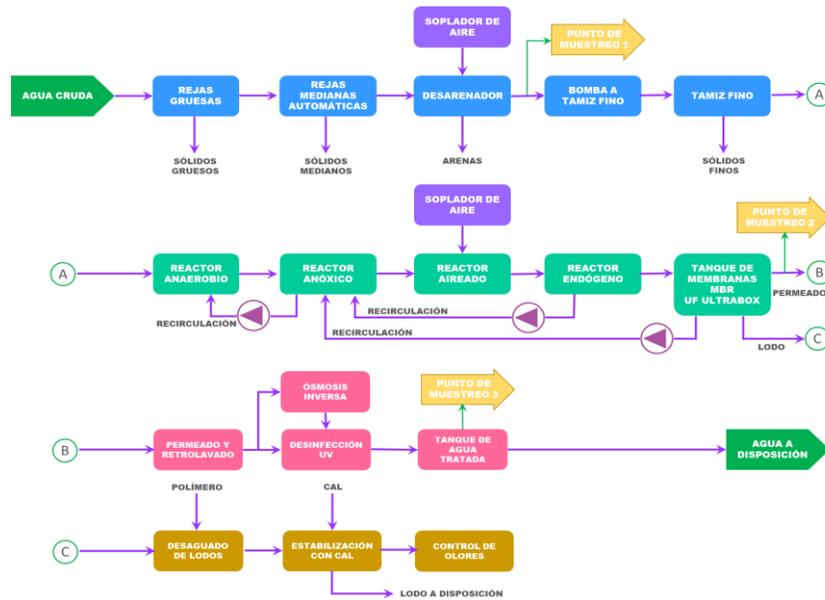


Figura 13. Proceso de tratamiento PTAR Chapultepec (Informe de la PTAR Chapultepec, II UNAM).

PTAR Santa Fe

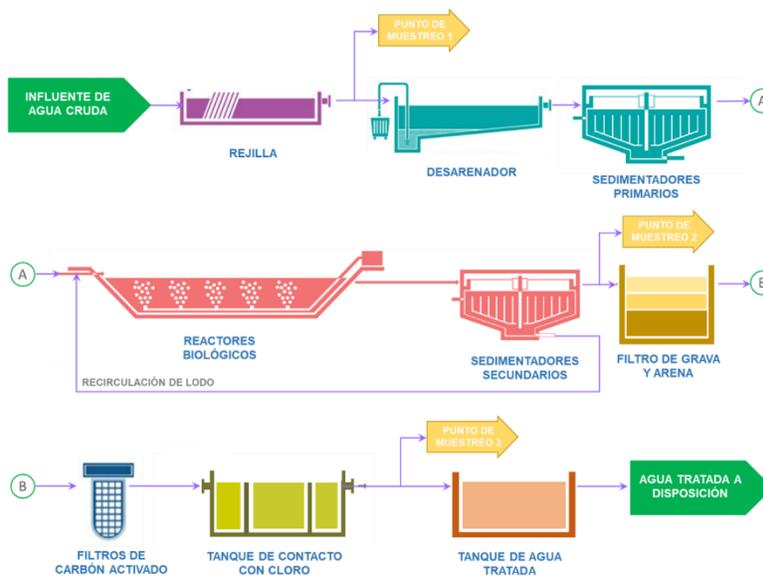


Figura 14. Proceso de tratamiento PTAR Santa Fe (Informe de la PTAR Santa Fe, II UNAM).

PTAR Ecoducto

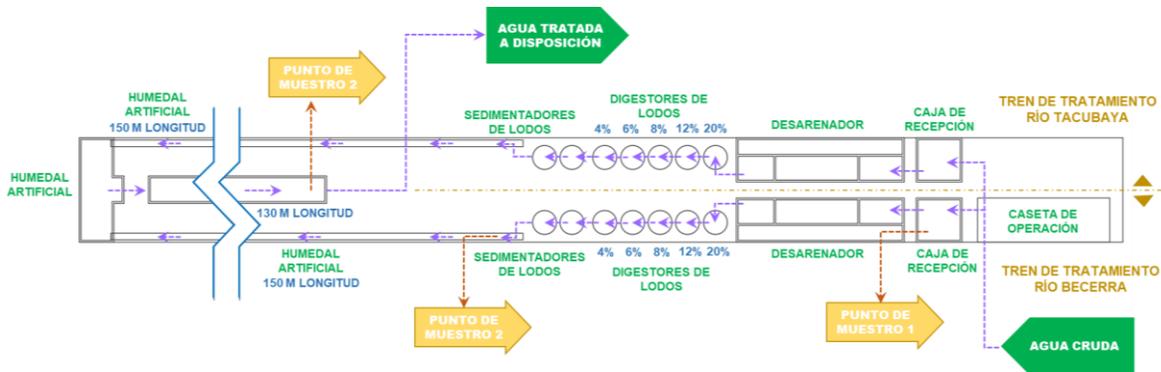


Figura 15. Proceso de tratamiento PTAR Ecoducto (Informe de la PTAR Ecoducto, II UNAM).

Por las características operativas de cada planta es que se eligen para evaluar la remoción y en consecuencia la persistencia de los antibióticos en cada uno de los casos, dichas plantas de tratamiento cuentan con tecnología basada en lodos activados tipo convencional y de aireación extendida, en membranas en humedales artificiales y en un sistema anaerobio permitirá dar paso a una futura comparación entre las concentraciones de antibióticos encontradas y los tratamientos que se realizan en la planta, habiendo la posibilidad de encontrar la relación de la degradación o acumulación de los analitos (Tesis de maestría, Natalia Rodríguez Salazar),

5.0 Justificación

El proyecto tendrá la capacidad de distinguir al menos 4 antibióticos representativos, los cuales abarcaron a β -lactámicos, carbapenémicos, penicilinas y a la vancomicina.

El desarrollo e investigación del proyecto favoreció al conocimiento de la actual persistencia y concentración de antibióticos en las plantas de la Ciudad de México, además se utilizó la información para posteriores estudios de resistencia bacteriana, y para mejorar o incluir en las PTAR un procedimiento para la remoción de antibióticos. El estudio está basado en los antibióticos más persistentes y en los que las bacterias presentan mayor resistencia, tal información fue obtenida del Plan Universitario contra la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA).

6.0 Objetivos

Objetivo general:

Determinación de las concentraciones de los antibióticos meropenem, ceftriaxona, ampicilina y vancomicina en muestras de influentes, efluentes y lodos de 4 plantas de tratamiento de la Ciudad de México utilizando el método de UPLC acoplado a espectrómetro de masas para reportar datos actuales de la presencia de antibióticos de acuerdo con cada región, dada por la localización de la PTAR.

Objetivos particulares:

Realizar muestreo de aguas y lodos de manera representativa, para el posterior análisis de antibióticos por UPLC-MS.

Elegir los antibióticos más representativos, con base a datos reportados del Plan Universitario contra la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA).

Desarrollar metodologías para el tratamiento de las muestras de agua y lodos para su estudio en UPLC- espectrómetro de masas.

7.0 Materiales y Métodos

7.1 Elección de antibióticos representativos

Se inició con realizar un cultivo bacteriano Chromagar, enriquecido con distintos grupos de antibióticos, de tal cultivo se observó que las bacterias mostraron mayor resistencia a betalactámicos con énfasis en su derivado carbapenémicos además de un glucopéptido que es la vancomicina (realizado por estudiante de doctorado Yovany Cuetero Martínez). Los resultados obtenidos del cultivo bacteriano se toman de referencia para realizar un segundo filtro con ayuda del documento emitido en 2018 por el Plan Universitario contra la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA), en el cual se reportó el consumo diario de distintos antibióticos dentro de la red de hospitales que conforman al PUCRA, así como el porcentaje de resistencia encontrado tanto en hemocultivos como en urocultivos. El análisis del documento PUCRA 2019 se basó teniendo un énfasis en buscar antibióticos con mayor resistencia reportada en el que se encontraran los betalactámicos y su derivado carbapenémico, además de la vancomicina, se tomaron con mayor importancia aquellos antibióticos en el que se reportaba una mayor resistencia al 50%, además de mayor consumo, con base a lo anterior se toman como antibióticos de análisis los siguientes (Tabla 10):

Tabla 12. Promedios de % de resistencia bacteriana en hemocultivos y urocultivos y consumo de antimicrobianos (Red PUCRA 2018).

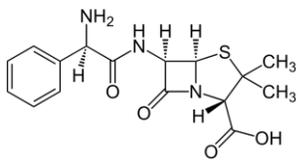
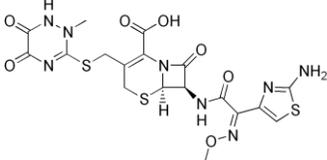
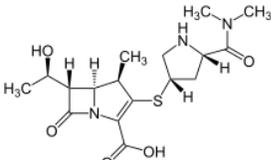
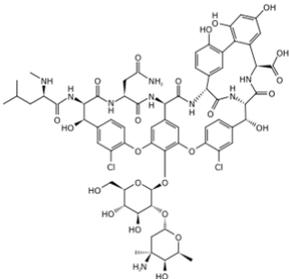
Antibiótico	%Resistencia (hemocultivo)	%Resistencia (urocultivo)	Consumo (DDC/100)
AMPICILINA	87	89.5	1.5
MEROPENEM	18.4	2.7	8.4
CEFTRIAXONA	56.6	53	
VANCOMICINA	31	-----	4.1

DDC: Dosis Diaria de Consumo por cada 100 camas

De la tabla anterior se puede observar que la ampicilina presenta una resistencia mayor al 50% tanto en hemocultivos como en urocultivos a pesar de su bajo consumo diario, podemos observar que a pesar de tener un consumo relativamente bajo este tiene la capacidad de generar una resistencia bacteriana, mientras que la ceftriaxona presenta una resistencia alrededor del 50% pero no se tienen datos concisos del consumo diario de dicho antibiótico, por otro lado, meropenem presenta una resistencia por debajo del 20%, sin embargo su consumo es muy alto por consiguiente a pesar de presentar baja resistencia se elige como antibiótico representativo de estudio pues puede obtenerse información importante antes de poder observarse una resistencia, aunque en el PUCRA 2019 se reporta una resistencia baja para vancomicina en el cultivo realizado en el Instituto de Ingeniería

(por Yovany Cuetero Martínez) se observó cierta resistencia por eso es que, se decide tomar como antibiótico representativo. Es entonces que se tienen 4 antibióticos representativos, betalactámicos; ampicilina (penicilinas), Ceftriaxona (cefalosporina), meropenem (carbapenémicos), y vancomicina (glucopéptido).

Tabla 13. Estructura y clasificación de antibióticos

Nombre	Estructura	Clasificación
Ampicilina	 <p>The structure shows a penicillin nucleus (a fused four- and five-membered ring system with a sulfur atom) substituted with a phenylacetamido group (-NH-CH2-Ph) and a propanoic acid side chain (-CH2-CH2-COOH).</p>	Penicilinas
Ceftriaxona	 <p>The structure features a cephem nucleus (a fused six- and five-membered ring system with a sulfur atom) substituted with a phosporothiazolidine ring, a carboxylic acid group, and a complex side chain containing a thiazolidine ring and a thiazole ring.</p>	Cefalosporina
Meropenem	 <p>The structure shows a carbapenem nucleus (a fused five- and six-membered ring system with a sulfur atom) substituted with a methyl group, a hydroxyl group, and a piperidine ring substituted with a dimethylamino group (-N(CH3)2).</p>	Carbapenémico
Vancomicina	 <p>The structure is highly complex, consisting of a large glycopeptide molecule with multiple sugar units (glucose, mannose, galactose) attached to a central aglycone core via glycosidic bonds.</p>	Glucopéptido

Una vez que se eligieron los antibióticos representativos, se comenzó a definir los tratamientos adecuados tanto para las muestras de lodo como las muestras de agua residual para poder ser analizados después en UPLC-MS.

Se observó que las estructuras de los antibióticos son complejas por el tamaño y los átomos que lo conforman, observamos que todos contienen átomos de carbono,

oxígeno y nitrógeno, además que ampicilina, ceftriaxona y meropenem tiene átomos de azufre mientras que la vancomicina no, de las características de cada una de ellas es que se presentan polaridades distintas, por lo que se puede deducir que para su solubilización y condiciones para la cromatografía líquida será necesario el uso de mezcla de disolventes polares y poco polares, sugiriendo una mezcla de Agua: Metanol para favorecer las interacciones intermoleculares que permitan la separación cromatográfica, el agua al ser una molécula polar favoreció la interacción entre los átomos de oxígeno, nitrógeno y azufre de cada molécula a través de la formación de puentes de hidrógeno, mientras que el metanol ayudó a la interacción entre las partes apolares de cada estructura por interacciones por fuerzas de London.

Dicha observación también será punto clave para saber qué columna se usará para la cromatografía líquida, se usó una columna C18, en la cual la fase estacionaria es no polar por lo que podemos asegurar una interacción entre el analito y fase estacionaria y para favorecer la separación de los antibióticos es que se hicieron gradientes de fase móvil necesarios para favorecer la separación de cada sustancia dependiendo de la polaridad de su estructura.

7.2 Tratamiento de muestras de agua y lodos residuales para su posterior análisis por UPLC-MS

Para realizar el estudio se realizaron dos muestreos; uno en temporada de lluvias (septiembre-octubre 2020), temporada de sequía (marzo-abril 2021). El muestreo se realizó por triplicado en cada planta de tratamiento obteniendo muestras de tres

días distintos en una semana, se toma un volumen de muestra cada 2 horas por 24 horas y se mezclan obteniendo una *muestra compuesta*, se realiza un muestreo para lodo residual.

En ambos muestreos se guardaron aproximadamente 100 mL de cada una y se llevaron a congelación y protegidos de la luz antes de su tratamiento y análisis.

7.2.1 Tratamiento de aguas residuales

Para el tratamiento de las muestras de agua residual se examinaron distintos artículos científicos y se llegó a la conclusión que las muestras de agua residual se debían centrifugar, para después pasar por una extracción en fase sólida (SPE por sus siglas en inglés) y reconstituyendo con agua y metanol para su posterior análisis en UPLC- MS (Hon Y, et al, 2015; Kinm C, et al 2018; Yu X. et al, 2016; Hernández F. et al, 2019). Sin embargo, se realizó una prueba de tratamiento de la muestra usando cartuchos REF 8184 AcroPrep Advance 96 Well 1 mL 0.45 μm GPH Short para determinar si con el material con el que se contaba se lograba concentrar el analito o eliminar posibles interferencias, haciendo observación entre una muestra de agua residual que fue enriquecida con estándares de los analitos de interés realizando a la cual se le realizó SPE y otra a la cual se le omitió este paso, después se realizó el análisis en UPLC-M y no se observó una diferencia entre las concentraciones en la muestra de agua que se aplicó la SPE y la que no fue sometida a la extracción, por lo tanto se determinó que no era necesario el paso de SPE de la muestra. La técnica de extracción en fase sólida tiene como finalidad el aislamiento o concentración de los analitos de interés en una mezcla compleja, lo

cual puede mejorar los límites de detección de determinados compuestos mediante la concentración, o bien eliminar interferentes que pueden afectar el análisis.

Además, durante las pruebas se percibió que la señal obtenida perteneciente a la ampicilina es más grande que la señal del resto de los antibióticos por lo que esta señal afecta en la resolución de los picos de cromatograma de ceftriaxona, meropenem y vancomicina. Una manera de mejorar la señal de todos los antibióticos fue realizando una adición estándar a la muestra a una concentración de 100 µg/L para ampicilina y 1000 µg/L para el resto de los antibióticos.

Cabe recalcar que para el caso de las muestras de agua no fue necesario llevar algún paso de extracción de antibióticos, pues la muestra no es una matriz compleja, dado que los parámetros fisicoquímicos del agua mostraron que sus características eran de un agua residual de baja carga. Fueron necesarios pocos pasos: primero una centrifugación para poder sedimentar partículas de gran tamaño que pueden interferir en el estudio (a fin de no dañar el equipo UPLC-MS), seguido de la adición estándar de los antibióticos a las concentraciones ya mencionadas para después homogeniza, esto con la finalidad de evitar la acumulación de los analitos en la fase sólida presente seguido de una filtración con filtros de 0.2 µm, para asegurar la remoción de material suspendido y proseguir con el estudio en UPLC-MS.

Teniendo dichas observaciones se planteó el siguiente tratamiento:

7.2.2 Tratamiento de lodos residuales

Mientras que para el tratamiento de los lodos residuales se llevó a cabo un tratamiento distinto pues la matriz es mucho más compleja, en distintos artículos se menciona la liofilización de la muestra seguida de una extracción, concentración a través de una SPE, filtración y finalmente el estudio en UPLC-MS, tales procedimientos se llevan a cabo con la finalidad de retirar la mayor parte de compuestos que puedan interferir en el estudio (Göbel A., et al 2005; Yuan X. et al 2014).

Sin embargo, el tratamiento antes mencionado no se realizó por falta de instrumentación, se optó por buscar tratamientos donde no fuera necesaria la liofilización de la muestra y se trabajó con el lodo húmedo, al cual se le determinó la concentración de sólidos totales (realizado por Alondra Ibáñez), procedimiento que se siguió del documento emitido por el Laboratorio de Ingeniería Ambiental, Instituto de Ingeniería UNAM.

Se tomaron 25 mL de lodo y se centrifugaron con una temperatura de 20°C, durante 20 minutos a 1500 rpm, al final se retiró el sobrenadante de la muestra. Después se agregó 1 mL de acetato de amonio a una concentración de 0.05 mol/L para favorecer la solubilización de los analitos de interés en la fase orgánica, se formó una solución reguladora cuando se agregó ácido acético hasta un pH 3, con la finalidad de asegurar que los antibióticos de estudio se encuentren en su forma neutra y mayor interacción entra analito-solvente, se agitó por 2 minutos en Vortex para lograr la homogenización de la muestra. Después se realizó una filtración

rápida para lograr la separación de la fase líquida de la sólida, dicho filtrado se somete a una segunda filtración con filtros Acrodisc MS WWPTEE de 0.2 μm para asegurar que se retiran las partículas que pudiesen haber quedado suspendidas para su posterior análisis en UPLC-MS. Tal protocolo se basa en los pasos realizados en el artículo de Xiaowei L., et al 2017, tales como la extracción sólido-líquido, enriquecimiento y filtración, se omitieron los pasos iniciales pues sugiere una liofilización de la muestra.

7.2.3 Condiciones de Cromatografía líquida acoplada a espectrómetro de masas

Tabla 14. Condiciones de funcionamiento de cromatografía líquida de ultra alta resolución.

Parámetro	Registro
Vol. Inyección (μL)	5
Tiempo de corrida (min)	7
Flujo (mL/min)	0.2
T columna ($^{\circ}\text{C}$)	35
T muestreador ($^{\circ}\text{C}$)	8
Composición F. Móvil A	Ac. Fórmico 0.01% en agua
Composición F. Móvil B	Ac. Fórmico 0.01% en MeOH
Características de la columna	
Identificación	Poroshell agilent
Soporte	C18

Longitud (mm)	100
Diámetro (mm)	2.1
Tamaño de partícula (µm)	1.9

Respecto a las condiciones en las que se trabajó con el equipo y el tipo de columna podemos observar que se trató de una cromatografía en fase reversa pues la columna de trabajo es no polar, por ende, la fase móvil deberá ser una fase polar, de acuerdo con las estructuras de los antibióticos de interés se puede observar que el uso de gradiente de la fase móvil permitió la separación de los analitos, en primera instancia se utiliza ácido fórmico para asegurar un pH ácido, lo que permitió que las moléculas se mantengan en su estado neutro, además de favorecer al siguiente paso de la ionización una vez que se ingrese al espectrómetro de masas. La mezcla de dos eluyentes permite una mejor interacción entre fase móvil o fase estacionaria, favoreciendo la elución de los antibióticos de la siguiente manera:

Tabla 15. Descripción de gradiente en UPLC

Tiempo (min)	%A
0.0-0.5	100, C1
0.5-1.0	75, C6
1.0-2.0	55, C8
2.0-2.5	30, C3

2.5-3.0	100, C6
3.0-4.0	100, C6
4.0-7.0	100

Tabla 16. Condiciones de funcionamiento de Espectrómetro de Masas.

Antibiótico	Transición (m/z)
Ampicilina	<i>350.2>106.1</i>
Ceftriaxona	<i>555.1 >396.2</i>
Meropenem	<i>406.15>317.15</i>
Vancomicina	<i>725.5>144.2</i>
Parámetro Tune	
Voltaje del capilar (kV)	<i>1.7</i>
T de la fuente (°C)	<i>150</i>
T de desolvatación (°C)	<i>350</i>
Voltaje de cono (V)	<i>30</i>
Energía de colisión (V)	<i>20</i>

8.0 Interpretación de resultados

8.1 Resultados

- Muestreo

La nomenclatura elegida para distinguir las muestras de cada planta de tratamiento de agua residual se muestra en la siguiente tabla.

Planta de tratamiento	Cerro de la Estrella	Chapultepec	Santa Fe	Ecoducto
Temporada de Lluvias				
Clave	A	B	C	D
Muestreo 1, 2 y 3	01,02 y 03	01,02 y 03	01, 02 y 03	01,02 y 03
	Influente	Reactor	Efluente	Lodo
	I	O	E	U
Estiaje				
Clave	AS	BS	CS	DS
Muestreo 1, 2 y 3	1,2 y 3	1,2 y 3	1,2 y 3	1,2 y 3
	Influente	Reactor	Efluente	Lodo
	i	o	e	u

El muestreo se realizó por triplicado en cada planta de tratamiento en tres distintos días por semana, se tomó un volumen de muestra por 24 horas y se mezclaron obteniendo una muestra compuesta, se realizó dicho procedimiento tanto para agua como para lodo residual. Se realizó el muestreo entre los meses de septiembre y octubre de 2020 y abril -marzo de 2021. Las muestras fueron transportadas en botes de polietileno de alta densidad protegidos de la luz y a 4°C. Mientras se realizaba el tratamiento de las muestras estas se mantuvieron en congelación a -4°C protegidos de la luz.

- Temporada de lluvias

Las muestras de agua y lodo residual de temporada de lluvias se analizaron en diciembre de 2020.

Bajo el tratamiento y condiciones antes mencionadas, se reportan los siguientes resultados.

- Para Agua Residual

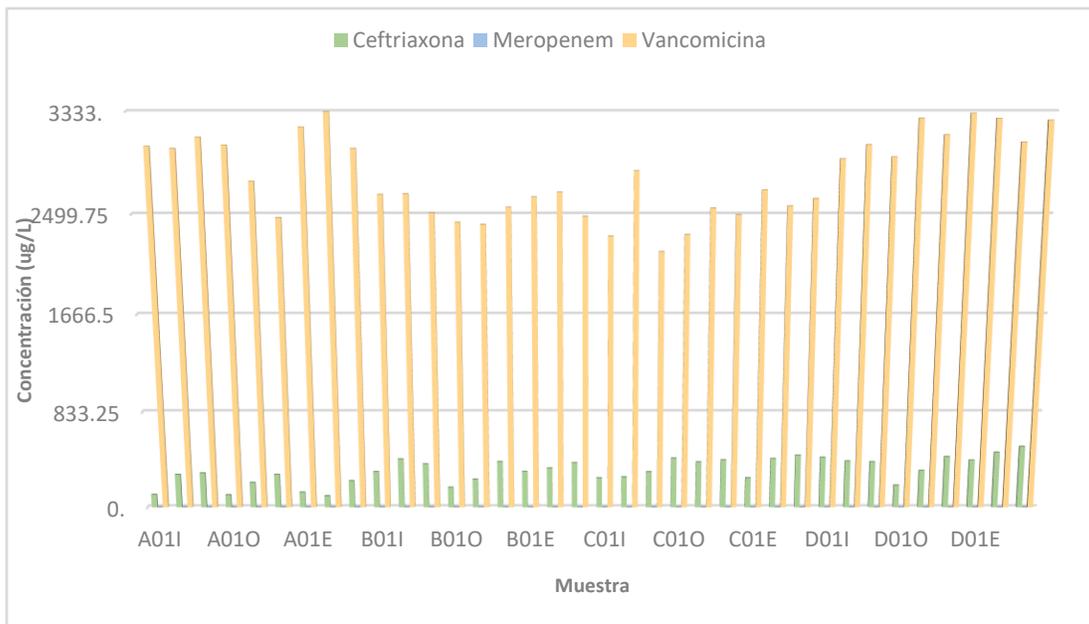


Figura 16. Concentraciones reportadas para agua residual en temporada de lluvias.

Podemos observar que a pesar de que las muestras de agua residual fueron enriquecidas con estándar de los antibióticos de estudio, el porcentaje de recuperación fue aproximadamente del 70%. No fue posible obtener señal para ampicilina y meropenem se denominaron señales por debajo del límite de detección, mientras que para ceftriaxona y vancomicina presentaban concentraciones entre los 100 y 3000 $\mu\text{g/L}$ en los que valores mayores a 1500 $\mu\text{g/L}$ para ceftriaxona y 1199 $\mu\text{g/L}$ para vancomicina se consideran como valores informativos pues estos se encuentran fuera de la curva de calibración. La ceftriaxona y vancomicina se encuentran a una concentración considerable por lo que podemos decir que su remoción es poco favorecida en las condiciones en las que se encuentra durante el procedimiento en la PTAR (Gao P. et al 2012). Un aspecto notable tanto en el influente de la PTAR como en la salida del reactor biológico y en el efluente de la PTAR es que no se observan cambios considerables en las concentraciones, por lo

que cada uno de los procesos que se llevan a cabo en una planta de tratamiento de aguas residuales no afectan en la eliminación de estos antibióticos.

- Para Lodo residual

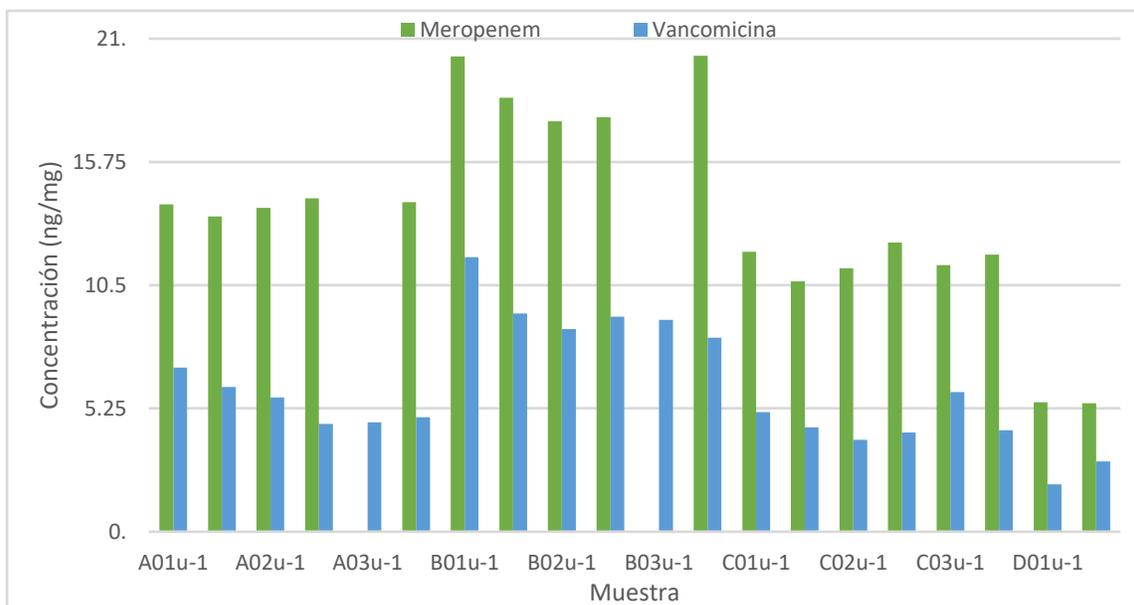


Figura 17. Concentraciones reportadas para lodos residuales en temporada de lluvias.

Para el caso de lodos residuales (figura 5) se observa que tanto ampicilina como ceftriaxona presentan una concentración por debajo del límite de detección mientras que para meropenem y vancomicina se registra una concentración entre 2 y 20 ng/mg en muestras.

Comparando ambos resultados en agua y lodo residual se puede observar que en caso de vancomicina persiste en ambos residuos teniendo una mayor concentración en aguas residuales.

Ahora bien, los resultados obtenidos correspondientes a las muestras de estiaje se obtienen lo siguiente:

- *Agua residual*

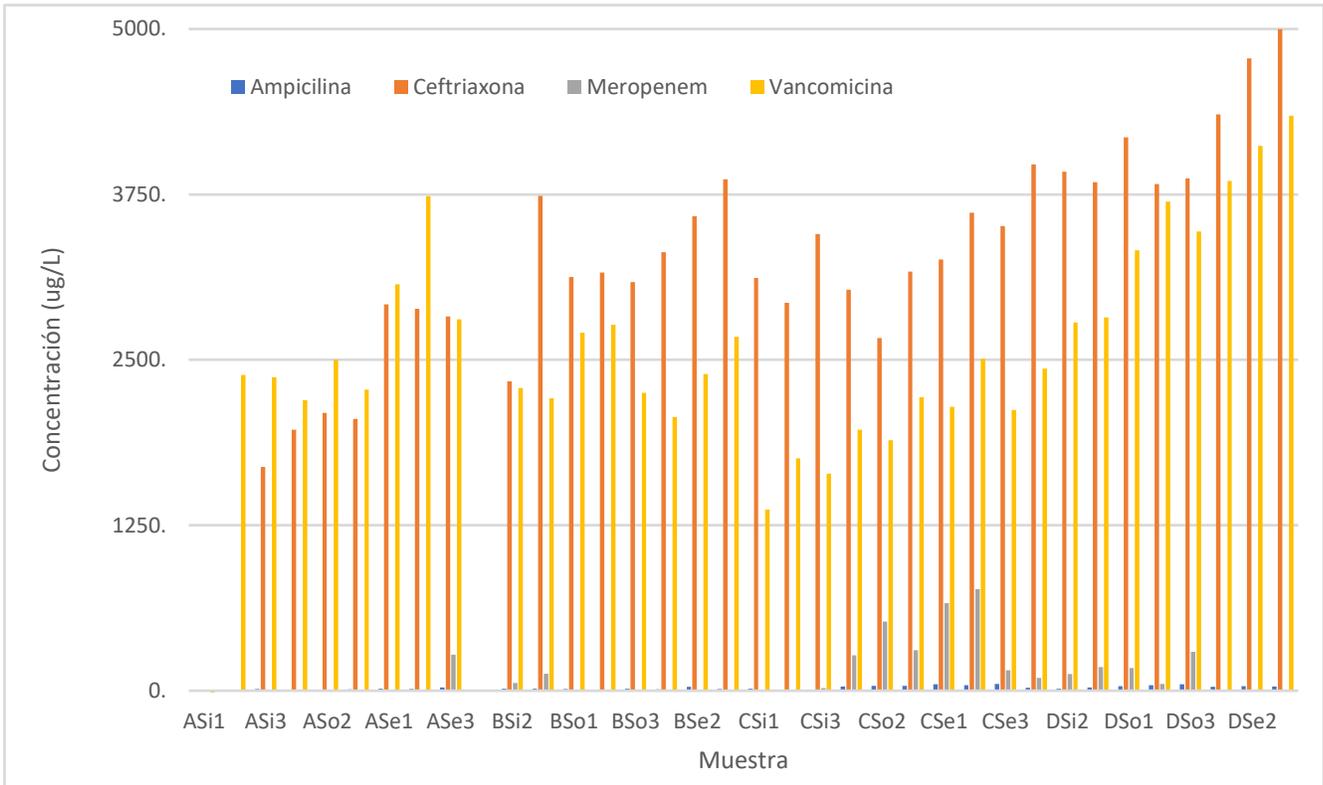


Figura 18. Concentraciones reportadas de antibióticos en aguas residuales en temporada de Estiaje.

Se puede observar en la figura 6, que de la misma manera que en temporada de lluvias se obtienen concentraciones mayores de ceftriaxona y vancomicina, sin embargo, en esta temporada las concentraciones son mayores en comparación con el muestreo anterior, teniendo un intervalo de concentraciones entre 1689.9-4999 $\mu\text{g/L}$ para ceftriaxona y 1369- 4344 $\mu\text{g/L}$ para vancomicina, sin embargo, dichos valores se encuentran fuera de la curva de calibración por lo que solo se toman como valores informativos.

Cabe recalcar que, en este caso, fue posible cuantificar para ampicilina y meropenem, sin embargo, son concentraciones muy bajas, teniendo un intervalo de concentración de ampicilina entre los 0.6-49.3 $\mu\text{g/L}$ presentes en todas las muestras, mientras que meropenem solo se cuantificó en mayor parte en muestras tales como Santa Fe y Ecoducto entre 19.5- 767.1 $\mu\text{g/L}$.

- Lodos residuales Estiaje

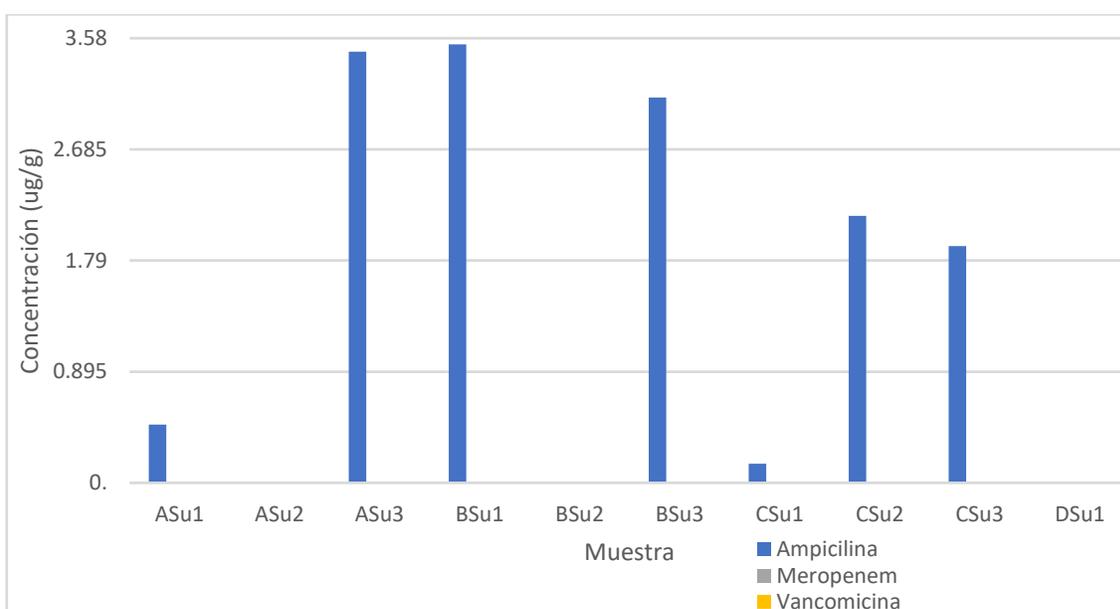


Figura 19. Concentraciones reportadas de antibióticos en lodos residuales en temporada de Estiaje.

Sin embargo, en las muestras de lodo residual solo fue posible cuantificar ampicilina con unas concentraciones entre los 0.4 – 3.5 $\mu\text{g/g}$, mientras que para el caso de ceftriaxona, meropenem y vancomicina no se lograron detectar. Realizando una comparación con los resultados de temporada de lluvias se puede observar que son totalmente distintos, pues en el caso de lluvias se logró cuantificar la concentración de meropenem y vancomicina.

Sin embargo, existen reportes de ampicilina en una PTAR de México (Morelia, Michoacán PTAR- Atapeneo) la cual es alimentada por aguas residuales domésticas e industriales que se mezclan con aguas pluviales, con una población aproximada de 597, 511 habitantes, en las muestras tomadas se cuantificaron concentraciones para influentes de 1.9 - 44.0 $\mu\text{g/L}$ y para efluentes de 2.0- 37.7 $\mu\text{g/L}$ realizado en temporada de estiaje (Zacarías Víctor et al. 2017), tales datos no presentan ninguna similitud con las concentraciones determinadas en el presente estudio pues no fueron posibles tener una señal al presentarse por debajo del límite de detección ($\text{LD} = 0.03 \mu\text{g/L}$), dicho resultado se puede deber a la temporada de muestreo ya que se realizó en temporada de lluvias, siendo en los meses de septiembre y octubre, además de las condiciones en las que se lleva el estudio pues se ve relacionado con la población de la zona y su consumo de fármacos, así como las fuentes que alimentan las aguas residuales. El hecho de que el muestreo se llevara a cabo en temporada de lluvias afecta directamente a la presencia de antibióticos en una muestra, ya que la presencia de mayor volumen de agua lleva a una dilución de los analitos afectando entonces la concentración de los antibióticos reduciéndolos por la migración de contaminantes (Lui X., et al 2021; Yao L., et al 2015), tal hecho puede ser factor causante de que no fuera posible determinar la concentración de Ampicilina. Mientras que en las muestras correspondientes a estiaje se obtienen una concentración mayor en aguas residuales en comparación con lodos del mismo muestreo, encontrándose en concentraciones entre 1-49 $\mu\text{g/L}$, a pesar de ser datos de distintas zonas y condiciones de estudio se puede observar que los datos comparten cierta similitud, aunque debe analizarse de manera más estricta.

Para el caso de Ceftriaxona se han reportado valores de 15.15 $\mu\text{g/L}$ para influentes y 2 $\mu\text{g/L}$ para efluentes en PTAR en un industria de fármacos en la ciudad de Shijazhuang, China (Xin Yu et al 2016), tal antibiótico fue determinado en las muestras de agua residual con una concentración entre 97- 532 $\mu\text{g/L}$, lo que indica que se encuentra en gran cantidad presente como residuo de las PTAR, tomando en cuenta los resultados obtenidos y la bibliografía se observó que a pesar de haber sido comparados los resultados obtenidos con datos de una PTAR de industria farmacéutica este sigue siendo aún mayor, sin embargo en el informe PUCRA 2018 se reporta los antibióticos tuvieron mayor consumo y entre ellos se encuentra la ceftriaxona con 197.6 DDD/100 estancias. A pesar de la temporada de lluvias fue posible detectar este analito en agua residual y no en lodos, si se analiza la estructura de ceftriaxona podemos observar que cuenta con una gran cantidad de átomos que dan polaridad a la molécula favoreciendo más su propiedad hidrofílica por lo que es posible absorberse en mayor parte en la fase acuosa (agua residual) que en la fase orgánica (lodo residual) punto que se analizó en el apartado siguiente. Si en temporada de lluvias se encontró en gran cantidad de ceftriaxona se podría esperar que en muestras en temporada de estiaje la concentración sea aún mayor. Tal suposición es confirmada en los resultados obtenidos correspondientes al segundo muestreo pues se logra detectar y a concentraciones aún mayores que en lluvias.

La estructura del meropenem a pesar de tener átomos que le confieren polaridad no son lo suficiente favorables para una mayor interacción por una fase polar, por lo que tiene una mayor afinidad a medios menos polares tal como el medio que se

encuentra en lodos. A pesar de que los lodos su mayor parte este compuesta por una fase acuosa esta se retiró y se realizó una extracción utilizando una fase orgánica que ayuda a extraer los analitos de interés. Se determinó un intervalo de concentraciones entre 5 – 5.5 ng/mg, que por relación entre lodo húmedo y lodo seco corresponde a una concentración de 51 – 171 $\mu\text{g/L}$ en lluvias reportan concentraciones entre 0.0342 – 0.433 $\mu\text{g/L}$ en la PTAR de la zona tropical de Singapur, la cual es alimentada principalmente de aguas residuales municipales (aprox. 90%) (Tran Ngoc et al 2016), mientras que en estiaje se obtienen valores de 17-797 $\mu\text{g/L}$, por lo que las concentraciones registradas son mucho mayores, en México se reporta en el informe de la Red PUCRA que es el antibiótico con mayor consumo a dosis de 79.3 DDD/100 estancias a nivel nacional por lo que se puede relacionar directamente con la gran concentración que se registra en el análisis.

Mientras que la vancomicina fue posible su detección tanto para agua como para lodos residuales en temporada de lluvias teniendo mayor presencia en aguas residuales con una concentración de 2190-3330 $\mu\text{g/L}$ y para lodos teniendo una concentración entre 2- 9.2 ng/mg. Para el caso de aguas residuales se obtiene una concentración de vancomicina mayor que la curva de calibración por lo que solo se considera como dato informativo, se han reportado concentraciones de solo 41 ng/L de Vancomicina en aguas residuales en muestras de PTAR en Varese, Italia alimentadas principalmente de residuos domésticos con una población de aproximadamente 1,250,000 habitantes (Michael et al 2013), por lo que el valor obtenido en el estudio en lluvias sobrepasa y en aguas de estiaje se encuentran a concentraciones de 1369- 4344 $\mu\text{g/L}$ teniendo así concentraciones mayores a las

reportadas, en cambio para lodos residuales se reporta una concentración de 0.01 ng/mg en lodos porcinos de China (Xiaowei Li et al. 2017), un valor que es mucho menor al que se determinó en el estudio realizado. En el Reporte de la Red PUCRA se menciona que la vancomicina a pesar de presentar una resistencia bacteriana de tan solo 31%, es de los antibióticos con mayor consumo después de meropenem, por ende, es que se puede detectar en ambos medios y a unas concentraciones relativamente altas.

8.1.2 Factores que influyen en la determinación de antibióticos

La determinación de antibióticos en matrices ambientales presenta un gran reto, pues se deben considerar distintos puntos, que conlleva tomar en cuenta desde la estructura química hasta el comportamiento y concentración del analito en cada muestra. Por lo que los factores a considerar para lograr una determinación efectiva y eficiente son los siguientes:

- 1) Estructura química del compuesto. Es el punto principal de partida para comenzar con el montaje de la técnica analítica a usar. Conocer la estructura del analito ayudará a predecir algunos comportamientos de la molécula ante distintas condiciones, pudiendo así, elegir las condiciones más óptimas que logran separar el analito de la matriz.

En el caso de los antibióticos estudiados se observan las estructuras para poder determinar la columna que se usará para la cromatografía, los disolventes necesarios para la extracción del compuesto (para el caso de lodos), debido a las interacciones que pueden tener debido a la polaridad de cada uno de ellos.

- 2) Constante de disociación ácida. El conocer dicho valor nos permite saber a qué pH el analito se protona o desprotona, lo que se busca en este caso es tener la molécula totalmente protonada por lo que se procura tener un pH bajo asegurando así que la molécula se encuentre neutra.

- 3) Coeficiente de reparto. El valor de coeficiente de reparto es un indicador de la afinidad del analito por la fase acuosa u orgánica, dando hincapié a predecir en qué fase (agua o lodo residual) será mayor la probabilidad de encontrar mayor concentración en caso de que se encuentre presente.

- 4) Concentración en la muestra. El conocer aproximadamente la concentración del analito en la muestra ayudará a establecer el método analítico a utilizar para la determinación. Para el caso de los antibióticos se han reportado concentraciones a niveles traza, por lo que era necesario usar una técnica que permitiera separar y cuantificar concentraciones tan bajas como lo es el caso de UPLC-MS.

- 5) Estabilidad del analito. Además de considerar los puntos anteriores es de suma importancia tomar en cuenta la estabilidad de la molécula pues debe cuidarse las condiciones de temperatura, presión, acidez, entre otras a la que se someterá el analito durante la preparación y análisis.

6) Matriz de la muestra. Sin duda, una de las mayores complicaciones que se presentan al momento de realizar un estudio, son las interferencias que pueden surgir debidas a la matriz de la muestra, pues pueden tener componentes que interfieren en la lectura o detección de la señal del analito de estudio o bien, simplemente enmascarar la presencia del compuesto de interés, es por ello que se opta por hacer un tratamiento de la muestra y con ella se busca eliminar la mayor cantidad de interferentes y concentrar el analito.

8.1.3 Influencia de la temporada de muestreo para determinación de antibióticos

Si bien, se puede esperar que las concentraciones de antibióticos se observe una disminución durante la temporada en que se encuentran lluvias, pues estas pueden reflejar una dilución directa sobre la persistencia debido a mayor volumen de agua fluvial. Observación que es rectificada en estudios de aguas superficiales en Jiangnan, China, donde se ha determinado una concentración baja de antibióticos en el verano lluvioso y señalaron que puede deberse a la alta degradación causada por las altas temperaturas, intensidad de la luz incidente y por una mayor actividad bacteriana, además se expresa que la precipitación diluye el agua superficial disminuyendo la concentración de los analitos a través de la migración de los

contaminantes (Lui X., et al 2021). Mientras que en aguas residuales porcinas se confirma el mismo comportamiento en el que las concentraciones totales de antibióticos se ven disminuidas durante la temporada de lluvias en comparación con invierno que es temporada seca (Yao L., et al 2015).

Sin embargo, Rui W. et al 2019, señaló en un estudio que la concentración de antibióticos aumentó durante el invierno y disminuyó durante la primavera mencionando que dicha observación se puede deber a que en temporada fría aumentan los casos de enfermedad respiratoria, por ende, el consumo de distintos fármacos, incluyendo los antibióticos.

Basándonos en las observaciones anteriores podemos decir que los resultados de la concentración de contaminantes dependerán directamente del caudal de éstos, la zona de estudio, así como la temporada de muestreo pues estos factores influyen directamente en el aumento o disminución de antibióticos. Cada zona de estudio podrá presentar distintos comportamientos de concentración y degradación dependiendo de las condiciones ambientales y fuentes de contaminación de ellas.

Para el caso estudiado se puede observar lo siguiente:

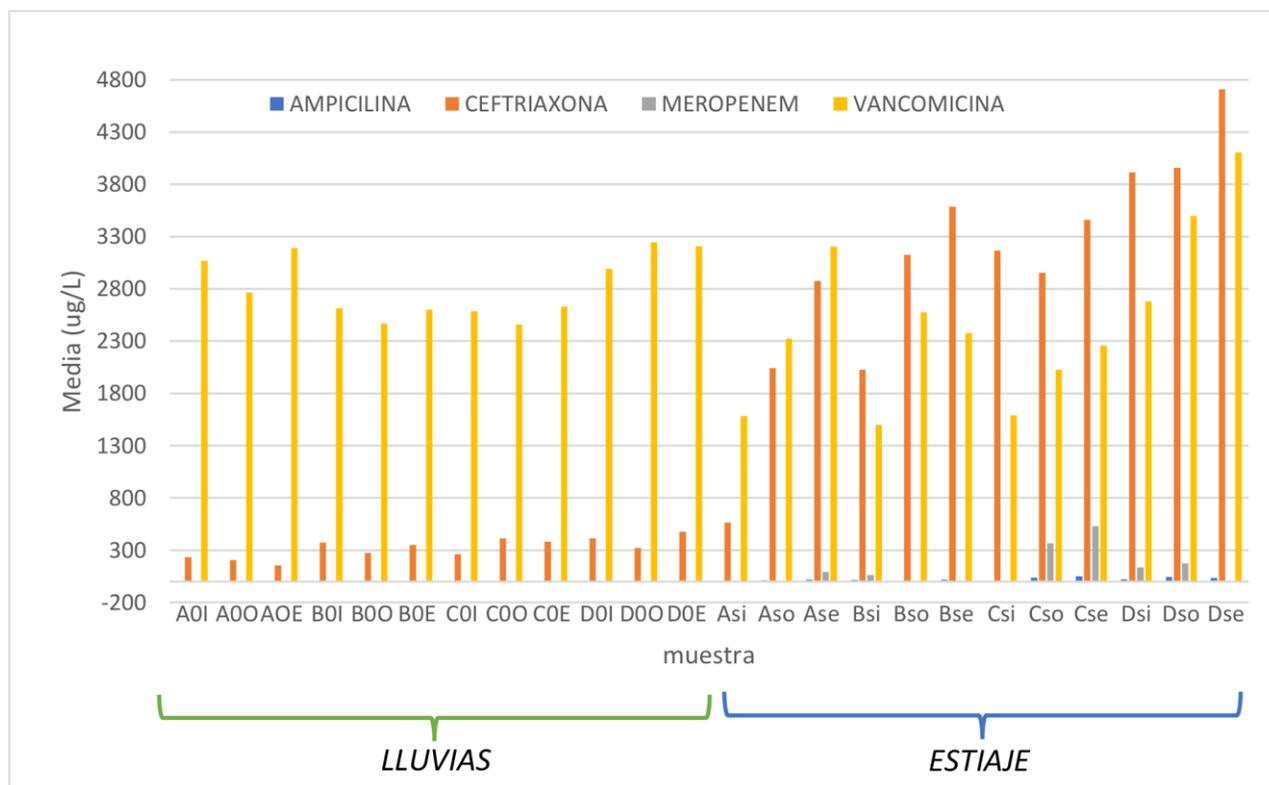


Figura 20. Medias de concentración de antibióticos en agua residual en PTAR y Temporada de Muestreo (Siguiendo la nomenclatura descrita en la tabla 17).

Con base en el gráfico anterior podemos observar que hay una gran diferencia entre las temporadas de muestreo y las concentraciones reportadas para cada antibiótico, se logra ver que existe una discrepancia entre el promedio de antibióticos determinados en cada planta, sí como entre las temporadas de muestreo. En lluvias solo se lograron determinar la presencia de ceftriaxona y vancomicina, mientras que en estiaje se encontraron presentes los 4 antibióticos de estudio. Además, es posible darse cuenta de que en temporada de estiaje se registraron concentraciones mayores para ceftriaxona, para el caso de vancomicina fue posible determinarlo en

ambas temporadas siendo en el caso de lluvias donde se presentó en mayor concentración.

Por otro lado, ampicilina y ceftriaxona se encontraron solo en estiaje a concentraciones no mayor a 500 µg/L y ampicilina alrededor de 50 µg/L.

Es decir, podemos ver que la temporada influyó notablemente, en lo que podemos suponer que debido a las lluvias se llevó una dilución de los analitos pues si comparamos con los resultados obtenidos en estiaje en éste fue posible determinarlo en mayores concentraciones, incluso logrando detectar y cuantificar ampicilina y meropenem. Por lo tanto, en estiaje se logra encontrar en mayor concentración los antibióticos.

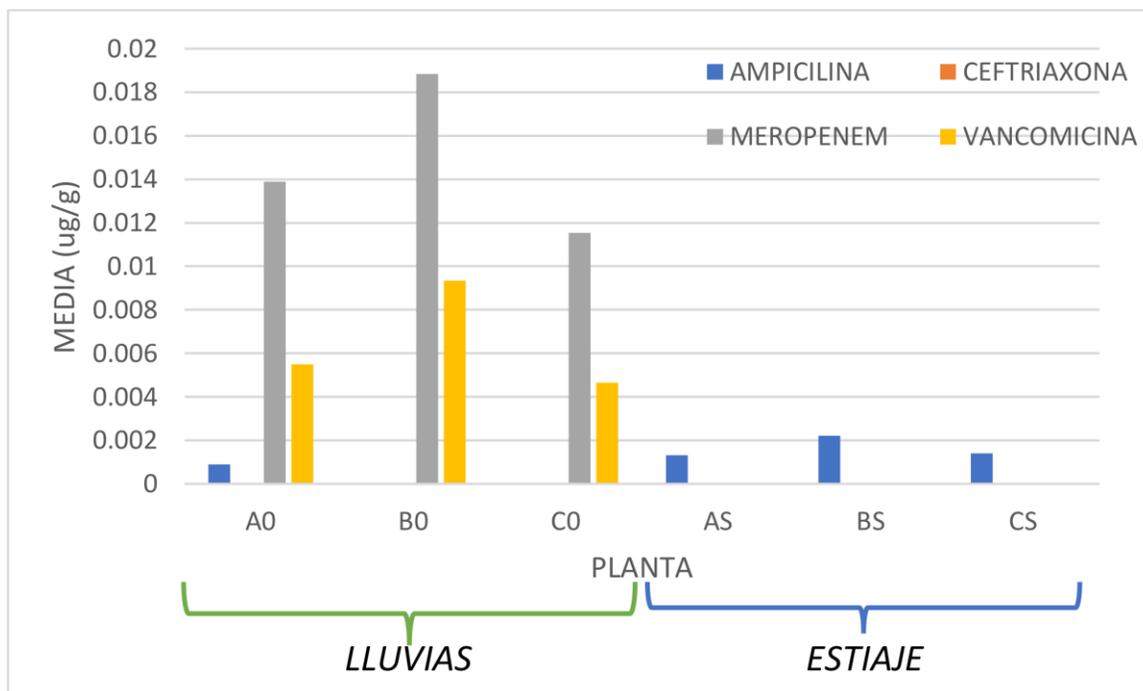


Figura 21. Medias de concentración de antibióticos en agua residual en PTAR y Temporada de Muestreo (Siguiendo la nomenclatura de la tabla 17, además denotando con 0 muestras correspondientes en lluvias y con S a estiaje).

Para el caso de lodos residuales podemos observar en el gráfico 9, que las diferencias entre muestreo son notables, pues no solo se reportan concentraciones distintas, sino también se encuentran distintos antibióticos en cada una de ellas. Se puede observar que el antibiótico que no fue posible encontrar fue ceftriaxona, mientras que meropenem y vancomicina se encontraron en temporada de lluvias y ampicilina en estiaje.

Punto importante de abordar, es que tanto en el caso de la cuantificación de vancomicina y en parte de ceftriaxona se reportaron altos valores de concentración,

por lo que se sugiere que existe un efecto matriz, Skoog et al. (2008) señala como efecto matriz aquello que provoca una alteración en la señal del equipo, causando un error sistemático en la determinación del analito, teniendo como consecuencia la lectura en exceso o bien, la supresión de dicha señal, por lo que la cuantificación no se lleva de manera satisfactoria para conocer la concentración real del analito de estudio.

Tal interferencia se podría observar de la siguiente manera, sugiriendo en este caso que la alteración de la señal se verá reflejada en el aumento de la señal instrumental (figura 22).

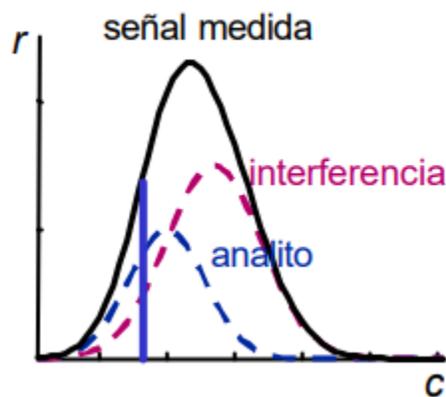


Figura 22. Efecto de interferencia en señal medida, donde el efecto matriz incrementa la señal dando una concentración mayor de analito.

Dicho lo anterior, es que se estudia actualmente los efectos que puede provocar la matriz sobre las señales en la determinación de los antibióticos representativos (Tesis de Maestría Natalia Rodríguez Salazar), para de esta manera eliminarlos ya sea por métodos químicos o físicos, tal como la extracción en fase sólida, de manera

que permitirá determinar una concentración real de los antibióticos presentes tanto en las muestras de agua residual como de lodos sin la presencia de interferentes.

8.1.4 Interacción molécula-fase

Con base a los resultados obtenidos se puede observar que algunos antibióticos fueron detectados tanto en agua como en lodos, tal observación se puede deber a las distintas interacciones que puede haber entre la molécula de estudio y la fase en que se encuentra, comencemos con el análisis del coeficiente de reparto entre dos líquidos inmiscibles ($\log P$) en general se utiliza una mezcla de octanol-agua tomando entonces el nombre de coeficiente de partición ($\log K_{ow}$), para cada uno de los antibióticos de estudio se describe lo siguiente:

Tabla 18. Propiedades químicas de antibióticos.

Antibiótico	$\log K_{ow}$	Constante de disociación
Ampicilina	1.35	pka_1 2.5
Ceftriaxona	-1.7	pka_1 2.7
Meropenem	-0.6	pka_1 3.4
Vancomicina	-3.1	pka_1 2.6

El coeficiente de partición nos indica qué tan afín es un compuesto a una fase polar o no polar, es decir, se puede evaluar el comportamiento hidrófilo o hidrófobo,

valores altos de $\log K_{ow}$ indican que el compuesto tiende a absorberse en medios poco polares tales como, lípidos, partículas y lodos. Mientras que valores pequeños de $\log K_{ow}$ nos indican un compuesto que es altamente hidrofílico (Verlicchi P., et al 2012). Además, conocer las constantes de disociación nos ayudarán a conocer el valor del pH al que un compuesto comienza a cargarse ya sea a desprotonarse o protonarse lo cual influye a las posibles interacciones que tengan entre analito-fase.

Observando las gráficas 4 y 5 correspondientes a la temporada de lluvias, podemos observar que el antibiótico que fue detectado tanto en lodos como las muestras de agua es vancomicina, mientras que ceftriaxona solo fue detectado en agua (influyente, reactor y efluente) y finalmente meropenem se logró determinar solo en las muestras de lodo. Observando los datos obtenidos es fácil notar que a pesar de que la vancomicina tiene presencia en ambas fases ésta se encuentra en mayor cantidad en aguas residuales, tomando en cuenta que su $\log K_{ow}$ es -3.1 nos indica que es altamente hidrofílico en comparación con el resto de los antibióticos, viéndose favorecido por la presencia de átomos que aumentan su polaridad y su capacidad para formar puentes de hidrógeno, por otro lado, su baja presencia en lodos se puede deberse a la complejidad de la molécula además de contener anillos aromáticos que favorece las interacciones entre la fase orgánica de los lodos, permitiendo una persistencia en lodos.

Para el caso de la ceftriaxona esta solo se encontró en las muestras de agua, si observamos su $\log k_{wo}$ es de -1.7 valor que confirma una buena tendencia a disociarse a la fase acuosa, además de ser una molécula relativamente pequeña con gran cantidad de átomos formadores de puentes de hidrógeno como lo son

oxígeno, nitrógeno y azufre, por lo que estos átomos le confieren una polaridad una polaridad favoreciendo la interacción con el medio acuoso que es polar.

Por otro lado, meropenem solo se logró determinar en lodos tomando en cuenta el log Kow sabemos que es -0.6, que, aunque este es un valor bajo, en comparación con los valores de ceftriaxona y vancomicina este es mucho mayor, lo que explica su buena tendencia a la sorción en lodos pudiendo suceder por las interacciones hidrofóbicas de los grupos alifáticos de los sólidos en suspensión que conforman al lodo (Kümmerer K., 2009).

A partir de las observaciones anteriores se deduce que depende de cada antibiótico para determinar el comportamiento que este tenga respecto a la afinidad y degradación en cada medio en el que tenga contacto. Jones y col. 2005 menciona que a pesar de que los antibióticos se puedan encontrar en un mismo grupo esto no define su comportamiento, además, observó que los productos orgánicos que contienen ésteres, nitritos y alcoholes aromáticos pueden aumentar la biodegradabilidad de la molécula, mientras que aquellos que contienen aminas aromáticas, yoduro y grupos azo aumentan la persistencia del compuesto, el hecho de que persista o no dependiendo de los grupos o átomos que conforman la estructura depende de las distintas interacciones que se pueden provocar debidas a la temperatura, efecto de la luz, carga de comunidad bacteriana entre otro (Vieno et al 2007; Göbel et al 2007).

En mayor medida se ha observado que uno de los factores que afectan o favorecen las interacciones es el pH al que se encuentra la matriz donde está contenido el analito, pues el caso en el que el compuesto se encuentre ionizado este presenta

gran potencial para crear interacciones electrostáticas ya sea con la fase acuosa o con la biomasa, se ha estudiado los efectos del pH sobre lodos para la eliminación de trazas orgánicas, se determinó a través de pruebas en biorreactores con membrana que a pH 5 se observó una alta eliminación de compuestos en licor mezclado, pues en su mayoría los compuestos están en forma hidrófoba, por lo que se absorben fácilmente sobre los lodos eliminando así los compuestos de la fase acuosa (Tadkaew N., et al 2010). Sin embargo, en las PTAR por lo general no se ve una significativa variabilidad de pH durante los procesos de tratamiento trabajando en pH neutros 6-7 (Clara et al., 2004).

8.1.5 Degradación de fármacos en medio acuoso y sólido.

Debido a que las PTAR no son del todo eficientes para la remoción muchos de los contaminantes son vertidos a los cuerpos de agua superficial, pueden ser transportados el contaminante o bien los subproductos de degradación que pueden ser aún más peligrosos que el contaminante original (La Farré et al 2008).

Una vez que los contaminantes ingresan al medio es que por factores naturales se lleva a cabo su degradación, la concentración puede ser disminuida por fenómenos de dilución como se menciona en el apartado 7.3 o bien, por dispersión para el caso de aguas residuales tratadas. Una de las características principales de los contaminantes es que son poco volátiles (excepto algunos aditivos de gasolina, fragancias y productos de desinfección), por lo que se espera que la mayor parte de ellos sigan contenidos en agua y suelos (Alder et al. 2006), los procesos de degradación pueden ser biodegradación, fotólisis debida a la luz solar, adsorción e infiltración son procesos que ocurren naturalmente y dependiendo de las

condiciones ambientales es por a que un contaminante se va a degradar (Yamamoto H., et al 2009).

La fotólisis es el proceso de ruptura de enlaces de una molécula, causados por la radiación ultravioleta o visible a la que la muestra se ve expuesta, dicho fenómeno ocurre tanto en matrices acuosas como sólidas (Zepp y Cline, 1977). La biodegradación se lleva por la acción de microorganismos quienes contienen enzimas que pueden actuar sobre la descomposición del fármaco (Van Hamme, 2004), para el caso de matrices sólidas debido a una mayor presencia de una carga alta de materia orgánica y por ende de microorganismos se espera que la degradación del contaminante incremente (Mrozik et al., 2008). Por otro lado, la degradación se puede llevar a cabo de la adsorción o filtración en suelos, la cual sucede cuando el contaminante en estado acuoso o gaseoso se sedimenta en el sólido, tal fenómeno se logra gracias a las interacciones electrostáticas entre la estructura del fármaco y la fase sólida (Tolls 2001).

9.0 Conclusiones

La contaminación de cuerpos de agua por antibióticos presenta sin duda un tema de importancia debido a las repercusiones que estos pueden provocar, tener conocimiento sobre el estado actual de presencia de antibióticos en aguas residuales son un punto de partida para un análisis de consecuencias, regulación y estudio.

Al no contar con información suficiente en América Latina, específicamente en México, se carece de regulación en el consumo y límites permitidos en desechos de fármacos, así como escasas investigaciones de la presencia, el presente estudio revela datos actuales sobre el estado de concentraciones de antibióticos en la Ciudad de México, se puede observar que las estructuras químicas de los antibióticos de estudio influyen de manera considerable en la degradación y persistencia en el medio.

Se observa que por la temporada en que fue realizado el muestreo de lodos y aguas residuales influyen en la concentración de los analitos, pues en condiciones temporales de precipitación involucra una mayor cantidad de volumen de agua presente provocando entonces la dilución de los fármacos por lo que en temporada de sequías las concentraciones reportadas sean mayores, punto que es reafirmado con las muestras de agua residual del temporal de estiaje. Para el caso de lodos residuales parece indispensable comparar distintos aspectos tales como la temperatura, cinética de degradación de antibióticos, carga bacteriana etc., para poder explicar el porqué de los resultados obtenidos durante ambas temporadas.

El paso de los antibióticos en cada proceso de la PTAR parece no tiene repercusión notoria en la degradación del antibiótico pues las concentraciones no varían entre influente, agua de salida del reactor y efluente, sin embargo, se observan cambios entre las muestras de agua y lodos residuales, los cuales se pueden deber por las interacciones que se ven favorecidas entre cada fase (acuosa o sólida).

El antibiótico más resistente a la degradación fue la vancomicina pues se encuentra siempre presente en cada proceso de la planta y en ambas temporadas.

Anexo 1

Diagramas de tratamiento de muestras

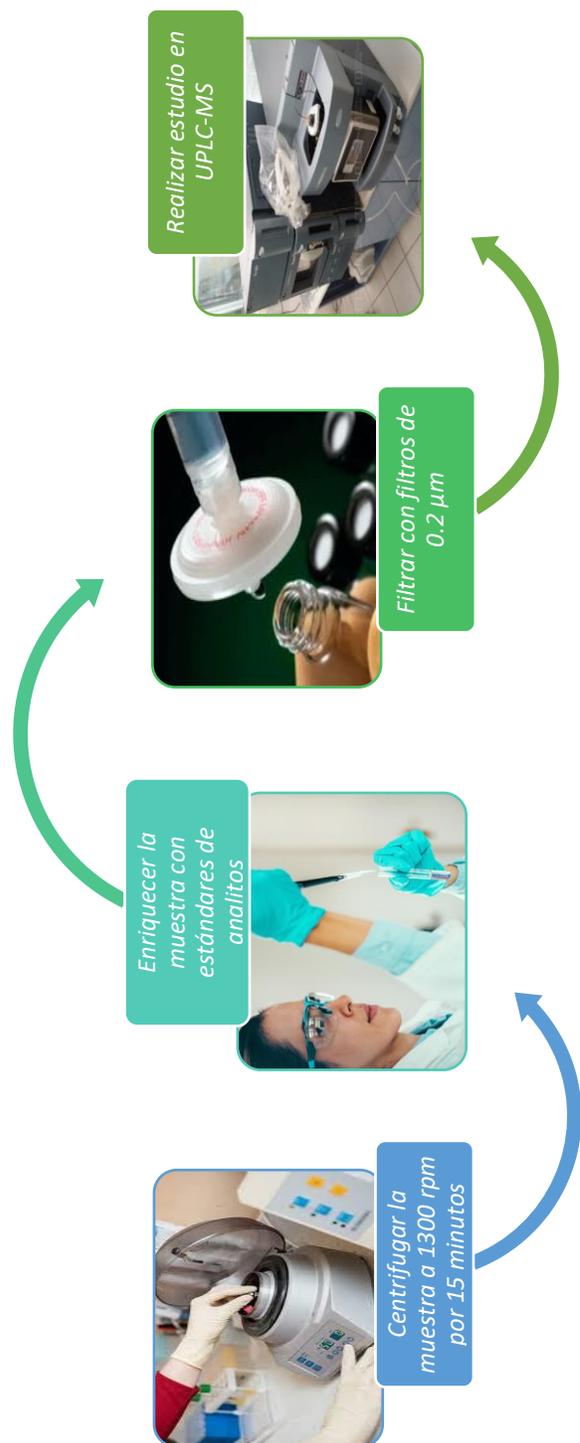


Figura 1. Tratamiento de Agua Residual para determinación de Antibióticos representativos.



Figura 2. Tratamiento de lodos Residuales para determinación de antibióticos por UPLC-MS.

Referencias

1. A. Iglesias, C. Nebot, J.M. Miranda, B.I. Vázquez, A. Cepeda, (2012), Detection and quantitative analysis of 21 veterinary drugs in river water using high-pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry Environ. Sci. Pollut. R., Vol. 19, pp. 3235-3249
2. Agua para todos, agua para la vida, Informe de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los recursos Hídricos en el mundo (2003) Consultado 26/05/2021 <https://www.un.org/esa/sustdev/sdissues/water/WWDR-spanish-129556s.pdf>
3. Aguilar Guizar Fernando, (2013), IPN, [Tesis] Contaminantes Emergentes: efectos a la salud y medio ambiente, así como los tratamientos para su remoción de las aguas residuales domésticas.
4. Alba Leonel A., (2016) Realizan en la UNAM primer estudio sobre uso de fármacos hipertensivos en la CDMX. Tomado de https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016_481.html
5. Alder A. C., Bruchet A., Carballa M., Clara M., Joss M., Löffler D., McArDell C., Miksch K., Omil F., Tuhkanen T., Temes T. A., (2006), Consumption and occurrence of pharmaceuticals. Human pharmaceuticals, hormones and fragrances: The challenge of micropollutants in urban water management. IWA Publishing, London UK.
6. ASHP. (1999) Therapeutic Position Statement on the Safe Use of Oral Nonprescription Analgesics. En: Am J Health Syst Pharm. Vol. 56, N^o. 11, pp. 1126-1131

7. ATSDR. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. En: Reseña toxicológica de los DTT, DDE y DDD. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. Servicio de Salud Pública. 2002.
8. C. Nebot, S.W. Gibb, K.G. Boyd, (2007) Quantification of human pharmaceuticals in water samples by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, Vol. 598, pp. 87-94
9. Carzola Reyes R., Romero González R., Garrido Freinch A., Rodríguez Maresca M. A., Martínez Vidal J. L., (2014), Simultaneous analysis of antibiotics in biological samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis*, Vol. 89, pp, 203-212.
10. Chansik K., Hong-Duck R., Eu Gene C., Yongseok K., Jae-kwan L., (2018), A review of analytical procedures for the simultaneous determination of medically important veterinary antibiotics in environmental water: Sample preparation, liquid chromatography, and mass spectrometry, *Journal of Environmental Management*, Vol, 217, pp. 629-645.
11. Clara M., Strenn B., Ausserleiter M., Kreuzinger N., (2004), Comparison of the behavior of selected micropollutants in a membrane bioreactor and a conventional wastewater treatment plant, *Water Sci. Technol.*, Vol. 50, pp. 29-36.
12. De la Vega Salazar María Yolanda, (2012), Eficacia en Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales

<http://indesol.gob.mx/cedoc/pdf/III.%20Desarrollo%20Social/Agua%20y%20Saneamiento/Eficiencia%20en%20Plantas%20de%20Tratamiento%20de%20Aguas%20Residuales.pdf>

13. Del Arco J., (2014), Antibióticos: situación actual, Revista Farmacia Abierta, Vol. 28, No. 5, pp. 29-33.
14. Deng F., Yu h., Pan X., Hu G., Wang Q., Peng R., Tan L., Yang Z., (2018), Ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the determination of five glycopeptide antibiotics in food and biological samples using solid-phase extraction, Journal of Chromatography A, Vol. 1538, pp. 54-59.
15. Desafíos Globales, ONU Rescatado: <https://www.un.org/es/global-issues/water>
16. Dreser A., Wirtz V. J., Corbet K. K., Echániz G., (2008), Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas, Revista Salud Pública de México, Vol. 50, Recuperado http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342008001000009
17. Durán-Álvarez J. C., Prado B., González D., Sánchez Y., Jiménez-Cisneros B., (2015), Environmental fate of naproxen, carbamazepine and triclosán in wastewater, surface water and wastewater irrigated solid – Results of laboratory scale experiments, Science of the total Environment, Vol. 538, pp. 350-362.

18. Esparza García F. J., Luz Vera S., Vázquez Martínez A., (2020), Contaminantes Emergentes, CINVESTAV. Revista Avance y Perspectiva, Vol. 54, 3. Recuperado <https://avanceyperspectiva.cinvestav.mx/contaminantes-emergentes/>
19. Esteve-Turrillas F. A., (2006), Preparación de muestras para el análisis de plaguicidas mediante microondas y fluidos presurizados, [Tesis Doctoral, Universidad de Valencia], Recuperado <https://core.ac.uk/download/pdf/70998391.pdf>
20. Félix-Cañedo T. E., Durán-Álvarez J. C., Jiménez-Cisneros B., (2013), The occurrence and distribution of a group of organic micropollutants in Mexico City's water sources, Science of the Total Environment, pp. 109-118.
21. García Gómez C., Górtares-Moroyoqui P., Drogué P., (2011), Contaminantes Emergentes: efectos y tratamientos de remoción, Journal Química Viva <https://www.redalyc.org/pdf/863/86319141004.pdf>
22. García Quetglas E., Aranza Perea J. R., Sádaba Díaz de Rada B., Gil Aldea I., (2003), Farmacología de antimicrobianos utilizados en el tratamiento de las infecciones graves por bacterias, Revista Española Quimioterapia, Vol. 16 (3), pp. 277-288. Recuperado <http://www.seq.es/seq/0214-3429/16/3/277.pdf>
23. Garcia-Lor E., Sancho J., Hernández F., (2011), Multi-class determination of around 50 pharmaceuticals, including 26 antibiotics, in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid chromatography-

- tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1218, pp. 2264-2275.
24. Gibson R., Becerril-Bravo E., Silva-Castro V., Jiménez B., (2007), Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compounds in wastewaters and spring water by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of chromatography A*, Vol. 1169, pp., 31-39.
25. Gil Janet M., Soto María A., Usma Iván J., Gutiérrez Darío O., (2012), Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos.
26. Göbel A., McArdell C. S., Joss A., Siegrist H., Giger W., (2007), Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies, *Science Total Environment*, Vol. 372, pp. 361-371.
27. Göbel A., Thomsen A., McArdell C., Alder A., Giger W., Theib N., Löffler D., Ternes T., (2005), Extraction and determination of sulfonamides, macrolides and trimethoprim in sewage sludge, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1085, págs 179-189
28. Guerra P., Kim M., Shah A., Alae M., Smyth S. A., (2014), Occurrence and fate of antibiotic, analgesic/anti-inflammatory, and antifungal compounds in five wastewater treatment processes, *Science of The Total Environment*, Vol. 473-474, pp. 235-243
29. Gumustas M., Kurbanoglu S., Uslu B., Ozkan S. A., (2013). UPLC versus HPLC on Drug Analysis: Advantageous, Applications and Their Validation Parameters, *Journal Chromatographia*, Vol. 76, pp. 1365-1427.

30. Han R. W., Zheng N., Yu Z. N., Wang J., Xu X. M., Qu X. Y., Li S. L., Zhang Y. D., Wang J. Q., (2015), Simultaneous determination of 38 veterinary antibiotic residues in raw milk by UPLC-MS/MS, Journal Food Chemistry, Vol. 181, pp. 119-126.
31. Hernández Sandra, (2016, enero), Entran al DF más de los que salen, EL UNIVERSAL, Recuperado: <https://www.eluniversal.com.mx/articulo/metropoli/df/2016/01/1/entran-al-df-mas-de-los-que-salen-para-estudiar-o-trabajar>
32. Hernández. F., Calisto. N., Gómez. C., Gómez M., Ferrer. J., González. G., Bello. H., Botero. A., Boix. C., Ibañez. M., Montor. M., (2019). Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic. [version electronica]. J. Hazardous Materials. Vol. 363: 447-456. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.027>
33. Hong Y., Sharma V K., Chiang P., Kim H., (2015), Fast-Target analysis and hourly variation of 60 pharmaceuticals in wastewater using UPLC-High Resolution Mass Spectrometry, Journal Contam. Toxicol., Vol 60, pp. 525-534.
34. INCYTU (2019). Tratamiento de aguas residuales, No. 028, Ciudad de México. Consultado en https://www.foroconsultivo.org.mx/INCYTU/documentos/Completa/INCYTU_19-028.pdf
35. Instituto Mexicano de la Tecnología del Agua, (2018), El Desafío de los Contaminantes Emergentes. Consultado en:

<https://www.gob.mx/imta/articulos/el-desafio-de-los-contaminantes-emergentes>

36. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (2021), Perspectivas de los contaminantes emergentes en el mundo, Recuperado <https://www.gob.mx/imta/articulos/perspectivas-de-los-contaminantes-emergentes-en-el-mundo?idiom=es>
37. Instituto Nacional de Seguridad Pública INSP, (2020), 7 días, 7 datos sobre el uso de antibióticos Recuperado <https://www.insp.mx/avisos/5136-antibioticos-uso-siete-datos.html>
38. Jürgen H. Gross, (2017), Mass Spectrometry, Tercera Edición, Switzerland, Editorial Springer.
39. Kim. C., Ryu. H., Chung. E., Kim. Y., (2018). Determination of 18 veterinary antibiotics in environmental water using high-performance liquid chromatography-q-orbitrap combined with on-line solid phase extraction. [version electronica]. J. Chromatography B. Vol. 1089: 158-165. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.03.038>
40. Krishnan A, Starhis P, Permuth S, Tokes L y Feldman D.,(1993). Bisphenol A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flask during autoclaving. Endocrine, Vol. 132, pp., 2279-2286.
41. Kümmerer K., (2009), Antibiotics in the aquatic environment – A review part I, Chemosphere, Vol. 75, pp. 417-434.
42. La Ferré M., Pérez S., Kantiani M., Barceló D., (2008), Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformations products in the aquatic environment, Trends on Analytical Chemistry, Vol. 27, pp. 991-1007.

43. M. Gros, S. Rodríguez-Mozaz, D. Barceló, (2013), Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry J. Chromatogr. t A, Vol. 1292, pp. 173-188
- 44.** Magréault S., Leroux S., Touati J., Storme T., Jacqz-Aigrain E., (2019), UPLC/MS/MS assay for the simultaneous determination of seven antibiotics in human serum-Application to pediatric studies, Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis, Vol. 174, pp. 256-262.
45. Martínez J. L., (2009), Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants, Environmental Pollution, Vol. 157, pp. 2893-2902
DOI: <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.envpol.2009.05.051>
46. Michael I., Rizzo L., McArdell C.S., Manaia C.M., Merlin C., Schwartz T., Dagot C., Fatta-Kassinos D. (2013). Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review. Water Research. Vol. 47, pages. 957-9951.4
47. Mrozik A., Piotrowska-Seget Z., Labuzek S., (2008), FAMES profiles of phenol degrading *Pseudomonas stutzeri* introduced into soil. International Biodeterioration and Biodegradation, Vol. 62, pp. 319-324
48. Naciones Unidas (2019), Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el desarrollo de los Recursos Hídricos 2019, No dejar a Nadie atrás, Recuperado:

<file:///F:/LIA/art%C3%ADculos/ONU%20Recursos%20H%C3%ADdricos%202019.pdf>

49. Ngoc T., Hongjie C., Martin R., Feijian M., Karina Y. (2016). Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes. *Water Research*, Vol. 104, pages., 461-472.
50. OMS, (2000), *Overcoming Antibiotic Resistance*, World Health Organization Report in Infectious Diseases
51. Peña Guzmán C., Ulloa Sánchez Stefanie., Mora K., Helena Bustos R., Alvarez J., Rodríguez Pinzón M., (2019), Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature, *Journal of Environmental Management*, Vol. 237, pp, 408-423. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>
52. Peña-Álvarez A., Castillo-Alanís A., (2015), Identificación y cuantificación de contaminantes emergentes en aguas residuales por micro extracción en fase sólida-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-CG-EM), *Revista Especializada en ciencias químicas-biológicas*, Vol. 18, pp., 29-42.
53. Pérez Almiñana Victor Daniel, (2014), *Muestreo y preparación de la muestra*, Editorial SINTESIS, España.
54. Piña Pozas M., Araujo Pulido G., Castillo C., INSP (2020), Hipertensión arterial un problema de salud pública en México, *Hipertensión y COVID-19*. Tomado de <https://www.insp.mx/avisos/5398-hipertension-arterial-problema-salud-publica.html>

55. Plan Universitario de Control de la Resistencia Antimicrobiana (PUCRA), Universidad Nacional Autónoma de México. Segundo Reporte de los Hospitales de la Red del PUCRA: Resistencia antimicrobiana y consumo de antimicrobianos. Ciudad de México, noviembre 2019. Disponible en: www.puis.unam.mx
56. PROFECO, (2010), Sondeo en línea sobre hábitos de consumo de medicamentos, Recuperado <https://www.gob.mx/profeco/documentos/resultados-de-encuestas-y-sondeos-2010?state=published>
57. Revilla Vázquez A. L., Gómez Zaleta B., Vargas Martínez G., Castillo Rodríguez M., Granados Enríquez E., (2012), Química Analítica Instrumental (Prácticas para farmacia),
58. Robledo Zacarías V. H., Velázquez Machuca M. A., Montañez Soto, J. L., Pimentel Equihua, J. L., Vallejo Cardona A. A., López Calvillo M. D., & Venegas González J., (2017). Hidroquímica y contaminantes emergentes en aguas residuales urbano-industriales de Morelia, Michoacán, México. Revista internacional de contaminación ambiental, 33(2), 221-235. <https://dx.doi.org/10.20937/rica.2017.33.02.04>
59. Robledo Zacarías, V., Velázquez Machuca, M. A., et al. (2017). HIDROQUÍMICA Y CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES URBANO INDUSTRIALES DE MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. Revista internacional de contaminación ambiental, 33(2), pp. 221-235.

60. SCOTT, Matthew y JONES, Malcolm. (2000) The biodegradation of surfactants in the environment. En: Biochimica et Biophysica Acta. Vol. 1508. pp. 235-251.
61. SEDEMA (2016), Agua Residual, Volumen de Agua Residual en la Ciudad de México <http://www.cuidarelagua.cdmx.gob.mx/volumen.html>
62. Seija V., Vignoli R., (2008), Principales grupos de antibióticos, Temas de Bacteriología y Virología Médica, pp. 631-657. Recuperado <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf>
63. Serra Alejandro H., (2006), Macrólidos, Revista Separata, Vol. 14 (7) Recuperado <https://www.montpellier.com.ar/Uploads/Separatas/sepMacrolidosClinicamedicaM.pdf>
64. Skoog D. A., Holler F. J., Crouch S. R., (2008). Principios de análisis instrumental, Sexta Edición, Cengage Learning.
65. SOLUCIONES BASADAS EN LA NATURALEZA PARA LA GESTIÓN DEL AGUA, INFORME MUNDIAL de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos 2018 Consultado 26/05/2021 <file:///F:/LIA/art%C3%ADculos/Uso%20de%20antibi%C3%B3ticos%20en%20M%C3%A9xico/Soluciones%20Basadas%20en%20la%20naturaleza%20para%20la%20gesti%C3%B3n%20del%20agua.pdf>
66. Soluciones Medioambientales y Aguas, S.A (2015), Sustancias Contaminantes y sus Efectos en la Calidad del Agua.

<https://www.aguasresiduales.info/revista/blog/sustancias-contaminantes-y-sus-efectos-en-la-calidad-del-agua>

67. Suárez C., Gudiol F., (2009), Antibióticos betalactámicos, Enfermedades Infecciosas Microbiológicas Clin. Vol. 27 (2), págs. 116-129, DOI: 10.1016/j.eimc.2008.12.001
68. Tadeo J. L., Sánchez C., Albero B., García A. I. y Pérez R. A. (2012). Analysis of emerging organic contaminants in environmental solid samples. Centr. Eur. J. Chem. 10 (3), pp. 480-520. DOI: 10.2478/s11532-011-0157-9
69. Tadkaew N., Sivakumar M., Khan S. J., McDonald J. A., Nghiem L. D., (2010), Effect of mixed liquor pH on the removal of the trace organic contaminants in a membrane bioreactor, Bioresource Technol., Vol. 101, pp. 1494-1500.
70. Taleuzzaman M., Ali S., Gilani SJ., Imam SS., Hafeez A., (2015). Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC)- A Review, Journal of Analytical and Pharmaceutical Chemistry 2 (6): 1056.
71. TERZIĆ, Senka; *et al.* (2008) Occurrence and fate of emerging wastewater contaminants in Western Balkan Region. En: Science of the total environment. Vol. 399. pp. 66-67
72. Tolls J., (2001), Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review Environmental Science and Technology, Vol. 35(17), pp. 3397-3406
73. Van Hamme J. D., (2004) Bioavailability and biodegradation of organic pollutants: A microbial perspective. Soil. Biology, Vol. 2, Biodegradation and Bioremediation, Springer- Verlag, Germany, pp. 37-56.

74. Verlicchi P., Aukidy M. A., Zambello E., (2012), Occurrence of pharmaceutical compounds in urban wastewater removal, mass load and environmental risk after a secondary treatment – A review, *Science of the Total Environment*, Vol. 429, pp. 123-155.
75. Vidal Martínez L., (2009), Desarrollo y evaluación de nuevas estrategias para la miniaturización de la preparación de la muestra, [Tesis Doctoral, Universidad de Alicante], Recuperado https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/11458/1/Tesis_Vidal.pdf
76. Vieno N., Tuhkanen T., Kronberg L., (2007), Elimination of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Finland, *Water Res.*, Vol. 41, pp. 1001-1012.
77. Witte W, 1998. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Science*, Vol. 279, pp., 966-997.
78. Xiaowei L., Ping G., Yawen S., Yuebin K., Hui L., Qin F., Yingyu W., Tianhe L., Xi X. (2017). Determination of 82 veterinary drugs in swine waste lagoon sludge by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass, *Journal of Chromatography A*, Vol. 1499, pp. 57-64.
79. Yamamoto H., Nakamura Y., Morigushi S., Nakamura Y., Honda., Yuta., Tamura I., Hirata Y., Hayashi A., Sekizawa J., (2009), Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation and sorption experiments, *Water Research* Vol. 43(2), pp. 351-362
80. YU. X., Tang. X., Zuo. J., Zhang. M., Chen. L., Li. Z., (2016). Distribution and persistence of cephalosporins in cephalosporin producing wastewater using SPE and UPLC-MS/MS method. [version electronica]. *Science of the total*

81. Yuan X., Qiang Z., Ben W., Zhu B., Liu J., (2014), Rapid detection of multiple class pharmaceuticals in both municipal wastewater and sludge with ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Journal of Environmental sciences*, Vol. 26, pp. 1949-1959.
82. Z. Ye, H.S. Weinberg, M.T. Meyer, (2007), Trace analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone, and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry, *Anal. Chem.*, Vol. 79, pp. 1135-1144.
83. Zepp R. G., Cline D. M., (1997), Rates of direct photolysis in aquatic environment, *Environmental Science and Technology* Vol. 11(4), pp. 359-366
84. Zuloaga O., Etxebarria N., González-Gaya B., Olivares M., Prieto A., Usobiaga A., (2020), 18- Stir-bar sorptive extraction, *Handbooks in Separation Science*, pp. 493-530.
85. Zwiener C y Frimmel F, 2000. Oxidative treatment of pharmaceuticals in water. *Water Res.* Vol. 34, pp., 1881-1897.
86. Liu X., Wang Z., Zhang L., Fan W., Yang C., Li E., Du Y., Wang X., (2021), Inconsistent seasonal variation of antibiotics between surface water and groundwater in the Jiangnan Plain: Risks and linkage to land uses, *Journal Environmental Sciences*, Vol. 109, pp. 102-113.
87. L. Yao, Y. Wang, L. Tong, Y.G. Li, Y.M. Deng, W. Guo, *et al.* (2015), Seasonal variation of antibiotics concentration in the aquatic environment: a

- case study at Jiangnan Plain, central China, *Sci. Total Environ.*, 527–528, pp. 56-64
88. Rui W., Feng F., Yufeng C., Xiaoshan M., Qianwen S., Meixue C., Yuansong W., Kemin Q., (2019), Screening and quantitation of residual antibiotics in two different swine wastewater treatment systems during warm and cold seasons, *Science of The Total Environment*, Vol. 660, pp. 1542-1554.
89. Julia Rossmann, Sara Schubert, Robert Gurke, Reinhard Oertel, Wilhelm Kirch, (2014), Simultaneous determination of most prescribed antibiotics in multiple urban wastewater by SPE-LC–MS/MS, *Journal of Chromatography B*, Volume 969, Pages 162-170.
90. Qiu P, Guo X, Zhang Y, Chen X, Wang N. (2016) Occurrence, fate, and risk assessment of vancomycin in two typical pharmaceutical wastewater treatment plants in Eastern China. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 23(16):16513-23.
91. Gao P., Ding Y. J., Li H., Xagorarakis I., (2012), Occurrence of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant: mass balance and removal processes *Chemosphere*, 88 (2012), pp. 17-24 PAGINA 4

