

PROYECTO “MÉTODOS ANÁLITICOS PARA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS EMERGENTES EN AGUA”

CLAVE: TC1502.1

Informe Final

COORDINACIÓN: TRATAMIENTO Y CALIDAD DEL AGUA

SUBCOORDINACIÓN: CALIDAD DEL AGUA

MARTHA AVILÉS FLORES
MANUEL SÁNCHEZ ZARZA
NORMA RAMÍREZ SALINAS

México, 2015

RESUMEN EJECUTIVO

Los compuestos emergentes presentan efectos significativos alterando al sistema endocrino y bloqueando o perturbando las funciones hormonales, afectan a la salud de los seres humanos y de especies animales aun cuando se encuentran en bajas concentraciones ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). Los antibióticos como penicilina, sulfonamidas y tetraciclinas causan resistencia en patógenos bacterianos. Aunque estos contaminantes se encuentran en concentraciones traza sus efectos son significativos.

Estudios revelan que en el agua residual se han identificado más de 20 tipos de fármacos de distinta composición, según el país y el consumo, inclusive la venta de fármacos se ha incrementado en todo el mundo en un 25%. La Unión Europea (UE) tiene registrados más de 3,000 fármacos que al ser excretados pueden provocar posibles efectos a nivel ambiental, resistencia bacteriana, genotoxicidad hasta llegar a dañar al ser humano.

En México no existen normas oficiales en materia de agua y no hay datos disponibles que indiquen la presencia, riesgo y toxicidad de compuestos emergentes en agua superficial y subterránea. El propósito del proyecto fue evaluar la presencia de 15 contaminantes emergentes, específicamente fármacos en agua de ríos y efluente de una planta de agua residual de Yautepec y Cuautla, Morelos. Para ello, se desarrolló y se validó una metodología analítica adecuada al tipo de matrices en estudio. Los compuestos estudiados fueron 4-dimethylaminoantipirina, pindolol, metoprolol, clenbuterol, bisoprolol, propanolol, betaxolol, antipirina, sulfametoxazol, ifosfamida, propifenazona, atenolol, salbutamol, terbutalina y sotalol.

El método analítico desarrollado se basó en una técnica de cromatografía líquida acoplada a un detector de masas triple cuadrupolo. En cuanto a los resultados obtenidos en el efluente de una planta de tratamiento de agua residual se detectaron los contaminantes atenolol ($6.75\text{-}9.10\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), sulfametoxazol ($87\text{-}136\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), propanolol ($2.85\text{-}6.25\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), naproxeno ($1.45\text{-}1.86\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)

En el caso de las fuentes de abastecimiento los fármacos encontrados en mayores concentraciones fueron metoprolol ($0.6\text{-}7.2\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), la mayor concentración de de sulfametoxazol ($3\text{-}204.5\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) en agua de río de Yautepec, Morelos. En agua de río de Cuautla no se detectó la presencia de ningún contaminante emergente.

De estos resultados se concluye que a pesar de haber algunos contaminantes emergentes hasta el momento las concentraciones detectadas para fármacos no alcanzan concentraciones que hayan sido reportadas en literatura internacional.

ÍNDICE

	Página
Introducción	1
Objetivo	5
Metodología analítica	5
Reactivos y materiales	5
Selección de contaminantes emergentes	5
Método analítico para fármacos	5
Validación del método analítico	6
Extracción de contaminantes	7
Desarrollo y optimización de nuevos métodos analíticos segunda parte	
Validación de las metodologías implementadas en 2014 correspondiente a quince fármacos	10
Linealidad	10
Exactitud	10
Precisión	11
Límite de detección	11
Límite de cuantificación	11
Límites de confianza	11
Desarrollo, implementación y optimización para 30 compuestos emergentes. Segunda parte	14
Método extracción bezafibrato, naproxeno, fenoprofeno, ibuprofeno, diclofenaco, indometacina y gemfibrozil	15
Método extracción metronidazol, ronidazol, furazolidona, dapsona y cloranfenicol	17
Método analítico penicillin V, Penicillin G, Oxacillin, Cloracillin, Dicloxacillin, Nfacillin y Amoxicilina	17
Método extracción carbamazepina, trimetoprim, betametasona	19
Método extracción sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina	20
Método implementado de β -estradiol, estrona, mestranol, etinil-estradiol y M-androstene	20
Validación de Metformina por cromatografía líquida de alto desempeño (UHPLC)	21
Validación de Sulfadiazina, Sulfamerazina y Sulfametazina por cromatografía líquida detector arreglo de diodos	23

Identificación y cuantificación de veinte compuestos emergentes en sitios potenciales de las cuencas de ríos Yautepec y Cuautla	25
Dos artículos de divulgación	29
Conclusiones	29
Referencias	30
Anexo 1 Prueba de desempeño fármacos	

LISTA DE TABLAS

Tabla Núm.	Descripción tabla	Página Núm.
Tabla 1	Contaminantes emergentes	2
Tabla 2	Fuentes puntuales y no puntuales	3
Tabla 3	Fármacos en agua potable, superficial y residual	4
Tabla 4	Compuestos emergentes segunda etapa	8
Tabla 5	Condiciones cromatográficas	8
Tabla 6	Parámetros optimizados de quince fármacos	9
Tabla 7	Valores parámetros de validación de quince fármacos	11
Tabla 8	Compuestos emergentes identificados en Yautepec y Cuautla, Morelos	13
Tabla 9	Condiciones Cromatógrafo para siete compuestos emergentes	15
Tabla 10	Condiciones óptimas del método extracción	15
Tabla 11	Condiciones instrumentales para cinco fármacos	16
Tabla 12	Método de extracción para cinco compuestos	17
Tabla 13	Condiciones para identificar penicilinas	17
Tabla 14	Condiciones instrumentales para tres fármacos	18
Tabla 15	Método extracción de tres contaminantes	18
Tabla 16	Condiciones instrumentales para sulfonamidas	19
Tabla 17	Método analítico para sulfonamidas	19
Tabla 18	Método optimizado para esteroides	20
Tabla 19	Condiciones óptimas para Metformina	21
Tabla 20	Parámetros de validación de Metformina	22
Tabla 21	Determinación de Metformina en agua residual	22
Tabla 22	Parámetros de validación para Sulfonamidas	23
Tabla 23	Fármacos en agua residual y agua de río con detector de arreglo de diodos	24
Tabla 24	Compuestos emergentes de los ríos Yautepec y Cuautla, Morelos	26
Tabla 25	Contaminantes emergentes en efluente PTAR Yautepec, Morelos	27

LISTA DE FIGURAS

Figura Núm.	Descripción figuras	Página Núm.
Figura 1	Parámetros de validación de método analítico	6
Figura 2	Equipo de extracción	7
Figura 3	Cartuchos de carbono 18 (C18)	7
Figura 4	Cromatógrafo de líquidos-detector de masas triple cuadrupolo	8
Figura 5	Cromatograma y curva de calibración propanolol	11
Figura 6	Etapas método extracción	12
Figura 7	Porcentaje de recobro extracción quince fármacos	13
Figura 8	Cromatograma LC-MS contaminantes emergentes	14
Figura 9	Porcentajes de recobro de contaminantes emergentes	16
Figura 10	Recuperaciones promedio de cinco fármacos	17
Figura 11	Porcentajes de recobro para tres fármacos	19
Figura 12	Porcentajes recuperación de sulfonamidas	20
Figura 13	Cromatograma y espectro Metformina	21
Figura 14	Recobro validación sulfonamidas	23
Figura 15	Cromatograma agua de río y cromatograma muestra fortificada	25
Figura 16	Agua de río, muestra fortificada y estándar	27
Figura 17	Cromatogramas de contaminantes emergentes identificados en muestras de agua residual tratada	28

Introducción

Los contaminantes emergentes son definidos por Barceló (2003) como aquellos “contaminantes no regulados, los cuales pueden ser candidatos a futuras regulaciones dependiendo de sus efectos potenciales a la salud humana y a los ecosistemas”. Por ello, con el avance de las técnicas analíticas de detección y el aumento en el entendimiento de las implicaciones que involucran la presencia de estos compuestos en el ambiente y en la salud humana, la importancia de su estudio y la necesidad de establecer límites en sus descargas y consumos ha ido en aumento a nivel mundial (Suthersan y Payne, 2005). En las últimas dos décadas ha cobrado interés el estudio de la presencia de los compuestos orgánicos emergentes en el ambiente, los cuales forman parte de productos de uso diario, como son fármacos, productos para el cuidado e higiene personal, así como compuestos con efectos de disrupción endocrina como son los aditivos de gasolinas, plastificantes y detergentes, entre otros. Estos estudios se han realizado principalmente en ecosistemas acuáticos de Estados Unidos y de Europa (Barceló, 2003). En la Tabla 1 se presentan la clasificación de contaminante emergentes.

La característica más relevante de este grupo de contaminantes es que no necesariamente tienen que persistir en el ambiente para causar efectos negativos debido a que las elevadas tasas de transformación/renovación pueden ser compensadas por su introducción continua al ambiente. Desafortunadamente, para la mayoría de los contaminantes emergentes no hay datos disponibles que indiquen su presencia, riesgo y ecotoxicidad, por lo que es difícil predecir cuáles serían sus efectos sobre la salud humana y los organismos acuáticos.

Algunos especialistas indican que de todos los contaminantes emergentes, los antibióticos son los compuestos de mayor preocupación; a pesar de ello, otros compuestos, especialmente los metabolitos polares y las mezclas complejas representan grandes retos para los toxicólogos (Barceló, 2003).

Los disruptores endócrinos y los fármacos, así como otros contaminantes, provienen de una amplia variedad de fuentes. Estos compuestos tienen implicaciones para los humanos en caso de exposición, así como otros efectos en el ambiente y en la vida silvestre. Las fuentes de contaminación se dividen en dos clases: puntuales y dispersas.

Tabla 1 Contaminantes emergentes

Compuesto	
1 Fármacos	
Antibióticos de uso humano y de uso veterinario	Trimetoprim, eritromicina, lincomicina, sulfametaxozol
Analgésicos, anti-inflamatorios	Codein, ibuprofeno, acetaminofén, ácido acetilsalicílico, diclofenaco, fenoprofeno, ketoprofeno
Medicamentos psiquiátricos	Diazepan
Reguladores de lípidos	Bezafibrato, ácido clofíbrico, ácido fenofíbrico, gemfibrozil
B-bloqueadores	Metoprolol, propanolol, timolol
Rayos-X de contraste	Iopromida, iopamidol, diatrizoato
2 Hormonas y esteroides	Estradiol, estrona, estriol, dietilstilbestrol
3 Productos para el cuidado e higiene personal	
Fragancias	Almizcles nitro, policíclicos y macrocíclicos
Protectores solares	Benzofenona, alcanfor metilbencilidano
Repelentes de insectos	N,N-dietiltoluamida
Antisépticos	Triclosan, Clorofeno
4 Surfactantes y metabolitos de surfactantes	Alquilfenoles etoxilados, 4-nonilfenoles, 4-octilfenol, Alquilfenoles carboxilados
5 Retardantes de flama	Ésteres difenil polibrominados (PBDEs) Bisfenol A tetrabromado, C ₁₀ -C ₁₃ cloroalcanos, Tris (2-cloroetil) fosfatado
6 Agentes y aditivos industriales	Agentes quelantes (EDTA), sulfonatos aromáticos, ésteres de ftalato
7 Aditivos de gasolinas	Ésteres dialquil, metal-t-butil éter (MTBE)
8 Productos de desinfección	Lodo-THMs, bromoácidos, bromoacetónitros, bromoaldeídos, cianoformaldeído, bromato, NDMA

Barceló, 2003

Una fuente puntual es una entrada localizada y definida de contaminantes al ambiente (usualmente, en un cuerpo de agua), puede ser una descarga de agua, una crecida de lluvia o algún punto conocido donde el agua es vertida de manera constante. Este tipo de fuentes tienden a ser más fáciles de controlar que las no puntuales (Tabla 2) (Birkett y Llester, 2003).

Algunas veces se les ha llamado también fuentes difusas, y el término se refiere a aquellas fuentes que no tienen un sitio de entrada definido. Algunos ejemplos de fuentes no puntuales son la deposición atmosférica y el agua de escorrentía. El punto exacto donde los contaminantes entran al cuerpo receptor dependen del tipo de fuente, su localización, y de las propiedades físicas de los contaminantes. Si los contaminantes son un gas o partículas finas éstos pueden caer directamente al suelo con la lluvia. La misma lluvia puede lavar las partículas que se depositan en las superficies cercanas a los causes y, si los contaminantes son solubles en el agua, pueden ser transportados a gran distancia.

Durante las lluvias, las partículas mayores, incluyendo el suelo, pueden ser acarreadas hasta los cuerpos de agua. Estas pueden tener contaminantes tales como pesticidas adheridos a ellos (Tabla 2).

Tabla 2 Fuentes puntuales y no puntuales

Fuentes Puntuales	Fuentes No Puntuales
Descarga de las plantas de tratamiento hacia los ríos	Escorrentía y drenaje de las tierras de cultivo
Descargas de aguas residuales industriales a los ríos	Fugas de fosas sépticas hacia estratos permeables
Descarga de los efluentes de las granjas a los ríos	Lavado de desperdicios, polvo o asfalto de los caminos urbanos hacia los ríos
Descarga de pequeñas plantas domésticas de tratamiento hacia los ríos	Entradas esporádicas de contaminantes a los ríos
Descargas a través de pozos y manantiales hacia los estratos inferiores	Infiltración de lixiviados de rellenos sanitarios hacia los estratos inferiores
Descargas de los lixiviados de rellenos sanitarios hacia los ríos	Contaminación en general de los influentes de recarga de acuíferos

Birkett y Lester, 2003

Los fármacos de uso humano entran al ambiente a través de los efluentes derivados de los procesos de manufactura, por consumo de los pacientes, la inadecuada disposición de los medicamentos caducos y por derrames accidentales. Los fármacos son metabolizados en el cuerpo humano en variados y distintos metabolitos o conjugados, los cuales pueden ser excretados junto con el fármaco inalterado por la orina o las heces fecales. La relativa distribución de los metabolitos en la orina y heces fecales depende de la adsorción, distribución, metabolismo y procesos de excreción del medicamento y de la salud del paciente. La entrada de los fármacos y de sus metabolitos al ambiente generalmente es por medio de las aguas residuales municipales, las cuales llegan a las plantas de tratamiento de agua residual, si es que existen. Si los fármacos y sus metabolitos no son eliminados durante dicho tratamiento, estos pueden entrar a los ecosistemas acuáticos y eventualmente llegar al agua subterránea (Velagaleti, 1997; Daugnton y Ternes, 1999; Kümmerer, 2004).

La presencia de fármacos fue reportada por primera vez en el año de 1976 en Estados Unidos, en donde se detectó ácido clofíbrico en un intervalo de concentración de 0.8 a 2 µg/L en agua residual tratada (Garrison *et al.*, 1976). Subsecuentemente, fueron detectados en ríos del Reino Unido en 1981, en donde las concentraciones se encontraron por arriba de 1µg/L (Richardson y Bowron, 1985). El ibuprofeno y el naproxeno fueron identificados en aguas residuales en Canadá (Rogers, 1996). Sin embargo, los fármacos han sido detectados en el ambiente con mayor frecuencia a partir de 1990. A continuación en la Tabla 3 se presentan estudios recientes en materia de fármacos en agua residual, agua superficial agua potable en diversos países.

Las plantas de tratamiento de aguas residuales no están diseñadas para degradar los compuestos emergentes, por lo que una alta proporción de fármacos y sus

metabolitos no sufren ningún cambio y entran con una gran toxicidad al medio acuático, como acuíferos y sistemas marinos (Dougherty *et al.*, 2010).

Tabla 3 Fármacos en agua potable, superficial y residual.

País	Tipo de Agua	Contaminante emergente	Concentración (ng L ⁻¹)	Referencia
Alemania	Agua Superficial	Gemfibrozil,	52	Ternes, 1998
		Ácido clofibrico,	66	
		Diclofenaco,	150	
		Ibuprofeno,	70	
		Ácido salicílico	25	
Brasil	Agua de grifo	Ácido clofibrico	165-270	Heberer, 1998 y 2002 Daughton y Ternes, 1999
	Agua residual	Diclofenaco,	800	
		Ketoprofeno,	500	
Canadá	Agua Superficial	Naproxeno	600	Metcalf <i>et al.</i> , 2003, Miao <i>et al.</i> , 2002; Hua <i>et al.</i> , 2004
		Ácido clofibrico,	15	
		Diclofenaco,	26	
		Ibuprofeno,	64	
		Ketoprofeno,	12	
Finlandia	Agua residual	Naproxeno	94	
España	Agua residual	Ibuprofeno,	2600 – 5700	Carballa <i>et al.</i> , 2004
		Naproxeno	1800 - 4600	
Estados Unidos	Agua potable	Ibuprofeno	1000	Verliefde, <i>et al.</i> ,2006
Finlandia	Agua residual	Ibuprofeno	13100	Lindqvist <i>et al.</i> ,2005
		Naproxeno,	4900	
		Ketoprofeno	2000	
Holanda	Agua potable	Ibuprofeno	23	Verliefde, <i>et al.</i> ,2006

En México no hay datos disponibles que indiquen la presencia, riesgo y toxicidad de compuestos emergentes en agua superficial y subterránea. Siemens *et al.*, 2008, realizó estudio para determinar las concentraciones y flujos de fármacos en sistema de irrigación con agua residual municipal proveniente del Valle del Mezquital.

El objetivo de este proyecto es implementar, desarrollar y validar métodos analíticos para identificar y cuantificar contaminantes emergentes en agua por cromatografía de líquidos-espectrometría de masas, comprobando su aplicabilidad con muestras de agua de los ríos Cuautla y Yautepac así como agua residual de una planta de tratamiento, localidades ubicadas en el estado de Morelos.

Objetivo

Desarrollo e implementación de metodologías para la identificación y cuantificación de compuestos emergentes en aguas subterráneas y superficiales. Parte 2.

Metodología analítica

Reactivos y materiales

Estándares 4-dimethylaminoantipirina, pindolol, metoprolol, clenbuterol, bisoprolol, propanolol, betaxolol, antipirina, sulfametoxazol, ifosfamida, propyphenazona, atenolol, salbutamol, terbutalina y sotalol grado USP marca Sigma, Metanol, Acetonitrilo y Agua grado Masas y grado HPLC, Cartuchos C18 PPL Bond Elut de 3 MI, MCX Oasis de 60 mg de 3 mL y HLB Oasis de 3mL y 60 mg. Fase móvil: Agua con ácido fórmico 0.1% y Acetonitrilo. La determinación se desarrolló en un Cromatógrafo de Líquidos-Espectrometría de masas triple cuadrupolo (LC-MS) marca Shimadzu modelo 8040.

Selección de contaminantes emergentes

La selección del método depende de las propiedades físicas y químicas del compuesto, el análisis por cromatografía de líquidos-masas (LC-MS) es adecuado para la cuantificación de contaminantes que son más polares y muy solubles en agua. Los compuestos se seleccionaron de acuerdo con los siguientes criterios: presencia en agua superficial y agua residual, éstos han sido reportados por varios autores en concentraciones de $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, sin embargo estas concentraciones son suficientes para causar efectos adversos en los ecosistemas acuáticos a nivel reproductivo.

Método analítico para fármacos

La implementación de un método analítico es experimental, la elección de la fase móvil y los tiempos de retención están dadas por las condiciones particulares de cada uno de los compuestos a separar.

La detección de los contaminantes emergentes se realizó por medio de un análisis cualitativo el cual consiste en detectar la presencia de los contaminantes emergentes en base al tiempo de retención, la masa del ión del analito (ión molecular) y las masas de los iones producto. El tiempo de retención corresponde al tiempo transcurrido desde que se inyecta la muestra en el cromatógrafo, hasta la detección del máximo del pico. Tanto el tiempo de retención como los iones característicos son únicos para cada compuesto; cada determinación se realizó con múltiple reacción monitoreada (MRM) en modo positivo.

Validación de las metodologías implementadas en 2014 correspondientes a los quince fármacos

El método fue probado para evaluar linealidad, exactitud, precisión y límites de cuantificación de 15 contaminantes emergentes: 4-dimethylaminoantipirina, pindolol, metoprolol, clenbuterol, bisoprolol, propanolol, betaxolol, antipirina, sulfametazol, ifosfamida, propyphenazona, atenolol, salbutamol, terbutalina y sotalol. Las concentraciones del método fueron 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 50 ng mL⁻¹ se evaluaron los parámetros de linealidad del sistema, exactitud y precisión expresada en sus formas de repetibilidad y precisión intermedia. (Figura 1)

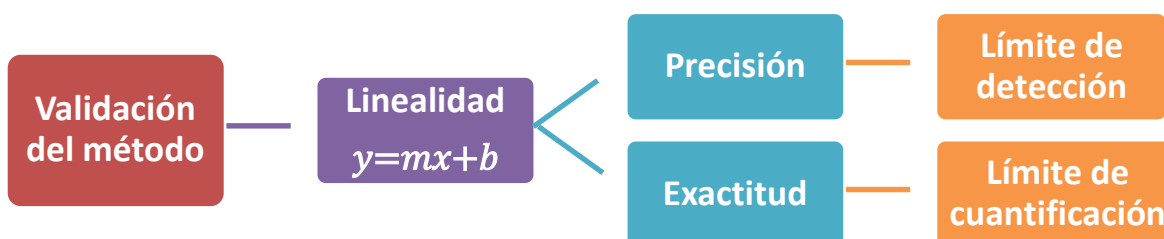


Figura 1. Parámetros de validación de método analítico.

La recuperación de los analitos de interés es uno de los pasos más importantes en la validación del método ya que se refiere a la eficiencia de todo el proceso analítico desarrollado y se reporta como porcentaje de analito obtenido luego del proceso de extracción.

Los límites de detección y cuantificación son parámetros que determinan la capacidad de análisis del método analítico. El límite de detección es la mínima concentración de analito en una muestra que se puede detectar en un proceso de análisis con un nivel aceptable de confianza, pero no necesariamente cuantificada (Katerman, 1981; Long y Winefordner, 1983; Shah *et al.*, 1992). El límite de cuantificación es la concentración mínima de analito a la cual es posible hacer una afirmación cuantitativa del resultado de una medición con una determinada incertidumbre.

Extracción de contaminantes

En la eficiencia de extracción de analitos polares o semipolares influyen varios factores, pero los dos más importantes son la capacidad del absorbente y la retención de los analitos en él. La selección de cartucho C18 depende de las propiedades físicas y químicas del compuesto. Los adsorbentes de balance hidrofílico – lipofílico, Oasis® HLB tienen un relleno de fase reversa, adecuado para la extracción en fase sólida de una amplia gama de compuestos, su composición consiste en una combinación de dos monómeros: N-vinilpirrolidona (hidrofílica) y divinilbenceno (lipofílica). Esta combinación proporciona una capacidad de

retención superior en fase reversa, con una capacidad especial para optimizar la retención de los analitos polares.

La determinación de los fármacos se realizó en un equipo de extracción (Figura 2) en base al método extracción en fase sólida (SPE) que consiste en hacer pasar la muestra a través de un cartucho empacado con un adsorbente sólido (Figura 3), de forma que los analitos quedan retenidos en él y puedan eluirse con un disolvente apropiado.



Figura 2 Equipo de extracción



Figura 3 Cartuchos Carbono C18

Desarrollo, implementación y optimización para 30 compuestos emergentes segunda parte

Los métodos se inician con la detección de contaminantes emergentes (Tabla 4) mediante un análisis cualitativo el cual consiste en identificar la presencia de los fármacos del tiempo e retención y los iones característicos (ión molecular e iones producto). Cada determinación se realizó con múltiple reacción monitoreada (MRM) en modo positivo en cromatógrafo de líquidos Nexera con detector de espectrometría de masas triple cuadrupolo marca Shimadzu modelo 8340 (figura 4), estos sistemas constan de tres cuadrupolos colocados en serie; el primero se utiliza para escanear un rango de m/z preseleccionado y aislar un ion en particular. El segundo conocido como celda de colisión enfoca y trasmite los iones mientras se aplica gas argón para provocar la fragmentación por colisión inducida del ion precursor seleccionado; el tercero sirve para analizar los fragmentos generados en la celda de colisión y eliminar los fragmentos neutros.

Tabla 4 Compuestos emergentes segunda etapa

Fármacos ácidos	Bezafibrato, Naproxeno, Fenoprofeno, Ibuprofeno, Diclofenaco, Indometacina, Gemfibrozil, Metronidazol, Ronidazol, Furazolidona, Cloranfenicol, betametazona, Oxacilina, Cloracilina, Dicloxacilina, Penicilina V, Penicilina G, Nafcilina, Sulfadiazina, Sulfamerazilna, Sulfametazina, Amoxicilina.
Fármacos básicos	Dapsona, Carbamazepina, Trimetoprim, Metformina
Fármacos neutros	Mestranol, Estrona, Estradiol, 17β-Estradiol, Androstene

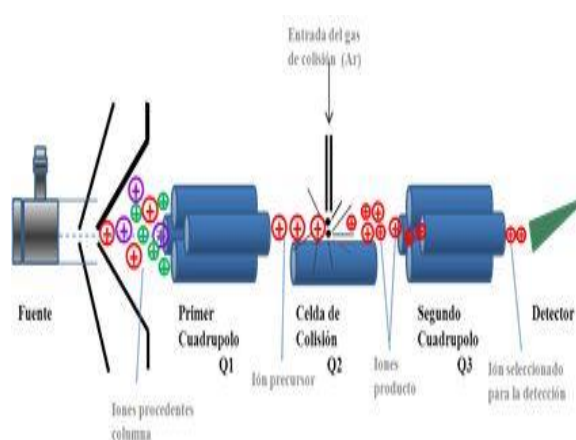


Figura 4 Cromatógrafo de líquidos-detector de masas triple cuadrupolo

Los métodos se realizaron con las condiciones instrumentales detalladas en la tabla 5.

Tabla 5 Condiciones cromatográficas

Condiciones instrumentales	
Detector masas	Triple Cuadrupolo
Cromatógrafo	UHPLC Nexera
Elución	Gradiente
Flujo	0.4 mL min ⁻¹
Volumen inyección	15 µL
Columnas	Raptor Biphenil 2.7 µm Phenomenex Luna 5 µm
Temperatura	40°C
Gas nebulización	2.0 L min ⁻¹
Drying gas	10 L min ⁻¹
Interface	ESI

Aplicación del método validado con muestras ríos Yautepec y Cuautla, Morelos.

Para calibrar el método analítico se colectaron y analizaron muestras de los ríos Yautepec y Cuautla y efluente de una planta de tratamiento de aguas residuales, sitios ubicados en el estado de Morelos, con el fin de cuantificar la presencia de contaminantes emergentes previamente validados.

Publicación de dos artículos de divulgación.

Con los resultados obtenidos de los quince fármacos se publicaron dos artículos de divulgación en congresos Internacionales y Nacionales

Resultados

Selección de contaminantes

Los quince compuestos emergentes β -bloqueadores, antibióticos, anticancerígenos y antiinflamatorios seleccionados pertenecen a diferentes grupos químicos además de que forman parte de los compuestos más estudiados en los últimos años, éstos compuestos han sido reportados en altas concentraciones en agua de río y agua residual; además tienen el potencial de llegar a las fuentes de abastecimiento, representando un riesgo a la salud humana y al ambiente.

Desarrollo método analítico

El método se inició con la detección de los contaminantes emergentes mediante un análisis cualitativo el cual consiste en identificar la presencia de los fármacos por medio del tiempo de retención y los iones característicos. La separación de los analitos se realiza en un tiempo total de análisis de 14 minutos. En la tabla 6 se presentan los datos obtenidos.

Tabla 6 Parámetros optimizados de quince fármacos

Fármacos USP	Tiempo Retención (min)	Ión precursor (m/z)	Ión producto 1 (m/z)	Ión producto 2 (m/z)	Energía Colisión (V)
4-Dimethylamino antipyrine	9.68	232.1	111.0	56.2	26
Pindolol	8.36	250.1	56.2	72.0	21
Metoprolol	11.14	268	116.1	74	56
Clenbuterol	11.25	277	132	108	26
Bisoprolol	1.18	326.6	116.3	56.1	66
Propranolol	12.17	260	183.05	116	56
Betaxolol	12.16	308	55.10	56	71
Antipyrine	11.48	189	56	77	31

Sulfamethaxozole	12.14	254	156	108	31
Ifosfamide	11.98	261	92.05	63.2	41
Prophyphenazone	13.35	231	189.10	56.2	36
Terbutaline	8.18	226.1	152.2	107.0	36
Salbutamol	8.19	240.3	166.2	148.2	21
Atenolol	9.80	267	145.05	190.2	41
Sotalol	9.73	273	213.1	133	26

Los tiempos de retención obtenidos y los iones característicos son los esperados de acuerdo a las condiciones del método desarrollado y a la naturaleza química de los compuestos.

Validación de metodologías de 15 fármacos

El método fue probado para evaluar los parámetros de linealidad, precisión, exactitud, límite de cuantificación y detección e intervalo de confianza.

Linealidad. El método resultó ser lineal en el intervalo de concentraciones de 3 a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, con un coeficiente de correlación de 0.98- 0.99, la relación área versus concentración sugiere una fuerte relación entre la respuesta del instrumento y las concentraciones de los diferentes fármacos. Los datos de regresión mostraron una buena relación lineal sobre el rango de concentraciones estudiadas, demostrando la idoneidad del método para el análisis. En la figura 5 se muestra un cromatograma y curva de calibración de propanolol.

Exactitud. La exactitud de un método analítico es la cercanía de los resultados al valor verdadero. Se determinó mediante la aplicación del procedimiento analítico en los estudios de recuperación, donde se fortifican disoluciones de muestras con una cantidad conocida de compuestos emergentes.

Precisión. La repetibilidad se realizó a tres concentraciones 3, 15 y 50 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, en el análisis estadístico se determinaron los valores promedio, desviación estándar y coeficiente de variación entre las lecturas obtenidas.

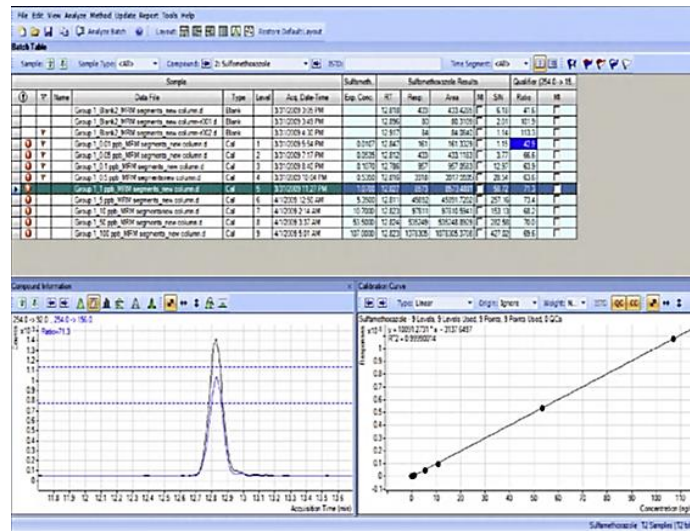


Figura 5 Cromatograma y curva calibración propanolol

Los límites de detección y cuantificación son parámetros que determinan la capacidad de análisis del método analítico. En la tabla 7 se presentan los parámetros de la validación (linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y cuantificación y límites de confianza) de los contaminantes emergentes

Tabla 7 Valores parámetros de validación de quince fármacos

Fármacos	Linealidad (r ²)	Límite Detección (ng·L ⁻¹)	Límite cuantificación (ng·L ⁻¹)	Precisión (Coef. variación)	Exactitud (%)	Límite de confianza (%)
4dimethylaminoantipirina	0.99	0.54	11.11	1.21	99.08	99.50
Pindolol	0.98	0.52	16.51	0.94	100.55	100.84
Metoprolol	0.99	0.26	3.82	2.41	102.58	101.82
Clenbuterol	0.99	0.32	3.31	2.25	90.13	90.84
Bisoprolol	0.99	0.052	3.28	3.61	104.73	103.41
Propanolol	0.99	0.26	3.42	2.54	90.94	91.64
Betaxolol	0.99	0.19	3.53	1.69	100.76	101.30
Antipirina	0.99	0.37	3.95	3.49	97.6	98.62
Sulfamethoxazol	0.99	0.30	3.45	3.03	88.20	89.00
Ifosfamida	0.99	0.49	4.05	4.48	93.30	94.60
Propifenazona	0.99	0.19	3.39	1.89	95.02	95.60
Terbutalina	0.99	0.29	4.01	1.87	112.71	113.45
Salbutamol	0.99	0.23	2.92	2.04	80.95	81.53
Atenolol	0.99	0.22	3.60	2.00	100.08	100.70
Sotalol	0.99	0.26	3.62	2.25	98.54	99.22

Extracción en fase solida (SPE)

Para su evaluación, se emplearon estándares de alta pureza y al menos dos concentraciones fueron adicionadas a las muestras de agua residual y agua de río con el fin de determinar los porcentajes de recuperación.

La separación se realizó en una columna C18 en fase reversa y la fase móvil fue una mezcla de agua-ácido fórmico 0.1% : acetonitrilo- ácido fórmico 0.1% (90:10). El efecto de pH sobre la eficiencia de la extracción es un parámetro muy importante, debido a las diferentes polaridades de los compuestos, la retención aumenta conforme el pH maximiza la concentración de la forma iónica de los solutos. Un pH bajo asegura que las bases fuertes estén en su forma iónica protonada y que los ácidos débiles presentes estén en su forma no iónica. La fase móvil es preparada con ácido fórmico que mantiene el pH cercano a 3.

El proceso de extracción consta de cuatro etapas (figura 6): acondicionamiento del cartucho, adsorción de la muestra, lavado del cartucho y elución del analito.

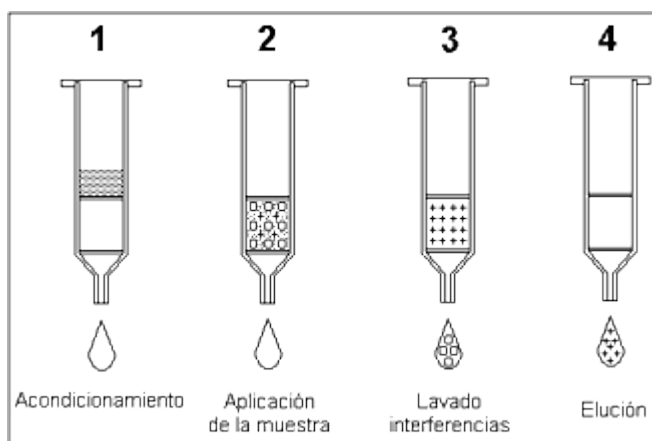


Figura 6 Etapas método extracción

Se realizaron ensayos con varios tipos de cartuchos C18, PPL Bond Elut 3mL/200 mg, Cromabond, Strata, SCX, con los que se obtuvieron mejores porcentajes de recobro fue con Oasis 3mL/60 y 200 mg, MCX Oasis 3mL/60 mg y PPL 3mL/200mg.

En la figura 7 se muestran los porcentajes de recuperación de los quince fármacos obtenidos después del proceso de extracción en fase sólida, mismas que se encuentran en el intervalo de 90 a 106%. Las recuperaciones y la precisión del método se consideran aceptables de acuerdo a lo establecido por el Documento N° SANCO/2007/3131 de la Comisión Europea (European Commission, 2007), ya que se encontraron en el intervalo establecido del 70 al 120%.

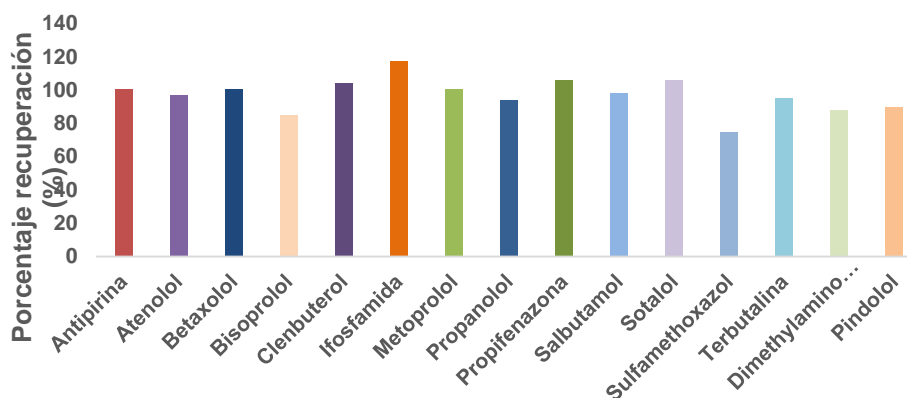


Figura 7 Porcentaje de recobro extracción quince fármacos

Las recuperaciones obtenidas son confiables, debido a la optimización de los métodos analíticos el proceso de extracción se utilizaron cartuchos C18 Oasis HLB y MCX, que permiten la retención de un amplio rango de compuestos polares y no polares, proporcionando datos reproducibles para compuestos emergentes ácidos y básicos.

El método se calibro realizando un muestreo en el río Yautepec y en plantas de tratamiento de agua residual de los municipios de Yautepec y Cuautla, Morelos. En la tabla 8 se muestran los contaminantes identificados por cromatografía de líquidos-masas (LC-MS).

Tabla 8 Compuestos emergentes identificados en Yautepec y Cuautla, Morelos

Contaminante (ng·mL ⁻¹)	Centro Yautepec	Río Yautepec	PTAR Cuautla	PTAR Yautepec	Barranca Yautepec	Valores referencia (ng·L ⁻¹)
4Dimethylaminoantipirina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Pindolol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Metoprolol	7.24	0.58	n.d.	23.13	n.d.	2,200
Clenbuterol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Propranolol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Betaxolol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Antipirina	0.15	n.d.	n.d.	0.13	n.d.	-
Sulfametoxazol	71.31	2.83	36.15	201.45	2.37	1,900
Ifosfamida	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Propifenazona	n.d.	n.d.	2.32	n.d.	n.d.	-
Atenolol	n.d.	n.d.	n.d.	2.96	n.d.	-
Sotalol	n.d.	0.12	n.d.	n.d.	n.d.	-
Bisoprolol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Terbutalina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-
Salbutamol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-

n.d. No detectado

Como se aprecia el sulfametoxazol se encuentra en el intervalo de 2.37 hasta 71.31 ng mL⁻¹ en muestras de agua de río, el valor se incrementa en las plantas de agua residual (36.15- 201.45 ng mL⁻¹). Por lo respecta a Metoprolol se identifica en el río y en la planta de tratamiento de agua residual de Yautepec, Morelos en concentraciones de 0.58 hasta 7.24 ng mL⁻¹. La presencia de propifenazona (2.32 ng mL⁻¹) y atenolol (2.96 ng mL⁻¹) se detectó en las plantas de agua residual de Cuautla y Yautepec. Los valores de antipirina y sotalol se encontraron en concentraciones traza, en la figura 8 se muestra un cromatograma de contaminantes emergentes. Las concentraciones de metoprolol y sulfametoxazol estuvieron por debajo de los valores de referencia para agua superficial (C.G. Daughton, *et al.*, 1999, D.W. Kolpin, *et al.*, 2002, A.B. Boxall, *et al.*, 2004).

Los límites de cuantificación de los quince contaminantes emergentes son confiables y pueden ser aplicados en el análisis de muestras de agua de distintas matrices (residual, fuentes de abastecimiento, subterránea, ríos).

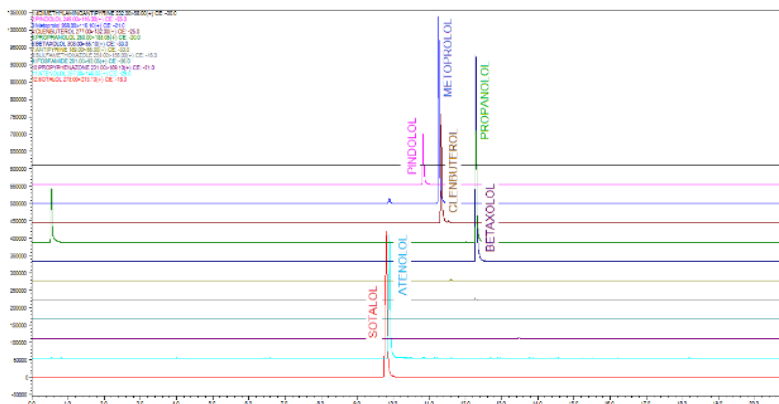


Figura 8 Cromatograma LC-MS contaminantes emergentes

Desarrollo, implementación y validación de dos metodologías. Cuantificar 30 compuestos emergentes. 2ª. Parte.

En esta etapa se desarrolló la implementación de diferentes métodos analíticos cuantificar 30 compuestos emergentes en un cromatógrafo de líquidos de alto desempeño (UHPLC) marca Shimadzu, con detector de arreglo de diodos (DAD).

Se inició con el primer método de compuestos ácidos: bezafibrato, naproxen, fenoprofen, ibuprofen, diclofenaco, indometacina y gemfibrozil. Las condiciones instrumentales optimizadas se muestran en la tabla 9.

Tabla 9 Condiciones Cromatógrafo para siete compuestos emergentes

Parámetros Instrumentales	Contaminantes emergentes
Columna	Atlantis C18 3 μm 2.1 X 100 mm
Fase móvil	Fase A: Buffer fosfato dibásico potasio pH 6.8 Fase B: Acetonitrilo
Flujo	0.4 mL/min
Método	Gradiente
Volumen inyección	15 μL
Temperatura horno	40°C
Longitud de onda	225 nm

Se realizaron extracciones en fase sólida de muestras sintéticas utilizando cartuchos C18 Oasis HLB 60 mg; con método de gradiente, las muestras fueron eluidas con metanol, evaporadas con flujo de nitrógeno de alta pureza y reconstituidas con fase móvil 90:10.

Los resultados obtenidos del método de extracción para los siete compuestos se presentan en la tabla 10.

Tabla 10 Condiciones óptimas del método extracción

Compuesto	Tiempo retención	Concentración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Porcentaje recobro (%)
Bezafibrato	6.58	9.91	99.1
Naproxeno	7.55	9.92	99.2
Fenoprofeno	8.64	10.02	100.2
Ibuprofeno	9.25	9.66	96.6
Diclofenaco	9.97	9.54	95.4
Indometacina	10.46	9.16	91.6
Gemfibrozil	11.61	9.66	96.6

En la gráfica 9 se esquematizan los porcentajes de recuperación de los siete fármacos.

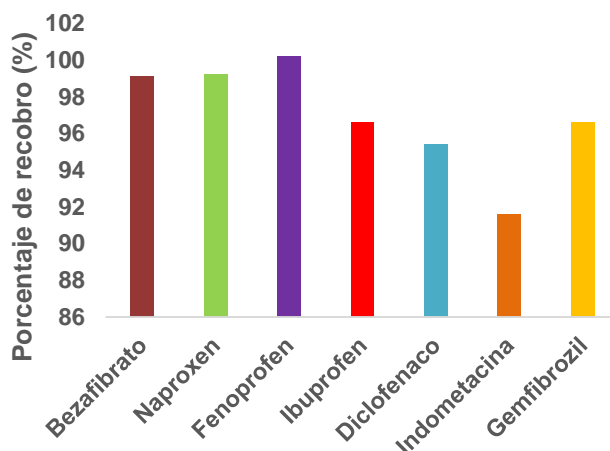


Figura 9 Porcentajes de recobro de contaminantes emergentes.

El segundo método se optimizó para los compuestos metronidazol, ronidazol, furazolidona, dapsona, cloranfenicol. En la tabla 11 se presentan las condiciones instrumentales óptimas.

Tabla 11 Condiciones instrumentales para cinco fármacos

Parámetros Instrumentales	Contaminantes emergentes
Columna	Ace 3 C18 AR 150 X 4.6 mm
Fase móvil	Fase A: Agua- ácido fórmico 0.1% pH 4.5 Fase B: Acetonitrilo-ácido fórmico 0.1% pH 6.2
Flujo	0.8 mL/min
Método	Gradiente
Volumen inyección	20 µL
Temperatura horno	40°C

Las extracciones en fase sólida de muestras sintéticas se realizaron con cartuchos C18 Bond Elut PPL 200 mg; con método de gradiente, las muestras fueron eluidas con metanol, evaporadas con flujo de nitrógeno de alta pureza y reconstituidas con fase móvil en la relación 70:30.

En la tabla 12 se presentan los resultados óptimos del método de extracción para los cinco contaminantes y las recuperaciones promedio.

Tabla 12 Método de extracción óptimo para cinco compuestos

Compuesto	Longitud Onda (nm)	Tiempo retención	Concentración ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Porcentaje recobro (%)
Metronidazol	320	3.99	9.12	99.1
Ronidazol	308	4.83	9.51	99.2
Furazolidona	366	9.54	9.66	100.2
Dapsona	294	10.17	8.26	96.6
Cloranfenicol	277	12.19	9.67	95.4

En la figura 10 se muestran los recobros de la extracción para los cinco contaminantes emergentes.

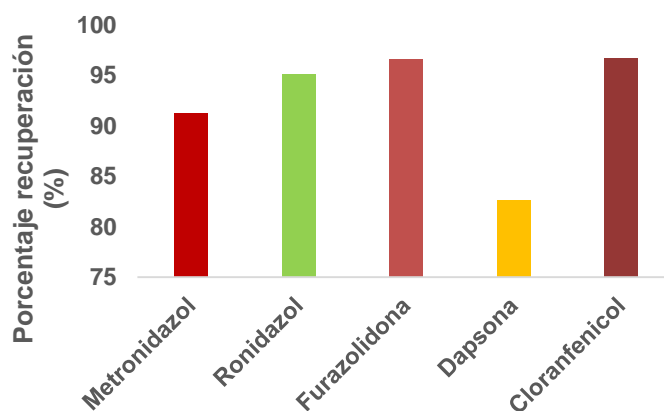


Figura 10 Recuperaciones promedio de cinco fármacos

En el tercer método analítico se optimizaron las condiciones (tabla 13) que permiten identificar a los contaminantes Penicillin V, Penicillin G, Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin, Nfacillin y Amoxicilina.

Tabla 13 Condiciones para identificar penicilinas

Parámetros Instrumentales	Contaminantes emergentes
Columna	Luna 3 μm C18 150 X 2.0 mm
Fase móvil	Fase A: Agua-Buffer fosfato amonio (10mM) pH 6.5 Fase B: Acetonitrilo
Flujo	0.4 mL/min
Método	Gradiente
Volumen inyección	20 μL
Temperatura horno	40°C
Longitud de onda	225 nm

Las extracciones para estos compuestos se están realizando con diversos cartuchos C18 (Oasis HLB de 60 y 200 mg, PPL Bond Elult de 200 mg, Oasis MCX y WAX) para determinar el cartucho adecuado.

El cuarto método concierne a los compuestos Trimetoprim, Carbamazepina y Betametasona. En la tabla 14 se detallan las condiciones instrumentales.

Tabla 14 Condiciones instrumentales para tres fármacos.

Parámetros Instrumentales	Contaminantes emergentes
Columna	Novapak C18 150 X 4.1 mm
Fase móvil	Fase A: Agua-Buffer fosfato amonio (5 mM) pH 7 Fase B: Acetonitrilo
Flujo	0.8 mL/min
Método	Gradiente
Volumen inyección	20 µL
Temperatura horno	40°C

Las extracciones se realizaron con cartuchos C18 Oasis HLB 60 mg; con método de gradiente, las muestras fueron eluidas con metanol, evaporadas con flujo de nitrógeno de alta pureza y reconstituidas con fase móvil en la relación 80:20. En la tabla 15 se muestran los tiempos de retención, longitud de onda y porcentajes de recuperación de los tres fármacos (figura 11).

Tabla 15 Método extracción de tres contaminantes

Compuesto	Tiempo retención	Longitud De onda (nm)	Porcentaje recobro (%)
Carbamazepina	12.75	225	112.9
Trimetoprim	13.65	225	116.0
Betametasona	6.02	225	114.0

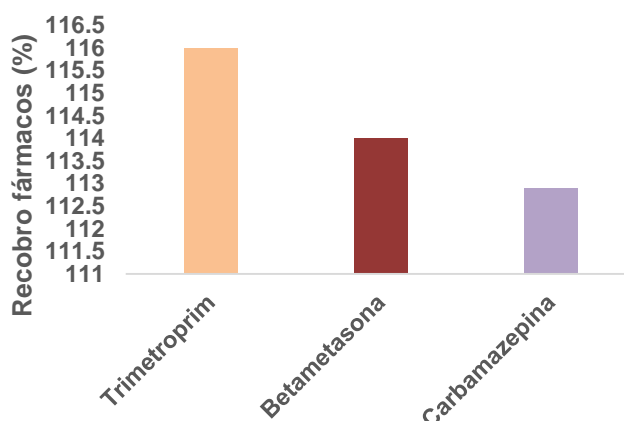


Figura 11 Porcentaje de recobro para tres fármacos

El quinto método analítico corresponde a cuatro compuestos sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina y sulfametaxazolen la tabla 16 se presentan las condiciones instrumentales.

Tabla 16 Condiciones instrumentales para sulfonamidas

Parámetros Instrumentales	Contaminantes emergentes
Columna	Luna C18 3µm 150 X 2.0 mm
Fase móvil	Fase A: Agua-Buffer formato amonio pH 4.5 Fase B: Acetonitrilo
Flujo	0.4 mL/min
Método	Gradiente
Volumen inyección	15 µL
Temperatura horno	40°C

Las extracciones en fase sólida se realizaron con cartuchos C18 Oasis HLB 200 mg; con método de gradiente, las muestras fueron eluidas con metanol, evaporadas con flujo de nitrógeno de alta pureza y reconstituidas con fase móvil en la relación 90:10. En la tabla 17 se detallan los tiempos de retención, longitud de onda y porcentajes de recuperación de los cuatro fármacos (figura 12).

Tabla 17 Método analítico para Sulfonamidas

Compuesto	Tiempo retención	Longitud De onda (nm)	Porcentaje recobro (%)
Sulfadiazina	7.52	265	96.14
Sulfamerazina	8.46	265	94.70
Sulfamethazina	9.13	265	92.92
Sulfamethoxazol	10.31	265	95.22

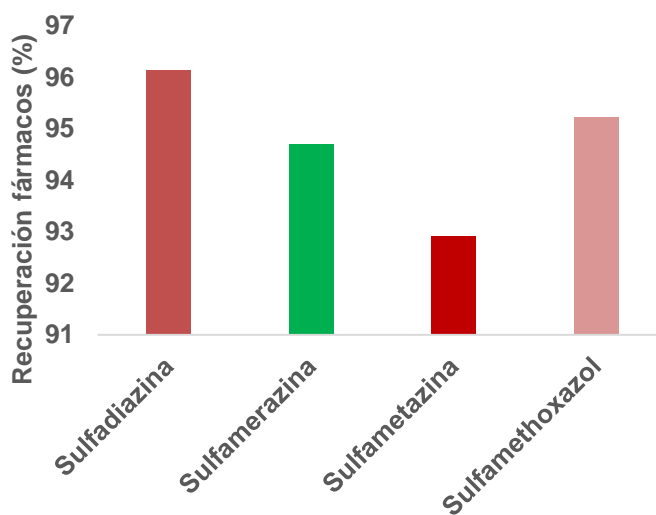


Figura 12 Porcentajes recuperación de sulfonamidas

El sexto método analítico se desarrolló y optimizó los esteroides (β -estradiol, Estrona, Mestranol, Etil-Estradiol y M-androstene), las condiciones óptimas para su identificación se muestran en la tabla 18.

Tabla 18 Método optimizado para esteroides

Parámetros Instrumentales	Esteroides
Columna	Ace 3 AR 150 X 4.1 mm
Fase móvil	Fase A: Agua-Buffer fosfato potasio pH 2.7 + 10% MeOH Fase B: Acetonitrilo
Flujo	0.8 mL/min
Método	Gradiente
Volumen inyección	20 μ L
Longitud de onda	225
Temperatura horno	40°C

La extracción de los esteroides (β -estradiol, Estrona, Mestranol, Etil-Estradiol y M-androstene) siguen en proceso; se están evaluando con distintos cartuchos C18 (Oasis HLB de 60 y 200 mg, PPL Bond Elult de 200 mg, Oasis MCX y WAX) para determinar el mejor porcentaje de recuperación y la elución adecuada.

Los seis métodos analíticos fueron desarrollados y optimizados para la identificación de treinta contaminantes emergentes.

Validación de Metformina por Cromatografía líquida de alto desempeño (UHPLC)

En la tabla 19 se aprecian las condiciones instrumentales para la validación de metformina.

Tabla 19 Condiciones óptimas para Metformina

Condiciones Instrumentales	
Columna	Ace 3 C18 AR 150 X 4.6 mm
Detector	Arreglo de Diodos
Fase móvil	Fase A: Agua- buffer fosfato amonio pH 7.9 Fase B: Acetonitrilo
Flujo	0.3 mL/min
Método	Gradiente
Longitud onda	235 nm
Volumen inyección	5 μ L
Temperatura horno	40°C

La determinación de linealidad se llevó a cabo empleando concentraciones crecientes de Metformina, (5, 10, 15, 20 30 50 y 75 mgL^{-1}). Los resultados fueron evaluados mediante un análisis de regresión lineal y la prueba t de Student para el intercepto, la pendiente y el coeficiente de correlación. El coeficiente de correlación (r) para el método fue mayor a 0.99; el coeficiente de variación (CV) fue menor del 5% lo que indica que el instrumento es preciso bajo las condiciones de análisis establecidas. En la figura 13 se muestra el cromatograma y espectro del analito.

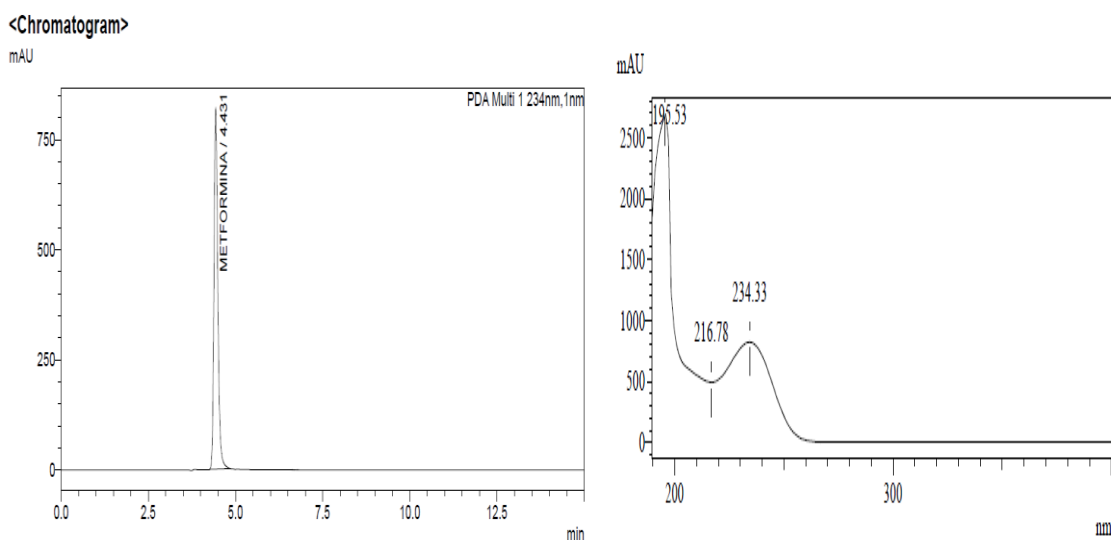


Figura 13 Cromatograma y Espectro Metformina.

La precisión se realizó a través de repetibilidad del método preparando réplicas de concentraciones de 5, 20 y 75 mgL⁻¹. En el análisis estadístico se determinaron los valores promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación entre las lecturas obtenidas. Se evaluó la precisión intermedia para determinar variaciones en los datos cuando el método lo aplican distintos analistas en días diferentes. Los coeficientes de variación fueron 1.12 y 1.9% para los ensayos 1 y 2.

En la exactitud se evaluó la eficiencia de la extracción como porcentaje de recobro obtenida con cartuchos C18. Se prepararon muestras con diferentes concentraciones de Metformina, los valores promedio de recuperación estuvieron dentro de los límites 98.4 a 100.05 %.

El límite de detección y cuantificación se realizó en base a la desviación estándar de la respuesta del blanco y a la pendiente de la curva de linealidad, obteniéndose valores de 0.22 mgL⁻¹ para el límite de detección y 5.4 mgL⁻¹ para el límite de cuantificación. En la tabla 20 se presentan los parámetros de validación de Metformina.

Tabla 20 Parámetros de validación de Metformina

Compuesto	Linealidad (r ²)	Límite de detección (mg L ⁻¹)	Límite de cuantificación (mg L ⁻¹)	Precisión	Exactitud (%)	Límite de confianza (%)
Metformina	0.99	0.22	5.4	1.17	96.70	96.94

Análisis de Metformina en muestras reales

Para calibrar el método validado se analizaron muestras del influente y efluente de una planta de tratamiento de agua residual (PTAR) en el Estado de Morelos, con el fin de cuantificar la presencia de Metformina en el agua, los resultados se presentan en la tabla 21.

Tabla 21 Determinación de Metformina en agua residual

Agua residual (PTAR)	Concentración Metformina (mg L ⁻¹)
Influente	250
Efluente	15.4

La extracción de Metformina se efectuó con cartucho Strata WCX 3mL/500 mg alcanzo porcentaje de recuperación del 85%. El método analítico validado permitió determinar la Metformina en muestras reales; por lo tanto se puede emplear para analizar muestras de agua de diferentes fuentes de México.

Validación de Sulfadiazina, Sulfamerazina y Sulfametazina por Cromatografía líquida detector arreglo de diodos.

Las condiciones instrumentales para esta validación se describieron en la tabla 12. La linealidad se realizó en concentraciones de 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, 10 y 15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. El coeficiente de correlación (r) para la sulfadiazina, sulfamerazina y sulfametazina fue 0.99. En la figura 13 se muestra el cromatograma y espectro del analito y en la tabla 22 se muestran los valores de validación obtenidos.

Tabla 22 Parámetros de validación para Sulfonamidas

Fármaco	Linealidad	Límite de detección ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Límite de cuantificación ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Precisión (C.V.)	Exactitud (%)	Límite Confianza (%)
Sulfadiazina	0.99	0.002	0.120	2.47	96.03	96.86
Sulfamerazina	0.99	0.001	0.105	1.24	93.68	94.08
Sulfametazina	0.99	0.002	0.112	1.71	95.81	96.38

En la figura 14 se muestran los porcentajes de recobro obtenidos después de la extracción en fase sólida que se encuentran en el intervalo de 92.9 a 96.14%.

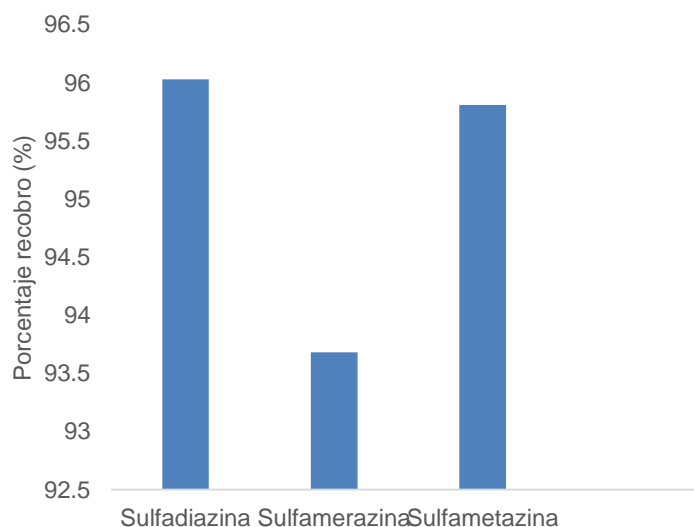


Figura 14 Recuperación validación sulfonamidas

Análisis de sulfadiazina, sulfamerazina y sulfametazina en muestras reales

Para calibrar el método validado se analizaron muestras de agua de río y del efluente de una planta de tratamiento de agua residual (PTAR) en el Estado de Morelos, los resultados se presentan en la tabla 23.

Tabla 23 Fármacos en agua residual y agua de río con detector arreglo diodos

Fármaco	Límite Cuantificación ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Efluente PTAR ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Agua de río ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Sulfadiazina	0.120	0.34-0.41	0.014
Sulfamerazina	0.105	0.27-2.23	0.010-0.15
Sulfametazina	0.112	0.32-2.04	-

Como puede apreciarse las muestras de agua residual se encuentran por encima de los límites de cuantificación de este método; esto se debe a que en la planta de agua residual descargan hospitales y centros de salud en donde los pacientes consumen fármacos que no son absorbidos y metabolizados de forma completa por el cuerpo humano y como resultado la porción no metabolizada es descargada al medio ambiente a través de la orina y las heces fecales finalizando en el drenaje.

Con respecto al agua de río la concentración de sulfadiazina fue menor al límite de cuantificación $<0.120 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; para Sulfamerazina los valores fueron ligeramente mayores al límite de cuantificación 0.010 y $0.15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. En la figura 15 se muestra el cromatograma de la muestra de agua de río, donde se aprecia que las concentraciones se encuentran por debajo del límite de cuantificación; mientras que el cromatograma de muestra de agua de río fortificada demuestra que el método analítico detecta los contaminantes Sulfadiazina, Sulfamerazina y Sulfametazina.

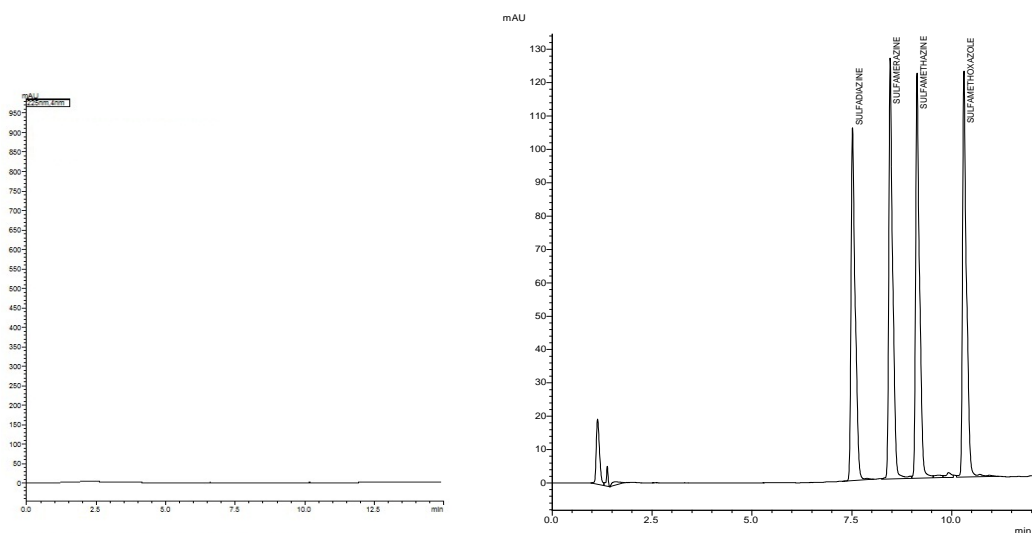


Figura 15 Cromatograma agua de río y cromatograma muestra fortificada

Identificación y cuantificación de 20 compuestos emergentes en sitios potenciales de las cuencas de ríos Yautepec y Cuautla.

Los métodos analíticos optimizados para contaminantes emergentes fueron aplicados a muestras reales de agua de río y agua residual tratada. En la tabla 24 se muestra una comparación de las concentraciones promedio en agua de río detectadas en los municipios Yautepec y Cuautla del estado de Morelos, contra las detectadas en agua superficial de España.

En el agua del río Yautepec se detectó la presencia de metoprolol, sulfametazina y sulfametoxazol en bajas cantidades en comparación con las reportadas en la literatura internacional, no obstante estas concentraciones están contaminando las fuentes de abastecimiento. En las muestras de agua del río Cuautla no se identificó ninguno de los veinte fármacos; para evaluar el método se adicionaron muestras con diversos fármacos en concentraciones de $20 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. En la Figura 16 se muestra los porcentajes de recobro del estándar, muestra fortificada y una muestra de agua de río de Yautepec y Cuautla, Morelos.

Tabla 24 Compuestos emergentes de los ríos Yautepec y Cuautla, Morelos

Sitio muestreo	Tipo de agua	Contaminante emergente	Concentración ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Muestra Fortificada	Valores referencia Agua superficial (ng-L)
Yautepec Morelos	Agua río	Metoprolol	0.58-7.24		2,200
		Betaxolol	N.D.		28.0
		Atenolol	N.D.		-
		Bisoprolol	N.D.		2,900
		Ifosfamida	N.D.		-
		Sulfadiazina	0.014		-
		Sulfamerazina	0.083- 0.151		220
		Sulfametazina	N.D.		-
		Sulfametoxazol	0.421-204.45		1,900
		Carbamazepina	N.D.		1,100
		Diclofenaco	N.D.		1,200
		Gemfibrozil	N.D.		510
		Naproxeno	N.D.		390
		Trimetroprima	N.D.		710
		Indometacina	N.D.		200
		Betametasona	N.D.		-
		Metronidazol	N.D.	17.33	4,300
		Ronidazol	N.D.	20.42	-
		Furazolidona	N.D.	21.25	-
		Cloranfenicol	N.D.	20.77	355
Dapsone	N.D.	16.68	-		
Cuautla Morelos	Agua río	Metoprolol	N.D.		2,200
		Betaxolol	N.D.		28.0
		Atenolol	N.D.		
		Bisoprolol	N.D.		2,900
		Ifosfamida	N.D.		
		Sulfadiazina	N.D.		
		Sulfamerazina	N.D.		220
		Sulfametazina	N.D.		
		Sulfametoxazol	N.D.		1,900
		Carbamazepina	N.D.	19.63	1,100
		Diclofenaco	N.D.	16.58	1,200
		Gemfibrozil	N.D.	19.32	510
		Naproxeno	N.D.	15.61	390
		Trimetroprima	N.D.	19.12	710
		Indometacina	N.D.	17.50	200
		Betametasona	N.D.	19.41	
		Metronidazol	N.D.		4,300
		Ronidazol	N.D.		
		Furazolidona	N.D.		
		Cloranfenicol	N.D.		355
Propanolol	N.D.				

C.G. Daughton, *et al.*, 1999, D.W. Kolpin, *et al.*, 2002, A.B. Boxall, *et al.*, 2004

N.D. No detectado

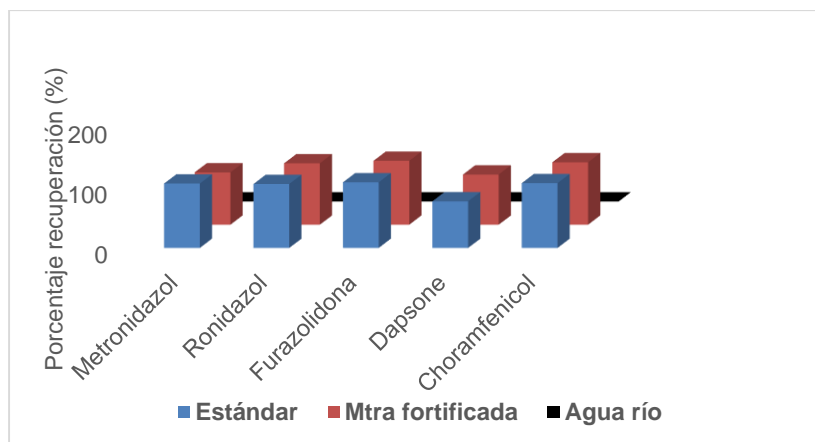


Figura 16 Agua de río, muestra fortificada y estándar

En la tabla 25 se muestra una comparación de las concentraciones promedio de agua residual tratada de Yautepec, Morelos contra las detectadas en algunos estudios de España; como se aprecia se identifican los fármacos atenolol ($6.75-9.10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) sulfametoxazol ($87 - 136 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), naproxeno ($1.45 - 1.86 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), diclofenaco ($0.21 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), carbamazepina ($0.16-0.19 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), gemfibrozil ($0.38-0.48 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) propranolol ($2.80- 6.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) valores que se encuentran por debajo de los reportados en la literatura internacional, sin embargo tienen el potencial de llegar a las fuentes de abastecimiento representando un riesgo para la salud humana.

Tabla 25 Contaminantes emergentes en efluente PTAR Yautepec, Morelos

Sito muestreo	Tipo de agua	Contaminante emergente	Concentración ($\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$)	Muestra fortificada	Valores referencia Efluente PTAR ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
PTAR Yautepec, Morelos	Agua Residual tratada	Metoprolol	25.9-40.0		-
		Betaxolol	N.D.		-
		Atenolol	6.75- 9.10		395
		Bisoprolol	N.D.		-
		Ifosfamida	N.D.		-
		Metoprolol	N.D.		2,200
		Betaxolol	N:D.		-
		Sulfadiazina	0.08 – 0.41	4.86	-
		Sulfamerazina	0.27 – 2.23	4.62	-
		Sulfametazina	0.32 – 2.00	4.58	-
		Sulfametoxazol	87 – 136.0	4.83	390
		Naproxeno	1.45 – 1.86		108

Trimetoprima	N.D.	290
Diclofenaco	0.21	215
Indometacina	N.D.	-
Carbamazepina	0.16- 0.19	410
Betametazona	N.D.	-
Gemfibrozil	0.38 – 0.48	120
Metronidazol	N.D.	43
Ronidazol	N.D.	-
Furazolidona	N.D.	-
Cloranfenicol	N.D.	-
Propranolol	2.85- 6.25	-

M. Petrovic, *et al.*,2005

N.D. No detectado

En la figura 16 se muestran los cromatogramas de las muestras colectadas en la planta de tratamiento de agua residual de Yautepec, Morelos. Los límites de detección de los métodos validados son confiables y pueden aplicarse en el análisis de muestras de agua de diferentes matrices (agua potable, superficial, subterránea y residual tratada).

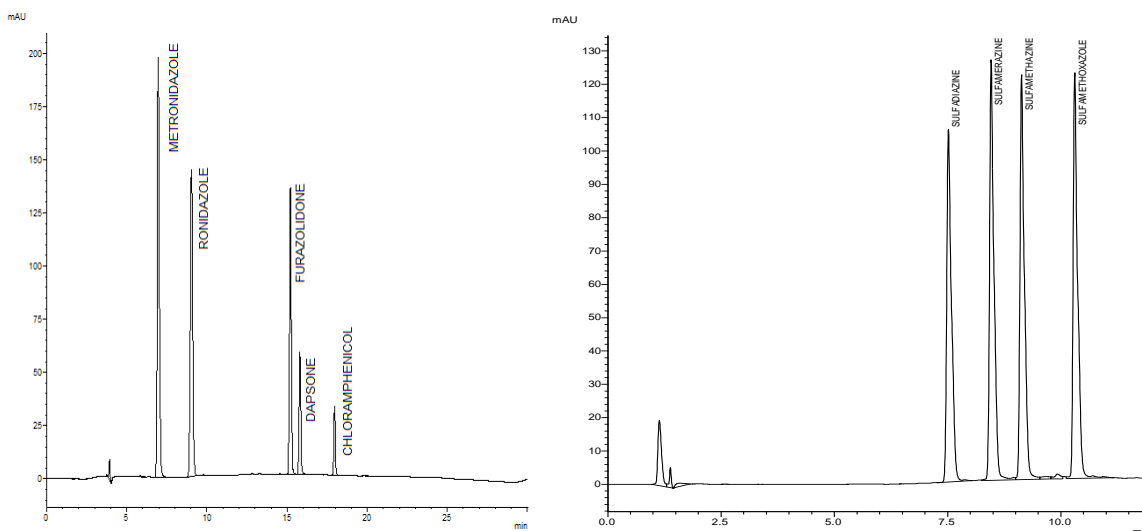


Figura 16 Cromatogramas de contaminantes emergentes identificados en muestras de agua residual tratada

Publicación de artículos de divulgación

M. Avilés, M. Sánchez y J. Tapia. 2015. Metodología para determinar atenolol y sotalol por cromatografía de líquidos masas LC-MS. XIV Congreso Internacional y XX Congreso Nacional de Ciencias Ambientales. Revista Latinoamericana el Ambiente y las Ciencias.

M. Avilés, M. Sánchez y J. Tapia. 2015. Determinación Metformina en muestras de agua por cromatografía líquida de alto desempeño (UHPLC). XXI Congreso Chileno de AIDIS-Chile y VIII Congreso de la IV Región de AIDIS Interamericana "Agua segura para todos: el desafío de hoy"

Conclusiones

La validación de los métodos analíticos para los contaminantes emergentes: 4-dimethylaminoantipirina, pindolol, metoprolol, clenbuterol, bisoprolol, propanolol, betaxolol, antipirina, sulfametoxazol, ifosfamida, propifenazona, atenolol, salbutamol, terbutalina y sotalol, demostraron recuperaciones reproducibles y límites de detección precisos para obtener resultados confiables, aplicables en el análisis de muestras reales de agua de río y efluentes de plantas de tratamiento de agua residual de Yautepec y Cuautla del estado de Morelos, mediante cromatografía de líquidos con detector de masas triple cuadrupolo (LC-MS)

Los fármacos que presentaron mayor concentración en muestras de agua de río de Yautepec, Morelos fueron metoprolol ($0.6 - 7.2 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) y sulfametoxazol ($0.42 - 204.5 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$). En el agua de río de Cuautla, Morelos no se detectó la presencia ningún compuesto emergente.

Los resultados obtenidos en el efluente de una planta de tratamiento de agua residual de Yautepec, Morelos se detectaron los contaminantes atenolol ($6.75 - 9.10 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), sulfametoxazol ($87 - 136 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), propanolol ($2.85 - 6.25 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) y naproxeno ($1.45 - 1.86 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), las concentraciones son menores a los valores reportados en la literatura internacional.

Los métodos desarrollados para los fármacos bezafibrato, naproxen, fenoprofen, ibuprofen, diclofenaco, indometacina y gemfibrozil, metronidazol, ronidazol, furazolidona, dapsona, cloranfenicol, penicillin V, penicillin G, oxacillin, cloxacillin, dicloxacillin, nfacillin, amoxicilina, trimetoprim, carbamazepina, betametasona, sulfadiazina, sulfamerazina, sulfametazina, β -estradiol, estrona, mestranol, etinil-estradiol y m-androsten permitieron la identificación de algunos compuestos emergentes en muestras de agua de diferentes matrices.

La naturaleza no polar de los compuestos encontrados indica la posible presencia de otros compuestos similares que puedan representar un riesgo a la salud humana, razón por la cual es de suma importancia continuar con el desarrollo y validación de

metodologías para diferentes compuestos por cromatografía de líquidos-masas (LC-MS) para prevenir posibles repercusiones en las fuentes de abastecimiento, agua subterránea y agua residual.

Referencias

A.B. Boxall, L.A. Fogg, P.A. Blackwell, P. Kay, E.J. Pemberton, A. Croxford. *Veterinary Medicines in the Environment. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 180, 1 (2004).

Barceló D. (2003). Emerging pollutants in water analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 22, No.10.

Barcelo D. (2001). Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography-mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *J. Chromatogr A* 938, 187-197.

Birkett J.W y Llester J. N. (2003). *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes*. Editorial Lewis Publishers (IWA Publishing).

Carballa M., Omil F., Lema J.M., Llompарт M., García-Jares C., Rodríguez I., Gómez M., Ternes T. (2004). Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant. *Water Research* 3:2918-2926.

Daughton C.D., y Ternes A., 1999 Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ. Health Perspect* 107:907-937.

Daughton C. D., T.A. Ternes 1999, D.W. Kolpin et al., 2002, A.B. Boxall, et al., 2004.

Farré M., Ferrer E., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Villanova M. y Heberer T., Schmidt-Bäumler K., Tsipi D., Coutsova V. Y A. Hiskia. (2001). Occurrence of pharmaceutical residues in sewage, river, ground and drinking water in Greece and Germany. In: Daughton CGTJ-L, editor. *Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Scientific and Regulatory Issues*. Washington DC: American Chemical Society. p 70-83.

Heberer T. (2002a). Occurrence, fate and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicology Letters* 131:5-17.

Heberer T. (2002b). Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water. *Journal of Hydrology* 266:175-189.

J.A. Cortacans Torre, A. Hernández Lehmann, I. Castillo Gonzalez, E. Montes Carmona, A. Hernández Muñoz. Presencia de Fármacos en Aguas Residuales y Eficacia de los Procesos Convencionales en su Eliminación.

Janssens I, Tanghe T, Verstraete W, 1997. Development of a risk assessment approach for evaluating wastewater reuse standards for agriculture. *Water Sci. Technol.* 35-12.

Kinepper T, Sacher F, Lange F, Brauch H, Karrenbrock F, Roeden O, Linder K, 1999. Detection of polar organic substances relevant for drinking water. *Waste Management* 19 (2):77-99.

Kolpin D. W., Furlong E. T., M.T. Meyer, E.M. Thurman, S.D. Zaugg, L.B. Barber, H.T. Buxton. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance. *Environmental Science and Technology*. 36, 1202 (2002).

Kuster M, Alda M, Hernando M, Petrovic M, Martín A, Barcelo D, 2008 Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progesterones and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain) *J. Hydrol.* 358:112-23.

Kümmerer K (ed). (2004) .Pharmaceuticals in the Environment. Source, Fate, Effects and Risks. 2ª edición. Editorial Springer.

Petrovic M, Conzales S y Barcelo D, 2003. Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water, *Trends Anal. Chem.* 22 (10):685-696.

Petrovic M., Hernando M.D., M.S. Díaz-Cruz, D. Barceló. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for the Analysis of Pharmaceutical Residues in Environmental Samples: A Review. *Journal of Chromatography A*. 1067, 1 (2005).

Pyne D. (1994). Seasonal storage of reclaimed water and surface water in brackish aquifers using aquifer storage recovery (ASR) wells in Artificial Recharge. Pp 282.

Suthersan S y F. Payne. (2005). *In Situ Remediation Engineering*. Boca Raton: CRC Press.

Stumpf M., Ternes T.A., Wilken R.D., Rodrigues S.V., Baumann W. (1999). Polar drugs residues in sewage and natural waters in the state of Río de Janeiro, Brazil. *Sci Total Environ.* 225, 135-141.

Velagaleti R. (1997). Behavior of pharmaceutical drugs (Human and animal health) in the environment. *Drug Information Journal* 31:715-722.

Vieno N, Tuhkanen T y Kronberg L, 2006. Removal of pharmaceuticals in drinking water treatment: effect of chemical coagulation, *env. Technol.* 27-183-192.

ANEXO 1

PRUEBAS DE DESEMPEÑO FÁRMACOS

PRUEBA DE DESEMPEÑO 4DIMETHYLAMINOANTIPIRINA

AREA ORGANICOS

Fecha: 2015/11/11

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM
BLANCOS= 0 0.1198 ng/mL
t 99% = 4.541

LDM = B + (t) (S)
LDM = (0.0 mg/L) + (4.541) (0.1198 ng/L)

LDM = 0.544 ng/mL

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

LCM = 10 S + X
LCM = 10 (0.1198mg/L)+(9.9083ng/L)

LCM = 11.107 ng/ml

BLANCOS	CONC.BLANCOS mg/L	MUESTRA	CONC.CUANTIFICADA ng/mL	CONC. TEÓRICA ng/mL	RECUPERACIÓN (R) %
BCO1	0	STD1	9.811	10	98.11
BCO2	0	STD2	9.855	10	98.55
BCO3	0	STD3	9.83	10	98.30
BCO4	0	STD4	9.887	10	98.87
BCO5	0	STD5	10.131	10	101.31
BCO6	0	STD6	9.829	10	98.29
BCO7	0	STD7	10.015	10	100.15
Prom. de 4 mtras. sintéticas		X	9.9083		Prom. de los % Recuperación R 99.08
DEVS. ESTANDAR DE 4 MTRAS SINTÉTICAS		S	0.1198		Desv. Est. de los % Recuperación SR 1.20
PROM. BLANCOS		B	0.0000		R y SR de las 7 mtras sintéticas
DESV. STD. BCO5		Sbco	0.0000		
PROM. 7MTRAS SINTÉTICAS		X ₇	9.9083	10	
DESV. STD. 7MTRAS SINTÉTICAS		S ₇	0.1198		

EXACTITUD DEL MÉTODO:

Conc. Teórica (i 10) Conc. Cuantificada promedio de las 7 mtras sintéticas(X₇) = 9.9082857 ng/ml

Exactitud = (Conc. cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas/Conc Teórica)*100
Exactitud = (9.9083mg/L)/10mg/L)*100

EXACTITUD = 99.08 %
CUMPLE CRITERIO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:

Coefficiente de Variación
CV = (SR/R) *100
CV = [(1.29)/(99.08)]*100%

CV = 1.21
CUMPLE CRITERIO

LIMITES DE CONFIANZA:

LC=R ± ((t95%)*SR/n) t95%= 2.447 n= 7 SR= 1.20

LCS = 99.08 % + (2.447* 1.20/7)
Límite Superior de Confianza = 99.50 %

LCI = 99.08% - (2.447* 1.20/7)
Límite Inferior de Confianza = 98.66 %

SESGO

SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica)/(Conc. Teórica))*100
SESGO = ((9.9083- 10)/10)*100

SESGO = 0.92 %
Conclusión: CUMPLE CRITERIO

ANALISTA:

JACOBO TAPIA ACOSTA

SUPERVISOR:

MARTHA AVILÉS FLORES



HOJA DE CÁLCULO

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO CLENBUTEROL

ÁREA ORGANICOS

Fecha: 2015/11/11

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM
BLANCOS= 0 0.0698 ng/mL
t 99% = 4.541

LDM = B + (t) (S)
LDM = (0.0 mg/L) + (4.541) (0.0608 ng/L)

LDM = 0.317 ng/mL

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

LCM = 10 S + X
LCM = 10 (2.03mg/L) + (90.13ng/L)

LCM = 3.312 ng/ml

BLANCOS	CONC. BLANCOS mg/L	MUESTRA	CONC. CUANTIFICADA ng/mL	CONC. TEÓRICA ng/mL	RECUPERACIÓN (R) %
BCO1	0	STD1	2.763	3	92.10
BCO2	0	STD2	2.75	3	91.67
BCO3	0	STD3	2.75	3	91.67
BCO4	0	STD4	2.627	3	87.57
BCO5	0	STD5	2.734	3	91.13
BCO6	0	STD6	2.619	3	87.30
BCO7	0	STD7	2.684	3	89.47
Prom. de 4 mtras. sintéticas		X	2.7039		Prom. de los % Recuperación R 90.13
DEVS. ESTANDAR DE 4 MTRAS SINTÉTICAS		S	0.0608		Desv. Est. de los % Recuperación SR 2.03
PROM. BLANCOS		B	0.0000		R y SR de las 7 mtras sintéticas
DESV. STD. BCOS		Sbco	0.0000		
PROM. 7MTRAS SINTÉTICAS		X ₇	2.7039	3	
DESV. STD. 7MTRAS SINTÉTICAS		S ₇	0.0608		

EXACTITUD DEL MÉTODO:

Conc. Teórica (t 3) Conc. Cuantificada promedio de las 7 mtras. sintéticas(X₇) = 2.7038571 ng/mL

Exactitud = (Conc. cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas/Conc Teórica)*100
Exactitud = (2.7039mg/L)/3mg/L*100

EXACTITUD = 90.13 %
CUMPLE CRITERIO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:

Coefficiente de Variación
CV = (SR/R) *100
CV = [(2.03)/(90.13)]*100%

CV = 2.25

CONCLUSIÓN: CUMPLE CRITERIO

LÍMITES DE CONFIANZA:

LC=R ± ((t95%)*SR/n)

t95%= 2.447
n= 7
SR= 2.03

LCS = 90.13 % + (2.447* 2.03/7)

Límite Superior de Confianza = 90.84 %

LCI = 90.13% - (2.447* 2.03/7)

Límite Inferior de Confianza = 89.42 %

SESGO

SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica)/(Conc. Teórica))*100
SESGO = ((2.7039- 3)/3)*100

SESGO = 9.87 %
Conclusión: CUMPLE CRITERIO

ANALISTA:

JACOBO TAPIA ACOSTA

SUPERVISOR:

MARTHA AVILÉS FLORES



LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

**LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA
PRUEBA DE DESEMPEÑO DE PINDOLOL
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015**

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.14mg/L) 0.52

LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X 16.51
LCM= 10(0.14) +15

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	15	15.03	100.2
SD2	15	15.22	101.45
SD3	15	15.08	100.53
SD4	15	15.07	100.44
SD5	15	15.27	101.77
SD6	15	15.09	100.63
SD7	15	14.83	98.83
PROMEDIO	15.08	100.55	
DESV.STD	0.14	0.95	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
CV = (0.14/3) * 100

0.94 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
Exactitud = (15.08 mg/L)/(15 mg/L)*100

Exactitud 100.55 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

t 95% 2.132

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= 100.84

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCI= 100.26



HOJA DE CÁLCULO

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO BISOPROLOL

AREA ORGANICOS

Fecha: 2015/11/11

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM
BLANCOS= 0.051906667 0 ng/mL
t 99% = 4.541

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

LCM = 10 S + X
LCM = 10 (0.002711mg/L) + (0.498975mg/L)

LDM = B + (t) (S)
LDM = (0.05191 mg/L) + (4.541) (0.01491 mg/L)

LDM = 0.052 ng/mL

LCM = 3.275 ng/ml

BLANCOS	CONC. BLANCOS mg/L	MUESTRA	CONC. CUANTIFICADA ng/mL	CONC. TEÓRICA ng/mL	RECUPERACIÓN (R) %
BCO1	0	STD1	3.206	3	106.87
BCO2	0	STD2	3.208	3	106.93
BCO3	0	STD3	3.192	3	106.40
BCO4	0	STD4	3.198	3	106.60
BCO5	0	STD5	3.235	3	107.83
BCO6	0	STD6	2.974	3	99.13
		STD7	2.98	3	99.33
	Prom. de 4 mtras. sintéticas	X	3.2010		Prom. de los % Recuperación R 104.73
	DEVS. ESTANDAR DE 4 MTRAS SINTÉTICAS	S	0.0074		Desv. Est. de los % Recuperación SR 3.78
	PROM. BLANCOS	B	0.0000		R y SR de las 7 mtras sintéticas
	DESV. STD. BCOS	Sbco	0.0000		
	PROM. 7MTRAS SINTÉTICAS	X ₇	3.1419	3	
	DESV. STD. 7MTRAS SINTÉTICAS	S ₇	0.1134		

EXACTITUD DEL MÉTODO:

Conc. Teórica (i 3) Conc. Cuantificada
promedio de las 7 mtras. sintéticas (X₇) = 3.1418571 ng/mL

Exactitud = (Conc. cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas/Conc Teórica)*100

Exactitud = (0.498975mg/L)/0.5mg/L*100

EXACTITUD = 104.73 %

CONCLUSIÓN: CUMPLE CRITERIO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:

Coefficiente de Variación

CV = (SR/R) *100

CV = [(0.7210)/(100.26)]*100%

CV = 3.61

CONCLUSIÓN: CUMPLE CRITERIO

LÍMITES DE CONFIANZA:

LC=R ± ((t95%)*SR/n)

t95% = 2.447

n = 7

SR = 3.78

LCS = 100.26 % + (2.447* 0.7210/7)

Límite Superior de Confianza = 106.05 %

LCI = 100.26% - (2.447* 0.7210/7)

Límite Inferior de Confianza = 103.41 %

SESGO

SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica)/(Conc. Teórica))*100

SESGO = ((0.498975 - 0.5)/0.5)*100

SESGO = 4.73 %

Conclusión: CUMPLE CRITERIO

ANALISTA:

MITZI KARINA HERNANDEZ GARCIA

SUPERVISOR:

MARTHA ÁVILES FLORES



LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO DE PROPRANOLOL
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30 , 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.07mg/L) 0.26

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X
LCM= 10(0.07) +3 3.42

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	2.735	91.17
SD2	3	2.837	94.57
SD3	3	2.673	89.10
SD4	3	2.768	92.27
SD5	3	2.768	92.27
SD6	3	2.637	87.90
SD7	3	2.679	89.30
PROMEDIO		2.73	90.94
DESV.STD		0.07	2.31

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
CV = (0.07/3) * 100

2.54 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
Exactitud = (2.73 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 90.94 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

t 95% 2.132

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= 91.64

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCL= 90.23





LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO DE BETAXOLOL
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.05mg/L) 0.19

LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X
LCM= 10(0.05) +3 3.53

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	3.062	102.07
SD2	3	2.975	99.17
SD3	3	3.007	100.23
SD4	3	3.075	102.50
SD5	3	2.974	99.13
SD6	3	3.089	102.97
SD7	3	2.977	99.23
PROMEDIO		3.02	100.76
DESV.STD		0.05	1.70

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
 CV = (0.05/3)* 100

1.69 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
 Exactitud = (3.2 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 100.76 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

t 95% 2.132

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

LC =E25 + (2.132*E26/4) LCS= **101.28**

LC =E25-(2.132*E26/4) LCI= **100.24**





LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO DE ANTIPYRINE
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30 , 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.10mg/L)) 0.37

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X
LCM= 10(0.10) +3 3.95

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	2.974	99.13
SD2	3	2.908	96.93
SD3	3	3.104	103.47
SD4	3	2.975	99.17
SD5	3	2.818	93.93
SD6	3	2.809	93.63
SD7	3	2.904	96.80
PROMEDIO	2.93	97.58	
DESV.STD	0.10	3.40	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100

CV = (0.10/3) * 100

3.49 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100

Exactitud = (2.93 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 97.58 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

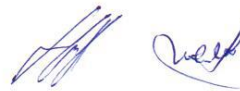
LÍMITES DE CONFIANZA

t 95% 2.132

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

LC =E25 + (2.132*E26/4) LCS= 98.62

LC =E25-(2.132*E26/4) LCI= 96.54





LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA
PRUEBA DE DESEMPEÑO DE SULFAMETHAZOLE
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747

LDM = B+ (t) (S)

LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.08mg/L) 0.30

LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X

LCM= 10(0.08) +3 3.45

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	2.587	86.23
SD2	3	2.611	87.03
SD3	3	2.612	87.07
SD4	3	2.592	86.40
SD5	3	2.818	93.93
SD6	3	2.638	87.93
SD7	3	2.661	88.70
PROMEDIO	2.65	88.19	
DESV.STD	0.08	2.68	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100

CV = (0.08/3) * 100

3.03 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100

Exactitud = (2.65 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 88.19 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

t 95% 2.132

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= **89.00**

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCI= **87.37**

[Handwritten signatures]



LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

**PRUEBA DE DESEMPEÑO DE IFOSFAMIDE
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015**

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.13mg/L) 0.49

LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X
LCM= 10(0.13) +3 4.05

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	2.799	93.30
SD2	3	2.855	95.17
SD3	3	2.731	91.03
SD4	3	2.631	87.70
SD5	3	2.964	98.80
SD6	3	2.931	97.70
SD7	3	2.682	89.40
PROMEDIO	2.80	93.30	
DESV.STD	0.13	4.18	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
CV = (0.13/3) * 100

4.48 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
Exactitud = (2.80 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 93.30 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

t 95% 2.132

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= 94.57

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCI= 92.03





LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

**PRUEBA DE DESEMPEÑO DE PROPYPHENAZONE
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30 , 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015**

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.05mg/L) 0.19

LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X 3.39
LCM= 10(0.05) +3

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	2.88	96.00
SD2	3	2.817	93.90
SD3	3	2.843	94.77
SD4	3	2.825	94.17
SD5	3	2.78	92.67
SD6	3	2.861	95.37
SD7	3	2.949	98.30
PROMEDIO	2.85	95.02	
DESV.STD	0.05	1.80	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
CV = (0.05/3) * 100 1.89 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
Exactitud = (2.85 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 95.02 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n) t 95% 2.132

LC =E25 + (2.132*E26/4) LCS= 95.57

LC =E25-(2.132*E26/4) LCI= 94.48





LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO DE ATENOLOL
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.06mg/L) 0.22

LIMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X 3.60
LCM= 10(0.05) +3

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	3.038	101.27
SD2	3	3.064	102.13
SD3	3	3.08	102.67
SD4	3	2.939	97.97
SD5	3	2.925	97.50
SD6	3	2.982	99.40
SD7	3	2.988	99.60
PROMEDIO	3.00	100.08	
DESV.STD	0.06	2.01	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
CV = (0.06/3) * 100

2.00 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
Exactitud = (3.0 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 100.08 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

t 95% 2.132

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= 100.69

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCI= 99.47






LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO DE SOTALOL
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747

LDM = B+ (t) (S)

LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.07mg/L) 0.26

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X

LCM= 10(0.07) +3 3.62

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	3.019	100.63
SD2	3	2.902	96.73
SD3	3	2.995	99.83
SD4	3	3.005	100.17
SD5	3	2.832	94.40
SD6	3	2.966	98.87
SD7	3	2.975	99.17
PROMEDIO		2.96	98.54
DESV.STD		0.07	2.22

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100

CV = (0.07/3)* 100

2.25 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100

Exactitud = (2.96 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 98.54 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

t 95% 2.132

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= 99.22

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCL= 97.87





LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO DE METOPROLOL
CONCENTRACIONES 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 50 ug/mL
UPLC diciembre 2015

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM.BCOS 0 mg/L t 99% 3.747
LDM = B+ (t) (S)
LDM = (0mg/L)+ (3.747) (0.07mg/L) 0.26

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

LCM= 10S + X 3.82
LCM= 10(0.07) +3

MUESTRA	CONC TEOR	CONC PROM	% RECUP
SD1	3	3.07	102.33
SD2	3	3.15	105
SD3	3	2.959	98.63
SD4	3	3.127	104.23
SD5	3	3.157	105.23
SD6	3	3.07	102.33
SD7	3	3.008	100.27
PROMEDIO	3.08	102.58	
DESV.STD	0.07	2.47	

PRECISIÓN DEL METODO

CV = (s/R) * 100
CV = (C31/3) * 100

2.41 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

EXACTITUD DEL METODO

Exactitud = (Conc.cuantificada prom. /Conc. Teórica)*100
Exactitud = (3.08 mg/L)/(3 mg/L)*100

Exactitud 102.58 CUMPLE CRITERIO PROCED. CAGC7-06

LIMITES DE CONFIANZA

LC=R+ - (t n-1 95) (s/n)

t 95% 2.132

LC =E25 + (2.132*E26/4)

LCS= 103.33

LC =E25-(2.132*E26/4)

LCI= 101.82



PRUEBA DE DESEMPEÑO SALBUTAMOL

AREA ORGANICOS

Fecha: 2015/11/11

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM
BLANCOS= 0 0.0496 ng/mL
t 99% = 4.541

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

LDM = B + (t) (S)
LDM = (0.0 mg/L) + (4.541) (0.0496 mg/L)
LDM = 0.225 ng/mL

LCM = 10 S + X
LCM = 10 (0.0496mg/L) + (2.4286mg/L)
LCM = 2.924 ng/ml

BLANCOS	CONC. BLANCOS mg/L	MUESTRA	CONC. CUANTIFICADA ng/mL	CONC. TEÓRICA ng/mL	RECUPERACIÓN (R) %
BCO1	0	STD1	2.438	3	81.27
BCO2	0	STD2	2.431	3	81.03
BCO3	0	STD3	2.429	3	80.97
BCO4	0	STD4	2.378	3	79.27
BCO5	0	STD5	2.404	3	80.13
BCO6	0	STD6	2.391	3	79.70
BCO7	0	STD7	2.529	3	84.30
Prom. de 4 mtras. sintéticas		X	2.4286		Prom. de los % Recuperación R 80.95
DEVS. ESTANDAR DE 4 MTRAS SINTÉTICAS		S	0.0496		Desv. Est. de los % Recuperación SR 1.65
PROM. BLANCOS		B	0.0000		R y SR de las 7 mtras sintéticas
DESV. STD. BCO5		Sbco	0.0000		
PROM. 7MTRAS SINTÉTICAS		X ₇	2.4286	3	
DESV. STD. 7MTRAS SINTÉTICAS		S ₇	0.0496		

EXACTITUD DEL MÉTODO:

Conc. Teórica (i 3) Conc. Cuantificada promedio de las 7 mtras. sintéticas(X₇) = 2.4285714 ng/mL

Exactitud = (Conc. cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas/Conc Teórica)*100
Exactitud = (2.4286mg/L)/3mg/L*100

EXACTITUD = 80.95 %
NO CUMPLE CRITERIO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:

Coefficiente de Variación
CV = (SR/R) *100
CV = [(1.65)/(80.95)]*100%
CV = 2.04

CONCLUSIÓN: CUMPLE CRITERIO

LÍMITES DE CONFIANZA:
LC=R ± ((195%)*SR/n) t95% = 2.447 n= 7 SR= 1.65

LCS = 80.95 % + (2.447* 1.65/7)
Límite Superior de Confianza = 81.53 %

LCI = 80.95% - (2.447* 1.65/7)
Límite Inferior de Confianza = 80.37 %

SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica)/(Conc. Teórica))*100
SESGO = ((2.4286 - 3)/3)*100

SESGO = 19.05 %
CONCLUSIÓN: NO CUMPLE CRITERIO

ANALISTA:

JACOBO TAPIA ACOSTA

SUPERVISOR:

MARTHA AVILES FLORES



HOJA DE CÁLCULO

LABORATORIO DE CALIDAD DEL AGUA

PRUEBA DE DESEMPEÑO TERBUTALINA

AREA ORGANICOS

Fecha: 2015/11/11

LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO

PROM
BLANCOS= 0 0.0632 ng/mL
t 99% = 4.541

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO

LCM = 10 S + X
LCM = 10 (0.0632mg/L) + (3.3814mg/L)

LDM = B + (t) (S)
LDM = (0.0 mg/L) + (4.541) (0.0632 mg/L)

LDM = 0.287 ng/mL

LCM = 4.013 ng/ml

BLANCOS	CONC. BLANCOS mg/L	MUESTRA	CONC. CUANTIFICADA ng/mL	CONC. TEÓRICA ng/mL	RECUPERACIÓN (R) %
BCO1	0	STD1	3.407	3	113.57
BCO2	0	STD2	3.505	3	116.83
BCO3	0	STD3	3.374	3	112.47
BCO4	0	STD4	3.314	3	110.47
BCO5	0	STD5	3.374	3	112.47
BCO6	0	STD6	3.324	3	110.80
BCO7	0	STD7	3.372	3	112.40
Prom. de 4 mtras. sintéticas		X	3.3814		Prom. de los % Recuperación R 112.71
DEVS. ESTANDAR DE 4 MTRAS SINTÉTICAS		S	0.0632		Dev. Est. de los % Recuperación SR 2.11
PROM. BLANCOS		B	0.0000		R y SR de las 7 mtras sintéticas
DESV. STD. BCOS		S _{bcos}	0.0000		
PROM. 7MTRAS SINTÉTICAS		X ₇	3.3814	3	
DESV. STD. 7MTRAS SINTÉTICAS		S ₇	0.0632		

EXACTITUD DEL MÉTODO:

Conc. Teórica (t 3) Conc. Cuantificada promedio de las 7 mtras. sintéticas (X₇) = 3.3814286 ng/mL

Exactitud = (Conc. Cuantificada prom. de las 7 mtras. sintéticas / Conc. Teórica) * 100

Exactitud = (3.3814mg/L) / 3mg/L * 100

EXACTITUD = 112.71 %

FALSO

REPETIBILIDAD DEL MÉTODO:

Coefficiente de Variación

CV = (SR/R) * 100

CV = [(2.11) / (112.71)] * 100%

CV = 1.87

CONCLUSIÓN: CUMPLE CRITERIO

LÍMITES DE CONFIANZA:

LC = R ± ((t95%) * SR/n)

t95% = 2.447

n = 7

SR = 2.11

LCS = 112.71 % + (2.447 * 2.11/7)

Límite Superior de Confianza = 113.45 %

LCI = 112.71% - (2.447 * 2.11/7)

Límite Inferior de Confianza = 111.98 %

SESGO

SESGO = ((Prom. Conc. Obtenida de las 7 mtras. sintéticas - Conc. Teórica) / (Conc. Teórica)) * 100

SESGO = ((3.3812 - 3) / 3) * 100

SESGO = 12.71 %

Conclusión: CUMPLE CRITERIO

ANALISTA:

JACOBO TAPIA ACOSTA

SUPERVISOR:

MARTHA AVILES FLORES